

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 21/02/2019.

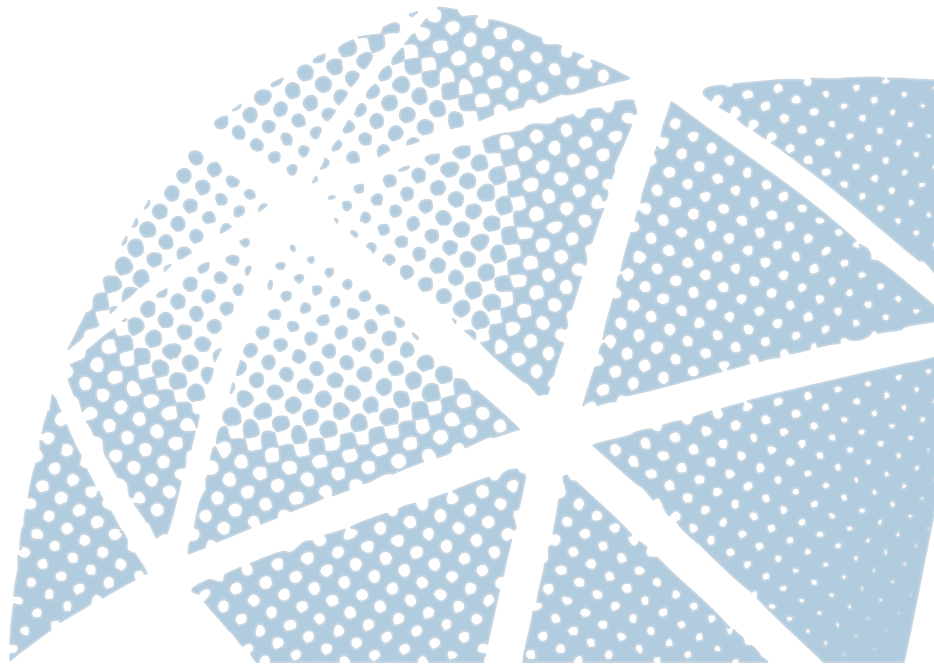
**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA)

**CAMILA DA SILVA DE SOUZA**

**Biodiversidade dos Loricariidae (Teleostei:  
Siluriformes) das bacias costeiras do Sudeste e Sul  
do Brasil**



**BOTUCATU**

**2017**

**Camila da Silva de Souza**

**Biodiversidade dos Loricariidae (Teleostei: Siluriformes)  
das bacias costeiras do Sudeste e Sul do Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) - Instituto de Biociências, UNESP, campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia).

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

**Botucatu-SP**

**2017**

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

Souza, Camila da Silva de.

Biodiversidade dos Loricariidae (Teleostei:  
Siluriformes) das bacias costeiras do Sudeste e Sul do  
Brasil / Camila da Silva de Souza. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de  
Botucatu

Orientador: Claudio de Oliveira

Coorientador: Guilherme José da Costa Silva

Capes: 20400004

1. Bagre (Peixe) - Distribuição geográfica. 2. Habitat  
(Ecologia). 3. Identificação. 4. Biodiversidade.

Palavras-chave: Drenagens costeiras; GMYC; Identificação  
molecular; Loricariidae.

*Ao meu velho eterno pescador, avô Pedro.*

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder a vida e permitir trilhar esse caminho.

Aos meu pais, Valdomiro e Silvana, por todo amor, educação e alicerce. Minha eterna gratidão.

A todos os meus familiares, em especial aos meus primos e amigos David, Diego e Talita, por todos os momentos de cumplicidade e motivação.

Aos meus velhos amigos de infância, Fabinho, Felipe, Kelvy, Josi, Jéssica e Juninho, por toda amizade e exemplo do que tudo que se constrói com amor e verdade, permanecem.

As minhas amigas que encontrei na graduação Aline, Carolina, Laura e Milene, por todos os incontáveis momentos e principalmente por toda ajuda e motivação ao longo da vida acadêmica e pessoal, isso foi essencial para não desistir e chegar até aqui.

A todos do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, em especial Bruno, Cristiane, Daniela, Fabio, Yuldi, Gabriel, Luz, Silvana e Renato, por todos os momentos de descontração, incentivo e ajuda na execução desse trabalho.

Ao Dr. Guilherme J. Costa Silva, pela coorientação e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Fausto Foresti pelo exemplo e inspiração de pesquisador e pessoa.

Ao Prof. Dr. Claudio Oliveira por toda oportunidade, incentivo, orientação e contribuição para minha formação acadêmica e pessoal.

À comissão examinadora, por terem aceito o convite e poder colaborar para o enriquecimento desse trabalho e meu crescimento profissional.

A todos os funcionários do Instituto de Biociências que através dos seus trabalhos contribuem para que esse e muitos outros aconteçam.

E a todas as outras pessoas com as quais eu tive a oportunidade de viver e aprender tudo o que me trouxe até aqui.

O meu muito obrigada!

## **O rio e o oceano**

*“Diz-se que, mesmo antes de um rio cair no oceano, ele treme de medo.*

*Olha para trás, para toda a jornada, os cumes, as montanhas, o longo caminho sinuoso através das florestas, através dos povoados, e vê à sua frente um oceano tão vasto que entrar nele nada mais é do que desaparecer para sempre.*

*Mas, não há outra maneira.*

*O rio não pode voltar.*

*Ninguém pode voltar.*

*Voltar é impossível na existência.*

*Você pode apenas ir em frente.*

*O rio precisa se arriscar e entrar no oceano.*

*E somente quando ele entra no oceano é que o medo desaparece, porque apenas então o rio saberá que não se trata de desaparecer no oceano.*

*Mas tornar-se oceano.*

*Por um lado é desaparecimento e por outro lado é renascimento.*

*Assim somos nós.*

*Voltar é impossível na existência.*

*Só podemos ir em frente e arriscar.*

*Coragem! Avance firme e torne-se oceano! ”*

**OSHO**

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b>	10
1.1 Bacia do Leste	10
1.2 Família Loricariidae	13
<b>2. Objetivos</b>	14
<b>3. Metodologia</b>	14
3.1 Material	14
3.2 Métodos	15
<b>4. Resultados</b>	17
<b>5. Discussão</b>	32
<b>6. Conclusão</b>	37
<b>7. Referências</b>	38
<b>8. Apêndice A.</b>	45
<b>9. Apêndice B.</b>	55
<b>10. Anexo A: Genetic and morphological analyses implying that <i>Schizolecis guntheri</i> (Siluriformes: Loricariidae) constitutes a cryptic species</b>	56



## Resumo

SOUZA, C.S. **Biodiversidade dos Loricariidae (Teleostei: Siluriformes) das bacias costeiras do Sudeste e Sul do Brasil**. 2017. 74 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

Os rios costeiros da região Sul e Sudeste do Brasil fazem parte do complexo hidrográfico da bacia do Leste, que abriga diferentes drenagens isoladas atualmente, entre as quais destacam-se, na região Sul e Sudeste as do Paraíba do Sul, Ribeira de Iguape, Itajaí e Jacuí. A grande área de distribuição e variedade de habitats ao longo dessas drenagens têm influência direta na diversidade de espécies e no seu alto nível de endemismo. No entanto, essa região vem sofrendo intensa exploração e perda de habitats por ações antrópicas. Trabalhos de zoneamento dessa região vêm sendo realizados com o intuito de fornecer melhores dados para a sua preservação. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo identificar unidades taxonômicas operacionais (OTUs) da família Loricariidae e delimitar ecorregiões através de seus padrões de distribuição. Foram analisadas 499 sequências parciais do gene mitocondrial Citocromo c Oxidase subunidade I (COI), representantes de 47 espécies de Loricariidae e encontradas 58 OTUs distribuídas ao longo de 31 drenagens da região costeira Sul e Sudeste do Brasil, revelando uma diversidade genética antes não reconhecida para alguns grupos. As 31 drenagens, com base na Análise de Parcimônia de Endemismo (PAE), foram divididas em cinco grupos, caracterizando áreas propícias à delimitação de ecorregiões. As drenagens Jacuí, Ribeira de Iguape e Paraíba do Sul, apresentaram faunas bastante exclusivas em relação a padrões morfológicos e genéticos, sendo imprescindíveis para preservação. Os eventos de capturas de cabeceiras e paleoclimáticos que levaram à regressões e transgressões marinhas são em grande parte responsáveis pela distribuição da família Loricariidae ao longo das drenagens.

Palavras-chave: DNA *barcoding*, identificação molecular, GMYC.

## **Abstract**

**SOUZA, C.S. Biodiversity of Loricariidae (Teleostei: Siluriformes) from coastal basins of Southeastern and Southern Brazil.** 2017. 74 f. Thesis (Master) – Institute of Biosciences of Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

The coastal drainages of Southern and Southeastern Brazil are part of the Eastern basin, currently composed by different drainages. The large distribution area and variety of habitats along these drainages have a direct influence on the species diversity and their high level of endemism. However, this region has been suffered intense exploration and loss of habitat due to anthropic actions. The present study aimed to identify Operational Taxonomic Units (OTUs) of the Loricariidae and to delimit ecoregions through their distribution patterns. A total of 499 partial sequences of the mitochondrial COI gene were analyzed, belonging to 47 Loricariidae species. 58 OTUs were delimited along 31 drainages of Southeastern and Southern coastal revealing a previously unrecognized genetic diversity for some groups. The 31 drainages based on Parsimony Analysis of Endemicity (PAE), were divided in five groups, characterizing areas that are favorable to the delimitation of ecoregions. The Jacuí, Ribeira de Iguape and Paraíba do Sul rivers presented fairly exclusive faunas in relation to morphological and genetic patterns, being essential for preservation. The stream capture and paleoclimatic events are largely responsible for the distribution of the Loricariidae along the drainages.

Keywords: DNA barcoding, molecular identification, GMYC.

## **Introdução**

### **1.1. A bacia do Leste**

A bacia do Leste abriga diferentes drenagens isoladas atualmente, entre as quais destacam-se Paraguaçu, Contas, Jequitinhonha, Doce, Paraíba do Sul, Ribeira de Iguape, Itajaí e Jacuí, além de diversas pequenas drenagens distribuídas por toda a extensão costeira do Brasil (Ribeiro 2006). O seu surgimento e distribuição, segundo Ribeiro (2006), está relacionado a processos geomorfológicos que tiveram início no Cretáceo e que prevalecem até os dias atuais. Um dos processos geomorfológicos importantes é conhecido como ressurgimento tectônico, que provoca modificações topográficas da região promovendo eventos de capturas de cabeceiras e a modificação do percurso de uma drenagem (Lima & Ribeiro 2011).

Esse evento já foi documentado em algumas regiões de cabeceiras da bacia do Leste onde a altitude é mais elevada (Ribeiro 2006). Por outro lado, em regiões de planícies é comum ocorrer eventos conhecidos como “megaleques aluviais” (Horton e De Celles 2001; Wilkinson et al. 2006), onde o rio se desloca lateralmente a medida que ocorre o acúmulo de sedimentos no leito (Albert & Reis 2011), o que acaba também promovendo a conexão entre drenagens adjacentes nessas regiões de planície.

Assim como processos geomorfológicos estão relacionados a bacia do Leste, processos paleoclimáticos, que influenciam as oscilações do nível do mar, são também apontados como fundamentais para o cenário atual dessa bacia (Buckup 2011). Weitzman et al. (1988) argumentam que em períodos de glaciação, o nível do mar baixa em muitos metros, e com isso grande parte da plataforma continental fica exposta, fazendo com que os rios costeiros se fundem em suas trajetórias para o mar. Por outro lado, em períodos interglaciais com a elevação do nível do mar, há consequente submersão de grande parte da planície litorânea.

A grande área de distribuição e variedade de habitats ao longo da bacia do Leste têm influência direta na diversidade de espécies e no alto nível de endemismo, incluindo mais de 270 espécies de peixes descritas (Menezes et al. 2007), das quais mais de 90% são endêmicas (Bizerril 1994; Menezes et al. 2007). Esse alto endemismo tem sido reconhecido por diversos autores (Bizerril 1994; Ribeiro 2006; Menezes et al. 2007; Abell et al. 2008) e fornecido base

para o reconhecimento de diferentes delimitações de ecorregiões ao longo da extensão costeira do Brasil.

Bizerril (1994) delimitou duas subprovíncias, uma denominada “subprovíncia da costa sudeste” (estendendo desde a foz do Paraíba do Sul até o Estado de Santa Catarina) e outra de “subprovíncia da costa leste” (estendendo da foz do rio São Francisco até o rio Paraíba do Sul), com base na presença ou ausência de certos gêneros de peixes. Costa (1995) utilizou uma estratégia diferente ao comparar hipóteses filogenéticas de diferentes gêneros da família Rivulidae, propondo a subdivisão da região costeira de modo semelhante à de Bizerril (1994), com a adição de uma terceira subprovíncia que engloba as drenagens litorâneas do Uruguai e Rio Grande do Sul até a divisa com Santa Catarina, próximo à foz do rio Tramandaí. Além disso, ao realizar essa análise comparativa, Costa (1995) teve a oportunidade de estimar o relacionamento entre a própria malha hidrográfica da região, contando assim não somente a história dos grupos de peixes estudados, como também parte do histórico de relacionamento entre as drenagens que compõem a bacia do Leste.

Mais recentemente, Abell et al. (2008), baseando-se nos padrões de endemismo de peixes de água doce, realizaram um trabalho mais abrangente e detalhado que culminou em uma subdivisão da bacia do Leste em sete ecorregiões: Nordeste da Mata Atlântica, Paraíba do Sul, Fluminense, Ribeira de Iguape, Sudeste da Mata Atlântica, Tramandai-Mampituba e Lagoa dos Patos. Thomaz et al. (2015), usando informações batimétricas e topográficas, inferiu 12 paleodrenagens ao longo da região costeira desde o estado do Rio Grande do Sul ao Rio de Janeiro e propôs o uso das paleodrenagens para delimitação de ecorregiões, que demonstraram ser responsáveis pelo padrão genético entre as populações de *Hollandichthys multifasciatus*.

No entanto vale ressaltar que Abell et al. (2008), Costa (1995) e Bizerril (1994) basearam a delimitação das ecorregiões na distribuição de grupos taxonômicos supra-específicos, podendo assim, ter subestimado grande parte da diversidade biológica presente na região. Thomaz et al. (2015) usaram apenas uma espécie no seu estudo sendo necessária a inclusão de outros grupos taxonômicos para verificação de correspondência do padrão sugerido.

Avise (2000) menciona que, para a identificação refinada de ecorregiões, ideais para a preservação da ictiofauna, seria necessária a realização do zoneamento com base na identificação de unidades evolutivas independentes (UEI) ou unidades taxonômicas operacionais (OTUs), que muitas vezes podem não ser distinguíveis morfológicamente e que podem ser consideradas como espécies crípticas (Bickford et al. 2007).

Organismos como insetos, anfíbios e peixes que se comunicam por sinais através de meios não visuais (por exemplo, som, vibração, feromônios ou sinais elétricos), são talvez os mais prováveis de abrigar espécies crípticas (i.e. duas ou mais espécies identificadas como única espécie nominal devido as suas características morfológicas serem indistinguíveis [(Mayr 1942)], porque as mudanças nos sinais transmitidos nessas modalidades não precisam envolver necessariamente alterações morfológicas visíveis (Bickford et al. 2007). Portanto, é provável que o verdadeiro número de espécies biológicas seja significativamente maior do que a contagem atual, visto que as definições das espécies são estabelecidas quase que exclusivamente por argumentos morfológicos (Lee et al. 2014). Desse modo, a identificação das UEI é de grande importância para a preservação da biodiversidade, visto que esse tipo de abordagem leva em consideração o quanto um grupo é significativo do ponto de vista evolutivo e biológico, independentemente de sua categoria taxonômica e de suas modificações morfológicas (Avice 2000).

Atualmente estão sendo desenvolvidos diferentes métodos de identificação de UEI e dentre eles, os que envolvem análises de identificação molecular como o projeto global do DNA *barcode* (Hebert et al. 2003). Esse projeto visa padronizar a identificação molecular da diversidade biológica animal, através do uso de um fragmento de ~650pb do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase subunidade I (COI), possibilitando a difusão do conhecimento e permitindo análises comparativas entre os diferentes grupos de organismos.

Estudos usando a metodologia DNA *barcode* foram conduzidos em diferentes bacias brasileiras, tal como bacia do rio São Francisco (Carvalho et al. 2011), rio Paraíba do Sul (Pereira et al. 2011), rio Paraná (Pereira et al. 2013), rio Ribeira de Iguape (Henriques et al. 2015), rio Mucuri (Gomes et al. 2015), revelando uma diversidade antes não reconhecida e se mostrando resolutiva para questões taxonômicas para essas bacias e em estudos de diferentes grupos de peixes neotropicais, Characidae (Pereira et al. 2011), Lebiasinidae (Benzaquem et al. 2015), Loricariidae (Costa-Silva et al. 2015), Serrasalminidae (Mateussi et al. 2016) e Curimatidae (Melo et al. 2016).

Com o ganho de popularidade da técnica do DNA *barcode*, têm sido desenvolvidas várias análises de identificação de UEI utilizando-se de um único *locus*, visando a diminuição da subjetividade da delimitação de UEI. Dentre essas análises destaca-se a de *General Mixed Yule Coalescent Model* (GMYC) (Fontaneto et al. 2007; Pons et al. 2006), que é baseada no método de verossimilhança e árvores ultramétricas que possuam múltiplas espécies e populações. Essa análise tem demonstrado grande eficiência em diferentes estudos de peixes neotropicais de água

doce e aumentado a confiabilidade na delimitação de UEI (Roxo et al. 2015; Rossini et al. 2016; Shimabukuro-Dias et al. 2016).

## 1.2. Família Loricariidae

Loricariidae, com 936 espécies válidas (Eschmeyer e Fong, 2017) é a maior família em número de espécies entre os Siluriformes e também uma das maiores famílias da ictiofauna mundial (Nelson 2006). Ela é dividida em seis subfamílias: Delturinae, Lithogeneinae, Loricariinae, Hypoptopomatinae, Hypostominae e Rhinelepineae mais *Pseudancistrus genisetiger* em *incertae sedis* (Lujan et al. 2015). Diferentemente da maioria das outras famílias, as espécies de Loricariidae apresentam o corpo coberto por placas ósseas e a boca modificada em um disco de sucção (Armbruster 2004), sendo que essas especializações possibilitam que algumas das espécies da família possuam grandes distribuições, muito embora ocupando preferencialmente um ambiente particular (Menezes et al. 2007; Chiachio et al. 2008).

Dentre as 85 espécies da família Loricariidae que ocupam a bacia do Leste, 53 são de distribuição restrita e 32 de ampla dispersão (Menezes et al. 2007). A grande maioria das espécies são de riachos de água clara e lótica, com substrato rochoso ou com vegetação submersa. Nesse tipo de ambiente os Loricariidae, como por exemplo as espécies dos gêneros *Neoplecostomus* e *Harttia*, possuem o hábito de ficar aderidos a esses substratos (Oyakawa 1993; Roxo et al. 2012). Por outro lado, existem espécies que são encontradas em rios com fundo de lama ou arenoso (como as espécies do gênero *Loricariichthys*), e nesses casos o aparato bucal é mais utilizado para o forrageio à procura de alimentos do que propriamente para a fixação ao substrato (Covain & Fisch-Muller 2007).

Apesar desses dados ecológicos, cabe ressaltar que para cerca de 25% das espécies de Loricariidae da bacia do Leste não existem informações quanto à sua ecologia e cerca de 40% de suas espécies tem o status de conservação desconhecido (Menezes et al. 2007). Algumas espécies como, *Hemiancistrus megalopteryx*, *Hemipsilichthys gobio*, *Pogonopoma parnahybae* encontram-se seriamente em perigo de extinção e *Delturus parnahybae* e *Otothyris juquiae* criticamente em perigo (ICMBIO, 2014). Somado a isso, levando-se em conta que a caracterização do status de conservação das espécies foi baseada principalmente na distribuição geográfica de morfoespécies, que não apresenta o refinamento ideal para programas de preservação (Awise 2000), o nível de ameaça das espécies da família Loricariidae e de toda

fauna aquática da bacia do Leste e principalmente nas regiões costeiras Sul e Sudeste, pode ser muito mais grave, uma vez que essas regiões são as mais urbanizadas e exploradas do país.

Nesse sentido, como a família Loricariidae possui um grande número de espécies na região da bacia do Leste e sendo essas diversas quanto à preferência de habitats e às suas distribuições, um estudo da distribuição das UEI dessa família pode fornecer argumentos para a delimitação de ecorregiões baseadas nas distribuições de padrões genéticos, o que pode ser de grande valia para um melhor manejo das espécies, com a identificação de regiões com elevado número de padrões genéticos exclusivos e conseqüentemente prioritárias para preservação.

## **2. Objetivo**

O presente trabalho teve como objetivo identificar unidades taxonômicas operacionais (OTUs) da família Loricariidae, delimitar o relacionamento recente entre as drenagens costeiras da região Sudeste e Sul, assim como estabelecer uma nova proposição de ecorregiões desse complexo hidrográfico, utilizando as espécies da família Loricariidae ocupantes dessas drenagens como modelo.

## **3. Metodologia**

### **3.1 Material**

Foram analisados 499 exemplares representantes de 14 gêneros e 47 espécies de Loricariidae ao longo de 31 drenagens costeiras da região Sul e Sudeste do Brasil (Apêndice A) (Figura 1). Os vouchers e tecidos foram obtidos a partir de exemplares depositados na coleção de peixes do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes (LBP), São Paulo, Brasil. Os exemplares foram identificados a nível de espécie, seguindo chaves taxonômicas ou com a ajuda de especialistas.

## 6. Conclusão

Podemos delimitar cinco ecorregiões para a região Sul e Sudeste, baseado em padrões de distribuição de linhagens de Loricariidae. E conseqüentemente, vimos que os limites dessas ecorregiões podem estar intimamente relacionadas aos limites das drenagens que, ao longo do tempo, passaram por constantes rearranjos em sua malha hidrográfica. Nesse sentido, o presente trabalho reforça ser de relevância a utilização das linhagens evolutivas para a delimitação de ecorregiões, sendo essas elementos prioritários para projetos de manejo e preservação biológica. Linhagens genéticas de *Ancistrus multispinis*, *Loricariichthys castaneus*, *Schizolecis guntheri* e *Hisonotus leucofrenatus*, que se mostraram bem estruturadas e exclusivas das drenagens do Jacuí, Ribeira de Iguape e Paraíba do Sul, merecem estratégias de manejo particulares nessas drenagens.



## 7. Referências

- Abell, R., Thieme, M.L., Revenga, C., Bryer, M., Kottelat, M., Bogutskaya, N. et al. (2008). Freshwater Ecoregions of the World: A New Map of Biogeographic Units for Freshwater Biodiversity Conservation. *BioScience* 58, 403.
- Albert, J.S. & Reis, R.E. (2011). Historical biogeography of Neotropical Freshwater Fishes. Univ. of California Press, Berkeley, Los Angeles.
- Avise, J.C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge.
- Armbruster J.W. (2004). Phylogenetic relationships of the suckermouth armoured catfishes (Loricariidae) with emphasis on the Hypostominae and the Ancistrinae. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 141, 1–80.
- Benzaquem, D.C., Oliveira, C., da Silva Batista, J., Zuanon, J., & Porto, J. I. R. (2015). DNA Barcoding in pencilfishes (Lebiasinidae: Nannostomus) reveals cryptic diversity across the Brazilian Amazon. *PLoS ONE*, 10(2), e0112217.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K.L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K. & Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 148–155.
- Bizerril, C. (1994). Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água doce do leste brasileiro. *Acta Biologica Leopoldensia* 16, 51–80.
- Buckup, P.A., Menezes, N.A., Ghazzi, M.S. (2007). Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. Rio de Janeiro, Museu Nacional, 195.
- Buckup, P. A. (2011). The Eastern Brazilian Shield. *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes*, 203–210.
- Brasil. Portaria nº 445/2014, de 18 de dezembro 2014. Peixes e Invertebrados Aquáticos Ameaçados. Disponível em: <http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=126&data=18/12/2014>> Acesso em: 20 dez. 2016.
- Carvalho, D. C., Oliveira, D., Pompeu, P. S., Leal, C. G., Oliveira, C. & Hanner, R. (2011). Deep barcode divergence in Brazilian freshwater fishes: the case of the São Francisco

River basin. *Mitochondrial DNA*, 22, 80-86.

- Chiachio, M.C., Oliveira, C. & Montoya-Burgos, J.I. (2008). Molecular systematic and historical biogeography of the armored Neotropical catfishes Hypoptopomatinae and Neoplecostominae (Siluriformes: Loricariidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49, 606–617.
- Costa, W. (1995). *Pearl killifishes – the Cynolebiatinae: system-atics and biogeography of the neotropical annual fish subfamily*. T. F H. Publications., Neptune City.
- Costa-Silva, G.J., Rodriguez, M.S., Roxo, F.F., Foresti, F. & Oliveira, C. (2015). Using different methods to access the difficult task of delimiting species in a complex neotropical hyperdiverse group. *PLoS ONE* 10, 1–12.
- Covain, R., & Fisch-Muller, S. (2007). The genera of the Neotropical armored catfish subfamily Loricariinae (Siluriformes: Loricariidae): a practical key and synopsis. *Zootaxa*, 1462, 1-40.
- Covain, R., Fisch-Muller, S., Oliveira, C., Mol, J. H., Montoya-Burgos, J. I., & Dray, S. (2016). Molecular phylogeny of the highly diversified catfish subfamily Loricariinae (Siluriformes, Loricariidae) reveals incongruences with morphological classification. *Molecular phylogenetics and evolution*, 94, 492-517.
- Drummond, A.J. & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC evolutionary biology* 7, 214.
- Edgar, R.C., Drive, R.M. & Valley, M. (2004). MUSCLE : multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. 32, 1792–1797.
- Eschmeyer, W.N. & Fong, J.D. (2017). Species by Family/Subfamily. Available via <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily>.
- Fontaneto, D., Herniou, E.A., Boschetti, C., Caprioli, M., Melone, G., Ricci, C. & Barraclough, T.G. (2007). Independently Evolving Species in Asexual Bdelloid Rotifers M. A. F. Noor (Ed). *PLoS Biology* 5, e87.
- Goloboff, P.A, Farris, J.S. & Nixon, K.C. (2008). TNT, a free programm for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24(5), 774–786.
- Gomes, L.C., Pessali, T.C., Sales, N.G., Pompeu, P.S., & Carvalho, D. C. (2015). Integrative

taxonomy detects cryptic and overlooked fish species in a neotropical river basin. *Genetica*, 143(5), 581-588.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & DeWaard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270, 313–321.

Henriques, J.M., José, G. & Ashikaga, F.Y. (2015). Use of DNA barcode in the identification of fish species from Ribeira de Iguape Basin and coastal rivers from São Paulo State ( Brazil ). *DNA Barcodes* 3, 118–128.

Hirschmann, A., Malabarba, L.R., Thomaz, A.T. & Fagundes, N.J.R. (2015). Riverine habitat specificity constrains dispersion in a Neotropical fish (Characidae) along Southern Brazilian drainages. *Zoologica Scripta* 44(4), 374–382.

Horton, B.K. & PG DeCelles (2001). Modern and ancient fluvial megafans in the foreland basin system of the central Andes, southern Bolivia: Implications for drainage network evolution in fold-thrust belts. *Basin Research* 13, 43–63.

Hubert N., Hanner R., Holm E., Mandrak N.E., Taylor E., Burrige M. et al. (2008). Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *Plos One* 3:e2490.

Ingenito, L.F.S., Ghazzi, M.S., Duboc, L.F. & Abilhoa, V. (2008). Two new species of Rineloricaria ( Siluriformes : Loricariidae ) from the rio Iguaçú basin, southern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 6(3), 355–366.

Ivanova, N. V., Zelmak, T.S., Hanner, R.H. & Hebert, P.D.N. (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes* 7, 544–548.

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S. et al. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.

Kekkonen, M. & Hebert, P.D.N (2014). DNA barcode-based delineation of putative species: efficient start for taxonomic workflows. *Molecular ecology resources* 14(4), 706–15.

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.

- Lee, M.Y., Munroe, T.A. & Shao, K.-T. (2014). Description of a new cryptic, shallow-water tonguefish (Pleuronectiformes: Cynoglossidae: Symphurus ) from the western North Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology* 85, 563–585.
- Lujan, N.K., Armbruster J.W., Lovejoy N., López-Fernández H. (2015). Multilocus molecular phylogeny of the suckermouth armored catfishes (Siluriformes: Loricariidae) with a focus on subfamily Hypostominae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62, 269–288.
- Malabarba, L. R. & E. A. Isaia (1992). The fresh water fish fauna of the rio Tramandaí drainage, Rio Grande do Sul, Brazil, with a discussion of its historical origin. *Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS*, 5: 197-223.
- Mayr, E. (1942). *Systematics and the Origin of Species, from the Viewpoint of a Zoologist*. New York, NY: Harvard University Press.
- Mateussi, N. T., Pavanelli, C. S., & Oliveira, C. (2016). Molecular identification of cryptic diversity in species of cis-Andean Mylossoma (Characiformes: Serrasalminidae). *Mitochondrial DNA Part A*, 1-3.
- Melo, B. F., Benine, R. C., Mariguela, T. C., Oliveira, C. (2011) A new species of *Tetragonopterus* Cuvier, 1816 (Characiformes: Characidae: Tetragonopterinae) from the rio Jari, Amapá, northern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 9: 49 –56.
- Melo, B. F., Vari, R. P., & Oliveira, C. (2016). *Curimatopsis maculosa*, a new species from the Rio Tapajós, Amazon basin, Brazil (Teleostei: Curimatidae). *Ichthyological exploration of freshwaters*, 27(4), 303-308.
- Menezes, N.A., Weitzman S.H., Oyakawa O.T., Lima F.C.T., Castro R.M.C. & Weitzman M.J. (2007). Peixes de água doce da Mata Atlântica: lista preliminar de espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce neotropicais. São Paulo, Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 408p.
- Menezes, N.A., Ribeiro, A.C., Weitzman, S. & Torres, R.A. (2008). Biogeography of Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae) revisited: phylogenetic patterns, historical geology and genetic connectivity. *Zootaxa*, 1726: 33-48.
- Mikko, P., Heli, S., Marko, M. & Tomas, R. (2016). Molecular evolution of a widely-adopted

taxonomic marker (COI) across the animal tree of life. *Scientific Reports* 6, 35275.

- Montoya-Burgos, J.I. (2003). Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna. *Molecular Ecology*, 12(7), 1855-1867.
- Nelson JS. (2006). *Fishes of the world*. 4th ed., John Wiley e Sons, Inc.
- Nixon, K.C. (2002). WinClada (computer program for entering and analyzing cladistic data). Published by the author [Available at <http://www.cladistics.com>], Ithaca, NY.
- Oyakawa, O.T. (1993). Cinco espécies novas de *Harttia* Steindachner, 1876 da região sudeste do Brasil, e comentários sobre o gênero (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Série Zoologia*, 6, 3-28.
- Oyakawa, O.T., Akama, A., Mautari, K.C. & Nolasco, J.C. (2006). Peixes de riachos da mata atlântica nas Unidades de Conservação do Vale do Rio Ribeira de Iguape no Estado de São Paulo: Editora Neotrópica Ltda, 201 p.
- Ornelas-García, C. P., Domínguez-Domínguez, O., & Doadrio, I. (2008). Evolutionary history of the fish genus *Astyanax* Baird & Girard (1854)(Actinopterygii, Characidae) in Mesoamerica reveals multiple morphological homoplasies. *BMC evolutionary biology*, 8(1), 1.
- Pereira, L.H.G., 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, 87-96.
- Pereira, L.H.G., Hanner, R., Foresti, F. & Oliveira, C. (2013). Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? *BMC Genetics*, 14, 20.
- Pons, J., Barraclough, T.G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D.P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W.D. & Vogler, A.P. (2006). Sequence-Based Species Delimitation for the DNA Taxonomy of Undescribed Insects. *Systematic Biology* 55, 595–609.
- R Development Core Team (2013) R Development Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*.
- Ribeiro, A.C. (2006). Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the

coastal drainages of eastern Brazil : an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology* 4, 225–246.

- Rossini, B. C., Oliveira, C. A. M., de Melo, F. A. G., de Araújo Bertaco, V., de Astarloa, J. M. D., Rosso, J. J. et al. (2016). Highlighting Astyanax Species Diversity through DNA Barcoding. *PloS one*, 11(12), e0167203.
- Roxo, F. F., Zawadzki, C. H., Alexandrou, M. A., Costa Silva, G. J., Chiachio, M. C., Foresti, F., & Oliveira, C. (2012). Evolutionary and biogeographic history of the subfamily Neoplecostominae (Siluriformes: Loricariidae). *Ecology and Evolution*, 2(10), 2438–2449.
- Roxo, F.F., Albert, J.S., Silva, G.S.C., Zawadzki, C.H., Foresti, F. & Oliveira, C. (2014). Molecular Phylogeny and Biogeographic History of the Armored Neotropical Catfish Subfamilies Hypoptopomatinae, Neoplecostominae and Otothyriinae (Siluriformes: Loricariidae). *PLoS ONE* 9(8): e105564.
- Roxo, F.F., Ochoa, L.E., Costa-silva, G.J. & Oliveira, C. (2015). Species delimitation in *Neoplecostomus* ( Siluriformes : Loricariidae ) using morphologic and genetic approaches. *DNA Barcodes* 3, 110–117.
- Silva, G.S.C., Roxo, F.F., Lujan, N.K., Tagliacollo, V.A., Zawadzki, C.H. & Oliveira, C. (2016). Transcontinental dispersal, ecological opportunity and origins of an adaptive radiation in the Neotropical catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae). *Molecular Ecology*, 25: 1511–1529.
- Shimabukuro-Dias, C.K., Costa Silva, G.J. da, Ashikaga, F.Y., Foresti, F. & Oliveira, C. (2016). Molecular identification of the fish fauna from the pantanal flood plain area in Brazil. *Mitochondrial DNA Part A* 1394, 1–5.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution* 30, 2725–9.
- Thomaz, A.T., Malabarba, L.R., Bonatto, S.L. & Knowles, L.L. (2015). Testing the effect of palaeodrainages versus habitat stability on genetic divergence in riverine systems: Study of a Neotropical fish of the Brazilian coastal Atlantic Forest. *Journal of Biogeography* 42, 2389–2401.

- Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B. H., Last, P. R., & Hebert, P. D. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847-1857.
- Ward, R. D., Hanner, R., & Hebert, P. D. (2009). The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *Journal of fish biology*, 74(2), 329-356.
- Weitzman, S.H., Menezes, N.A. & Weitzman, M.J. (1988). Phylogenetic biogeography of the Glandulocaudini (Teleostei: Characiformes, Characidae) with comments on the distributions of other freshwater fishes in eastern and southeastern Brazil. In: P.E. Vanzolini & W. R. Heyer (Eds.). *Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns*. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, 379-427.
- Wilkinson, M.J., Marshall, L.G. & Lundberg, J.G. (2006). River behavior on megafans and potential influences on diversification and distribution of aquatic organisms. *Journal of South American Earth Sciences* 21, 151–172.
- Xia, X. (2001). DAMBE: Software Package for Data Analysis in Molecular Biology and Evolution. *Journal of Heredity* 92, 371–373.
- Xia, X. (2009). Assessing substitution saturation with DAMBE. , 49–58.