

Projeto de Pesquisa:

**Influência dos fatores climáticos e geomorfológicos nas bacias
hidrográficas da Serra do Mar: a história natural impressa no DNA dos
peixes continentais**

Coordenador: Sergio Maia Queiroz Lima

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Resumo

Este projeto visa compreender como os fatores climáticos e geomorfológicos determinaram os padrões de distribuição da ictiofauna continental das bacias hidrográficas da Serra do Mar através da abordagem filogeográfica, que utiliza as informações contidas no DNA mitocondrial para reconstruir a história evolutiva das espécies. Essas bacias, constituem pequenas drenagens costeiras isoladas com ictiofauna similar entre elas. Uma vez que os peixes de água doce apresentam baixa tolerância à salinidade, a dispersão entre bacias isoladas depende da conexão entre as mesmas, seja via regressões do nível do mar durante os episódios glaciais ou de processos tectônicos que modifiquem o curso dos rios. Assim, espera-se que esse dois processos tenham determinado a distribuição geográfica atual e a estruturação da diversidade genética intraespecífica da biota aquática continental. A compreensão dos padrões de colonização dos peixes de água doce, e dos mecanismos responsáveis pela diversificação evolutiva de linhagens genealógicas são informações importantes para detecção de áreas de endemismo e definição de áreas prioritárias para a conservação, além de permitir inferências sobre mudanças da paisagem de uma determinada região.

Palavras-chave: Filogeografia, Sistemática, Mata Atlântica, flutuações do nível do mar, captura de rios, Siluriformes.

1. Introdução

1.1 Bacias hidrográficas da Serra do Mar

A margem leste do Brasil é caracterizada por diversas bacias costeiras menores que surgiram a partir da captura de rios que desaguavam para o interior do escudo Cristalino Brasileiro (Ribeiro 2006). Se por um lado a maior parte do escudo Cristalino apresenta-se geologicamente estável, a sua margem leste apresenta instabilidade geológica, que associada à instabilidade climática (glaciações e períodos interglaciais) e à alta heterogeneidade ambiental, são consideradas como responsáveis pela riqueza de espécies de origem recente (Quaternário) na Mata Atlântica (Moritz *et al.* 2000).

As bacias hidrográficas do leste do Brasil são pequenas e médias drenagens costeiras independentes (Castro 1999) que apresentam uma grande heterogeneidade ambiental em extensões relativamente curtas, caracterizadas por uma baixa riqueza de espécies de peixes continentais e elevado endemismo (Buckup 1999). Este elevado endemismo é atribuído principalmente às espécies de peixes de pequeno porte, que de modo geral possuem baixa capacidade de deslocamento, não realizando migrações extensas durante suas vidas.

A característica geomorfológica mais conspícua da margem Atlântica do Brasil é a presença de duas cristas paralelas de montanhas, a Serra da Mantiqueira e a Serra do Mar, com altitudes que variam de 800 a 1.800 m, em média (Ribeiro *et al.* 2006). Ambas se estendem do norte do Estado de Santa Catarina até o norte do Estado do Rio de Janeiro. Enquanto a vertente oeste da Serra da Mantiqueira drena para a bacia do Rio Paraná, a vertente oposta, assim como a vertente oeste da Serra do Mar, drenam para a bacia do Rio Paraíba do Sul. Já a vertente leste da Serra do Mar, é formada por diversas bacias menores isoladas, cujas nascentes encontram-se a poucas dezenas ou centenas de quilômetros da costa, onde deságuam diretamente no Atlântico.

As bacias da vertente costeira da Serra do Mar são: a do rio Macaé, do rio São João, bacia da baía de Guanabara (incluindo o rio Macacu), diversos rios pequenos no litoral sudoeste do Rio de Janeiro e nordeste de São Paulo (incluindo as bacias dos rios Mambucaba e Parati-Mirim) e a do rio Ribeira de Iguape (Langeani *et al.* 2009).

As bacias hidrográficas da Serra do Mar estão inseridas no bioma da Mata Atlântica, e apresentam nascentes em encostas elevadas e íngremes. Embora existam áreas protegidas e relativamente bem preservadas na Serra do Mar, principalmente nos trechos mais íngremes, o desmatamento das florestas marginais, a expansão urbana, tanto de grandes regiões

metropolitanas quanto de áreas portuárias e de balneários, e a poluição dos riachos constituem os principais impactos antrópicos sobre a biota aquática continental na região (Rosa & Lima 2008; Langeani *et al.* 2009).

1.2 Ictiofauna das bacias costeiras da Serra do Mar

A região Neotropical apresenta a maior riqueza de espécies de peixes de água doce do planeta, com aproximadamente 4.500 espécies (Reis *et al.* 2003), correspondendo a 35% da estimativa total de peixes estritamente dulcícolas (Lévequê *et al.* 2008). No Brasil, foram registradas pelo menos 2.587 espécies (Buckup *et al.* 2007), evidenciando a grande diversidade de ambientes disponíveis e a longa e complexa história evolutiva desses organismos (Langeani *et al.* 2009).

Informações sobre a composição da ictiofauna das bacias costeiras do leste do Brasil são heterogêneas, com algumas bacias bem amostradas, enquanto outras são pouco conhecidas e, em alguns casos, nunca foram estudadas, o que dificulta o estabelecimento de hipóteses biogeográficas e consequentemente, dos processos históricos que moldaram a ictiofauna de água doce destas bacias (Serra *et al.* 2007; Langeani *et al.* 2009). Existem diversas bacias costeiras sub-amostradas que não permitem a elaboração de uma lista de espécies, nem mesmo indicam as espécies endêmicas, invasoras ou sugerem áreas importantes para a conservação (Langeani *et al.* 2009). Entre as áreas menos amostradas estão as pequenas dreganens costeiras (*e. g.* sudoeste do Rio de Janeiro e nordeste de São Paulo) e os trechos mais afastados do curso central dos rios, como as cabeceiras de algumas bacias costeiras maiores que, embora apresentem baixa riqueza de espécies, abrigam geralmente espécies de menor porte e apresentam elevado endemismo, devido a baixa capacidade de deslocamento desses peixes (Castro 1999).

Embora a Serra do Mar esteja situada próximas aos grandes centros urbanos, que concentram alguns dos principais grupos de pesquisa taxonômicos da ictiofauna continental (*e. g.* Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Universidade Federal do Rio de Janeiro), a ocorrência de novos táxons em bacias pouco ou não amostradas, ou a detecção de espécies distintas e erroneamente atribuídas à espécies já descritas, podem elevar o número de espécies conhecidas na região. Apenas na região da Serra do Mar, algumas espécies novas foram recentemente descobertas e/ou descritas por membros da equipe deste projeto: *Hemipsilichthys nimius* Pereira, Reis, Souza & Lazzaroto, *Listrura picinguabae* Villa-Verde & Costa, *Microcambeva ribeirae* Costa, Lima & Bizerril, *Rivulus lazzarotoi* Costa, *Scleromystax salmacis* Britto & Reis, *Trichomycterus giganteus* Lima & Costa, *T. caipora* Lima, Lazzarotto &

Costa (Pereira *et al.* 2003, Costa *et al.* 2004, Lima & Costa 2004, Britto & Reis 2005, Villa-Verde & Costa 2006, Costa 2007, Lima *et al.* 2008), e algumas outras encontram-se em fase de descrição.

1.3 Fatores geomorfológicos e climáticos na ictiofauna continental

A região na qual está inserida a Serra do Mar passou por pronunciadas fases de atividades tectônicas durante o Paleogeno, o Neogeno e o Quaternário resultando no recuo erosivo da margem leste da plataforma continental e na captura sucessiva de rios de planalto, que fluíam para o interior do Escudo Brasileiro, passando assim a atuar como tributários atlânticos menores (Almeida & Carneiro 1998, Riccomini *et al.* 2004, Ribeiro 2006, Ribeiro *et al.* 2006).

O rearranjo das redes de drenagem através da captura de rios, que consiste na mudança da drenagem de um rio de uma margem de um divisor de águas para a vertente oposta, é um importante processo biogeográfico a ser considerado para explicar o aumento da distribuição de táxons aquáticos continentais e a diferenciação genética em alopatria (Mayden & Matson 1992, Musyl & Keenan 1992, Ribeiro *et al.* 2006, BurrIDGE *et al.* 2006). Esses rearranjos ocorrem devido às ativações tectônicas associadas à deriva continental que continuam afetando a geomorfologia dos divisores de águas, e influenciam principalmente táxons que habitam as cabeceiras de rios, que por estarem mais próximos desses divisores, são potencialmente mais suscetíveis à captura de rios (Waters *et al.* 1994, 2001; Bishop 1995, Langeani *et al.* 2009). Ativações neotectônicas, que podem ter resultado na mudança de curso de rios, foram particularmente pronunciadas durante o Quaternário no Sudeste e Nordeste do Brasil (Lima 2000).

Ribeiro *et al.* (2006) apresentaram evidências geológicas e ictiológicas da captura de um afluente do Rio Paraná para a vertente costeira da Serra do Mar, devido à reativação tectônica recente (Pleistoceno-Holoceno). A origem das bacias costeiras da porção central do leste do Brasil, assim como a origem de alguns componentes da ictiofauna desta região (*e.g.* *Listrura* spp.; *Trichomycterus zonatus* (Eigenmann)) deve estar relacionada à origem e evolução da Serra do Mar, uma vez que apresentam distribuição concordante do Rio de Janeiro a Santa Catarina (Ribeiro, 2006). Além desses táxons, algumas espécies parecem ter distribuições semelhantes: *Hollandichthys multifasciatus* (Eigenmann & Norris), *Rhamdioglanis transfasciatus* Miranda Ribeiro, *Scleromystax barbatus* (Quoy & Gaimard), *Parotocinclus maculicauda* (Steindachner), *Schizolecis guntheri* (Miranda Ribeiro), *Kronichthys heylandi* (Boulenger),

Gymnotus pantherinus (Steindachner), *Phalloptychus januarius* (Hensel), *Kryptolebias caudomarginatus* (Seegers) (Menezes *et al.* 2007).

Além das ativações tectônicas, outro mecanismo de isolamento geográfico que determinou a distribuição dos peixes das bacias costeiras da Serra do Mar foram as flutuações do nível do mar, ocorridas durante o Quaternário devido às mudanças climáticas (Weitzman *et al.* 1988; Menezes 1988, Suguio 1999). Abreu & Calliari (2005) indicaram a presença de paleo-canais na plataforma continental interna do Rio Grande do Sul, datados do final do Pleistoceno e início do Holoceno. Furtado *et al.* (1996), Conti (2009) e Conti & Furtado (2009) também apresentaram evidências de canais submersos de paleo-rios na plataforma continental do Estado de São Paulo. Estes, foram afogados durante a transgressão Guanabarina (17.500 – 6.500 Antes do Presente (A.P.)), na qual o nível do mar voltou a subir (aproximadamente 100 m) ficando próximo ao nível atual do mar. Dessa forma, é possível que as bacias costeiras atuais tenham atuado como cabeceiras de grandes bacias fluviais, quando desaguariam na calha central destes paleo-rios, como deve ter ocorrido com as bacias hidrográficas que drenam para Baía de Guanabara, atualmente de água salgada. Cabe ressaltar que von Ihering (1927), ao propor a teoria sobre as pontes continentais, indicou o traçado de um suposto paleo-rio (Ameghino) que conectava diversas bacias costeiras do leste do Brasil, numa área atualmente submersa pelo mar.

Assim, o advento de diversos eventos eustáticos no Quaternário (transgressões e regressões marinhas) e as consequentes expansões e retrações das planícies costeiras, alternariam fases de isolamento e união de suas ictiofaunas, resultando na vicariância e dispersão da ictiofauna dessas bacias (Menezes 1988, Menezes *et al.* 2007). Evidências moleculares também corroboram esse cenário baseado em flutuações do nível do mar para explicar a similaridade ictiofaunística entre as bacias costeiras do Sudeste (Menezes *et al.* 2008, Torres *et al.* 2007, 2008, Torres & Ribeiro 2008, Lima 2009).

Segundo Amador (1997) durante o último máximo glacial, ocorrido entre 20.000 e 18.000 anos A.P., o nível do mar recuou até 130 m abaixo do nível atual, deslocando a linha da costa em dezenas de quilômetros em direção ao oceano, e expondo grande parte da plataforma continental. Nesse período ilhas atuais, como as do arquipélago das Cagarras e a Ilha Grande, passaram a fazer parte do continente, e a Baía de Guanabara se tornou o canal de um grande rio, denominado paleo-rio Guanabara. Este rio além de drenar todos os rios da Baixada Fluminense, também recebia a contribuição dos rios que hoje alimentam as lagoas de Maricá, Itaipu, Piratininga, Jacarepaguá e Rodrigo de Freitas.

Amador (1997) também propôs que até o último interglacial (200.000 anos A.P.) a drenagem de alguns rios que atualmente desaguam na Baía de Guanabara era dirigida para a Baía de Sepetiba-Ilha Grande. Com o aumento da pressão decorrente da elevação do nível do mar nesse período, ocorreu o rebaixamento do bloco da Guanabara que resultou num divisor separando de um lado a bacia do rio Guandu, que permaneceu drenando para a baía de Sepetiba e do outro as bacias dos rios Meriti, Iguaçu e Acari que passaram a desaguar no paleo-rio Guanabara (Amador 1997).

Desta forma, a distribuição e a composição da ictiofauna continental da Serra do Mar é resultado das flutuações do nível do mar e as decorrentes expansões e retrações das planícies costeiras e do rearranjo das bacias hidrográficas por ativações tectônicas (Menezes *et al.* 2007).

1.4 Uso de marcadores moleculares para inferências de história natural

A distribuição geográfica de uma determinada espécie é uma função da sua ecologia, demografia histórica e padrões de dispersão, que podem ser muitas vezes elucidados através da biogeografia molecular (Avice 2004). Os principais processos para explicar a distribuição das espécies são a vicariância e a dispersão, que promovem o isolamento de populações geralmente resultando em estruturação populacional (Avice 2004), ou a expansão de suas áreas de distribuição. Análises biogeográficas baseadas somente na distribuição podem levar a conclusões enganosas (Waters & Wallis 2000, Wallis & Trewick 2001), enquanto estudos que também incluem dados moleculares são potencialmente mais informativos (Waters & Wallis 2000). Além disso, análises de sequências de DNA também podem ser utilizadas para detectar gargalos populacionais, padrões de migração, e a história demográfica de populações (Frankham *et al.* 2008). Outro resultado que pode ser obtido através da abordagem molecular é a descoberta de espécies crípticas, que constituem espécies muito similares morfológicamente, mas que apresentam uma distinção genética evidente, geralmente resultante de uma história evolutiva independente, e cuja detecção é fundamental para determinar uma proteção adequada destes organismos (Galetti Jr *et al.* 2008). Assim, a sistemática molecular e a genética de populações, quando integradas com análises da distribuição de espécies, variação fenotípica e história da paisagem podem contribuir para implementação de estratégias conservacionistas (Moritz *et al.* 2000).

A filogeografia é a área de estudo que analisa os processos e padrões relacionados à distribuição geográfica de linhagens evolutivas, no nível intraespecífico ou entre espécies estreitamente relacionadas (Bermingham & Moritz 1998, Avice 2004). Desta forma é uma

ferramenta útil para estudar como as populações responderam historicamente às mudanças paisagísticas locais (Moritz & Faith 1998, Carnaval 2002). Análises filogeográficas de peixes de água doce permitem inferências históricas sobre a biota e geologia de uma determinada região, pois os peixes continentais dependem da conexão entre as drenagens para que haja dispersão (Jones & Johnson 2009).

A elevação geológica da Serra do Mar promoveu o surgimento de diversas pequenas bacias isoladas, enquanto os eventos glaciais devem ter conectado algumas dessas bacias durante períodos de nível do mar mais baixos. Esses dois processos produzem padrões filogeográficos distintos que podem auxiliar na compreensão das conexões históricas entre as bacias costeiras da Serra do Mar. Sob vicariância, é esperado que a fauna fragmentada mantenha um padrão filogenético correlacionado com a drenagem ancestral. Já, sob dispersão, é esperado que apenas uma pequena parte da população original atinja a nova drenagem e, portanto serão observadas frequências haplotípicas distintas nas duas, por efeito fundador, com maior diversidade na população ancestral (Avice 2004). Contudo, os diferentes eventos climáticos devem ter exercido efeitos diferenciados do nível do mar, acarretando diferentes padrões de conexão entre as bacias costeiras da Serra do Mar. Além disso, a proximidade entre as bacias, o relevo e o tamanho das bacias também devem influenciar na dispersão dos peixes de riachos.

Ruzzante *et al.* (2008) e Unmack *et al.* (2009) demonstraram o potencial da utilização em conjunto da análise filogeográfica, baseado em marcadores mitocondriais de peixes continentais andinos, com dados paleoclimáticos e geomorfológicos para traçar o histórico demográfico de algumas espécies e a evolução da paisagem. Da mesma forma, estudos feitos com duas espécies de bagres da Serra do Mar, *Trichomycterus zonatus* e *Trichogenes longipinnis* Britski & Ortega, evidenciaram que ambas as espécies apresentam populações bem estruturadas e relacionados à eventos climáticos (*e. g.* alagamento de paleo-rios por elevações do nível do mar) e geomorfológicos (*e. g.* captura do rio Iguaçu da baía de Sepetiba-Ilha Grande para a baía de Guanabara em *T. zonatus*) (Lima 2009).

Estudos filogenéticos ou filogeográficos envolvendo o relacionamento entre peixes das bacias costeiras da Serra do Mar ou a conexão histórica entre essas bacias são bastante escassos (Murphy *et al.* 1999, Menezes *et al.* 2008, Torres *et al.* 2007, 2008, Torres & Ribeiro 2008, Zamudio *et al.* 2009), embora os rios costeiros do sudeste do Brasil forneçam uma boa oportunidade de testar hipóteses de vicariância e dispersão em organismos aquáticos continentais.

2. Objetivos

O objetivo geral deste projeto é determinar como os fatores climáticos e geomorfológicos modelaram a distribuição disjunta de populações de espécies de peixes de água doce que ocorrem nas bacias hidrográficas da Serra do Mar. Através de marcadores moleculares (sequências de DNA mitocondrial), pretende-se aumentar o conhecimento e oferecer suporte para estratégias de conservação da ictiofauna da região. Dentre os objetivos específicos, podem ser citados:

- Comparar populações de espécies de peixes continentais dentro e entre bacias costeiras da Serra do Mar e determinar se as espécies estudadas apresentam estruturação populacional, ou se são complexos de espécies com algumas espécies novas endêmicas das bacias costeiras menores, e assim inferir a distribuição geográfica de cada espécie estudada;
- Testar a hipótese da Baía de Guanabara ter sido o leito de um rio, e a hipótese de que alguns rios que atualmente deságuam no fundo da Baía de Guanabara tenham drenado para a Baía de Sepetiba-Ilha Grande durante o Pleistoceno;
- Formular hipóteses sobre a diferenciação das linhagens evolutivas das espécies estudadas em resposta às mudanças históricas da paisagem, e os processos climáticos e geomorfológicos relacionados à distribuição geográfica atual da ictiofauna continental;
- A partir destes resultados, propor estratégias para conservação das espécies estudadas e indicar áreas prioritárias para conservação através da integração dos dados moleculares com impactos antrópicos que possam ser detectados durante os trabalhos de campo.

3. Justificativa

Este projeto visa aumentar o conhecimento da diversidade, endemismos e padrões de distribuição de peixes das bacias costeiras da Serra do Mar, inseridas no bioma da Mata Atlântica e algumas classificadas como de extrema importância biológica (Conservação Internacional 2000), a fim de fornecer informações biogeográficas relevantes para determinar estratégias e áreas prioritárias para conservação da ictiofauna continental dessa região, que possui um histórico longo e intenso de impactos antrópicos.

Além disso, os resultados deste projeto podem contribuir para a compreensão da influência das mudanças climáticas sobre a biota, uma vez que os processos que determinaram a distribuição atual das comunidades de peixes de água doce das bacias costeiras da Serra do Mar estão relacionados ao aquecimento global (natural) do clima, e à consequente elevação

do nível do mar pelo derretimento das geleiras, que produziu o afogamento da plataforma continental e dos vales fluviais por águas marinhas (Amador 1997).

Uma abordagem semelhante foi empregada por alguns membros do presente projeto (SMQL e AMSC), em um estudo das populações de *Trichomycterus zonatus* e *Trichogenes longipinnis* na região Sudeste brasileira, que demonstrou a viabilidade teórica e experimental deste estudo (Lima 2009). Neste estudo pudemos definir o número de populações e espécies que compõe cada táxon, inferir suas distribuições geográficas, estimar o tempo de separação entre as linhagens e correlacioná-los com eventos climáticos e geomorfológicos conhecidos. Além disso, detectamos que algumas linhagens de *T. zonatus* apresentam diferenças genéticas suficientes para serem reconhecidas como espécies distintas, e nesses casos propusemos estratégias adequadas de proteção desses organismos.

Análises filogeográficas comparativas com outras espécies de peixes da Serra do Mar (e. g. *Ancistrus multispinis* (Regan), *Hollandichthys multifasciatus*, *Neoplecostomus microps* Langeani, *Parotocinclus maculicauda*, *Rhamdioglanis transfasciatus*, *Scleromystax barbatus*, *Schizolecis guntheri*) permitirá verificar se os resultados encontrados refletem um padrão das conexões históricas entre as bacias costeiras, ou detectar novas hipóteses de conexões via movimentos eustáticos marinhos e/ou eventos neotectônicos relacionados à captura de rios. Além disso, ampliará o nosso conhecimento geral sobre a biogeografia dos rios costeiros brasileiros, e representará uma linha de pesquisas prolífica e de longo prazo.

4. Métodos

4.1 Amostragem de campo

A partir do levantamento de lotes das coleções ictiológicas dos principais museus nacionais (MZUSP, MNRJ, MCP) foram identificadas as bacias costeiras com registro para seis espécies inicialmente selecionadas para o estudo: *Ancistrus multispinis*, *Pareiorhaphis garbei* (Ihering), *Neoplecostomus microps*, *Rhamdioglanis transfasciatus*, *Scleromystax barbatus*, e *Trichomycterus zonatus*. Serão coletadas amostras destas espécies em algumas das seguintes bacias hidrográficas inseridas dentro das Unidades de Conservação envolvidas no projeto: do rio Macabu, rio Macaé, do rio São João, de algumas bacias da baía de Guanabara (rio Iguaçu, rio Estrela, rio Suruí, rio Roncador, rio Soberbo e rio Macacu), do rio Guandu e dos pequenos rios que desaguam na lagoa de Jacarepaguá, alguns rios pequenos do litoral sudoeste do Rio de Janeiro (rio Ariró, rio Jurumirim, rio Mambucaba, rio Pereque-Açu, rio Parati-Mirim) e do nordeste de São Paulo (rio Pardo, rio das Pedras), do rio Ribeira de Iguape, de algumas bacias

costeiras do Paraná (rios Serra Negra e Taguaçaba, Cachoeira e Nhundiaquara, e Cubatãozinho, Cubatão e São João) e de Santa Catarina (Saí Guaçu e Saí Mirim, Itapocu, Itajaí e Tubarão). Essas bacias constituirão a base para as coletas de material para o presente trabalho, por apresentarem localidades precisas dos pontos amostrados. Para fins taxonômicos, serão coletadas amostras nas localidades-tipo de cada espécie estudada.

Além destas espécies, serão coletados também 20 exemplares de outras espécies, listadas no formulário do SisBio/IBAMA, para comparar o fluxo gênico entre espécies de cabeceira e espécies que habitam a porção inferior dos rios entre as bacias costeiras.

Como não existem levantamentos precisos para cada uma das bacias costeiras da Serra do Mar, serão feitas coletas adicionais para determinação da ictiofauna de algumas pequenas bacias costeiras, a fim de preencher possíveis lacunas de conhecimento. Os apetrechos de coleta utilizados ao longo das campanhas de campo serão de dois tipos: ativos – redes tipo picaré, redes-de-mão, e redes-de-arrasto; e passivos – redes de espera (malhas de 15, 25, 35, 40 e 50 mm entre nós adjacentes) e covos artesanais.

A partir do resultado das coletas, serão selecionadas, inicialmente, duas espécies de cabeceiras, que provavelmente possuem capacidades de deslocamento mais reduzidas e necessitam de condições físico-químicas mais restritas (maior oxigenação e temperaturas mais baixas), e duas espécies de trecho médio ou baixo dos rios, que tendem a ser mais generalistas e tolerantes à variações físico-químicas da água, que ocorram na maior parte das bacias amostradas. Outros critérios que serão considerados na seleção das espécies será a frequência de ocorrência e expressiva abundância nas bacias amostradas, assim como espécies de grupos taxonômicos distintos.

A hipótese a ser testada utilizando peixes de cabeceiras e de trecho médio dos rios é que as populações de peixes de cabeceiras apresentam menor diversidade genética e maior estruturação populacional em relação às espécies de trecho médio ou baixo dos rios, devido à incapacidade dos peixes de cabeceiras habitarem os trechos inferiores dos rios pela inexistência de condições ambientais específicas (*e. g.* maior oxigenação, temperaturas mais baixas) nos habitats onde geralmente são encontrados. No trecho médio ou inferior dos rios onde ocorre a conexão entre diversos contribuintes de uma bacia ou mesmo dispersão durante períodos de intensa pluviosidade, espera-se que haja um maior fluxo gênico entre as populações, resultando em uma maior diversidade e menor estruturação intraespecífica. Esta mesma abordagem de comparação entre espécies que habitam trechos distintos dos rios, também poderá elucidar o papel dos diferentes processos que moldaram a distribuição

geográfica atual das linhagens genéticas. Caso as populações das espécies de cabeceiras de bacias adjacentes apresentem maior similaridade entre si do que entre as espécies de trecho médio entre as mesmas bacias, isso poderá ser interpretado como um evento de captura de rios; caso contrário, é mais provável que tenha ocorrido dispersão entre as bacias via conexão nos períodos de regressão marinha, que favorece a dispersão de espécies de trecho médio-inferior dos rios em detrimento das que habitam as regiões de cabeceiras.

Os indivíduos capturados serão fotografados em campo e transportados vivos até o alojamento ou universidade, onde serão etiquetados individualmente e será retirada uma amostra de tecido muscular do flanco direito, ou de nadadeira, que será armazenada em etanol absoluto P. A. Estes indivíduos serão posteriormente fixados em formalina a 10%. As localidades serão georreferenciadas e serão registrados os principais parâmetros de estrutura do habitat como: largura média do canal, profundidade média e máxima média, velocidade da corrente, vazão média, cobertura média do dossel, e tipos de substrato e parâmetros físico-químicos da água, como: oxigênio dissolvido, temperatura, pH e condutividade.

A equipe envolvida no projeto possui familiaridade com as espécies e bacias hidrográficas envolvidas no projeto. Com o intuito de otimizar as coletas, a equipe composta por ictiólogos que desenvolvem pesquisas na Serra do Mar, será setorizada para que a duração das viagens e os custos de deslocamento sejam minimizados. Assim, estão planejadas cinco viagens de campo de quatro dias cada uma, com saídas a partir do Rio de Janeiro, São Paulo e Maringá. Algumas amostras coletadas em trabalhos de campo anteriores das espécies previamente selecionadas para o projeto, já permitiram verificar a eficácia de alguns marcadores moleculares, contudo, mais amostras são necessárias para execução do projeto.

Unidades de Conservação Federais envolvidas: Rio de Janeiro - APA Petrópolis, APA Bacia do Rio São João, PN Serra dos Órgãos, APA Cairuçu; no **Paraná** - APA de Guaraqueçaba e PN Saint Hilaire-Lange; e em **Santa Catarina** - APA Anhato-mirim. As licenças de coleta e transporte de material biológico do Sisbio/IBAMA (nº 28332-1) já foi emitida e tem validade até 2015.

Unidades de Conservação Estaduais e Municipais envolvidas: No **Rio de Janeiro** - PE Três Picos, PM Nova Iguaçu, PM Serra do Mendanha, PE Pedra Branca; em **São Paulo** - PE Serra do Mar (núcleos Caraguatatuba, São Sebastião, Pedro de Toledo, Jacupiranga), PE Carlos Botelho; no **Paraná** - PE Pico do Paraná; e em **Santa Catarina** - REBIO Estadual Canela Preta, PE Serra do Tabuleiro, PE da Serra Furada. Todas estas Unidades de Conservação constam na licença do Sisbio/IBAMA nº 28332-1. Há previsão de uso dos alojamentos durante os trabalhos de campo. As datas e duração dos trabalhos de campo dependerão da liberação do financiamento, das

condições climáticas e disponibilidade das equipes. Contudo, devem durar entre dois a cinco dias em cada Unidade de Conservação envolvida no projeto.

4.2 Atividade laboratorial

Os indivíduos coletados durante os trabalhos de campo serão triados e identificados até a menor categoria taxonômica possível, baseado em caracteres morfológicos e merísticos, utilizando a bibliografia taxonômica e sistemática para peixes neotropicais disponível. Esse material será posteriormente depositado em instituições locais e nas principais coleções ictiológicas do país: o Museu Nacional, Rio de Janeiro (MNRJ, Rio de Janeiro) e o Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP, São Paulo), assim como na coleção de peixes do Nupelia (NUP) da Universidade Estadual de Maringá.

Para a análise com marcadores moleculares, serão realizadas três etapas em laboratório:

- A extração de DNA total das amostras de tecido dos peixes será realizada através da técnica de extração salina utilizando uma solução de NaCl 5M (Miller *et al.* 1988).
- Amplificação de trechos do genoma mitocondrial (*e. g.* região controle, citocromo b) por PCR utilizando iniciadores disponíveis na literatura ou desenhados a partir do alinhamento de regiões conservadas que flanqueiam os genes de interesse, utilizando sequências de genoma mitocondrial de espécies aparentadas disponíveis em bancos de sequências, como o GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>).
- Os produtos amplificados serão purificados e sequenciados usando sequenciadores capilares ABI 3730xl na MacroGen, empresa que presta esse serviço com qualidade e velocidade. Os sequenciamentos serão feitos nos dois sentidos (cadeia leve e cadeia pesada do DNA mitocondrial) a fim de garantir maior qualidade e confiabilidade das sequências.

4.3 Análise dos dados

Os eletroferogramas serão editados com o programa *Seqman II* e as sequências alinhadas no programa *Clustalw*. Todas as sequências obtidas neste estudo serão posteriormente depositadas no GenBank. Os índices de endocruzamento (Wright 1978) e de diversidade haplotípica e nucleotídica (Nei 1987) serão calculados no programa *DnaSP*. O cálculo da divergência entre as sequências e a construção de uma árvore de Neighbour-Joining (NJ) serão feitos com o programa *Mega 4*. As análises filogenéticas de Máxima-

Verossimilhança (ML) e Parcimônia (MP) serão obtidas com os programas *Phyml* e *PAUP 4*, respectivamente, utilizando o modelo evolutivo selecionado pelo programa *Modeltest*.

A análise filogeográfica será feita a partir da distribuição geográfica da variação molecular de espécies de peixes continentais evidenciada por redes de haplótipos geradas pelo programa *TCS*. Análises de Variância Molecular (AMOVA, Excoffier *et al.* 1992) serão feitas a fim de testar diferentes hipóteses de estruturação geográfica inter/intrapopulacionais baseados nas hipóteses históricas (conexão entre as bacias via regressões marinhas em períodos glaciais, ou através de captura de rios por ativações tectônicas). Também serão feitas análises espaciais de variância molecular (SAMOVA, Dupanloup *et al.* 2002), que testam todas as possibilidades de agrupamentos, otimizando o arranjo geográfico, de acordo com o número de populações definidas *a priori* e maximizando a proporção da variância genética total atribuída à subdivisão dos dados em grupos de populações. As estimativas do tempo de divergência entre as linhagens serão feitas através da calibração do relógio molecular com as taxas padrão para cada marcador molecular utilizado, ou com eventos geológicos vicariantes pré-estabelecidos, como a mudança de direção do rio Iguaçu (200.000 anos A.P., Amador 1997). Além disso, serão feitas análises bayesianas de “skyline plot” que possibilitam a reconstrução histórica da demografia de cada população ou espécie, e assim correlacionar possíveis eventos de expansões ou retrações populacionais com eventos climáticos e geomorfológicos conhecidos (Drummond *et al.* 2005).

4.4 Análises morfológicas

As análises morfológicas servirão como base para as análises filogenéticas, assim como para a eventual descrição de novas espécies ou das variações morfológicas entre as populações. Exemplares diafanizados e corados segundo a técnica de Taylor & Van Dyke (1985) serão utilizados para as análises osteológicas e de cartilagem. Desenhos dessas estruturas, assim como da morfologia externa, serão feitos com microscópio estereoscópico com câmara clara. Os dados merísticos e morfométricos serão determinados de acordo com o padrão estabelecido para cada grupo taxonômico utilizado.

5. Metas

Além da maior compreensão dos processos vicariantes na escala microevolutiva nos peixes de água doce, o conjunto de dados gerados por esse projeto poderá auxiliar na detecção de áreas de endemismo e na definição de áreas prioritárias para conservação junto aos órgãos ambientais estaduais e federais. Também podem constituir informações

importantes para o manejo de espécies de peixes continentais ameaçadas (*e. g. Pareiorhaphis garbei*, Rosa & Lima 2008).

A execução deste projeto também servirá de base para formação de pessoal, no caso, alunos de graduação e pós-graduação das áreas de Ecologia, Genética e Zoologia.

6. Resultados esperados

Além de base para monografias, dissertações e teses, espera-se que os resultados obtidos sejam apresentados em congressos nacionais e internacionais e publicados em revistas internacionais de alto impacto.

Os trabalhos de campo nas bacias da Serra do Mar também podem resultar na descoberta de táxons ainda não descritos, principalmente nas regiões de cabeceiras, devido à dificuldade de acesso. Através de parcerias estabelecidas com os especialistas em taxonomia e sistemática dos grupos envolvidos, as novas espécies encontradas serão formalmente descritas. Dessa forma, este projeto visa aumentar o conhecimento da ictiofauna regional e compreender o papel dos fatores climáticos globais e geomorfológicos locais sobre a ictiofauna de água doce das bacias hidrográficas costeiras.

7. Origem dos recursos

O presente projeto foi recentemente submetido para financiamento no CNPq Universal e será submetido à Fundação Grupo Boticário de Proteção à Natureza, contudo a resposta destas linhas de financiamento só serão divulgadas no final do ano. Contudo, a obtenção das licenças junto aos órgãos estaduais é pré-requisito para aprovação destes financiamentos.

8. Cronograma de execução

	2011	2012				2013		
	out-dez	jan-mar	abr-jun	jul-set	out-dez	jan-mar	abr-jun	jul-set
Coleta								
Identificação								
Extração de DNA e PCR								
Sequenciamento								
Análise dos dados								
Relatório Final								

	2013	2014				2015		
	out-dez	jan-mar	abr-jun	jul-set	out-dez	jan-mar	abr-jun	jul-set
Coleta								
Identificação								
Extração de DNA e PCR								
Sequenciamento								
Análise dos dados								
Relatório Final								

9. Equipe técnica

Dr. Sergio Maia Queiroz Lima (UFRN)

CPF: 085562527-96

Responsabilidade técnica: coordenação do projeto, coleta de amostras, dados moleculares, análise de dados morfológicos e moleculares, relatório final e publicações.

Dr. Antônio Mateo Solé-Cava (UFRJ)

CPF: 520052087-87

Responsabilidade técnica: colaboração na produção e análise de dados moleculares.

Dr. Carlos Schrago Guerra (UFRJ)

CPF: 082334177-18

Responsabilidade técnica: análise de dados moleculares.

Dr. Claudio Henrique Zawadzki (UEM)

CPF: 830943509-68

Responsabilidade técnica: coleta de amostras (PR e SC) e análises morfológicas (Loricariidae).

Msc. Henrique de Almeida Lazarotto (UFRJ)

CPF: 086689627-08

Responsabilidade técnica: coleta de amostras (RJ) e dados moleculares.

Msc. Leandro Villa Verde da Silva (UNESP)

CPF: 051958357-48

Responsabilidade técnica: coleta de amostras (RJ e SP).

Dr. Marcelo Ribeiro de Britto (MN/UFRJ)

CPF: 035504367-00

Responsabilidade técnica: coleta de amostras (RJ).

Dr. Pedro Carvalho-Hollanda (MZUSP)

CPF: 003109207-10

Responsabilidade técnica: coleta de amostras (SP) e dados moleculares.

10. Disponibilidade efetiva de infra-estrutura

Parte do trabalho de laboratório, como análise morfológica do material biológico e análise dos dados, deverá ser efetuado no Laboratório de Ictiologia (UFRN), que dispõe de lupas, bancada e reagentes para diafanização e coloração dos ossos e cartilagens para trabalho com material biológico. O Laboratório de Ictiologia da UFRN também dispõe de computadores para análise de dados, inclusive das análises moleculares. O referido laboratório está sob a coordenação da proponente do projeto.

As extrações e amplificações de DNA, assim como as análises moleculares serão desenvolvidas em parceria com Laboratório de Biodiversidade Molecular (LBDM - Universidade Federal do Rio de Janeiro) que possui todos os reagentes e a infra-estrutura necessária para o desenvolvimento do projeto, inclusive dispõe de alguns iniciadores já testados com eficiência para alguns táxons previamente selecionados.

11. Referências Bibliográficas

- Abreu JGN, Calliari JL (2005) Paleocanais na plataforma continental interna do Rio Grande do Sul: evidências de uma drenagem fluvial pretérita. *Revista Brasileira de Geofísica*, 23(2), 123–132.
- Almeida FFM, Carneiro CDR (1998) Origem e Evolução da Serra do Mar. *Revista Brasileira de Geociências*, 28(2), 135-150.
- Amador ES (1997) *Baía de Guanabara e Ecossistemas Periféricos: Homem e Natureza*. Edição do Autor, Reprodução e Encadernação: Reproarte Gráfica e Editora Ltda. Rio de Janeiro. Brasil.
- Awise JC (2004) *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*. 2nd Ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, EUA.

- Bermingham E, Moritz C (1998) Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology*, 7, 367–369.
- Bishop P (1995) Drainage rearrangement by river capture, beheading and diversion. *Progress in Physical Geography*, 19, 449–473.
- Britto MR, Reis RE (2005) A new *Scleromystax* species (Siluriformes: Callichthyidae) from coastal rivers of Southern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 3(4), 481-488.
- Buckup PA (1999) Sistemática e biogeografia de peixes de riachos. Pp. 91-138. In: Caramaschi EP, Mazzoni R, Peres-Neto PR (eds.), *Ecologia de Peixes de Riachos*. Série Oecologia Brasiliensis, vol. VI. PPGE-UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.
- Buckup PA, Menezes NA, Ghazzi MS (2007). *Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil*. Série livros 23, Museu Nacional, Rio de Janeiro, Brasil.
- Burridge CP, Craw D, Waters JM (2006) River capture, range expansion, and cladogenesis: the genetic signature of freshwater vicariance. *Evolution*, 60, 1038-1049.
- Carnaval AC (2002) Phylogeography of four frog species in forest fragments of northeastern Brazil – A preliminary study. *Integrative and Comparative Biology*, 42: 913- 921.
- Castro RMC (1999) Evolução da ictiofauna de riachos sul-americanos: padrões gerais e possíveis processos causais. Pp. 139-155. In: Caramaschi EP, Mazzoni R, Peres-Neto PR (eds.), *Ecologia de Peixes de Riachos*. Série Oecologia Brasiliensis, vol. VI. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil.
- Conti LA (2009) Evidências da evolução dos sistemas de paleodrenagens na plataforma continental da região de São Sebastião (litoral norte do Estado de São Paulo). *Revista Brasileira de Geomorfologia*, 10(2), 45-55.
- Conti LA, Furtado VV (2009) Topographic registers of paleo-valleys on the southeastern Brazilian continental shelf. *Brazilian Journal of Oceanography*, 57(2), 113-121.
- Costa WJEM (2007) *Rivulus lazzarotoi* n. sp. (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae), a new killifish from the Jurumirim River basin, southeastern Brazil. *Aqua, Journal of Ichthyology and Aquatic Biology*, 12, 123–128.
- Costa WJEM, Lima SMQ, Bizerril CRSF (2004) *Microcambeva ribeirae* sp. n. (Teleostei: Siluriformes: Trichomycteridae): a new Sarcoglanidinae catfish from the Rio Ribeira do Iguape basin, southeastern Brazil. *Zootaxa*, 563, 1-10.
- Drummond A J, Rambaut A, Shapiro B, Pybus OG (2005) Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution*. 22, 1185-1192.
- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11, 2571-2581.

- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes-application to human mitochondrial-DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479-491.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2008) Fundamentos de genética da conservação. (Ed). Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, Brasil.
- Furtado VV, Bonetti-Filho J, Conti LA (1996) Paleo river valley morphology and sea level changes at Southeastern Brazilian continental shelf. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 68, 163-169.
- Galetti Jr PM, Rodrigues FP, Solé-Cava AM, Miyaki AM, Carvalho DE, Veasey E, Santos EA, Farias FR, Vianna IP, Oliveira JA, Weber LR, Almeida-Toledo LF, Francisco MR, Redondo RAF, Siciliano S, Del Lama SN, Freitas TRO, Molina WF (2008) Genética da conservação na biodiversidade brasileira. Pp. 199-229. In: Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (eds.), *Fundamentos de Genética da Conservação*. Editora SBG. Ribeirão Preto, Brasil.
- von Ihering H (1927) Die Geschichte des Atlantischen Ozeans. G. Fischer, Jena, Alemanha.
- Jones CP, Johnson JB (2009) Phylogeography of the livebearer *Xenophallus umbratilis* (Teleostei: Poeciliidae): glacial cycles and sea level change predict diversification of a freshwater tropical fish. *Molecular Ecology*, 18, 1640-1653.
- Langeani F, Buckup PA, Malabarba LR, Py-Daniel LHR, Lucena CAS, Rosa RS, Zuanon JAS, Lucena ZMS, Britto MR, Oyakawa OT, Gomes Filho G (2009) Peixes de Água Doce. Pp. 211-230. In: Rosana M. da Rocha ; Walter A. Boeger. (Orgs.). *Estado da arte e perspectivas para a zoologia no Brasil*. Sociedade Brasileira de Zoologia, v. 1. Curitiba, Brasil.
- Lévêque C, Oberdorff T, Paugy D, Stiassny M, Tedesco PA (2008) Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 545-567.
- Lima CCU (2000) O Neotectonismo na costa do Sudeste e Nordeste Brasileiro. *Revista de Ciência e Tecnologia, Universidade de Guarulhos*, 15, 91-102.
- Lima SMQ (2009) *Filogeografia e sistemática molecular de dois bagres das bacias costeiras da Serra do Mar, Trichomycterus zonatus (Eigenmann, 1918) e Trichogenes longipinnis Britski & Ortega, 1983 (Siluriformes: Trichomycteridae)*. Tese de Doutorado não publicada, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Lima SMQ, Costa WJEM (2004) *Trichomycterus giganteus* (Siluriformes: Loricarioidea: Trichomycteridae): a new catfish from the Rio Guandu basin, southeastern Brazil. *Zootaxa*, 761, 1-6.
- Lima SMQ, Lazzarotto H, Costa WJEM (2008) A new species of *Trichomycterus* (Siluriformes: Trichomycteridae) from lagoa Feia drainage, southeastern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 6(3), 315-322.

- Mayden RL, Matson RH (1992) Systematics and biogeography of the Tennessee shiner, *Notropis leuciodus* (Cope) (Teleostei, Cyprinidae). *Copeia*, 954-968.
- Menezes NA (1988) Implications of the distribution patterns of the species of *Oligosarcus* (Teleostei, Characidae) from Central and Southern South America. Pp. 295-304. In: Vanzolini PE, Heyer WR (eds.), *Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brasil.
- Menezes NA, Weitzman SH, Oyakawa OT, Lima FCT, Castro RMCC, Weitzman MJ (2007) *Peixes de Água Doce da Mata Atlântica. Lista preliminar das espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce neotropicais*. Editora do Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Menezes NA, Ribeiro AC, Weitzman S, Torres RA (2008) Biogeography of Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae) revisited: phylogenetic patterns, historical geology and genetic connectivity. *Zootaxa*, 1726, 33-48.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research*. 16:215.
- Moritz C, Faith DP (1998) Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Molecular Ecology*, 7, 419-429.
- Moritz C, Patton JL, Schneider CJ, Smith TB (2000) Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 31, 533-563.
- Murphy WJ, Thomerson JE, Collier GE (1999) Phylogeny of the neotropical killifish family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular and Phylogenetic Evolution*, 13, 289-301.
- Musyl MK, Keenan CP (1992) Population genetics and zoogeography of Australian freshwater golden perch, *Macquaria ambigua* (Richardson 1845) (Teleostei: Percichthyidae), and electrophoretic identification of a new species from the Lake Eyre basin. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 43, 1585-1601.
- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, EUA.
- Pereira EHL, Reis RE, Souza PFM, Lazzarotto H (2003) A new species of the loricariid catfish genus *Hemipsilichthys* from southern Rio de Janeiro coastal rivers, southeastern Brazil (Teleostei: Siluriformes). *Zootaxa*, 285, 1-10.
- Reis RE, Kullander SO, Ferraris, Jr CJ (2003) *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Edipucrs, Porto Alegre, Brasil.

- Ribeiro AC (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(2), 225-246.
- Ribeiro AC, Lima FCT, Riccomini C, Menezes NA (2006) Fishes of the Atlantic Rainforest of Boracéia: testimonies of the Quaternary fault reactivation within a Neoproterozoic tectonic province in Southeastern Brazil. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 17 (2), 157-164.
- Riccomini CL, Sant'Anna LG, Ferrari AL (2004) Evolução geológica do rift continental do sudeste do Brasil. Pp. 383-405. In: Mantesso-Neto V, Bartorelli A, Carneiro CDR, Brito-Neves BB (Eds.). *Geologia do continente Sul-Americano: Evolução da obra de Fernando Flávio Marques de Almeida*. Editora Beca, São Paulo, Brasil.
- Rosa RS, Lima FCT (2008) Os peixes brasileiros ameaçados de extinção. In: Machado ABM, Drummond GM, Paglia AP. (Org.). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de extinção. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, v. II, p. 9-285.
- Ruzzante DE, Walde SJ, Cussac VE, Dalebout ML, Seibert J, Ortubay S, Habit E (2006) Phylogeography of the Percichthyidae (Pisces) in Patagonia: roles of orogeny, glaciations, and volcanism. *Molecular Ecology*, 15, 2949–2968.
- Serra JP, Carvalho FR, Langeani, F (2007) Ictiofauna do rio Itatinga in Parque das Neblinas, Bertioga, Estado de São Paulo: composition and biogeography. *Biota Neotropica*, 7(1), 131–136.
- Suguio, K (1999) As mudanças de nível relativo do mar durante o Quaternário tardio no Brasil Pp. 237-267. In: *Geologia do Quaternário e mudanças ambientais*. Editora Paulo's Comunicações e Artes gráficas, São Paulo, Brasil.
- Taylor WR, van Dyke GC (1985) Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*, 9, 107–109.
- Torres RA, Ribeiro J (2008) The remarkable species complex *Mimagoniates microlepis* (Characiformes: Glandulocaudinae) from the Southern Atlantic Rain forest (Brazil) as revealed by molecular systematic and population genetic analyses. *Hydrobiologia*, 617, 157-170.
- Torres RA, Motta TS, Nardino DN, Adam ML, Ribeiro J (2008) Chromosomes, RAPDs and evolutionary trends of the Neotropical fish *Mimagoniates microlepis* (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae) from coastal and continental regions of the Atlantic forest, Southern Brazil. *Acta Zoologica*, 89(3), 253–259.
- Unmack PJ, Bennin AP, Habit EM, Victoriano PF, Johnson JB (2009) Impact of ocean barriers, topography, and glaciations on the phylogeography of the catfish *Trichomycterus*

- areolatus* (Teleostei: Trichomycteridae) in Chile. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97, 876-892.
- Villa-Verde L, Costa WJEM (2006) A new glanapterygine catfish of the genus *Listrura* (Siluriformes: Trichomycteridae) from the southeastern Brazilian coastal plains. *Zootaxa*, 1142, 43–50.
- Weitzman SH, Menezes NA, Weitzman MJ (1988) Phylogenetic biogeography of the Glandulocaudini (Teleostei: Characiformes, Characidae) with comments on the distributions of the freshwater fishes in Eastern and Southeastern Brazil. Pp. 379-427. In: Vanzolini PE, Heyer WR (eds.), *Proceedings of a workshop on Neotropical distributions pattern*, Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brasil.
- Wallis GP, Trewick SA (2001) Finding fault with vicariance: a critique of Heads. *Systematic Biology*, 50, 602–609.
- Waters JM, Lintermans M, White RWG (1994) Mitochondrial DNA variation suggests river capture as a source of vicariance in *Gadopsis bispinosus* (Pisces: Gadopsidae). *Journal of Fish Biology*, 44, 549–551.
- Waters JM, Wallis GP (2000) Across the Southern Alps by river capture? Freshwater fish phylogeography in South Island, New Zealand. *Molecular Ecology*, 9, 1577–1582.
- Waters JM, Esa YB, Wallis GP (2001) Genetic and morphological evidence for reproductive isolation between sympatric populations of *Galaxias* (Teleostei: Galaxiidae) in South Island, New Zealand. *Biological Journal of the Linnean Society*, 73, 287–298.
- Wright S (1978) *Evolution and the genetics of populations*. The University of Chicago Press, Londres, Inglaterra.
- Zamudio KR, Robertson JM, Chan LM, Sazima I (2009) Population structure in the catfish *Trichogenes longipinnis*: drift offset by asymmetrical migration in a tiny geographic range. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97, 259-274.