

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ZOOLOGIA

Relações filogenéticas do gênero *Apistogramma* (Teleostei, Cichlidae) e filogeografia da espécie *Apistogramma agassizii*.

Ricardo Britzke

Orientador: **Prof. Dr. Claudio de Oliveira**

Co-orientador: **Prof. Dr. Jonathan Stuart Ready**

Botucatu

Fevereiro 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ZOOLOGIA

Relações filogenéticas do gênero *Apistogramma* (Teleostei, Cichlidae) e filogeografia da espécie *Apistogramma agassizi*.

Ricardo Britzke

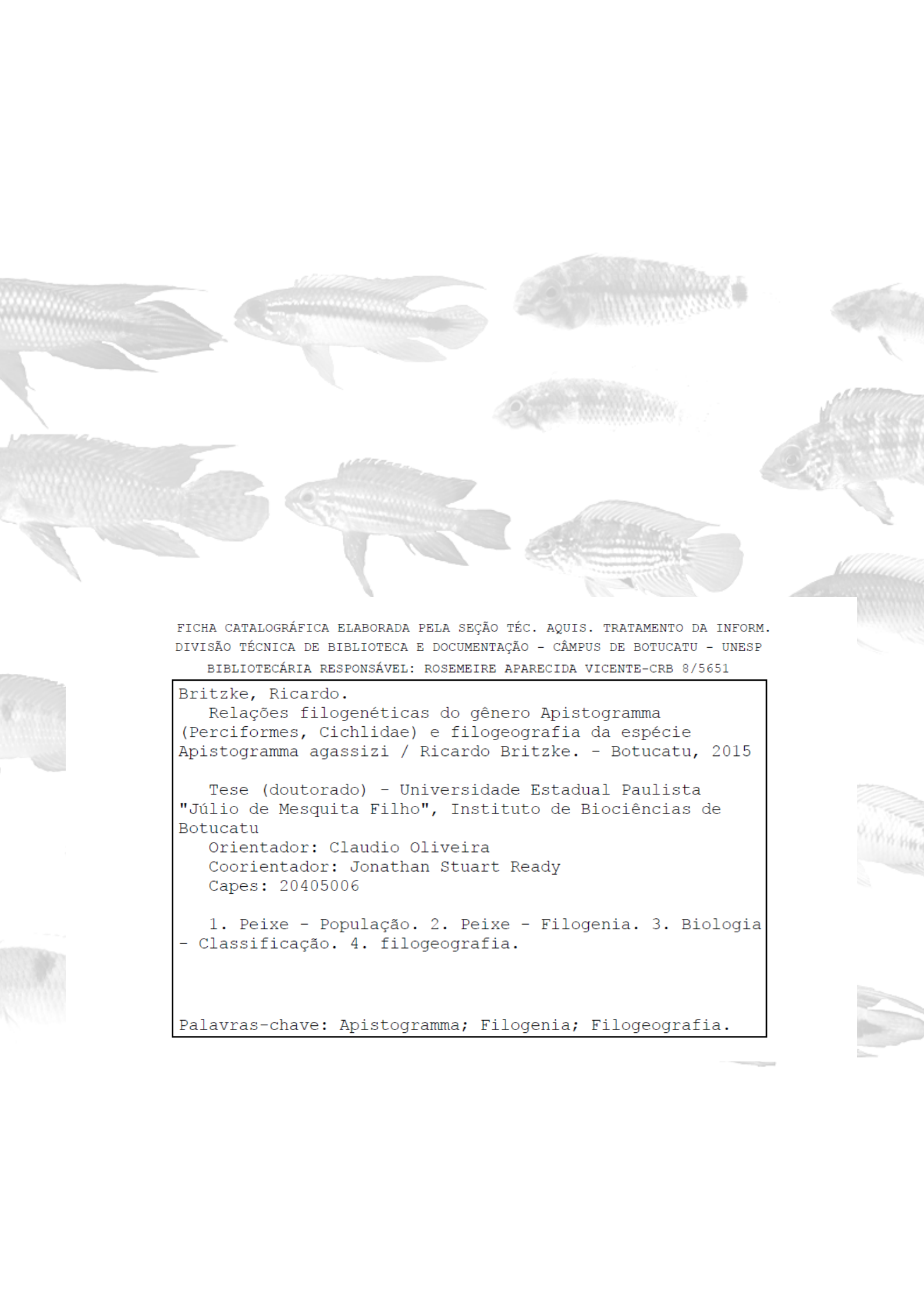
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências de Botucatu, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: **Prof. Dr. Claudio de Oliveira**

Co-orientador: **Prof. Dr. Jonathan Stuart Ready**

Botucatu

Fevereiro 2015



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Britzke, Ricardo.

Relações filogenéticas do gênero *Apistogramma*
(Perciformes, Cichlidae) e filogeografia da espécie
Apistogramma agassizi / Ricardo Britzke. - Botucatu, 2015

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Claudio Oliveira

Coorientador: Jonathan Stuart Ready

Capes: 20405006

1. Peixe - População. 2. Peixe - Filogenia. 3. Biologia
- Classificação. 4. filogeografia.

Palavras-chave: *Apistogramma*; Filogenia; Filogeografia.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ZOOLOGIA

Relações filogenéticas do gênero *Apistogramma* (Teleostei, Cichlidae) e filogeografia da espécie *Apistogramma agassizi*.

Ricardo Britzke

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Claudio Oliveira

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr.

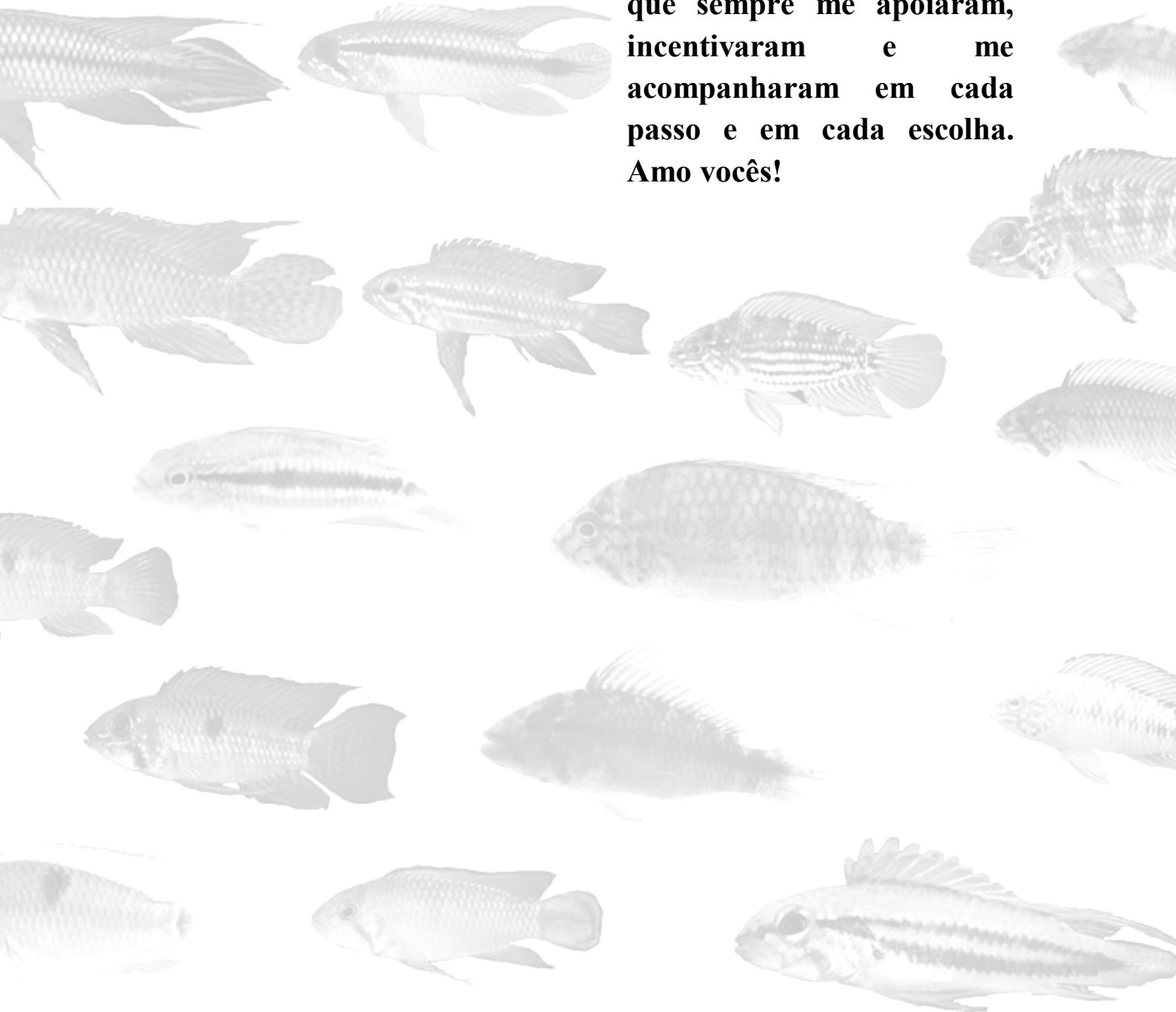
Prof. Dr.

Botucatu

Fevereiro, 2015

Dedicatória

**A minha esposa e meus pais,
que sempre me apoiaram,
incentivaram e me
acompanharam em cada
passo e em cada escolha.
Amo vocês!**



AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por minha saúde e por sempre iluminar meus caminhos.

Aos meus pais, Antônio e Denise, pelos valiosos ensinamentos e incondicional apoio, e por sempre acreditarem em meus sonhos. A meu irmão Marcelo, por sempre estar apoiando e torcendo. Obrigado por tudo.

À minha esposa Raquel, companheira de todos os momentos, por sempre me incentivar, apoiar e torcer por mim, obrigado por sempre ser meu braço direito em vários momentos. Faltam palavras pra dizer o quanto sou grato por tê-la ao meu lado.

Ao prof. Claudio Oliveira, pela orientação e apoio e por sempre acreditar no meu trabalho. Também agradeço por sempre ter me dado o prazer de coletar em sua companhia e conhecer vários habitats de diversas espécies pela Amazônia.

Ao prof. Jonathan Ready, pela co-orientação, apoio em vários momentos, pelas boas conversas e pelas várias discussões sobre ciclídeos neotropicais.

A todos os amigos do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, do passado ou do presente, pela convivência e por todas as diversas discussões, em especial a Renato Devidé, Guilherme (Varvito), Fábio (Fio), Gabriel (Pink), Jeferson (Menudo), Alex (Alf), Bruno (Xiaua), Mahmoud, Luz e Milke.

Ao pessoal do MZUSP, pela amizade e atenção, em especial a Heraldo Britski, Osvaldo Oyakawa, Michel Gianeti, Priscila Camelier, Henrique Varela, Luiz Peixoto, Manoela Marinho e Fernando D'agosta.

Ao pessoal do MCP, pela amizade e atenção em minha visita a coleção ictiológica, em especial a Carlos Lucena, Margareth Lucena, Roberto Reis, Pablo Lehmann, Edson Pereira e Barbara Calegari.

A Hernán López-Fernández (ROM) pela calorosa recepção e as diversas discussões que tivemos com ciclídeos neotropicais, filogenias, genes e nas horas vagas churrasco. Também aos funcionários e estudantes do ROM, em especial a Mat Kolmann (Hermano), Nathan Lujan, Erling Holm, Margareth Zur, Don Stacey, Mary, Viviana Astudillo e Sarah Steele.

A Sven Kullander (NRM) pelos ensinamentos e diversas discussões sobre ciência, ciclídeos, nomenclatura zoológica e principalmente *Apistogramma*.

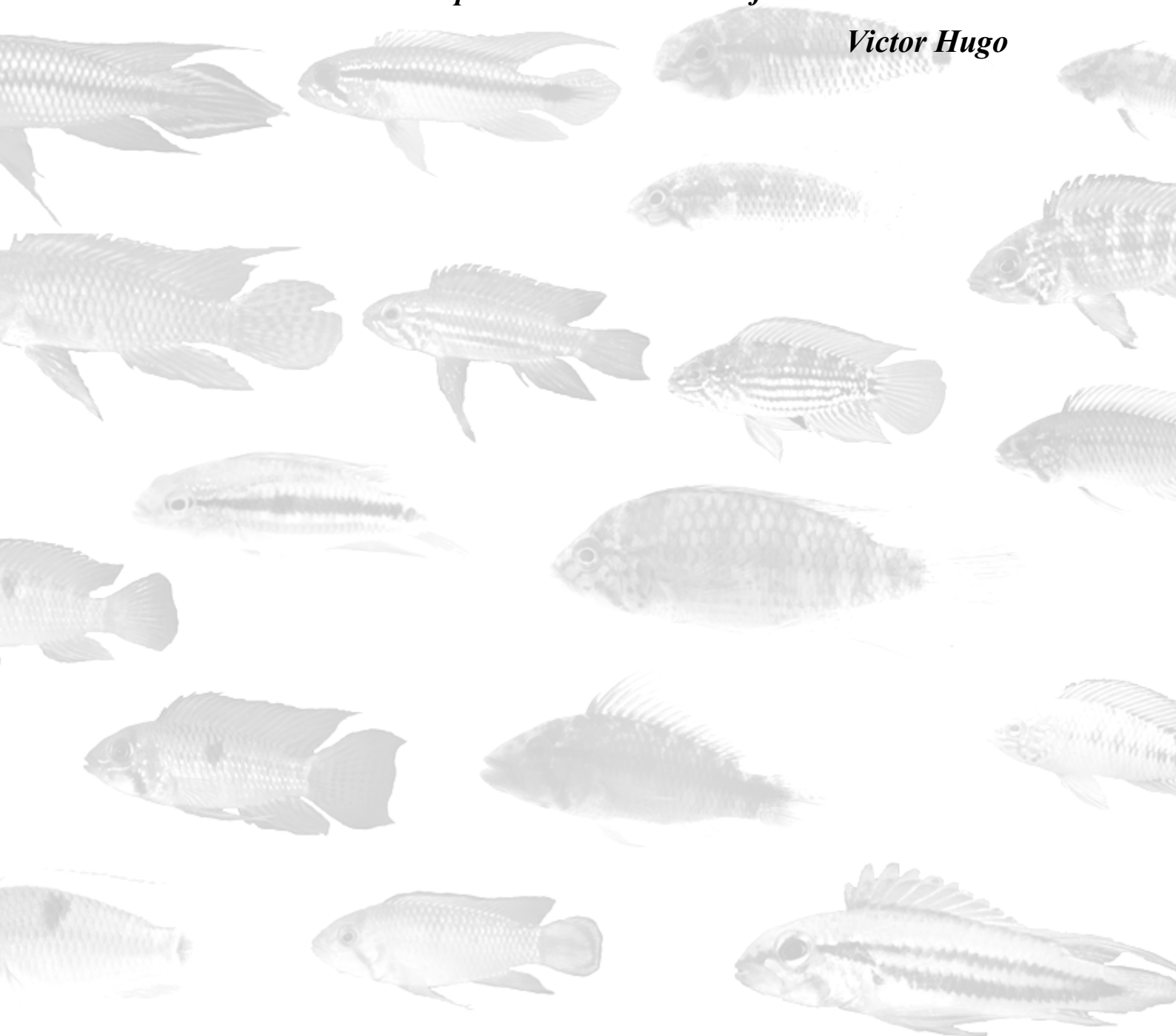
Também não poderia deixar de agradecer a todas as pessoas e instituições, pela ajuda ou pelo envio de valiosas amostras, as quais ajudaram a melhor entender a filogenia do gênero *Apistogramma*. Mark Sabaj Pérez (ANSP); Jonathan Armbruster e David Werneke (AUM); Jansen Zuanon e Douglas Bastos (INPA); Carlos Lucena (MCP); Nathan Lujan (ROM); Luiz Malabarba (UFRGS); Raphel Covain (MHNG); Hernán López-Fernández (ROM); José Birindelli (MZUSP); Gabriel Deprá e Weferson da Graça (UEM); Wolmar Wosiaki (MPEG); Hernan Ortega (MUSM); Christian Cramer e Carolina Doria (UNIR); Erica Caramaschi (DEPRJ); Oliver Lucanus (Montreal); Javier Maldonado, Alex Urbano-Bonilla, Jorge Enrique (Universidad Javeriana); Leandro Souza (UFPA-Altamira), José Senhorini, Paulo Ceccarelli, Carla Polaz, Luiz Alberto Gaspar (CEPTA), Jon Ready e Marcelo Andrade (UFPA-Belém), Richard Vari (USNM) e George Lauder (MCZ).

A todos os funcionários do Depto. de Morfologia, em especial a Dona Tera, Dona Yolanda e Luciana.

E finalmente, quero agradecer a FAPESP (Proc. 2011/00269-4) pela concessão da bolsa de doutorado e por todos os auxílios, pois sem ela não poderia me dedicar a esse magnífico gênero.

“Desejo que você plante uma semente, por mais minúscula que seja, e acompanhe o seu crescimento, para que você saiba de quantas muitas vidas é feita uma árvore...”

Victor Hugo



AVISO

Esta tese é parte dos requerimentos necessários à obtenção do título de doutor, área de Zoologia, e como tal, não deve ser vista como uma publicação no senso do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (apesar de disponível publicamente sem restrições). Desta forma, quaisquer informações inéditas, opiniões e hipóteses, bem como nomes novos, não estão disponíveis na literatura zoológica. Pessoas interessadas devem estar cientes de que referências públicas ao conteúdo deste estudo, na sua presente forma, somente devem ser feitas com a aprovação prévias do autor.

NOTICE

This dissertation is a partial requirement for the Master degree in Zoology and, as such, should not be considered as a publication in the sense of the International Code of Zoological Nomenclature (although it is available without restrictions). Therefore, any new information, opinions, and hypotheses, as well as new names, are not available in the zoological literature. Interested people are advised that any public reference to this study, in its current form, should only be done after previous acceptance of the author.

Resumo

O gênero *Apistogramma* Regan, 1906 apresenta atualmente 86 espécies válidas distribuídas nas bacias dos Rios Amazonas, Orinoco, Paraguai, baixo Rio Paraná, baixo Rio Uruguai e nos rios costeiros das Guianas. São pequenos peixes de importância ornamental, sendo conhecidos popularmente como ciclídeos anões. As espécies do gênero podem ser agrupadas de acordo com a coloração e as características anatômicas, incluindo as reduções do sistema de canais látero-sensorial. Apresentam uma grande diversidade morfológica e ampla distribuição nas bacias hidrográficas, o que dificulta o entendimento dos processos evolutivos que aconteceram no grupo e os padrões de relacionamento entre as espécies do grupo. O presente trabalho buscou investigar a evolução do gênero sob aspectos taxonômicos, filogenéticos e populacionais, baseados principalmente em dados moleculares. Os resultados obtidos apresentam: 1- Novas espécies do gênero, com a descrição de dois desses táxons; 2 – O DNA barcode recupera a maioria das espécies conhecidas (válidas e conhecidas não descritas), mas também aponta para casos de espécies crípticas; 3- Uma filogenia molecular incluindo dados de quatro genes mitocondriais com um total de 2211 pb, considera *Apistogramma* monofilético, quando o gênero *Apistogrammoides* é considerado um representante de *Apistogramma*, sendo o gênero *Taeniacara* seu grupo irmão. Questões biogeográficas também foram propostas para justificar as relações dos grupos de *Apistogramma*; 4 – A filogeografia sustenta que *A. agassizii* possui espécies crípticas e que *A. gephyra* encontra-se dentro do clado *A. agassizii*, e que estas espécies apresentam um histórico biogeográfico provavelmente relacionado à evolução recente das bacias hidrográficas.

Abstract

The genus *Apistogramma* Regan, 1906 currently has 86 valid species distributed in the basin rivers Amazon, Orinoco, Paraguay, Lower Paraná, lower Uruguay and the coastal rivers of Guyana Shield. They are small fish of ornamental importance, being popularly known as dwarf cichlids. Species of the genus can be grouped according to coloration and anatomical features, including reductions of the lateral-sensory canal system. There are a great morphological diversity and wide distribution in river basins, which hinders the understanding of evolutionary processes that happened in the group and the relationship patterns between species of the group. This study investigated the evolution of the genus under taxonomic aspects, phylogenetic and population, mainly based on molecular data. The results obtained are: 1. New species of the genus, with the description of two of these taxa; 2 - The DNA barcode recovers most of the known species (known valid and not described), but also points to cases of cryptic species; 3 A molecular phylogeny including data from four mitochondrial genes with a total of 2211 bp, considers *Apistogramma* monophyletic, when the genus *Apistogrammoides* is considered a *Apistogramma* representative, and the genus *Taeniacara* your sister group. Biogeographical questions were also proposed to justify the relations of *Apistogramma* groups; 4 - The phylogeography maintains that *A. agassizii* has cryptic species and *A. gephyra* lies within the clade *A. agassizii*, and that these species have a biogeographic history probably related to recent developments in the river basins.

Sumário

1. Introdução Geral	1
1.1. A família Cichlidae	1
1.2. A subfamília Cichlinae	4
1.3. A tribo Geophagini	4
1.4. O gênero <i>Apistogramma</i>	6
1.5. Filogeografia de peixes neotropicais	20
1.5.1. <i>Apistogramma agassizii</i> como modelo filogeográfico	22
2. Objetivos	25
3. Materiais e métodos	26
3.1 Materiais	26
3.2 Métodos	26
3.2.1 Análises morfológicas	26
3.2.1 Análises moleculares	26
3.2.3 Análise filogeográfica	27
4. Resultados e Discussão	28
4.1. Taxonomia do gênero <i>Apistogramma</i>	28
4.1.1. Descrição de <i>Apistogramma</i> sp. Peixoto, manuscrito a ser submetido na revista Neotropical Ichthyology	28
4.1.2. Descrição de <i>Apistogramma ortegai</i> , manuscrito publicado na revista Zootaxa (http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3869.4.5)	43
4.2. DNA Barcoding do gênero <i>Apistogramma</i>	57
4.2.1. Introdução	57
4.2.2. Material e Métodos	59
4.2.3. Resultados	60
4.2.4. Discussão	71
4.3. Filogenia molecular das espécies do gênero <i>Apistogramma</i>	90
4.3.1. Introdução	90
4.3.2. Material e Métodos	91
4.3.3. Resultados	94
4.3.4. Discussão	110
4.4. Filogeografia de <i>Apistogramma agassizii</i> e espécies afins na bacia Amazônica	133
4.4.1. Introdução	133
4.4.2. Material e Métodos	134
4.4.3. Resultados	136

4.4.4. Discussão.....	150
5. Considerações Finais.....	156
6. Referências bibliográficas.....	157
7. Anexos.....	167

1. Introdução Geral

1.1. A família Cichlidae

A família Cichlidae Bonaparte (1840) constitui um dos grupos mais ricos de espécies, representando o maior clado dos Euteleostei de água doce (Nelson, 2006), e uma das poucas famílias de peixes tropicais cujo monofiletismo é praticamente incontestável, suportada tanto por dados de morfologia (Gaemers, 1984; Stiassny, 1991; Kullander, 1998), e por evidências moleculares (Streelman e Karl, 1997; Farias et al., 1999; 2000; Sparks & Smith, 2004; Smith et al., 2008). A família possui mais de 1300 espécies válidas reconhecidas atualmente, com estimativas que alcançam mais de 1900 espécies no total (Kullander, 1998). Há várias hipóteses sobre a idade e história biogeográfica da família (Chakrabarty, 2004). Os ciclídeos são distribuídos extensamente na região continental da América do Sul e Central (400 espécies), nas ilhas de Cuba e Hispaniola (quatro espécies), África (mais de 1000 espécies), Madagascar (mais de 18 espécies), Arábia e áreas adjacentes (cinco espécies) e Índia (três espécies), regiões que pertenciam ao paleo supercontinente Gondwana.

Atualmente, pouco se sabe sobre a origem da diversidade de ciclídeos neotropicais, pois a maioria dos estudos de diversificação e evolução de ciclídeos está focada na rápida radiação adaptativa dos grandes lagos do leste africano (Lagos Niassa ou Malawi, Tanganyika e Victoria), ocorridas em um curto espaço de tempo (Kocher, 2004; Turner, 2007). Em contraste com a origem Neógeno-Quaternária dos ciclídeos dos lagos africanos (quase 7 milhões de anos atrás, segundo Joyce et al., 2005), os ciclídeos neotropicais têm uma longa história de diversificação que se inicia por volta do Cretáceo Superior, à aproximadamente 90 milhões de anos atrás (Chakrabarty, 2006; Lundberg et al., 2010).

O histórico da família Cichlidae se inicia com os estudos realizados por Heckel (1840), baseado na coleção de Johann Natterer proveniente do Brasil. Uma revisão mais ampla foi escrita por Jardine (1843), baseado na coleção de Schomburgk proveniente das Guianas, do Brasil e da Venezuela (Kullander & Stawikowski, 1997). Em 1875, Steindachner trabalhou na coleção de ciclídeos do Amazonas da expedição

de Thayer, mas não contribuiu muito mais que o trabalho de Heckel. Günther (1868) descreveu e ilustrou uma grande parte da fauna de ciclídeos da América Central, seguido por Charles Tate Regan (1906-1908). Pellegrin revisou a família apresentando diagnoses de vários gêneros e espécies. Reforçando o trabalho de Pellegrin, Regan (1905-1906) realizou uma extensa revisão nos ciclídeos neotropicais, sendo a base para todos os trabalhos até a década de 1980. A primeira moderna análise filogenética dos ciclídeos neotropicais foi realizada por Cichocki (1976), e mais recentemente por Kullander (1998) e López-Fernández et al. (2010) apresentando hipóteses baseadas em dados morfológicos e moleculares respectivamente. Revisões ao nível de família foram feitas por Keenleyside (1991) e Barlow (2000). Revisões ao nível de gênero foram realizadas por diversos autores para alguns gêneros, como *Pterophyllum* (Ahl, 1928), *Symphysodon* e *Pterophyllum* (Schultz, 1960 e 1967), *Cichla* (Machado-Allison, 1971 e 1973), *Retroculus*, *Geophagus sensu lato*, *Biotodoma* e *Gymnogeophagus* (Gosse, 1971 e 1976), *Apistogramma* (Kullander, 1980), *Cichlasoma* (Kullander, 1983), *Hypselecara* (Kullander, 1986); *Gymnogeophagus* (Reis & Malabarba, 1988), *Teleocichla* (Kullander, 1988), *Biotocus* (Kullander, 1989), *Crenicichla* (Ploeg, 1991), *Mesonauta* (Kullander & Silfvergrip, 1991), *Hypsophrys* (Kullander e Hartel, 1997); *Australoheros* (Rican & Kullander, 2006), *Cichla* (Kullander e Ferreira, 2006); *Amatitlania* e *Rocio* (Schmitter-Soto, 2007) e *Andinoacara* (Musilova et al., 2009).

As análises filogenéticas mais atuais baseadas em caracteres morfológicos e moleculares indicam que a família Cichlidae pode ser subdividida em quatro subfamílias, sendo: (1) Etroplinae [ciclídeos de Madagascar e sul da Ásia (Índia e Sri Lanka), gêneros *Etroplus* e *Paretroplus*], (2) Ptychochrominae (ciclídeos dos gêneros *Oxylapia*, *Ptychochromis* e *Ptychochromoides* endêmicos da Ilha de Madagascar), (3) Cichlinae (Ciclídeos Americanos) e (4) Pseudocrenilabrinae (Ciclídeos Africanos) (Sparks e Smith, 2004; Smith *et al.*, 2008). A subfamília Etroplinae é considerada como grupo irmão de todas as demais subfamílias de Cichlidae, e Cichlinae e Pseudocrenilabrinae são clados monofiléticos considerados irmãos entre si.

Kullander (1998) havia proposto a existência de cinco subfamílias de ciclídeos neotropicais (Retroculinae, Cichlinae, Astronotinae, Geophaginae e Cichlasomatinae), porém Smith et al. (2008) consideram apenas uma subfamília neotropical, Cichlinae, a qual foi dividida em sete tribos: Cichlini, Retroculini, Astronotini, Chaetobranchini, Geophagini, Cichlasomatini e Heroini.

Cichlini é formada pelas espécies do gênero *Cichla*, com atualmente 15 espécies

amplamente distribuídas nas bacias Amazônica, Guianas e Orinoco. Retroculini é formada pelas espécies do gênero *Retroculus*, com atualmente três espécies na bacia Amazônica. Astronotini é formado pelas espécies do gênero *Astronotus*, com atualmente 2 espécies, uma na bacia Amazônica e outra na bacia do Paraguai. Chaetobranchini é formado pelas espécies do gênero *Chaetobranchus*, com atualmente 2 espécies distribuídas na bacia Amazônica, Guiana e Orinoco. Geophagini é restrita à América do Sul e sul do Panamá e inclui aproximadamente 18 gêneros e cerca de 250 espécies (López-Fernández et al., 2005a, b). Cichlasomatini inclui 11 gêneros descritos e mais de 70 espécies distribuídas na América do Sul e Panamá. Heroini inclui aproximadamente 30 gêneros e cerca de 150 espécies distribuídas na América do Sul e América Central, com um gênero em Cuba e Hispaniola.

Normalmente, a maioria dos ciclídeos neotropicais ocupa habitats lênticos dentro de rios e córregos; existindo apenas algumas espécies adaptadas aos ambientes reofílicos, como algumas espécies do gênero *Crenicichla* e os gêneros *Teleocichla* e *Retroculus*, distribuídos principalmente próximos ao Escudo Brasileiro e das Guianas. Os ciclídeos possuem alimentação piscívora (*Astronotus*, *Caquetaia*, *Cichla* e outros), planctívora (*Chaetobranchopsis*, *Chaetobranchus* e *Satanoperca*) e onívora. Os ciclídeos são extremamente conhecidos pelos cuidados parentais com sua prole, onde geralmente os ovos são depositados sobre pedras ou outra superfície (*Laetacara*, *Aequidens*, *Geophagus* e outras espécies), plantas (*Dicrossus*, *Pterophyllum*, *Symphysodon* e outros) ou mesmo em cavernas (*Apistogramma*, *Apistogrammoides* e *Taeniacara*) e guardados pelos pais até o crescimento da prole. Espécies de pequeno tamanho como as do gênero *Apistogramma*, possuem dimorfismo sexuais evidentes nos exemplares adultos, sendo o macho maior e mais colorido que a fêmea. No período reprodutivo, as fêmeas adquirem uma coloração amarelo-dourada, muito característica em todas as espécies do gênero, com poucas variações de coloração. Devido à sua grande variedade de cores atrativas e também devido ao seu tamanho moderado, muitos ciclídeos são utilizados para ornamentação, uma vez que sua reprodução num aquário que possua boas condições não representa grandes dificuldades. As espécies mais importantes para o aquarismo pertencem aos gêneros *Apistogramma* (Apistograma), *Pterophyllum* (Acará Bandeira) e *Symphysodon* (Acará Disco). Outras espécies de maior tamanho são muito apreciadas para a pesca esportiva, como os gêneros *Astronotus* (Apaiari, Acará Açú) e *Cichla* (Tucunaré), entre outros.

1.2. A subfamília Cichlinae

Landim (2006), em um estudo não publicado, ao estudar as relações da família Cichlidae com base em caracteres morfológicos define que todos os ciclídeos neotropicais fariam parte de uma única subfamília, a qual foi chamada de Cichlinae, e seriam pertencentes às tribos Geophagini e Cichlini. Segundo Landim (2006), os vários arranjos infra-familiares propostos por Kullander (1998) são desnecessários. Smith et al. (2008) realizam um dos estudos mais abrangente sobre as relações filogenéticas de Cichlidae, onde combinam caracteres morfológicos e moleculares para construir as relações filogenéticas da família Cichlidae. Os autores corroboraram a proposta de Landim (2006) em relação à existência de apenas uma subfamília Cichlinae para os ciclídeos neotropicais, mas dividem essa subfamília em sete tribos: Cichlini, Retroculini, Astronotini, Chaetobranchini, Geophagini, Cichlasomatini e Heroini.

López-Fernández et al. (2010) ao combinarem caracteres moleculares, também corroboram Landim (2006) ao encontrarem apenas uma subfamília de ciclídeos neotropicais, Cichlinae; e encontram sete tribos, corroborando Smith et al. (2008).

1.3. A tribo Geophagini

A tribo Geophagini abrange 18 gêneros e cerca de 250 espécies descritas (López-Fernández et al., 2005a, b, 2010; Smith et al., 2008), e muitas outras ainda não descritas até o momento (Kullander, 2003; López-Fernández & Taphorn, 2004). O monofiletismo de Geophagini é comprovado pelos curtos ramos encontrados na filogenia, indicando que esta tribo provavelmente sofreu uma rápida diferenciação em um curto período de tempo (López-Fernández et al. 2005b; Smith, 2008).

Kullander (1998) definiu a subfamília Geophaginae baseado na combinação de seis sinapomorfias morfológicas ambíguas que aparecem em combinação somente nesse clado, mas são observados individualmente em outros táxons da região Neotropical. Dentro desta subfamília proposta, a tribo Crenicaratini é diagnosticada por sete sinapomorfias, possuindo muitos caracteres autapomórficos e a perda de características osteológicas (Kullander 1990). A tribo Acarichthyini é caracterizada por duas únicas sinapomorfias, e suportadas monofileticamente por evidências morfológicas e moleculares (Farias et al. 1999, 2000). A tribo Geophagini é caracterizada por uma combinação de quatro sinapomorfias, duas dessas não ambíguas. O clado é relativamente bem suportado por caracteres morfológicos

(Kullander, 1998), especialmente pelo processo epibrânquial, formando um lobo laminar, com expansão anteroventral do primeiro osso epibrânquial, sustentando a base do tecido conjuntivo (Kullander, 1998 - caráter 5, estado 1).

A análise de Kullander foi baseada em extensa amostragem de vários táxons de ciclídeos, e o relacionamento de Geophaginae foi proposto em uma análise de 13 gêneros pertencentes a essa subfamília (sensu Kullander), mais *Crenicichla* e *Teleocichla*. Os estudos moleculares de Farias et al. (2000, 2001) não foram adequadas para testar as hipóteses de Kullander, devido sua insuficiente amostragem de táxons.

Farias et al. (2000) incluíram 12 gêneros em sua análise molecular e 10 gêneros na análise combinada com dados moleculares e morfológicos. Em Farias et al. (2001), foram incluídos apenas 8 dos 18 gêneros dos Geophagines. Em ambas as análises, gêneros como *Satanoperca*, *Biotocetus*, *Crenicara*, *Dicrossus* e o grupo “*Geophagus*” *steindachneri* estão presentes em algumas análises, mas ausente em outras (Farias et al., 2000, 2001), tornando impossível testar a monofilia das tribos Crenicaratini e Geophagini sensu Kullander (1998).

Nos estudos moleculares realizados por López-Fernandez et al. (2005 a, 2005b) foram utilizados a maior quantidade de táxons dos Geophagines em suas análises, totalizando 14 gêneros dos 16 presentes. Eles propuseram que os Geophagines sofreram diversificação através da radiação adaptativa devido aos curtos ramos na base da árvore, onde diferentes gêneros podem ter sido originados rapidamente ou em um curto período de tempo, com a fixação posterior reduzida de caracteres associados com a radiação. O monofiletismo de todos os gêneros foi corroborado através de dados morfológicos e moleculares, com exceção do gênero *Apistogrammoides* que se agrupa com *Apistogramma*; e dos conhecidos grupos ‘*Geophagus*’ *brasiliensis* e ‘*Geophagus*’ *steindachneri*, que não se agrupam ao gênero *Geophagus stricto sensu*, considerados novos gêneros com necessidade de revisão. López-Fernandez et al. (2010) corroboram os dois trabalhos anteriores utilizando pela primeira vez o gênero *Mazarunia*, totalizando os 16 gêneros encontrados dentro de Geophagines, e assim tornando mais claro o entendimento filogenético da subfamília Cichlinae, e suas tribos Cichlini, Retroculini, Astronotini, Chaetobranchini, Geophagini, Cichlasomatini e Heroini.

Embora o conhecimento da biologia dos Geophagines seja limitado, sua diversidade morfológica e comportamental sugere uma especialização ecomorfológica alimentar e de habitat (López-Fernández et al., 2005a). O comportamento alimentar típico dos Geophagines envolve a triagem do substrato utilizando seu aparelho branquial que separa as partículas de alimentos (Drucker & Jensen, 1991), expulsando

a areia ou lama pelas aberturas operculares, enquanto as partículas de alimentos são ingeridas. O corpo achatado ventralmente e a posição praticamente dorsal dos olhos são outras características morfológicas que indicam que a alimentação dos Geophagines é baseada na triagem do substrato (*Biotodoma*, *Geophagus* e *Satanoperca*) (Winemiller et al. 1995). Outros táxons sofreram redução do tamanho do corpo (*Apistogramma*, *Biotoecus*, *Dicrossus*), e possivelmente passaram por uma adaptação ecológica de triagem de substrato para a coleta de invertebrados. Outros desenvolveram corpos alongados e instintos predatórios, como espécies do gênero *Crenicichla*. A maioria dos Geophagines são geralmente encontrados em águas rasas, sendo essas claras, barrentas ou negras, em todos ambientes tropicais e subtropicais da América do Sul (Lowe-McConnell 1991; Goulding, 1988; Weidner, 2000). Nesses habitat, normalmente grandes exemplares (*Geophagus* e *Satanoperca*) estão associados a águas abertas e com pouca correnteza, enquanto pequenos exemplares (*Dicrossus*, *Biotoecus*, *Apistogramma*) estão associados a águas rasas contendo grande quantidade de folhas, galhos e troncos no fundo. Outros são associados a águas rápidas, como o gênero *Teleocichla*.

A biologia reprodutiva e o cuidado parental dos Geophagines também são bastante especializados (Winemiller e Taphorn 1989; Winemiller e Rose, 1993). Existem táxons monogâmicos com desova no substrato (*Aequidens*, *Crenicichla*, *Biotodoma*, *Guianacara*), e outros táxons apresentam incubação bucal dos ovos ou larvas (*Geophagus*, *Gymnogeophagus* *Satanoperca*) (Weidner 2000, López-Fernández e Taphorn 2004). Geophagini anões, como *Apistogramma* desovam exclusivamente em pequenas cavidades, geralmente sendo polígamos e formando harems em seu território (Römer, 2006). Dentro de *Apistogramma*, uma única espécie possui cuidado biparental facultativo, normalmente se reproduzindo como a maioria das espécies do gênero, e apresentando incubação bucal facultativa (Römer e Hahn, 2008).

1.4. O gênero *Apistogramma*

Dentro de Geophagini, o gênero *Apistogramma* é o segundo gênero com maior número de espécies, compreendendo atualmente 86 espécies válidas (Britzke et al., 2014; Varella & Sabaj Pérez, 2014), e pelo menos 25 espécies novas registradas na literatura aquarística (Römer, 2001, 2006). A origem do gênero possui raiz grega, onde *Apisto* significa incerto, inconstante, instável; e *gramma* significa linha, em referência ao aparecimento e desaparecimento da faixa escura ao longo do corpo, a qual

caracteriza o gênero. Os espécimes do gênero possuem distribuição em várias bacias cis-andinas, principalmente Amazonas, Orinoco e Paraguai (Fig. 1).



Fig.1. Distribuição das espécies do gênero *Apistogramma*. Adaptado de Römer (2006).

A história do gênero se inicia em 1852, quando o naturalista britânico Henry Walter Bates descobriu o primeiro espécime de um ciclídeo anão da América do sul, no Rio Cupai, Brasil. O espécime foi enviado ao British Museum of Natural History para descrição científica. Bates enviou o espécime de 42,7 mm de comprimento para Albert Günther, o diretor do departamento de zoologia do British Museum of Natural History. Em 1862, dez anos após sua coleta, Günther descreve a nova espécie como *Mesops taeniatus* (= *Apistogramma taeniata*) no “Catalogue of the fishes in the British Museum”. Ao criar o novo gênero, Günther reporta que *Mesops* é muito relacionado com *Geophagus*.

Nos anos de 1865-1866, a expedição Thayer realizou diversas coletas na região amazônica, onde o ictiólogo suíço Louis R. Agassiz participava. Em um de seus trabalhos, Agassiz relata a grande quantidade de “chromids” encontradas, principalmente ciclídeos. Mais de 600 espécies de peixes (principalmente jovens) foram preservadas. Parte do material foi examinada mais tarde pelo ictiólogo austríaco Franz Steindachner, que em 1875 descreveu cientificamente *Geophagus (Mesops) agassizii* (= *Apistogramma agassizii*) da região do Rio Curupirá, Rio Cudajás, Rio Puty, Lago Máximo e Lago Manacapuru.

Em 1872, Cope descreve *Geophagus amoenus* do Rio Ambyaicu (= Rio Ampiyacu)

no departamento de Loreto, Peru. A nova espécie foi primeiramente apresentada como relacionada ao gênero *Mesops* Günther, e mais tarde foi sinonimizada por Steindachner como *M. taeniatus*. Em 1875, Steindachner reprova o status independente do gênero *Mesops*, considerando-o um subgênero de *Geophagus*, e unindo com *G. cupido*, a nova espécie *G. (M.) thayeri* (= *Acarichthys heckelli* (Müller e Troschel, 1848)) e *G.(M.) agassizii*. Nos trabalhos de Eigenmann e Eigenmann (1891), Eigenmann e Bray (1894) e Boulenger (1895), o status do subgênero *Mesops* ainda foi considerado válido.

Em 1902, Pellegrin cria uma lista de ciclídeos baseado na coleção brasileira compilada por Jobert em 1878. O trabalho de Pellegrin, entretanto, não reserva particular atenção nos caracteres de *G. (M.) taeniatus*, observando apenas a posição do olho considerada uma característica tratada como “*Geophagus-like genera*”, esquecendo-se de importantes características como o número de rastros branquiais e a posição mais superior da reduzida linha lateral. Nos anos de 1905-1906, Charles Tate Regan, um ictiólogo britânico inicia seu trabalho no British Museum de Londres, fazendo uma extensa revisão dos ciclídeos americanos iniciados por Pellegrin. Entretanto, ele não aceita as opiniões de Pellegrin, e propõe gênero o *Heterogramma* para os ciclídeos anões. Comparando com *Geophagus*, o novo gênero é caracterizado por poucos raios duros na nadadeira dorsal (5-7 vs. 9-14 em *Geophagus*) e secundariamente pela posição da linha lateral superior. Em 1913, durante seu trabalho com peixes do Rio Ucayali (Peru), Regan descobriu que o nome genérico *Heterogramma* era pré-ocupado por outro grupo animal, propondo assim o nome *Apistogramma*. A espécie *Mesops taeniatus* Günther foi adotada para ser a espécie tipo do gênero.

Em 1940, Fowler descreve a espécie *Apistogramma ambloplitoides* (= *Acaronia nassa*) da bacia do Rio Ucayali, em Contamana, Peru. No ano de 1954, descreve o gênero monotípico *Pintoichthys* em homenagem ao Dr. Mario de Oliveira Pinto, usando como espécie tipo *Biotodoma trifasciatus* (= *Apistogramma trifasciata*).

Por muitas décadas muitos espécimes de varias localidades foram nomeados de *A. taeniatum* por vários cientistas. Eigenmann em 1922 associa o nome a espécimes coletados no alto Rio Meta na Colômbia, descritos em 1979 como *A. macmasteri* por Kullander. Na década de 1930, o ictiólogo alemão Ernest Ahl descreve varias espécies de *Apistogramma*, provenientes de doações de importadores de peixes ornamentais, os quais tinham origens imprecisas, como *A. parva* (1931, Estado do Pará, Brasil, Rio Capim (= *A. agassizii*)), *A. ornatipinnis* (1936, Guiana britânica (= *A. steindachneri*)),

A. weise (1936, Santarém, Brasil (= *Taeniacara candidi*, Myers, 1935)), *A. aequipinnis* (1938, provavelmente Argentina (= *A. borellii* Regan, 1906)).

Em 1951, Hoedeman descreve *A. cacatuoides*, indicando sua localidade de coleta próxima a Paramaribo, no Suriname. Provavelmente o autor se equivocou, pois a espécie nunca foi coletada nessa área, sendo encontrada apenas em tributários dos Rios Ucayali, Amazonas e Solimões, da região de Iquitos (Peru) até Tabatinga (Amazonas, Brasil) (Kullander, 1980).

Entre 1960 a 1971, Hermann Meiken descreve várias espécies do gênero. Em 1961 descreve *A. sweglesi* (próximo de Letícia, no Peru (hoje considerada uma espécie não válida e provavelmente sinônimo de *A. bitaeniata*) e *A. klausewitzii* (= *A. bitaeniata*). Em 1964 descreve *A. kleei* (= *A. bitaeniata*) e em 1965 descreve *A. hoignei*, a primeira descrição de uma espécie da Venezuela e *Apistogrammoides pucallpaensis*, considerado como relacionado ao gênero *Apistogramma*, e diferenciando do mesmo por possuir 8 raios duros na nadadeira anal vs. três a quatro em *Apistogramma*, e pela linha lateral anterior ser situada mais abaixo. Em 1969 *A. gibbiceps* é descrita da bacia do Rio Negro, e em 1971 *A. geisleri* de Óbidos, próximo à foz do Rio Trombetas na bacia Amazônica, e *A. borellii* nas proximidades de Manaus, mais tarde descrito oficialmente como *A. regani* por Kullander, 1980.

Em 1976, Sven Kullander descreve *A. luelingi* do norte da Bolívia (Bacia dos Rios Chaparé e Madre de Dios) em homenagem ao ictiólogo alemão Karl-Heinz Lüling. Em 1979 descreve quatro novas espécies para o sistema do alto rio Orinoco na Venezuela (*A. macmasteri*, *A. hongsloui*, *A. viejita* e *A. iniridae*). Após essa data, Kullander continua seu trabalho com o gênero e inicia uma revisão para as espécies brasileiras e peruanas, onde analisou um total de 18 espécies, incluindo as já descritas e as novas espécies descritas nessa revisão (*A. brevis*, *A. caetei*, *A. elizabethae*, *A. gephyra*, *A. meinkenni*, *A. moae*, *A. personata*, *A. piauiensis*, *A. pulchra*, *A. regani*, *A. resticulosa*, *A. uaupesi* e *A. roraimae* (= *A. gibbiceps* Meinken, 1969). Em 1986 e 1987, Kullander realiza uma revisão parcial das espécies encontradas nos rios peruanos da bacia Amazônica, e da bacia do Rio Negro no Brasil e Venezuela.

Após sua revisão, apenas descrições de espécies são realizadas por diversos autores, muitos deles considerados amadores que desejam publicar nomes de novas espécies, sendo a última espécie descrita publicada no mês de dezembro de 2014. De acordo com a definição de Kullander (1980), exemplares do gênero *Apistogramma* são identificados através dos seguintes caracteres: reduzido número de rastros branquiais no ceratobranquial (geralmente 1), ocasionalmente ausentes e excepcionalmente até 5,

ausência de rastros na faringe inferior da placa dentária, ausência de micros rastros branquiais e 4 placas dentária, um único supraneural, poucas vértebras (geralmente 12) e sistema látero-sensorial reduzido (apenas 2 infraorbitais, entre lacrimal e esfenótico; escamas da linha lateral não desenvolvendo tubos). O dimorfismo sexual é geralmente nítido: os machos ficam maiores que as fêmeas e muitas vezes apresentam nadadeiras relativamente maiores, geralmente com os raios prolongados da nadadeira caudal, lóbulos da nadadeira dorsal e extensão filamentosa do primeiro raio da nadadeira pélvica; enquanto as fêmeas possuem um padrão de coloração específica na época da reprodução, que consiste em fundo amarelo intenso com manchas irregulares negras.

Dentro do gênero existem reduções do sistema de canal látero-sensorial, que se tornam úteis para identificação, incluindo (1) a perda do canal ângulo-articular; (2) perda de um forame infraorbital; (3) perda do dentário lateral do forame posterior. O padrão básico do gênero *Apistogramma* é caracterizado pelas espécies do grupo regani (*A. regani*, *A. eunotus*, *A. moae*, *A. urteagai*, *A. cruzi*, *A. resticulosa*, *A. caetei*, *A. piawaiensis*, *A. gossei*, *A. geisleri*, *A. ortmanni*) e outros. A redução 2 é encontrada no grupo *Cacatuoides* (*A. cacatuoides*, *A. juruensis*, *A. luelingi*) e grupo *Nijsseni* (*A. nijsseni*, *A. payaminonis*, *A. norberti*) e outras espécies. Combinando as reduções 2 e 3, encontramos elas em *A. agassizii*, *A. bitaeniata*, *A. eremnopyge* e outras poucas espécies (Kullander, 1986).

A maioria das espécies possui três espinhos da nadadeira anal, mas pelo menos três espécie (*A. combrae*, *A. hoignei*, *A. luelingi*) tem quatro espinhos na nadadeira anal. O número de espinhos da nadadeira anal é o único caráter importante para diferenciar o gênero monotípico *Apistogrammoides*, que é único entre Geophaginae que possui de 6-9 espinhos na nadadeira anal (Kullander, 1986). Outro gênero monotípico semelhante é *Taeniacara* da Amazônia central, com sistema látero-sensorial reduzida, falta do segundo forame frontal lateral, um forame pterótico lateral e canal lateral ângulo-articular, e possuir ossos infraorbitais reduzidos a um único ou dois pequenos ossos sem canal lateral (Kullander, 1986).

O padrão de colorido, baseado na distribuição e quantidade dos melanóforos, é uma característica muito útil para a identificação de espécies de *Apistogramma*. Ready et al. (2006) ao utilizar o padrão de colorido e caracteres genéticos para diferenciar populações de *Apistogramma caetei*, identificou três populações, as quais também foram comprovadas pelo acasalamento seletivo, pois as fêmeas de determinada população escolhiam apenas os machos da mesma população. Britzke & Mehanna (2010) analisaram o atual status taxonômico do gênero *Apistogramma*, e apresentam

também a hipótese que o padrão de coloração deve ser mais valorizado na identificação das espécies, mas não sendo esse o único fator a ser considerado, pois duas ou mais formas de coloração de uma mesma espécie podem ser encontradas juntas.

A designação de espécies através de morfótipos de coloração é muito comum nos estudos de ciclídeos africanos, e se estudos futuros confirmarem esse resultado, a riqueza de espécies de ciclídeos sulamericanos pode estar seriamente subestimada.

Cichoki (1976) propõe uma filogenia com base em 62 caracteres e 47 táxons terminais onde *Apistogramma* está próximo aos gêneros *Geophagus*, *Mikrogeophagus* e *Biotodoma* (Fig. 2).

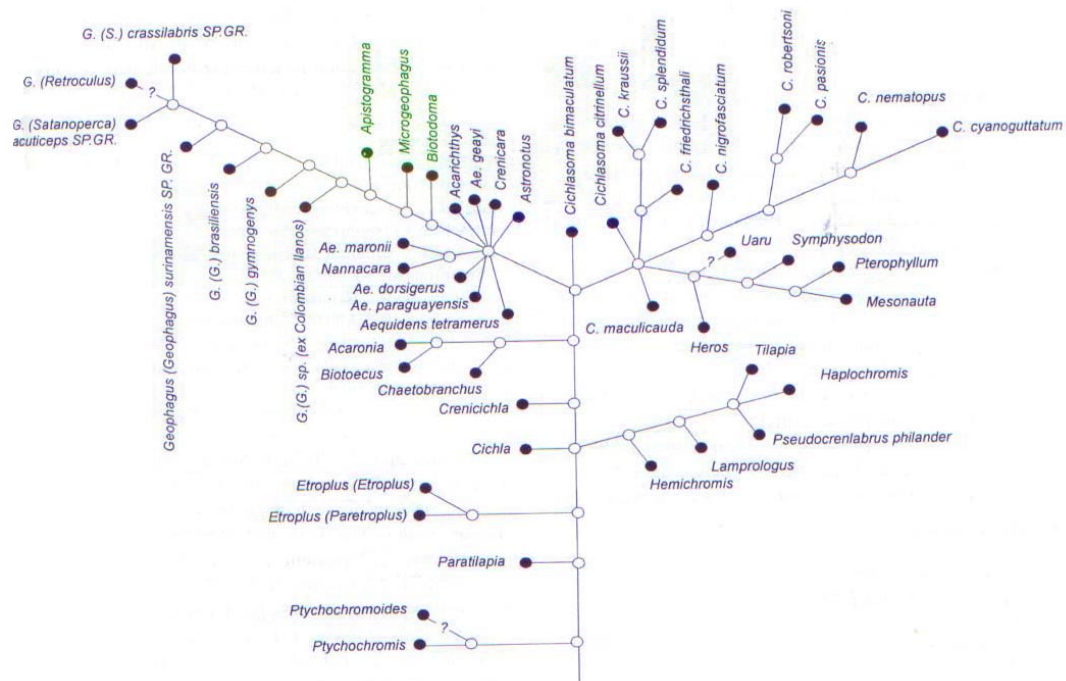


Fig. 2. Relação cladística de ciclídeos segundo Cichocki (1976), adaptado de Kullander (1998).

Nessa análise, Cichoki (1976) rejeita a parcimônia e submete sua matriz a uma análise de grupos, construindo sua árvore de acordo com a compatibilidade de carácter.

Em 1993, Casciotta & Arratia propõem uma árvore de 43 caracteres e 23 táxons terminais, onde *Apistogramma* forma uma politomia com '*Geophagus*' *brasiliensis*, *G. crassilabrus*, *Gymnogeophagus*, *Mikrogeophagus* e *Acarichthys* (Fig. 3).

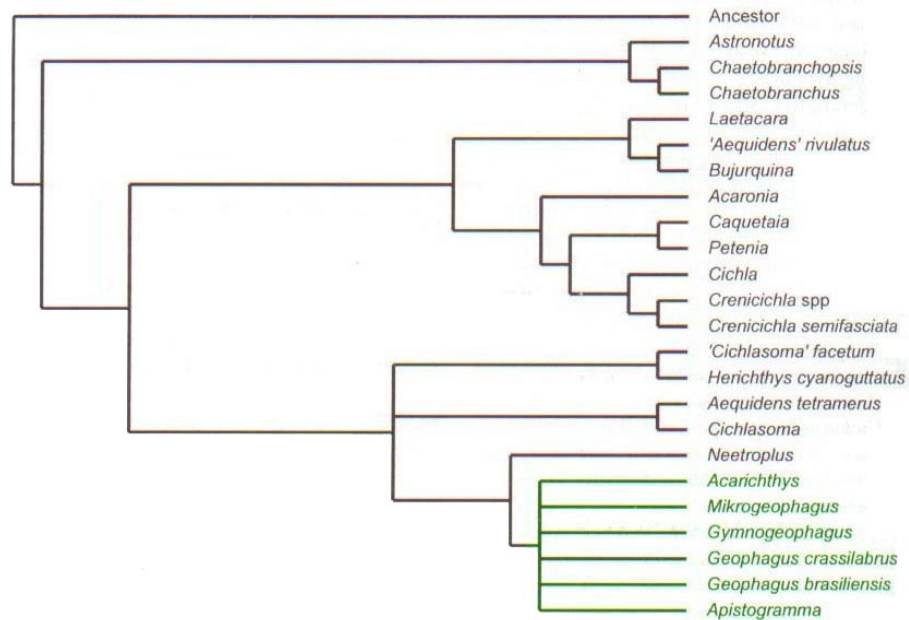


Fig. 3. Árvore de Ciclídeos Neotropicais segundo Casciotta e Arratia (1993, adaptado de Kullander (1998).

Kullander (1998) propõe uma árvore com 91 caracteres e 50 táxons terminais, onde *Apistogramma* forma um grupo com *Mikrogeophagus*, *Geophagus*, '*Geophagus*' *brasiliensis*, '*Geophagus*' *steindachneri*, *Biotodoma*, *Gymnogeophagus* e *Satanoperca*, sendo grupo irmão de *Gymnogeophagus* (Fig. 4).

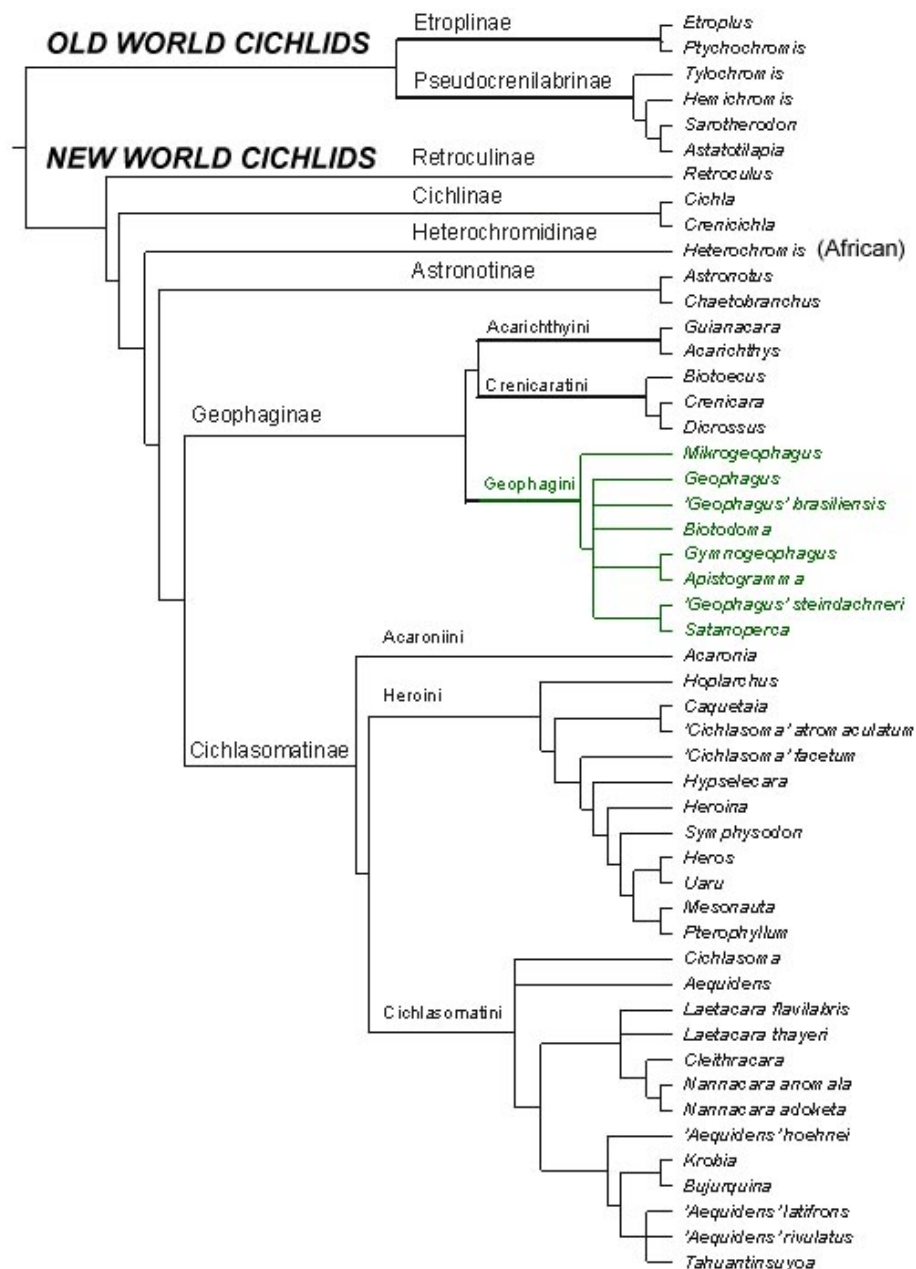


Fig. 4. Árvore filogenética de classificação de ciclídeos sul-americanos segundo Kullander (1998).

Nas filogenias com caracteres moleculares, Farias et al. (2000) utilizando o gene mitocondrial 16S e os microssatélites nucleares Tmo-M27 e Tmo-4C4 em 74 táxons, encontram um clado composto por *Apistogramma*, *Satanoperca* e *Taeniacara* (Fig. 5).

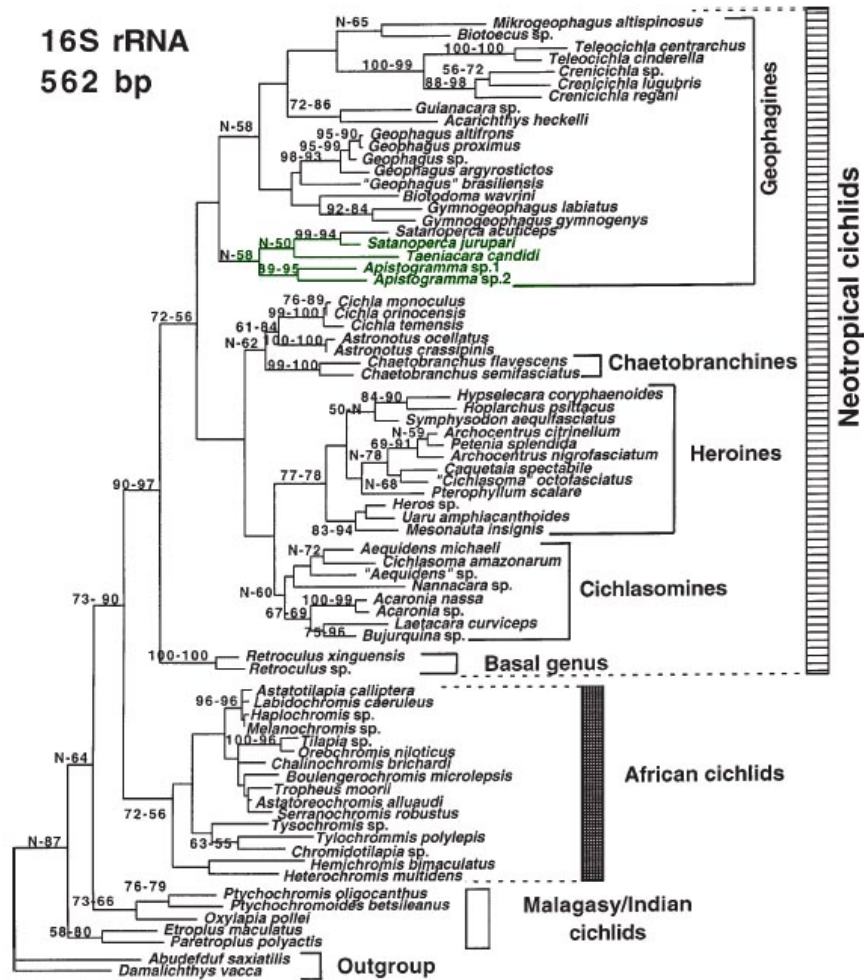


Figura 5. Árvore filogenética da família Cichlidae, segundo Farias et al. (2000).

Farias et al. (2001), utilizando o gene mitocondrial Citocromo B (CytB) em 78 táxons, encontram *Apistogramma* formando um clado com *Acarichthys*, *Biotodoma*, *Satanoperca* e *Taeniacara* (Fig. 6).

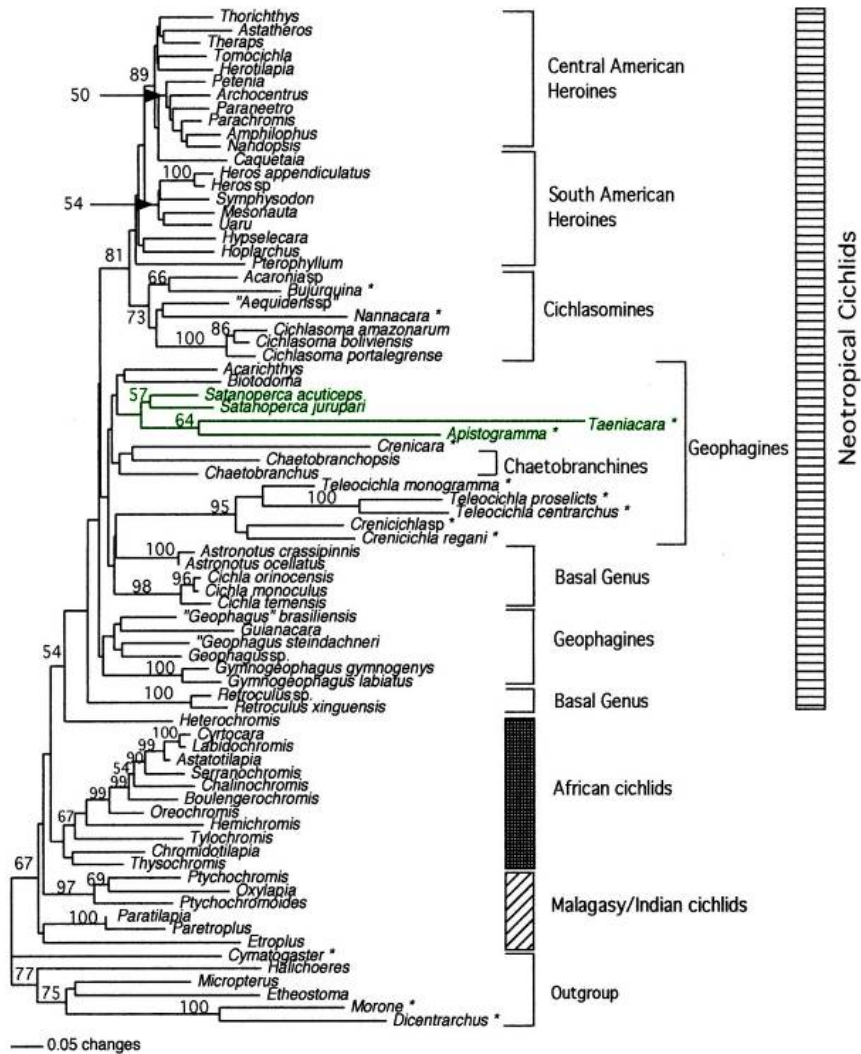


Figura 6. Árvore filogenética da família Cichlidae, segundo Farias et al. (2000).

López-Fernandez et al. (2005a) realizaram uma análise morfológica e molecular (genes 16S, Cytb, ND4 e RAG2; microssatélites Tmo-M27 e Tmo-4C4) do ciclídeos neotropicais, com ênfase nos Geophagines, utilizando um total de 38 táxons, onde encontra um clado formado por *Apistogramma agassizii*, *A. hoignei* e *Apistogrammoides*, sendo grupo irmão de *Taeniacara candidi*. López-Fernandez (2005b) ao utilizar apenas o gene mitocondrial ND4 e nuclear RAG2, utilizando um total de 38 táxons, encontrou a mesma conformação anterior (Fig. 7).

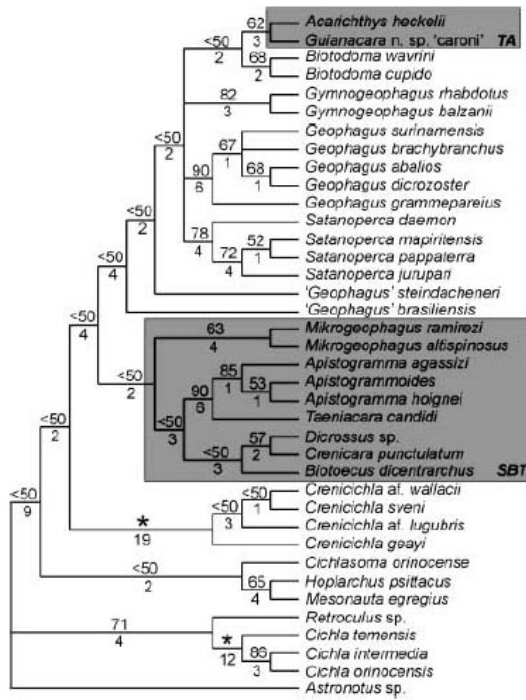


Fig. 7. Árvore filogenética dos ciclídeos neotropicais segundo López-Fernández et al. (2005b).

López-Fernandez (2010), utilizando os genes CytB, ND4, 16S, RAG2 e o íntron S7, utilizando um total de 154 táxons, encontra um grupo formado por *Apistogramma agassizii*, *A. iniridae*, *A. hoignei*, *Apistogrammoides pucallpaensis* e como grupo irmão *Taeniacara candidi* (Fig. 8).

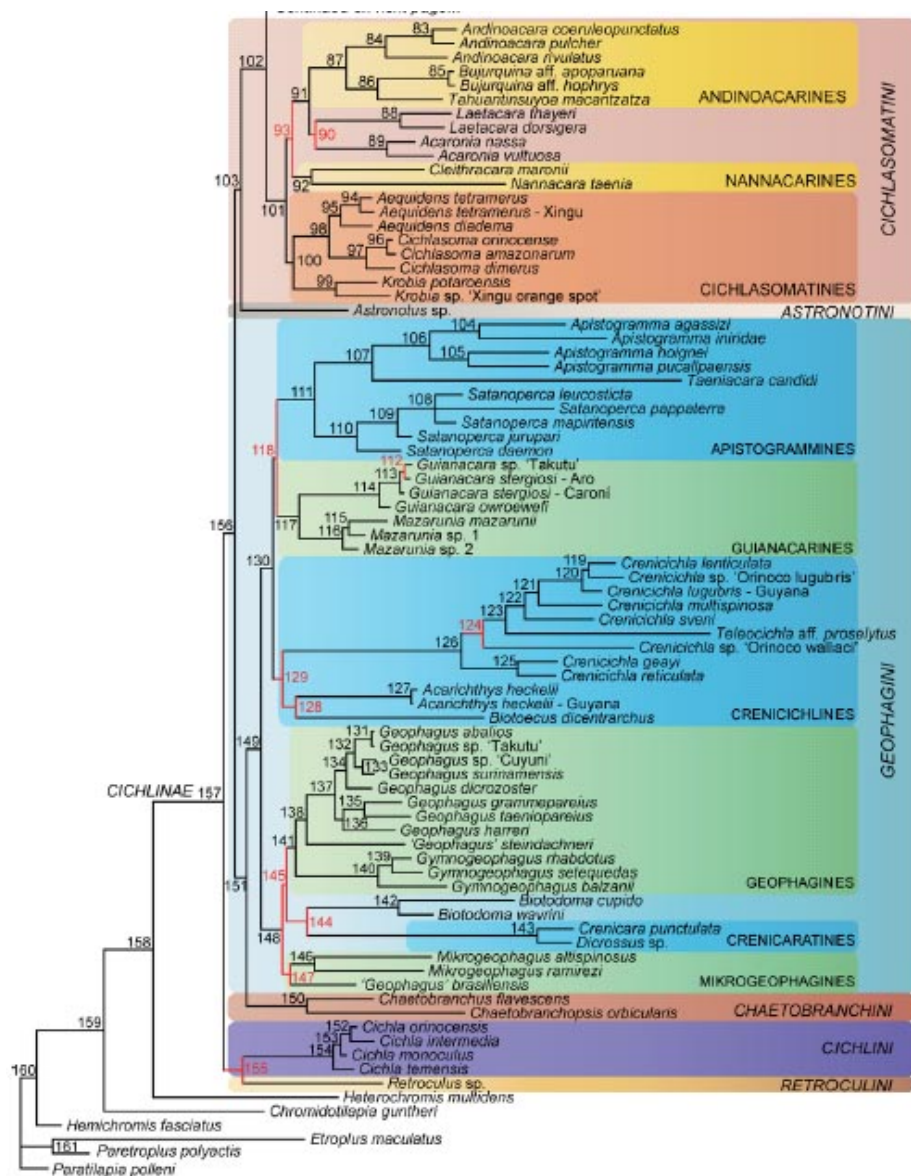


Fig. 8. Árvore filogenética com ênfase nos ciclídeos neotropicais segundo López-Fernández et al. (2010).

Nos trabalhos de López-Fernández et al. (2005a, 2005b, 2010), o gênero *Apistogrammoides* se torna monofilético juntamente com *Apistogramma*, provando que possivelmente este pode se tornar um sinônimo de *Apistogramma*.

No caso do relacionamento entre as espécies do gênero *Apistogramma*, Meinken (1962) erigiu grupos de espécie baseados no diâmetro do olho e em comprimentos diferentes do focinho. Embora seja um agrupamento artificial, estes dados permaneceram a base para identificar as espécies de *Apistogramma* por quase 20 anos. Kullander (1980) propôs um agrupamento baseado em caracteres compartilhados. Listou sete espécies-grupo e diversas espécies que não eram então assinaláveis às espécies-grupo (Grupos Regani, Macmasteri, Combrae, Borelli, Agassizii,

Gibbiceps, Pertensis e Incertae sedis). Schmettkamp (1982) era o primeiro a reconhecer que cada espécie-grupo possui uma distribuição regional, dividindo-os em 11 grupos (Grupos Borelli, Commbrae, Moae, Macmasteri, Gibbiceps, Regani, Pertensis, Agassizii, Steindachneri, *Apistogrammoides* e *Taeniacara*). Koslowski (1985) publicou uma lista de espécies-grupo, sendo esta usada até hoje (Grupos Regani, Agassizii, Pertensis, Borelli, Cacatuoides, Gibbiceps, Pulchra, Macmasteri, Steindachneri, Trifasciata). Igualmente, subdividiu algumas espécies-grupo que chamam estas divisões de “complexos”. Kullander (1986) aumenta mais dois grupos em suas hipóteses, totalizando 10 espécies-grupos e um grupo *incertae sedis* (Grupos Cacatuoides e Nijsseni). Kullander (1980) e Koslowski (1985), entretanto, reconhecem a possibilidade que alguns de seus grupos não serem monofiléticos, mas parecem estreitamente relacionados. Mayland e Bork (1997) reconhecem nove grupos ao todo, os quais eles chamam de complexos (Complexos Regani, Macmasteri, Commbrae, Borelli, Agassizii, Gibbiceps, Pertensis, Steindachneri, Cacatuoides. Staeck (2003) propõe 12 complexos de espécies baseados em todos os agrupamentos disponíveis até essa data (Complexos Agassizii, Bitaeniata, Brevis, Cacatuoides, Commbrae, Eunotus, Iniridae, Macmasteri, Nijsseni, Pertensis, Regani, Steindachneri).

Römer (2006), em uma análise de 116 táxons, encontra o gênero *Apistogramma* dividido em três linhagens filogenéticas; com cinco super-complexos; 20 complexos e 30 subcomplexos (Fig. 9).

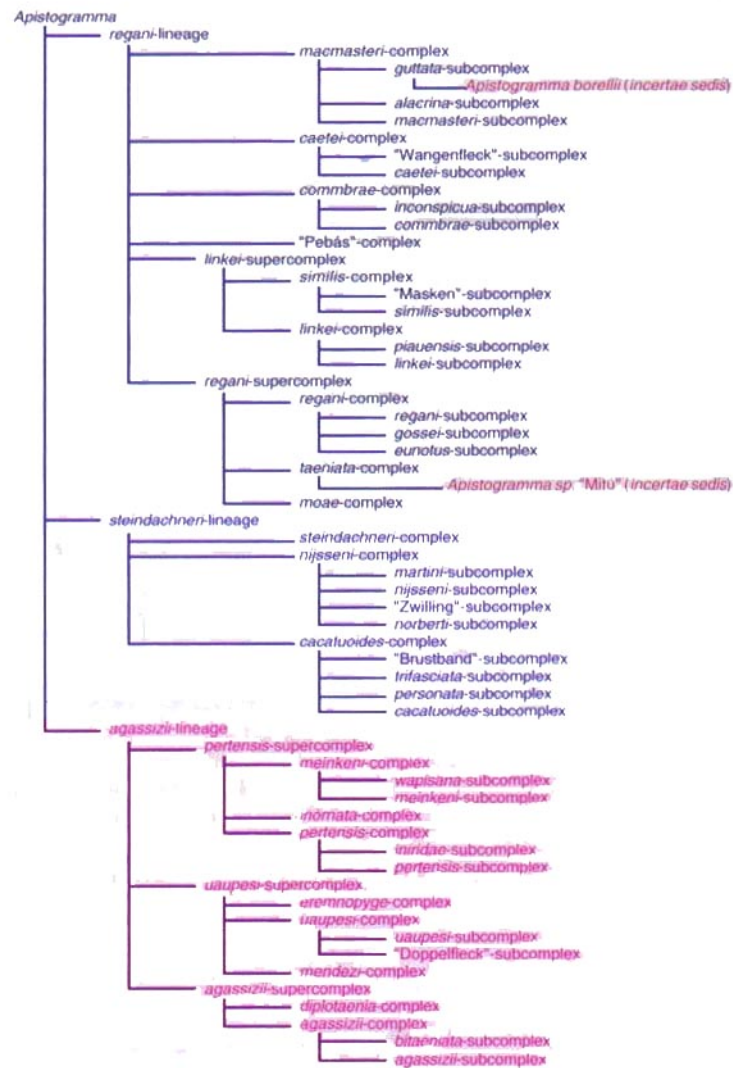


Fig. 9. Árvore filogenética das relações entre as espécies de *Apistogramma* segundo Römer (2006).

Römer (2006) menciona que usa um método filogenético, mas na realidade ele utiliza o método de Ward (método da variância mínima), que faz agrupamentos através da ausência ou presença de caracteres. Este é um método conhecido como taxonomia numérica, pois é utilizado apenas para dados métricos. Se os dados não são métricos, assim como os obtidos pelo autor (baseados em coloração e morfologia corporal), a topologia é obtida com base na coincidência dos dados inseridos, em vez de uma conclusão matemática objetiva.

Miller e Schliewen (2005) propõem uma hipótese de relacionamento molecular entre as espécies do gênero, baseada em um gene mitocondrial e outro nuclear (genes não informados no trabalho). Neste trabalho são utilizados 100 fenótipos de espécies, onde se obtém quatro clados distintos como resultados, sendo alguns parafiléticos e

outros sustentados. Os resultados obtidos são classificados como preliminares pelos autores (Fig. 10), e confirmam a classificação proposta por Koslowski (1985).

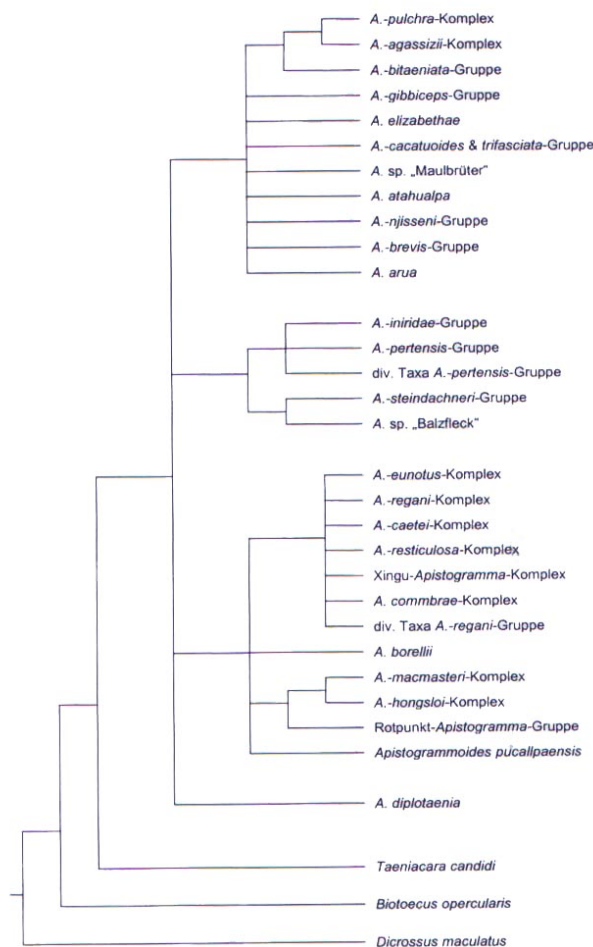


Fig. 10. Árvore filogenética das relações entre as espécies de *Apistogramma*, segundo Miller e Schliewen (2005).

Como até o momento não existem propostas convincentes sobre o relacionamento das espécies do gênero *Apistogramma*, o presente trabalho visa testar este relacionamento com base em dados moleculares.

1.5. Filogeografia de peixes neotropicais

O termo Filogeografia foi proposto por Avise et al. (1987), a partir das observações de que os haplótipos de mtDNA de populações de muitas espécies apresentam localização geográfica específica, introduzindo uma dimensão filogenética nas discussões sobre a estrutura das populações. Com base na distribuição geográfica dos haplótipos de mtDNA e no grau de divergência das sequências, Avise (2000) propôs cinco categorias filogeográficas, considerando os aspectos da divergência de

sequências entre populações alopátricas e simpátricas.

Na categoria I, estão incluídos os casos em que são observadas linhagens de mtDNA muito divergentes, com valores superiores a 1-2%, ocupando áreas geográficas distintas (Alopatria). Na categoria II, está as linhagens de mtDNA divergentes que ocorrem na mesma área geográfica (Simpatria). Na categoria III, ocorrem linhagens de mtDNA com baixos valores de divergência de sequências, com valores menores que 1%, ocupando áreas geográficas distintas (Alopatria). Na categoria IV, estão as linhagens de mtDNA com divergência de sequências muito baixas ou praticamente nulas e que estão geograficamente localizados (Simpatria, com grande área de distribuição). Na categoria V, são encontradas linhagens pouco divergentes exibindo uma separação espacial parcial, sendo intermediária entre as categorias III e IV. De maneira geral, a presença de clones de mtDNA filogeneticamente próximos, reflete a ocorrência de fluxo gênico via materna, ou a presença de barreiras recentes, enquanto descontinuidades genéticas mais profundas podem evidenciar separações populacionais historicamente mais antigas (Avice, 2000).

Ainda de acordo com Avice (2000), 56% (27) das espécies de peixes de água doce analisadas até aquele momento apresentaram padrão filogeográfico de estruturação populacional da Categoria I, enquanto 17 espécies apresentam o padrão filogeográfico da categoria III a V e apenas 4 espécies apresentam o padrão filogeográfico da categoria II. As 48 espécies listadas por Avice (2000) estão distribuídas em sistemas hidrográficos de vários continentes, principalmente Europa e América do Norte.

Nos dias de hoje este cenário mudou consideravelmente para os peixes de água doce da região Neotropical. Sivasundar et al. (2001) estudaram filogeograficamente populações de *Prochilodus lineatus* nos principais rios da América do Sul, principalmente na bacia do Rio Paraná, e sugeriram um elevado nível de variação nucleotídica entre os haplótipos amostrados, sendo possível identificar haplótipos divergentes em simpatria (subpopulações) nos Rios da Plata e Uruguai. Os autores ainda sugerem que as amostras de *P. lineatus* do Rio Mogi-Guaçu (alto Paraná) seriam fortemente relacionadas com os haplótipos encontrados à 2600 km, na região do baixo Rio Paraná na Argentina. Perdices et al. (2002) apresentam um extenso trabalho no gênero *Rhamdia* na América Central, onde as inferências filogenéticas mostraram que *R. nicaraguensis* é sinônimo de *R. laticauda* e sugerem apenas dois clados para a América Central, *R. guatemalensis* e *R. laticauda* e não três como sugeria Silfvergrip (1996). Os autores ainda restringem a distribuição de *Rhamdia quelen* apenas para a região cis-Andina da América do Sul, diferindo de Silfvergrip (1996) e Bockmann e

Guazzelli (2003). Embora o número de espécies analisadas sob o enfoque filogeográfico tenha crescido nos últimos anos (Montoya-Burgos, 2003; Batista e Alves-Gomes, 2006; Hubert et al., 2007; entre outros) a quantidade é ainda inexpressiva perto das cerca de 6000 espécies de peixes de água doce descritas para a região Neotropical, de acordo com Reis et al. (2003).

1.5.1. *Apistogramma agassizii* como modelo filogeográfico

A espécie *Apistogramma agassizii* foi descrita por Steindachner (1875), inicialmente como *Geophagus (Mesops) agassizii*. Sua localidade tipo é considerada a região do Rio Curupirá, Rio Cudajás, Rio Puty, Lago Máximo e Lago Manacapuru (veja Steindachner, 1875). Atualmente a espécie encontrada na localidade do Rio Puty (= Rio Poti, estado do Piauí), se trata da espécie *A. piauienses* (Kullander, 1980).

A distribuição dessa espécie se encontra desde o alto Amazonas no Peru (Bacia do Rio Ucayali, Rio Tapiche e outros), na região de Iquitos (Rio Nanay e outros); na região entre Tabatinga (BR), Letícia (Colômbia) e Pebas (Peru); Rio Putumayo na Colômbia (próximo ao Brasil); e também se distribuindo por todos os afluentes da bacia Amazônica (Rios Juruá, Purus, Madeira, Tapajós, Xingu, Tocantins e Moju) (Fig. 11). A distribuição da espécie se estende até a bacia do Rio Capim e Marapanim (JSR, comunicação pessoal), podendo ser a espécie descrita por Ahl (1931) como *A. parva* (atualmente sinônimo de *A. agassizii*) provenientes de exportadores de peixes ornamentais.

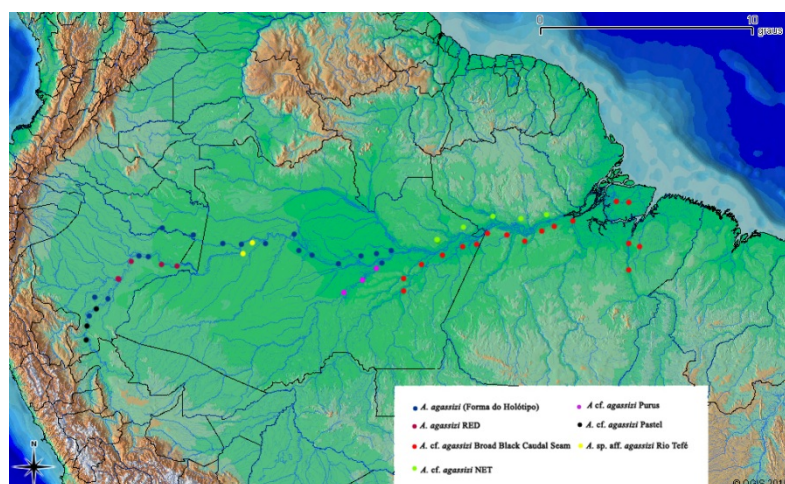


Fig. 11. Distribuição da espécie *Apistogramma agassizii* na bacia Amazônica. Adaptado de Koslowski (2002).

Na bacia do Rio Negro, são encontradas duas espécies muito similares pelo padrão

de cauda lanceolada, *A. elizabethae* e *A. gephyra* descritas por Kullander (1980). A localidade tipo de *A. elizabethae* se encontra na bacia do Rio Uaupés, um afluente do Rio Negro na região de São Gabriel da Cachoeira (AM), enquanto a localidade de *A. gephyra* fica em um pequeno igarapé afluente do baixo Rio Negro, ao sul do arquipélago de Anavilhanas, cerca de 80 km de Manaus (AM). A espécie *A. gephyra*, segundo Kullander (1980) possui similaridade morfológica muito evidente com *A. agassizii* e também com *A. pertensis*, também sendo encontrada na região de Santarém, lago Jurucuí segundo Mayland e Bork (1997).

A distribuição de *A. agassizii*, segundo Mayland e Bork (1997) também ocorre na região do arquipélago de Anavilhanas, na localidade tipo de *A. gephyra*, pois em uma coleta realizada pelos autores, os exemplares capturados foram enviados para identificação, sendo todos identificados como *A. agassizii* por Kullander, tornando o status de espécie válida de *A. gephyra* algo duvidoso.

A espécie *A. agassizii* também possui padrões de coloridos específicos de algumas regiões, como a forma de coloração azul-branca encontrada na área da cidade de Manaus, próximo à foz do Rio Negro. A forma de coloração amarela encontradas em várias localidades, principalmente a região de Santarém e na bacia do Rio Tefé. E a forma de coloração vermelha, encontradas nos afluentes do Peru e Colômbia do alto Amazonas (Rios Tapiche, Napo, Ucayali e Yavari entre outros). Koslowski (2002) descreve várias características diagnósticas para separar diferentes populações de *A. agassizii*, baseado principalmente na nadadeira caudal e coloração, sendo a principal delas a linha negra na nadadeira caudal (Fig. 12).

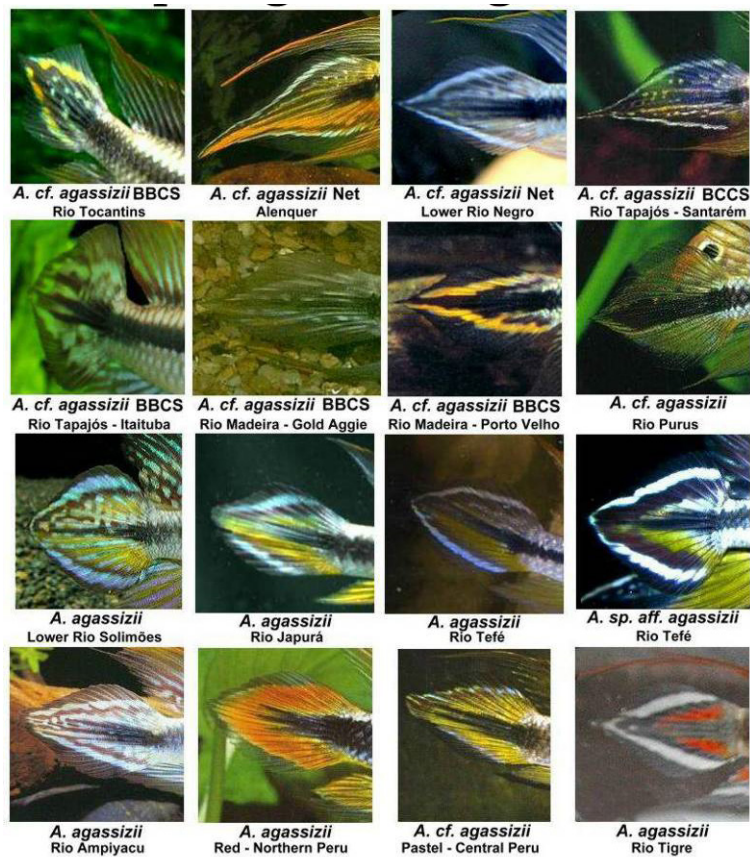


Fig. 12. Padrão de coloração da nadadeira caudal de *Apistogramma agassizii* na bacia Amazônica. Adaptado de Koslowski (2002).

Esta espécie ocupa vários ecossistemas e habitats diferentes da Amazônia, estando presente em rios de águas claras, negras e brancas (Kullander, 1986), em águas rasas; e associadas aos bancos de macrófitas flutuantes nas áreas mais profundas (Röpke et al. 2014). Com essa ampla abrangência territorial e ecológica, são fatores que reforçam a necessidade de um amplo estudo filogeográfico em *Apistogramma agassizii* e o torna um excelente modelo para estudos de estrutura de populações e história evolutiva em peixes Neotropicais.

2. Objetivos

Com base no atual estado de conhecimento do gênero *Apistogramma*, como exposto acima, são objetivos principais:

- 1) Testar as espécies do gênero *Apistogramma* e encontrar possíveis novas espécies pela técnica de DNA Barcode;
- 2) Estudar as relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Apistogramma* e destas com espécies de gêneros possivelmente relacionados;
- 3) Realizar uma análise filogeográfica usando *A. agassizii* como modelo de estudo;

3. Materiais e métodos

3.1 Materiais

O material utilizado encontra-se depositado no Laboratório de Biologia e Genética de Peixes (LBP), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista – campus Botucatu; no Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará (UFPA) – Campus de Bragança; Academy of Natural Science of Philadelphia (ANSP); Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), Royal Ontario Museum (ROM), Museu de Ciência e Tecnologia da PUC (MCP) e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

3.2 Métodos

3.2.1 Análises morfológicas

Os dados morfológicos, merísticos e de colorido foram mensurados conforme Kullander (1980), Kullander (1986), Kullander & Nijssen (1989) e Römer (2006). As medidas foram feitas no lado esquerdo de cada espécime com paquímetro de calibre digital sob um microscópio binocular. A diafanização foi realizada de acordo com Taylor e Van Dyke (1985), e terminologia osteológica segundo Kullander (1986) e López-Fernandez et al. (2005). Para as descrições e a correta identificação das espécies, foi utilizada a chave de identificação para o gênero *Apistogramma* contida em Kullander (1980), Kullander (1986), Kullander & Nijssen (1989) e Römer (2006) e nas descrições originais das espécies.

3.2.1 Análises moleculares

Uma pequena amostra de tecido foi utilizada de espécimes preservados em etanol 96%. A extração de DNA foi realizada pela plate glass fiber DNA seguindo o protocolo de extração de Ivanova et al. (2006). Foram utilizados os primers Fish F1 e Fish R1 (Ward et al. 2005); L14841 e H15915 para o gene CytB (Kocher et al., 1989); L11935 e H12857 para o gene ND4 (Bielawsky et al., 2002; López-Fernández et al., 2010) e16Sa-L, and 16Sb-H (Palumbi et al., 1991) para o gene 16S rRNA. As amplificações foram feitas com um volume total de 12.5µl, contendo 1.25µl of 10 X PCR buffer, 0.25µl of MgCl₂ (50 mM), 0.2 µl dNTPs (2 mM), 0.5 µl de cada primer (5 mM), 0.1µl de 1.25 U de PHT DNA Taq polymerase, e 1µl de DNA genômico (200 ng). Os ciclos de PCR foram estabelecidos com as seguintes condições: 94°C x 5 min,

35 ciclos of 94°C for 40 s, 50°C-52°C for 30s, 72°C for 1 min, and 72°C for 8 min. Todos os produtos de PCR foram primeiramente visualizados em um gel de 1% de agarose e então purificados usando ExoSap-IT® (USB, Affymetrix Corporation, Cleveland, Ohio) seguindo as instruções do fabricante. Os produtos de PCR purificados foram sequenciados utilizando a enzima BigDye™ Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems). Subsequente, a amplificação de DNA foi purificada novamente e sequenciada em um sequenciador automático 3130-Genetic Analyzer (Applied Biosystems), no Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo. Os contigs foram montados e editados no programa Geneious v5.5.6 (Drummond et al., 2011). Para o alinhamento de sequências foi utilizado o algoritmo Muscle com os parâmetros padrão (Edgar 2004), e os alinhamentos foram inspecionados um a um para encontrar qualquer desalinhamento e então corrigi-los.

3.2.3 Análise filogeográfica

Nesta análise utilizamos os genes mitocondriais Citocromo B (CytB) e Citocromo Oxidase Subunidade I (COI). Foram utilizados um total de 104 indivíduos entre *A. agassizii* e *A. gephyra*. Para a análise estatística foram utilizados os softwares DNAsp Sequence Polymorphism (Rozas et al. 2003) e Arlequin 3.1 (Excoffier et al. 2005), que resultaram na determinação do número de haplótipos (Nh), número de sítios polimórficos (Nsp), diversidade gênica e nucleotídica, análise de variância molecular (AMOVA), teste de neutralidade (FS de FU e D de Tajima) e índices de fixação interpopulacional (FST). Adicionalmente foi construída uma rede de haplótipos no programa NETWORK 4.6 (Polzin & Vahdati, 2004). Para datar a história da diversificação de *Apistogramma agassizii* uma taxa de substituição nucleotídica de 0,0076 mutações/sítio/milhões de anos (segundo Zardoya & Doadrio (1999)) foi utilizada no programa Mega 5.1 (Tamura et al., 2011)

4. Resultados e Discussão

4.1. Taxonomia do gênero *Apistogramma*

4.1.1. Descrição de *Apistogramma* sp. Peixoto, manuscrito a ser submetido na revista *Neotropical Ichthyology*.

***Apistogramma* sp. Peixoto (Teleostei: Cichlidae), a new species from the upper Tapajós Basin, central Brazil.**

RICARDO BRITZKE¹ & JONATHAN S. READY²

1. *Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Morfologia, Rubião Jr. s/n. CEP 18618-970. Botucatu, SP, Brazil. E-mail: britzker@gmail.com*
2. *Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Rua Augusto Corrêa 01, Guamá. CEP 66075-110. Belém, PA, Brazil. E-mail: jonathan.ready@gmail.com*

Abstract

Apistogramma sp. Peixoto, new species, is described from small stream tributaries of the Peixoto de Azevedo River (upper Tapajós basin), in central Brazil. It belongs to the *Apistogramma regani* species group and is distinguished from all other species of *Apistogramma* by the combination of an interrupted lateral band, the absence of abdominal stripes, the presence of inconspicuous rows of small dots similar to vertical stripes in the caudal fin and the presence of intense dark pigmentation on the ventral surfaces from the gular region to the origin of the pelvic fins in females.

Resumo

Apistogramma sp. Peixoto, nova espécie, é descrita a partir de um pequeno córrego afluente do Rio Peixoto de Azevedo (bacia do alto Rio Tapajós), no Brasil central. Pertence ao grupo de espécies *Apistogramma regani* e se distingue de todas as outras espécies do gênero *Apistogramma* pela combinação dos seguintes caracteres: faixa lateral interrompida, ausência de listras abdominais, presença de linhas discretas em formato de pequenos pontos semelhantes a listras verticais na nadadeira caudal e presença de intensa pigmentação escura na superfície ventral da região gular até a origem das nadadeiras pélvicas em fêmeas.

Keywords: Amazon, Freshwater, Morphology, Taxonomy.

Introduction

The South American genus *Apistogramma* Regan (1913) is one of the most species rich genera of cichlids, with 86 valid species (Britzke *et. al.*, 2014; Varella & Sabaj Pérez, 2014) and many undescribed species recognized in the aquarist literature (Kosłowski, 2002; Römer, 2006). The number of records of this genus from the principal tributaries of the Amazon River which originate from the Brazilian and Guiana shields (Madeira, Tapajós, Xingu, Tocantins, Trombetas and Jari rivers) is much lower than the number of records from the Western Amazon lowlands or the Negro River (Kullander & Ferreira, 2005). Species of the genus *Apistogramma* from rivers of the Brazilian shield, are mainly described from the Madeira River basin, including: *Apistogramma erythrura* Staeck & Schindler, 2008; *A. inconspicua* Kullander, 1983; *A. linkei* Kosłowski, 1985; *A. pulchra* Kullander, 1980; *A. resticulosa* Kullander, 1980; *A. rubrolineata* Hein, Zarske & Zapata, 2002; *A. similis* Staeck, 2003; *A. staECKi* Kosłowski, 1985 and *A. urteagai* Kullander, 1986. *Apistogramma tucurui* Staeck, 2003 was described from the lower Tocantins River and *Apistogramma taeniata* (Günther, 1862) was described from the lower Tapajós River. Kosłowski (2002) presents several undescribed species found in the Xingu, Tapajós and Araguaia rivers. We describe here a new species of *Apistogramma* collected recently from tributaries of the Peixoto de Azevedo River, upper Tapajós basin, central Brazil.

Material and methods

Measurements and counts were taken as described by Kullander (1980, 1986). Values in the parentheses indicate the number of specimens with a particular count and an asterisk indicates values of the holotype. Specimen lengths are given as standard length (SL). Scale rows are numbered as described by Kullander (1990). Counts of external openings of the infraorbital lateralis canal refer to the postlachrymal number, i.e., excluding the opening shared by the posterior lachrymal lateralis foramen and the anterior foramen of the first infraorbital bone. Color marking terminology follows Kullander (1980, 1986). For osteological observations, cleared and stained (c&s) specimens were prepared according to Taylor & Van Dyke (1985).

Institutional abbreviations: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Brazil (MZUSP).

***Apistogramma* sp. Peixoto new species**

(Figs. 1–8)

Apistogramma sp. “Peixoto” - Koslowski, 2002: 114-115.

Holotype. MZUSP xxx, 59.0 mm SL; Brazil, Pará State, Novo Progresso: Tributário do Rio Braço Norte, afl. Rio Peixoto de Azevedo, bacia do Teles Pires, na ponte da BR163, próximo a FAB, 09° 25' 55.0" S, 54° 52' 11.0" W, 19 October 2007. Coll. Birindelli, Sousa, Netto-Ferreira, Sabaj-Perez, Lujan.

Paratypes. All from Brazil. MZUSP 116052, 09, 28-161.7 mm SL; Brazil, Pará State, Novo Progresso: Tributário do Rio Braço Norte, afl. Rio Peixoto de Azevedo, bacia do Teles Pires, na ponte da BR163, próximo a FAB, 09° 25' 55.0" S, 54° 52' 11.0" W, 19 October 2007. Coll. Birindelli, Sousa, Netto-Ferreira, Sabaj-Perez, Lujan.

MZUSP 116053, 20, 26.6-53.35 (c&s) mm SL; Brazil, Pará State, Novo Progresso: Tributário do Rio Braço Norte, afl. Rio Peixoto de Azevedo, bacia do Teles Pires, na ponte da BR163, próximo a FAB, 09° 28' 20.0" S, 54° 52' 11.0" W, 19 October 2007. Coll. Birindelli, Sousa, Netto-Ferreira, Sabaj-Perez, Lujan.

Non-type material. MZUSP 96828, 43, 13.7-48.3 mm SL. Brazil, Pará State, Novo Progresso: Tributário do Rio Braço Norte, afl. Rio Peixoto de Azevedo, bacia do Teles Pires, na ponte da BR163, próximo a FAB, 09° 25' 55.0" S, 54° 52' 11.0" W, 19 October 2007. Coll. Birindelli, Sousa, Netto-Ferreira, Sabaj-Perez, Lujan.

MZUSP 96846, 141, 13,0-46,7 mm SL. Brazil, Pará State, Novo Progresso: Tributário do Rio Braço Norte, afl. Rio Peixoto de Azevedo, bacia do Teles Pires, na ponte da BR163, próximo a FAB, 09° 28' 20.0" S, 54° 52' 11.0" W, 19 October 2007. Coll. Birindelli, Sousa, Netto-Ferreira, Sabaj-Perez, Lujan.

Diagnosis

A species of the *Apistogramma regani* species group. *Apistogramma* sp. Peixoto are very similar in general counts and body shape to *A. acrensis* Staeck, 2003; *A. eunotus* Kullander, 1981; *A. geisleri* Meinken, 1971; *A. gossei* Kullander, 1982; *A. regani* Kullander, 1980; *A. resticulosa* Kullander, 1980. *Apistogramma* sp. Peixoto differs from *A. acrensis* by the absence of abdominal stripes (vs. presence of three indistinct narrow abdominal stripes along the central portion of the body, an interrupted lateral band (vs. normal lateral band) and the presence of inconspicuous rows of small dots similar to vertical stripes (vs. conspicuous vertical stripes). Differs from *A. eunotus* by having an interrupted lateral band (vs. normal lateral band), the presence of inconspicuous rows of small dots similar to vertical stripes in the caudal fin (vs.

absence of vertical stripes or small dots). Differs from *A. geisleri* by having an interrupted lateral band (vs. normal lateral band) and by the absence of a small pectoral spot (vs. presence). Differs from *A. gossei* by the absence of abdominal stripes (vs. presence) and the presence of inconspicuous rows of small dots similar to vertical stripes in the anal fin (vs. absence). Differs of *A. regani* by the absence of abdominal stripes (vs. presence of three rows) and a rounded caudal spot (vs. caudal spot extended vertically). Differs from *A. resticulosa* by the absence of abdominal stripes (vs. presence of indistinct narrow abdominal stripes). The mature females present similar coloration with *A. alacrina* Kullander (2004), *A. guttata* Antonio C., Kullander & Lasso A. (1989) and *A. viejita* Kullander (1979). Females differs from these three species by the presence of intense dark pigmentation on ventral surfaces from the gular region to the origin of the pelvic fins (vs. presence of pigmentation only in the chest until the origin of the pelvic fins). Another species in which mature females show similar coloration is *A. kullanderi* Varella & Sabaj Pérez (2014) due to the vertical bars in life coloration. Differs of *A. kullanderi* by presence of vertical bars only in the upper area of lateral band (exception of three last vertical bars) in life coloration; by no present visible vertical bars when fixed; and by no present intense black marks in abdominal region.

Description

Morphometric and meristic data presented in Table 1. Body moderately deep, laterally compressed. Snout triangular in lateral view. Predorsal outline straight, but in some adult males slightly elevated. Dorsal-fin base outline straight and gently curved. Pre-pelvic gently curved. Lateral line canal system on the head: dentary with 5 pores; anguloarticular canal 2 pores; infraorbital canal 4 pores. E1 row scales 22(14), 23 (16). Tube-bearing scales in upper lateral line 11 (5), 12 (7), 13 (3), 14 (9), 15 (4). Pore-bearing scales in upper lateral line 1 (2), 2 (11), 3 (9), 4 (5), 5 (1). H1 row scales 8 (12), 9 (12), 10 (6). Tube-bearing scales in lower lateral line 3 (1), 4(3), 5 (1), 6 (5), 7 (8), 8 (9), 9 (3). Pore-bearing scales in lower lateral line 1 (15), 2(11), 3 (2), 4 (2). Predorsal scales 9–10. Prepelvic scales 7–9. Circumpeduncular scale rows 16. Dorsal-fin rays XV.6 (17), XVI.6 (12), XVI.7 (1). Anal-fin rays III.6 (20), III.7 (10). Pectoral fin rounded, pectoral fin rays 12 (14), 13 (16). Pelvic fins with slightly extended tips that reach the anal fin. Dorsal fin relatively low, first spine half the length of last spine, relative spine length increasing from first to third spines, lappets of first, second and third spines less than half length of respective spine, gently curved. Dorsal spines sub-

equal in length from the fourth to fifth then slowly increasing in length to last. In adult males third to sixth lappets extended. Soft dorsal fin with bifurcate rays, posterior branch of second and branch of third ray forming long filamentous tip reaching up to halfway along the caudal fin. Gill rakers externally on first gill arch: 5 on lobe, 1 in angle, and 2 (5) on ceratobranchial. Vertebrae 10+11=21 (1).

Color in alcohol

Basic colour of body beige in both sexes. Head usually slightly darker than body. Lips in both sexes grey. Males show light reticulated pattern associated with the scales above lateral band. Lateral band normally inconspicuous and intermittent, separated by light interspaces. Bars only present in middle part of body, where most distinct dorsally from lateral band. Caudal spot inconspicuous, with vertical rectangular format. Lateral band normally inconspicuous and intermittent, originates from narrow postorbital stripe, about one to one ½ scales deep, extending posteriorly into caudal peduncle. Suborbital stripe to edge of opercle. Moderately wide distinct superorbital stripe running from eye to pectoral axilla. Dorsal fin dusky with some light spots posteriorly, not forming conspicuous terminal spot stripes; anal fin similar. Lappets of two anterior dorsal fin spines black, darker areas basally between spines at dorsal limit of bars. Caudal fin dusky with inconspicuous vertical stripes, generally more evident in live exemplars and not in fixed exemplars. Pectoral fin transparent. Pelvic fin mainly hyaline, with spine and membranes of anterior soft rays light grey. No abdominal markings. Adult females generally have 4–5 blotches along lateral bars, in middle region of body. Suborbital stripe almost entirely incorporated into dark coloration masking lower head. Females also have dark pigmentation along the first to fifth rays of dorsal fin, and intense dark pigmentation of ventral surfaces from the gular region to the origin of the pelvic fin and a black line starting after the end of the pelvic fin, continuing until the border of the third ray of the anal fin.

Color in life

Males (Fig. 5 and 8). Basic colour of body greenish yellow with beige edges to the scales. Majority of mid-body scales with iridescent bluish-white central portion. Lips grey. In the head, black line extended around the eyes between the suborbital stripe and the lateral band. Cheek showing an irregular pattern of dots and lines red to bluish white. No anterior distinct bars, bars becoming distinct in posterior part of the body, above lateral band. Dorsal fin with dark distal margin, general coloration with

beige and white. Posterior part of dorsal fin yellowish with some light spots. Anal fin with light cream color, posterior part with some light spots. Caudal spot conspicuous with vertical rectangular format. Caudal fin orange-yellowish with a gray vertical line at the border. Pectoral fin transparent. Region of the insertion of the pectoral fin yellowish. Pelvic fins with light yellow color, with spine and membranes of first rays light-grey. No distinct midventral stripe. No abdominal markings.

Females (Fig. 8). Basic colour of body yellow with black markings. Black marginal colour of pelvic fins clearly visible. Dorsal fin yellow with dark distal margin. The first to fourth-rays of dorsal fin black. In dorsal flank, the beginning of bars 2, 3 and 4 are black. The vertical bar 5, 6 and 7 are black from the dorsal to the anal fin. First spine and membrane of pelvic fin black, and remainder yellow. Caudal fin yellow. Adult females generally have 5-6 blotches along the lateral sidebars, found in the middle to posterior region of the body. Caudal spot with vertical rectangular format. No abdominal markings. Breeding females showed yellow coloration in the body; dark pigmentation from the gular region to anal-fin origin and posteriorly from the posterior margin of the pelvic fin to the anal fin, including the border of the first 3-4 rays of the anal fin; 5-6 black vertical bars in the posterior area of the body, between dorsal fin and lateral band, although some bars show less intense coloration in the central part.

Etymology.

Coming soon.

Distribution and habitat. *Apistogramma* sp. Peixoto is known from a tributary of the Rio Peixoto de Azevedo, affluent of the Teles Pires River, municipality of Novo Progresso, Pará state, Brazil. All specimens were collected in lentic habitats of creeks or Igarapés (Fig. 6). According to Uwe Werner, the species (as *Apistogramma* sp. "Peixoto") inhabits acid water, pH 6.0, water temperature 24-25°C (Kosłowski, 2002). Species collected together with *Apistogramma* sp. Peixoto were *Astyanax saltor*, *Characidium* cf. *declivirostris*, *Cetopsorhamdia* sp., *Gymnotus* cf. *carapo*, *Harttia* cf. *dissidens*, *Harttia* sp., *Hyphessobrycon cachimbensis*, *Knodus* sp., *Leporinus* cf. *granti*, *Leporinus* cf. *octomaculatus*, *Rivulus* cf. *zygonectes*, *Synbranchus* sp.

Discussion

Apistogramma sp. Peixoto is the first species described from the upper Tapajós basin, (Peixoto de Azevedo River). The species differs of others species of the genus in

having a relatively deep body, interrupted lateral band, absence of abdominal stripes, presence of inconspicuous rows of small dots similar to vertical stripes and black line extended around the eyes between the suborbital stripe and the lateral band.

With regard to the coloration, males of *Apistogramma* sp. Peixoto showed a lateral band intermittently separated by light interspaces, features found in the *A. macmasteri* species group (*A. macmasteri*, *A. viejita* and other species). The *A. macmasteri* species group are characterized by a moderately deep body, pectoral scales, three rows of teeth in the jaws, 1-4 gill rakers, vertical bars present, caudal spot present, caudal fin rounded, males with prolonged anterior dorsal fin lappets and females with a dark spot on the chest (Kullander, 1979). The mature females of *Apistogramma* sp. Peixoto also show colouration similar to that found in the *A. macmasteri* species group, with a dark mark on the chest and a black edge to the anal fin. Even though they share many features of coloration with the *A. macmasteri* species group, the males of *Apistogramma* sp. Peixoto do not have a modified dorsal fin, one of the characteristics of this group, and possess the dorsal fin pattern typically found in the *A. regani* species group. Mature females possess an intense dark pigmentation throughout the ventral surfaces from the gular region to the origin of the pelvic fin, while females of the *A. macmasteri* group only have black markings on the chest. Mature females of *Apistogramma* sp. Peixoto also exhibit a distinctive color pattern with intense black markings on the last three vertical bars and the suborbital stripe incorporated into dark coloration masking lower head black, similar to *A. baenschi* of the *A. nijsseni* species group. Specimens of the *A. regani* species group and *A. macmasteri* species group share a plesiomorphic character of the genus, with four infraorbital pores, five dental pores and two anguloarticular pores. *A. baenschi* have three infraorbital pores, and are consequently excluded from the *A. regani* species group.

With these characteristics sensu Kullander (1979, 1980) we conclude that *Apistogramma* sp. Peixoto conforms to the *Apistogramma regani* species group which is diagnosed by the presence of vertical bars, a lateral band, head stripes radiating from the orbit (suborbital, preorbital, postorbital, supraorbital), a dark spot in the anterior of the dorsal fin, 3–4 rows of jaw teeth, tubed scales in the lower lateral line, a relatively deep body, 1–4 ceratobranchial gill rakers, and an absence of both a chest spot and lateral spot (Kullander 1980: 48).

Apistogramma sp. Peixoto seems to be endemic to the sub-basin of the Rio Peixoto de Azevedo, not being collected in other tributaries of the Teles Pires river basin. The cause for this limited distribution and isolation in one drainage is likely to be related to

characteristics common to the genus, with extremely low dispersal (Henderson & Walker, 1999) and a probable combination of local environmental adaptations with strong sexual selection through mate choice (Ready *et al.* 2006).

Comparative material.

Apistogramma acrensis: MCP 29419, 2, 30-32 mm SL, Brazil, Acre state, Rio Purus Basin, Rio Branco, açude da UFAC. *Apistogramma caetei*: LBP 9437, 5, 28.7–38.7 mm SL, Brazil, Pará state, Tracuateua, Rio Caeté basin, Igarape Cajueirinho. *Apistogramma commbrae*: LBP 11493, 1, 25.5 mm SL, Brazil, Mato Grosso state, Poconé, Rio Cuiabá basin. LBP 5233, 5, 24.5–26 mm SL, Brazil, Paraná state, Porto Rico, Rio Paraná basin. MCP 22849, 1, 25 mm SL, Brazil, Rio Grande do Sul state, Uruguaiana, Rio Uruguay basin. *Apistogramma eunotus*: LBP 17750, 1, 44.6 mm SL, Peru, Loreto, quebrada on the Carretera Campo Verde to Tournavista. *Apistogramma ortmanni*: ROM 91427, 1, 43.5 mm SL, Guyana, Mikobe creek, approx. 0.5 km u/s from mouth. *Apistogramma regani*: LBP 17856, 2, 18.9–25.2 mm SL, Brazil, Amazon state, Iranduba, confluence of Rio Solimões and Rio Negro. *Apistogramma resticulosa*: LBP 11468, 5, 27–30 mm SL, Brazil, Amazon state, Humaitá, Rio Madeira basin. MCP 38440, 2, 25-27 mm SL, Brazil, Rondonia state, Porto Velho, Tributário do rio São Sebastião na BR-364. *Apistogramma taeniata*: LBP 14255, 5, 13.1–25 mm SL, Brazil, Pará state, Itaituba, Lagoa da Vila, Rio Tapajós basin. MZUSP 22064, 2, 25–27 mm SL, Brazil, Pará state, Monte Cristo, Lagoa de Santa Clara. MZUSP 9219, 1, 23 mm SL, Brazil, Pará state, Santarém, Rio Maicá, Rio Tapajós basin. *Apistogramma urteagai*: ROM 82818, 1, 24.5 mm SL, Peru, Madre de Dios, Tambopata Natural Reserve, Kati Cocha. *Apistogrammoides pucallpaensis*: MCP 27277, 1, 25.5 mm SL, Peru, Loreto, Ucayali, Pacaya-Samiria Natural Reserve, Rio Pacaya.

Acknowledgements

Thanks to J.L.O. Birindelli, N.K. Lujan, A. Netto-Ferreira, L.M. Souza and M.H. Sabaj-Perez for collecting the type series. Special thanks to J.L.O. Birindelli for photographs of live specimens and the type locality, Uwe Werner for photographs of live specimens in aquaria and Mauro Nirchio for helping on the preparation of fig. 3 and 4. Claudio Oliveira (LBP); Hernán López-Fernández, Don Stacey and Erling Holm (ROM); Henrique Varela, Osvaldo Oyakawa and Michel Gianeti (MZUSP); Carlos Lucena (MCP) for help and loan of part of the material used in this study.

Fieldwork supported in part by the All Catfish Species Inventory (NSF DEB-0315963). Visit to MCP collection is supported by Projeto Qualificação taxonômica da base de dados da coleção de peixes do Museu de Ciências e Tecnologia – PUCRS para uso on-line (Chamada MCT/CNPq no 45/2012. processo: 504177/2012-5). RB is financially supported by FAPESP (Proc. 2011/00269-4). JSR acknowledges support from the Aquatic Faunal Survey of the Lower Amazon (NSF DEB-1146374)

Literature cited

- Antonio C., M. E., S. O. Kullander and C. A. Lasso A. 1989. Description of a new *Apistogramma* species (Teleostei-Cichlidae) from the Morichal River Slong in Venezuela. *Acta Biologica Venezuelica* v. 12 (nos 3-4): 131-139.
- Britzke, R.; Oliveira, C.; Kullander, S.O. 2014. *Apistogramma ortegai* (Teleostei: Cichlidae), a new species of cichlid fish from the Ampyiacu River in the Peruvian Amazon basin. *Zootaxa* v.3869, p. 409-419.
- Günther, A. C. L. G. 1862. Catalogue of fishes in the British Museum. 4. Trustees of the British Museum, London.
- Hein, G., Zarske, A. & Zapata, J. 2002. *Apistogramma rubrolineata* sp. n. – Ein neuer Buntbarsch (Teleostei: Perciformes: Cichlidae) aus dem Rio Manuripi, Departamento Pando, in Bolivien. – *Das Aquarium*, 36(12) (402): 15 – 19.
- Henderson, P. A., & Walker, I. 1990. Spatial organisation and population density of the fish community of the litter banks within a central Amazonian blackwater stream. *Journal of Fish Biology* 37:401–411.
- Koslowski, I. 1985. Descriptions of new species of *Apistogramma* (Teleostei: Cichlidae) from the Rio Mamoré system in Bolivia. *Bonner Zoologische Beiträge* v. 36 (nos 1–2): 145–162.
- Koslowski, I. 2002. Die Buntbarsche Amerikas. Volume 2. *Apistogramma & Co.* Eugen Ulmer, Stuttgart: 320 pp.
- Kullander, S. O. 1979. Species of *Apistogramma* (Teleostei, Cichlidae) from the Orinoco

- drainage basin, South America, with descriptions of four new species. *Zoologica Scripta* v. 8 (no. 1): 69-79.
- Kullander, S.O. 1980. A taxonomical study of the genus *Apistogramma* Regan, with a revision of Brazilian and Peruvian species (Teleostei: Percoidei: Cichlidae). *Bonner Zoologische Monographien*, 14 1–152.
- Kullander, S. O. 1981. Description of a new species of *Apistogramma* (Teleostei: Cichlidae) from the upper Amazonas basin. *Bonner zoologische Beiträge*, 32(1-2), 183-194.
- Kullander, S.O. 1982. Description of a new species of *Apistogramma* Regan from the Oyapock and Approuague River systems (Teleostei: Cichlidae). *Cybiium* (Ser. 3), 6: 65-72.
- Kullander, S.O. 1983. Cichlid fishes from the La Plata basin. Part IV. Review of the *Apistogramma* species, with description of a new species. *Zoologica Scripta*. 11: 307–313.
- Kullander, S.O. 1986. Cichlid Fishes from the Amazon River Drainage of Peru. Swedish Museum of Natural History, Stockholm: 431 pp.
- Kullander, S.O. 1990. *Mazarunia mazarunii* (Teleostei: Cichlidae), a new genus and species from Guyana, South America. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 1: 3–14.
- Kullander, S. O. 2004. *Apistogramma alacrina*, a new species of cichlid fish (Teleostei: Cichlidae) from Colombia. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* v. 15 (no. 1): 41-48.
- Kullander, S. O., & Ferreira, E. J. 2005. Two new species of *Apistogramma* Regan (Teleostei: Cichlidae) from the rio Trombetas, Pará State, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 3(3), 361-371.
- Meinken, H. 1971. *Apistogramma geisleri* n. sp. und *Apistogramma borellii* (Regan) aus

- dem Amazonas-Becken (Pisces: Teleostei: Cichlidae). *Senckenbergiana Biologica* v. 52 (nos 1-2): 35-40.
- Ready, J.S., Sampaio, I., Schneider, H., Vinson, C., Dos Santos, T. & Turner, G.F. 2006. Colour forms of Amazonian cichlid fish represent reproductively isolated species. *Journal of Evolutionary Biology*, 19, 1139–1148.
- Regan, C.T. 1913. Fishes from the River Ucayali, Peru, collected by Mr. Mounsey. *Annals and Magazine of Natural History* (8) 12: 281–283.
- Römer, U. 2006. *Cichlid Atlas: natural history of South American dwarf cichlids*. Melle: Mergus-Publishers, 2006. v.2
- Staeck, W. 2003. *Cichliden-Lexikon, Teil 3: Südamerikanische Zwergbuntbarsche*. Dähne Verlag. Teil 3: 1-219
- Staeck, W., & Schindler, I. 2008. *Apistogramma erythrura* sp. n.–a new geophagine dwarf cichlid (Teleostei: Perciformes: Cichlidae) from the río Mamoré drainage in Bolivia. *Vertebrate Zoology*, 58(2), 197-206.
- Taylor, W.R. & Van Dyke, G.C. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybiurn*, 9, 107–119.
- Varella, H. R. & Sabaj Pérez, M.H. 2014. "A titan among dwarfs: *Apistogramma kullanderi*, new species (Teleostei: Cichlidae)". *Ichthyological Explorations of Freshwaters*. v. 25(n. 3), pp. 243-258

TABLE 1. Morphometric data of holotype and paratypes of *Apistogramma* sp. Peixoto. Standard length (SL) is expressed in millimeters, all other measurements are expressed as percentages of SL. SD=Standard Deviation.

	Holotyp	n	Paratypes			
			Mean	Min	Max	SD
Standard length (mm)	59.0	3	40.6	26.0	61.7	10.4
Head length	36.3	3	35.4	32.7	38.3	1.2
Snout length	13.2	3	11.2	8.3	13.7	1.2

Body depth	36.4	3	33.4	30.1	37.4	1.5
Orbital diameter	8.1	3	9.4	7.9	10.8	0.8
Head width	18.8	3	18.0	16.1	19.9	0.9
Interorbital width	15.2	3	13.4	10.1	15.5	1.1
Preorbital depth	5.9	3	4.5	3.0	6.0	0.5
Caudal peduncle dept	16.2	3	15.3	13.1	16.8	0.8
Caudal peduncle leng	9.3	3	8.9	7.5	10.9	0.9
Pectoral-fin length	26.8	3	27.2	25.1	32.3	1.3
Pelvic-fin length	29.6	3	27.6	22.1	33.5	2.7
Last dorsal-fin spine length	14.6	3	13.5	10.1	20.5	1.2
Upper jaw length	11.3	3	10.1	7.6	12.8	0.9
Lower jaw length	11.3	3	9.9	8.3	11.7	0.8

Figure legends



Fig. 1. *Apistogramma* sp. Peixoto, holotype, male, 59 mm SL, MZUSP XXXX, Brazil, Pará state, Novo Progresso, tributary of Braço Norte River, Peixoto de Azevedo River, upper Tapajós basin.



Fig. 2. *Apistogramma* sp. Peixoto, paratype, female, 28.1 mm SL, MZUSP 116052, Brazil, Pará state, Novo Progresso, tributary of Braço Norte River, Peixoto de Azevedo River, upper Tapajós basin.



Fig. 3. Dark pigmentation along the ventral surface in female of *Apistogramma* sp. Peixoto, paratype, female, 28.1 mm SL, MZUSP 116052.

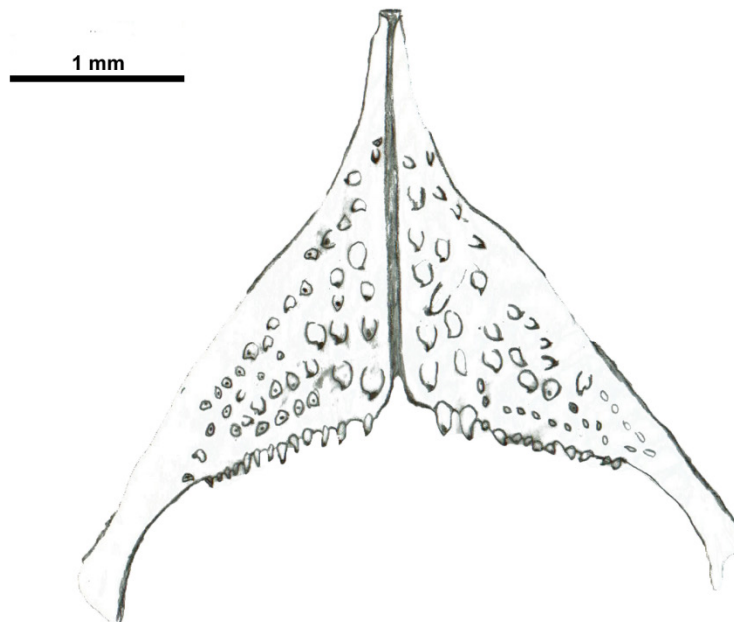


Fig. 4. *Apistogramma* sp. Peixoto. Lower pharyngeal tooth-plate in occlusal view.



Fig. 5. *Apistogramma* sp. Peixoto, paratype MZUSP 96846, live specimen photographed just after capture. Photo by José Birindelli.



Fig. 6. Type-locality of *Apistogramma* sp. Peixoto from Brazil, Pará state, Novo Progresso, tributary of Braço Norte River, Peixoto de Azevedo River, upper Tapajós basin. Photo by José Birindelli.

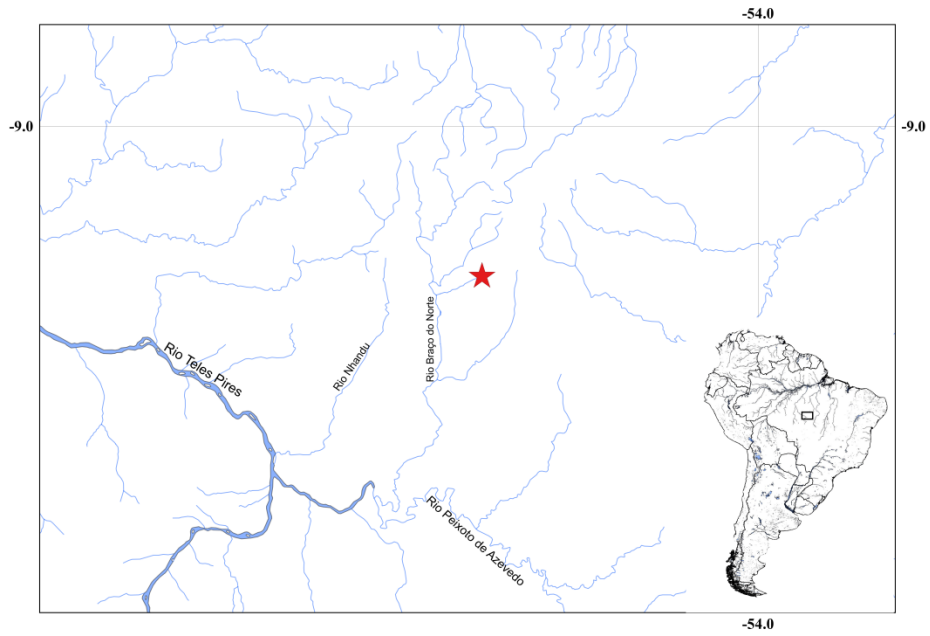


Fig 7. Map showing the type locality of *Apistogramma* sp. Peixoto



Fig. 8. *Apistogramma* sp. Peixoto, male and female, live coloration in aquarium. Photo by Uwe Werner.

4.1.2. Descrição de *Apistogramma ortegai*, manuscrito publicado na revista Zootaxa (<http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3869.4.5>).

***Apistogramma ortegai* (Teleostei: Cichlidae), a new species of cichlid fish from the Ampiyacu River in the Peruvian Amazon basin**

RICARDO BRITZKE¹, CLAUDIO OLIVEIRA¹ & SVEN O. KULLANDER²

1. *Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Morfologia, Rubião Jr. s/n. CEP 18618-970. Botucatu, SP, Brazil. E-mail: britzker@gmail.com*
2. *Department of Zoology, Swedish Museum of Natural History, PO Box 50007, SE-104 05 Stockholm, Sweden.*

Keywords: Geophaginae, Geophagini, Amazonia, Freshwater, Morphology, Taxonomy.

Abstract

Apistogramma ortegai, new species, is described from small streams tributaries of the Ampiyacu River near Pebas, in eastern Peru. It belongs to the *Apistogramma regani*

species group and is distinguished from all other species of *Apistogramma* by the combination of contiguous caudal spot and bar 7, presence of abdominal stripes, short dorsal-fin lappets in both sexes, absence of vertical stripes on the caudal fin, and reduced number of predorsal and prepelvic scales.

Resumen

Apistogramma ortegai, nueva especie, esta descrita desde pequeños tributario del río Ampiyacu cerca de Pebas, en el este del Perú. Pertenece al grupo de especies de *A. regani* y es distinguido de todas las otras especies de *Apistogramma* por la combinación de la barra 7 conectada con una mancha en la aleta caudal, presencia de líneas abdominales, membranas de la aleta dorsal cortas en ambos sexos, ausencia de líneas verticales en la aleta caudal, y reducido número de escamas predorsales y prepélvicas.

Introduction

The South American cichlid genus *Apistogramma* Regan (1913) comprises 84 valid species (Schindler & Staack, 2013) distributed in the basins of the Amazon, Orinoco, Paraguay, lower Paraná and Uruguay, and coastal rivers of the Guianas (Kullander, 2003). Kullander (1980) characterized the genus based on the combination of gill-rakers on the sides of the lower pharyngeal tooth-plate; a compressed lobe on the first epibranchial bone bearing gill-rakers on the margin; three, rarely four anal-fin spines and 14–18 dorsal-fin spines. All species are of small size, the largest species not exceeding 60 mm in body length. They exhibit sexually dimorphic. Males grow larger than females and often have relatively larger fins, prolonged rays in the dorsal and caudal fins, and a filamentous extension of the first pelvic-fin ray, while sexually active females have species specific patterns consisting of black blotches and stripes against intense yellow background.

Eighteen valid species of *Apistogramma* have been described on the basis of material from the Peruvian Amazon basin, viz., *A. allpahuayo* Römer, Beninde, Duponchelle, Díaz, Ortega, Hahn, Soares, Cachay, Dávila, Cornejo & Renno, 2012 (Nanay River); *A. atahualpa* Römer, 1997 (Nanay River); *A. baenschi* Römer, Hahn, Römer, Soares & Wöhler, 2004 (Huallaga basin); *A. barlowi* Römer & Hahn, 2008 (Ampiyacu River); *A. cinilabra* Römer, Duponchelle, Römer, Duponchelle, Diaz, Davilla, Sirvas, Catchay & Renno, 2011 (Itaya River); *A. cruzi* Kullander, 1986 (Mazán River); *A. eremnopyge* Ready & Kullander, 2004 (Pintuyacu River, Itaya River drainage); *A. eunotus*

Kullander, 1981 (Ucayali River); *A. huascar* Römer, Pretor & Hahn, 2006 (Nanay River); *A. luelingi* Kullander, 1976 (Madre de Dios and Mamoré River basins); *A. martini* Römer, Hahn, Römer, Soares & Wöhler, 2003 (Nanay River); *A. nijsseni* Kullander, 1979 (Copal River, Ucayali River drainage); *A. noberti* Staeck, 1991 (Tahuayo and Tamshiyacu Rivers); *A. panduro* Römer, 1997 (Ucayali River); *A. pantalone* Römer, Römer, Soares & Hahn, 2006 (Nanay River); *A. paulmuelleri* Römer, Beninde, Duponchelle, Garcia Dávila, Vela Díaz & Renno, 2013 (Amazon River); *A. rositae* Römer, Römer & Hahn, 2006 (Marañón River) and *A. urteagai* Kullander, 1986 (Madre de Dios River). The first species referred to *Apistogramma* from Peru was described by Cope (1872) as *Geophagus amoenus* from the Ampiyacu River in Peru. Unfortunately, the type material is lost (Kullander, 1986) and the description is not detailed enough to identify the species (Kullander, 1980, 1981; 1986). In an effort to resolve the problem of the identity of *Geophagus amoenus*, the senior author surveyed the Pebas area at the mouth of the Ampiyacu River. Numerous specimens of *Apistogramma* were obtained, among them representatives of a new species. This paper is dedicated to the description of the new species, with extensive comparison with other species of *Apistogramma* described from the Peruvian Amazon.

Material and methods

Measurements and counts were taken as described by Kullander (1980, 1986). Values in the parentheses indicate the number of specimens with a particular count and an asterisk indicates values of the holotype. Specimen lengths are given as standard length (SL). Scale rows are numbered as described by Kullander (1990). Counts of external openings of the infraorbital lateralis canal refer to the postlachrymal number, i.e., excluding the opening shared by the posterior lachrymal lateralis foramen and the anterior foramen of the first infraorbital bone. Color marking terminology follows Kullander (1980, 1986). For osteological observations, cleared and stained (c&s) specimens were prepared according to Taylor & Van Dyke (1985).

Institutional abbreviations: MUSM, Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru; NRM, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden; LBP, Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, São Paulo, Brazil.

***Apistogramma ortegai*, new species**

(Figs. 1–8)

Apistogramma sp. “Pebas” Koslowski, 2002: 90–91, fig.

Apistogramma sp. “Papagei” Koslowski, 2002: 90–91, fig.

Holotype. MUSM 48898, 38.4 mm SL; Peru, Departamento Loreto, Distrito Pebas: small stream tributary of Ampiyacu River, 03°18'46.1"S, 71°50'58.4"W, 13 August 2011. C. Oliveira, M. Taylor, R. Britzke and J. Mori.

Paratypes. All from Peru, Departamento Loreto, vicinity of Pebas. Same date and collectors as holotype. LBP 12461, 14 (1 c&s), 18.3–44.1 mm SL. LBP 12444, 9, 19.4–50.5 mm SL. NRM 66403, 10, 19.0–42.0 mm SL. MUSM 48899, 1, 32 mm SL. LBP 12463, 8, 22.8–45.2 mm SL. LBP 12455, 11 (5 c&s), 24.5–37.0 mm SL.

Diagnosis

A species of the *Apistogramma regani* species group, sharing exclusively with *A. commbrae*, *A. inconspicua* and *A. linkei* a tail spot (contiguous caudal spot and spot in bar 7). *Apistogramma ortegai* differs from *A. commbrae* by absence of vertical stripes on caudal fin (vs. presence); from *A. inconspicua* by absence of vertical stripes on caudal fin (vs. presence) and by lateral band running into tail spot (vs. lateral band ending in bar 6); from *A. linkei* by absence of vertical stripes on caudal fin (vs. presence of two vertical stripes posteriorly) and by horizontal abdominal stripes (vs. vertical abdominal stripes). Distinguished from other species with similar general counts, body shape and similar basic melanic color pattern, with exception of the contiguous caudal spot to bar 7: from *A. eunotus* by predorsal scales 7–8 (vs. 9–12), prepelvic scales 6–8 (vs. 9–13) and presence of abdominal stripes (vs. absence); from *A. cruzi* by prepelvic scales 6–8 (vs. 9–13); from *A. aguarico* by dorsal-fin lappets short (vs. five first dorsal-fin lappets elongated).

Description

Morphometric and meristic data are presented in Table 1. Body moderately deep, laterally compressed. Snout triangular in lateral view. Predorsal outline straight, in some adult males slightly elevated. Dorsal-fin base and prepelvic outline straight and gently curved. Dentary lateral line canal with 5 pores; anguloarticular canal with 2 pores; infraorbital canal with 4 pores (Fig. 4). E1 row scales 21 (3), 22 (6), 23 (26). Tube-bearing scales in upper lateral line 7 (2), 8 (3), 10 (3), 11 (5), 12 (10), 13 (8), 14 (4). Pore-bearing scales in upper lateral line 1 (1), 2 (19), 3 (13), 4 (1). H1 row scales 6 (2), 7 (14), 8 (14), 9 (5). Tube-bearing scales in lower lateral line 3 (3), 4 (4), 5 (16),

6 (7), 7 (4). Pore-bearing scales in lower lateral line 1 (18), 2 (14), 3 (3). Predorsal scales 7–8. Prepelvic scales 6–8. Circumpeduncular scale rows 16. Dorsal-fin rays XV.6 (6), XV.7 (10), XVI.6 (11), XVI.7 (9). Anal-fin rays III.6 (29), III.7 (6). Pectoral fin rounded, pectoral-fin rays 12 (35). Pelvic fins with slightly extended tip extending beyond anal-fin origin. Dorsal fin relatively low, first spine half length of last spine, relative spine length increasing from first to third, lappets of first, second and third spines less than half length of respective spine, straight and gently curved. Dorsal spines sub-equal in length from the fourth to sixth or slowly increasing in length to last. In adult male much produced third to sixth lappets. Soft dorsal fin with bifurcate rays, posterior branch of second and anterior branch of third ray forming long filamentous tip reaching slightly beyond posterior margin of caudal fin. Gill rakers externally on first gill arch, 5 on lobe, 1 in angle, and 2 (5) on ceratobranchial. Vertebrae 13+11=24 (6).

Color in preserved specimens. Basic color of body light beige in both sexes. Head usually slightly darker than body. Lips in both sexes grey, more intense in males. Brown markings and light grey lines on cheek present in males fixed in ethanol, absent in specimens fixed in formalin. Reticulated pattern on scales above lateral band. Dark vertical bars most distinct above lateral band. Caudal spot confluent with lateral band, usually indistinctly in males. Tail spot formed by dark spot at middle part of Bar 7 contiguous with dark spot at base of caudal fin and in some specimens this connecting to caudal spot forming a drop-shaped, while others forming a sort of double-spot. Lateral band originating in narrow postorbital stripe, about one scale deep, running on E1 scale series, extending posteriorly into tail spot. Suborbital stripe reaching ventrally to lower margin of preopercle. Preorbital between the anterior orbital rim and the upper lip. Preorbital stripe between anterior orbital rim and upper lip. Distinct, moderately wide supraorbital stripe from orbit dorsad. Dorsal fin dusky with some light spots posteriorly on soft-rayed portion, not forming conspicuous terminal spot stripes; anal fin similar. Lappets of dorsal fin white. Membranes of two anterior dorsal-fin spines black, darker areas at bar origins basally between spines. Caudal fin dusky, vertical stripes absent. Pectoral fin transparent. Pelvic fin mainly hyaline, spine and interradiial membranes of anterior soft rays light grey. Abdominal markings consisting of horizontal stripes between every scale row, most distinct in first and second horizontal row below lateral band, from pectoral axilla to bar 4, less distinct posteriorly; and in third and fourth scale series below lateral band. In adult females

usually 2–6 dark spots, each contained in a vertical bar, in middle region of body.

Color in life. Males (Fig. 5A): Basic color of body iridescent blue with red marks associated with scales dorsal to lateral band. Lips grey or light blue. Cheek sky blue with red markings. Anterior vertical bars indistinct; bars distinct in posterior part of side. Bar 7 connected to caudal spot, extending to root of caudal peduncle, usually not distinct in males. Dorsal fin distal margin dark gray; conspicuous red and sky blue vertical stripes increasing in intensity caudad. Lappets of dorsal fin red and sky blue. Anal fin yellow and light blue. The first spine and membrane of anal fin black. Caudal fin orangeish yellow. Pectoral fin transparent. Pelvic fins light yellow, spine and membranes of first rays light grey. No distinct lateral band. Abdominal markings consisting of three horizontal stripes as in preserved specimens; most distinct in first and second horizontal row below lateral band, from pectoral axilla to bar 4, less distinct posteriorly and in third and fourth scale series below lateral band.

Females (Fig. 5B): Basic color of body yellow, markings black. Dorsal fin yellow with dark distal margin. First and second spines and membranes of dorsal fin black. Base of dorsal with fin dark areas corresponding to vertical bars 3, 4, 5 and 6, distinct dorsally. Bars 3, 4 and 5 distinct below lateral band. First spine and membrane of pelvic fin black, remainder of fin yellow. Pelvic fin with black margin. Caudal fin yellow. Adult females generally with 2–6 spots contained within vertical bars. Caudal spot approximately square, confluent with bar 7. Abdominal markings consisting of three dark horizontal stripes as in preserved specimens; most distinct in first and second horizontal row below lateral band, from pectoral axilla to bar 4, less distinct more posteriorly and in third and fourth scale series below lateral band. Reproductive females show black midventral stripe, starting at end of pelvic fins, continued to anal opening.

Etymology. The specific name is given for Professor Hernán Ortega Torres, ichthyologist at the Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru, in recognition of his life-long dedication and contribution to the study of the fishes of Peru.

Distribution and habitat. *Apistogramma ortegai* is known only from a small stream (quebrada) tributary to the Ampyiacu River in the municipality of Pebas. All specimens were collected along the margin, with most of its area within a dense,

difficult to access forest (Fig. 7). The stream had clear and acid water, pH 6.0, water temperature 26°C, and a depth of at most 50 cm. The bottom substrate was mainly comprised of sand and leaves, with some clay. Aquatic vegetation was not present. Species collected together with *A. ortegai* were *A. bitaeniata*, *Bujurquina peregrinabunda*, *Crenicichla* sp., *Cichlasoma amazonarum*, *Acestrocephalus* sp., *Astyanax bimaculatus*, *Characidium* sp., *Knodus* sp., *Leporinus* sp. aff. *friderici*, *Moenkhausia margitae*, *Moenkhausia oligolepsis*, *Pyrrhulina semifasciata*, *Corydoras fowleri*, *Ituglanis* sp., *Rhamdia* sp., *Gymnotus* sp., and *Sternopygus macrurus*.

Discussion

Cope (1872) described *Geophagus amoenus* from the Ampiyacu River and compared it with *G. taeniatus* (= *Apistogramma taeniata*), for which reason it has later been identified as a species of *Apistogramma* (e.g., Kullander, 1980, with a reconstruction based on Cope's description). Cope's description, based apparently on a single specimen, 63 mm long (probably total length), and subsequently lost (Kullander, 1980) is compatible with a species of *Apistogramma*, especially in the small size, the long dorsal and anal fins extending beyond the caudal fin, the pattern of blue spots and yellow lines on the side of the head a black spot at the base of the caudal fin, but differs in the possession of two spots associated with the caudal fin: "black spot at base, and one at the tip of the caudal fin". Steindachner (1875) synonymized *G. amoenus* with *A. taeniata*, based on specimens collected by the Thayer Expedition from Óbidos, Tefé, Tabatinga and the Tapajós River. Regan (1906) overlooked the species in his revision of *Heterogramma* (= *Apistogramma*), but later provided a description based on two specimens from the Ucayali River identified as *A. amoena*. Those specimens were included in the type series of *A. eunotus* by Kullander (1981). Kullander (1981) commented on *A. amoena* and concluded that Cope's description concerned a species with different fin shape, proportions and colour pattern from *A. eunotus*. None of the more than 80 species of *Apistogramma* so far described has a dark spot at the end of the caudal fin, and the possibility exists that the description of the spots on the caudal fin contains a *lapsus calami*. *Apistogramma ortegai* is similar to the description of *G. amoenus* (Cope, 1872) with reference to the lateral band extending from the orbit to the caudal-fin base (ending at the caudal spot) and counts of rays of the dorsal and anal fins. Compared with *G. amoenus*, *A. ortegai* does not have a black spot at the tip of the caudal fin, or an elongate body as estimated from the number of longitudinal scales cited by Cope (2–25–8 scales = 2 above, 8 below lateral

line, and 25 scales along the middle of the side), or the length of head less than the height of the body (see Kullander 1980, 1981).

Apistogramma ortegai conforms to the *Apistogramma regani* species group which is diagnosed by presence of vertical bars, lateral band, head stripes radiating from the orbit (suborbital, preorbital, postorbital, supraorbital); dark spot anteriorly in dorsal fin, 3–4 rows of jaw teeth, tubed scales in lower lateral line, relatively deep body, 1–4 ceratobranchial gill rakers, and absence of chest spot and lateral spot (Kullander 1980: 48).

Apistogramma ortegai differs from other species of *Apistogramma* mainly by the contiguous caudal spot and bar 7 forming a large spot across the posterior part of the caudal peduncle and the basal portion of the caudal fin. Within the *A. regani* species group this character is shared only with *A. linkei* (Bolivian Amazon), *A. inconspicua* (Bolivian Amazon and Paraguay River basin), and *A. commbrae* (Paraguay and lower Paraná basins), and is potentially a synapomorphy of these four species. An enlarged caudal spot covering the caudal peduncle and the caudal-fin base is also present in *A. nijsseni* and *A. panduro*. These two species exhibit a distinctive color pattern and have four infraorbital pores, and are consequently excluded from the *A. regani* group.

Koslowski (2002) distinguished two forms of *Apistogramma* from the Pebas area in which the caudal spot is confluent or contiguous with the lateral band, called “Pebas” (lateral band extending to bar 7 and connecting to caudal spot forming a drop-shaped spot) and “Papagei” (lateral band extending to bar 7 and connecting to caudal spot forming sort of double-spot), respectively. Both obviously agree in all regards with the material here referred to *A. ortegai*. Although he presented them as undescribed species, Koslowski noted that the two forms possibly only represent intraspecific variation. Our morphological data from *A. ortegai* does not permit recognition of more than one species, and consequently “Papagei” and “Pebas” are both included in the concept of *A. ortegai*.

Variation in the melanic color pattern preserved in formalin-fixed specimens is a prominent source of species diagnostic character states among South American cichlids, including *Apistogramma* (e.g., Kullander, 1990, 1986). In some cases, however, colour pattern variation has been explained as intraspecific. Staeck & Kullander (1988), describing *A. paucisquamis* from the Negro River (Santa Isabel do Rio Negro to Manaus, Amazon state, Brazil), reported that males of this species have three color forms. Römer (1994) describing *A. mendezi* from Barcelos (Amazonas state, Brazil), stated that the eastern population exhibits horizontal lines on the caudal

fin, while the western population has vertical lines on the caudal fin. As treated by those authors there is intraspecific discrete minor variation in the color pattern of some species of the genus *Apistogramma* but separate species status is not supported by other morphological characters.

There is, however, at least one cryptic group of species with minimal color differences but diagnosable by molecular characters, described by Ready et al. (2006). They analyzed *Apistogramma* populations of eastern Amazon from four localities, and recognized genetically three species within what has been described as *A. caetei*. Morphologically, all three species possess the characteristics of *A. caetei* (see Kullander, 1980), and have no diagnostic characters for species delimitation other than details of coloration. Ready et al. (2006) suggest that these species probably are still going through a process of speciation, following a recent allopatric divergence. Ready et al. (2006) conclude that in *Apistogramma* presents genetic structuring, but little morphological variation.

The western Amazon is an important area of endemism for some lineages of cichlids (Kullander, 1986), as exemplified by the many species of *Apistogramma* described from the Peruvian and Ecuadorian Amazon basin.

Comparative material.

Apistogramma caetei: LBP 9437, 5, 28.7–38.7 mm SL, Brazil, Pará, Caeté River basin, Tracuateua, Igarape Cajueirinho, Tracuateua. *Apistogramma cinilabra*: LBP 12567, 2, 30.4–44.7 mm SL, Peru. *Apistogramma cruzi*: NRM 16664, holotype, 25.9 mm SL, Peru, tributary to the Mazán River. *Apistogramma commbrae*: LBP 11493, 1, 25.5 mm SL, Brazil, Mato Grosso, Poconé; LBP 5233, 5, 24.5–26 mm SL, Brazil, Paraná, Porto Rico. *Apistogramma eunotus*: LBP 17750, 1, 44.6 mm SL, Peru, Loreto, quebrada on the Carretera Campo Verde to Tournavista. *Apistogramma inconspicua*: MZUSP 38944, 1, paratype, 23.5 mm SL, Bolivia, Santa Cruz, Candelaria River. *Apistogramma linkei*: MZUSP 28726, 8, paratypes, 17.7–25.7 mm SL, Bolivia, Beni, NW Santa Cruz. *Apistogramma megaptera*: IAvH 11714, 1, holotype, 38.1 mm SL, Colombia, Guainía, caño Matadero. *Apistogramma personata*: MZUSP 81489, 5, 38.1–51.7 mm SL, Brazil, Amazonas, Tiquié River basin, Igarapé Mipiriyotemakaya. *Apistogramma regani*: LBP 17856, 2, 18.9–25.2 mm SL, Brazil, Amazonas, Iranduba. *Apistogramma resticulosa*: LBP 11468, 5, 25.4–38.7 mm SL, Brazil, Amazonas, Humaitá. *Apistogramma steindachneri*: ROM 82022, 1, 37.5 mm SL, Guiana, Berbice River basin. *Apistogramma taeniata*: LBP 14255, 5, 13.1–25 mm SL, Brazil, Pará,

Itaituba. *Apistogramma urteagai*: ROM 82818, 1, 24.5 mm SL, Peru, Madre de Dios, Tambopata Natural Reserve, Kati Cocha.

Acknowledgements

We thank Jonathan S. Ready (UFPA) for comments and suggestions on the manuscript, and anonymous reviewers provided constructive comments that significantly improved the original manuscript. Hernán López-Fernández, Don Stacey and Erling Holm (ROM), Osvaldo Oyakawa and Michel Gianeti (MZUSP) for the loan part of the material used in this study, Claudia Medina and Carlos Montaña (IAvH) for allowing access to the collection of the Instituto Humboldt, Martin Taylor (University of East Anglia) for pictures of live specimens, Jorge Mori and Martin Taylor for help in the field. RB is financially supported by FAPESP (Proc. 2011/00269-4).

Literature cited

- Cope, E.D. (1872) On the fishes of the Ambyiacu River. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 23, 250–294.
- Günther, A. C. L. G. (1862) Catalogue of fishes in the British Museum. 4. Trustees of the British Museum, London.
- Koslowski, I. (1985) Descriptions of new species of *Apistogramma* (Teleostei: Cichlidae) from the Rio Mamoré system in Bolivia. Bonner Zoologische Beiträge, 36, 145–162.
- Koslowski, I. (2002) Die Buntbarsche Amerikas. Volume 2. *Apistogramma* & Co. Eugen Ulmer, Stuttgart, 320 pp.
- Kullander, S.O. (1980) A taxonomical study of the genus *Apistogramma* Regan, with a revision of Brazilian and Peruvian species (Teleostei: Percoidae: Cichlidae). Bonner Zoologische Monographien, 14, 1–152.
- Kullander, S.O. (1981) Description of a new species of *Apistogramma* (Teleostei: Cichlidae) from the upper Amazonas basin. Bonner Zoologische Beiträge, 32, 183–194.
- Kullander, S.O. (1982) Cichlid fishes from the La Plata basin. Part II. *Apistogramma commbrae* (Regan, 1906). Revue suisse de Zoologie, 89, 33–481.
- Kullander, S.O. (1983) Cichlid fishes from the La Plata basin. Part IV. Review of the *Apistogramma* species, with description of a new species. Zoologica Scripta, 11, 307–313.
- Kullander, S.O. (1986) Cichlid Fishes from the Amazon River Drainage of Peru. Swedish Museum of Natural History, Stockholm, 431 pp.
- Kullander, S.O. (1990) *Mazarunia mazarunii* (Teleostei: Cichlidae), a new genus and species from Guyana, South America. Ichthyological Exploration of Freshwaters, , 3–14.
- Kullander, S. O. (2003) Family Cichlidae (Cichlids). Pp. 605–654. In: Reis, R.E.; S. O. Kullander & C. J. Ferraris Jr. (Orgs.). Check list of the freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre, 729 pp.
- Kullander, S.O. & Staeck, W. (1988) Description of new *Apistogramma* species from the Rio Negro in Brazil. Cybium, 12, 189–201.
- Ready, J. S.; Sampaio, I.; Schneider, H.; Vinson, C.; Dos Santos, T. & Turner, G. F. (2006) Colour forms of Amazonian cichlid fish represent reproductively isolated species. Journal of Evolutionary Biology 19, 1139–1148.

- Regan, C. T. (1906) A revision of the South-American cichlid genera *Retroculus*, *Geophagus*, *Heterogramma* and *Biotoecus*. *Annals and Magazine of Natural History* (7) 17, 49–66.
- Regan, C.T. (1913) Fishes from the River Ucayali, Peru, collected by Mr. Mounsey. *Annals and Magazine of Natural History* (8) 12, 281–283.
- Römer, U. (1994) *Apistogramma mendezi* nov. sp. (Teleostei: Perciformes; Cichlidae): description of a new dwarf cichlid from the Rio Negro system, Amazonas State, Brazil. *Aqua*, 1, 1–12.
- Schindler, I. & Staeck, W. (2013) Description of *Apistogramma helkeri* sp. n., a new geophagine dwarf cichlid (Teleostei: Cichlidae) from the lower río Cuaó (Orinoco drainage) in Venezuela. *Vertebrate Zoology*, 63, 301–306
- Steindachner, F. (1875) Beiträge der Kenntniss der Chromiden des Amazonenstromes. *Sitzungsberichte der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, Mathematisch-naturwissenschaftliche Classe*, 71, 61–137.
- Taylor, W.R. & Van Dyke, G.C. (1985) Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*, 9, 107–119.

TABLE 1. Morphometric data from holotype and paratypes of *Apistogramma ortegai*. Standard length (SL) is expressed in millimeters, all other measurements are expressed as percentage of SL.

	Holotyp	n	Paratypes			
			Mean	Min	Max	SD
Standard length (mm)	38.4	5	28.0	18.4	50.5	7.5
Head length	34.9	3	35.2	31.1	39.7	1.7
Snout length	11.7	3	9.3	7.4	11.8	1.0
Body depth	33.2	3	33.7	31.1	36.5	1.5
Orbital diameter	9.5	3	10.8	8.2	12.9	1.0
Head width	17.3	3	17.7	15.4	20.4	1.0
Interorbital width	11.3	3	11.7	10.0	13.4	0.9
Preorbital depth	3.8	3	3.7	2.5	4.6	0.5
Caudal peduncle dept	15.3	3	16.1	14.0	19.2	0.9
Caudal peduncle leng	9.4	3	98.0	5.9	12.3	1.7
Pectoral-fin length	29.4	3	29.8	24.1	33.5	2.0
Pelvic-fin length	37.1	3	33.0	27.1	41.4	3.5
Last dorsal-fin spine length	15.2	3	15.3	11.4	19.8	2.3
Upper jaw length	9.9	3	7.1	5.2	10.1	1.1

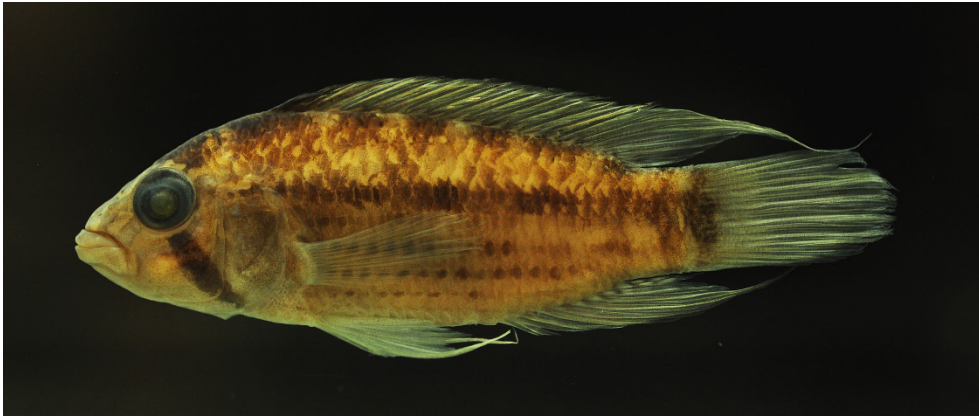
Figure legends

Fig. 1. *Apistogramma ortegai*, holotype, male, MUSM 48898, 38.4 mm SL, Peru, Departamento Loreto, Distrito Pebas, small stream tributary of Ampiyacu River.



Fig. 2. *Apistogramma ortegai*, paratype, female, MUSM 48899, 32 mm SL, Peru, Departamento Loreto, Distrito Pebas, small stream tributary of Ampiyacu River.

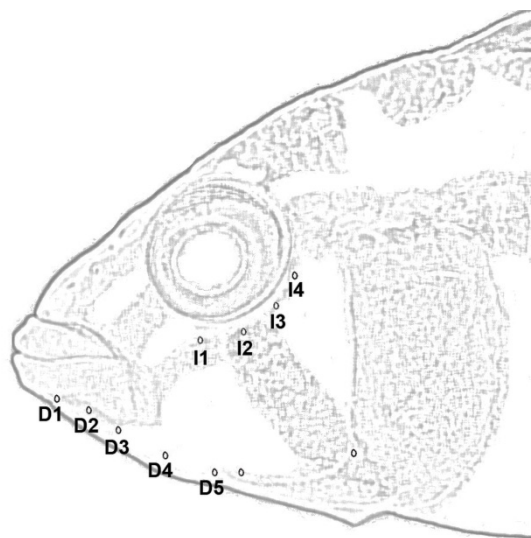


Fig. 3. Distribution of cephalic lateralis pores in head of *Apistogramma ortegai*.

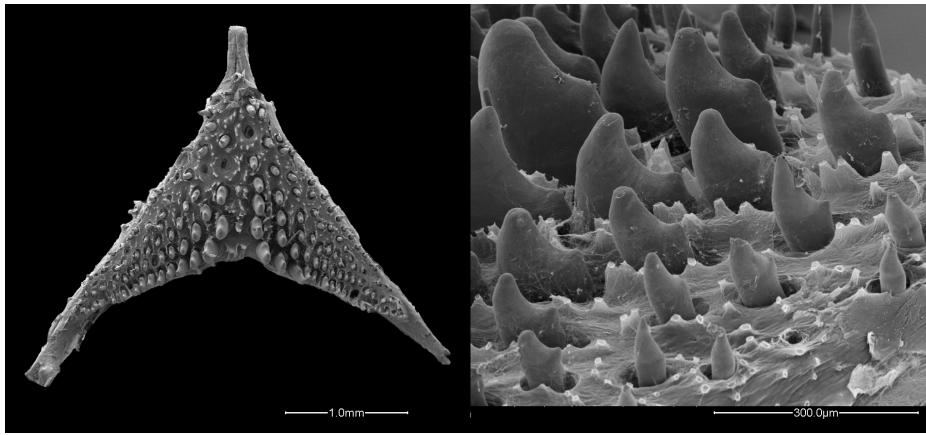


Fig. 4. *Apistogramma ortegai*. Lower pharyngeal tooth-plate in occlusal view and detail of the teeth.

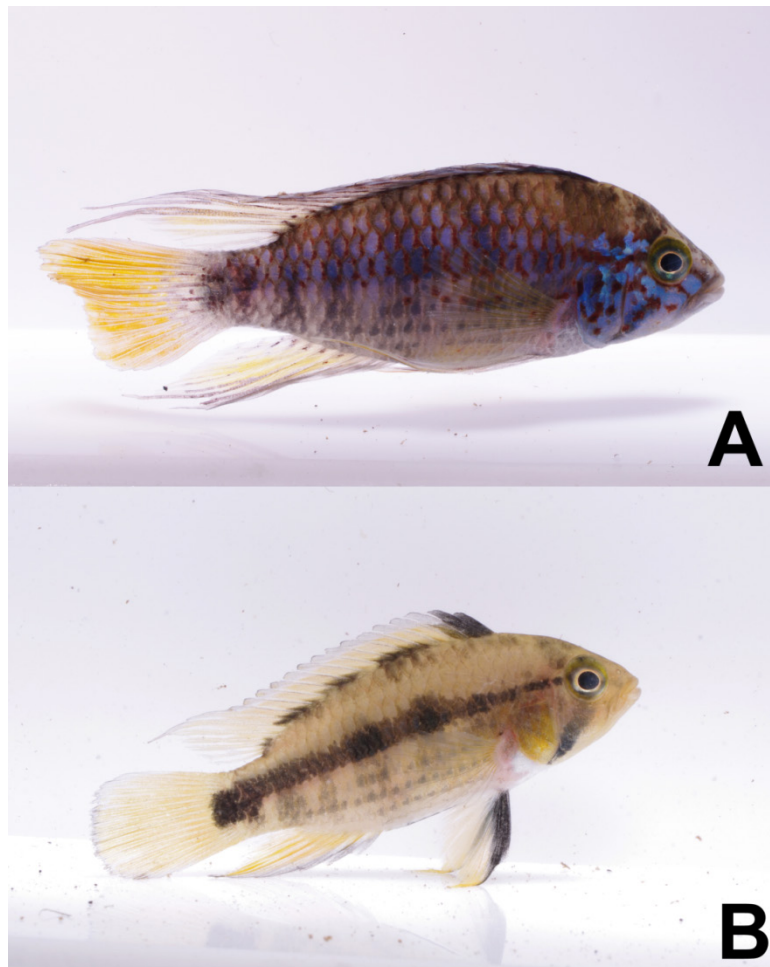


Fig. 5. *Apistogramma ortegai*, live coloration in male (A) and female (B), collected with holotype.

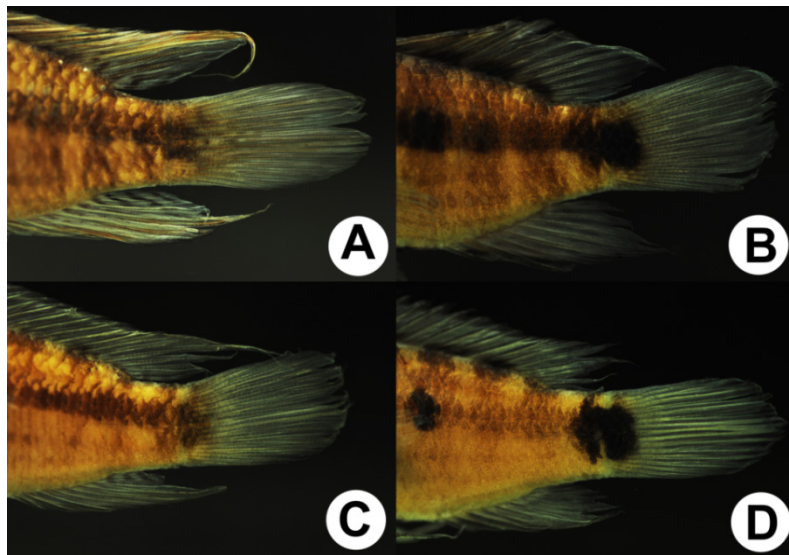


Fig. 6. Variation in the shape of the caudal spot in *Apistogramma ortegai*. **A.** Male showing drop shape ("Pebas" form); **B.** Female showing drop shape ("Pebas" form); **C.** Male showing double-spot ("Papagey" form) **D.** Female showing double-spot ("Papagey" form).



Fig. 7. Type locality of *Apistogramma ortegai*. Peru, Departamento Loreto, Distrito Pebas, small stream tributary of Ampiyacu River.

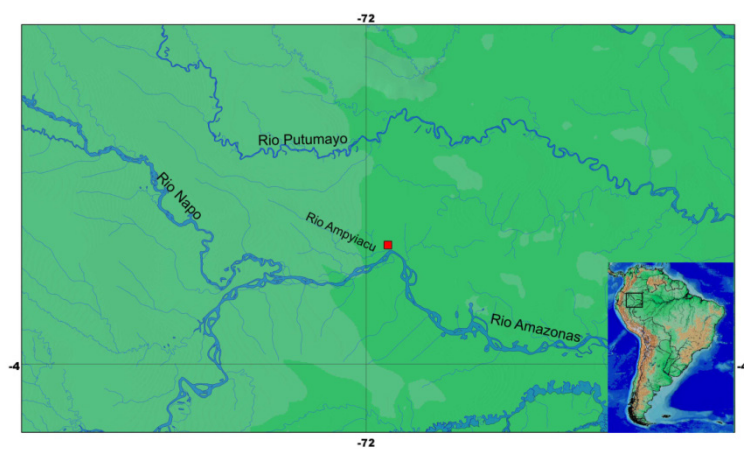


Fig 8. Map showing the type locality of *Apistogramma ortegai*.

4.2. DNA Barcoding do gênero *Apistogramma*

4.2.1. Introdução

A família Cichlidae Bonaparte (1840) é um dos grupos mais ricos de espécies, representando o maior clado de água doce dos Euteleostei (Nelson, 2006), e uma das poucas famílias de peixes tropicais cujo monofilia é praticamente indiscutível, apoiado por dados morfológicos (Gaemers, 1984; Stiassny, 1991; Kullander, 1998), e por dados moleculares (Streelman & Karl 1997; Farias et al, 1999, 2000; Sparks & Smith, 2004; Smith et al. 2008). A família tem mais de 1300 espécies válidas atualmente, com estimativas alcançando mais de 1.900 espécies no total (Kullander, 1998). Os ciclídeos são amplamente distribuídos na América do Sul e na América Central (400 espécies), ilhas de Cuba e Hispaniola (quatro espécies), África (mais de 1000 espécies), Madagascar (mais de 18 espécies), Península Arábica (cinco espécies) e da Índia (três espécies), regiões que pertenciam ao ex-supercontinente chamado Gondwana sul (Chakrabarty, 2004). Devido a grande variedade de cores atraentes e tamanho geralmente moderado, muitos ciclídeos são utilizados para fins ornamentais. As espécies mais comercializadas como ornamentais são os gêneros *Julidochromis* (Julie Cichlid), *Pseudotropheus* (Mbuna Cichlid), *Tropheus* (Tropheus Cichlid), *Apistogramma* (ciclídeo anão), *Pterophyllum* (Angelfish) e *Symphysodon* (Discus).

O gênero *Apistogramma* é um dos mais ricos em espécies, atualmente com 86 espécies válidas (Britzke et al, 2014; Varella & Sabaj Pérez, 2014), e com pelo menos 20 novas espécies registradas, mas não oficialmente descritas na literatura aquarista (Römer, 2001, 2006). A etimologia do gênero tem raízes gregas, em que *Apisto* significa incerto, inconstante, instável e *gramma* significa linha. Esta em referência ao aparecimento e desaparecimento da faixa escura ao longo do corpo, que caracteriza o gênero (Kullander, 1980, 1986). O gênero ocorre em várias bacias cis-andinas, com uma grande diversidade nas três principais drenagens, Amazonas, Orinoco e Paraguai (Kullander, 2003).

Espécies do gênero *Apistogramma* geralmente possuem dimorfismo sexual evidente. Os machos são maiores que as fêmeas e, muitas vezes têm nadadeiras relativamente maiores, enquanto as fêmeas geralmente são menos coloridas, mas apresentam um padrão específico durante o período reprodutivo, que consiste num fundo amarelo intenso com manchas negras (Linke & Staeck, 1995). O padrão de colorido como base na distribuição e quantidade de melanóforos são recursos muito úteis para a identificação de espécies. Ready et al. (2006) utiliza o padrão de colorido

e características genéticas para diferenciar as populações de *Apistogramma caetei*, onde encontrou três populações diferentes, que também foram confirmadas através de testes de acasalamento seletivo onde as fêmeas de uma determinada população escolhem apenas os machos de uma mesma população. Aparentemente, muitas espécies deste gênero mostram uma tendência para a especiação alopátrica em pequenas escalas geográficas, porque elas não costumam realizar migrações (Henderson & Walker, 1990), sempre permanecendo próximo das margens de lagos, rios e mostrando cuidado parental localizado, ou seja, onde não há nenhuma fase de dispersão larval.

As espécies de *Apistogramma* podem ser agrupadas de acordo com a coloração e as características anatômicas, incluindo as reduções do sistema de canais látero-sensorial. Estas classificações variam entre 7 grupos (*A. regani*, *A. macmasteri*, *A. commbrae*, *A. borellii*, *A. agassizii*, *A. gibbiceps*, *A. pertensis* e Incertae sedis; Kullander, 1980) e 13 grupos com 16 espécies complexos (*A. steindachneri*, *A. regani*, *A. macmasteri*, *A. alacrina*, *A. pertensis*, *A. brevis*, *A. cacatuoides*, *A. nijsseni*, *A. trifasciata*, *A. gibbiceps*, *A. bitaeniata* e *A. agassizii*, com incertae sedis e um complexo de espécies de *A. borellii*, *A. diplotaenia* e *A. elizabethae*; Koslowski, 2002). Existem várias outras classificações de grupos (Meinken 1962, Koslowski, 1987, Kullander, 1986), e tem-se verificado que estes grupos têm frequentemente uma distribuição regional (Schmettkamp, 1982).

Uma das razões para que existam muitos debates sobre o agrupamento de espécies, é que as características morfológicas disponíveis são relativamente limitadas em comparação com o número de espécies que devem ser diferenciadas. Esta é uma situação bastante comum para os táxons que apresentam miniaturização, pois muitos caracteres morfológicos são perdidos através de um processo pedomórfico (Weitzman & Vari, 1988). Definir quais caracteres são sinapomórficos em relação ao processo e especialmente que condições ambientais locais podem selecionar para a manutenção de alguns caracteres específicos, é um desafio que não é facilmente superado.

A campanha Fish Barcode of Life (FISH-BOL) (Ward et al. 2009) defende o uso do BOLD pela comunidade ictiológica para a construção de uma biblioteca de sequências de referência global, projetado para permitir uma identificação rápida, precisa e eficaz de ovos, larvas, juvenis e adultos até mesmo por não-especialistas. Muitos estudos têm comprovado a eficácia do código de barras para identificar peixes (Ward et al 2005, 2009; Hubert et al 2008; Valdez-Moreno et al 2009), e ainda há muito trabalho a ser feito. Considerando o uso promissor de DNA barcoding para identificar as

espécies, a importância do gênero *Apistogramma* para peixes ornamentais e a dificuldade de análises morfológicas, como resultado de miniaturização, o presente estudo avaliou a eficácia do código de barras de DNA para identificar as espécies do gênero *Apistogramma* e suas possíveis espécies novas.

4.2.2. Material e Métodos

Coleta de amostras

Nós coletamos amostras de tecido de 496 exemplares do gênero *Apistogramma* coletados nas drenagens do Amazonas, Orinoco, Paraguai, baixo Paraná, baixo Uruguai e rios costeiros da Guiana, que se encontram depositados nas seguintes coleções taxonômicas: ANSP (Academy of Natural Sciences of Philadelphia), LBP (Laboratório de Biologia de Peixes da Universidade Estadual Paulista, Botucatu), MCP (Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica, Porto Alegre), MHNG (Muséum d'histoire Naturelle, Ville de Genève), MPEG (Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém), ROM (Royal Ontario Museum, Toronto), MZUSP (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo), UFPA (Universidade Federal do Pará, Bragança) e UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre). As identificações taxonômicas foram realizadas seguindo Kullander (1980, 1986), Kullander & Nijssen (1989), Römer (2006) e as descrições originais das espécies.

Extração de DNA, PCR e sequenciamento

Uma pequena amostra de tecido foi utilizada de espécimes preservados em etanol 96%. A extração de DNA foi realizada pela plate glass fiber DNA seguindo o protocolo de extração do fabricante (Ivanova et al. 2006). O PCR para o gene COI (655 bp) foi feito com uma reação de 12.5µl, contendo 1.25µl de 10 X PCR buffer, 0.25µl de MgCl₂ (50 mM), 0.2 µl dNTPs (2 mM), 0.5 µl de cada primer (5 mM), 0.1µl de 1.25 U/µl of Taq Pht DNA polymerase, e 1µl DNA genômico (50 ng). Para o PCR foram utilizados os parâmetros de temperatura de anelamento em rampa, seguindo: 1 ciclo de 94°C x 5 min; 30 ciclos de 94°C por 40 s, 50°C-54°C por 30s, 72°C por 1 min; e 1 ciclo de 72°C por 8 min, utilizando os primers Fish F1 5'- TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC -3' e Fish R1 5'- TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA -3' (Ward et al. 2005). Os produtos de PCR foram checados em um gel de 1% de agarose. Todos os produtos de PCR foram sequenciados utilizando BigDye sequencing kit cycle terminators (Applied Biosystems) de acordo as instruções do

fabricante e finalmente as sequências foram obtidas utilizando o sequenciador ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Análise de dados

Os contigs foram montados e editados no programa Geneious v5.5.6 (Drummond et al., 2011). Para o alinhamento de sequências foi utilizado o algoritmo Muscle com os parâmetros padrão (Edgar 2004), e os alinhamentos foram inspecionados um a um para encontrar qualquer desalinhamento e então corrigi-los. A etapa de controle de qualidade foi incluída em nosso fluxo de trabalho para detectar possíveis casos de erros de sequenciamento devido à contaminação ou paralogia. Um dendrograma de neighbor-joining (NJ) de distância K2P (Kimura 1980) incluindo análise de bootstrap (Felsenstein 1985) com 1000 replicações foi realizada usando o programa MEGA v5.0 que fornece uma representação gráfica dos padrões de divergência das espécies (Tamura et al. 2011). Como grupo externo foi utilizado a espécie *Taeniacara Candidi*, para enraizar a árvore. Todos os exemplares sequenciados estão apresentados em uma tabela na seção Anexos.

4.2.3. Resultados

Um total de 496 sequências foram analisadas do gênero *Apistogramma*. Dentro das sequências não existem deleções, inserções ou stop-códons, sugerindo que não existe nenhuma amplificação de NUMTs. A matriz final possui 636 bp onde 406 bp são variáveis e 356 bp são informativos para a parcimônia. A composição de nucleotídeos é de 30.0 % (T), 29.1% (C), 22.8% (A) e 18.1% (G). Duas topologias idênticas foram obtidas utilizando os métodos NJ e ML. Nossa análise incluiu 60 das 86 espécies válidas no gênero, e encontrou várias linhagens que provavelmente representem novas espécies. Nós identificamos 80 clados dentro de *Apistogramma*, contabilizando unicamente espécies válidas e não descritas. Considerando apenas as espécies válidas, a distância genética observada entre diferentes espécies pertencentes ao mesmo grupo varia de 3% até 28%, com exceção das espécies dos chamados subgrupos "*A. eunotus*," "*A. caetei*" e "*A. rubrolineata*" pertencentes ao "*A. regani*" species group *sensu stricto*, que possuem distância genética variando de 1% a 2%; e a distância genética interna entre as diferentes populações da mesma espécie que varia de 0 a 8.8 %. Nós encontramos 12 grupos de espécies claramente definidos dentro de *Apistogramma*, fortemente sustentados e com altos valores de bootstrap, corroborando os caracteres morfológicos, de coloração e redução do sistema de canais látero-sensoriais

(Kullander, 1980, 1986; Koslowski, 2002).

Alguns grupos estão nomeados como *Sensu Stricto* (apresentam espécies relacionadas e bem suportadas por bootstrap) e *Sensu Lato* (apresentam espécies com afinidade com o grupo *Stricto Sensu*, mas nem sempre possuem suporte de bootstrap).

O DNA Barcode contribuiu para a correta identificação das espécies, assim como evidenciou diversas possíveis espécies novas.

Apistogramma agassizii* species Group *Lato sensu

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma agassizii* (Steindachner, 1875); *Apistogramma gephyra* Kullander, 1980; *Apistogramma pulchra* Kullander, 1980; *Apistogramma* cf. *pulchra* ‘Aripuanã’; *Apistogramma* sp. aff. *pulchra* do Rio Negro e *Apistogramma* sp. ‘Abacaxis’ do Rio Abacaxis.

A. agassizii species Group *Lato Sensu* é formado por dois subgrupos: *A. agassizii Stricto Sensu*, que possui as espécies *A. agassizii* dividida em quatro populações e *A. gephyra* de três localidades; e o subgrupo *A. pulchra* que possui a espécie *A. pulchra* (localidade tipo (Porto Velho) e Aripuanã); *Apistogramma* sp. ‘Abacaxis’ e *Apistogramma* sp. aff. *pulchra* (Negro River).

Subgroup *A. agassizii Stricto Sensu*

Apistogramma agassizii está dividido em 4 clados diferentes; Guiana Shield + Tefé (*A. agassizii* + *A. gephyra*); Western Amazon; Madeira, Tapajós e Xingu (*A. agassizii* + *A. gephyra*); e Tocantins, Marajó e Capim. A distância interespecífica entre os clados variou de 4.0% (Madeira, Tapajós and Xingu vs. Tocantins, Marajó e Capim) e 8.0% (Western Amazon vs. Madeira, Tapajós e Xingu).

Subgroup *A. pulchra*

Apistogramma pulchra está dividido em três clados: *A. pulchra* (Topótipo = Rio Madeira); *A. cf. pulchra* (Aripuanã) e *Apistogramma* sp. ‘Abacaxis’. A distância interespecífica entre os clados variou de 3.0% (*A. pulchra* (Topótipo = Rio Madeira) vs. *Apistogramma* sp. ‘Abacaxis’); e 6% entre *A. cf. pulchra* (Aripuanã) vs. *Apistogramma* sp. ‘Abacaxis’. A distância interespecífica entre os morfótipos de *Apistogramma* sp. aff. *pulchra* (Rio Negro) com Subgrupo *Apistogramma pulchra* é pelo menos 11.0%.

***Apistogramma bitaeniata* species Group**

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma bitaeniata* Pellegrin, 1936; *Apistogramma eremnopyge* Ready & Kullander, 2004; *Apistogramma mendezi* Römer, 1994; *Apistogramma paucisquamis* Kullander & Staeck, 1988; e *Apistogramma* sp. “Miua”. A espécie *A. bitaeniata* está dividida em quatro clados diferentes: *A. bitaeniata* Careiro; *A. bitaeniata* Tefê; *A. bitaeniata* Ampiyacu and *A. bitaeniata* Iquitos + *A. eremnopyge*.

A distância interespecífica entre os clados de *A. bitaeniata* Careiro com *A. bitaeniata* Tefê é 4.0%; com *A. bitaeniata* Ampiyacu é 16.0%; com *A. bitaeniata* Iquitos + *A. eremnopyge* é 14.0%. A distância interespecífica entre os clados *A. bitaeniata* Tefê com *A. bitaeniata* Ampiyacu é 14.0%; com *A. bitaeniata* Iquitos + *A. eremnopyge* é 14.0%. A distância interespecífica entre *A. bitaeniata* Ampiyacu com *A. bitaeniata* Iquitos + *A. eremnopyge* is 5.0%.

A distância interespecífica entre as espécies *A. mendezi* com *A. paucisquamis* é 12.0%; e com *Apistogramma* sp. ‘Miua’ é 12.0%. A distância interespecífica entre *A. paucisquamis* com *Apistogramma* sp. ‘Miua’ é 5%.

A distância interespecífica entre as espécies *A. mendezi*, *A. paucisquamis* e *Apistogramma* sp. ‘Miua’ com os quatro clados de *A. bitaeniata* + *A. eremnopyge* é 15.0-16.0%.

Apistogramma gibbiceps* species Group *Lato sensu

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma gibbiceps* Meinken, 1969 e *A. elizabethae* Kullander, 1980. A distância interespecífica entre *A. gibbiceps* e *A. elizabethae* é 17.0%.

Apistogramma gibbiceps* *Stricto Sensu

A espécie *A. gibbiceps* está dividida em 2 clados: *A. gibbiceps* Aiuanã (alto Rio Negro) e *A. gibbiceps* Negro (médio), Branco e Takutu.

A distância interespecífica entre os morfótipos *A. gibbiceps* Aiuanã (alto Rio Negro) com *A. gibbiceps* Negro (médio), Branco e Takutu é 6.0%.

Apistogramma nijsseni* species Group *Lato sensu

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma nijsseni* Kullander, 1979; *A. panduro* Römer, 1997; *A. martini* Römer, Hahn, Römer, Soares & Wöhler, 2003; *A. baenschi* Römer, Hahn, Römer, Soares & Wöhler, 2004; *A. pantalone* Römer, Römer, Soares &

Hahn, 2006; *A. barlowi* Römer & Hahn, 2008; *A. atahualpa* Römer, 1997 e *A. huascar* Römer, Pretor & Hahn, 2006. As espécies desse grupo possuem uma distância interespecífica variando de 5% a 17%.

***Apistogramma nijsseni* species Group *Stricto sensu*.**

Formado pelas espécies *Apistogramma nijsseni*, *A. panduro*, *A. martini*, *A. baenschi* e *A. pantalone*. As espécies desse grupo possuem uma distância interespecífica variando de 5% a 12%.

***Apistogramma cacatuoides* species Group**

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma cacatuoides* Hoedeman, 1951; *A. allpahuayo* Römer, Beninde, Duponchelle, Díaz, Ortega, Hahn, Soares, Cachay, Dávila, Cornejo & Renno, 2012; *A. luelingi* Kullander, 1976; *A. norberti* Staeck, 1991; *A. staecki* Koslowski, 1985. A espécie *A. cacatuoides* está dividida em dois clados diferentes: *A. cacatuoides* Brazilian Amazon and *A. cacatuoides* Peruvian Amazon + *A. allpahuayo*. A distância interespecífica entre *A. cacatuoides* Brazilian Amazon com *A. cacatuoides* Peruvian Amazon é 15.0%. A distância específica entre *A. allpahuayo* com *A. cacatuoides* Brazilian Amazon é 13.0% e com *A. cacatuoides* Peruvian Amazon é 10.0%. A distância interespecífica entre as espécies *A. luelingi* com *A. staecki* é 13.0%; com *A. norberti* é 16.0%. A distância interespecífica entre *A. staecki* com *A. norberti* é 16.0%. A distância interespecífica entre as espécies *A. luelingi*, *A. staecki* e *A. norberti* com *A. cacatuoides* Brazilian Amazon e *A. cacatuoides* Peruvian Amazon é 18.0-19.0%, 17.0-18.0% e 15.0% respectivamente.

***Apistogramma trifasciata* species Group**

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma trifasciata* (Eigenmann & Kennedy, 1903) e *A. erythrura* Staeck & Schindler, 2008.

A espécie *Apistogramma trifasciata* está dividido em três clados diferentes: *A. trifasciata* Paraguai/Guaporé; *A. trifasciata* Mamoré e *A. aff. trifasciata* Mamoré. A distância interespecífica entre *A. trifasciata* Paraguai/Guaporé com *A. trifasciata* Mamoré é 7.0%; com *A. aff. trifasciata* Mamoré é 9.0% e *A. erythrura* é 13.0%. A distância interespecífica entre *A. trifasciata* Mamoré com *A. aff. trifasciata* Mamoré é 9.0%; com *A. erythrura* é 15.0%. A distância interespecífica entre *A. aff. trifasciata* Mamoré com *A. erythrura* é 14.0%.

Apistogramma pertensis* species Group *Lato sensu

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma pertensis* (Haseman, 1911); *A. meinkenii* Kullander, 1980; *Apistogramma* sp. ‘Erdfresser’ and *Apistogramma* aff. *lineata*. A distância interespecífica entre *A. pertensis*, *A. meinkenii* e *Apistogramma* sp. ‘Erdfresser’ são 23.0%, 22.0% e 21.0% respectivamente.

***Apistogramma pertensis* species Group *Stricto sensu*.**

Formado pelas espécies *Apistogramma pertensis*, *A. meinkenii* e *Apistogramma* sp. ‘Erdfresser’. *Apistogramma pertensis* está dividido em três clados: *Apistogramma pertensis* Manaus; *A. pertensis* Tapajós e *A. pertensis* médio Negro, Tefé, Jari, Manacapuru. A distância interespecífica entre *A. pertensis* Manaus com *A. pertensis* Tapajós é 8.0%, com *A. pertensis* médio Negro, Tefé, Jari, Manacapuru é 6.0%. A distância interespecífica entre *A. pertensis* Tapajós com *A. pertensis* médio Negro, Tefé, Jari, Manacapuru é 8.0%. A distancia interespecífica entre *A. pertensis* (os três clados) com *A. meinkenii* e *Apistogramma* sp. ‘Erdfresser’ são 16.0% e 17.0% respectivamente.

***Apistogramma iniridae* species Group**

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma iniridae* Kullander, 1979 e *A. uaupesi* Kullander, 1980. A distância interespecífica entre as duas espécies é 5.0%

***Apistogramma steindachneri* species Group**

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma steindachneri* (Regan, 1908); *Apistogramma rupununi* Fowler, 1914; *A. hippolytae* Kullander, 1982 e *Apistogramma* aff. *steindachneri*. A espécie *Apistogramma rupununi* está dividida em dois clados: *A. rupununi* Branco e *A. rupununi* Uatumã, e distância interespecífica entre ambas as espécies de 7.0%. A distância interespecífica entre as espécies *A. steindachneri* com *A. rupununi* (Rio Uatumã e Rio Branco) é 7.0% - 8.0% respectivamente; com *A. hippolytae* é 8.0%; e *Apistogramma* sp. aff. *steindachneri* é 8.0%. A distância interespecífica entre *A. rupununi* (Rio Uatumã e Rio Branco) com *A. hippolytae* é 5.0% - 4.0% respectivamente; e com *Apistogramma* sp. aff. *steindachneri* é 8.0% - 9.0% respectivamente. A distância interespecífica entre *A. hippolytae* com

Apistogramma sp. aff. *steindachneri* é 8.0%.

***Apistogramma borellii* species group**

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pela espécie *Apistogramma borellii* que está dividida em 2 clados: *A. borellii* e *A. borellii* Opal Face. A distância interespecífica entre ambas é 5.0%.

***Apistogramma macmasteri* species group**

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogramma macmasteri* Kullander, 1979; *A. viejita* Kullander, 1979 e *A. nororientalis* Mesa & Lasso, 2011.

A distância interespecífica entre *A. macmasteri* e *A. viejita* é 3.0%; e com *A. nororientalis* é 9.0%. A distância entre *A. viejita* com *A. nororientalis* é 11.0%.

***Apistogramma regani* species Group Lato sensu**

(Fig. 1; Tabela 1-2).

Formado pelas espécies *Apistogrammoides pucallpaensis* Meinken, 1965; *A. cf. gossei* Kullander, 1982; *A. cinilabra* Römer, Duponchelle, Diaz, Davilla, Sirvas, Catchay & Renno, 2011; *Apistogramma* sp. ‘São Gabriel’; *Apistogramma* sp. ‘Emerald’; *Apistogramma* sp. ‘Guamá’; *Apistogramma* sp. ‘Araguaia-Tocantins’ e pelos Subgrupos *Apistogramma* sp. ‘Xipamanu’; *Apistogramma* sp. Xingu Sensu Lato; Subgrupo *A. commbrae*; Subgrupo *A. regani*; Subgrupo *A. ortmanni*; Subgrupo *A. acrensis*; Subgrupo *A. eunotus*; Subgrupo *A. caetei*; Subgrupo *A. rubrolineata* e Subgrupo *A. taeniata*.

***Apistogramma regani* species Group Stricto Sensu.**

Formado pelas mesmas espécies e grupos com exceção de *Apistogrammoides pucallpaensis*.

Aqui relatamos a distância interespecífica das espécies pertencentes a cada Subgrupo dentro do *A. regani* species Group Stricto Sensu.

Subgroup *Apistogramma* sp. ‘Xipamanu’

Formado pelas espécies *Apistogramma* sp. ‘Xipamanu’ and *Apistogramma* sp. Rio Madeira. A distância interespecífica entre ambos é 6.0%

Subgroup *Apistogramma kullanderi* sensu lato

Formado pelas espécies *Apistogramma kullanderi*, *Apistogramma* sp. ‘Vielfleck’- ‘Xingu’- ‘Assurini’- ‘Laranja’; *Apistogramma* sp. ‘Jamanxim’; *Apistogramma* sp.

‘Upper Xingu’; *Apistogramma* sp. ‘Tracejado’; *Apistogramma* sp. ‘Bacaja’ e *Apistogramma* sp. ‘Peixoto’.

As espécies desse subgrupo possuem uma distância interespecífica variando de 3.0 a 6.0%

Subgroup *A. commbrae*

Formado pelas espécies *A. commbrae* e *A. urteagai* com uma distância interespecífica de 5.0%.

Subgroup *A. regani*

Formado pela espécie *A. regani* provenientes de várias localidades. A espécie possui distância intraespecífica de 1.0%

Subgroup *A. ortmanni*

Formado pelas espécies *A. ortmanni* and *Apistogramma* sp. ‘Upper Negro River’ com uma distância interespecífica de 4.0%

Subgroup *A. acrensis*

Formado pelas espécies *A. acrensis* and *Apistogramma* sp. ‘Belo Monte’ com uma distância interespecífica de 3.0%

Subgroup *A. eunotus*

Formado pelas espécies *A. eunotus*, *A. paullmuelleri*, *A. ortegai* e *Apistogramma* sp. ‘Melgar’. As espécies desse subgrupo possuem uma distância interespecífica variando de 1.0 a 4.0%.

Subgroup *A. caetei*

Formado pelas espécies *A. caetei* (diversas localidades) and *A. piauiensis*, com uma distância interespecífica 1.0%.

Subgroup *A. rubrolineata*

Formado pelas espécies *A. rubrolineata* and *Apistogramma* sp. ‘Mamoré’ com uma distância interespecífica de 2.0%.

Subgroup *A. taeniata*

Formado pelas espécies *A. taeniata*, *A. resticulosa* (duas populações) e *A. geisleri*. Essas espécies possuem uma distância interespecífica de 3.0%.



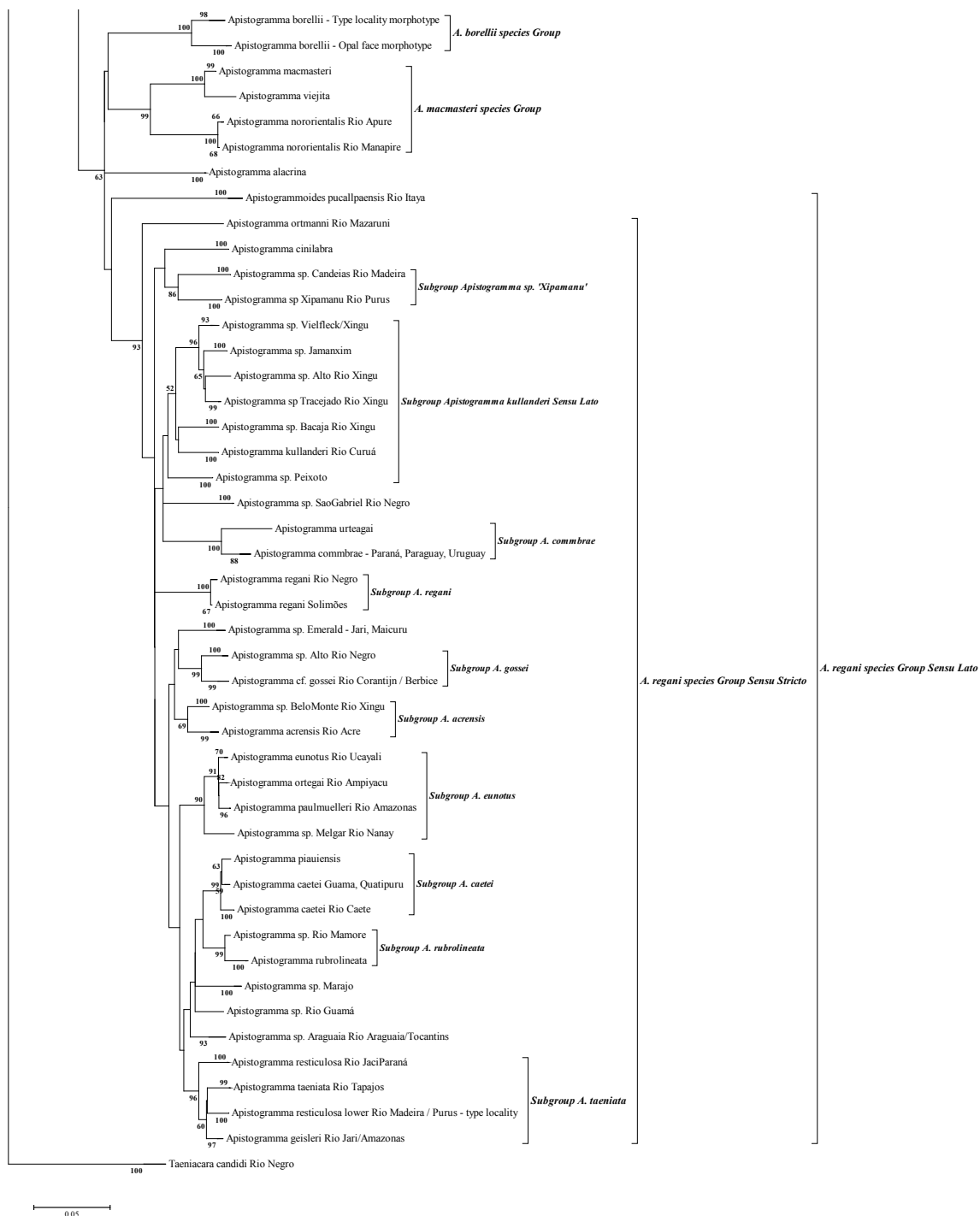


Fig. 1. Árvore gerada para o gene COI com neighbor-joining (NJ), distância K2P incluindo análise de bootstrap com 1000 pseudoréplicas.

Tabela 1. Variação interespecífica das espécies de *Apistogramma*

Tabela 2. Variação intraespecífica das espécies de *Apistogramma*

<i>Apistogramma acrensis</i>	0,008
<i>Apistogramma agassizii</i>	0,051
<i>Apistogramma alacrina</i>	0,001
<i>Apistogramma allpahuayo</i>	0,002
<i>Apistogramma atahualpa</i>	-
<i>Apistogramma baenschi</i>	0,002
<i>Apistogramma barlowi</i>	0,011
<i>Apistogramma bitaeniata</i>	0,088
<i>Apistogramma borellii</i>	0,031
<i>Apistogramma piaroa</i>	n/c
<i>Apistogramma cacatuoides</i>	0,057
<i>Apistogramma caetei</i>	0,011
<i>Apistogramma cf. gossei</i>	n/c
<i>Apistogramma cinilabra</i>	-
<i>Apistogramma commbrae</i>	0,004
<i>Apistogramma diplotaenia</i>	0,002
<i>Apistogramma elizabethae</i>	0,014
<i>Apistogramma eremnopyge</i>	0,002
<i>Apistogramma erythrura</i>	0,019
<i>Apistogramma eunotus</i>	0,003
<i>Apistogramma geisleri</i>	0,004
<i>Apistogramma gephyra</i>	0,038
<i>Apistogramma gibbiceps</i>	0,041
<i>Apistogramma hippolytae</i>	0,023
<i>Apistogramma huascar</i>	0,002
<i>Apistogramma iniridae</i>	0,019
<i>Apistogramma lineata</i>	n/c
<i>Apistogramma luelingi</i>	n/c
<i>Apistogramma macmasteri</i>	-
<i>Apistogramma martini</i>	n/c
<i>Apistogramma meinkenni</i>	0,010
<i>Apistogramma mendezi</i>	0,020
<i>Apistogramma nijsseni</i>	-
<i>Apistogramma norberti</i>	-
<i>Apistogramma nororientalis</i>	0,003
<i>Apistogramma ortegai</i>	0,006
<i>Apistogramma ortmanni</i>	0,014
<i>Apistogramma panduro</i>	0,011
<i>Apistogramma pantalone</i>	n/c
<i>Apistogramma paucisquamis</i>	0,001
<i>Apistogramma paulmuelleri</i>	0,002
<i>Apistogramma pertensis</i>	0,052
<i>Apistogramma piauiensis</i>	n/c
<i>Apistogramma pulchra</i>	0,082
<i>Apistogramma regani</i>	0,008
<i>Apistogramma resticulosa</i>	0,022
<i>Apistogramma rubrolineata</i>	0,003
<i>Apistogramma rupununi</i>	0,038
<i>Apistogramma sp. Abacaxis</i>	-
<i>Apistogramma sp. Alto Rio Negro</i>	0,008
<i>Apistogramma sp. Alto Rio Xingu</i>	n/c
<i>Apistogramma sp. Araguaia/Tocantins</i>	0,016

<i>Apistogramma sp. Bacaja</i>	-
<i>Apistogramma sp. Belo Monte</i>	-
<i>Apistogramma sp. Emerald</i>	0,006
<i>Apistogramma sp. Erdfresser</i>	-
<i>Apistogramma kullanderi</i>	-
<i>Apistogramma aff. lineata São Gabriel</i>	n/c
<i>Apistogramma sp. Jamaxim</i>	-
<i>Apistogramma sp. Marajó</i>	0,007
<i>Apistogramma sp. Melga Nanay</i>	n/c
<i>Apistogramma sp. Miua</i>	n/c
<i>Apistogramma sp. Peixoto</i>	-
<i>Apistogramma sp. Rio Guamá</i>	n/c
<i>Apistogramma sp. Rio Madeira</i>	-
<i>Apistogramma sp. Rio Mamoré</i>	n/c
<i>Apistogramma sp. Rio Negro</i>	n/c
<i>Apistogramma sp. São Gabriel</i>	0,002
<i>Apistogramma sp. tracejado</i>	0,002
<i>Apistogramma sp. Vielfleck/Laranja</i>	0,007
<i>Apistogramma sp. Xipamanu</i>	-
<i>Apistogramma staecki</i>	0,002
<i>Apistogramma aff. steindachneri</i>	0,011
<i>Apistogramma steindachneri True</i>	0,034
<i>Apistogramma taeniata</i>	0,001
<i>Apistogramma trifasciata</i>	0,045
<i>Apistogramma uaupesi</i>	0,010
<i>Apistogramma urteagai</i>	n/c
<i>Apistogramma viejita</i>	n/c
<i>Apistogramma wapisana</i>	0,007
<i>Apistogrammoides pucallpaensis</i>	0,019
<i>Taeniacara candidi</i>	0,019

4.2.4. Discussão

Grupos problemáticos para a sistemática e a taxonomia tradicional incluem táxons que apresentam caracteres pedomórficos (simplificação e redução de caracteres) que restringe a capacidade de diferenciar essas espécies, e táxons ricos em espécies onde é necessário um número maior de caracteres informativos. No caso de espécies amplamente distribuídas, estas podem apresentar grande variação fenotípica, que pode estar relacionado à seleção sexual (Ready et al. 2006) ou variação geográfica devido deriva ou adaptação local das populações (Römer, 2006); ou ainda a espécies crípticas, impedindo a compreensão dos processos ecológicos e evolutivos e subestimando a riqueza das espécies (Römer & Hahn 2008; García-Dávila et al. 2013). Apesar dessa alta riqueza de espécies, o conhecimento taxonômico tradicional do grupo é a principal ferramenta para a correta identificação e classificação das espécies do gênero.

Muitas espécies de *Apistogramma* apresentadas nesse estudo mostram variação de coloração em vida, de acordo com a localidade, principalmente aqueles com

distribuições mais amplas. Em ciclídeos africanos, muitas espécies também apresentam variações geográficas no padrão de coloração que podem ser sutis ou bem evidentes (Maan & Sefc, 2013), podendo interferir nas delimitações das espécies. Características sexuais secundárias normalmente são geneticamente determinadas ou variam dentro e entre populações, pois fêmeas escolhem machos que transmitiram os melhores genes a sua prole (Carvalho, 2005; Engelking et al. 2010). A capacidade de uma fêmea reconhecer e discriminar machos de sua própria espécie é uma habilidade importante para a manutenção da diversidade quando espécies/morfótipos estritamente relacionados são simpátricas (Turner, 2007). Mas essas podem cometer erros no caso de ciclídeos sulamericanos, quando espécies alopátricas muito próximas estão presentes segundo Römer & Beisenherz (2005).

Para utilizar o DNA barcode para identificação das espécies, é necessário que as sequências de indivíduos de uma mesma espécie sejam mais semelhantes do que as sequências de espécies relacionadas. Alguns estudos mostram que muitas vezes isso acontece (April et al. 2011), mas existem exceções a esta regra, especialmente quando existem sequências mitocondriais compartilhados entre espécies estreitamente relacionadas, possivelmente como resultado de hibridização (Johnson & Cicero 2002; Hebert et al. 2003; Meyer & Pauley 2005). Hebert et al. (2004) sugeriu um valor médio para delimitar espécies que deve ser pelo menos 10 vezes a distância média intraespecífica. Os valores de distância genética dentro de *Apistogramma* variam de 0 a 8.78%, com uma média 1.34% entre todas as espécies (veja Tabela 2 para distância dentro de cada espécie). Comparando a média da distância genética dentro das espécies (1.34%) no DNA barcode, observamos que esse valor está acima da média de outros estudos (0.31% Valdez-Moreno *et al.* 2010; 0.36% Pereira *et al.* 2011; 0.39% Ward *et al.* 2005).

Ward (2009) em uma revisão no DNA Barcode observou que cerca de 17% da divergência genética entre espécies congêneres foram inferiores a 3% e que uma ou outra chegou a 3,7% e menos de 1% dessas espécies foram divergentes. O autor então sugere que se amostras desconhecidas morfologicamente apresentam divergência maiores que 2% quando comparadas com amostras conhecidas é muito provável que sejam espécies diferentes com uma probabilidade superior a 95%. Sendo assim, o valor limite proposto por Hebert et al. (2004) como um indicador de espécies crípticas devem ser cuidadosamente analisados para cada grupo, pois, como esperado, não existe um único valor para todos os organismos e a identificação desse valor para

cada grupo tem sido um desafio para muitos pesquisadores (Meyer & Pauley 2005; Rubinooff et al., 2006; Rach et al 2008; Pereira et al. 2013).

A. agassizii e *A. gephyra* seriam um complexo de espécies?

Apistogramma agassizii está presente em vários ecossistemas da Amazônia, sendo encontrado em rios de águas claras, negras e brancas (Kullander, 1986). A espécie *A. gephyra* está presente em dois tipos de ambientes, água negra e água clara, (Kullander, 1980). Ambas as espécies ocupam diferentes nichos ao longo de sua distribuição e por não serem peixes migradores, esses padrões podem estar associados às características ambientais e a uma especiação alopátrica recente e relacionada ao ambiente no qual eles vivem (tipo de floresta, solo, água ou relacionados a eventos geológicos ao longo do Rio Amazonas). Koslowski (2002) descreve várias características diagnósticas para separar diferentes populações de *A. agassizii*, baseado principalmente na forma e coloração da nadadeira caudal, sendo a principal delas a presença de uma linha negra (Fig. 2). Enquanto isso, a nadadeira caudal de *A. gephyra* não apresenta a linha negra, possuindo apenas pequenas máculas na parte superior da nadadeira (Kullander, 1980).

Usando o DNA barcode encontramos quatro clados formados por *Apistogramma agassizii* + *A. gephyra*. No caso se chamamos de espécies distintas cada clado, o clado nomeado Tocantins, Marajó e Capim poderia se referir a *Apistogramma parva*, descrita por Ahl, 1931 para o Rio Capim, sendo suas principais características quando comparado com espécies do leste da Amazônia, o tamanho corporal, a coloração e o formato da nadadeira caudal.

Já o clado Guiana Shield + Tefé representaria o verdadeiro morfótipo de *Apistogramma agassizii*. Ainda dentro desse clado, encontramos uma das populações provenientes do Rio Tefé, onde alguns exemplares apresentam características morfológicas distintas, como linhas verticais em todo o corpo, mais visíveis nos exemplares machos. Esse mesmo padrão também existe em exemplares provenientes de Jenaro Herrera, Peru (não inclusos nessa análise), o que poderia ser um morfótipo amplamente distribuído em igarapés ou rios de águas negras ou seria um fator de ocorrência independente dentro dos morfótipos/clados de *A. agassizii*.

Dentro da espécie *A. agassizii* encontramos uma divergência de 5.10% para o gene COI, sendo este valor superior ao encontrado por Ward (2009) onde reporta valores de 3 a 3.7%; superior ao valor encontrado por Valdez-Moreno et al (2009)

onde reporta valores de 0 a 2.11%; e superior ao valor reportado por Pereira et al. (2011) onde reporta valores de 2 a 5.6%. Mas quando analisamos a divergência média dentro de cada população proposta (Tabela 3), os resultados de cada agrupamento de *A. agassizii* se encontram dentro dos valores propostos por Ward (2009) e Pereira et al. (2011); sendo relativamente maior do que os encontrados por Valdez-Moreno et al. (2009).

Os nossos dados sugerem que *A. agassizii* representa mais de uma espécie na bacia Amazônica, apresentando clusters presentes em apenas uma região (Clado Peru), enquanto outros estão bem dispersos (Clado Guiana Shield + Tefê). A partir desses resultados, sugerimos que uma revisão detalhada em *A. agassizii* seja realizada para validar essas possíveis novas espécies.



Figura 2. Exemplos de *A. agassizii* e *A. gephyra* (Subgroup *A. agassizii Stricto Sensu*). A - *A. agassizii* azul Peru (Martin Taylor), B - *A. agassizii* Anori, C - *A. agassizii* Tefê, D - *A. agassizii* Yellow Tefê, E - *A. agassizii* Flamenco Peru (Martin Taylor), F - *A. agassizii* Tapajós, G - *A. agassizii* Tocantins, H - *A. agassizii* Manacapuru, I - *A. gephyra* Barcelos, J - *A. gephyra* Xingu (Douglas Bastos), K - *A. gephyra* Xingu (Leandro Souza).

Tabela 3. Variação intraespecífica e interespecífica das espécies de *Apistogramma agassizii* e *A. geophyra*.

Between group distance					
	Apistogramma agassizii Guyana Shield Tefe (+ A. geophyra)				
	Apistogramma agassizii Western Amazon	0,06			
	Apistogramma agassizii Madeira Purus Tapajos Xingu (+ A. geophyra)	0,07	0,08		
	Apistogramma agassizii Tocantins Guama Marajo	0,07	0,07	0,04	
Within mean group distance					
	Apistogramma agassizii Guyana Shield plus Tefe (+ A. geophyra)	0,02			
	Apistogramma agassizii Western Amazon	0,02			
	Apistogramma agassizii Madeira Purus Tapajos Xingu (+ A. geophyra)	0,03			
	Apistogramma agassizii Tocantins Guama Marajo	0,02			

Apistogramma pulchra amplamente distribuído?

Embora morfologicamente similares os morfótipos provenientes do Rio Madeira e do Rio Aripuanã, geneticamente eles são bem diferentes. Os exemplares coletados na localidade tipo apresentam três padrões de nadadeira caudal: cinco listras verticais definidas em toda extensão da nadadeira caudal; sem listras verticais; e seis listras verticais ao longo da região central da nadadeira caudal (Kullander, 1980), e o holótipo da espécie apresenta a nadadeira caudal com listras verticais em toda sua extensão, assim como o morfótipo proveniente do Rio Madeira que possuímos. Já o morfótipo proveniente do Rio Aripuanã possui cerca de cinco listras verticais na nadadeira caudal, normalmente mais evidentes no lóbulo superior dessa nadadeira. Segundo da Graça et. al. (2013), a espécie possui uma variação de colorido bem maior do que a relatada por Kullander (1980), podendo talvez existir mais de uma espécie no que tem sido identificado como *A. pulchra*. Outros morfótipos relacionados à *A. pulchra*, como *Apistogramma* sp. Abacaxis do Rio Abacaxis e *Apistogramma* sp. aff. *pulchra* Negro do Rio Negro e Rio Branco representam novas espécies, devido a diversas diferenças morfológicas e de coloração (Fig. 3).

Dentro da espécie *A. pulchra* encontramos uma divergência 8.24% para o gene COI, sendo este valor superior ao encontrado por Ward (2009) onde reporta valores de 3 a 3.7%; superior ao valor encontrado por Valdez-Moreno et al (2009) onde reporta valores de 0 a 2.11%; e superior ao valor reportado por Pereira et al. (2011) onde reporta valores de 2 a 5.6%. Mas quando analisamos a divergência média dentro de cada população proposta (Tabela 4), os resultados de cada agrupamento de *A. pulchra*

se encontram dentro dos valores propostos por Valdez-Moreno et al (2009); sendo relativamente menores do que o proposto por Ward (2009) e Pereira et al. (2011).

Os nossos dados sugerem que *A. pulchra* possa representar mais de uma espécie na bacia do Rio Madeira, e a partir desses resultados, sugerimos que uma revisão detalhada nos morfótipos de *A. pulchra* seja realizada para validar essas possíveis novas espécies (Padial et al. 2010, Pereira et al, 2011).

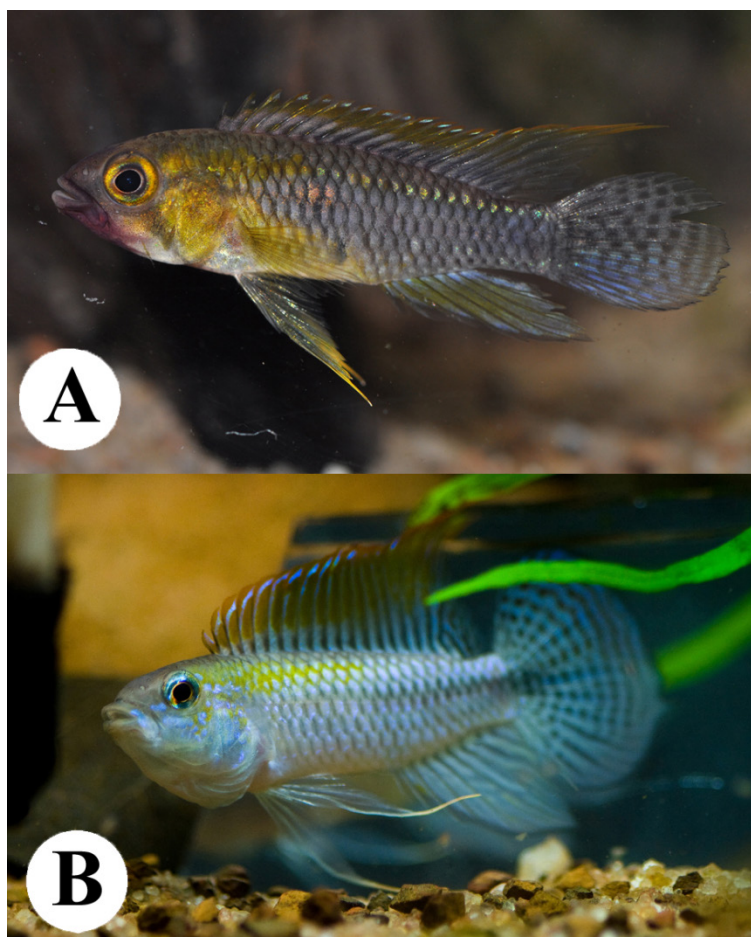


Figura 3. Exemplos do Subgroup *A. pulchra*. A – *Apistogramma* sp. Abacaxis, B – *A. pulchra* (Erivaldo Casado).

Tabela 4. Variação intraespecífica e interespecífica da espécie de *Apistogramma pulchra* e morfótipos relacionados.

	Between group distance	1	2	3	
1	Apistogramma sp aff pulchra Negro				
2	Apistogramma sp Abacaxis	0,10			
3	Apistogramma pulchra Type	0,12	0,03		
4	A.pulchra Aripuanã	0,11	0,06	0,08	
within mean group distance					
Apistogramma sp aff pulchra Negro	n/c				

Apistogramma sp. Abacaxis	0
Apistogramma pulchra Type	n/c
Apistogramma Aripuanã	n/c

A. bitaeniata seria um complexo de espécies?

A espécie *A. bitaeniata* possui distribuição principalmente na Amazônia Ocidental, ocorrendo principalmente em rios de águas negras do Peru (afluentes do Ucayali, baixo Nanay, Mazán, Napo e Tigre) até o Brasil (Tabatinga, Igarapé Preto, Lago Tefê e Rio Manacapuru) (Kullander, 1986; Römer, 2001). Usando o DNA barcode encontramos quatro clados formados por *A. bitaeniata* Careiro; *A. bitaeniata* Tefê; *A. bitaeniata* Ampiyacu e *A. bitaeniata* Iquitos + *A. eremnopyge*. Morfologicamente, até o momento não encontramos características distintas para separar essas populações em espécies diferentes, mesmo com a espécie *A. eremnopyge* inclusa dentro dos clados de *A. bitaeniata* como evidenciando pelo DNA Barcode (Fig. 4).

Os clados que encontramos estão aparentemente relacionados com os arcos estruturais da bacia amazônica, como: Careiro (distribuída a leste do Arco Purús); Tefê (distribuída a oeste Arco Purus); Iquitos + *A. eremnopyge* (distribuída a leste do Arco Iquitos); e Ampiyacu (distribuída a oeste do Arco Purús).

Dentro da espécie *A. bitaeniata* encontramos uma divergência 8.78% para o gene COI, sendo este valor superior ao encontrado por Ward (2009) onde reporta valores de 3 a 3.7%; superior ao valor encontrado por Valdez-Moreno et al (2009) onde reporta valores de 0 a 2.11%; e superior ao valor reportado por Pereira et al. (2011) onde reporta valores de 2 a 5.6%. Mas quando analisamos a divergência média dentro de cada população proposta (Tabela 5), os resultados de cada agrupamento de *A. bitaeniata* se encontram dentro dos valores propostos por Ward (2009) e Valdez-Moreno et al (2009). Apenas uma população apresenta alta taxa de divergência (clado *Apistogramma bitaeniata* Iquitos + *A. eremnopyge*), devido à presença de *A. eremnopyge*.

Os nossos dados sugerem que *A. bitaeniata* representa mais de uma espécie na bacia Amazônica, apresentando clusters presentes em apenas regiões específicas. A partir desses resultados, sugerimos que uma revisão detalhada em *A. bitaeniata* seja realizada para validar essas possíveis novas espécies.

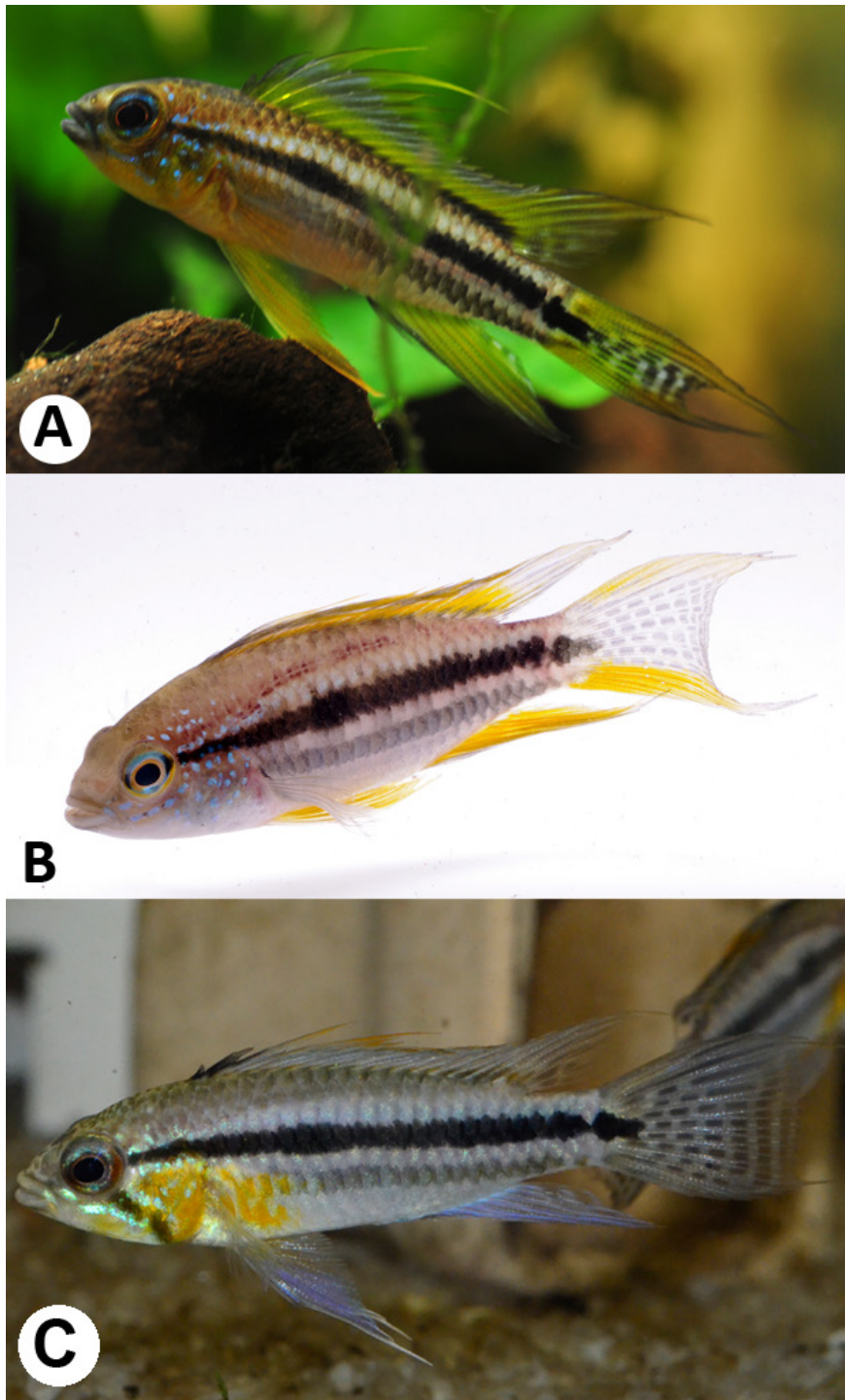


Figura 4. Exemplos do grupo *A. bitaeniata*. A – *A. bitaeniata* Tefê. B - *A. bitaeniata* Ampiyacu Peru (Martin Taylor), C – *A. bitaeniata* Careiro.

Tabela 5. Variação intraespecífica e interespecífica da espécie de *Apistogramma bitaeniata*.

	Between group distance				
	Apistogramma bitaeniata Careiro				

	Apistogramma bitaenata_Tefé	0,04			
	Apistogramma bitaeniata Iquitos + A. eremnop	0,14	0,14		
	Apistogramma bitaeniata Ampiyacu	0,16	0,14	0,05	
within mean group distance					
	Apistogramma bitaeniata Careiro			0,0	
	Apistogramma bitaeniata Tefé			0,0	
	Apistogramma bitaeniata Iquitos + A. eremnopyge			0,0	
	Apistogramma bitaeniata Ampiyacu			0,0	

Apistogramma gibbiceps amplamente distribuído?

Originalmente a espécie é descrita para a região do Rio Negro, sem uma localidade exata. A espécie se encontra distribuída na bacia do Rio Branco e no médio Rio Negro (Kullander, 2003). Usando o DNA Barcode encontramos dois clados principais, um distribuído entre Barcelos, Rio Branco e Rio Takutu e outro encontrado no Rio Aiuanã. Kullander (1980) descreve *A. roraimae* ao sul de Boa Vista (estado de Roraima, Brasil), na bacia do Rio Branco e atualmente essa espécie é considerada sinônimo de *A. gibbiceps*.

Dentro da espécie *A. gibbiceps* encontramos uma divergência 4.05% para o gene COI, sendo este valor superior ao encontrado por Ward (2009) onde reporta valores de 3 a 3.7%; inferior ao valor encontrado por Valdez-Moreno et al (2009) onde reporta valores de 0 a 2.11%; e dentro do valor encontrado por Pereira et al. (2011) onde reporta valores de 2 a 5.6%. Mas quando analisamos a divergência média dentro de cada população proposta (Tabela 6), os resultados de cada agrupamento de *A. gibbiceps* se encontram dentro dos valores propostos por Pereira et al. (2011) e Valdez-Moreno et al (2009).

Os nossos dados sugerem que *A. gibbiceps* representa mais de uma espécie na bacia Amazônica, apresentando clusters presente em apenas uma região específica (Aiuanã), enquanto outros estão bem dispersos (Barcelos, Branco, Takutu). A partir desses resultados, sugerimos que uma revisão detalhada em *A. bitaeniata* seja realizada para validar essas possíveis novas espécies.

Tabela 6. Variação intraespecífica e interespecífica da espécie de *Apistogramma gibbiceps*.

	Between group distance		
1	Apistogramma gibbiceps middle Negro Branco Takutu		
2	Apistogramma gibbiceps Aiuaana	0,06	

within mean group distance	
Apistogramma gibbiceps middle Negro Branco Takutu	0,022
Apistogramma gibbiceps Aiuana	0,002

A. cacatuoides seria um complexo de espécies?

A espécie *A. cacatuoides* possui distribuição principalmente na Amazônia ocidental, ocorrendo em rios de águas brancas como Ucayali, Marañón, Itaya, Putumayo, Napo and Amazonas/Rio Solimões, no Peru, Colômbia e Brasil (Kullander, 1986; Kullander, 2003). Koslowski (2002) relata que os morfótipos encontrados no Rio Putumayo apresentam coloração amarelada principalmente nas nadadeiras, diferindo do padrão encontrado na Amazônia peruana. Ou autor também relata que exemplares de *Apistogramma cacatuoides* foram encontrados até a região de Manacapuru (oeste de Manaus, AM), com coloração similar aos morfótipos encontrados em Tabatinga, AM (nadadeiras amarela alaranjadas), ampliando assim sua distribuição. Usando o DNA Barcode, encontramos a espécie dividida ao longo da Amazônia peruana juntamente com a espécie *A. allpahuayo* e outro na Amazônia brasileira. Morfologicamente, até o momento não encontramos características distintas para separar essas populações em espécies distintas. Ready et al. (2006) sugerem que as espécies do gênero *Apistogramma* provavelmente ainda estão passando por um processo de especiação, na sequência de uma recente divergência alopátrica e conclui que *Apistogramma* apresenta estruturação genética, mas pouca variação morfológica. Provavelmente essa separação esteja relacionada a eventos geológicos ao longo do Rio Amazonas. A espécie *A. cacatuoides* está dividida em dois clados diferentes: *A. cacatuoides* Brazilian Amazon and *A. cacatuoides* Peruvian Amazon + *A. allpahuayo* (Fig. 5).

Dentro da espécie *A. cacatuoides* encontramos uma divergência de 5.72% para o gene COI, sendo este valor superior ao encontrado por Ward (2009) onde reporta valores de 3 a 3.7%; superior ao valor encontrado por Valdez-Moreno et al (2009) onde reporta valores de 0 a 2.11%; e superior ao valor reportado por Pereira et al. (2011) onde reporta valores de 2 a 5.6%. Mas quando analisamos a divergência média dentro de cada população proposta (Tabela 7), os resultados de cada agrupamento de *A. cacatuoides* se encontram dentro dos valores propostos por e Valdez-Moreno et al (2009).

Os nossos dados sugerem que *A. cacatuoides* representa mais de uma unidade biológica na bacia Amazônica, apresentando clados presentes em apenas regiões

específicas. A partir desses resultados, sugerimos que uma revisão detalhada em *A. cacatuoides* seja realizada para validar essas possíveis novas espécies.

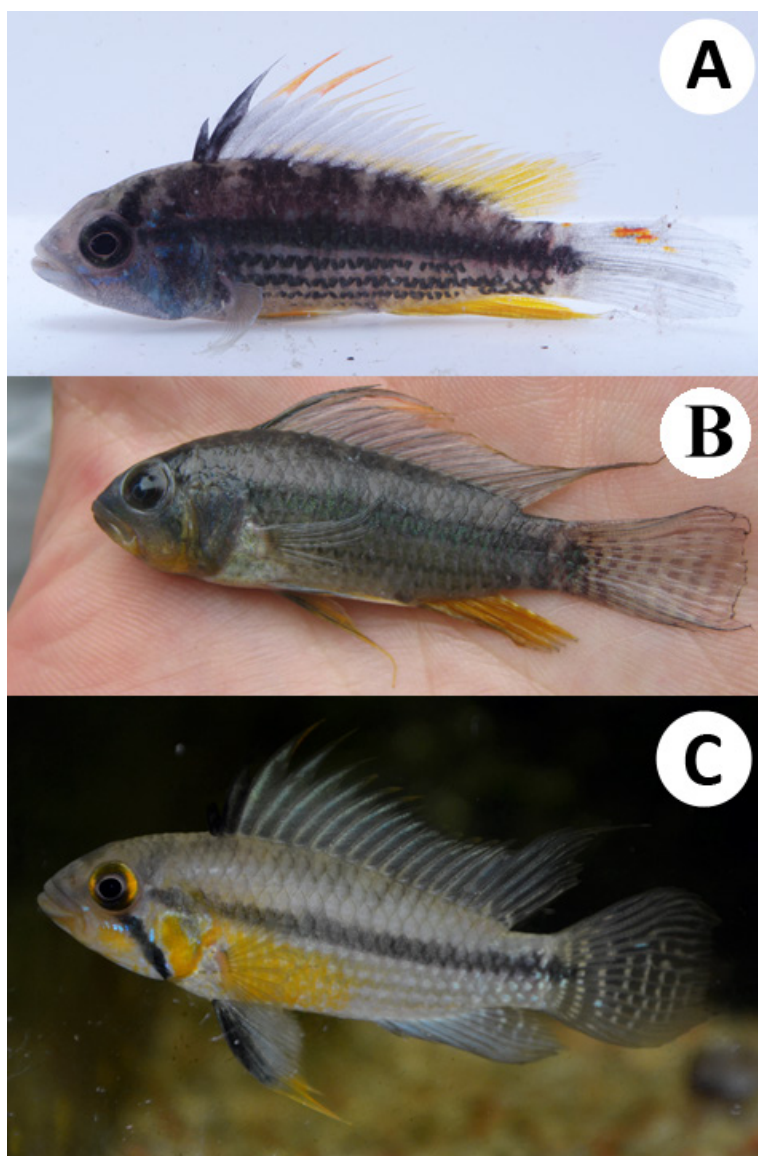


Figura 5. Exemplos do grupo *A. cacatuoides*. A – *A. cacatuoides* Peru (Martin Taylor), B - *A. allpahuayo*, C – *A. cacatuoides* Anori.

Tabela 7. Variação intraespecífica e interespecífica da espécie de *Apistogramma cacatuoides*.

		Between group distance	
1	Apistogramma cacatuoides Peruvian Amazon		
2	Apistogramma cacatuoides Brazilian Amazon	0,15	
within mean group distance			
Apistogramma cacatuoides Peruvian Amazon			0,008
Apistogramma cacatuoides Brazilian Amazon			0,000

Apistogramma trifasciata, os rios Madeira e Paraguai divididos.

As espécies *Apistogramma trifasciata* (Eigenmann & Kennedy, 1903) é descrita do Arroyo Chagalina, no Rio Paraguai (Paraguai). É distribuída no Rio Paraguai, médio Rio Paraná e Rio Guaporé (Kullander, 2003). Na bacia do Rio Paraguai, vemos apenas dois indivíduos do Rio Guaporé (Vila Bela da Santíssima Trindade/MT) dentro desse grupo, nos mostrando que ainda existe um fluxo gênico entre as bacias. Ambas bacias estão separadas pelo arco Michicola a mais de 30 milhões de anos, mas as últimas capturas entre as bacias datam de cerca de 10.8 milhões de anos atrás (Lundberg et al., 1998). A divisão entre a bacia do rio Paraguai e da Bacia Amazônica possui cerca de 2.000 km de extensão, atravessando várias unidades geomorfológicas com características diferentes. Algumas destas paisagens favorecem inundações e capturas entre as duas bacias (Iriando & Paira, 2007). Um dos mais importantes está localizado no leste da Bolívia no Rio Grande, que possui um fluxo (incluindo o fluxo principal) de 70% na bacia amazônica (alto Guaporé) e 30% na bacia do Paraguai (Rio Parapeti, alto Paraguai). A segunda mais importante está localizada em Mato Grosso, entre o Rio Aguapeí (Alto Paraguai) e do Rio Alegre (alto Guaporé) que têm correntes paralelas com cerca de 40 km, separados por apenas 1000 metros. Em ambas as regiões, os paleocanais do Cretáceo são ainda parcialmente ocupados por afluentes de ambos os lados, permitindo as capturas de ambas as bacias (Soldano, 1947; Iriando & Paira, 2007) e assim permitindo esse fluxo gênico. Várias espécies de ciclídeos são comuns no sistema Paraná-Paraguai e apenas alguns estão presentes na bacia do Guaporé (Kullander 2003). *Apistogramma trifasciata* está presente no sistema Paraná-Paraguai e sua distribuição no Rio Guaporé pode ser resultado de um evento geodispersor recente, como por exemplo, as capturas que ocorrem nos dias de hoje entre os afluentes do alto Paraguai com do alto Rio Guaporé e Mamoré (Carvalho & Albert, 2011). Usando o DNA Barcode também encontramos além dos dois clados bem estruturados, um terceiro que pode representar uma possível nova espécie relacionada com *A. trifasciata*.

Dentro da espécie *A. trifasciata* encontramos uma divergência de 4.5% para o gene COI, sendo este valor superior ao encontrado por Ward (2009) onde reporta valores de 3 a 3.7%; superior ao valor encontrado por Valdez-Moreno et al (2009) onde reporta valores de 0 a 2.11%; e dentro do valor reportado por Pereira et al. (2011) onde reporta valores de 2 a 5.6%. Mas quando analisamos a divergência média dentro

de cada população proposta (Tabela 8), os resultados de cada agrupamento de *A. trifasciata* se encontram dentro dos valores propostos por Pereira et al. (2011)

Os nossos dados sugerem que *A. trifasciata* representa mais de uma unidade biológica na bacia do Rio Madeira, apresentando clusters presentes em apenas regiões específicas ou amplamente distribuídos. A partir desses resultados, sugerimos que uma revisão detalhada em *A. trifasciata* da bacia do Rio Madeira seja realizada para validar essa possível nova espécie (Padial et al. 2010, Pereira et al, 2011).

Tabela 8. Variação intraespecífica e interespecífica da espécie de *Apistogramma trifasciata*.

Between group distance			
1	Apistogramma trifasciata Mamore		
2	Apistogramma aff trifasciata	0,09	
3	Apistogramma trifasciata Guapore/Paraguay	0,07	0,09
within mean group distance			
Apistogramma trifasciata Mamore		0,055	
Apistogramma trifasciata Paraguay/Guaporé		0,011	

A. pertensis seria um complexo de espécies?

A espécie é descrita de Manaus. O morfótipo da localidade tipo possui a nadadeira dorsal maior que a maioria dos outros morfótipos de outras regiões, especialmente quando comparado com o morfótipo do Rio Tapajós. Os morfótipos encontrados no Rio Manacapuru e Rio Tefé também apresentam um padrão semelhante na altura da nadadeira dorsal, mas ambos os morfótipos têm uma grande diferença genética. Esta espécie é encontrada em diferentes habitats, como rios de águas negras, de águas brancas e águas claras. Usando o DNA Barcode também encontramos três clados bem estruturados. Morfologicamente, essa é uma espécie bem difícil de separar. *A. pertensis* apresenta dimorfismo sexual evidente quando adultos, os machos são maiores e possuem a nadadeira dorsal alta e uma nadadeira pélvica prolongada (Kullander, 1980). A mácula da nadadeira caudal varia em sua forma de acordo com sua distribuição geográfica, sendo normalmente grande e arredondada ou verticalmente ovaladas, estendendo-se na maior parte na base da nadadeira caudal. Muitos morfótipos de *A. pertensis* frequentemente apresentam pigmentos negros na margem das escamas abdominais, não desenvolvendo listras horizontais no abdômen (Fig. 6).

Dentro da espécie *A. pertensis* encontramos uma divergência de 5.22% para o gene COI, sendo este valor superior ao encontrado por Ward (2009) onde reporta valores de 3 a 3.7%; superior ao valor encontrado por Valdez-Moreno et al (2009) onde reporta valores de 0 a 2.11%; e dentro do valor encontrado por Pereira et al. (2011) onde reporta valores de 2 a 5.6%. Mas quando analisamos a divergência média dentro de cada população proposta (Tabela 9), os resultados de cada agrupamento de *A. pertensis* se encontram dentro dos valores propostos por Valdez-Moreno et al (2009).

Os nossos dados sugerem que *A. pertensis* representa mais de uma unidade biológica na bacia do Rio Amazonas, apresentando clusters presentes em apenas regiões específicas ou amplamente distribuídos. A partir desses resultados, sugerimos que uma revisão detalhada em *A. pertensis* seja realizada para validar essas possíveis novas espécies (Padial et al. 2010, Pereira et al, 2011).

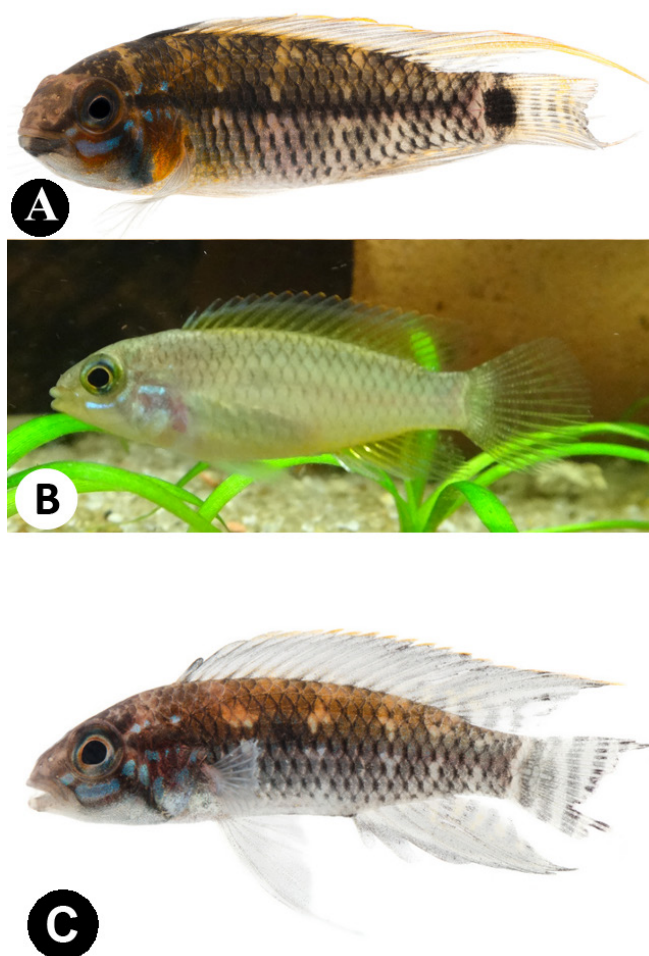


Figura 6. Exemplos do grupo *A. pertensis* *Stricto sensu*. A – *Apistogramma* sp. Erdfresser (Martin Taylor), B - *A. pertensis* Tapajós, C – *A. pertensis* Manacapuru

(Martin Taylor).

Tabela 9. Variação intraespecífica e interespecífica da espécie de *Apistogramma pertensis*.

		Between group distance			
1	Apistogramma_pertensis_Type				
2	Apistogramma_pertensis_Tapajos	0,08			
3	Apistogramma_pertensis_Middle_Negro_Manacapuru_Tefe	0,06	0,08		
within mean group distance					
	Apistogramma_pertensis_Type	0,010			
	Apistogramma_pertensis_Tapajos	0,016			
	Apistogramma_pertensis_Middle_Negro_Manacapuru_T	0,017			

Apistogramma rupununi estaria amplamente distribuído?

Ocorre na bacia Rio Rupununi Guiana e na bacia do Rio Branco, no Rio Amazonas (Kullander, 2003). Há também um registro de que a espécie ocorre no alto Rio Siapa (bacia do Rio Casiquiare - NRM 18984).

Dentro da espécie *A. rupununi* encontramos uma divergência de 3.82% para o gene COI, sendo este valor superior ao encontrado por Ward (2009) onde reporta valores de 3 a 3.7%; superior ao valor encontrado por Valdez-Moreno et al (2009) onde reporta valores de 0 a 2.11%; e dentro do valor encontrado por Pereira et al. (2011) onde reporta valores de 2 a 5.6%. Mas quando analisamos a divergência média dentro de cada população proposta (Tabela 10), os resultados de cada agrupamento de *A. rupununi* se encontram dentro dos valores propostos por Valdez-Moreno et al (2009).

Os nossos dados sugerem que *A. rupununi* representa mais de uma unidade biológica, apresentando clusters presentes em apenas regiões específicas, sendo o clado Rio Branco o mais próximo da localidade tipo. A partir desses resultados, sugerimos que uma revisão detalhada em *A. rupununi* seja realizada para validar essas possíveis novas espécies.



Figura 7. Exemplos do grupo *A. steindachneri*. A – *A. rupununi* Rio Branco, B - *A. hippolytae* Manacapuru (Martin Taylor).

Tabela 10. Variação intraespecífica e interespecífica da espécie de *Apistogramma rupununi*.

	MEGA Between group distan		
	Apistogramma rupununi Bran		
	Apistogramma rupununi Uatu	0,07	
within mean group distance			
Apistogramma rupununi Branco	0,02		
Apistogramma rupununi Uatumã	0,00		

Apistogramma borellii, uma espécie com dois morfótipos coletadas em simpatria.

A espécie *Apistogramma borellii* (Regan, 1906) é descrita para Carandazinho, estado do Mato Grosso, Brasil. A espécie possui distribuição na bacia do Rio Paraguai até o baixo Rio Paraná na Argentina (Kullander, 2003) e no Rio Uruguai (Lanés et al. 2010; Zarucki et al. 2010). *Apistogramma borellii* está dividido em dois clados com

uma distância entre ambos de 5 %. Um dos clados é amplamente distribuído em sua área de ocorrência (morfótipo localidade tipo) e o outro é encontrado ao longo do Rio Cuiabá até a confluência com o Rio Paraguai e seguindo até a boca do Rio Paraná (opal face morfótipo). Na região do Parque Nacional do Pantanal matogrossense, coletamos ambos morfótipos em simpatria, e comparando com os nossos resultados, poderia ser um caso de seleção sexual, devido à distância genética entre os morfótipos como apontado por Ready et al. (2006) (Fig. 8).

Dentro da espécie *A. borellii* encontramos uma divergência de 3.15% para o gene COI, sendo este valor similar ao encontrado por Ward (2009) onde reporta valores de 3 a 3.7%; inferior ao valor encontrado por Valdez-Moreno et al (2009) onde reporta valores de 0 a 2.11%; e dentro do valor encontrado por Pereira et al. (2011) onde reporta valores de 2 a 5.6%. Mas quando analisamos a divergência média dentro de cada população proposta (Tabela 11), os resultados de cada agrupamento de *A. borellii* se encontram dentro dos valores propostos por Valdez-Moreno et al (2009).

Os nossos dados sugerem que *A. borellii* possa representar mais de uma unidade biológica, devido a uma possível seleção sexual como apontado por Ready et al. (2006).



Figura 8. Exemplos de *A. borellii*. A – *A. borellii* Opal Face Rio Cuiabá (Rony Suzuki), B- *A. borellii* Rio Miranda, C- *A. borellii* Rio Cuiabá.

Tabela 11. Variação intraespecífica e interespecífica da espécie de *Apistogramma*

borellii.

	Between group distance		
1	Apistogramma borellii type		
2	Apistogramma borellii opal face	0,05	
within mean group distance			
Apistogramma borellii type		0,016	
Apistogramma borellii opal face		0,005	

Baixa distancia interespecífica na separação de espécies em três subgrupos dentro do *A. regani* species group *Sensu stricto*

A maioria das espécies dentro do *A. regani* species group *Sensu stricto* possui distância interespecífica de 3.0 a 12.0%, sendo exceção o subgrupo *A. caetei*, subgrupo *A. eunotus* e subgrupo *A. rubrolineata*. Essas espécies possuem uma distância interespecífica variando de 1 a 3%, mas podem ser facilmente separadas morfológicamente, mesmo com essa distância baixa. Essa divergência média dentro de cada sub grupo, confirma os valores propostos por Valdez-Moreno et al (2009) e Ward (2009).

Subgroup *A. caetei*

Apistogramma piauiensis difere de *A. caetei* principalmente por caracteres morfométricos, merísticos e de coloração. Segundo Kullander (1980) ambas espécies são muito próximas, o que poderia representar duas espécies com o mesmo ancestral em comum.

Subgroup *A. eunotus*

Formado pelas espécies *A. eunotus*, *A. ortegai*, *A. paullmueleri* e *Apistogramma* sp. Melgar Nanay. Todas as espécies podem ser separadas morfológicamente principalmente por caracteres de coloração e merísticos.

Subgroup *A. rubrolineata*

Formando pelas espécies *A. rubrolineata* e *Apistogramma* sp. ‘Mamoré’. Ambas são facilmente separadas por caracteres de coloração.

Todas são novas espécies?

Diversos clados que encontramos que deveriam representar apenas uma espécie, possuem grande variação genética entre si, além de diferenças no padrão de

coloração de acordo com a área geográfica. Muitas dessas, morfologicamente são muito similares, não permitindo uma separação em diferentes espécies. É provável que essas espécies estejam passando por processos graduais de variação fenotípica, relacionados com suas características e o ambiente em que vivem, assim como o encontrado por Ready et al. (2006). Utilizando o DNA barcode, encontramos cerca de 80 espécies diferentes em nossa análise, e se ainda dividirmos as populações distintas da mesma espécie amplamente distribuída, esse número salta para 96 possíveis diferentes espécies. Com esses dados, a riqueza da biodiversidade do gênero *Apistogramma* deve estar mal estimada.

4.3. Filogenia molecular das espécies do gênero *Apistogramma*

4.3.1. Introdução

- **Visão geral**

A família Cichlidae possui mais de 1300 espécies válidas reconhecidas atualmente, com estimativas que alcançam mais de 1900 espécies no total (Kullander, 1998) e estão distribuídos extensamente na região continental da América do Sul e Central (400 espécies), nas ilhas de Cuba e Hispaniola (quatro espécies), África (mais de 1000 espécies), Madagascar (mais de 18 espécies), Arábia e áreas adjacentes (cinco espécies) e Índia (três espécies). Os ciclídeos neotropicais são representados pela subfamília Cichlinae, um grupo monofilético fortemente sustentado com aproximadamente 60 gênero e 600 espécies, possuindo sete diferentes tribos (Smith et al. 2008; López-Fernández et al. 2010). Dentro do clado dos ciclídeos neotropicais, a tribo Geophagini abrange 18 gêneros e cerca de 250 espécies descritas (López-Fernández et al., 2005, 2010; Smith et al., 2008), e muitas outras ainda não descritas até o momento (Kullander, 2003; López-Fernández & Taphorn, 2004). O monofiletismo de Geophagini é comprovado pelos curtos ramos encontrados na filogenia, indicando que esta tribo provavelmente sofreu uma rápida diferenciação em um curto período de tempo (López-Fernández et al. 2005; Smith, 2008). Nessa tribo, o gênero *Apistogramma* é um dos mais especiosos, compreendendo atualmente 86 espécies válidas (Britzke et al., 2014; Varella & Sabaj Pérez, 2014), e mais pelo menos 20 novas espécies registradas, mas não oficialmente, na literatura aquarística (Römer, 2001, 2006). As espécies do gênero possuem sua distribuição nas bacias dos Rios Amazonas, Orinoco, Paraguai, baixo Rio Paraná, baixo Rio Uruguai e nos rios costeiros das Guianas.

- **Taxonomia e Sistemática**

Desde a descrição do gênero por Regan (1913), apenas os trabalhos de revisão Kullander (1980, 1986) foram mais abrangentes, e após isso apenas descrições de espécies são realizadas por diversos autores. Sobre hipóteses filogenéticas, vários autores utilizaram *Apistogramma* em suas filogenias de ciclídeos neotropicais, onde se destacam Kullander (1998) com dados morfológicos e López-Fernández et al. (2010) com dados moleculares. Porém usualmente o número de espécies é pequeno e assim

nada de objetivo se sabe sobre as relações entre as espécies.

- **Relacionamento das espécies de *Apistogramma***

Espécies do gênero *Apistogramma* são agrupadas de acordo com algumas características de coloração e anatomia, como as reduções do sistema de canais látero-sensorial. Estes agrupamentos variam entre sete grupos (Regani, Macmasteri, Commbrae, Borelli, Agassizii, Gibbiceps, Pertensis e Incertae sedis; Kullander, 1980) e 13 grupos com 16 complexos de espécies (Steindachneri, Regani, Macmasteri, Alacrina, Pertensis, Brevis, cacatuoides, Nijsseni, Trifasciata, Gibbiceps, Bitaeniata e Agassizii, com um complexo de espécies incertae sedis como *A. borellii*, *A. diplotaenia* e *A. elizabethae*; Koslowski, 2002). Existe também um grande número de outras classificações de grupos (Meinken 1962, Koslowski, 1985, Kullander, 1986), e tem-se verificado que estes grupos têm frequentemente uma distribuição regional (Schmettkamp, 1982). Miller e Schliewen (2005) publicam na revista alemã *Datz* uma hipótese de relacionamento molecular entre as espécies do gênero, usando espécies válidas e morfótipos conhecidos como “A-numbers”, um sistema de código composto por letra e números para designar morfótipos e novas espécies, porém não são listados os genes utilizados e as sequências não foram depositadas no Genbank. Römer (2006), utilizando o método de Ward, encontra o gênero dividido em três linhagens filogenéticas (Regani, Steindachneri e Agassizii) com cinco super-complexos, 20 complexos e 30 subcomplexos.

4.3.2. Material e Métodos

- **Amostragem taxonômica e coleta de dados moleculares.**

Nós amostramos tecidos de 642 espécimes do gênero *Apistogramma* coletados nas drenagens do Amazonas, Orinoco, Paraguai, baixo Paraná, baixo Uruguai e rios costeiros das Guianas e se encontram depositadas nas coleções das seguintes instituições: ANSP (Academy of Natural Sciences of Philadelphia), LBP (Laboratório de Biologia de Peixes da Universidade Estadual Paulista, Botucatu), MCP (Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica, Porto Alegre), MHNG (Muséum d'histoire Naturelle, Ville de Genève), MPEG (Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém), ROM (Royal Ontario Museum, Toronto), MZUSP (Museu de

Zoologia da Universidade de São Paulo), UFPA (Universidade Federal do Pará, Bragança) and UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre). As identificações taxonômicas foram realizadas de acordo com Kullander (1980, 1986), Kullander & Nijssen (1989), Römer (2006) e com os artigos de descrição das espécies. Todos os exemplares sequenciados estão apresentados em uma tabela na seção Anexos.

- **Obtenção das sequencias de DNA.**

Uma pequena amostra de tecido foi utilizada de espécimes preservados em etanol 96%. A extração de DNA foi realizada pela plate glass fiber DNA seguindo o protocolo de extração do fabricante (Ivanova et al. 2006). Foram utilizados os primers Fish F1 e Fish R1 (Ward et al. 2005); L14841 e H15915 para o gene CytB (Kocher et al., 1989); L11935 e H12857 para o gene ND4 (Bielawsky et al., 2002; López-Fernández et al., 2010) e16Sa-L, and 16Sb-H (Palumbi et al., 1991) para o gene 16S rRNA. As amplificações foram feitas com um volume total de 12.5µl, contendo 1.25µl of 10 X PCR buffer, 0.25µl of MgCl₂ (50 Mm), 0.2 µl dNTPs (2 mM), 0.5 µl de cada primer (5 mM), 0.1µl de 1.25 U de PHT DNA Taq polymerase, e 1µl de DNA genômico (200 ng). Os ciclos de PCR foram estabelecidos com as seguintes condições: 94°C x 5 min, 35 ciclos of 94°C for 40 s, 50°C-52°C for 30s, 72°C for 1 min, and 72°C for 8 min. Todos os produtos de PCR foram primeiramente visualizados em um gel de 1% de agarose e então purificados usando ExoSap-IT® (USB, Affymetrix Corporation, Cleveland, Ohio) seguindo as instruções do fabricante. Os produtos de PCR purificados foram sequenciados utilizando a enzima BigDye™ Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems). Subsequente, a amplificação de DNA foi purificada novamente e sequenciada em um sequenciador automático 3130-Genetic Analyzer (Applied Biosystems), no Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo.

- **Alinhamento de sequências e análises filogenético.**

Os contigs foram montados e editados no programa Geneious v5.5.6 (Drummond et al., 2011). Para o alinhamento de sequências foi utilizado o algoritmo Muscle com os parâmetros padrão (Edgar 2004), e os alinhamentos foram inspecionados um a um para encontrar qualquer desalinhamento e então corrigi-los. A etapa de controle de qualidade foi incluída em nosso fluxo de trabalho para detectar possíveis casos de erros de sequenciação devido à contaminação ou paralogia. Alinhamentos de cada

gene foram inicialmente analisados por neighbor joining (NJ) utilizando o software MEGA 5.0 (Tamura et al. 2011) para controlar potenciais erros de sequenciamento, envolvendo pseudogenes, cópias parálogas ou qualquer contaminação no laboratório ou erros durante o processo de sequenciamento. As sequências que foram encontradas erros foram novamente sequenciadas ou eliminadas a partir dos análises subsequentes. Sequências de genes codificadores de proteínas (COI, Cytb e ND4) foram alinhados e traduzidos utilizando o programa Geneious v5.5.6 (Drummond et al., 2011) para verificar a ocorrência inesperada de stop códons. As sequências desses três genes foram concatenadas em uma única sequência. Para avaliar a ocorrência de saturação nucleotídica, nós estimamos o índice de saturação nucleotídica (Iss), plotando as transições e transversões no programa DAMBE 5.2.31 (Xia and Xie 2001), como descrito por Xia et al. (2003) e Xia & Lemey (2009). O melhor esquema de partição e modelos de substituição para nossa análise filogenética foi identificado usando o programa PartitionFinder (Lanfear et al., 2012). As hipóteses filogenéticas foram inferidas em nossa matriz com as análises de máxima verossimilhança (ML), máxima parcimônia (MP) e inferência Bayesiana (B). A análise de máxima verossimilhança (ML) foi realizada no RAxML Web-Servers Black-Box (Stamatakis et al., 2008).

A análise particionado foi implementada, com o conjunto de dados dividido em dez partes, correspondentes ao 16S e a primeira, segunda e terceira posições dos outros genes (COI, CytB and ND4). Árvores aleatórias foram usadas para cada pesquisa independente de ML, e todos os outros parâmetros foram fixados em valores padrão. Para testar a robustez da árvore, foram testados 1000 pseudoreplicas de bootstrap (Felsenstein, 1985). As análises de Máxima parcimônia foram realizadas com o programa PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2003). Foi realizada uma busca Heurística com um mínimo de 1000 repetições aleatórias. Todos os caracteres não foram ordenados, todas as transformações de caráter foram igualmente ponderadas e ramos com comprimento máximo de zero foram colapsados. Gaps foram tratados como dados faltantes. Para testar a robustez da árvore, foram testados 1000 pseudoreplicas de bootstrap (Felsenstein, 1985). A análise filogenética usando inferência Bayesiana foi realizada pelo programa MrBayes 3.1.2 (Ronquist and Huelsenbeck 2003) com os modelos e partições determinados pelo PartitionFinder (Lanfear et al., 2012). MrBayes foi programado para rodar 500 milhões de gerações usando oito cadeias (nchain = 8; i.e., duas corridas paralelas com 1 fria e 7 quentes cada cadeia; os parâmetros de temperatura seguiram o default do programa). Os

resultados foram analisados pelos programas Tracer v. 1.6 (Rambaut ET al., 2014), TreeAnnotator v.1.8.0 (disponível como parte do pacote de BEAST, Drummond et. al., 2012) e FigTree v. 1.4.2 (Rambaut, 2012) após deletar 30% das primeiras árvores geradas.

4.3.3. Resultados

Para o gene COI, 636 pares de bases foram sequenciados de 496 amostras; para o gene CytB, 354 pares de bases foram sequenciados de 496 amostras; para o gene 16S rRNA 552 pares de bases foram sequenciados de 369 amostras; e para o gene ND4 669 pares de bases foram sequenciados de 270 amostras; totalizando um total de 642 amostras do gênero *Apistogramma* (Teleostei, Cichlidae). Das 86 espécies válidas do gênero, possuímos 60 espécies válidas (70% por cento das espécies válidas do gênero) e encontramos outras 20 novas espécies para a ciência. Encontramos o gênero dividido em grupos, conforme características de coloração e anatomia propostas (Kosłowski, 2002; Kullander 1980, 1986; Kullander & Nijssen (1989)) (Fig. 1)

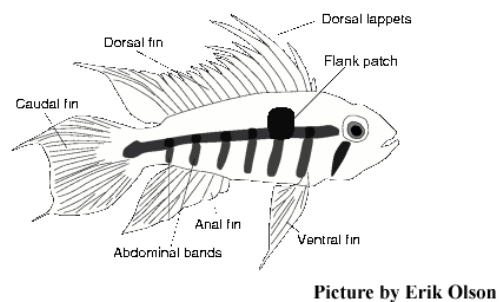
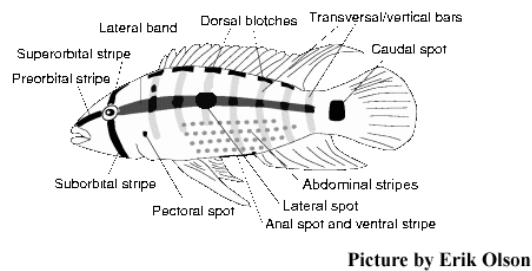
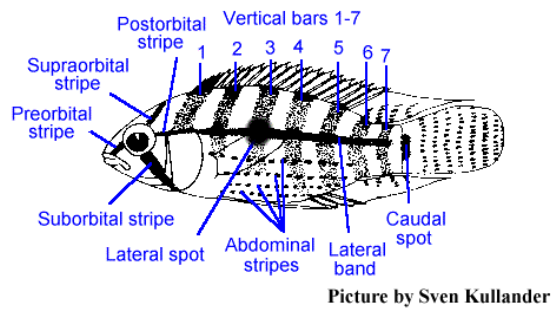


Figura 1. Características de coloração e anatomia do gênero *Apistogramma* (Kullander, 1980; 1986).

Os resultados apresentados confirmam o monofiletismo do gênero *Apistogramma*. O gênero *Apistogrammoides*, é considerado aqui um representante do gênero *Apistogramma* e o gênero *Taeniacara* é considerado seu grupo irmão

Os grupos de espécies *A. regani*, *Apistogrammoides pucallpaensis*, *A. borellii*, *A. macmasteri* e *A. alacrina* estão relacionados com o grupo *A. diplotaenia*. O grupo *A. diplotaenia* por sua vez, é mais basal as espécies dos grupos *A. wapisana*, *A. steindachneri*, *A. lineata*, *A. iniridae* e *A. pertensis*. Os grupos *A. wapisana*, *A. steindachneri*, *A. lineata*, *A. iniridae* e *A. pertensis* estão relacionados aos grupos *A. barlowi*, *Apistogramma* sp. “Tiquié”, *A. cacatuoides*, *A. luelingi*, *A. trifasciata*, *A. atahualpa*, *A. nijsseni*, *A. gibbiceps*, *A. bitaeniata*, *A. agassizii*, *A. pulchra* e *A. brevis* (Fig. 2 e 7). Dividimos a árvore filogenética em diferentes clados para facilitar o entendimento.

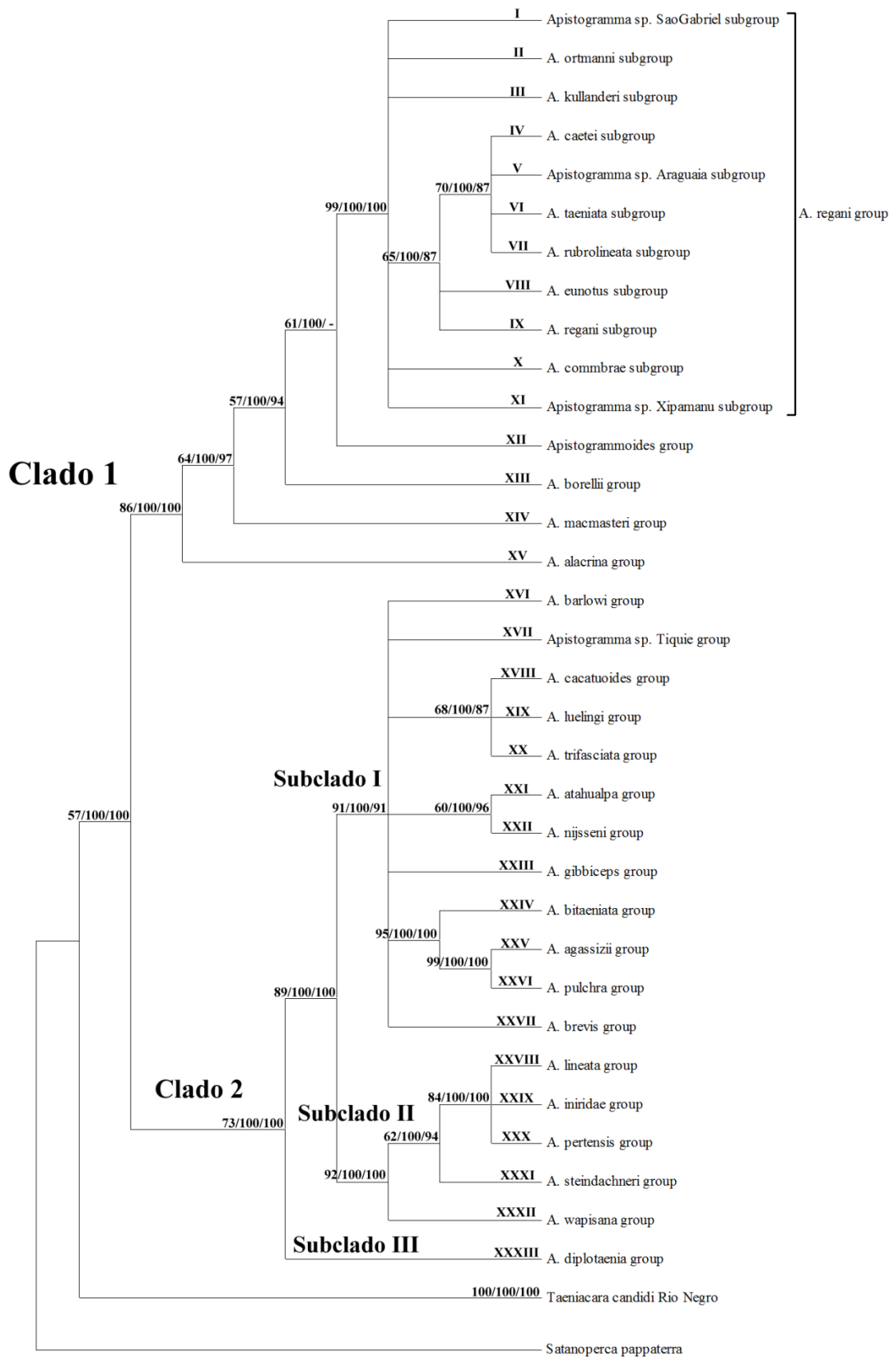


Figura 2. Árvore filogenética dos grupos de *Apistogramma* baseada nos genes mitocondriais 16 S rRNA, COI, CytB e ND4 obtida com máxima verossimilhança, máxima parcimônia e análise bayesiana com bootstrap de 1000 pseudoreplicas. Valores menores que 50% não são mostrados. Valores em números romanos são apresentados no texto.

Clado 1

Formada em sua maioria pelas espécies do grupo *Apistogramma regani*, que é diagnosticada pela presença de barras verticais, faixa lateral, listras na cabeça iniciando-se a partir da órbita (suborbital, preorbital, pós-orbital, supraorbital), mancha escura na nadadeira dorsal anterior, 3-4 fileiras de dentes na mandíbula, escamas com túbulos na linha lateral inferior, corpo relativamente alto, 1-4 rastros ceratobranquiais e ausência de mancha lateral (Kullander 1980: 48). Todas as espécies do grupo *Apistogramma regani* possuem 4 poros infraorbitais e 5 poros dentais.

Outras espécies que fazem parte desse clado são *Apistogrammoides pucallpaensis*, *Apistogramma borellii* e as espécies do grupo *Apistogramma macmasteri* (*A. macmasteri*, *A. viejita*, *A. hoignei* e *A. nororientalis*) e do grupo *Apistogramma alacrina* (*A. alacrina*).

Grupo *Apistogrammoides* (Node XII: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).

Apistogrammoides pucallpaensis Meinken, 1965; é a única espécie que possui de 7-9 espinhos na nadadeira anal, faixa lateral indistinta ao longo do corpo, pedúnculo caudal com uma marcação que consiste em um ponto triangular no pedúnculo caudal e 3 manchas alongadas na base da nadadeira caudal. A espécie em questão foi coletada nas proximidades de Iquitos, Peru. Possui o padrão de poros das espécies do grupo *A. regani*. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma borellii* (Node XIII: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pela espécie *A. borellii* (Regan, 1906); coletadas nos rios Cuiabá, Paraguai, Miranda, Negro (afluente do Paraguai) e Uruguai. Possui corpo relativamente alto, faixa lateral em zig-zag normalmente visível apenas na metade posterior do corpo, 3 poros infraorbitais. Kullander (1982) não consegue relacionar a espécie a qualquer outra espécie devido ao baixo número de vertebrae. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma macmasteri* (Node XIV: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pelas espécies *A. macmasteri* Kullander, 1979; *A. viejita* Kullander, 1979; *A. hoignei* Meinken, 1965 e *A. nororientalis* Mesa & Lasso, 2011. O grupo é caracterizado por corpo moderadamente alto, escamas peitorais, 3 fileiras de dentes na mandíbula, preopérculo inteiro, 1-4 rastros branquiais, barras verticais presentes, mácula na nadadeira caudal presente, machos com membranas da nadadeira dorsal anteriormente prolongadas e fêmeas com uma mancha escura no peito. Possui o padrão de poros das espécies do grupo *A. regani*. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma alacrina* (Node XV: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pela espécie *A. alacrina* Kullander, 2004. Os machos apresentam algumas características das espécies pertencentes a grupo de espécies *A. macmasteri*, e as fêmeas compartilham características dos grupos *A. macmasteri* e *A. regani*. A principal diferença dessa espécie com as demais é a presença de um segundo poro na cavidade nasal bem desenvolvido e nunca reportado em outros ciclídeos (Kullander, 2004). Também possui o padrão de poros das espécies do grupo *A. regani*. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma regani* (ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).

Dentro das espécies do grupo *A. regani*, possuímos diversos subgrupos de espécies, e dividimos da seguinte forma:

Subgrupo *Apistogramma* sp. São Gabriel (Node I: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado apenas por uma espécie conhecida na literatura aquarística como *Apistogramma* sp. São Gabriel. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Subgrupo *A. ortmanni* (Node II: ML: 62%, MP: 100%, BI: 99%).

Formado pelas espécies *Apistogramma cinilabra* Römer, Duponchelle, Römer, Duponchelle, Diaz, Davilla, Sirvas, Catchay & Renno, 2011; e *Apistogramma ortmanni* (Eigenmann, 1912). Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Subgrupo *Apistogramma kullanderi* (Node III: ML: 90%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pelas espécies *Apistogramma kullanderi* Varella & Sabaj-Pérez, 2014; *Apistogramma* sp. Xingu (incluem morfótipos conhecidos como Vielfleck, Assurini, Laranja); *Apistogramma* sp. Peixoto; *Apistogramma* sp. Bacaja; *Apistogramma* sp. Jamanxim; *Apistogramma* sp. Tracejado e *Apistogramma* sp. Alto Xingu. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Subgrupo *Apistogramma caetei* (Node IV: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).
Formado pelas espécies *A. caetei* Kullander, 1980 e *A. piauiensis* Kullander, 1980.
Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Subgrupo *Apistogramma* sp. Araguaia (Node V: ML: 93%, MP: 100%, BI: 100%).
Formado pelas espécies *Apistogramma* sp. Araguaia, *Apistogramma* sp. Marajó e *Apistogramma* sp. Guamá. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Subgrupo *Apistogramma taeniata* (Node VI: ML: 70%, MP: 100%, BI: 87%).
Formado pelas espécies *Apistogramma geisleri* Meinken, 1971; *Apistogramma resticulosa* Kullander, 1980; *Apistogramma taeniata* (Günther, 1862) e *Apistogramma* sp. Amapá. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Subgrupo *Apistogramma rubrolineata* (Node VII: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).
Formado pelas espécies *A. rubrolineata* Hein, Zarske & Zapata, 2002 e *Apistogramma* sp. Abunã. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Subgrupo *Apistogramma eunotus* (Node VIII: ML: 95%, MP: 100%, BI: 100%).
Formado pelas espécies *A. eunotus* Kullander, 1981; *A. ortegai* Britzke, Oliveira & Kullander, 2014; *A. paulmuelleri* Römer, Beninde, Duponchelle, Garcia Dávila, Vela Díaz & Renno, 2013 e *Apistogramma* sp. Melgar. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Subgrupo *Apistogramma regani* (Node IX: ML: 95%, MP: 100%, BI: 100%).
Formado pelas espécies *Apistogramma* aff. *gossei* Kullander, 1982; *A. regani* Kullander, 1980; *A. acrensis* Staeck, 2003; *Apistogramma* sp. Alto Rio Negro, *Apistogramma* sp. Emerald e *Apistogramma* sp. Belo Monte. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

SubGrupo *Apistogramma commbrae* (Node X: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).
Formado pelas espécies *Apistogramma commbrae* (Regan, 1906) e *A. urteagai* Kullander, 1986. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Subgrupo *Apistogramma* sp. Xipamanu (Node XI: ML: 70%, MP: 100%, BI: 87%).
Formado apenas por espécies conhecidas na literatura aquarística como *Apistogramma* sp. Xipamanu e *Apistogramma* sp. Candeias. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

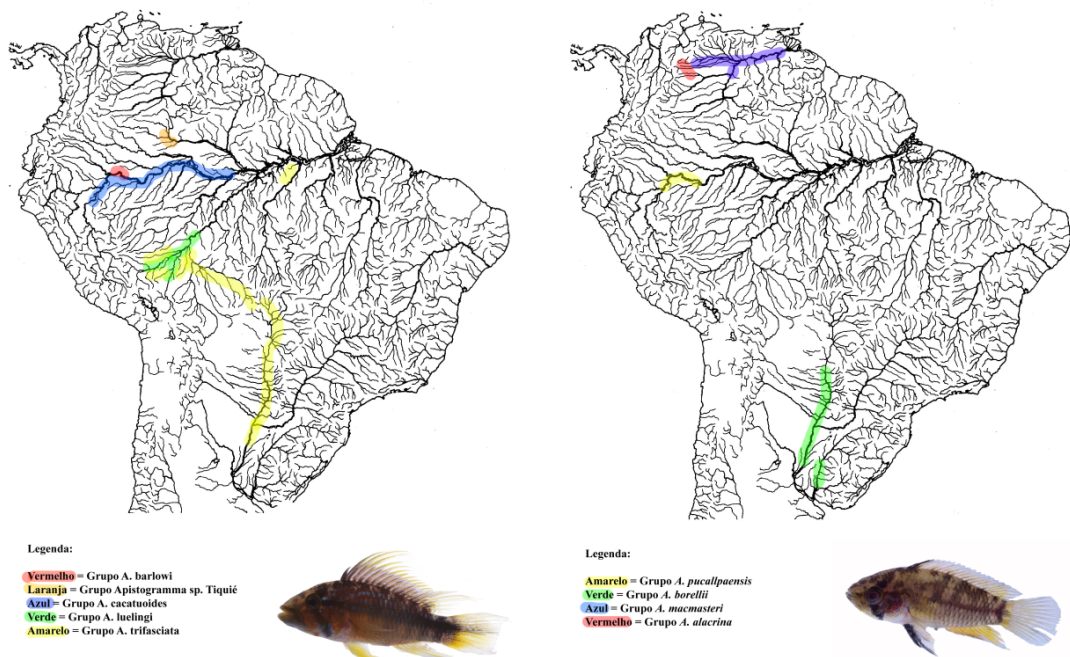


Figura 3. Mapa de distribuição das espécies dos grupos *A. barlowi*, *Apistogramma* sp. Tiquié, *A. cacatuoides*, *A. luelingi*, *A. trifasciata*, *A. pucallpaensis*, *A. borellii*, *A. macmasteri* e *A. alacrina*.

Clado 2

Formado por 3 diferente sub-clados.

Sub-clado I

Formada pelas espécies dos grupos *A. barlowi*, *Apistogramma* sp. Tiquié, *A. cacatuoides*, *A. luelingi*, *A. trifasciata*, *A. atahualpa*, *A. nijsseni*, *A. gibbiceps*, *A. bitaeniata*, *A. agassizii*, *A. pulchra* e *A. brevis*.

Os grupos *A. barlowi*, *Apistogramma* sp. Tiquié, *A. cacatuoides*, *A. luelingi* e *A. trifasciata*, possuem as seguintes características: apresentam corpo ligeiramente alongado, mandíbula e lábios relativamente grandes (mais visíveis nos grupos *A. cacatuoides*/*A. luelingi*/*A. barlowi*), as primeiras 5-7 membranas da nadadeira dorsal prolongada (exceção no grupo *A. nijsseni*/*Apistogramma* sp. Tiquié) e nadadeiras caudais em forma de lira ou arredondadas. Todas as espécies do grupo mostram a faixa lateral se estendendo até a base da nadadeira caudal ou e em algumas espécies esta termina na sétima barra vertical, antes do pedúnculo e próximo à mácula caudal (exceção no grupo *A. nijsseni*). Todas as espécies possuem 3 poros infraorbitais e 5 poros dentais.

Grupo *Apistogramma barlowi* (Node XVI: ML: 98%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pela espécie *A. barlowi* Römer & Hahn, 2008.

As espécies desse grupo apresentam corpo relativamente alto e comprimido lateralmente, faixa lateral presente. Nadadeira caudal em forma de lira. Nadadeira dorsal com as primeiras 5-7 membranas desenvolvidas. Lábios relativamente grandes. Listras abdominais ausentes. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma* sp. Tiquié (Node XVII: ML: 99%, MP: 100%, B: -).

Possuímos apenas a espécie *Apistogramma* sp. Tiquié nesse grupo. A espécie possui tamanho pequeno; corpo moderadamente alongado e ligeiramente fusiforme; ausência de dimorfismo sexual evidente; nadadeira dorsal relativamente baixa e nadadeira caudal com listras verticais inconspícuas. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma cacatuoides* (Node XVIII: ML: 93%, MP: 100%, B: 100%).

Formado pelas espécies *A. allpahuayo* Römer, Beninde, Duponchelle, Díaz, Ortega, Hahn, Soares, Cachay, Dávila, Cornejo & Renno, 2012; *A. cacatuoides* Hoedeman, 1951 e *A. norberti* Staeck, 1991. Esse clado possui um bom suporte por ML.

As espécies desse grupo apresentam corpo relativamente alto e comprimido lateralmente, faixa lateral presente, presença de mácula lateral sobre a faixa lateral. Nadadeira caudal arredondada ou em forma de lira. Nadadeira dorsal com as primeiras 5-7 membranas desenvolvidas. Lábios relativamente grandes. Listras abdominais presentes em algumas espécies. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma luelingi* (Node XIX: ML: 99%, MP: 100%, B: 100%).

Formado pelas espécies *Apistogramma luelingi* Kullander, 1976 e *Apistogramma staecki* Koslowski, 1985. Esse clado possui um bom suporte por ML.

As espécies desse grupo apresentam corpo relativamente alto e comprimido lateralmente, faixa lateral presente, presença de mácula lateral sobre a faixa lateral. Nadadeira caudal em forma de lira. Nadadeira dorsal com as primeiras 5-7 membranas desenvolvidas. Lábios relativamente grandes. Listras abdominais presentes apenas em *A. luelingi*. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma trifasciata* (Node XX: ML: 68%, MP: 100%, B: 100%).

Formado pelas espécies *Apistogramma arua* Römer & Warzel, 1998; *Apistogramma erythrura* Staeck & Schindler, 2008, *Apistogramma trifasciata* (Eigenmann & Kennedy, 1903) e *Apistogramma* aff. *trifasciata*. As espécies desse grupo apresentam

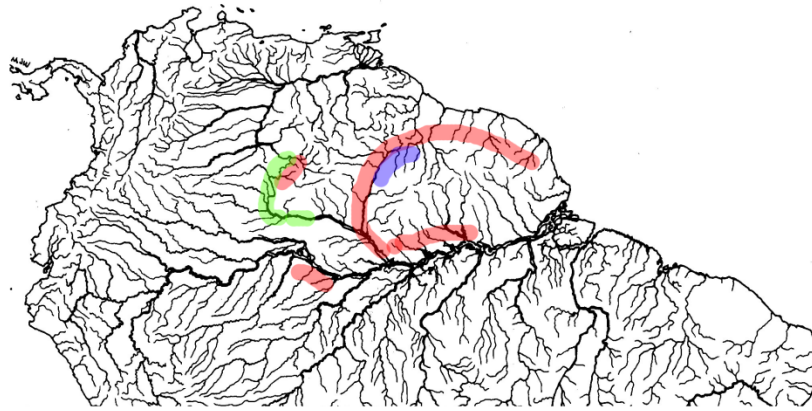
corpo relativamente alto e comprimido lateralmente, faixa lateral presente, presença de mácula lateral sobre a faixa lateral. Nadadeira caudal em forma de lira ou arredondada. Nadadeira dorsal com as primeiras 4-5 membranas desenvolvidas. Lábios desenvolvidos. Ausência de listras abdominais. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma atahualpa* (Node XXI: ML: 98%, MP: 100%, B: 100%).

Formado pelas espécies *A. atahualpa* Römer, 1997 e *A. huascar* Römer, Pretor & Hahn, 2006. As espécies desse grupo apresentam corpo relativamente alto e comprimido lateralmente, faixa lateral presente, presença de mácula lateral sobre a faixa lateral, mais visível em fêmeas. Nadadeira caudal arredondada ou em forma de lira. Nadadeira dorsal com as primeiras 5-6 membranas desenvolvidas. Lábios relativamente grandes. Listras abdominais ausentes. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

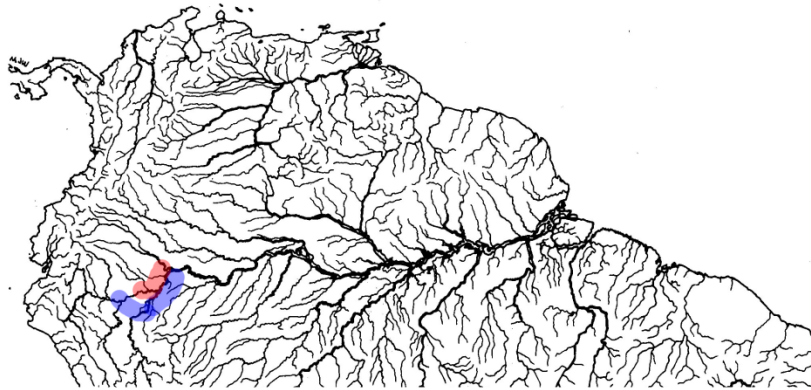
Grupo *Apistogramma nijsseni* (Node XXII: ML: 98%, MP: 100%, B: 100%).

Formado pelas espécies *A. baenschi* Römer, 1997; *A. martini* Römer, Hahn, Römer, Soares & Dohler, 2003; *A. panduro* Römer, 1997; *A. pantalone* Römer, Römer, Soares & Hahn, 2006 e *A. nijsseni* Kullander, 1979. As espécies desse grupo apresentam corpo relativamente alto e comprimido lateralmente e faixa lateral presente em algumas espécies. Presença de mácula lateral sobre a faixa lateral apenas em *algumas espécies*; demais espécies ausência de faixa lateral e possuem uma mácula bem desenvolvida. Listra suborbital desenvolvida em fêmeas de *A. baenschi*, *A. martini*, *A. nijsseni*, *A. panduro*, *A. pantalone*. Nadadeira caudal arredondada com uma faixa laranja avermelhada na margem externa da nadadeira caudal; em forma de lira. Nadadeira dorsal com as primeiras 4-5 membranas desenvolvidas ou nadadeira dorsal serrilhada, dependendo da espécie. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.



Legenda:

Vermelho = Grupo *A. steindachneri*
 Azul = Grupo *A. wapisana*
 Verde = Grupo *A. diplotaenia*



Legenda:

Azul = Grupo *A. nijsseni*
 Vermelho = Grupo *A. atahualpa*



Figura 4. Mapa de distribuição das espécies dos grupos *A. steindachneri*, *A. wapisana*, *A. diplotaenia*, *A. nijsseni* e *A. atahualpa*.

Os grupos *A. gibbiceps*, *A. bitaeniata*, *A. agassizii* e *A. pulchra*. Possuem as seguintes características: espécies de corpo alongado, com ou sem barras verticais delgadas, faixa lateral com uma mácula no centro do corpo. Faixas na cabeça mais ou menos completas. Três séries de dentes na mandíbula. Nadadeira dorsal com ou sem prolongamentos (dependendo da espécie). Nadadeira caudal com uma prolongação no meio dos raios, ou com as extremidades prolongadas (forma de lira). Listras

abdominais transversais em *A. gibbiceps*. Linha lateral inferior com canais (Kullander 1980: 51). Todos esses exemplares possuem 3 poros infraorbitais e 4 poros dentais.

Grupo *Apistogramma gibbiceps* (Node XXIII: ML: 91%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pelas espécies *A. gibbiceps* Meinken, 1969 e *A. elizabethae* Kullander, 1980. As espécies desse grupo apresentam corpo relativamente alongado, presença de mácula lateral sobre a faixa lateral, faixa lateral chegando até a nadadeira caudal, listras na cabeça reduzidas, nadadeira dorsal com as primeiras quatro membranas desenvolvidas, nadadeira caudal em formato de lira em machos adultos. *A. elizabethae* também pode apresentar cauda lanceolada. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma bitaeniata* (Node XXIV: ML: 99%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pelas espécies *A. bitaeniata* Pellegrin, 1936; *A. eremnopyge* Ready & Kullander, 2004; *A. mendezi* Römer, 1994; *A. paucisquamis* Kullander & Staeck, 1988 e *Apistogramma* sp. Miua. Todas as espécies possuem nadadeira caudal em forma de lira em machos adultos e arredondada a truncada nas fêmeas e juvenis. Apenas *Apistogramma* sp. Miua possui nadadeira caudal arredondada. A nadadeira dorsal nos machos desse grupo é serrilhada em todas as espécies, com exceção de *A. bitaeniata* e *A. eremnopyge* que possui as primeiras seis membranas da nadadeira prolongadas nos machos adultos. Possuem normalmente uma (*A. paucisquamis*, *A. eremnopyge*) a duas ou três (*A. bitaeniata*, *A. mendezi*, *Apistogramma* sp. Miua) faixas lateral. Presença de mácula lateral sobre a faixa lateral, mais visíveis em fêmeas e juvenis. Possuem distribuição no Rio Negro, Rio Nanay, Rio Mazán, Rio Tigre, Rio Tefé, Rio Manacapuru, Rio Ucayali e Rio Marañon (Kullander, 1986; Römer, 2001). Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

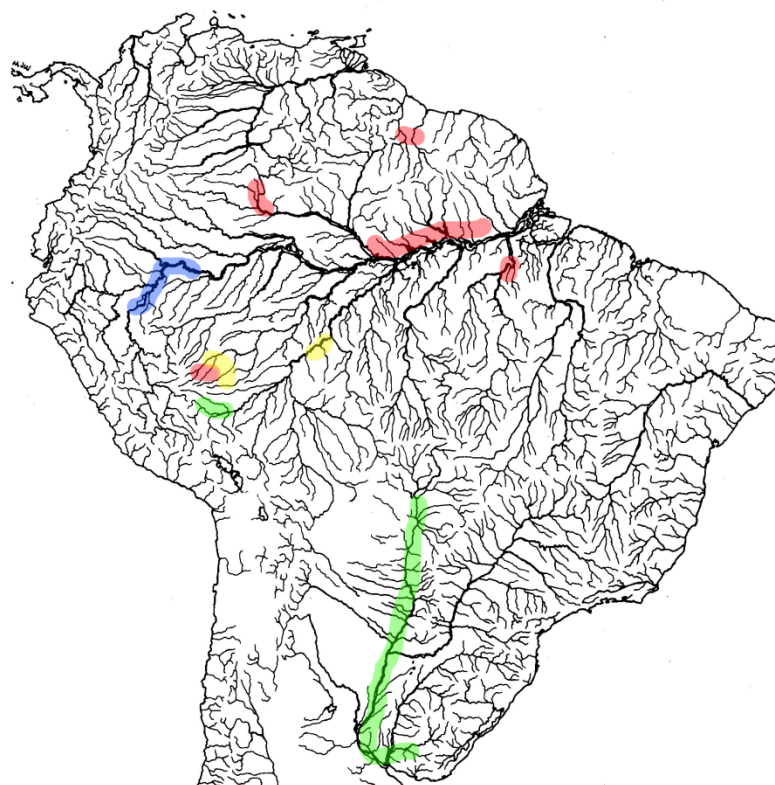
Grupo *Apistogramma agassizii* (Node XXV: ML: 97%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pelas espécies *A. agassizii* (Steindachner, 1875) e *A. gephyra* Kullander, 1980. As espécies desse grupo possuem nadadeira caudal com padrão lanceolado, os machos de *A. agassizii* exibem até quatro bandas submarginais bem evidentes, enquanto em *A. gephyra* exibem apenas duas bandas submarginas inconspícuas e pontos na região superior da nadadeira caudal; nadadeira dorsal relativamente baixa, com a extremidade posterior (raios ramificados) prolongada nos machos adultos; presença de mácula lateral sobre a faixa lateral; faixa lateral chegando até a nadadeira

caudal. Possuem distribuição bem ampla na bacia Amazônica, principalmente *A. agassizii*, sendo encontrada no Rio Amazonas desde o Peru até a Ilha de Marajó, e seus afluentes como Rio Nanay, Rio Negro, Rio Tefé, Rio Madeira, Rio Purus, Rio Tapajós Rio Xingu, Rio Jari, Rio Maicuru, Rio Tocantins, Rio Capim. *Apistogramma gephyra* é encontrada na bacia do Rio Negro, Tapajós (Kullander, 2003) e Xingu. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

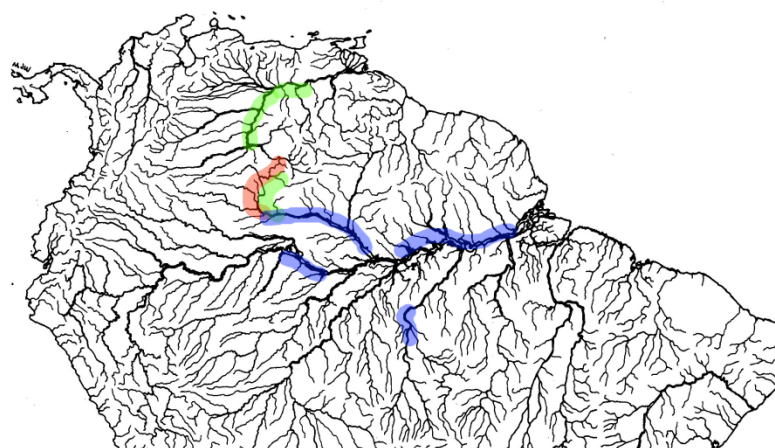
Grupo *Apistogramma pulchra* (Node XXVI: ML: 66%, MP: 100%, BI: 100%). Formado pelas espécies *Apistogramma pulchra* Kullander, 1980; *Apistogramma* sp. Abacaxis e *Apistogramma* sp. Rio Negro. As espécies desse grupo possuem nadadeira caudal arredondada, com linhas ou uma série de pontos verticais inconspícuos que acompanham a curvatura da cauda. Faixa lateral chegando até a nadadeira caudal. Nadadeira dorsal serrilhada em todas as espécies. Presença de mácula lateral sobre a faixa lateral, mais visíveis em fêmeas e juvenis. Possuem distribuição no médio Rio Madeira, Rio Aripuanã, Rio Abacaxis e Rio Negro/Branco. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma brevis* (Node XXVII: ML: -, MP: 100%, BI: -). Possuímos apenas uma espécie dessa linhagem em nossa análise, *A. piaroa* Mesa & Lasso, 2011 da bacia do alto Rio Negro. As espécies desse grupo possuem o corpo relativamente alto e comprimido lateralmente. Nadadeira dorsal com as primeiras 5-7 membranas prolongadas. Nadadeira caudal em forma de lira, com listras verticais apenas ou divididas ao meio com listras horizontais e verticais. Linha negra atravessando toda a extremidade da nadadeira anal. Possuem 3 poros infraorbitais, 5 poros no dentário e 2 ânguloarticulares. Esse clado possui um bom suporte de MP.



Legenda

- Azul** = Subgrupo *A. eunotus*
- Vermelho** = Subgrupo *A. regani*
- Verde** = Subgrupo *A. combrae*
- Amarelo** = Subgrupo *Apistogramma* sp. Xipamanu



Legenda:

- Vermelho** = Grupo *A. brevis*
- Verde** = Grupo *A. lineata*
- Azul** = Grupo *A. pertensis*



Figura 5. Mapa de distribuição das espécies dos grupos *A. regani* (Subgrupos *A. eunotus*, *A. combrae*, *A. regani* e *Apistogramma* sp. Xipamanu), *A. brevis*, *A. lineata* e *A. pertensis*.

Sub-clado II

É formada pelos grupos de espécies *A. lineata*, *A. iniridae*, *A. pertensis*, *A. steindachneri* e *A. wapisana*.

Machos dos grupos *A. lineata*, *A. iniridae* e *A. pertensis*, possuem corpo alongado, as membranas da nadadeira dorsal são unidas, antes da ponta dos raios duros e a região préventral possui menor quantidade de escamas. Nadadeira caudal com formato arredondado ou em formato de lira, dependendo das espécies. Barras verticais podem ser visíveis, mas não fazem parte do padrão de colorido (excessão *A. iniridae*). Faixa lateral e mácula lateral presentes, cabeça com faixas incompletas, nadadeira dorsal não apresenta primeiros raios negros e não possui mancha peitoral. Duas raramente três séries de dentes. Linha lateral inferior com canais. 1-5 rastros branquiais (Kullander, 1980:49).

As espécies do grupo *A. steindachneri* possuem uma mácula na região da barra 3, podendo estar acima da faixa lateral, ou ainda em cima da mesma, provavelmente uma sinapomorfia desse grupo. Juvenis de *A. steindachneri* exibem a mácula lateral em cima da faixa lateral (Kullander, 1982). A parte superior do corpo abaixo da nadadeira dorsal apresenta um padrão de escamas reticuladas. A faixa lateral é muito estreita, e termina na base do pedúnculo, e após isso possui uma mácula na nadadeira caudal.

O grupo *A. wapisana* possui uma espécie de pequeno porte. Exibe características do grupo *A. steindachneri*, como faixa lateral estreita e mácula lateral em cima dessa faixa; e do grupo *A. pertensis* por apresentar corpo alongado relativamente baixo (Kosłowski, 2002).

Grupo *Apistogramma lineata* (Node XXVIII: ML: 65%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado por *Apistogramma lineata* Mesa & Lasso, 2011 e *Apistogramma* sp. aff. *lineata* São Gabriel. Apresentam corpo alongado, faixa lateral chegando até a nadadeira caudal, nadadeira dorsal baixa e serrilhada, nadadeira caudal arredondada com listras verticais e três indistintas listras abdominais. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma iniridae* (Node XXIX: ML: 69%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pelas espécies *Apistogramma iniridae* Kullander, 1979 e *Apistogramma uaupesi* Kullander, 1980. As espécies possuem corpo alongado; faixa lateral chegando até a nadadeira caudal; nadadeira dorsal relativamente alta, com as membranas unidas em toda a extensão; nadadeira caudal arredondada ou lirada com listras verticais. Esse

clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma pertensis* (Node XXX: ML: 57%, MP: 100%, BI: 100%).

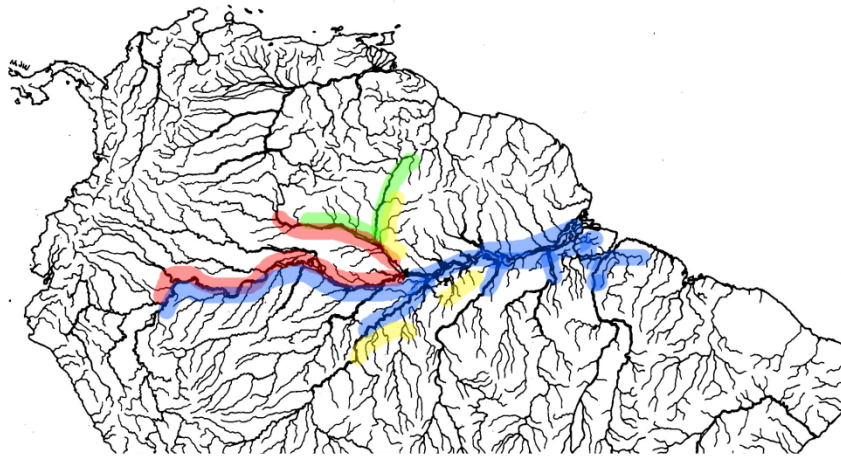
Formado pelas espécies *Apistogramma meinkeni* Kullander, 1980; *Apistogramma pertensis* (Haseman, 1911) e *Apistogramma* sp. Erdfresser. As espécies possuem corpo alongado, as membranas da nadadeira dorsal posterior são unidas, antes da ponta dos raios. Nadadeira caudal com formato arredondado ou em formato de lira, dependendo das espécies. Faixa lateral e mácula lateral presentes, cabeça com faixas incompletas, nadadeira dorsal não apresenta primeiros raios negros e não possui mancha peitoral. Mácula na nadadeira caudal presente. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

Grupo *Apistogramma steindachneri* (Node XXXI: ML: 98%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pelas espécies *Apistogramma hippolytae* Kullander, 1982; *Apistogramma rupununi* Fowler, 1914; *Apistogramma steindachneri* (Regan, 1908) e *Apistogramma* sp. aff. *steindachneri*. As espécies possuem uma mácula na região da barra 3, podendo estar acima da faixa lateral, ou em cima da mesma. A parte superior do corpo abaixo da nadadeira dorsal apresenta um padrão de escamas reticuladas. Faixa lateral estreita, e possuem mácula na nadadeira caudal. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

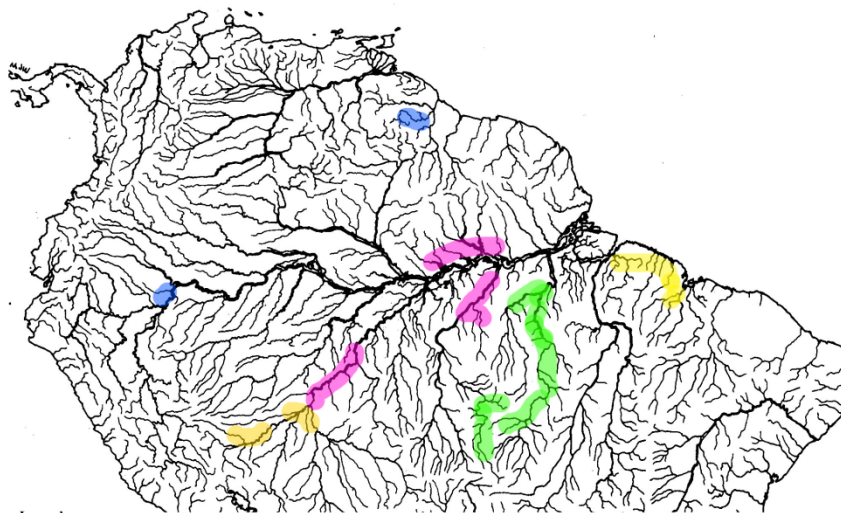
Grupo *Apistogramma wapisana* (Node XXXII: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pela espécie *Apistogramma wapisana* Römer, Hahn & Conrad, 2006. Corpo relativamente baixo e alongado. Faixa lateral com uma mácula lateral em cima da mesma. Nadadeira dorsal serrilhada. Não possui marcas abdominais ou listras verticais na nadadeira caudal. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.



Legenda:

- Verde = Grupo *A. gibbiceps*
- Vermelho = Grupo *A. bitaeniata*
- Azul = Grupo *A. agassizii*
- Amarelo = Grupo *A. pulchra*



Legenda:

- Amarelo = Subgrupo *A. caetei*
- Verde = Subgrupo *A. kullanderi*
- Rosa = Subgrupo *A. taeniata*
- Azul = Subgrupo *A. ortmanni*
- Laranja = Subgrupo *A. rubrolineata*



Figura 6. Mapa de distribuição das espécies dos grupos *A. gibbiceps*, *A. bitaeniata*, *A. agassizii*, *A. pulchra* e *A. regani* (Subgrupos *A. caetei*, *A. kullanderi*, *A.taeniata*, *A. ortmanni* e *A. rubrolineata*).

Sub-clado III

Grupo *Apistogramma diplotaenia* (Node XXXIII: ML: 100%, MP: 100%, BI: 100%).

Formado pela espécie *Apistogramma diplotaenia* Kullander, 1987. Espécie de corpo alongado. Nadadeira dorsal serrilhada. Duas faixas laterais que convergem anteriormente e posteriormente. Nadadeira caudal ligeiramente lanceolada em machos e arredondados em fêmeas. Faixa preorbital intensa, faixa suborbital ligeiramente delgada. Possuem três poros infraorbitais e quatro poros no dentário. Esse clado possui um bom suporte de ML, MP e B.

4.3.4. Discussão

Relacionamento de espécies.

Os resultados do presente estudo corroboram a hipótese de que *Apistogramma* é monofilético quando o gênero *Apistogrammoides* é considerado um representante do gênero *Apistogramma* (Figura 2).

Kullander (1998) fornece evidências filogenéticas para a colocação de *Apistogramma* na tribo Geophagini, sendo grupo irmão de *Gymnogeophagus*, e considerou *Apistogrammoides* e *Taeniacara* como gêneros monotípicos mais semelhantes, mas não congêneres com *Apistogramma*. Farias et al. (2000) utilizando dados moleculares, encontraram as espécies *Satanoperca* e *Taeniacara* como grupo irmão de *Apistogramma*. Farias et al. (2001), encontram *Taeniacara* como grupo irmão de *Apistogramma*, e essas espécies grupo irmão a *Satanoperca*. Em uma abordagem de evidência total com a combinação de dados morfológicos e moleculares, López-Fernández et al. (2005) encontra uma estreita relação entre *Apistogramma* + *Apistogrammoides* irmãos de *Taeniacara*, e esses dois gêneros relacionados com *Satanoperca*.

Kullander (1987) encontra uma grande semelhança entre *Apistogramma*, *Apistogrammoides* e *Satanoperca* com respeito à cartilagem semelhante a uma haste, que se articula com a extremidade distal do processo curvado epibrânquial, atingindo ou quase atingindo a cartilagem dorsal faringobrânquial.

López-Fernández et al. (2010), em análise molecular mais ampla, também encontra o monofiletismo do grupo composto por *Satanoperca* irmão de *Taeniacara* e *Apistogramma* + *Apistogrammoides* (chamado de Apistogrammines).

A presente análise filogenética mostra que *Apistogramma* é composto de duas linhagens principais (Clados 1 e 2 – Fig. 2)

Comparando nossos dados com as filogenias existentes, López-Fernández et al.

(2005, 2010) encontram *A. agassizii* relacionada com *A. iniridae* e *A. hoignei* relacionada com *Apistogrammoides*, e ambos clados relacionados entre si. Em nossa análise encontramos uma topologia muito similar, onde *A. iniridae* pertence ao grupo *A. iniridae* (*A. iniridae*, *A. uaupesi*), os quais estão relacionados com as espécies dos grupos *A. lineata*, *A. pertensis*, *A. steindachneri*, *A. wapisana* e essas consequentemente relacionadas com as espécies do grupo *A. agassizii* (*A. agassizii*, *A. gephyra*) e também de outros grupos.

Römer (2006), em sua análise considera que a linhagem *A. steindachneri* contém espécies dos grupos *A. steindachneri*, *A. cacatuoides*, *A. nijsseni* e *A. trifasciata*. Em nossa análise, as espécies pertencentes ao grupo *A. steindachneri* estão relacionadas com as espécies dos grupos *A. wapisana*, *A. iniridae*, *A. lineata* e *A. pertensis* (Subclado II). As outras espécies consideradas por Römer (2006) pertencentes à linhagem *Steindachneri* (*A. cacatuoides*, *A. nijsseni* e *A. trifasciata*); em nossa análise estão relacionadas com as espécies do Subclado I (grupos *A. agassizii*, *A. bitaeniata*, *A. pulchra*, *A. gibbiceps*, *A. barlowi*, *A. luelingi*, *A. atahualpa*, *Apistogramma* sp. Tiquié e *A. brevis*). Römer (2006) considera as espécies dos grupos *A. iniridae*, *A. pertensis*, *A. agassizii*, *A. gibbiceps*, *A. elizabethae* e *A. diplotaenia* pertencentes à linhagem *Agassizii*. Em nossa análise, os grupos *A. iniridae* e *A. pertensis* estão relacionadas aos grupos *A. steindachneri*, *A. wapisana*, *A. lineata* e *A. pertensis*; enquanto as espécies *A. gibbiceps* e *A. elizabethae* pertencem ao grupo *A. gibbiceps*. Römer (2006) considera as espécies do grupo *A. brevis* pertencente à Linhagem *A. steindachneri*, mas em nossa análise, esse grupo está relacionado com as espécies do Subclado I. Römer (2006) considera as espécies dos grupos *A. regani*, *A. macmasteri* e *A. borellii* pertencentes à linhagem *Regani*; sendo um resultado muito similar ao encontrado em nossa análise.

Grupos de espécies.

Nossos resultados confirmam a classificação proposta por Kullander (1980, 1986), Koslowski (1985, 2002), Kullander & Nijssen (1989), Mayland e Bork (1997) e Staeck (2003) baseada em caracteres de coloração e anatomia externa, referente a grupos de espécies no gênero *Apistogramma*. Alguns dos grupos que encontramos apresentam similaridade aos já propostos, outros possuem várias alterações. Koslowski (2002) utilizando características de coloração e anatomia expande o número para 13 grupos e 16 complexos de espécies, muito deles usados até os dias de

hoje (*steindachneri-group*, *regani-group*, *macmasteri-group*, *alacrina-group*, *pertensis-group*, *brevis-group*, *cacatuoides-group*, *nijsseni-group*, *trifasciata-group*, *gibbiceps-group*, *bitaeniata-group* e *agassizii-group*, além de *A. borellii*, *A. diplotaenia* e *A. elizabethae* que não pertencem a nenhum grupo definido).

Dentro das espécies do grupo *A. regani*, Koslowski (2002) apresenta diversas divisões que são chamadas de complexos, como por exemplo: *eunotus-complex*; *cruzi-complex*; *Pebas-complex*; *Angle-patch-complex*; *regani-complex*; *Xingu-complex*; *caetei-complex*; *resticulosa-complex*; *urteagai-complex*; *commbrae-complex*.

Comparando com nossa análise, as espécies dos complexos *eunotus-complex* (*A. cinilabra*, *A. eunotus* e outras); *cruzi-complex* (*A. cruzi*, *Apistogramma* sp. Nanay, *Apistogramma* sp. Putumayo e outras) e *Pebas-complex* (*A. ortegai*); estão inseridos no nosso subgrupo *A. eunotus*. No chamado *regani-complex* (*A. geisleri*, *A. ortmanni*, *A. regani*, *A. paulmuelleri*, *Apistogramma* sp. São Gabriel e outros), a espécie *A. regani*, faz parte do nosso subgrupo *A. regani*; *A. geisleri* faz parte do nosso subgrupo *A. taeniata*; *A. ortmanni* faz parte do nosso subgrupo *A. ortmanni*; *A. paulmuelleri* faz parte do nosso subgrupo *A. eunotus*; e *Apistogramma* sp. São Gabriel faz parte do nosso subgrupo *Apistogramma* sp. São Gabriel. No chamado *Xingu-complex* (*Apistogramma* sp. Parati, *Apistogramma* sp. Peixoto, *Apistogramma* sp. Vielfleck, *Apistogramma* sp. Xingu e outros), todas essas espécies fazem parte do nosso subgrupo *A. kullanderi*. No chamado *caetei-complex* (*A. caetei*, *Apistogramma* sp. Araguaia, *Apistogramma* sp. Macapá e outras), as espécies *A. caetei* faz parte do nosso subgrupo *A. caetei*; enquanto a espécie *Apistogramma* sp. Araguaia faz parte do nosso subgrupo *Apistogramma* sp. Araguaia. No chamado *resticulosa-complex* (*A. resticulosa*, *A. taeniata*), as espécies *A. resticulosa* e *A. taeniata* fazem parte do nosso subgrupo *A. taeniata*. No chamado *urteagai-complex* (*A. acrensis*, *A. urteagai*), a espécie *A. acrensis* faz parte do nosso subgrupo *A. regani*; e a espécie *A. urteagai* faz parte do nosso subgrupo *A. commbrae*. No chamado *commbrae-complex* (*A. commbrae*, *A. inconspicua*, *A. linkei*, *A. similis*), embora possuamos apenas *A. commbrae* dessas espécies, ela faz parte do nosso subgrupo *A. commbrae*. As espécies *A. inconspicua* e *A. linkei* são bem relacionadas com *A. commbrae* quanto os caracteres de coloração, o que provavelmente poderia ser um caráter compartilhado entre essas espécies e estariam relacionadas. No chamado *Angle-patch-complex* (*Apistogramma* sp. Angle-patch) não possuimos a espécie em nossos grupos.

Dentro das espécies do grupo *A. macmasteri*, Koslowski (2002) apresenta dois

complexos diferentes: *macmasteri-complex* (*A. macmasteri*, *A. viejita*); *hongsloui-complex* (*A. hongsloui*, *A. helkeri*). Kullander (1979) e Antonio et al. (1989) consideram todas as espécies do chamado grupo *A. macmasteri* (*A. macmasteri*, *A. viejita*, *A. hoignei*, *A. hongsloui*, *A. guttata*, e outras) relacionadas entre si. Em nossa análise quase todas as espécies do grupo *A. macmasteri* de Kullander (1979) e do *macmasteri-complex* de Koslowski (2002) estão relacionadas entre si. Kullander (2004) considera a espécie *A. alacrina* relacionada com o grupo *A. macmasteri* também, enquanto Koslowski (2002) considera pertencente a um grupo de espécies separado. Nossa análise corrobora *A. alacrina* pertence a um grupo distinto (*A. alacrina* subgrupo).

Dentro das espécies do grupo *A. cacatuoides* Koslowski (2002) considera as espécies *A. cacatuoides*, *A. luelingi*, *A. juruensis*, *A. staecki*, *A. allpahuayo*, *Apistogramma* sp. Cruzeiro, enquanto Kullander (1986) considera apenas *A. cacatuoides*, *A. luelingi*, *A. juruensis*. Em nossa análise, encontramos o grupo *A. cacatuoides* composto pelas espécies *A. cacatuoides*, *A. allpahuayo*, *A. norberti*; enquanto o grupo *A. luelingi* é composto pelas espécies *A. luelingi* e *A. staecki*.

Dentro das espécies do grupo *A. nijsseni* Koslowski (2002) considera as espécies *A. baenschi*, *A. martini*, *A. nijsseni*, *A. panduro* e *A. pantalone* enquanto Kullander (1986) considera *A. nijsseni* e *A. payaminonis*. Nossa análise mostra o grupo *A. nijsseni* formado pelas espécies *A. atahualpa*, *A. baenschi*, *A. huascar*, *A. martini*, *A. nijsseni*, *A. panduro* e *A. pantalone*.

Dentro das espécies do grupo *A. brevis*, Koslowski (2002) considera as espécies *A. brevis*, *A. barlowi*, *A. personata*, *A. megaptera*, *A. piaroa* e *Apistogramma* sp. Tiquié. Em nossa análise apenas *A. piaroa* pertence ao grupo *A. brevis*, enquanto *Apistogramma* sp. Tiquié pertence ao grupo *Apistogramma* sp. Tiquié e *A. barlowi* pertence ao grupo *A. barlowi*.

Koslowski (2002) considera o *A. gibbiceps-Group* apenas com a espécie *A. gibbiceps*, e em nossa análise *A. elizabethae* e *A. gibbiceps* pertencem ao grupo *A. gibbiceps*.

As espécies dos grupos *A. alacrina*, *A. macmasteri*, *A. borellii*, *Apistogrammoides* e *A. regani*; em nossa análise esses grupos estão relacionados entre si e possuem o padrão básico do sistema de canal látero-sensorial do gênero *Apistogramma* (5 poros no canal do dentário, 2 poros no canal ângulo-articular, 4 poros no canal infraorbital), com exceção do grupo *A. borellii*, que possui apenas 3 poros infraorbitais. Kullander (1979) comenta que as características que separam as espécies do grupo *A. macmasteri*

(bacia do Rio Orinoco) com as espécies do grupo *A. regani* (bacia Amazônica) são a nadadeira dorsal modificada e a mancha escura no peito das fêmeas, e que provavelmente essas espécies possuam uma condição ancestral. Kullander (2004) ao descrever *A. alacrina*, comenta que a faixa lateral em formato zig-zag encontrada nos exemplares machos apresenta estreita relação com as espécies do grupo *A. macmasteri*; enquanto as fêmeas possuem características de pigmentação das barras verticais compartilhadas com as espécies dos grupos *A. macmasteri* e também *A. regani*, uma vez que essa espécie é encontrada no Rio Guaviare (bacia do alto Rio Orinoco) e no Rio Caquetá (bacia do alto Rio Amazonas). *Apistogramma borellii* possui a nadadeira dorsal relativamente alta e a faixa lateral em formato zig-zag, sendo mais evidente na metade posterior do corpo. Possui apenas três poros infraorbitais, talvez relacionada a uma possível evolução de um ancestral comum entre esses grupos relacionados. Koslowski (2002) afirma que *A. borellii* possui mais características em comum com as espécies do grupo *A. macmasteri*, do que com as espécies do grupo *A. regani*.

Padrões biogeográficos de alguns grupos de espécies.

Espécies do gênero *Apistogramma* estão amplamente distribuídas nas bacias cis-andinas sul-americanas. De acordo com a análise filogenética, é possível visualizar padrões de distribuição de várias espécies do gênero, e correlacioná-las com padrões biogeográficos.

Dentro do grupo *A. regani*, no subgrupo *A. ortmanni*, encontramos uma relação entre a Amazônia ocidental (*A. cinilabra* – Rio Itaya) e o escudo das Guianas (*A. ortmanni* – Rio Mazaruni), possivelmente vinculada ao proto Amazonas-Orinoco que tinha sua foz no caribe e ao Proto-Berbice que tinha sua foz na região Berbice-Essequibo-Corentjne. Vários autores encontram uma relação entre o oeste da Amazônia e o Rio Orinoco, por exemplo, Albert et al. (2006) com peixes gymnotiformes, encontram as duas localidades relacionadas, com exceção do escudo das Guianas. Lujan & Armbruster (2011), analisando a distribuição de vários táxons, encontram um “corredor” entre os rios Caroni (bacia do Orinoco) e Cuyuni/Mazaruni (bacia do Essequibo). Embora o modelo de estudo seja Loricarídeos, que normalmente são encontrados na área alta dos rios, a hipótese de relacionamento entre o baixo Orinoco e o Essequibo se encaixa na distribuição das espécies desse subgrupo. Hubert & Renno (2006) utilizando análise de parcimônia de endemismo (PAE) também

encontram o relacionamento das áreas alto Negro, Orinoco e Essequibo. Albert & Carvalho (2011) usando análise de parcimônia de Brooks, também encontram relacionamento similar, entre delta e costa do Orinoco com Essequibo, confirmando o relacionamento desse subgrupo.

No subgrupo *A. kullanderi*, encontramos uma relação entre *Apistogramma kullanderi* e diversas outras espécies ainda não descritas, distribuídas em afluentes da bacia do alto/médio Rio Xingu e alto/médio Rio Tapajós. Até o momento consideramos o relacionamento mais obscuro em relação à biogeografia. Podem existir dois possíveis caminhos: 1-) as espécies podem ter surgido por algum evento vicariante proveniente de algum ancestral comum do baixo Amazonas durante a última incursão marinha, ou 2-) seria proveniente do ancestral comum do subgrupo *Apistogramma* sp. Araguaia, chegando aos rios Xingu e Tapajós via o lineamento Transbrasiliano, através de capturas de rios entre essas bacias. O segundo caminho, parece o mais plausível, pois várias espécies são conhecidas por ocorrer em sistemas fluviais adjacentes, devido à reativação neotectônica de falhas antigas do lineamento Transbrasiliano (Lima & Ribeiro, 2011).

No subgrupo *A. caetei*, encontramos a espécie *A. caetei* proveniente dos rios Caeté, Guamá e Quatipuru; e a espécie *A. piauienses* do Rio Parnaíba. Kullander (1980) sugere que o Rio Parnaíba pode ter recebido parte da ictiofauna da margem leste do Rio Tocantins, e essa espécie poderia estar distribuída nas duas bacias. Também cita que o espécime mais relacionado com *A. piauiensis* é *A. caetei* da bacia do Rio Caeté, sugerindo um possível relacionamento dessas bacias no passado. O curso do baixo rio Tocantins corria sentido o golfo de São Luiz (MA), nas atuais bacias do rio Pindaré-Mearim, ou ainda o Rio Gurupi; pois o atual encontro do baixo Rio Tocantins com o Rio Araguaia, possui uma curva muito característica de rios que mudaram seu curso no passado pela atuação de falhas tectônicas. Rossetti & Valeriano (2007) sugerem que o curso inferior do Rio Tocantins a cerca de 2,5 milhões de anos atrás formava um delta com os demais rios na região da atual barragem de Tucuruí. Posteriormente, a cerca de 1 milhão de anos atrás, falhas no sentido NE-SW teriam capturado o curso inferior do Rio Tocantins para a formação da Baía de Marajó (COSTA *et. al.*, 2001, 2002). Assim como nas espécies do subgrupo *Apistogramma* sp. Araguaia, (espécies distribuídas nos rios Araguaia, Tocantins e na Ilha de Marajó), o lineamento Transbrasiliano provavelmente facilitou a expansão do ancestral comum na antiga foz do Rio Tocantins, e com a reativação das falhas no sentido NE-SW, este colonizou a Ilha de

Marajó.

No subgrupo *Apistogramma eunotus*, encontramos o relacionamento *A. eunotus*, *A. ortegai*, *A. paullmuelleri* e uma espécie do rio Nanay. A Amazônia ocidental é uma importante área de endemismo para algumas linhagens de ciclídeos (Kullander, 1986), como por exemplo, o gênero *Apistogramma*. Nesta região, no Mioceno médio (24-16 Ma) existiam pântanos de água doce conhecido como Lago Pebas, que persistiu por cerca de 12 milhões de anos (Hoorn et al. de 2010; Wesselingh & Hoorn, 2011), até o início da incursão marinha do Mioceno, o que provavelmente isolou o ancestral comum em vários locais nessa região e gerou essa diversidade.

No grupo *A. trifasciata*, temos o relacionamento de *A. trifasciata* (rios Paraguai e Guaporé), *A. aff. trifasciata* (Mamoré) *A. erythrura* (Mamoré) e *A. arua* (Aruá-Arapiuns). *Apistogramma arua*, é a espécie mais basal desse grupo, habitando a região do Rio Aruá, bacia Arapiuns-Tapajós, provavelmente uma espécie relictual do grupo. O ancestral desse grupo poderia tanto ter surgido no Rio Madeira (água branca) quanto no Rio Aruá (água negra). *A. erythrura* e *A. aff. trifasciata* habitam exclusivamente a bacia do Rio Mamoré (água branca). A espécie *A. trifasciata*, possui sua distribuição tanto na bacia do Rio Guaporé, quanto na bacia do Rio Paraguai. Ambas bacias estão separadas pelo arco Michicola a mais de 30 milhões de anos, mas as últimas capturas entre as bacias datam de cerca de 10.8 milhões de anos atrás (Lundberg et al., 1998). A divisão entre a bacia do rio Paraguai e da Bacia Amazônica possui cerca de 2.000 km de extensão, atravessando várias unidades geomorfológicas com características diferentes. Algumas destas paisagens favorecem inundações e capturas entre as duas bacias nos dias de hoje (Iriondo & Paira, 2007).

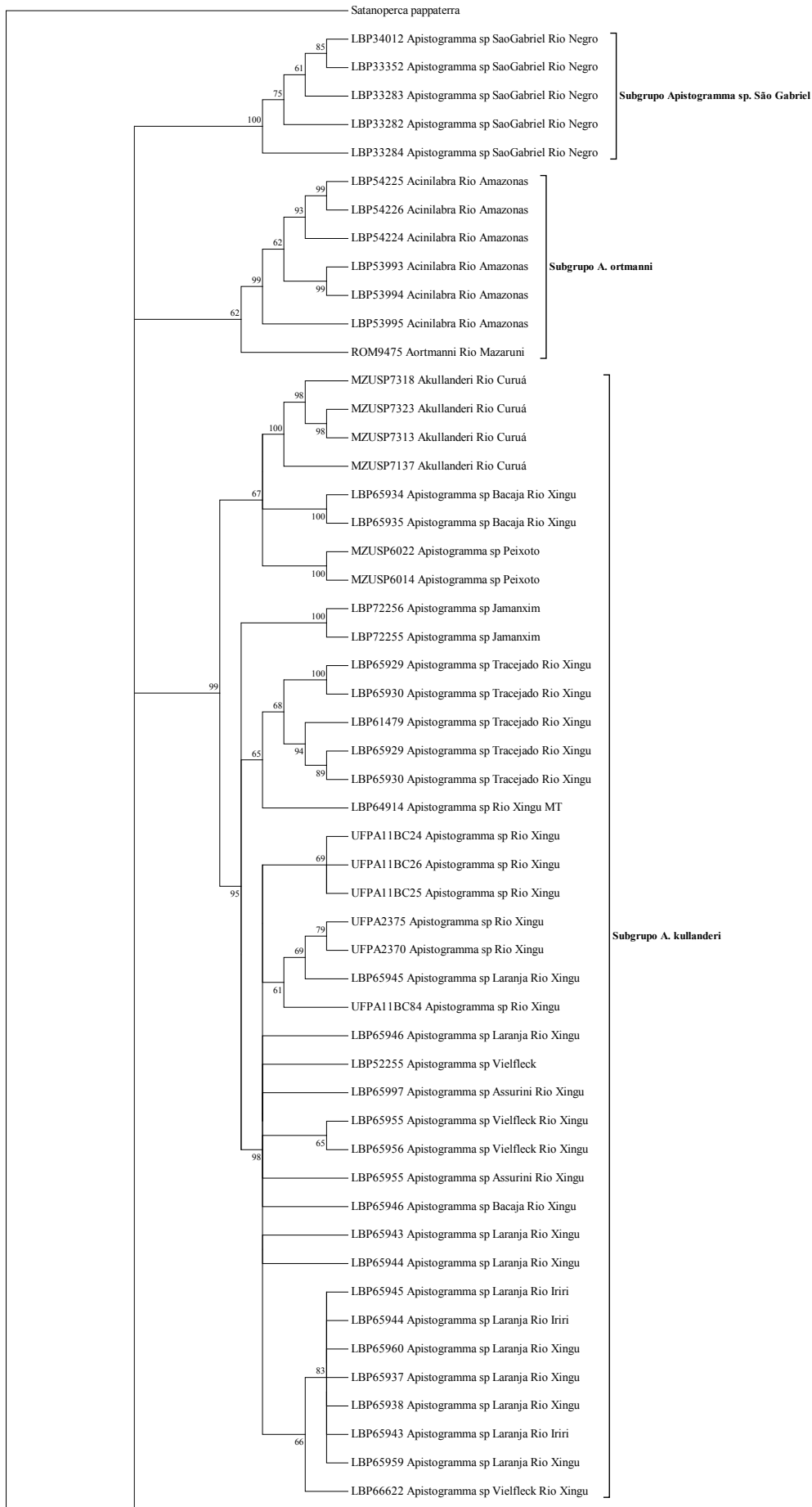
O relacionamento entre os grupos *A. alacrina*, *A. macmasteri*, *A. borellii* e *Apistogrammoides*, pode ser explicado em parte pelo proto Amazonas-Orinoco ocidental, principalmente em relação a *A. alacrina* ser basal a *A. macmasteri*. O ancestral comum das espécies desses grupos provavelmente habitava essa região no passado, como por exemplo, as espécies *A. alacrina* e *A. macmasteri* habitam atualmente uma região com uma média de 550 metros acima do nível do mar (Villavicencio - no Oligoceno, o Proto Amazonas-Orinoco tinha sua foz nesta cidade devido a incursões marinhas (Lujan & Armbruster (2011)), e comparando com a distribuição de outras espécies do gênero, essa altura é considerada alta). Após a separação do Proto Amazonas-Orinoco pelo Arco Vaupés, a orogenia dos Andes nessa região, alterou o curso do Rio Orinoco em vários momentos, e entre os períodos

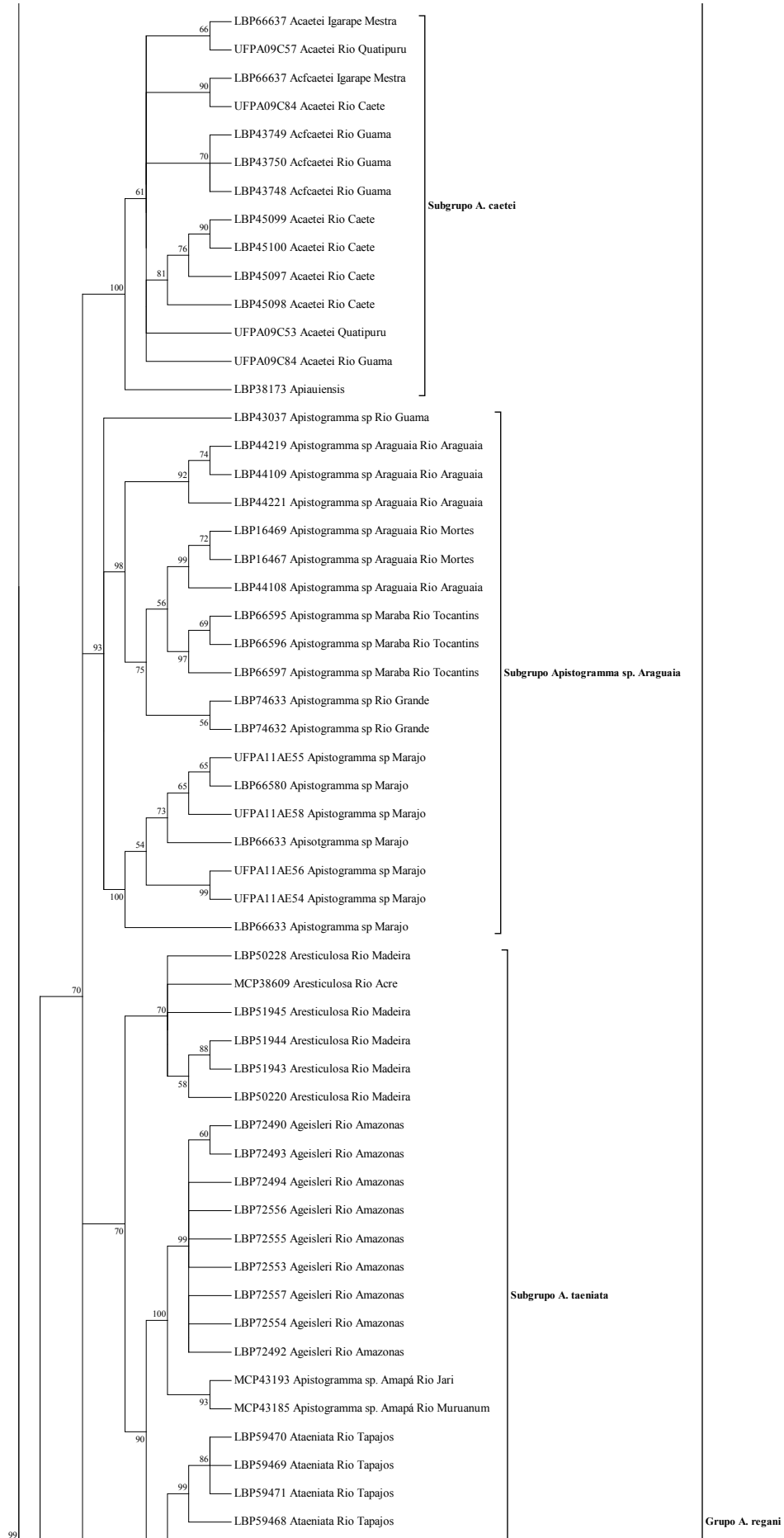
Plioceno e Pleistoceno, este rio começou a seguir seu atual curso (Hoorn et al. 1995), comprovando a expansão das espécies desse grupo. Quanto à relação do grupo *A. borellii* e *Apistogrammoides*, provavelmente o mesmo ancestral comum dos grupos *A. alacrina* e *A. macmasteri* possuía uma ampla distribuição. Essa ampla distribuição, seguida de especiação, poderia estar relacionada as incursões marinhas do fim do Mioceno. Embora existam vários debates entre diferentes autores sobre o tamanho dessa incursão, o mais amplamente aceito é que o lago Pebas foi afetado pela influência marinha, principalmente na área dos moderno Llanos da Colômbia e Venezuela (Hoorn 1993, 1996; Lundberg et al. 1998). Sendo assim, *A. borellii* poderia ter colonizado a bacia do Paraguai via processos de mixagem de fauna. Essa origem poderia estar relacionada as mudanças de hidrografia do Plioceno, onde a bacia de antepaís do Pantanal capturou diversas cabeceiras do Paraná e alto Tocantins (Menezes et al., 2008), possivelmente também acontecendo entre Mamoré-Guaporé. Captura de cabeceiras ocorrem quando parte ou a totalidade da vazão de um rio é desviado para um sistema de drenagem vizinho, como resultado de erosão, ou represamento por deslizamentos de terra (Wilkinson et al. 2006).

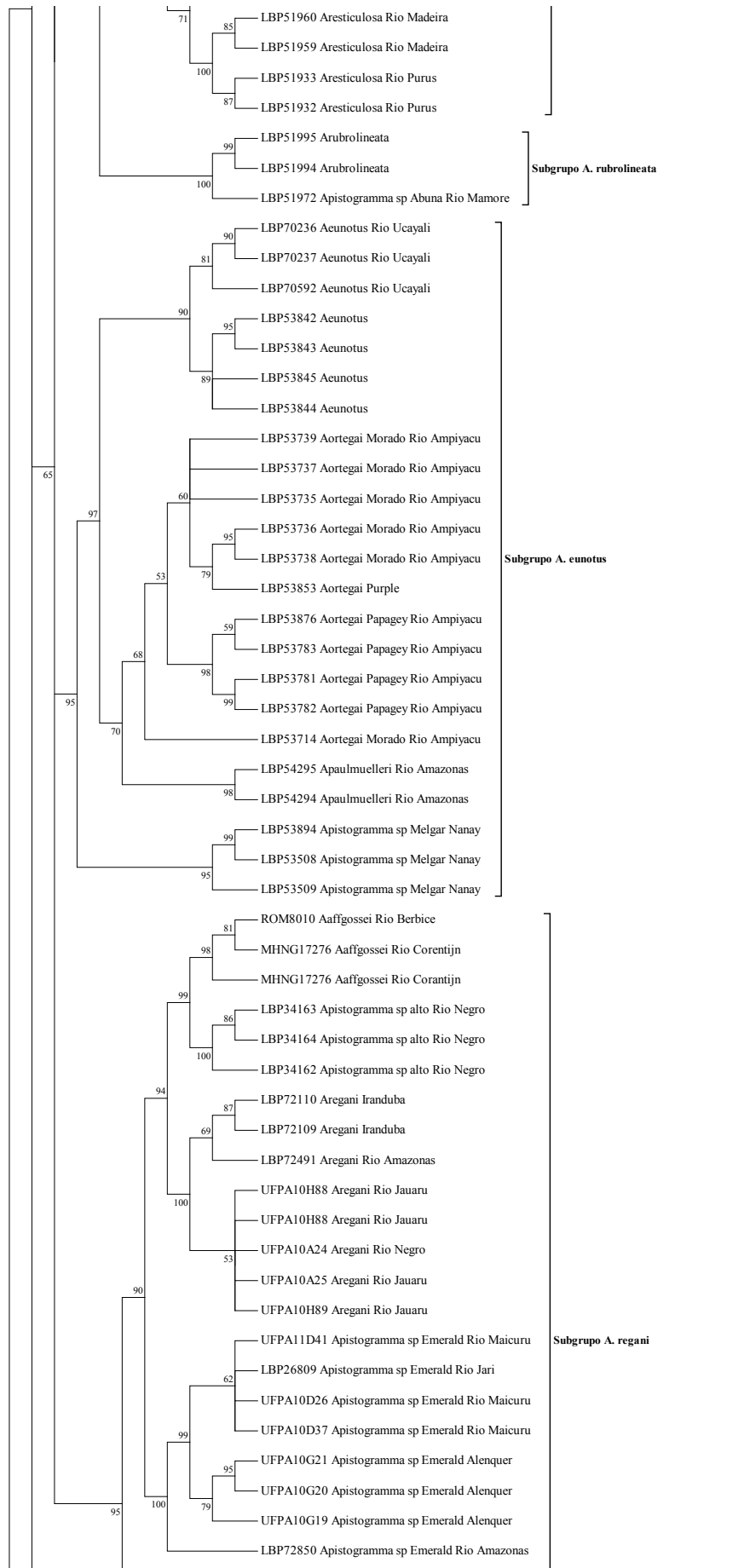
No grupo *A. bitaeniata*, temos o relacionamento de *A. bitaeniata* (Nanay, Ampiyacu, Tefê, Careiro), *A. eremnopyge* (Itaya), *A. mendezi* (Aiuanã, Cuyuni, Anavilhanas), *A. paucisquamis* (Cuyuni, Negro) e *Apistogramma* sp. Miua (Miuá). Vemos uma distribuição desse grupo entre a Amazônia ocidental e o Rio Negro. Albert & Carvalho (2011) usando análise de parcimônia de Brooks, encontram relacionamento similar, entre o Rio Negro e a Amazônia ocidental, confirmando a distribuição desse grupo. Possivelmente, a distribuição das espécies do grupo esteja relacionada com o Proto Amazonas-Orinoco, pois temos *A. bitaeniata* distribuído por toda Amazônia ocidental, *A. eremnopyge* exclusivo da Amazônia ocidental, *A. paucisquamis* distribuído desde Manaus até Santa Isabel do Rio Negro, *A. mendezi* de Santa Isabel do Rio Negro a Anavilhanas, e *Apistogramma* sp. Miua da região de São Gabriel da Cachoeira. A espécie *Apistogramma* sp. Miua é relacionada a *A. paucisquamis*, sendo a única espécie do grupo *A. bitaeniata* que possui distribuição acima das corredeiras da região de São Gabriel da Cachoeira (AM). Espécies que habitam as altas porções do Rio Negro estão relativamente isoladas das baixas porções, pelas corredeiras de São Gabriel (Lima & Ribeiro, 2011), sendo essa uma possível barreira física para a dispersão de espécies (Albert et al., 2006). Essa espécie parece ser endêmica acima das corredeiras de São Gabriel.

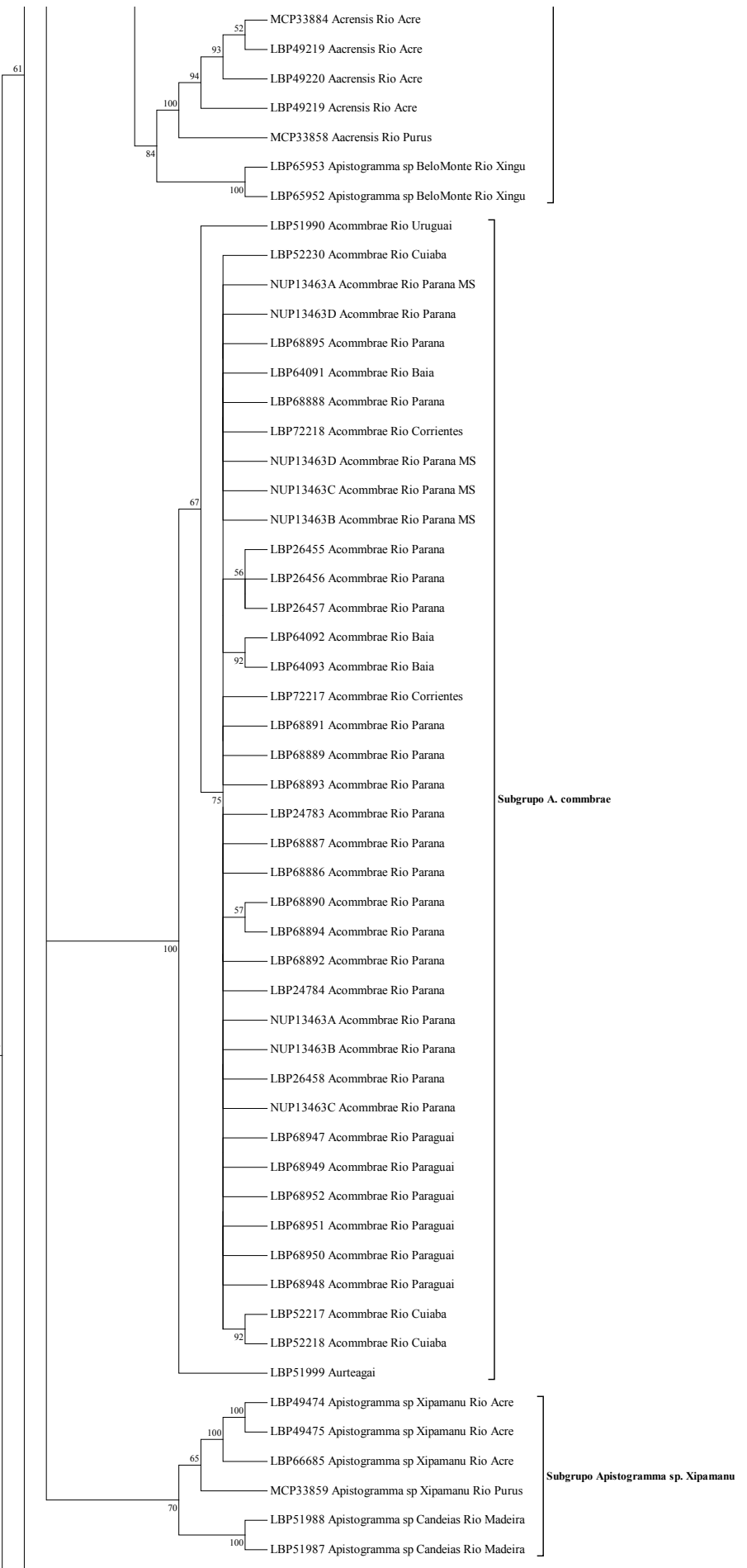
Nas espécies dos grupos *A. wapisana* e *A. steindachneri* encontramos três espécies presentes tanto na bacia do Rio Branco (Takutu), quanto na bacia do Rio Essequibo (Rupununi). *A. wapisana* é descrita na região de Boa Vista (RR); *A. rupununi* é descrita do Rio Rupununi; e *A. steindachneri* é descrita para o Rio Demerara. Essas espécies possuem uma ampla distribuição nessas bacias, sendo um novo registro para *A. wapisana*. Essa distribuição se deve principalmente ao Portal Rupununi, que é um moderno corredor de fauna de peixes, localizado em uma área entre o oeste e leste do Escudo das Guianas, na fronteira entre Brasil e Guiana. Atualmente, as savanas do norte do Rio Rupununi, ocupam a formação da antiga bacia do lago Maracanata, criando ambientes rasos entre o Rio Rupununi que flui a leste para o Rio Essequibo, e fluindo a sudoeste para o Rio Takutu (bacia amazônica). Durante a estação chuvosa (maio a agosto), o Rio Rupununi se conecta com o Rio Tacutu devido a inundações no Pirara Hill, onde formam pântanos extensos juntamente com lago Amaku (Lujan & Armbruster, 2011; Souza et al 2012). Souza et al. (2012) mostram a influência deste portal, na atual distribuição da fauna de peixes entre o Rio Rupununi (bacia do Essequibo) e Rio Tacutu (Bacia Amazônica).

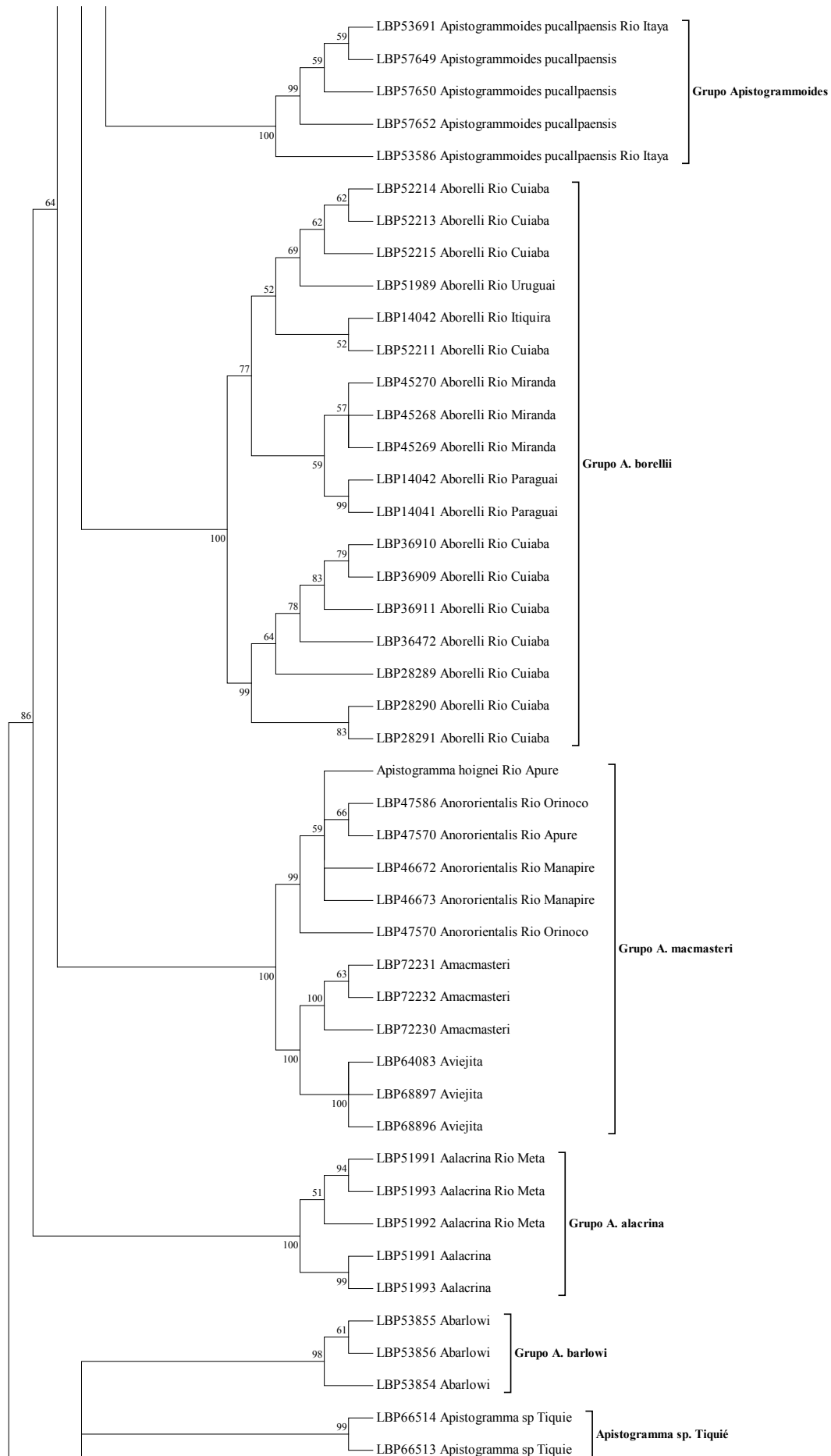
A história do gênero *Apistogramma* pode ter envolvido numerosos casos de extinção, geodispersão e vicariância. Talvez o ancestral comum dos dois principais clados estivesse dispersos em quase toda a extensão do gênero, e com a ação desses numerosos fatores, cada espécie se adaptou e evoluiu nos diversos grupos existentes.

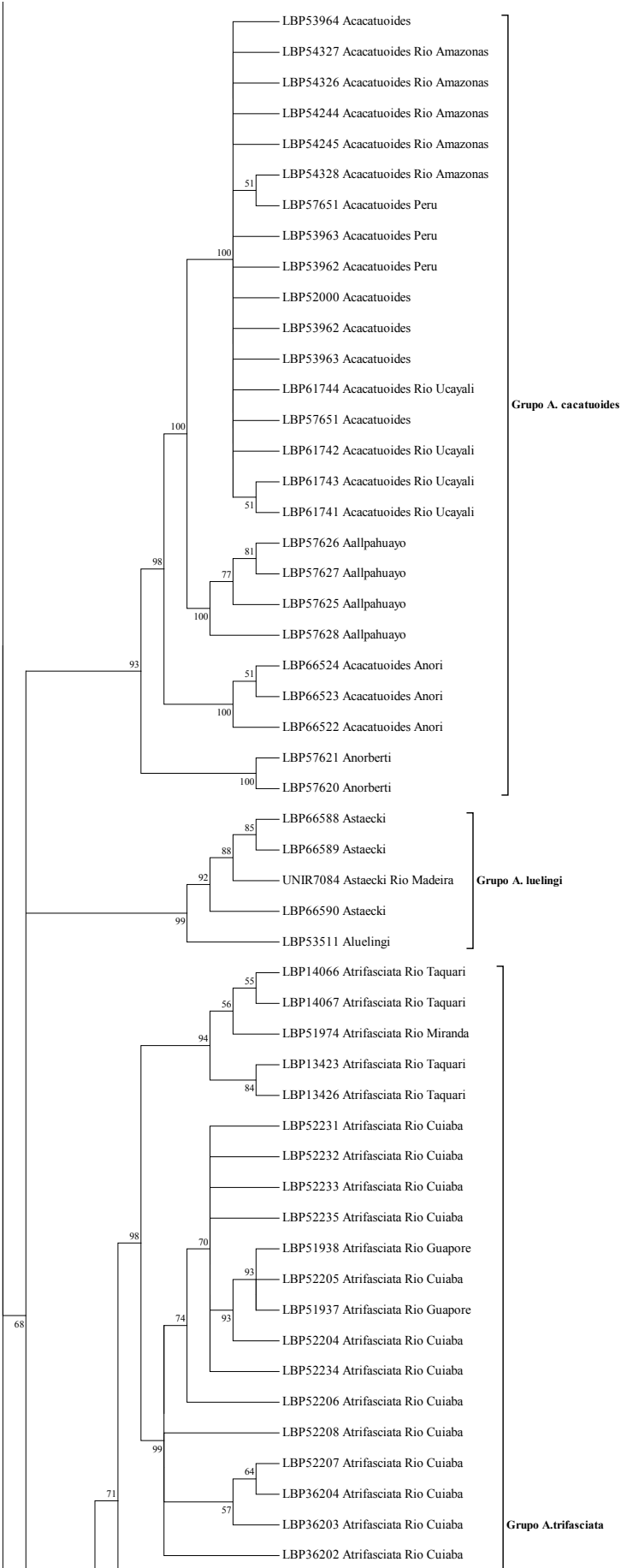


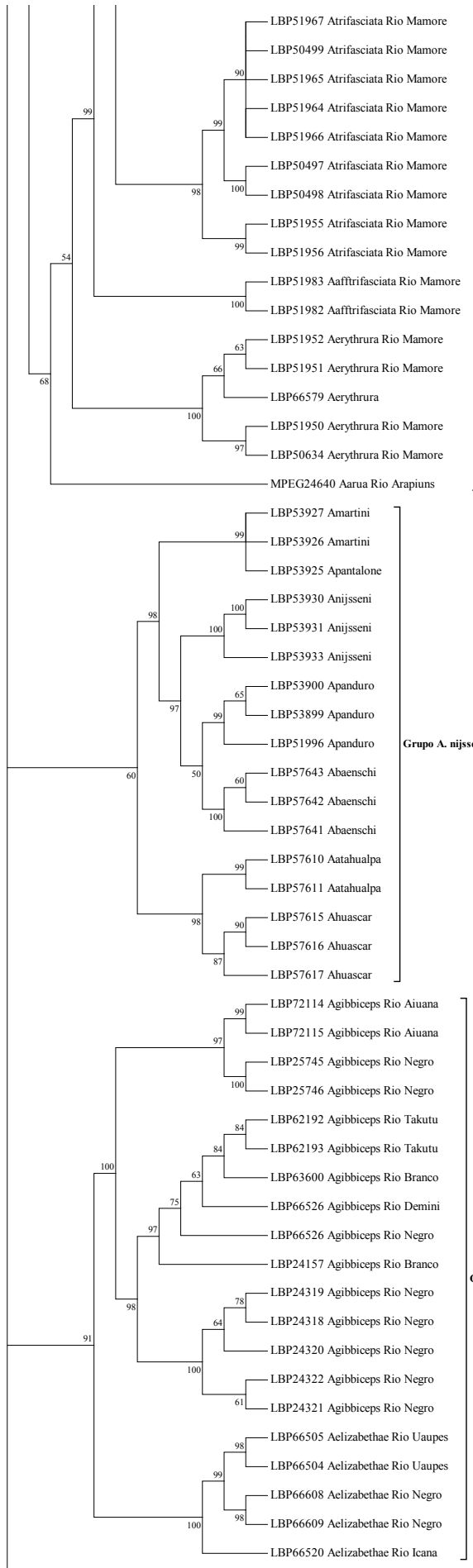






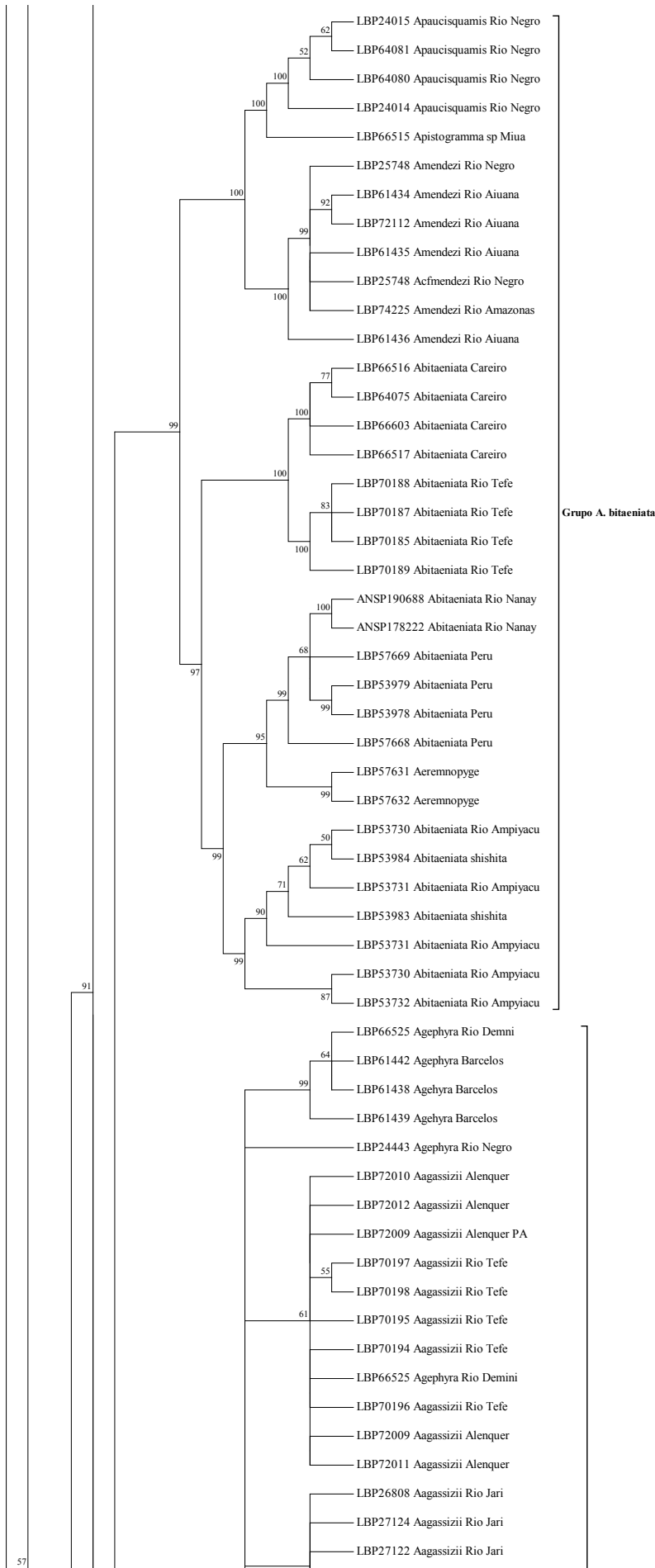


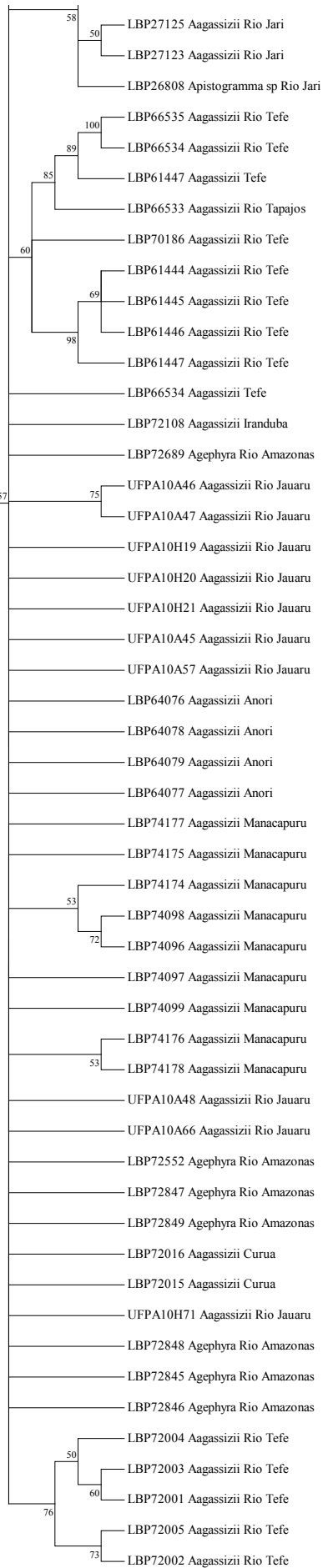




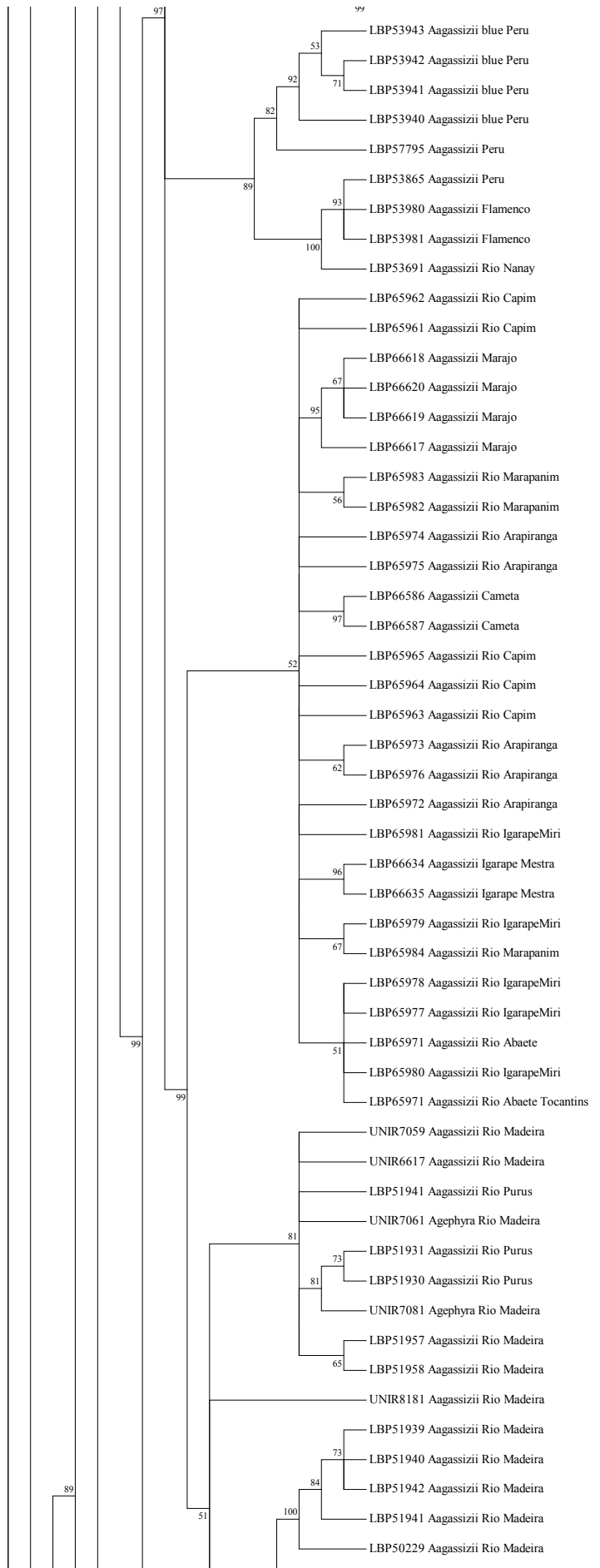
Grupo A. nijsseni

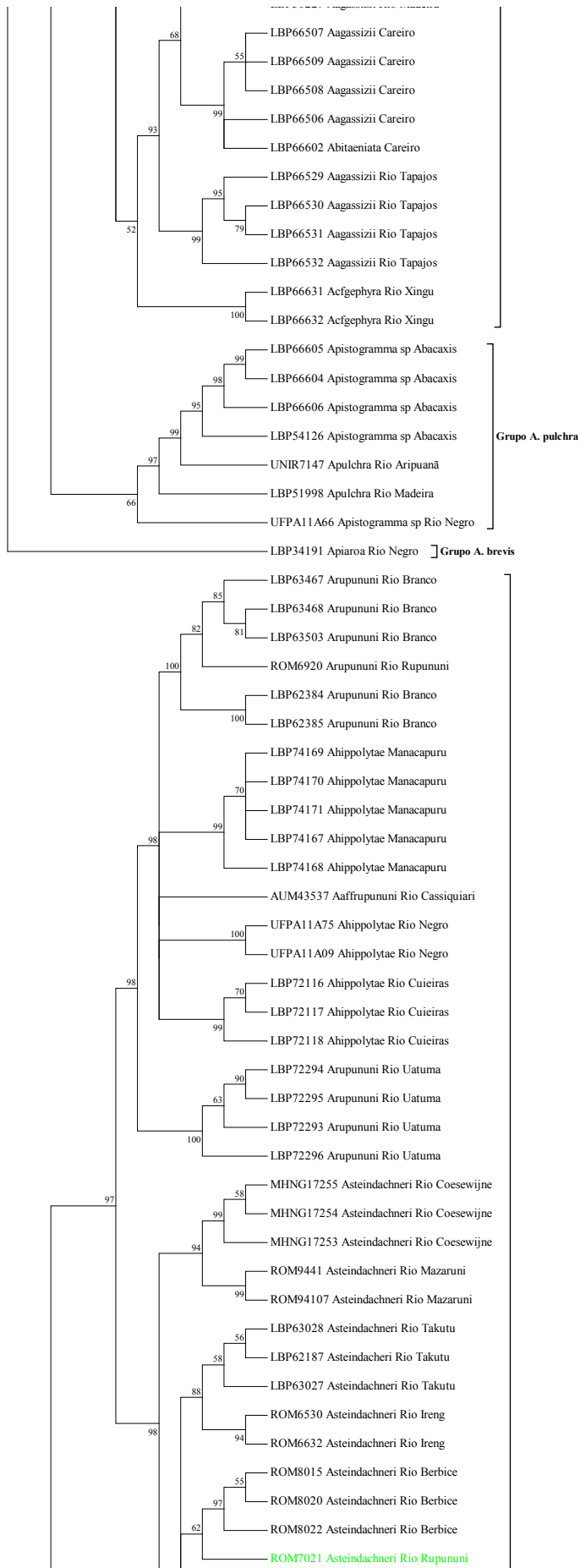
Grupo A. gibbiceps

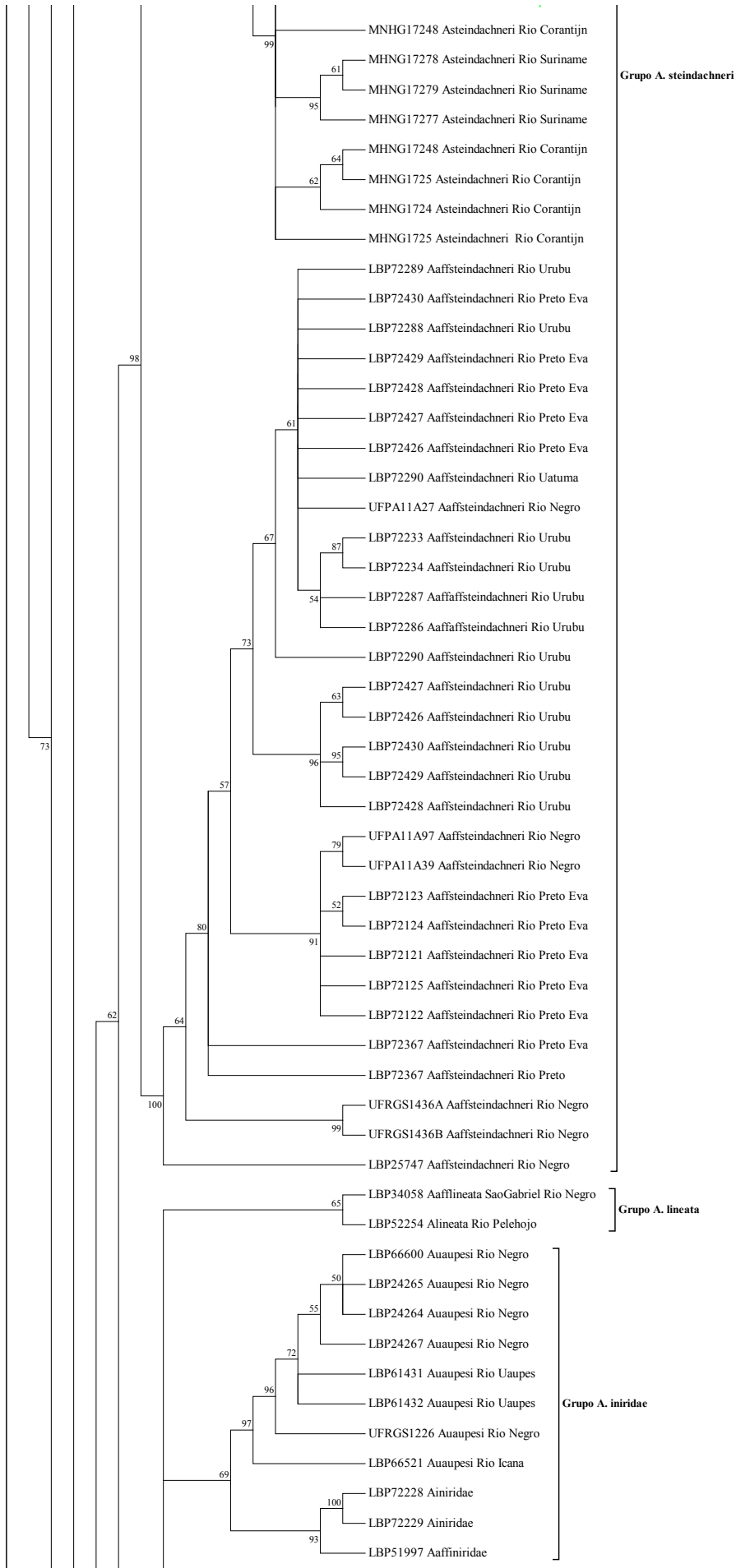


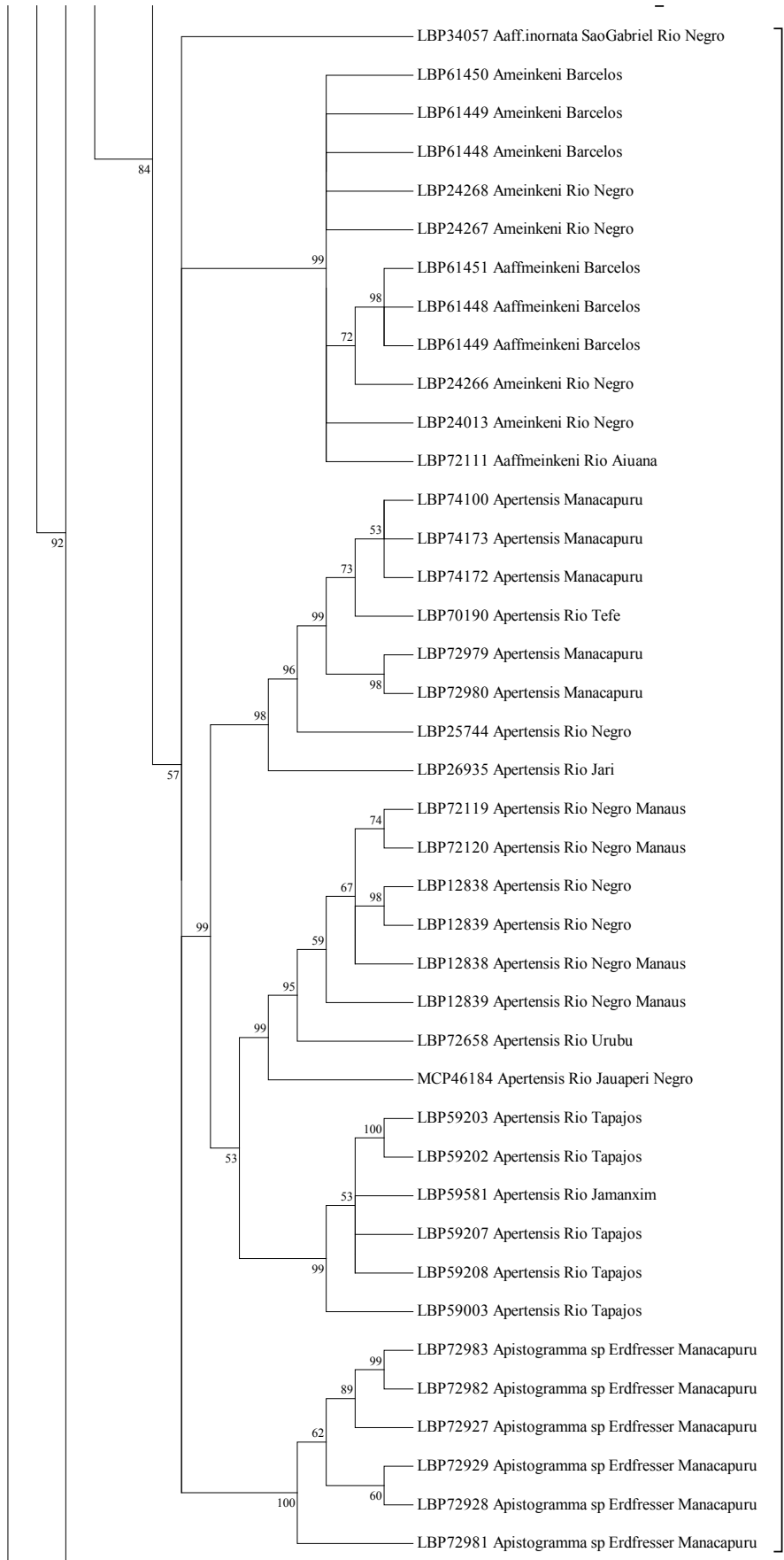


Grupo A. agassizii









Grupo A. pertensis

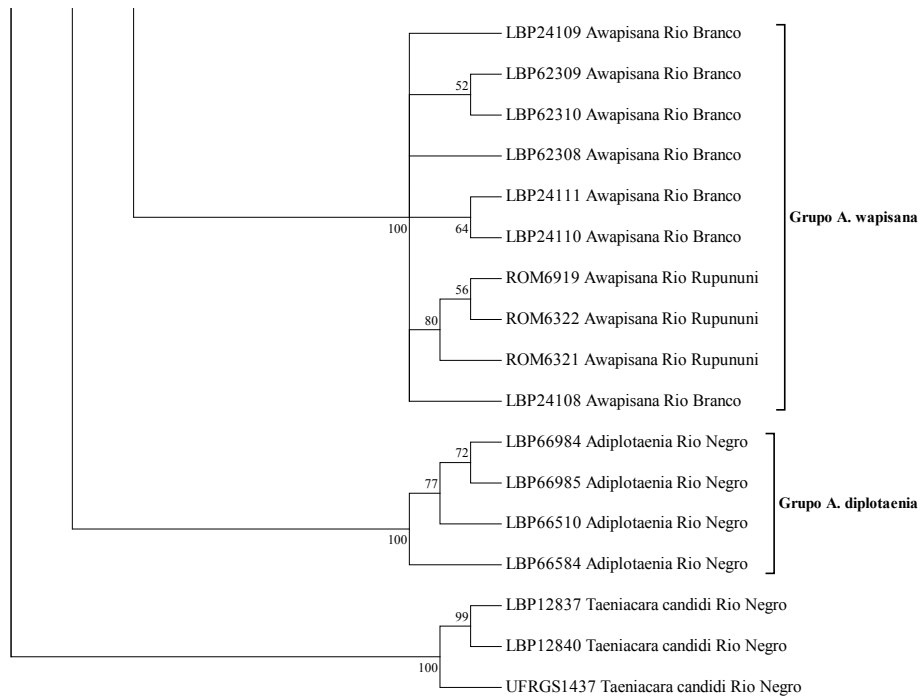


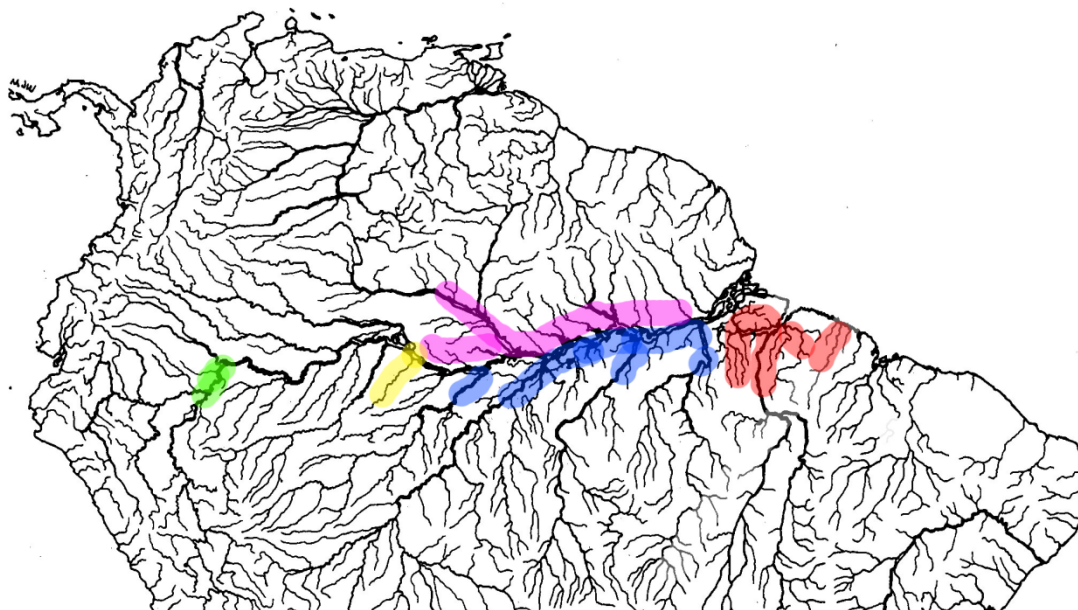
Figura 7. Árvore filogenética dos grupos de *Apistogramma* baseada nos genes mitocondriais 16 S rRNA, COI, CytB e ND4 obtida com máxima verossimilhança, com bootstrap de 1000 pseudoreplicas, de todas as amostras analisadas. Valores menores que 50% não são mostrados.

4.4. Filogeografia de *Apistogramma agassizii* e espécies afins na bacia Amazônica

4.4.1. Introdução

Estudos relacionados à filogeografia e variabilidade genética no gênero *Apistogramma* são praticamente inexistentes. Ready et al. (2006) foram um dos pioneiros utilizando o padrão de colorido e caracteres genéticos para diferenciar populações de *Apistogramma caetei*. *Apistogramma agassizii* Steindachner (1875), possui ampla distribuição ao longo do Amazonas/Solimões desde o Peru até a região do baixo Amazonas, no Brasil, inclusive a bacia do Rio Capim (Kullander, 2003). *A. geophyra* Kullander (1980) possui distribuição na bacia do Rio Negro e na região de Santarém, no Rio Tapajós (Kullander, 1980). Por apresentarem tamanho moderado e cores atraentes, as espécies são muito requisitadas na aquarofilia ornamental, um comércio que movimenta mais de 15 bilhões de dólares por ano (Dawes, 2001). A espécie *A. agassizii* também possui padrões de coloridos específicos de algumas regiões, como a forma de coloração azul-branca encontrada na área da cidade de Manaus, próximo à foz do Rio Negro; a forma de coloração amarela encontradas em várias localidades, principalmente na região de Santarém e na bacia do Rio Tefê; e a forma de coloração vermelha, encontradas nos afluentes do alto Amazonas no Peru e Colômbia (Rios Tapiche, Napo, Ucayali e Yavari). Esta espécie ocupa vários ecossistemas diferentes da Amazônia, estando presente em rios de águas claras, negras e brancas (Kullander, 1986). Koslowski (2002) descreve várias características diagnósticas para separar diferentes populações de *A. agassizii*, baseado principalmente na nadadeira caudal e coloração, sendo a principal delas a linha negra na nadadeira caudal. Essa ampla distribuição relacionada com diferentes tipos de habitats, levantam a possibilidade de que esses morfótipos possam representar populações polimórficas ou espécies crípticas morfológicamente semelhantes a *A. agassizii*. Outra espécie muito similar é *A. geophyra*, diferindo principalmente de *A. agassizii* por caracteres de coloração (nadadeira caudal apresenta apenas pequenas máculas no lóbulo superior e primeiro raio da nadadeira dorsal não é negro) (Kullander, 1980). O principal problema é quando são coletados juvenis na área de abrangência de *A. agassizii*, o que pode causar confusão na identificação de ambas.

Para comprovar se *A. agassizii* é uma espécie críptica, ou amplamente distribuída, sequenciamos os genes mitocondriais CytB (Citocromo B) e COI (Citocromo Oxidase subunidade I) de diferentes populações ao longo da calha do Rio Amazonas para avaliar a sua variabilidade genética (Fig. 1). Além de *A. agassizii*, nesta análise foram incluídas amostras identificadas como *A. gephyra*, devido essa espécie ficar inserida dentro do clado de *A. agassizii* de acordo com os dados do DNA Barcode.



Legenda:

Verde = Peru

Amarelo = Tefé

Rosa = Calha Norte

Azul = Purús, Madeira, Tapajós, Xingu

Vermelho = baixo Tocantins, Capim, Marapanin

Figura 1. Mapa de distribuição da espécie *Apistogramma agassizii* na bacia Amazônica. A espécie *A. gephyra* está distribuídos apenas nas localidades Barcelos (AM), Itacoatiara (AM) e Vitória do Xingu (PA).

4.4.2. Material e Métodos

Coleta de amostras

Foram coletadas amostras de 92 exemplares da espécie *Apistogramma agassizii* nas drenagens do Amazonas, Nanay, Tefé, Anori, Purus, Manacapuru, Careiro, Madeira, Tapajós, Maicuru, Curuá, Jauaru, Jari, baixo Tocantins, Arapiranga, Abaeté, Capim,

Marajó e Marapanim, e 12 exemplares da espécie *A. gephyra* nas drenagens do Negro, Amazonas e Xingu; que se encontram depositados nas seguintes coleções: LBP (Laboratório de Biologia de Peixes da Universidade Estadual Paulista, Botucatu) e UFPA (Universidade Federal do Pará, Bragança). Todos os exemplares sequenciados estão apresentados em uma tabela na seção Anexos.

Extração, amplificação e sequenciamento de DNA.

Uma pequena amostra de tecido foi utilizada de espécimes preservados em etanol 96%. A extração de DNA foi realizada pela plate glass fiber DNA seguindo o protocolo de extração do fabricante (Ivanova et al. 2006). O PCR para ambos os genes foram feitos com uma reação de 12.5µl, contendo 1.25µl de 10 X PCR buffer, 0.25µl de MgCl₂ (50 mM), 0.2 µl dNTPs (2 mM), 0.5 µl de cada primer (5 mM), 0.1µl de 1.25 U of Taq Pht DNA polymerase, e 1µl DNA genômico (200 ng). Para o PCR foram utilizados os parâmetros de temperatura de anelamento em rampa, seguindo: 1 ciclo de 94°C x 5 min; 30 ciclos de 94°C por 40 s, 50°C por 30s, 68°C por 1 min; e 1 ciclo de 68°C por 10 min, utilizando os primers L14841 e H15149 desenvolvidos por Kocher et al. (1989) e FishF 1 e FishR 2 desenvolvidos por Ward et al. (2005). Os produtos de PCR foram checados em um gel de 1% de agarose. Todos os produtos de PCR foram sequenciados utilizando BigDye sequencing kit cycle terminators (Applied Biosystems) de acordo as instruções do fabricante e finalmente as sequencias foram obtidas utilizando o sequenciador ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Análise de dados

Os contigs foram montados e editados no programa Geneious v5.5.6 (Drummond et al., 2011). Para o alinhamento de sequencias foi utilizado o algoritmo Muscle com os parâmetros padrão (Edgar 2004), e os alinhamentos foram inspecionados um a um para encontrar qualquer desalinhamento e então corrigi-los. A etapa de controle de qualidade foi incluída em nosso fluxo de trabalho para detectar possíveis casos de erros de sequenciamento devido à contaminação ou paralogia. As relações filogenéticas das sequências de DNA obtidas foram determinadas por neighbor-joining (NJ) de distância K2P incluindo análise de bootstrap (Felsenstein 1985) com 1000 replicações realizada usando o programa MEGA v5.0; e utilizando uma análise de máxima verossimilhança (ML) realizada no RAxML Web-Servers (Stamatakis et al.,

2008) utilizando uma partição mista com GTR + I + G como modelo nos dados concatenados.

Para a análise estatística foram utilizados os softwares DNAsp Sequence Polymorphism (Rozas et al. 2003) e Arlequin 3.1 (Excoffier et al. 2005), que resultaram na determinação do número de haplótipos (Nh), número de sítios polimórficos (Nsp), diversidade gênica e nucleotídica, análise de variância molecular (AMOVA), teste de neutralidade (FS de FU e D de Tajima) e índices de fixação interpopulacional (FST). Adicionalmente foi construída uma rede de haplótipos no programa NETWORK 4.6 (Polzin & Vahdati, 2004). Para datar a história da diversificação de *Apistogramma agassizii* uma taxa de substituição nucleotídica de 0,0076 mutações/sítio/milhões de anos (segundo Zardoya & Doadrio (1999)) foi utilizada no programa Mega 5.1 (Tamura et al., 2011).

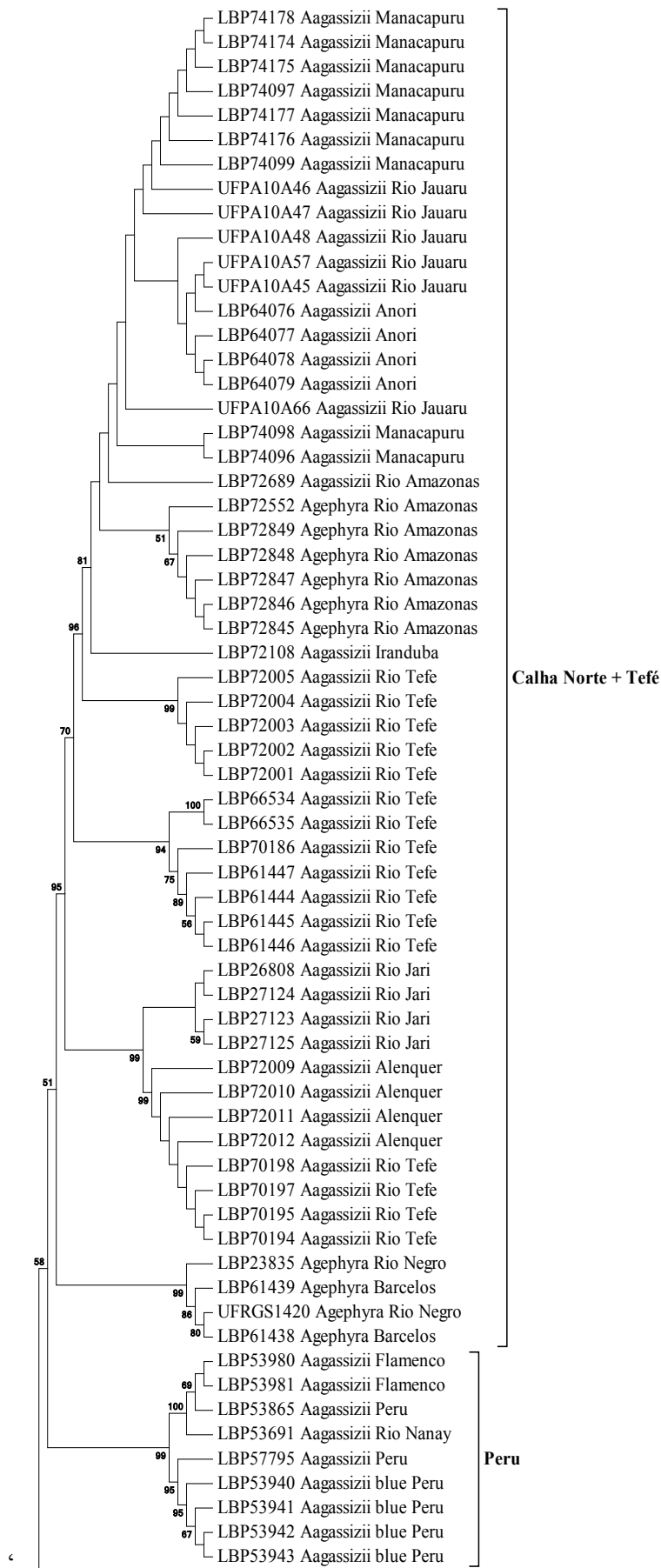
4.4.3. Resultados

Em ambos genes encontramos dois clados compostos por *A. agassizii* + *A. geophyra* (clado Calha Norte + Tefé e Clado Purus, Madeira, Tapajós, Xingu).

- Citocromo B

Foi sequenciada uma região de 354 pb do gene Citocromo B (CytB) para um total de 92 indivíduos de *A. agassizii* e 12 indivíduos de *A. geophyra*. Foram registrados 37 haplótipos e diversidade haplotípica total de $Hd=0,968 \pm 0,005$. Um total de 69 sítios se apresentaram polimórficos para um total de 76 mutações. A composição nucleotídica média para os indivíduos analisados foi de 33,44% para adenina, 26,68% para citosina, 18,28% para guanina e 21,6% para timina e o número médio de diferenças nucleotídicas par a par por sítio foi de $Pi=0,101776 \pm 0,057767$. A média entre transições e transversões foi de $21,75 \pm 10,243$ e $3,5 \pm 1,732$.

A priori dividimos os morfótipos de *A. agassizii* + *A. geophyra* conforme as árvores geradas, totalizando quatro diferentes grupos; Peru (Pe), Calha_Norte + Tefé (CnTf), Purús_Madeira_Tapajós_Xingu (PuMaTapXin) e Tocantins_Capim_Marapanin (ToCpMn) (Fig. 2 e 3).



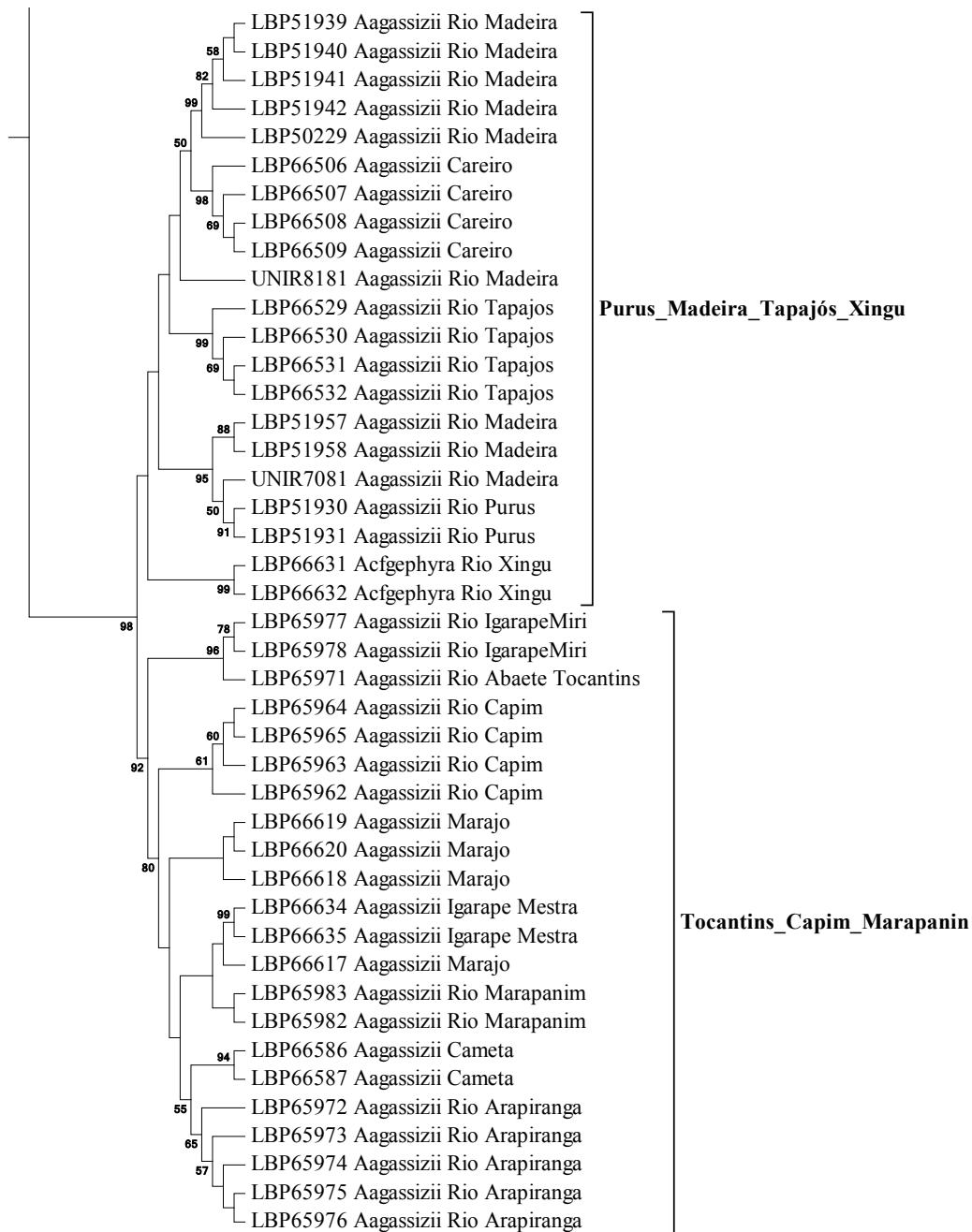
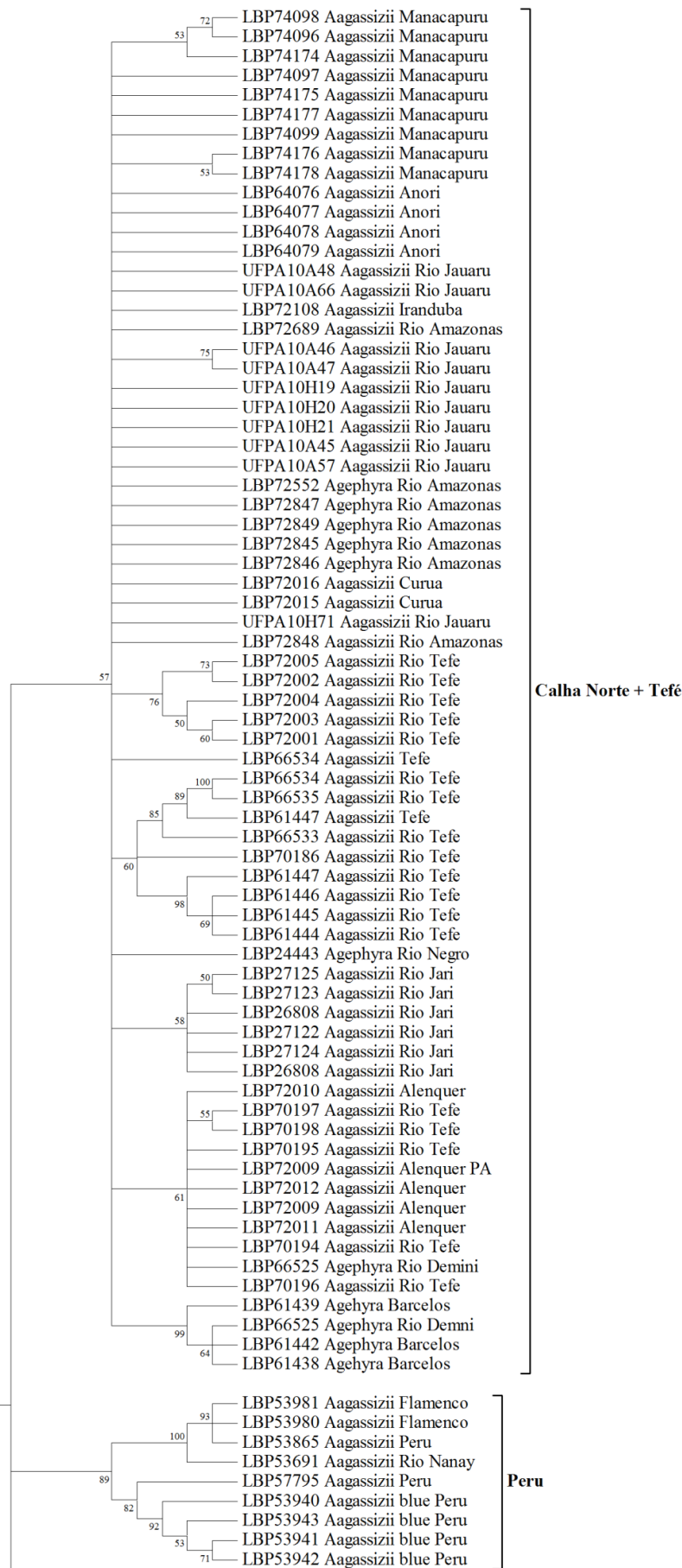


Figura 2. Árvore gerada para o gene COI com neighbor-joining (NJ), distância K2P incluindo análise de bootstrap com 1000 replicações.



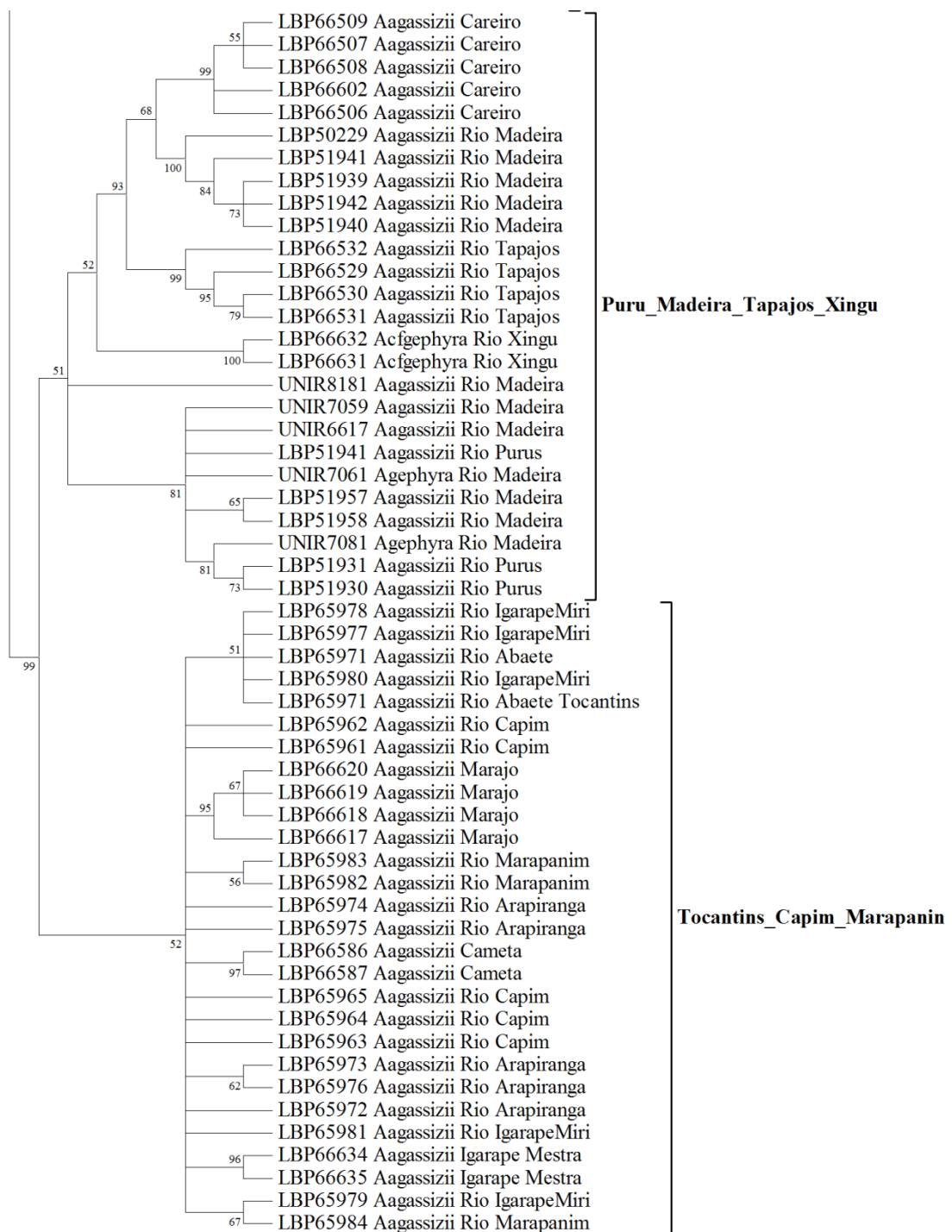


Figura 3. Árvore gerada para os genes concatenados (CytB+COI) com máxima verossimilhança (ML), incluindo análise de bootstrap com 1000 replicações.

Embora as análises foram feitas sempre nos 4 diferentes grupos, o grupo Calha Norte + Tefé foi dividido em 2 populações pertencentes ao mesmo grupo, assim como

demonstrado na rede de haplótipos (Fig. 4), onde possuímos 35 haplótipos únicos e dois haplótipos compartilhados.

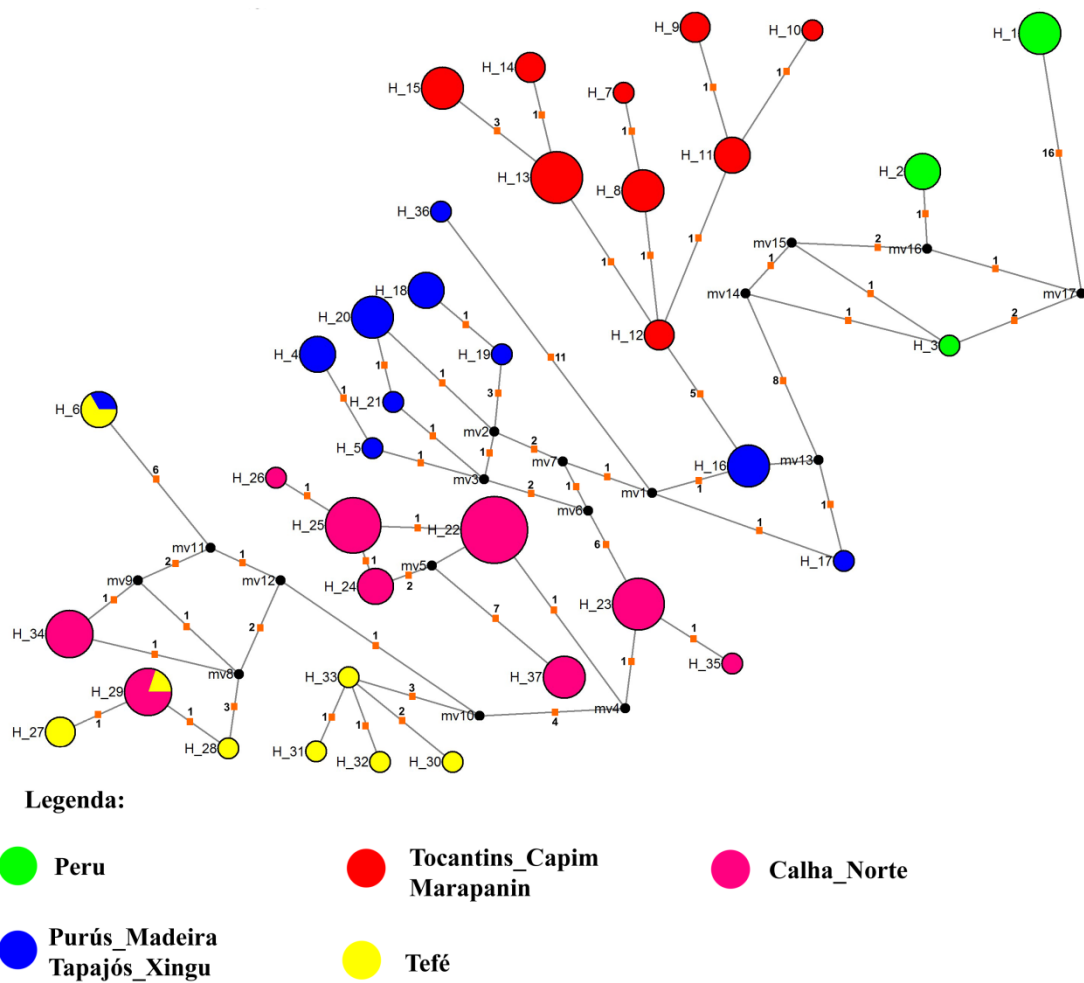


Figura 4. Rede de haplótipos para *Apistogramma agassizii* obtida de sequências parciais do gene mitocondrial Citocromo B (CytB).

Os valores de diversidade nucleotídica (π); diversidade gênica (h); número de haplótipos (nh) e sítios polimórficos (S) para o gene CytB são apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Amostras (n); diversidade nucleotídica (π); diversidade gênica (h); número de haplótipos (nh); sítios polimórficos (S) dos grupos de *A. agassizii* com o marcador CytB.

Grupos	N	π	h	nh	S
Grupo 1 (Peru)	8	0.155280 +/- 0.090225	0.6786 +/- 0.1220	3	20

Grupo 2 (Calha Norte+Tefê)	51	0.109872 +/- 0.057837	0.9122 +/- 0.0181	16	44
Grupo 3 (Purus_Madeira_Tapajos _Xingu)	20	0.096796 +/- 0.053241	0.9053 +/- 0.0370	10	33
Grupo 4 (Tocantins_Capim _Marapanin)	25	0.041159 +/- 0.025003	0.8900 +/- 0.0326	9	10

Para as análises de variância molecular foram realizados diferentes agrupamentos entre as localidades amostradas. Inicialmente foi realizada uma análise incluindo todas as localidades visando testar a hipótese de panmixia (Tabela 2).

Tabela 2: Análise de variância molecular (AMOVA) para todas as localidades de *A. agassizii* com o marcador CytB.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Varição dos componentes	% de variação	F-estatística	P-valor
Entre populações	4	354.091	3.11543 Va	60.09	-	-
Dentro das populações	99	294.496	2.97471 Vb	39.91	Fst 0.60089	0.00000 +/- 0.00000
Total	103	648.587	7.45343			

Os resultados da análise de panmixia mostraram uma forte estruturação genética estatisticamente significativa ($F_{st} = 0.60 \pm 0.000$) dentro das populações. Depois da análise de panmixia, realizamos uma análise utilizando os quatro grupos propostos na árvore filogenética (Tabela 3).

Tabela 3: Análise de variância molecular (AMOVA) para os grupos de *A. agassizii* com o marcador CytB.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variação	% de variação	F-estatística	P-valor
Entre populações	3	324.027	3.11543 Va	40.07	Fct 0.40070	0.09677 +/- 0.00848
Entre populações dentro dos grupos	1	30.064	1.68479 Vb	21.67	Fsc 0.36158	0.00000 +/- 0.00000
Dentro de populações	99	294.496	2.97471 Vc	38.26	Fst 0.61740	0.00000 +/- 0.00000
Total	103	648.587	7.77493			

Nesta análise, os resultados entre grupos mostraram uma forte estruturação genética, estatisticamente significativa ($F_{st} = 0.61740 \pm 0.000$) dentro das populações e também uma estruturação entre as populações dentro dos grupos ($F_{sc} = 0.36158 \pm 0.000$).

Na análise dos índices de fixação interpopulacional (F_{st}) par a par entre as populações delimitadas, as mesmas apresentaram uma forte estruturação genética (Tabela 4).

Tabela 4: Valores obtidos para os Índices de Fixação Interpopulacional (F_{st}) par a par, para as populações de *A. agassizii*, para o marcador CytB. * Estatisticamente significativo. 1 - Peru; 2 – Calha_Norte + Tefê; 3 - Purus_Madeira_Tapajos_Xingu; 4 - Tocantins_Capim_Marapanin.

	1	2	3	4
1	0.0000			
2	0.55142*	0.00000		
3	0.61344*	0.46205*	0.00000	
4	0.76524*	0.64797*	0.57765*	0.00000

Os valores do teste D de Tajima e os resultados do teste F_s de Fu não foram significativos para todos os grupos populacionais de *A. agassizii* (Tabela 5).

Tabela 5: Teste de Neutralidade (Tajima's D e Fu's F_s) para as populações de *A. agassizii* com o marcador CytB. 1 - Peru; 2 – Calha_Norte + Tefê; 3- Purus_Madeira_Tapajos_Xingu; 4 - Tocantins_Capim_Marapanin.

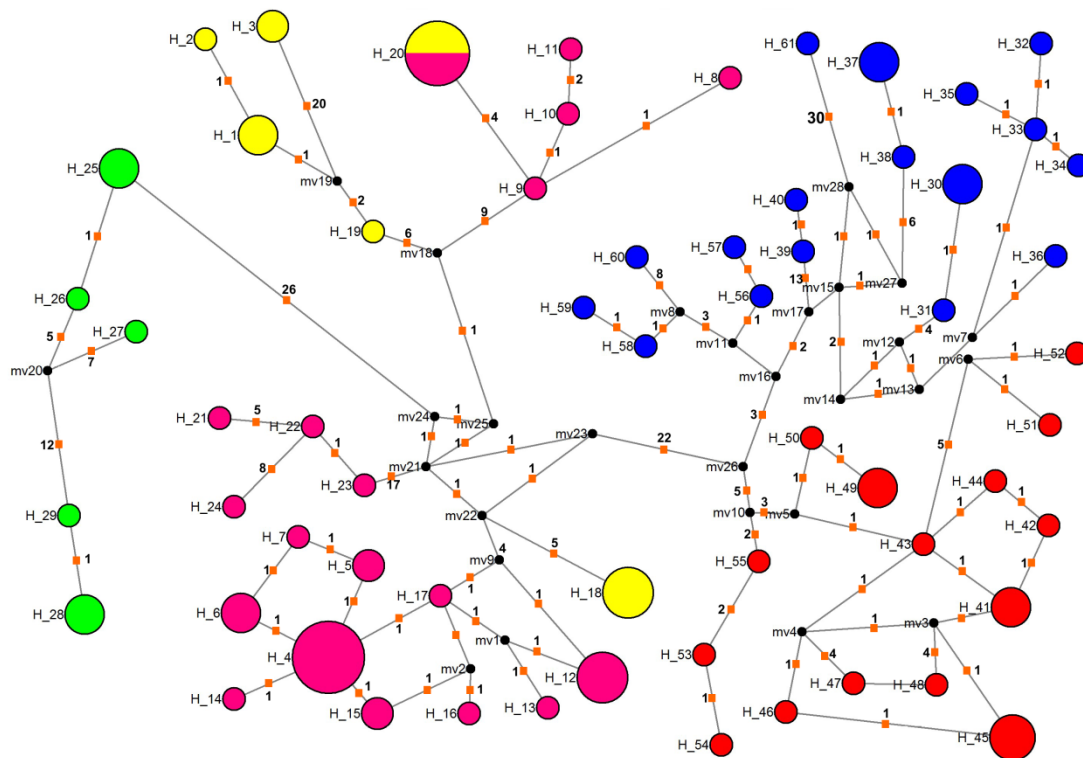
	Grupos	D Tajima	P valor	Fs de Fu	P valor
1	Peru	2.02539	0.99500	6.87010	0.99600
2	Calha_Norte + Tefê	0.53497	0.74900	2.97167	0.87700
3	Purus_Madeira_Tapajos_Xingu	-1.11170	0.10000	0.09186	0.53800
4	Tocantins_Capim_Marapanin	0.23907	0.62100	-1.31508	0.24400

- **Citocromo Oxidase subunidade I**

Foi sequenciada uma região de 636 pb do gene Citocromo Oxidase subunidade I (COI) para um total de 95 indivíduos de *A. agassizii* e 12 de *A. gephyra*. Foram registrados 61 haplótipos e uma diversidade haplotípica total de $Hd=0,978 \pm 0,006$. Um total de 168 sítios se apresentaram polimórficos para um total de 200 mutações. A composição nucleotídica média para os indivíduos analisados foi de 30,2% para adenina, 22,4% para citosina, 16,2% para guanina e 31,2% para timina e o número médio de diferenças nucleotídicas par a par por sítio foi de $Pi=0,201683 \pm 0,0416106$. A média entre transições e transversões foi de $32,60 \pm 17,558$ e $15,8 \pm 8,075$.

A priori dividimos os morfótipos de *A. agassizii*+*A. gephyra* conforme as árvores geradas, totalizando quatro diferentes grupos; Peru (Pe), Calha_Norte + Tefé (CnTf), Purús_Madeira_Tapajós_Xingu (PuMaTapXin) e Tocantins_Capim_Marapanin (ToCpMn) (Figs. 2 e 3).

Embora os análises foram feitas sempre nos 4 diferentes grupos, o grupo Calha Norte + Tefé também foi dividido em 2 populações pertencentes ao mesmo grupo, assim como demonstrado na rede de haplótipos (Fig. 5), onde possuímos 60 haplótipos únicos e um haplótipo compartilhado.



Legenda:

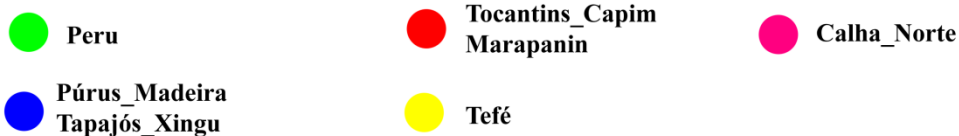


Figura 5. Rede de haplótipos para *Apistogramma agassizii* obtida de seqüências parciais do gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade I (COI).

Os valores de diversidade nucleotídica (π); diversidade gênica (h); número de haplótipos (nh) e sítios polimórficos (S) para o gene COI são apresentados na tabela 6.

Tabela 6: Amostras (n); diversidade nucleotídica (π); diversidade gênica (h); número de haplótipos (nh); sítios polimórficos (S) para as populações de *A. agassizii* com o marcador COI.

Grupo	n	π	h	nh	S
Grupo 1 (Calha Norte + Tefé)	55	0.008970 +/- 0.046676	0.8721 +/- 0.0435	25	104
Peru	9	0.068452 +/- 0.038920	0.8333 +/- 0.0980	5	9

Purus_Madeira_Tapajos _Xingu	21	0.111224 +/- 0.057327	0.9714 +/- 0.0258	17	75
Tocantins_Capim _Marapanin	22	0.033266 +/- 0.018526	0.9481 +/- 0.0304	15	24

Para as análises de variância molecular foram realizados diferentes agrupamentos entre as localidades amostradas. Inicialmente foi realizada uma análise incluindo todas as localidades visando testar a hipótese de panmixia (Tabela 7).

Tabela 7: Análise de variância molecular (AMOVA) para apenas um grupo *A. agassizii* incluindo todas localidades com o marcador COI.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Varição dos componentes	% de variação	F-estatística	P-valor
Entre populações	4	914.231	10.96770 Va	62.83	-	-
Dentro das Populações	102	661.704	6.48729 Vb	37.17	Fst 0.62834	0.00000
Total	106	1575.935	17.45500			

Os resultados da análise de panmixia mostraram uma forte estruturação genética estatisticamente significativa ($F_{st} = 0.62834 \pm 0.000$) dentro das populações. Depois da análise de panmixia, realizamos uma análise utilizando os quatro grupos propostos na árvore filogenética (Tabela 8).

Tabela 8: Análise de variância molecular (AMOVA) para os quatro grupos de *A. agassizii* com o marcador COI.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Varição dos componentes	% de variação	F-estatística	P-valor
Entre populações	3	859.759	10.34245 Va	54.59	Fct 0.54594	0.10459+/- 0.00992
Entre populações dentro dos grupos	1	54.471	2.11468 Vb	11.16	Fsc 0.24584	0.00000+/- 0.00000
Dentro das populações	102	661.704	6.48729 Vc	34.24	Fst 0.65756	0.00000+/- 0.00000
Total	106	1575.935	18.94442			

Nesta análise, os resultados entre grupos mostraram uma forte estruturação genética estatisticamente significativa ($F_{st} = 0.65756 \pm 0.000$) dentro das populações e também uma estruturação entre as populações dentro dos grupos ($F_{sc} = 0.24584 \pm 0.000$).

Na análise dos índices de fixação interpoblacional (F_{st}) par a par entre as populações delimitadas, as mesmas apresentaram uma forte estruturação genética (Tabela 9).

Tabela 9: Valores obtidos para os Índices de Fixação Interpopulacional (FST) par a par, entre as populações de *A. agassizii*, para o marcador COI. * Estatisticamente significativo. 1 - Peru; 2 – Calha_Norte + Tefê; 3- Purus_Madeira_Tapajos_Xingu; 4 - Tocantins_Capim_Marapanin.

	1	2	3	4
1	0.0000			
2	0.61005*	0.00000		
3	0.65003*	0.60563*	0.00000	
4	0.82310*	0.73221*	0.51726*	0.00000

Os valores do teste D de Tajima e os resultados do teste F_s de Fu não foram significativos para três grupos populacionais de *A. agassizii*

Para o grupo “Tocantins_Capim_Marapanin” apenas os resultados do teste F_s de Fu foram significativos (Tabela 10).

Tabela 10: Teste de Neutralidade (Tajima's D e Fu's FS) para as populações de *A. agassizii* com o marcador COI. 1 - Peru; 2 – Calha_Norte + Tefê; 3- Purus_Madeira_Tapajos_Xingu; 4 - Tocantins_Capim_Marapanin.

Grupos	D de Tajima	P valor	Fs de Fu	P valor
Peru	1.24499	0.92200	3.46975	0.94600
Calha_Norte	-0.19374	0.48400	-0.23358	0.47700
Purus_Madeira_Tapajos_Xingu	-0.41870	0.38300	-1.80882	0.20700
Tocantins_Capim_Marapanin	-0.57071	0.31300	-4.89322	0.02800

- **História da diversificação de *A. agassizii***

Aqui citamos as possíveis associações com eventos geológicos disponíveis na literatura. O ancestral comum de *A. agassizii* surgiu antes de 5.65 (+/- 1.178) milhões de anos atrás, no fim período do Mioceno (Fig. 6). O ancestral comum entre o grupo Pe (Peru) e o grupo CnTf (Calha Norte) surgiu há 4.62 (+/- 0.944) milhões de anos atrás no início do período Plioceno. O grupo CnTf (Calha Norte) surgiu a 3.54 (+/- 0.893) milhões de anos atrás também no início do Plioceno. A divisão entre os grupos PuMaTapXin (Purus_Madeira_Tapajós_Xingu) e grupo ToCpMp (Tocantins_Capim_Marapanin) surgiu a 3.12 (+/- 0.742) milhões de anos atrás. O grupo ToCpMp surgiu a 1.09 (+/- 1.739) milhões de anos atrás e o grupo PuMaTapXin surgiu a 1.93 (+/- 0.900) milhões de anos atrás no fim do Plioceno. Nessa árvore também observamos uma relação não proposta na árvore filogenética apresentada, onde temos uma parte da população PuMaTapXin coletadas no baixo Rio Madeira e no baixo Rio Xingu relacionadas com a população ToCpMp. Esse pequeno bloco da população PuMaTapXin surgiu a 2.21 (+/- 0.434) milhões de anos atrás no fim do Mioceno.

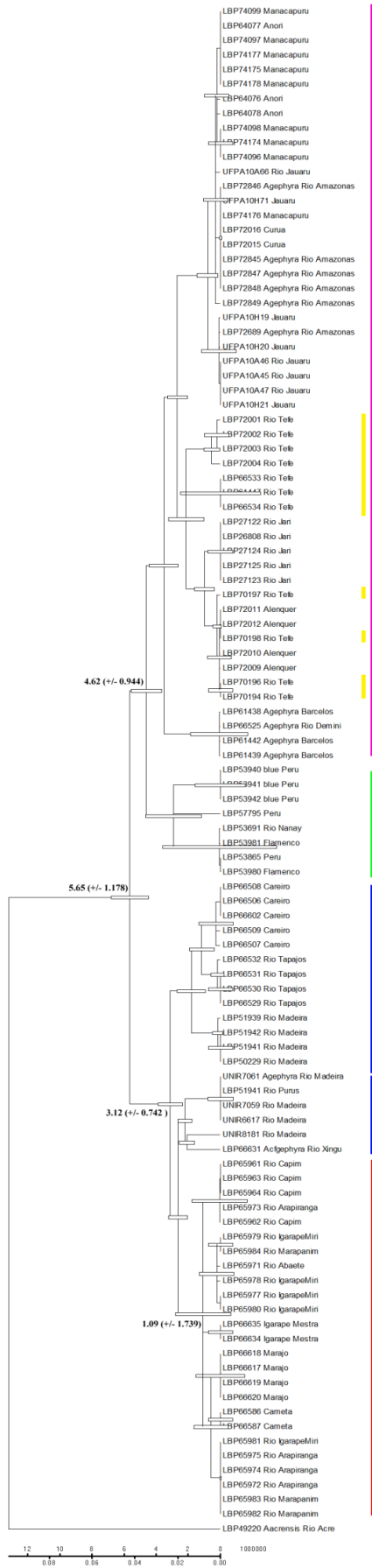


Figura 6. Diversificação de *A. agassizii* de acordo com a taxa de substituição nucleotídica do gene CytB (0,0076 mutações/sítio/milhões de anos).

4.4.4. Discussão

Análises populacionais

O comércio de peixes ornamentais movimentava mais de 15 bilhões de dólares (Dawes, 2001) e cerca de 350-400 milhões de exemplares por ano (Chapman, 2000), e a maior diversidade de espécies disponíveis são as coletadas em ambientes naturais, principalmente a bacia Amazônica (Junk et al., 2007). *Apistogramma agassizii* possui diversos padrões de coloridos de acordo com sua localidade e origem (Koslowski, 2002), o que as tornam atrativas no comércio de peixes ornamentais.

A análise populacional de *A. agassizii* + *A. geophyra* utilizando os marcadores CytB e COI, evidencia que suas populações estudadas estão fortemente estruturadas e com diferenças estatisticamente significativas. Os índices de diversidade gênica (h), em ambos genes, são considerados altos, (acima de 0.5) segundo Nei (1973) (Tabelas 1 e 6). Este índice é baseado na probabilidade de dois alelos amostrados aleatoriamente serem diferentes, o que pode fazer o índice de diversidade gênica se aproximar de 1.0 caso exista um grande número de indivíduos com haplótipos exclusivos (Freeland, 2005). O índice de diversidade nucleotídica (π), segundo Grant & Bowen (1998) quando apresenta valores acima de 0.5% são considerados altos e combinando com alta diversidade gênica (h), representam populações grandes e estáveis com longa história evolutiva ou contato secundário entre diferentes linhagens; e valores abaixo de 0.5% associados à alta diversidade gênica (h), são indicativos de acúmulo de mutações após um evento de gargalo populacional seguido de um rápido crescimento populacional. A combinação de altos valores de (π) e (h) é encontrada em ambos genes nas localidades Pe (Peru), CnTf (Calha Norte+Tefé) e PuMaTaXin (Purus, Madeira, Tapajós, Xingu) (Tabelas 1 e 6). A hipótese é reforçada segundo a rede de haplótipos do gene CytB, pois temos uma população estável e apenas um haplótipo compartilhado entre as populações Cntf e PuMaTaXin (Fig. 4). A combinação de alto valor (h) e baixo valor de (π) é encontrado em ambos genes na população ToCpMn (Tocantins, Capim, Marapanin) (Tabelas 1 e 6), sugerindo uma retração populacional seguida de uma rápida expansão da mesma. Quando uma população passa por eventos de expansão populacional, seus haplótipos são mais difundidos que os haplótipos que permaneceram na população inicial (Templenton, 1998).

Para os testes D de Tajima e F_s de Fu, em ambos genes os resultados dos testes não foram significativos, confirmando que as populações não estão em desequilíbrio mutação-deriva genética. A exceção foi o gene COI para a população ToCpMn onde o teste F_s de Fu foi significativo (-4.89322 +/- 0.02800), o que demonstra que a população está em processo de expansão, como demonstrado pelos índices de diversidade nucleotídica (π) e de diversidade gênica (h).

Para a análise de estruturação populacional, segundo Wright (1978) os valores de F_{st} entre 0 e 0.05 configuram uma baixa estruturação genética, entre 0.05 e 0.15 uma estruturação moderada, entre 0.15 e 0.25 um estruturação alta e valores acima de 0.25 uma forte estruturação genética. Em ambos os genes encontramos um F_{st} com uma forte estruturação genética. Os valores de F_{sc} de ambos genes também se apresentam estruturados (CytB com forte estruturação genética e COI com alta estruturação genética). Quanto aos valores de F_{ct} de ambos os genes, embora apresentem valores altos, estes não são possuem significância estatística.

Nossa análise mostra diferenciação entre as diferentes populações de *A. agassizii*, porque a espécie mostra uma tendência de especiação alopátrica, não costumando realizar migrações (Henderson & Walker, 1990), sempre permanecendo próximo das margens de lagos e rios e mostrando cuidado parental localizado, ou seja, onde não há nenhuma fase de dispersão larval. Lovejoy & De Araújo (2000) observam hábito similar no gênero *Potamorrhaphis*, preferindo sempre lagos e pequenos igarapés, o que poderia representar uma barreira significativa ao fluxo gênico e isolamento por distância.

Diversificação, eventos biogeográficos e distribuição atual.

O ancestral comum de *Apistogramma agassizii* surgiu antes de 5.65 (+/- 1.178) milhões de anos atrás, no fim do Mioceno. O ancestral comum da espécie provavelmente surgiu no chamado Acre Wetlands (11-7 milhões de anos atrás), uma extensa região lacustre de água doce que se formou após elevação do arco Vaupés, bloqueando o paleo Amazonas ocidental a sul pelo arco Michicola, a leste pelo arco Purús e ao norte pelo arco Vaupés (Wesselingh & Hoorn, 2011). Do ancestral comum, duas linhagens de *A. agassizii* surgiram, uma entre o grupo Pe (Peru) e o grupo CnTf (Calha Norte, Tefê) a 4.62 (+/- 0.944) milhões de anos atrás no início do período Plioceno; e outra entre o grupo PuMaTapXin (Purus Madeira, Tapajós, Xingu) e o

grupo ToCpMp (Tocantins_Capim_Marapanin) a 3.12 (+/- 0.742) milhões de anos atrás também no período Plioceno.

O Rio Amazonas como conhecemos, começou a se formar entre o final do Mioceno e o final do Plioceno (10-2.5 milhões de anos atrás), com a crescente sedimentação que ocorria nos Andes devido aos grandes volumes de precipitações dessa época (Wesselingh & Hoorn, 2011). Apenas no final do período Mioceno (cerca de 7-6 milhões de anos atrás), o arco Purus foi totalmente rompido (Wesselingh & Hoorn, 2011). Esse período provavelmente constitui o início da expansão do ancestral comum das duas linhagens de *A. agassizii*, pois entre 3.54 (+/- 0.893) e 2.21 (+/- 0.434) os grupos CnTf e PuMaTapXin surgiram respectivamente. Enquanto o grupo CnTf iniciou a colonização dos rios afluentes do escudo das Guianas (exceção da população do Rio Tefé); o grupo PuMaTapXin iniciou a colonização dos afluentes do escudo brasileiro. O processo de formação do Rio Amazonas foi demorado, preenchendo uma série de depressões com sedimentos e formando uma série de lagos até a conexão com o Atlântico. Embora não exista uma datação exata sobre o rompimento dos arcos de Monte Alegre e Gurupá, acreditamos de acordo com nossos resultados, que as duas linhagens de *A. agassizii* continuaram sua lenta colonização através de áreas alagadas nas terras baixas do recém-transcontinental Rio Amazonas. O grupo ToCpMp surgiu a 1.09 (+/- 1.739) milhões de anos atrás e o grupo PuMaTapXin surgiu entre 2.21 (+/- 0.434) e 1.93 (+/- 0.900) milhões de anos atrás no fim do Plioceno, refletindo a expansão das linhagens após o Amazonas chegar no oceano Atlântico. Sobre a expansão do grupo ToCpMp nos afluentes do baixo Tocantins, Capim, Marajó e Marapanin, reflete a atuação de falhas tectônicas. Rossetti & Valeriano (2007) sugerem que o curso inferior do Rio Tocantins a cerca de 2,5 milhões de anos atrás formava um delta com os demais rios na região da atual barragem de Tucuruí. Posteriormente, a cerca de um milhão de anos atrás, falhas no sentido NE-SW teriam capturado o curso inferior do Rio Tocantins para a formação da Baía de Marajó (Costa *et. al.*, 2001, 2002), o que provavelmente transferiu os integrantes desse grupo na bacia do Rio Guamá (Rio Capim), Ilha de Marajó e no Rio Marapanin, um rio costeiro da região nordeste do Pará.

Diferentes linhagens de *Apistogramma agassizii* e *A. gephyra*

Devido alto grau de similaridade morfológica entre os representantes de *Apistogramma agassizii* e *A. gephyra*, o uso de marcadores moleculares pode ajudar a identificar diferentes morfótipos. A análise filogenética revela que possuímos quatro

principais grupos e que as populações analisadas podem representar diferentes espécies, principalmente entre os grupos Pe, CnTf e PuMaTapXin + ToCpMp, mostrando alta distância genética entre os grupos analisados (conforme tabela 11).

MEGA Between group distance					
	Apistogramma agassizii Guyana Shield Tefe (+ A. geophyra)				
	Apistogramma agassizii Western Amazon	0,06			
	Apistogramma agassizii Madeira Purus Tapajos Xingu (+ A. geophyra)	0,07	0,08		
	Apistogramma agassizii Tocantins Guama Marajo	0,07	0,07	0,04	

Within mean group distance	
Apistogramma agassizii Guyana Shield plus Tefe (+ A. geophyra)	0,02
Apistogramma agassizii Western Amazon	0,02
Apistogramma agassizii Madeira Purus Tapajos Xingu (+ A. geophyra)	0,03
Apistogramma agassizii Tocantins Guamá Marajó	0,02

Tabela 11. Variação intra e interespecífica dos grupos de *Apistogramma agassizii*.

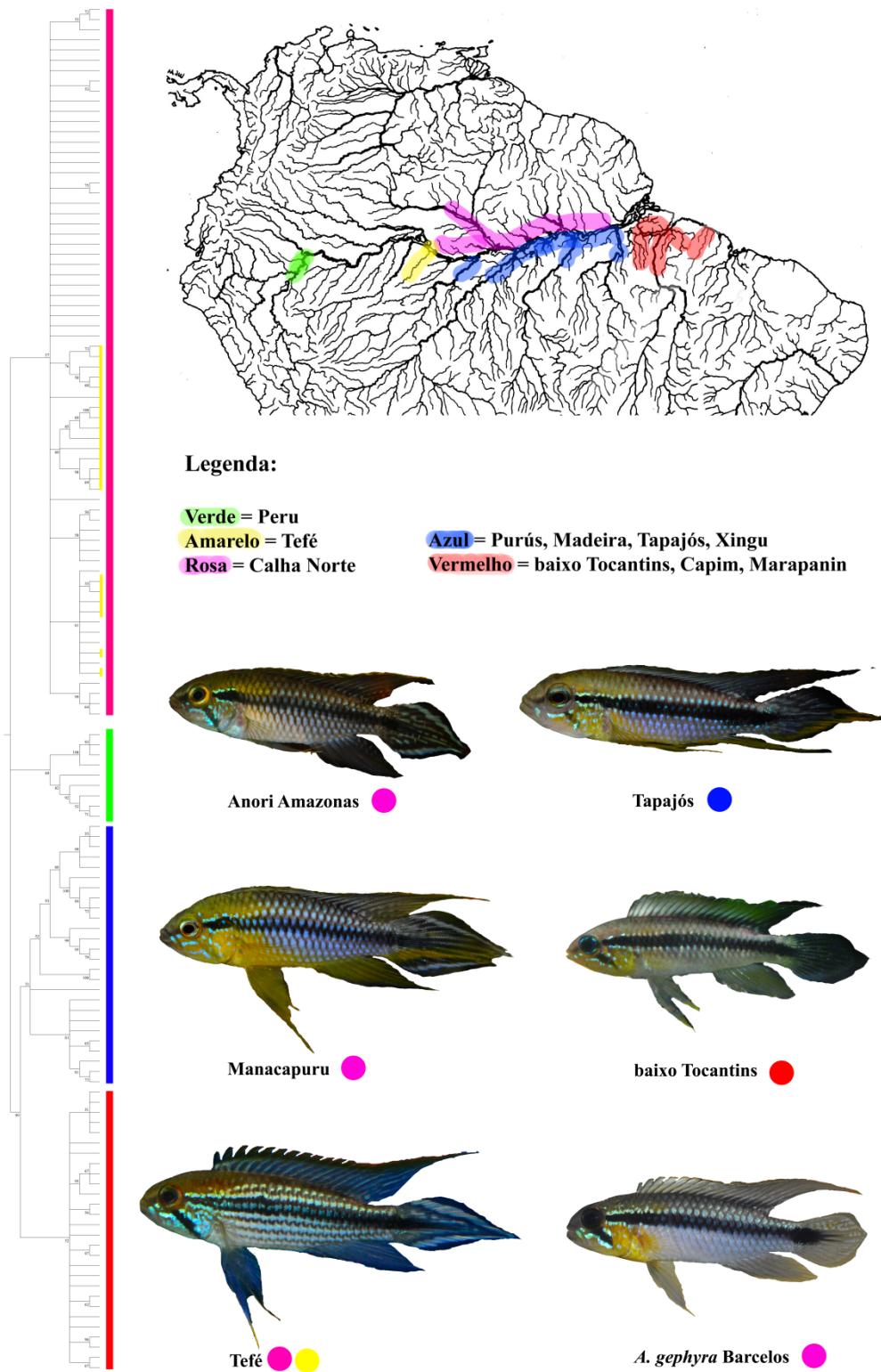


Figura 7. Morfótipos de coloração de *A. agassizii* relacionados com sua distribuição e árvore filogenética.

Os resultados da análise filogenética suportam a hipótese da existência de espécies crípticas observada entre os grupos e a análise filogeográfica confirma a estruturação desses grupos. Entretanto, *Apistogramma agassizii* e *A. geophyra* formam um grupo monofilético na bacia amazônica.

Uma explicação para a grande área de distribuição para os grupos CnTf e PuMaTapXin possa ser devido à interconexão dos rios e áreas alagadas que ocorrem na área de várzea durante os “pulsos” de inundação (Junk et al., 1989), contribuindo para sua dispersão em diversos igarapés de diferentes rios. A formação de áreas alagadas pode mudar a química da água (composição vegetal, tipo de solo), o que pode levar uma rápida diferenciação de populações através da seleção sexual por cores, pois principalmente *A. agassizii* possui vários morfótipos de coloração (Fig. 7).

5. Considerações Finais

Este trabalho apresenta diversas discussões sobre a evolução de um gênero, sob aspectos taxonômicos, filogenéticos e populacionais, baseados principalmente em dados moleculares. Foram elaboradas várias questões no início do projeto, como as possíveis relações filogenéticas do grupo, padrões de distribuição de algumas espécies do gênero e quantas espécies existem no gênero. Cremos que conseguimos responder ao menos uma parte dessas perguntas com os primeiros resultados, pois o gênero *Apistogramma* é um verdadeiro desafio. Acreditamos que esse é apenas o início do verdadeiro trabalho que esta por começar, pois temos um gênero fascinante que possui as mais diversas adaptações ao ambiente em que vive.

6. Referências bibliográficas

- Ahl, E. 1928. Übersicht über die Fische der südamerikanischen Cichliden-Gattung *Pterophyllum*. Zoologischer Anzeiger, 76:251-255.
- Ahl, E. 1931. Neue Süßwasserfische aus dem Stromgebiet des Amazonenstromes. Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin, 1931: 206-211.
- Ahl, E. 1936a. Beschreibung dreier neuer Fische der Familie Cichlidae aus Südamerika. Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin, 1936: 138-142.
- Ahl, E. 1938. Über einen neuen südamerikanischen Fisch der Familie Cichlidae. Zoologischer Anzeiger, 123: 246-247.
- Albert, J. S., N. R. Lovejoy, and W. G. R. Crampton. 2006. Miocene tectonism and the separation of cis- and trans-Andean river drainages: Evidence from Neotropical fishes. Journal of South American Earth Sciences 21:5–13.
- Albert, J. S., & Carvalho, T. P. 2011. Neogene Assembly of Modern Faunas. Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes. University of California Press, Berkeley, 119-136.
- April, J., Mayden, R. L., Hanner, R. H., & Bernatchez, L. 2011. Genetic calibration of species diversity among North America's freshwater fishes. Proceedings of the National Academy of Sciences, 108(26), 10602-10607.
- Avice, J.C. 2000. Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press, London.
- Avice, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A., Saunders, N.C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Ann. Rev. Ecol. Syst. 18: 489-522.
- Barlow, G.W. 2000. The cichlid fishes. Nature's grand experiment in evolution. Perseus Publishing, Cambridge, Massachusetts, 335 pp.
- Batista, J.S., Alves-Gomes, J.A. 2006. Phylogeography of *Brachyplatystoma rousseauxii* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Amazon Basin offers preliminary evidence for the first case of homing for an Amazonian migratory catfish. Gent. and Mol. Research 5 (4): 723-740.
- Bielawsky, J., Brault, A., Gold, J., 2002. Phylogenetic relationship within the genus *Pimphales* as inferred from ND4 and ND4L nucleotide sequences. J. Fish. Biol. 61, 293–297.
- Bockmann, F. A. e Guazzelli, G. M. 2003. Family Heptapteridae. pp, 406 – 431 in Check list of the freshwater fishes of South America, edited by Reis, R.E., S.O. Kullander & C.J. Ferraris Jr. Edipucrs, Porto Alegre, RS.
- Boulenger, G.A. 1895: Viaggio del dottor Alfredo Borelli nella Repubblica Argentina e nel Paraguay. XII. Poissons. Boll. Mus. Zool. Anat. Comp. Torino, 10(196): 1–3
- Bremer, K. 1994. Branch support and tree stability. Cladistics, 10: 295-304.
- Britzke, R. & Mehanna, M. N. 2010. Status taxonômico de *Apistogramma* Regan, 1911 e sua classificação. Boletim da Sociedade Brasileira de Ictiologia, p. 9 - 16.
- Britzke, R., C. Oliveira & S. O. Kullander. 2014. *Apistogramma ortegai* (Teleostei: Cichlidae), a new species of cichlid fish from the Ampyiacu River in the Peruvian Amazon basin. Zootaxa, 3869: 409-419.
- Carvalho, G.R. 2005. Evolutionary aspects of fish distribution: genetic variability and adaptation. – Journal of Fish Biology, 43: 53 – 73
- Casciotta, J. R & G. Arratia. 1993. Tertiary cichlid fishes from Argentina and reassessment of the phylogeny of American cichlids (Perciformes: Labroidei). Kaupia, Alemanha 2: 195-240.
- Chakrabarty, P. 2004. Cichlid biogeography: comment and review. Fish 2004, 5:97-119.
- Chakrabarty, P. 2006. Systematics and historical biogeography of Greater Antillean

- Cichlidae. Molecular phylogenetics and evolution, 39(3), 619-627.
- Chapman, F.A.; Fitz-coy, S.A.; Thunberg, E.M.; Adams, C.M. 1997 United States of America trade in ornamental fish. *Journal of the World Aquaculture Society, USA*, 28(1): 1-10.
- Cichocki, F.P. 1976. Cladistic history of cichlid fishes and reproductive strategies of the American genera *Acarichthys*, *Biotodoma* and *Geophagus*. Vol. I. Unpublished PhD dissertation, Univ. Michigan, Ann Arbor, USA.
- Cope, E.D. 1872. On the fishes of the Ambiyacu River. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 23:250-294.
- Costa, J.B.S.; Bemerguy, R.L.; Hasui, Y.; Borges, M.S. Tectonism and paleogeography along the Amazon river. *Journal of South American Earth Sciences*, v.14, p.335-347, 2001.
- Costa, J.B.S.; Hasui, Y.; Bemerguy, R.L.; Soares-J.R., A.V. villegas, J.M.C. Tectonism and paleogeography of the Marajó Basin, northern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.74, n.3, p.519-531, 2002.
- Dawes, J. 2001. International aquatic industry perspectives on ornamental fish conservation. In: Chao, N.L.; Petry, P.; Prang, G.; Sonneschien, L. Tlusty, M. (orgs.). *Conservation and Management of Ornamental Fish Resources of the Rio Negro Basin, Amazonia, Brazil*. Universidade do Amazonas. Manaus. 309p.
- Drucker, E. G., and J. S. Jensen. 1991. Functional analysis of a specialized prey processing behavior: winnowing by surfperches (Teleostei: Embiotocidae). *J. Morph.* 210:267-287.
- Drummond, A. J., Ashton, B., Buxton, S., Cheung, M., Cooper, A., Duran, C. ..., & Wilson, A. 2011. Geneious v5. 4.
- Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput *Nucleic Acids Research*, 32: 1792-1797.
- Edwards, S.V. 2008. Is a new and general theory of molecular systematics emerging? *Evolution*, 63: 1-19.
- Eigenmann, C. H., & Bray, W. L. (1894). *A revision of the American Cichlidae*. New York Academy of Sciences.
- Eigenmann, C.H. 1922a. The fishes of western South America, Part I. The freshwater fishes of northwestern South America, including Colombia, Panama, and the Pacific slopes of Ecuador and Peru, together with an appendix upon the fishes of the Rio Meta in Colombia. *Memoirs of the Carnegie Museum*, 9: 1-346.
- Eigenmann, C. H., & Eigenmann, R. S. (1891). *A catalogue of the fresh-water fishes of South America*. US Government Printing Office.
- Engelking, B., Roemer, U., & Beisenherz, W. 2010. Intraspecific colour preference in mate choice by female *Apistogramma cacatuoides* HOEDEMAN, 1951 (Teleostei: Perciformes: Cichlidae). *Vertebrate Zoology*, 60, 199-208.
- Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics online*, 1, 47.
- Farias, I.P., Ortí, G., Meyer, A., 2000. Total evidence. molecules, morphology, and the phylogenetics of cichlid fishes. *J. Exp. Zool.* 288, 76–92.
- Farias, I.P., Ortí, G., Sampaio, I., Schneider, H., Meyer, A. 1999. Mitochondrial DNA phylogeny of the family Cichlidae: monophyly and fast molecular evolution of the Neotropical assemblage. *J. Mol. Evol.* 48, 703–711.
- Farias, I.P., Ortí, G., Sampaio, I., Schneider, H., Meyer, A. 2001. The Cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. *J. Mol. Evol.* 53, 89–103.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap.

- Evolution 39, 783-791.
- Felsenstein, J. 2004. Inferring phylogenies. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 664 pp.
- Fowler, H.W. 1940. A collection of fishes obtained by Mr. William C. Morrow in the Ucayali River Basin, Peru. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 91: 219-289.
- Freeland J. R. 2005. Molecular Ecology. John Wiley & Sons; Ltd. 388 p.
- Gaemers, P. A. M. 1984. Taxonomic position of the Cichlidae as demonstrated by the morphology of their otoliths. Netherlands J. Zool. 34: 566-595.
- García-Dávila, C., Duponchelle, F., Castro-Ruiz, D., Villacorta, J., Quérouil, S., Chota-Macuyama, W., ... & Renno, J. F. 2013. Molecular identification of a cryptic species in the Amazonian predatory catfish genus *Pseudoplatystoma* (Bleeker, 1962) from Peru. Genetica, 141(7-9), 347-358.
- Gosse, J.-P. 1971. Révision du genre *Retroculus* (Castelnau, 1855) (Pisces, Cichlidae) désignation d'un néotype de *Retroculus lapidifer* (Castelnau, 1855) et description de deux espèces nouvelles. Bulletin, Institut royal des Sciences naturelles de Belgique, 47 (43): 1-13.
- Gosse, J.-P. 1976. Révision du genre *Geophagus*. Mémoires, Académie royale des Sciences d'Outre-Mer, Classe des Sciences Naturelles et Médicales, N.S., 19 (3): 1-172.
- Goulding, M., M. Carvalho, and E. Ferreira. 1988. Rio Negro, rich life in poor waters. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands.
- Günther, A., 1868. An account of the fishes of the states of Central America, based on collections made by Capt. J.M. Dow, F. Godman Esq., and O. Salvin, Esq. Transactions of the Zoological Society, London, 6: 377-494.
- Graça, W. J. ; Varella, H. ; Vieira, F. . Cichlidae. In: Luiz Jardim de Queiroz; Gislene Torrente-Villara; William M. Ohara; Tiago Pires; Jansen Zuanon; Carolina Dória. (Org.). Peixes do rio Madeira. 1ed. São Paulo: Dialto, 2013, v. 3, p. 330-389.
- Grant W. S. & B. W. Bowen. 1998. Shallow Population Histories in Deep Evolutionary Lineage of Marine Fishes: Insights from Sardines and Anchovies and Lessons for Conservation. Journal of Heredity, 89(5): 415-426.
- Hebert, P. D., Ratnasingham, S., & de Waard, J. R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 270(Suppl 1), S96-S99.
- Hebert, P. D., Stoeckle, M. Y., Zemplak, T. S., & Francis, C. M. (2004). Identification of birds through DNA barcodes. PLoS biology, 2(10), e312.
- Heckel, J., 1840. Johann Natterer's neue Flussfische Brasilien's nach den Beobachtungen und Mittheilungen des Entdeckers beschrieben. (Erste Abtheilung, die Labroiden.) Annalen des wiener Museums der Naturgeschichte, 2: 327-470.
- Henderson, P. A., & Walker, I. (1990). Spatial organization and population density of the fish community of the litter banks within a central Amazonian blackwater stream. Journal of Fish Biology, 37(3), 401-411.
- Hoedeman, J. J. 1951. Notes on the fishes of the cichlid family I. *Apistogramma cacatuoides* sp. n. Beaufortia, 4: 1-4.
- Hoorn, C. 1993. Marine incursions and the influence of Andean tectonics on the Miocene depositional history of northwestern Amazonia: Results of a palynostratigraphic study. Palaeogeography, Palaeoclimatology, and Palaeoecology 105:267-309.
- Hoorn, C. 1996. Miocene deposits in the Amazonian Foreland Basin. Sciences 273:122-123.
- Hoorn, C., Wesselingh, F. P., Ter Steege, H., Bermudez, M. A., Mora, A., Sevink, J., ... & Antonelli, A. 2010. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape

- evolution, and biodiversity. *science*, 330(6006), 927-931.
- Hubert, N., and J.-F. Renno. 2006. Historical biogeography of South American freshwater fishes. *Journal of Biogeography* 33:1414–1436.
- Hubert N., Duponchelle F., Nuñez J., Garcia-Davila C., Paugy D. e Renno J. F. 2007. Phylogeography of the piranha genera *Serrasalmus* and *Pygocentrus*: implications for the diversification of the Neotropical ichthyofauna. *Molec. Ecol.*, 16: 2115-2136.
- Hubert, N., Hanner, R., Holm, E., Mandrak, N. E., Taylor, E., Burrridge, M., ... & Bernatchez, L. 2008. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *PLoS one*, 3(6), e2490.
- Iriondo, M. H., and A. R. Paira. 2007. Physical geography of the basin. In *The Middle Paraná River: Limnology of a Subtropical Wetland*, edited by M. H. Iriondo, J. C. Paggi, and M. J. Parma, 7–31. Heidelberg: Springer-Verlag.
- Ivanova, N. V., De Waard, J. R. & Hebert, P. D. N. 2006. An inexpensive, automation friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes* 6, 998–1002.
- Jardine, W., 1843. The naturalist's library [vol. 38]. Ichthyology Vol. V. Fishes of Guiana. Part II. Edinburgh, 214 pp.
- Joyce, D., Hunt, D., Bills, R., Turner, G., Katongo, C., Duftner, N., Sturmbauer, C., Seehausen, O., 2005. An extant cichlid fish radiation emerged in an extinct Pleistocene lake. *Nature* 435, 90–94.
- Johnson, N. K., and C. Cicero. 2002 The role of ecologic diversification in sibling speciation of *Empidonax flycatchers* (Tyrannidae): multigene evidence from mtDNA. *Mol. Ecol.* 11: 2065–2081.
- Junk, W.J., Bayley P.B., Sparks R.E. 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems D.P. Doge (Ed.), *Proc. Int. Large River Symp. Can. Fish. Aquat. Sci. Spec. Publ.*, 106, pp. 110–127
- Junk, W.J.; Soares, M.G.M.; Bayley, P.B. 2007. Freshwater fishes of the Amazon River basin: their biodiversity, fisheries, and habitats. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, Ontário, 10(2): 153–173.
- Keenleyside, M. H. A. 1991. Cichlid fishes. Behaviour, ecology and evolution. Chapman & Hall, Fish and Fisheries Series 2, London & other cities, xxi+378 pp.
- Kimura, M. 1980. A simple method of estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies. *Journal of Molecular Evolution* 16, 111–120.
- Kocher, T.D. 2004. Adaptive evolution and explosive speciation: the cichlid fish model. *Nat Rev Genet* 5:288-98.
- 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 National Academy of Sciences*, 86(16), 6196-6200.
- Koslowski, I. 1985. *Die Buntbarsche der Neuen Welt*. Reimar Hobbing. Essen, 192 pp.
- Koslowski, I. 2002. *Die Buntbarsche Amerikas Band 2 Apistogramma & Co.* Ulmer, Stuttgart.
- Kullander, S.O. 1976. *Apistogramma luelingi* sp. nov., a new cichlid fish from Bolivia (Teleostei: Cichlidae). *Bonner Zoologische Beiträge*, 27: 258-266.
- Kullander, S.O. 1979. Species of *Apistogramma* (Teleostei, Cichlidae) from the Orinoco drainage basin, South America, with descriptions of four new species. *Zoologica Scripta*, 8: 69-79.
- Kullander, S.O. 1980. A taxonomical study of the genus *Apistogramma* Regan, with a revision of Brazilian and Peruvian species (Teleostei: Percoidei: Cichlidae). *Bonner Zoologische Monographien*, 14: 1-152.
- Kullander, S.O. 1982. Cichlid fishes from the La Plata basin. Part II. *Apistogramma*

- commbrae* (Regan, 1906). *Revue suisse Zool.* 89: 33-481.
- Kullander, S.O. 1983. A revision of the South American cichlid genus *Cichlasoma* (Teleostei: Cichlidae). Naturhistoriska Riksmuseet, Stockholm, 296 pp.
- Kullander, S.O. 1986. Cichlid fishes of the Amazon River drainage of Peru. Swedish Museum of Natural History, Stockholm, 431 pp.
- Kullander, S.O. 1987. A new *Apistogramma* species (Teleostei, Cichlidae) from the Rio Negro in Brazil and Venezuela. *Zoologica Scripta*, 16: 259-270.
- Kullander, S.O. 1988. *Teleocichla*, a new genus of South American rheophilic cichlid fishes with six new species (Teleostei: Cichlidae). *Copeia*, 1988: 196-230.
- Kullander, S.O. 1989. *Biotoecus* Eigenmann and Kennedy (Teleostei: Cichlidae): description of a new species from the Orinoco Basin and revised generic diagnosis. *Journal of Natural History*, 23: 225-260.
- Kullander, S.O. 1990. *Mazarunia mazarunii* (Teleostei: Cichlidae), a new genus and species from Guyana, South America. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 1: 3-14.
- Kullander, S. O., 1998: A phylogeny and classification of the South American Cichlidae (Teleostei: Perciformes). In: Malabarba, L. R.; Reis, R. P.; Lucena, Z. M.; Lucena, C. A. S. (eds), *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre: Edipucrs, pp. 461-498.
- Kullander, S.O., 2003. Family Cichlidae (Cichlids). In: Reis, R.E., Kullander, S.O., Ferraris, C.J., Jr. (Eds.), *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Edipucrs, Porto Alegre, pp. 605-654.
- Kullander, S.O. 2004. *Apistogramma alacrina*, a new species of cichlid fish (Teleostei: Cichlidae) from Colombia. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 15: 41-48.
- Kullander, S.O. & H. Nijssen. 1989. The cichlids of Surinam. E.J. Brill, Leiden, XXXIII+256 pp.
- Kullander, S. O. & Hartel, K.E. 1997. The systematic status of cichlid genera described by Louis Agassiz in 1859: *Amphilophus*, *Baiodon*, *Hypsophrys* and *Parachromis* (Teleostei: Cichlidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters* v. 7 (no. 3): 193-202.
- Kullander, S.O. and A.M.C. Silfvergrip. 1991. Review of the South American cichlid genus *Mesonauta* Günther (Teleostei, Cichlidae) with descriptions of two new species. *Revue Suisse de Zoologie*, 98: 407-448.
- Kullander, S.O., Stawikowski, R. 1997. Jardines Cichliden (Teil 1). DCG-Informationen, 28: 112-119.
- Kullander, S.O., Ferreira, E.J.G. 2006. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters* 17, 289-398.
- Landim, M. I. 2006. Relações Filogenéticas na Família Cichlidae Bonaparte, 1840 (Teleostei:Perciformes). Unpublished Ph. D. Dissertation. Universidade de São Paulo, São Paulo, 445 p.
- Lanés, L.E.K.; Maltchik, L.; Lucena, C. A. S. 2010. Pisces, Perciformes, Cichlidae, *Apistogramma borellii* (Regan, 1906): First record for state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Check List* (São Paulo. Online), v. 6, p. 222-224.
- Lanfear, R, B Calcott, SYW Ho & S Guindon. 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses.
- Lima, F. C., & Ribeiro, A. C. 2011. Continental-scale tectonic controls of biogeography and ecology. *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes*. University of California Press, Berkeley, 145-164.
- Linke, H. & W. Staack. 1995. American cichlids I: Dwarf cichlids: a handbook for their identification, care and breeding. Tetra Press, Melle, 232 pp.
- López-Fernández, H., Taphorn, D.C. 2004. *Geophagus abalios*, *G. dicrozoster* and *G.*

- winemilleri* (Perciformes: Cichlidae), three new species from Venezuela. *Zootaxa* 439:1-27.
- López-Fernández, H., Honeycutt, R.L., Winemiller, K.O., 2005a. Molecular phylogeny and evidence for an adaptive radiation of geophagine cichlids from South America (Perciformes: Labroidei). *Mol. Phylogenet. Evol.* 34, 227–244.
- López-Fernández, H., Honeycutt, R.L., Stiassny, M.L.J., Winemiller, K.O., 2005b. Morphology, molecules, and character congruence in the phylogeny of South American geophagine cichlids (Perciformes: Cichlidae). *Zool. Scripta* 34, 627–651.
- López-Fernández, H., K. O. Winemiller & R. L. Honeycutt. 2010. Multilocus phylogeny and rapid radiations in Neotropical cichlid fishes (Perciformes: Cichlidae: Cichlinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55: 1070-1086.
- Lovejoy, N. R., and M. L. Araújo. 2000. Molecular systematics, biogeography and population structure of Neotropical freshwater needlefishes of the genus *Potamorhaphis*. *Molecular Ecology* 9:259–268.
- Lowe-McConnell, R. H. 1991. Ecology of cichlids in South American and African waters, excluding the African Great Lakes. Pp. 62-85 in M. H. A. Keenleyside, ed. *Cichlid fishes: behavior, ecology and evolution*. Chapman Hall, London.
- Lujan, N. K., and J. W. Armbruster. 2011. The Guiana Shield, p. 211–224. In: *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes*. J. Albert and R. Reis (eds.). University of California Press, Berkeley.
- Lundberg, J. G. 1998. The temporal context for diversification of Neotropical fishes. In *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*, edited by L. R. Malabarba, R. E. Reis, R. P. Vari, C. A. S. Lucena, and Z. M. S. Lucena, 67–91. Porto Alegre: Edipucrs.
- Lundberg, J.G., Sabaj Pérez, M.H., Dahdul, W.M., Aguilera, O.A., 2010. The Amazonian Neogene fish fauna. In: Hoorn, C., Wesselingh, F.P. (Eds.), *Amazonia, Landscape and Species Evolution: A Look into the Past*. Blackwell Publishing, pp. 281–301.
- Maan, M. E., & Sefc, K. M. 2013. Colour variation in cichlid fish: developmental mechanisms, selective pressures and evolutionary consequences. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 24, No. 6, pp. 516-528). Academic Press.
- Machado-Allison, A. 1971. Contribución al conocimiento de la taxonomía del genero *Cichla* (Perciformes: Cichlidae) en Venezuela. Parte I. *Acta Biologica Venezuelica*, 7: 459-497.
- Machado-Allison, A. 1973. Contribución al conocimiento de la taxonomía del género *Cichla* en Venezuela. Parte II. Osteología comparada. *Acta Biológica Venezuelica*, 8: 155-205.
- Mayland, H. J., Bork, D. 1997. South American dwarf cichlids. *Apistogramma, Crenicara, Microgeophagus*. Hannover: Verlag; A.C.S. Glaser, 188 p.
- Meinken, H. 1960b. Eine neue *Apistogramma* -Art (Pisces; Percoidea, Cichlidae). *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie*, 45: 655-661.
- Meinken, H. 1961. Mitteilungen der Fischbestimmungsstelle des VDA XXXVII. Drei neu eingeführte *Apistogramma* -Arten aus Peru, eine davon wissenschaftlich neu. *DATZ*, 14: 135-139.
- Meinken, H. 1962. Eine neue *Apistogramma* -Art aus dem mittleren Amazonas-Gebiet, zugleich mit dem Versuch einer Übersicht über die Gattung (Pisces, Percoidea, Cichlidae). *Senckenbergiana Biologica*, 43: 137-143.
- Meinken, H. 1964. Mitteilungen der Fischbestimmungsstelle des VDA XLVII. *Apistogramma kleei* spec. nov., der Querbinden- Zwergbarsch (Pisces, Teleostei, Cichlidae). *DATZ*, 17: 293-297.
- Meinken, H. 1965a. Eine neue *Apistogramma* -Art aus Venezuela (Pisces, Percoidea, Cichlidae). *Senckenbergiana Biologica*, 46:257-263.
- Meinken, H. 1965b. Über eine neue Gattung und Art der Familie Cichlidae aus Peru

- (Pisces, Percoidea, Cichlidae). *Senckenbergiana Biologica*, 46 (1): 47-53.
- Meinken, H. 1969. *Apistogramma gibbiceps* n. sp. aus Brasilien (Pisces, Teleostei, Cichlidae). *Senckenbergiana Biologica*, 50:91-96.
- Meinken, H. 1971. *Apistogramma geisleri* n. sp. und *Apistogramma borellii* (Regan) aus dem Amazonas-Becken (Pisces: Teleostei: Cichlidae). *Senckenbergiana Biologica*, 52: 35-40.
- Menezes, N. A., A. C. Ribeiro, S. H. Weitzman, and R. A. Torres. 2008. Biogeography of Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae) revisited: Phylogenetic patterns, historical geology and genetic connectivity. *Zootaxa* 1726:33–48.
- Meyer, C.P. & G. Paulay. 2005. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling *PloS Biology*, 3, pp. 2229–2238.
- Miller, M. Schliewen, U. 2005. The molecular phylogeny of the genus *Apistogramma* – a working hypothesis. in Stawikowski, R. ed. (2005): Südamerikanische Zwergcichliden/South American Dwarf Cichlids. D. Aquar. u. Terr. Z. DATZ Sonderheft/DATZ-Special Publication. Eugen Ulmer KG. Stuttgart. 129 p
- Montoya-Burgos, J. I. 2003. Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implication on the diversification of Neotropical ichthyofauna. *Mol. Ecol.*, 12:1855-1867
- Musilova, Z., Rincan, O., Novák, J. 2009. Phylogeny of the neotropical cichlid fish tribe Cichlasomatini (Teleostei: Cichlidae) based on morphological and molecular data, with the description of a new genus. – *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 47: 234–247.
- Nei, M., Kumar, S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, New York, USA.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a smaller number of individuals. *Genetics*, 23: 341-369.
- Nelson, J.S. 2006. *Fishes of the world*. John Wiley, New York, 601 pp.
- Oliveira, C., Avelino, G.S., Abe, K.T., Mariguela, T.C., Benine, R.C., Ortí, G., Vari, R.P., Castro, R.M.C., 2011. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. *BMC Evolutionary Biology* 11, 275.
- Padial JM, Miralles A, De la Riva I, Vences M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Front Zool* 7:16.
- Palumbi, S., Martin, A., Romano, S., McMillan, W.O., Stice, L., Grabowski, G., 1991. *The Simple Fool's Guide to PCR*. University of Hawaii, Honolulu.
- Pellegrin, J. 1902. Cichlidé nouveau de la Guyane française. *Bulletin du Muséum National d'Histore Naturelle*, 8: 417-418.
- Perdices, A., Bermingham, E., Montilla, A., Doadrio, I. 2002. Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei: Pimelodidae) in Central America. *Mol. Phylogenet. Evol.* 25: 172-189.
- Pereira, L. H., Pazian, M. F., Hanner, R., Foresti, F., & Oliveira, C. 2011. DNA barcoding reveals hidden diversity in the Neotropical freshwater fish *Piabina argentea* (Characiformes: Characidae) from the Upper Paraná Basin of Brazil. *Mitochondrial Dna*, 22(S1), 87-96.
- Pereira, L. H., Hanner, R., Foresti, F., & Oliveira, C. (2013). Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?. *BMC genetics*, 14(1), 20.
- Polzin, T. & Vahdati, S. 2004. Network 4.1.0.8. Fluxus Technology Ltd.
- Ploeg, A. 1991. Revision of the South American cichlid genus *Crenicichla* Heckel, 1840, with descriptions of fifteen new species and consideration on species groups, phylogeny and biogeography (Pisces, Perciformes, Cichlidae). *Academisch*

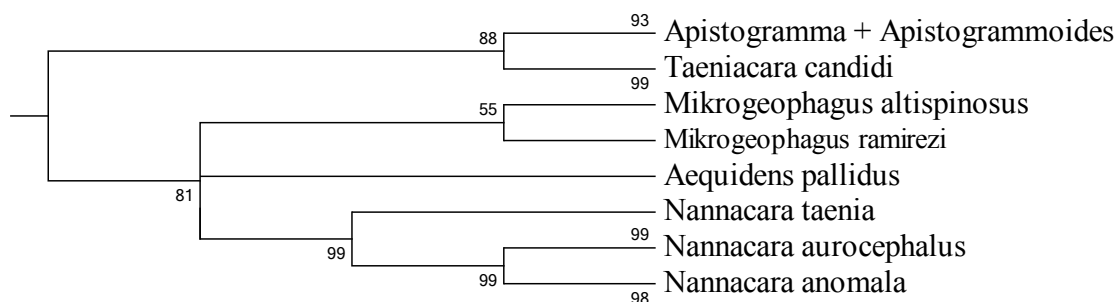
- Proefschrift, Universiteit van Amsterdam, 153pp.
- Rach, J., DeSalle, R., Sarkar, I. N., Schierwater, B., & Hadrys, H. (2008). Character based DNA barcoding allows discrimination of genera, species and populations in Odonata. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1632), 237-247.
- Rambaut A, Suchard MA, Xie D & Drummond AJ. 2014. Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>. Accessed January 4, 2015
- Rambaut A. & Drummond A.J. 2012. TreeAnnotator v1.4.2. Available at <http://beast.bio.ed.ac.uk/TreeAnnotator>. Accessed January 4, 2015.
- Ready, J. S., I. Sampaio, H. Schneider, C. Vinson, T. dos Santos & G. F. Turner. 2006. Color forms of Amazonian cichlid fish represent reproductively isolated species. *Journal of Evolutionary Biology*, 19: 1139-1148.
- Regan, C.T. 1912. Descriptions of new cichlid fishes from South America in the British Museum. *Annals and Magazine of Natural History* (8), 9: 505-507.
- Reis, R. E., Kullander, S. O., Ferraris Jr., C. J. 2003. Check list of the freshwater fishes of South America, edited by Edipucrs, Porto Alegre, RS.
- Reis, R. E., Malabarba, L.R.. 1988. Revision of the Neotropical cichlid genus *Gymnogeophagus* Ribeiro, 1918, with descriptions of two new species (Pisces, Perciformes). *Revista Brasileira de Zoologia* 4: 259-305
- Rícan, O., Kullander, S.O. 2006. Character and treebased delimitation of species in the “*Cichlasoma*” *facetum* group (Teleostei, Cichlidae) with the description of a new genus. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 44: 136 – 152.
- Römer, U. 2001. Cichlid Atlas: natural history of South American dwarf cichlids. Melle: Mergus-Publishers, 2001. v.1.
- Römer, U. 2006. Cichlid Atlas: natural history of South American dwarf cichlids. Melle: Mergus-Publishers, 2006. v.2
- Römer, U., & Beisenherz, W. 2005. Intra and interspecific mate choice of female *Apistogramma cacatuoides* Hoedeman, 1951 (Teleostei, Perciformes, Cichlidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 16(4):339 – 345.
- Römer, U. & Hahn, I. 2008. *Apistogramma barlowi* sp.n.: Description of a new facultative mouth-breeding cichlid species (Teleostei:Perciforme:Geophaginae) from Northern Peru. *Vertebrate Zoology*, 58(1): 49-6
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572–1574.
- Röpke, C. P. ; Ferreira, E. J. G. ; Zuanon, J A. S. Seasonal changes in the use of feeding resources by fish in stands of aquatic macrophytes in an Amazonian floodplain, Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, v. 97, p. 401-414, 2014.
- Rossetti, D.F.; Valeriano, M.M. Applying SRTM topographic data to characterize a Quaternary paleovalley in northern Brazil. *Anais XIII simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, INPE, Florianópolis, Brasil, p. 2125-2132, 2007.
- Rozas, J., Sánchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X., & Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19(18), 2496-2497.
- Rubinoff, D., Cameron, S., & Will, K. 2006. A genomic perspective on the shortcomings of mitochondrial DNA for “barcoding” identification. *Journal of Heredity*, 97(6), 581-594.
- Schmettkamp, W. 1982. Die Zwercichliden Sudamerikas. *Landbuch*, West Germany, pp. 176.
- Schultz, L.P. 1960. A review of the pompadour or discus fishes, genus *Symphysodon* of South America. *Tropical Fish Hobbyist*, 8 (10): 5-17.
- Schultz, L. P. 1967. Review of South American freshwater angelfishes genus *Pterophyllum*. *Proceedings of the U.S. National Museum* 120:1-10.

- Silfvergrip, A.M.C. 1996. A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei:Pimelodidae). Swedish Museum of Natural History, Stockholm.
- Sivasundar, A., Bermingham, E., Ortí, G. 2001. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*: Characiformes) in major South American rivers. *Mol. Ecol.* 10, 407-417.
- Sparks, J.S., Smith, W.L. 2004. Phylogeny and biogeography of cichlid fishes (Teleostei: Perciformes: Cichlidae). *Cladistics* 20, 501-517.
- Smith, W., Chakrabarty, P., Sparks, J.S., 2008. Phylogeny, taxonomy, and evolution of Neotropical cichlids (Teleostei: Cichlidae: Cichlinae). *Cladistics* 24, 625–641.
- Schmitter-Soto, J. J. 2007. A systematic revision of the genus *Archocentrus* (Perciformes:Cichlidae), with the description of two new genera and six new species. *Zootaxa*, 1603: 1-76.
- Staack, W., 2003. Cichliden Lexikon Teil 3. Südamerikanische Zwergbuntbarsche. Dähne Verlag, Ettlingen.
- Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22, 2688-2690.
- Stamatakis, A., Hoover, P., Rougemont, J. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Syst. Biol.*, 57: 758-771.
- Steindachner, F. 1875. Beiträge der Kenntniss der Chromiden des Amazonenstromes. *Sitzungsberichte der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, Mathematisch-naturwissenschaftliche Classe*, 71: 61-137
- Stiassny, M. L. J. 1981. The phyletic status of the family Cichlidae (Pisces: Cichlidae): a comparative anatomical investigation. *Netherlands J. Zool.* 31: 275-314.
- Streelman, J.T., Karl, S.A. 1997. Reconstructing labroid evolution with single-copy nuclear DNA. *Proceedings of the Royal Society of London B* 264, 1011–1020.
- Swofford, D.L. 2003. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- 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(2):107-119.
- Templeton, A. R. 1998. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Molecular Ecology* 7:381-397
- Turner, G. F. (2007). Adaptive radiation of cichlid fish. *Current Biology*, 17(19), R827-R831.
- Valdez-Moreno, M., Ivanova, N. V., Elías-Gutiérrez, M., Contreras-Balderas, S., & Hebert, P. D. N. 2009. Probing diversity in freshwater fishes from Mexico and Guatemala with DNA barcodes. *Journal of Fish Biology*, 74(2), 377-402.
- Varella, H. R., & Pérez, M. H. S. (2014). A titan among dwarfs: *Apistogramma kullanderi*, new species (Teleostei: Cichlidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters*, Vol. 25, No. 3, pp. 243-258
- Ward, R. D. 2009. DNA barcode divergence among species and genera of birds and fishes. *Molecular Ecology Resources*, 9(4), 1077-1085.
- Ward RD, Zemplak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philos Trans R Soc Lond Ser B Biol Sci* 360:1847– 1857
- Weidner, T. 2000. South American Eartheaters. Cichlid Press, El Paso, TX.
- Weitzman, S. H., & Vari, R. P. (1988). Miniaturization in South American freshwater fishes; an overview and discussion. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 101(2), 444-465.

- Wesselingh, F. P., & Hoorn, C. 2011. Geological Development of Amazon and Orinoco Basins. *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes*. University of California Press, Berkeley, 145-164.
- Wilkinson, M. J., L. G. Marshall, and J. G. Lundberg. 2006. River behavior on megafans and potential influences on diversification and distribution of aquatic organisms. *Journal of South American Earth Sciences* 21:151–172.
- Winemiller, K. O., and D. C. Taphorn. 1989. La evolución de las estrategias de vida en los peces de los llanos occidentales de Venezuela. *Biollania* 6:77-122.
- Winemiller, K. O., and K. A. Rose. 1993. Why do most fish produce so many tiny offspring? *Am. Nat.* 142:585-603.
- Winemiller, K. O., L. C. Kelso-Winemiller, and A. L. Brenkert. 1995. Ecomorphological diversification and convergence in fluvial cichlid fishes. *Env. Biol. Fishes* 44:235-261.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations* vol. 4, Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago, IL. 590 p.
- Xia, X., & Lemey, P. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. *The phylogenetic handbook: a practical approach to DNA and protein phylogeny*, 2, 615-630.
- Xia, X., Xie, Z. 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *J. Heredity* 92, 371-373.
- Xia X., Xie Z., Salemi M., Chen L., Wang Y. 2003. An index of substitution saturation and its application. *Mol Phylogenet Evol*, 26:1-7.
- Zardoya, R., & Doadrio, I. 1999. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. *Journal of Molecular Evolution*, 49(2), 227-237.
- Zarucki, M., González-Bergonzoni, I., Teixeira-de Mello, F., Duarte, A., Serra, S., Quintans, F., & Loureiro, M. 2010. New records of freshwater fish for Uruguay. *Check List*, 6(2), 191-194.

7. Anexos

Anexo 1. Árvore filogenética do relacionamento de *Apistogramma* com o grupo externo baseada nos genes mitocondriais 16 S rRNA, COI, CytB e ND4 obtida com máxima verossimilhança, com bootstrap de 1000 pseudoreplicas. Valores menores que 50% não são mostrados.



Anexo 2. Dados sobre as partições utilizadas nas análises Bayesiana e Máxima Verossimilhança.

Gene	Critério da partição	Melhor modelo encontrado pelo Partition Finder	Modelo utilizado para a inferência bayesiana	Posições da matriz correspondente a cada partição
COI	Primeiras posições dos códons	TrNef+G	Nst=6 + G	1-634\3
COI	Segundas posições dos códons	TrN+I+G	Nst=6 + G	2-635\3
COI	Terceiras posições dos códons	GTR+G	Nst=6 + G	3-636\3
CytB	Primeiras posições dos códons	K80+G	Nst=2 + G	634-988\3
CytB	Segundas posições dos códons	K81+G	Nst=6 + G	635-989\3
CytB	Terceiras posições dos códons	TIM+I+G	Nst=6 +I + G	636-990\3
16S rRNA	Segmento total	GTR+I+G	Nst= 6 +I +G	991-1452
ND4	Primeiras posições dos códons	TrN+G	Nst=6 + G	1453-2209\3
ND4	Segundas posições dos códons	TrN+G	Nst=6 +G	1454-2210\3
ND4	Terceiras posições dos códons	TrN+I+G	Nst=6 +I +G	1455-2211\3

Anexo 3. Tabela das espécies e genes utilizados nesse estudo.

	COI	CytB	16S	ND4
<i>Genbank Satanoperca pappaterra</i>	X	X	X	X
<i>Genbank A. hoignei Rio Apure</i>		X	X	X
ANSP178222 <i>A. bitaeniata Rio Nanay</i>	X	X	X	X
ANSP190688 <i>A. bitaeniata Rio Nanay</i>	X	X	X	X
LBP12837 <i>Taeniacara candidi Rio Negro</i>	X			X
LBP12838 <i>A. pertensis Rio Negro</i>	X	X	X	X
LBP12839 <i>A. pertensis Rio Negro</i>	X	X	X	X
LBP12840 <i>Taeniacara candidi Rio Negro</i>	X			X
LBP13423 <i>A. trifasciata Rio Taquari</i>	X	X	X	
LBP13426 <i>A. trifasciata Rio Taquari</i>	X	X	X	
LBP14041 <i>A. borelli Rio Paraguai</i>		X	X	
LBP14042 <i>A. borelli Rio Paraguai</i>	X	X	X	
LBP14066 <i>A. trifasciata Rio Taquari</i>	X		X	
LBP14067 <i>A. trifasciata Rio Taquari</i>	X	X	X	
LBP16467 <i>Apistogramma sp. Araguaia Rio Morto</i>	X	X		X
LBP16469 <i>Apistogramma sp. Araguaia Rio Morto</i>	X	X		X
LBP23835 <i>A. gephyra Rio Negro</i>	X			
LBP24013 <i>A. meinkeni Rio Negro</i>	X	X		
LBP24014 <i>A. paucisquamis Rio Negro</i>	X	X		
LBP24015 <i>A. paucisquamis Rio Negro</i>	X	X		X
LBP24108 <i>A. wapisana Rio Branco</i>	X	X		
LBP24109 <i>A. wapisana Rio Branco</i>	X	X		
LBP24110 <i>A. wapisana Rio Branco</i>		X		
LBP24111 <i>A. wapisana Rio Branco</i>		X		X
LBP24157 <i>A. gibbiceps Rio Branco</i>		X		X
LBP24264 <i>A. uaupesi Rio Negro</i>	X			
LBP24265 <i>A. uaupesi Rio Negro</i>	X			X
LBP24266 <i>A. meinkeni Rio Negro</i>	X			
LBP24267 <i>A. meinkeni Rio Negro</i>		X		
LBP24267 <i>A. uaupesi Rio Negro</i>		X		X
LBP24268 <i>A. meinkeni Rio Negro</i>	X	X		
LBP24318 <i>A. gibbiceps Rio Negro</i>	X			
LBP24319 <i>A. gibbiceps Rio Negro</i>	X			
LBP24320 <i>A. gibbiceps Rio Negro</i>				X
LBP24321 <i>A. gibbiceps Rio Negro</i>		X		X
LBP24322 <i>A. gibbiceps Rio Negro</i>		X		
LBP24443 <i>A. gephyra Rio Negro</i>				X
LBP24783 <i>A. commbrae Rio Paraná</i>	X	X	X	X
LBP24784 <i>A. commbrae Rio Paraná</i>	X	X	X	X
LBP25744 <i>A. pertensis Rio Negro</i>		X	X	X
LBP25745 <i>A. gibbiceps Rio Negro</i>		X		X

LBP25746 <i>A. gibbiceps</i> Rio Negro		X		X
LBP25747 <i>A. hippolytae</i> Rio Negro	X	X		X
LBP25748 <i>A. cf. mendezi</i> Rio Negro	X			
LBP25748 <i>A. mendezi</i> Rio Negro		X		X
LBP26455 <i>A. commbrae</i> Rio Paraná	X	X	X	X
LBP26456 <i>A. commbrae</i> Rio Paraná	X	X	X	X
LBP26457 <i>A. commbrae</i> Rio Paraná	X	X	X	X
LBP26458 <i>A. commbrae</i> Rio Paraná		X	X	X
LBP26808 <i>A. agassizii</i> Rio Jari	X	X		
LBP26809 <i>A. agassizii</i> Rio Jari	X	X		X
LBP26935 <i>A. pertensis</i> Rio Jari	X	X		X
LBP27122 <i>A. agassizii</i> Rio Jari		X	X	X
LBP27123 <i>A. agassizii</i> Rio Jari				
LBP27124 <i>A. agassizii</i> Rio Jari	X	X	X	X
LBP27125 <i>A. agassizii</i> Rio Jari	X	X	X	X
LBP28289 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X	X	X	
LBP28290 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X	X	X	
LBP28291 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X	X	X	
LBP33282 <i>Apistogramma</i> sp. São Gabriel Negro	X			X
LBP33283 <i>Apistogramma</i> sp. São Gabriel Rio Negro	X			X
LBP33284 <i>Apistogramma</i> sp. São Gabriel Rio Negro	X	X		X
LBP33352 <i>Apistogramma</i> sp. São Gabriel Rio Negro		X		X
LBP34012 <i>Apistogramma</i> sp. São Gabriel Rio Negro		X		X
LBP34058 <i>Apistogramma</i> sp. São Gabriel Rio Negro	X			
LBP34162 <i>Apistogramma</i> sp. alto Rio Negro	X			X
LBP34163 <i>Apistogramma</i> sp. alto Rio Negro	X			X
LBP34164 <i>Apistogramma</i> sp. alto Rio Negro				X
LBP34191 <i>A. piaroa</i> Rio Negro	X			
LBP36202 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X	X	X	X
LBP36203 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá		X	X	
LBP36204 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X	X	X	
LBP36472 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X		X	
LBP36909 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X	X	X	
LBP36910 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X	X	X	
LBP36911 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X	X	X	
LBP38173 <i>A. piauiensis</i>	X	X		X
LBP43037 <i>A. caetei</i> Rio Guamá	X	X		X
LBP43748 <i>A. caetei</i> Rio Guamá	X	X		X
LBP43749 <i>A. caetei</i> Rio Guamá		X		X
LBP43750 <i>A. caetei</i> Rio Guamá		X		X

LBP44108 <i>Apistogramma</i> sp. <i>Araguaia</i>	X			
LBP44109 <i>Apistogramma</i> sp. <i>Araguaia</i>		X		X
LBP44219 <i>Apistogramma</i> sp. <i>Araguaia</i>		X		X
LBP44221 <i>Apistogramma</i> sp. <i>Araguaia</i>		X		X
LBP45097 <i>A. caetei</i> Rio Caeté		X		X
LBP45098 <i>A. caetei</i> Rio Caeté		X		X
LBP45099 <i>A. caetei</i> Rio Caeté	X	X		X
LBP45100 <i>A. caetei</i> Rio Caeté	X	X	X	X
LBP45268 <i>A. borelli</i> Rio Miranda	X	X	X	
LBP45269 <i>A. borelli</i> Rio Miranda	X	X	X	
LBP45270 <i>A. borelli</i> Rio Miranda	X	X	X	
LBP46672 <i>A. nororientalis</i> Rio Manapire	X			
LBP46673 <i>A. nororientalis</i> Rio Manapire	X	X		
LBP47570 <i>A. nororientalis</i> Rio Apure	X	X		
LBP47586 <i>A. nororientalis</i> Rio Orinoco	X	X		
LBP49219 <i>A. acrensis</i> Rio Acre	X			
LBP49219 <i>A. acrensis</i> Rio Acre	X	X		
LBP49220 <i>A. acrensis</i> Rio Acre	X	X	X	
LBP49474 <i>Apistogramma</i> sp. <i>Xipamanu</i> Rio Acre	X	X	X	
LBP49475 <i>Apistogramma</i> sp. <i>Xipamanu</i> Rio Acre	X	X	X	
LBP50220 <i>A. resticulosa</i> Rio Madeira		X		X
LBP50228 <i>A. resticulosa</i> Rio Madeira	X	X	X	
LBP50229 <i>A. agassizii</i> Rio Madeira	X	X	X	X
LBP50497 <i>A. trifasciata</i> Rio Mamoré	X	X	X	
LBP50498 <i>A. trifasciata</i> Rio Mamoré	X	X	X	
LBP50499 <i>A. trifasciata</i> Rio Mamoré	X	X	X	
LBP50634 <i>A. erythrura</i> Rio Mamoré	X	X		
LBP51930 <i>A. agassizii</i> Rio Purús	X		X	
LBP51931 <i>A. agassizii</i> Rio Purús	X		X	
LBP51932 <i>A. resticulosa</i> Rio Purús	X	X	X	
LBP51933 <i>A. resticulosa</i> Rio Purús	X	X	X	
LBP51937 <i>A. trifasciata</i> Rio Guaporé	X			
LBP51938 <i>A. trifasciata</i> Rio Guaporé	X		X	
LBP51939 <i>A. agassizii</i> Rio Madeira	X	X		
LBP51940 <i>A. agassizii</i> Rio Madeira	X			
LBP51941 <i>A. agassizii</i> Rio Madeira	X	X	X	
LBP51941 <i>A. agassizii</i> Rio Purús		X		
LBP51942 <i>A. agassizii</i> Rio Madeira	X	X	X	
LBP51943 <i>A. resticulosa</i> Rio Madeira	X	X	X	
LBP51944 <i>A. resticulosa</i> Rio Madeira	X	X	X	
LBP51945 <i>A. resticulosa</i> Rio Madeira			X	
LBP51950 <i>A. erythrura</i> Rio Mamoré		X	X	
LBP51951 <i>A. erythrura</i> Rio Mamoré	X		X	

LBP51952 <i>A. erythrura</i> Rio Mamoré		X	X	
LBP51955 <i>A. trifasciata</i> Rio Mamoré	X		X	
LBP51956 <i>A. trifasciata</i> Rio Mamoré	X		X	
LBP51957 <i>A. agassizii</i> Rio Madeira	X			
LBP51958 <i>A. agassizii</i> Rio Madeira	X			
LBP51959 <i>A. resticulosa</i> Rio Madeira			X	
LBP51960 <i>A. resticulosa</i> Rio Madeira	X	X	X	
LBP51964 <i>A. trifasciata</i> Rio Mamoré	X		X	
LBP51965 <i>A. trifasciata</i> Rio Mamoré			X	
LBP51966 <i>A. trifasciata</i> Rio Mamoré	X		X	
LBP51967 <i>A. trifasciata</i> Rio Mamoré			X	
LBP51972 <i>A.sp. Abunã</i> Rio Mamoré	X	X	X	
LBP51974 <i>A. trifasciata</i> Rio Miranda			X	
LBP51982 <i>A. aff. trifasciata</i> Rio Mamoré	X		X	
LBP51983 <i>A. aff. trifasciata</i> Rio Mamoré	X		X	
LBP51987 <i>Apistogramma sp. Candeias</i> Rio Madeira	X	X	X	
LBP51988 <i>Apistogramma sp. Candeias</i> Rio Madeira	X	X		
LBP51989 <i>A. borelli</i> Rio Uruguai				
LBP51990 <i>A. commbrae</i> Rio Uruguai	X		X	
LBP51991 <i>A. alacrina</i> Rio Meta	X	X	X	X
LBP51992 <i>A. alacrina</i> Rio Meta	X		X	
LBP51993 <i>A. alacrina</i> Rio Meta	X	X	X	
LBP51994 <i>A. rubrolineata</i>	X	X	X	X
LBP51995 <i>A. rubrolineata</i>	X	X	X	X
LBP51996 <i>A. panduro</i>	X	X	X	
LBP51997 <i>A. aff. iniridae</i>	X		X	
LBP51998 <i>A. pulchra</i>	X	X	X	
LBP51999 <i>A. urteagai</i>	X		X	
LBP52000 <i>A. cacatuoides</i>	X	X	X	
LBP52204 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X	X	X	
LBP52205 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X	X	X	
LBP52206 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X		X	
LBP52207 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X		X	
LBP52208 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá			X	
LBP52211 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X		X	
LBP52213 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X		X	
LBP52214 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá	X		X	
LBP52215 <i>A. borelli</i> Rio Cuiabá			X	
LBP52217 <i>A. commbrae</i> Rio Cuiabá	X		X	X
LBP52218 <i>A. commbrae</i> Rio Cuiabá	X	X	X	X
LBP52230 <i>A. commbrae</i> Rio Cuiabá		X	X	
LBP52231 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X		X	

LBP52232 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X		X	
LBP52233 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X		X	
LBP52234 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiabá	X		X	
LBP52235 <i>A. trifasciata</i> Rio Cuiaba	X		X	
LBP52254 <i>A. lineata</i> Rio Pelehojo	X			
LBP52255 <i>Apistogramma</i> sp. Vielfleck	X			
LBP53508 <i>Apistogramma</i> sp. Melgar Nanay		X		
LBP53509 <i>Apistogramma</i> sp. Melgar Nanay	X	X		
LBP53511 <i>A. luelingi</i>	X	X		
LBP53586 <i>Apistogrammoides pucallpaensis</i> Rio Itaya	X	X		
LBP53691 <i>A. agassizii</i> Rio Nanay	X	X	X	
LBP53691 <i>Apistogrammoides pucallpaensis</i> Rio Itaya			X	
LBP53714 <i>A. ortegai</i> Morado Rio Ampiyacu			X	
LBP53730 <i>A. bitaeniata</i> Rio Ampiyacu	X	X		
LBP53731 <i>A. bitaeniata</i> Rio Ampiyacu	X	X		X
LBP53732 <i>A. bitaeniata</i> Rio Ampiyacu		X		
LBP53735 <i>A. ortegai</i> Morado Rio Ampiyacu	X	X		
LBP53736 <i>A. ortegai</i> Morado Rio Ampiyacu	X	X		X
LBP53737 <i>A. ortegai</i> Morado Rio Ampiyacu		X		
LBP53738 <i>A. ortegai</i> Morado Rio Ampiyacu		X		
LBP53739 <i>A. ortegai</i> Morado Rio Ampiyacu		X		X
LBP53781 <i>A. ortegai</i> Papagey Rio Ampiyacu		X		
LBP53782 <i>A. ortegai</i> Papagey Rio Ampiyacu	X	X		
LBP53783 <i>A. ortegai</i> Papagey Rio Ampiyacu	X	X		
LBP53842 <i>A. eunotus</i>		X		
LBP53843 <i>A. eunotus</i>	X	X		
LBP53844 <i>A. eunotus</i>	X	X		
LBP53845 <i>A. eunotus</i>		X		
LBP53853 <i>A. ortegai</i> Purple		X		
LBP53854 <i>A. barlowi</i>	X	X		X
LBP53855 <i>A. barlowi</i>	X	X		X
LBP53856 <i>A. barlowi</i>		X		X
LBP53865 <i>A. agassizii</i> Peru	X	X		
LBP53876 <i>A. ortegai</i> Papagey Rio Ampiyacu		X		
LBP53894 <i>Apistogramma</i> sp. Melgar		X		
LBP53899 <i>A. panduro</i>	X	X		
LBP53900 <i>A. panduro</i>	X	X		
LBP53925 <i>A. pantalone</i>	X	X		X
LBP53926 <i>A. martini</i>	X	X		
LBP53927 <i>A. martini</i>		X		
LBP53930 <i>A. nijsseni</i>	X	X		
LBP53931 <i>A. nijsseni</i>	X	X		

LBP53933 <i>A. nijsseni</i>		X		
LBP53940 <i>A. agassizii blue Peru</i>	X	X		
LBP53941 <i>A. agassizii blue Peru</i>	X	X		
LBP53942 <i>A. agassizii blue Peru</i>	X	X		
LBP53943 <i>A. agassizii blue Peru</i>	X			X
LBP53962 <i>A. cacatuoides</i>	X	X		
LBP53963 <i>A. cacatuoides</i>	X	X		X
LBP53964 <i>A. cacatuoides</i>		X		X
LBP53978 <i>A. bitaeniata Peru</i>	X			X
LBP53979 <i>A. bitaeniata Peru</i>	X	X		
LBP53980 <i>A. agassizii Flamenco</i>	X	X		
LBP53981 <i>A. agassizii Flamenco</i>	X	X		
LBP53983 <i>A. bitaeniata shishita</i>	X	X	X	X
LBP53984 <i>A. bitaeniata shishita</i>	X	X	X	X
LBP53993 <i>A. cinilabra Rio Amazonas</i>	X	X		X
LBP53994 <i>A. cinilabra Rio Amazonas</i>	X	X		X
LBP53995 <i>A. cinilabra Rio Amazonas</i>		X		X
LBP54126 <i>Apistogramma sp. Abacaxis</i>	X			
LBP54224 <i>A. cinilabra Rio Amazonas</i>	X	X	X	X
LBP54225 <i>A. cinilabra Rio Amazonas</i>	X	X	X	X
LBP54226 <i>A. cinilabra Rio Amazonas</i>	X	X	X	X
LBP54244 <i>A. cacatuoides Rio Amazonas</i>	X	X		X
LBP54245 <i>A. cacatuoides Rio Amazonas</i>	X			
LBP54294 <i>A. paulmuelleri Rio Amazonas</i>	X		X	
LBP54295 <i>A. paulmuelleri Rio Amazonas</i>	X		X	
LBP54326 <i>A. cacatuoides Rio Amazonas</i>	X	X		X
LBP54327 <i>A. cacatuoides Rio Amazonas</i>	X	X		
LBP54328 <i>A. cacatuoides Rio Amazonas</i>		X		X
LBP57610 <i>A. atahualpa</i>	X	X		
LBP57611 <i>A. atahualpa</i>	X	X		
LBP57615 <i>A. huascar</i>	X			X
LBP57616 <i>A. huascar</i>	X	X		X
LBP57617 <i>A. huascar</i>		X		X
LBP57620 <i>A. norberti</i>	X			
LBP57621 <i>A. norberti</i>	X			
LBP57625 <i>A. allpahuayo</i>	X	X	X	
LBP57626 <i>A. allpahuayo</i>	X	X	X	
LBP57627 <i>A. allpahuayo</i>	X	X	X	
LBP57628 <i>A. allpahuayo</i>	X	X	X	
LBP57631 <i>A. eremnopyge</i>	X	X		
LBP57632 <i>A. eremnopyge</i>	X	X		
LBP57641 <i>A. baenschi</i>	X	X		
LBP57642 <i>A. baenschi</i>	X	X		

LBP57643 <i>A. baenschi</i>		X		
LBP57649 <i>Apistogrammoides pucallpaensis</i>		X		
LBP57650 <i>Apistogrammoides pucallpaensis</i>	X	X	X	
LBP57651 <i>A. cacatuoides</i>	X	X	X	
LBP57652 <i>Apistogrammoides pucallpaensis</i>	X			X
LBP57668 <i>A. bitaeniata</i> Peru	X	X		X
LBP57669 <i>A. bitaeniata</i> Peru	X	X		X
LBP57795 <i>A. agassizii</i> Peru	X	X		X
LBP59003 <i>A. pertensis</i> Rio Tapajós	X			X
LBP59202 <i>A. pertensis</i> Rio Tapajós				X
LBP59203 <i>A. pertensis</i> Rio Tapajós				X
LBP59207 <i>A. pertensis</i> Rio Tapajós	X	X		X
LBP59208 <i>A. pertensis</i> Rio Tapajós	X	X		X
LBP59468 <i>A. taeniata</i> Rio Tapajós	X	X		X
LBP59469 <i>A. taeniata</i> Rio Tapajós	X	X	X	X
LBP59470 <i>A. taeniata</i> Rio Tapajós	X	X	X	
LBP59471 <i>A. taeniata</i> Rio Tapajós	X	X	X	X
LBP59581 <i>A. pertensis</i> Rio Jamaxim	X	X		X
LBP61431 <i>A. uaupesi</i> Rio Uaupés	X	X	X	
LBP61432 <i>A. uaupesi</i> Rio Uaupés	X		X	
LBP61434 <i>A. mendezi</i> Rio Aiuana		X	X	X
LBP61435 <i>A. mendezi</i> Rio Aiuana	X	X	X	X
LBP61436 <i>A. mendezi</i> Rio Aiuana	X	X	X	X
LBP61439 <i>A. gephyra</i> Barcelos	X	X	X	
LBP61439 <i>A. gephyra</i> Barcelos	X	X	X	
LBP61442 <i>A. gephyra</i> Barcelos		X		
LBP61444 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X			
LBP61445 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X			
LBP61446 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X			
LBP61447 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X	X		
LBP61448 <i>A. aff. meinkenii</i> Barcelos	X	X		
LBP61449 <i>A. aff. meinkenii</i> Barcelos	X	X		
LBP61450 <i>A. meinkenii</i> Barcelos		X		
LBP61451 <i>A. aff. meinkenii</i> Barcelos	X			
LBP61479 <i>Apistogramma</i> sp. Laranja Rio Xingu	X	X	X	
LBP61741 <i>A. cacatuoides</i> Rio Ucayali	X	X	X	X
LBP61742 <i>A. cacatuoides</i> Rio Ucayali	X	X	X	X
LBP61743 <i>A. cacatuoides</i> Rio Ucayali	X	X	X	
LBP61744 <i>A. cacatuoides</i> Rio Ucayali	X	X	X	
LBP62187 <i>A. steindacheri</i> Rio Takutu		X		
LBP62192 <i>A. gibbiceps</i> Rio Takutu	X	X		X
LBP62193 <i>A. gibbiceps</i> Rio Takutu		X		X
LBP62308 <i>A. wapisana</i> Rio Branco	X	X		

LBP62309 <i>A. wapisana</i> Rio Branco	X	X		
LBP62310 <i>A. wapisana</i> Rio Branco	X	X		
AUM43537 <i>A. aff. rupununi</i> Rio Cassiquiari		X	X	
LBP62384 <i>A. rupununi</i> Rio Branco	X	X		X
LBP62385 <i>A. rupununi</i> Rio Branco		X		X
LBP63027 <i>A. steindachneri</i> Rio Takutu	X	X		
LBP63028 <i>A. steindachneri</i> Rio Takutu	X	X		
LBP63467 <i>A. rupununi</i> Rio Branco	X	X		X
LBP63468 <i>A. rupununi</i> Rio Branco		X		
LBP63503 <i>A. rupununi</i> Rio Branco		X	X	
LBP63600 <i>A. gibbiceps</i> Rio Branco	X	X		
LBP64075 <i>A. bitaeniata</i> Careiro	X	X	X	
LBP64076 <i>A. agassizii</i> Anori	X	X		X
LBP64077 <i>A. agassizii</i> Anori	X	X		
LBP64078 <i>A. agassizii</i> Anori	X	X		X
LBP64079 <i>A. agassizii</i> Anori	X			
LBP64080 <i>A. paucisquamis</i> Rio Negro	X	X	X	
LBP64081 <i>A. paucisquamis</i> Rio Negro	X	X		
LBP64083 <i>A. viejita</i>	X	X	X	
LBP64091 <i>A. commbrae</i> Rio Baia	X	X	X	X
LBP64092 <i>A. commbrae</i> Rio Baia	X	X	X	X
LBP64093 <i>A. commbrae</i> Rio Baia	X	X	X	X
LBP64914 <i>Apistogramma sp. alto</i> Rio Xingu MT	X	X	X	X
LBP65929 <i>Apistogramma sp. Tracejado</i> Rio Xingu	X	X	X	
LBP65930 <i>Apistogramma sp. Tracejado</i> Rio Xingu	X	X	X	
LBP65934 <i>Apistogramma sp. Bacaja</i> Rio Xingu	X	X	X	
LBP65935 <i>Apistogramma sp. Bacaja</i> Rio Xingu	X	X	X	
LBP65937 <i>Apistogramma sp. Laranja</i> Rio Xingu		X	X	
LBP65938 <i>Apistogramma sp. Laranja</i> Rio Xingu	X	X	X	
LBP65943 <i>Apistogramma sp. Laranja</i> Rio Xingu	X	X	X	X
LBP65944 <i>Apistogramma sp. Laranja</i> Rio Xingu	X	X		
LBP65945 <i>Apistogramma sp. Laranja</i> Rio Xingu	X	X	X	X
LBP65946 <i>Apistogramma sp. Laranja</i> Rio Xingu	X	X	X	X
LBP65952 <i>Apistogramma sp. BeloMonte</i> Rio Xingu	X	X	X	
LBP65953 <i>Apistogramma sp. BeloMonte</i> Rio Xingu	X	X	X	X
LBP65955 <i>Apistogramma sp. Assurini</i> Rio Xingu	X	X	X	
LBP65956 <i>Apistogramma sp. Vielfleck</i> Rio Xingu	X	X	X	X
LBP65959 <i>Apistogramma sp. Laranja</i> Rio Xingu	X	X	X	X
LBP65960 <i>Apistogramma sp. Laranja</i> Rio Xingu	X	X	X	X
LBP65961 <i>A. agassizii</i> Rio Capim		X		X
LBP65962 <i>A. agassizii</i> Rio Capim	X	X	X	X
LBP65963 <i>A. agassizii</i> Rio Capim	X	X	X	X

LBP65964 <i>A. agassizii</i> Rio Capim	X	X	X	
LBP65965 <i>A. agassizii</i> Rio Capim	X		X	
LBP65971 <i>A. agassizii</i> Rio Abaete	X	X	X	X
LBP65972 <i>A. agassizii</i> Rio Arapiranga	X	X	X	X
LBP65973 <i>A. agassizii</i> Rio Arapiranga	X	X	X	X
LBP65974 <i>A. agassizii</i> Rio Arapiranga	X	X	X	X
LBP65975 <i>A. agassizii</i> Rio Arapiranga	X	X	X	X
LBP65976 <i>A. agassizii</i> Rio Arapiranga	X		X	
LBP65977 <i>A. agassizii</i> Rio Igarape Miri	X	X		
LBP65978 <i>A. agassizii</i> Rio Igarape Miri		X		X
LBP65979 <i>A. agassizii</i> Rio Igarape Miri		X		
LBP65980 <i>A. agassizii</i> Rio Igarape Miri		X		X
LBP65981 <i>A. agassizii</i> Rio Igarape Miri	X	X	X	
LBP65982 <i>A. agassizii</i> Rio Marapanim	X	X	X	X
LBP65983 <i>A. agassizii</i> Rio Marapanim		X		
LBP65984 <i>A. agassizii</i> Rio Marapanim	X	X	X	X
LBP65997 <i>Apistogramma</i> sp. Assurini Rio Xingu	X	X	X	
LBP66504 <i>A. elizabethae</i> Rio Uaupés	X	X	X	
LBP66505 <i>A. elizabethae</i> Rio Uaupés	X	X	X	
LBP66506 <i>A. agassizii</i> Careiro	X	X	X	X
LBP66507 <i>A. agassizii</i> Careiro	X	X	X	X
LBP66508 <i>A. agassizii</i> Careiro	X	X	X	X
LBP66509 <i>A. agassizii</i> Careiro	X	X	X	X
LBP66510 <i>A. diplotaenia</i> Rio Negro	X	X	X	
LBP66513 <i>Apistogramma</i> sp. Tiquié		X		
LBP66514 <i>Apistogramma</i> sp. Tiquié		X		
LBP66515 <i>Apistogramma</i> sp. Miua	X	X	X	X
LBP66516 <i>A. bitaeniata</i> Careiro	X	X	X	X
LBP66517 <i>A. bitaeniata</i> Careiro	X	X	X	X
LBP66520 <i>A. elizabethae</i> Rio Içana	X	X	X	
LBP66521 <i>A. uaupesi</i> Rio Içana	X			X
LBP66522 <i>A. cacatuoides</i> Anori	X	X		X
LBP66523 <i>A. cacatuoides</i> Anori	X	X	X	X
LBP66524 <i>A. cacatuoides</i> Anori	X	X	X	X
LBP66525 <i>A. gephyra</i> Rio Demini		X		X
LBP66526 <i>A. gibbiceps</i> Rio Demini	X	X		
LBP66529 <i>A. agassizii</i> Rio Tapajos	X	X	X	X
LBP66530 <i>A. agassizii</i> Rio Tapajos	X	X	X	X
LBP66531 <i>A. agassizii</i> Rio Tapajos	X	X	X	X
LBP66532 <i>A. agassizii</i> Rio Tapajos	X	X	X	X
LBP66533 <i>A. agassizii</i> Rio Tapajos		X	X	
LBP66534 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X	X	X	
LBP66535 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X			

LBP66579 <i>A. erythrura</i>			X	
LBP66580 <i>Apistogramma sp. Marajó</i>	X	X	X	X
LBP66584 <i>A. diplotaenia Rio Negro</i>		X	X	
LBP66586 <i>A. agassizii Cametá</i>	X	X	X	X
LBP66587 <i>A. agassizii Cametá</i>	X	X	X	X
LBP66588 <i>A. staecki</i>	X		X	
LBP66589 <i>A. staecki</i>	X		X	
LBP66590 <i>A. staecki</i>			X	
LBP66595 <i>Apistogramma sp. Marabá Rio Tocantins</i>	X	X	X	
LBP66596 <i>Apistogramma sp. Marabá Rio Tocantins</i>	X	X	X	
LBP66597 <i>Apistogramma sp. Marabá Rio Tocantins</i>	X	X	X	
LBP66600 <i>A. uaupesi Rio Negro</i>	X		X	
LBP66602 <i>A. bitaeniata Careiro</i>		X		
LBP66603 <i>A. bitaeniata Careiro</i>	X	X	X	
LBP66604 <i>Apistogramma sp. Abacaxis</i>	X	X	X	X
LBP66605 <i>Apistogramma sp. Abacaxis</i>	X	X	X	X
LBP66606 <i>Apistogramma sp. Abacaxis</i>	X	X	X	
LBP66608 <i>A. elizabethae Rio Negro</i>	X	X	X	
LBP66609 <i>A. elizabethae Rio Negro</i>	X	X	X	
LBP66617 <i>A. agassizii Marajó</i>	X	X	X	
LBP66618 <i>A. agassizii Marajó</i>	X	X	X	
LBP66619 <i>A. agassizii Marajó</i>	X	X	X	
LBP66620 <i>A. agassizii Marajó</i>	X	X	X	
LBP66622 <i>Apistogramma sp. Vielfleck Rio Xingu</i>	X	X	X	
LBP66631 <i>A. cf. gephyra Rio Xingu</i>	X	X	X	
LBP66632 <i>A. cf. gephyra Rio Xingu</i>	X		X	
LBP66633 <i>Apistogramma sp. Marajó</i>	X	X	X	
LBP66634 <i>A. agassizii Igarape Mestra</i>	X	X	X	
LBP66635 <i>A. agassizii Igarape Mestra</i>	X	X	X	
LBP66637 <i>A. caetei Igarape Mestra</i>	X	X		
LBP66685 <i>Apistogramma sp. Xipamanu Rio Acre</i>		X	X	
LBP66984 <i>A. diplotaenia Rio Negro</i>	X			
LBP66985 <i>A. diplotaenia Rio Negro</i>	X			
LBP68886 <i>A. commbrae Rio Parana</i>		X		X
LBP68887 <i>A. commbrae Rio Parana</i>		X		X
LBP68888 <i>A. commbrae Rio Parana</i>		X		X
LBP68889 <i>A. commbrae Rio Parana</i>		X		X
LBP68890 <i>A. commbrae Rio Parana</i>				X
LBP68891 <i>A. commbrae Rio Parana</i>		X		X
LBP68892 <i>A. commbrae Rio Parana</i>		X		X
LBP68893 <i>A. commbrae Rio Parana</i>		X		X

LBP68894 <i>A. commbrae</i> Rio Parana			X		X
LBP68895 <i>A. commbrae</i> Rio Parana			X		X
LBP68896 <i>A. viejita</i>			X		
LBP68897 <i>A. viejita</i>			X		
LBP68947 <i>A. commbrae</i> Rio Paraguai			X		X
LBP68948 <i>A. commbrae</i> Rio Paraguai			X		X
LBP68949 <i>A. commbrae</i> Rio Paraguai			X		X
LBP68950 <i>A. commbrae</i> Rio Paraguai			X		X
LBP68951 <i>A. commbrae</i> Rio Paraguai			X		X
LBP68952 <i>A. commbrae</i> Rio Paraguai					X
LBP7003 <i>Apistogramma</i> sp. SaoGabriel Rio Negr			X		
LBP70185 <i>A. bitaeniata</i> Rio Tefé	X			X	
LBP70186 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X			X	
LBP70187 <i>A. bitaeniata</i> Rio Tefé	X	X	X	X	X
LBP70188 <i>A. bitaeniata</i> Rio Tefé	X	X	X	X	
LBP70189 <i>A. bitaeniata</i> Rio Tefé	X	X	X	X	X
LBP70190 <i>A. pertensis</i> Rio Tefé	X	X	X	X	
LBP70194 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X	X	X	X	X
LBP70195 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X			X	
LBP70196 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé			X	X	X
LBP70197 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X	X	X	X	X
LBP70198 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X	X	X	X	X
LBP70236 <i>A. eunotus</i> Rio Ucayali	X			X	
LBP70237 <i>A. eunotus</i> Rio Ucayali	X	X	X	X	X
LBP70592 <i>A. eunotus</i> Rio Ucayali	X	X	X	X	X
LBP72001 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X	X	X	X	X
LBP72002 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X	X	X	X	X
LBP72003 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X	X	X	X	X
LBP72004 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X	X	X	X	X
LBP72005 <i>A. agassizii</i> Rio Tefé	X			X	X
LBP72009 <i>A. agassizii</i> Alenquer	X	X	X	X	
LBP72010 <i>A. agassizii</i> Alenquer	X	X			X
LBP72011 <i>A. agassizii</i> Alenquer	X	X	X	X	X
LBP72012 <i>A. agassizii</i> Alenquer	X	X	X	X	X
LBP72015 <i>A. agassizii</i> Curuá			X	X	
LBP72016 <i>A. agassizii</i> Curuá			X	X	
LBP72108 <i>A. agassizii</i> Iranduba	X			X	X
LBP72109 <i>A. regani</i> Iranduba	X	X	X	X	X
LBP72110 <i>A. regani</i> Iranduba	X	X	X	X	X
LBP72111 <i>A. aff. meinkenii</i> Rio Aiuana	X	X	X	X	
LBP72112 <i>A. mendezii</i> Rio Aiuana	X	X	X	X	X
LBP72114 <i>A. gibbiceps</i> Rio Aiuana	X	X	X	X	X
LBP72115 <i>A. gibbiceps</i> Rio Aiuana	X	X	X	X	X

LBP72116 <i>A. hippolytae</i> Rio Cuieiras	X	X	X	X
LBP72117 <i>A. hippolytae</i> Rio Cuieiras	X	X	X	X
LBP72118 <i>A. hippolytae</i> Rio Cuieiras	X	X	X	X
LBP72119 <i>A. pertensis</i> Rio Negro Manaus	X	X	X	
LBP72120 <i>A. pertensis</i> Rio Negro Manaus	X	X	X	
LBP72121 <i>A. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X	X	X	X
LBP72122 <i>A. steindachneri</i> Rio Preto Eva		X	X	X
LBP72123 <i>A. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X	X	X	X
LBP72124 <i>A. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X	X	X	X
LBP72125 <i>A. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X	X	X	X
LBP72217 <i>A. commbrae</i> Rio Corrientes	X	X	X	X
LBP72218 <i>A. commbrae</i> Rio Corrientes	X	X	X	X
LBP72228 <i>A. iniridae</i>	X		X	
LBP72229 <i>A. iniridae</i>	X	X	X	
LBP72230 <i>A. macmasteri</i>	X	X	X	X
LBP72231 <i>A. macmasteri</i>	X	X	X	X
LBP72232 <i>A. macmasteri</i>	X	X	X	X
LBP72233 <i>A. steindachneri</i> Rio Urubu	X	X	X	X
LBP72234 <i>A. steindachneri</i> Rio Urubu	X	X	X	X
LBP72255 <i>Apistogramma</i> sp. Jamanxim	X	X	X	X
LBP72256 <i>Apistogramma</i> sp. Jamanxim	X	X	X	X
LBP72286 <i>A. steindachneri</i> Rio Urubu	X	X	X	X
LBP72287 <i>A. steindachneri</i> Rio Urubu	X	X	X	X
LBP72288 <i>A. steindachneri</i> Rio Urubu	X	X	X	X
LBP72289 <i>A. steindachneri</i> Rio Urubu	X	X	X	X
LBP72290 <i>A. steindachneri</i> Rio Urubu		X	X	X
LBP72293 <i>A. rupununi</i> Rio Uatumã	X	X	X	X
LBP72294 <i>A. rupununi</i> Rio Uatumã	X	X	X	X
LBP72295 <i>A. rupununi</i> Rio Uatumã	X	X	X	X
LBP72296 <i>A. rupununi</i> Rio Uatumã	X	X	X	X
LBP72367 <i>A. aff. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X		X	X
LBP72426 <i>A. aff. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X	X	X	X
LBP72427 <i>A. aff. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X	X		X
LBP72428 <i>A. aff. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X	X		X
LBP72429 <i>A. aff. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X	X	X	X
LBP72430 <i>A. aff. steindachneri</i> Rio Preto Eva	X	X	X	X
LBP72490 <i>A. geisleri</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72491 <i>A. regani</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72492 <i>A. geisleri</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72493 <i>A. geisleri</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72494 <i>A. geisleri</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72552 <i>A. gephyra</i> Rio Amazonas	X		X	
LBP72553 <i>A. geisleri</i> Rio Amazonas	X	X	X	X

LBP72554 <i>A. geisleri</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72555 <i>A. geisleri</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72556 <i>A. geisleri</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72557 <i>A. geisleri</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72658 <i>A. pertensis</i> Rio Urubu	X	X	X	
LBP72689 <i>A. gephyra</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72845 <i>A. gephyra</i> Rio Amazonas	X	X	X	
LBP72846 <i>A. gephyra</i> Rio Amazonas	X	X	X	
LBP72847 <i>A. gephyra</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72848 <i>A. gephyra</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72849 <i>A. gephyra</i> Rio Amazonas	X	X	X	X
LBP72850 <i>Apistogramma</i> sp. Erdfresser Manacapuru	X	X	X	X
LBP72927 <i>Apistogramma</i> sp. Erdfresser Manacapuru	X			
LBP72928 <i>Apistogramma</i> sp. Erdfresser Manacapuru	X	X		
LBP72929 <i>Apistogramma</i> sp. Erdfresser Manacapuru	X	X		
LBP72979 <i>A. pertensis</i> Manacapuru	X	X		
LBP72980 <i>A. pertensis</i> Manacapuru	X	X		
LBP72981 <i>Apistogramma</i> sp. Erdfresser Manacapuru	X	X		X
LBP72982 <i>Apistogramma</i> sp. Erdfresser Manacapuru	X	X	X	X
LBP72983 <i>Apistogramma</i> sp. Erdfresser Manacapuru	X	X	X	
LBP74096 <i>A. agassizii</i> Manacapuru	X	X		
LBP74097 <i>A. agassizii</i> Manacapuru	X	X		X
LBP74098 <i>A. agassizii</i> Manacapuru	X	X		X
LBP74099 <i>A. agassizii</i> Manacapuru	X	X		
LBP74100 <i>A. pertensis</i> Manacapuru	X	X		
LBP74167 <i>A. hippolytae</i> Manacapuru	X	X		
LBP74168 <i>A. hippolytae</i> Manacapuru	X	X		X
LBP74169 <i>A. hippolytae</i> Manacapuru		X	X	
LBP74170 <i>A. hippolytae</i> Manacapuru	X	X		X
LBP74171 <i>A. hippolytae</i> Manacapuru	X	X		X
LBP74172 <i>A. pertensis</i> Manacapuru	X	X		
LBP74173 <i>A. pertensis</i> Manacapuru	X	X		
LBP74174 <i>A. agassizii</i> Manacapuru	X	X		
LBP74175 <i>A. agassizii</i> Manacapuru	X	X		X
LBP74176 <i>A. agassizii</i> Manacapuru	X	X		X
LBP74177 <i>A. agassizii</i> Manacapuru	X	X		
LBP74178 <i>A. agassizii</i> Manacapuru	X	X		X
LBP74225 <i>A. mendezi</i> Anavilhanas	X			
LBP74632 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Grande			X	

LBP74633 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Grande		X	X	
MCP33858 <i>A. acrensis</i> Rio Purus	X			
MCP33859 <i>Apistogramma</i> sp. Xipamanu Rio Purus	X	X		
MCP33884 <i>A. acrensis</i> . Rio Acre		X	X	
MCP38609 <i>A. resticulosa</i> Rio Acre		X		
MCP43185 <i>Apistogramma</i> sp. Amapá Rio Muruanum	X	X	X	
MCP43193 <i>Apistogramma</i> sp. Amapá Rio Jari	X	X	X	
MCP46184 <i>A. pertensis</i> Rio Jauaperi Negro	X	X	X	
MHNG1724 <i>A. steindachneri</i> Rio Corantijn		X	X	
MHNG17248 <i>A. steindachneri</i> Rio Corantijn	X		X	
MHNG1725 <i>A. steindachneri</i> Rio Corantijn	X	X		
MHNG17253 <i>A. steindachneri</i> Rio Coesewijne	X	X	X	
MHNG17254 <i>A. steindachneri</i> Rio Coesewijne	X	X	X	
MHNG17255 <i>A. steindachneri</i> Rio Coesewijne	X	X	X	
MHNG17276 <i>A. cf. gossei</i> Rio Corantijn	X	X	X	
MHNG17277 <i>A. steindachneri</i> Rio Suriname	X	X	X	
MHNG17278 <i>A. steindachneri</i> Rio Suriname	X	X	X	
MHNG17279 <i>A. steindachneri</i> Rio Suriname	X	X	X	
MNHG17248 <i>A. steindachneri</i> Rio Corantijn	X			
MPEG24640 <i>A. arua</i> Rio Arua		X	X	
MZUSP6014 <i>Apistogramma</i> sp. Peixoto	X	X	X	X
MZUSP6022 <i>Apistogramma</i> sp. Peixoto	X	X	X	X
MZUSP7137 <i>A. kullanderi</i>	X	X		
MZUSP7318 <i>A. kullanderi</i>	X	X	X	
MZUSP7323 <i>A. kullanderi</i>	X	X	X	
NUP13463A <i>A. commbrae</i> Rio Paraná MS	X	X	X	
NUP13463B <i>A. commbrae</i> Rio Paraná MS	X	X	X	
NUP13463C <i>A. commbrae</i> Rio Paraná MS	X	X	X	
NUP13463D <i>A. commbrae</i> Rio Paraná MS	X	X	X	
ROM6321 <i>A. wapisana</i> Rio Rupununi	X		X	
ROM6322 <i>A. wapisana</i> Rio Rupununi			X	
ROM6530 <i>A. steindachneri</i> Rio Ireng	X		X	
ROM6632 <i>A. steindachneri</i> Rio Ireng			X	
ROM6919 <i>A. wapisana</i> Rio Rupununi	X		X	
ROM6920 <i>A. rupununi</i> Rio Rupununi		X		
ROM7021 <i>A. steindachneri</i> Rio Rupununi	X		X	
ROM8010 <i>A. aff. gossei</i> Rio Berbice	X		X	
ROM8015 <i>A. steindachneri</i> Rio Berbice	X	X	X	X
ROM8020 <i>A. steindachneri</i> Rio Berbice		X	X	X
ROM8022 <i>A. steindachneri</i> Rio Berbice	X		X	X
ROM94107 <i>A. steindachneri</i> Rio Mazaruni	X	X		
ROM9441 <i>A. steindachneri</i> Rio Mazaruni	X			

ROM9475 <i>A. ortmanni</i> Rio Mazaruni	X		X	
UFPA09C53 <i>A. caetei</i> Quatipuru			X	
UFPA09C57 <i>A. caetei</i> Rio Quatipuru	X	X	X	
UFPA09C84 <i>A. caetei</i> Rio Caete	X			
UFPA09C84 <i>A. caetei</i> Rio Guamá			X	
UFPA10A24 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Negro	X		X	
UFPA10A25 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Jauaru	X	X	X	
UFPA10A45 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru	X	X	X	
UFPA10A46 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru	X	X	X	
UFPA10A47 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru	X	X	X	
UFPA10A48 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru	X		X	
UFPA10A57 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru	X		X	
UFPA10A66 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru	X	X	X	
UFPA10D26 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Maicuru Emerald	X	X	X	
UFPA10D37 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Maicuru Emerald	X	X	X	
UFPA10G19 <i>Apistogramma</i> sp. Alenquer Emerald		X		X
UFPA10G20 <i>Apistogramma</i> sp. Alenquer Emerald		X		X
UFPA10G21 <i>Apistogramma</i> sp. Alenquer Emerald		X		X
UFPA10H19 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru		X		
UFPA10H20 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru		X		
UFPA10H21 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru		X		
UFPA10H71 <i>A. agassizii</i> Rio Jauaru		X		
UFPA10H88 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Jauaru	X			
UFPA10H88 <i>A. regani</i> Rio Jauaru		X		X
UFPA10H89 <i>A. regani</i> Rio Jauaru		X		X
UFPA11A09 <i>A. hippolytae</i> Rio Negro	X	X	X	
UFPA11A27 <i>A. aff. steindachneri</i> Rio Negro	X	X	X	
UFPA11A39 <i>A. hippolytae</i> Rio Negro	X		X	
UFPA11A66 <i>Apistogramma</i> sp. <i>aff. pulchra</i> Negro	X		X	
UFPA11A75 <i>A. hippolytae</i> Rio Negro	X	X	X	
UFPA11A97 <i>A. hippolytae</i> Rio Negro	X		X	
UFPA11AE54 <i>Apistogramma</i> sp. Marajó	X	X		X
UFPA11AE55 <i>Apistogramma</i> sp. Marajó		X		X
UFPA11AE56 <i>Apistogramma</i> sp. Marajó	X			
UFPA11AE58 <i>Apistogramma</i> sp. Marajó		X		X
UFPA11BC24 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Xingu	X		X	
UFPA11BC25 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Xingu	X		X	
UFPA11BC26 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Xingu	X		X	
UFPA11BC84 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Xingu	X	X	X	X
UFPA11D41 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Maicuru			X	
UFPA2370 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Xingu		X		X
UFPA2375 <i>Apistogramma</i> sp. Rio Xingu		X		X

<i>UFRGS1226 A. uaupesi Rio Negro</i>	X			
<i>UFRGS1420 A. gephyra Rio Negro</i>	X		X	
<i>UFRGS1436A A. aff. steindachneri Rio Negro</i>	X	X	X	X
<i>UFRGS1436B A. aff. steindachneri Rio Negro</i>	X	X	X	X
<i>UFRGS1437 Taeniacara candidi Rio Negro</i>	X		X	
<i>UNIR6617 A. agassizii Rio Madeira</i>		X	X	
<i>UNIR7059 A. agassizii Rio Madeira</i>		X	X	
<i>UNIR7061 A. agassizii Rio Madeira</i>		X		
<i>UNIR7081 A. agassizii Rio Madeira</i>	X			
<i>UNIR7084 A. staecki Rio Madeira</i>	X		X	
<i>UNIR7147 A. pulchra Rio Aripuanã</i>	X		X	
<i>UNIR8181 A. agassizii Rio Madeira</i>	X	X		X