

**Filogeografia de peixes de água doce: estado da arte e estudo
comparativo em uma ecorregião neotropical**

Rayana Tiago Dutra

6

Salvador

2024

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução
Universidade Federal da Bahia

**Filogeografia de peixes de água doce: estado da arte e
estudo comparativo em uma ecorregião neotropical**

Rayana Tiago Dutra

Salvador

2024

Rayana Tiago Dutra

**Filogeografia de peixes de água doce: estado da arte e
estudo comparativo em uma ecorregião neotropical**

Tese de doutorado apresentada ao
Instituto de Biologia da Universidade
Federal da Bahia para obtenção do
Título de Doutora em Biodiversidade e
Evolução pelo Programa de Pós-
Graduação em Biodiversidade e
Evolução.

Orientadora: Dra. Priscila Camelier

Salvador

2024

Ficha catalográfica

Comissão julgadora

Filogeografia de peixes de água doce da Região Neotropical: estado da arte e estudo comparativo na Ecorregião Mata Atlântica Nordeste

Rayana Tiago Dutra

Orientadora: Dra. Priscila Camelier

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre/Doutor na área de Biodiversidade e Evolução.

Aprovada por:

Em: 06 de dezembro de 2024.

Profª. Dra.: Andrea Tonolli Thomaz

Prof. Dr.: Henrique Batalha-Filho

Prof. Dr.: Roberto Esser dos Reis

Profª. Dra.: Vanessa Rodrigues Paixão-Côrtes

Profª. Dra. Priscila Camelier

Orientadora

*À memória da minha irmã, cuja vida e amor seguem iluminando meu caminho e
inspirando cada conquista*

"Impara a vedere. Renditi conto che tutto è connesso a tutto il resto."

Leonardo da Vinci

"Aprenda a enxergar. Perceba que tudo se conecta a tudo o resto."

Agradecimentos

Foram quase cinco anos de uma jornada intensa e inesquecível, que marcaram um divisor de águas em minha vida pessoal e profissional. Durante esse tempo, vivi aprendizados profundos e transformadores e, ao olhar para tudo o que percorri, o sentimento que me invade é de dever cumprido. Muitas pessoas foram essenciais para que eu chegasse até aqui e espero conseguir transmitir, ao menos em parte, o quanto sou grata a cada uma delas.

Em primeiro lugar, à minha orientadora, Priscila Camelier. Obrigada, de coração, por aceitar me orientar, mesmo sabendo que não fomos a primeira escolha uma da outra. Não me arrependo nem por um segundo dessa parceria. Você foi exatamente o que eu precisava para voltar a acreditar em mim mesma e entender que eu poderia, sim, fazer ciência. Juntas, enfrentamos tantas dificuldades, anos de pandemia, crises existenciais, incontáveis dramas e surtos. Mas, ao mesmo tempo, vivemos momentos de pura alegria: boas risadas (sua gargalhada é, sem dúvida, a melhor!), saídas e celebrações. Sua paciência (mesmo quando nem tanto, rs), compreensão e empatia foram os pilares que me sustentaram em cada etapa deste processo. Você não é apenas uma cientista e professora brilhante, mas também a orientadora que todo aluno sonha em ter — com uma generosidade e humanidade que são raras. Seus ensinamentos ultrapassaram os limites do laboratório, me mostrando que, além de ser uma boa cientista, é preciso ser uma pessoa íntegra, acolhedora e generosa. Agradeço por cada hora dedicada à leitura, correção e discussão deste trabalho, pelas ideias que enriqueceram minha pesquisa e, principalmente, pelo constante incentivo e apoio em todos os momentos.

À Universidade Federal da Bahia, por ser um espaço de transformação, oportunidades e aprendizados, que me proporcionou uma jornada única de crescimento pessoal e acadêmico. Ao Instituto de Biologia, por me oferecer experiências inesquecíveis, me apresentar pessoas que levarei para o resto da vida e por proporcionar uma formação de qualidade. Agradeço também às pessoas que fazem parte desse lugar e que sempre me receberam com sorriso no rosto, tornando cada dia mais alegre e especial: Sérgio, Gabriela, Tati, Laura e Dona Lurdes.

Aos órgãos de fomento, FAPESB, CAPES e CNPq, pelos financiamentos que possibilitaram a execução da tese e principalmente pela FAPESB pela bolsa concedida.

Às instituições que cederam material (*vouchers* e/ou tecido) para o desenvolvimento do presente trabalho: Laboratório de Biologia e Genética de Peixes da UNESP, Campus Botucatu, Museu de História Natural da Bahia, Museu de Zoologia da USP, Universidade Federal do Rio Grande do Norte e Universidade Federal de Sergipe.

Aos membros da minha banca examinadora, profa. Dra. Andrea Thomaz, profa. Dra. Vanessa Paixão-Côrtes, prof. Dr. Henrique Batalha-Filho e o prof. Dr. Roberto Reis, agradeço profundamente pela disponibilidade, atenção e pelas valiosas contribuições ao longo deste trabalho. Suas sugestões e comentários certamente serão fundamentais para aprimorar esta pesquisa e ampliar meu entendimento. É uma honra contar com a experiência e o conhecimento de cada um de vocês nesta etapa tão importante da minha trajetória.

Ao Laboratório de Sistemática e Biogeografia Animal (SIBA), minha segunda casa ao longo desses últimos anos. Sou imensamente grata por este espaço de acolhimento, onde aprendi tanto e cresci como pesquisadora, cientista, profissional e como pessoa. A solidariedade, a amizade e o amor presentes nesse ambiente foram fundamentais para superar desafios e celebrar conquistas.

Às professoras e aos professores que tive ao longo desses anos, minha gratidão por todo o ensinamento e pelas boas referências que carrego. Um agradecimento especial à professora Ana Carolina Almeida, por todas as horas de trabalho, paciência e dedicação. Sem seus ensinamentos, o capítulo 1 jamais teria saído do papel. À Angela Zanata pelo tempo de discussão para tentar entender os resultados e pelos saberes ictiológicos compartilhados, não posso esquecer das comidinhas deliciosas, pelas sextas de “ictioartes” e pelas melhores festas temáticas possíveis.

Aos amigos do SIBA, LAIC e do Ictiologia_UFBA, Tiago, Larissa, George, Andrey, Yasmin, Adrian, Bruno, Elizia, Ellen, Hudson, Jader, Leo, Magno e Peterson, vocês são incríveis! Que possamos continuar nos reunindo para falar de peixes e fortalecer os laços que criamos.

Ao Laboratório de Evolução e Biogeografia (LEBI), por possibilitar a realização de toda a parte experimental deste estudo. Obrigada ao prof. Henrique por todo suporte e apoio. Aos amigos do LEBI, Cecil, Isa, Maisa e Natália, obrigada pelos momentos de conversa e aprendizado que tanto contribuíram para meu crescimento.

Agradeço ao cirurgião-dentista Marquinhos, por sempre cuidar dos meus dentes durante o horário de almoço, por compartilhar boas risadas e, claro, por sempre aparecer no laboratório nos momentos de "loucura" que tornam tudo mais divertido e leve.

À minha turma, por dividir essa jornada comigo, em especial a Cássia, Airan, Evelyn e Sabrina. Obrigada por compartilharem os momentos e os surtos deste período, por encontrarem formas de tornar tudo mais leve e divertido e por todas as horas de conversas que nos ajudaram a enfrentar os desafios juntos. Vocês tornaram esse caminho muito mais especial.

Ao meu G4 – Rafa, Amandinha e Bruno – que loucura foi aquela que vivemos? Quatro projetos, dois livros, dias em que dormíamos e acordávamos juntos, sempre conectados por 15 horas seguidas. Foram dois anos intensos, de muito aprendizado e trabalho duro, mas também de conquistas inesquecíveis. Não poderia imaginar ter enfrentado essa jornada sem vocês. Criamos nosso primeiro projeto de extensão, apresentei em congresso, dei aula para mais de 300 pessoas e, juntos, fomos os melhores que a C8 poderia ter. Tenho muito orgulho de nós. Amo vocês!

Sabe aquela história de irmão mais velho? Eu posso fazer o que for com vocês, mas ninguém ousa brigar ou falar qualquer coisa com vocês. Ellen, Elizia, Jader e Magno, vocês são as melhores pessoas que eu poderia pedir no laboratório. Se alguém falar um “ai” de vocês, vamos quebrar todo mundo! Amo cada um, exatamente do jeito que são: birrentos, dramáticos, hipocondríacos... e o resto prefiro não mencionar, para não criar provas para Elizia e seu inseparável *Vade Mecum*. Se eu pudesse, protegeria vocês de todo o mal, porque vocês realmente são importantes para mim. Os laços que criamos aqui vão muito além do laboratório e serão eternos. Tenho certeza de que o futuro de cada um de vocês é brilhante e me sinto privilegiada por ter compartilhado essa jornada ao lado de pessoas tão especiais.

À minha família, minha base e maior fonte de força. Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional em todos os momentos desta jornada. À minha mãe, Kátia, minha heroína, que esteve ao meu lado nas horas mais difíceis, oferecendo suporte, palavras de incentivo e força quando o desânimo e o cansaço tentavam me derrubar. Ao meu pai, Pedro, que nunca deixou de acreditar em mim e sempre foi meu maior motivador. Sem vocês, nada disso seria possível. Tudo o que conquistei é reflexo do amor e da dedicação que recebi de vocês ao longo da vida.

Ao meu irmão, Diego, que sempre esteve presente em cada etapa da caminhada da minha vida. Sua presença é uma força constante para mim. Aos meus lindos sobrinhos Felipe, Gustavo e Heitor, por quem não há palavras que expressem todo o amor que sinto. Vocês são a alegria da tia!

À minha irmã Rayssa (in memoriam), cuja ausência é sempre sentida, mas cujo amor permanece eterno em meu coração. Por mais que o tempo passe, a saudade não diminui, e “cada verso meu será, pra te dizer que eu sempre vou te amar, por toda a minha vida”.

À minha amiga-irmã Carol, cúmplice e parceira de tantas jornadas, que me presenteou com outros três sobrinhos: João, Miguel e Arthur, meu afilhado arteiro. Obrigada por todo o carinho e por ser essa presença tão especial na minha vida.

À minha parceira de aventuras, Bia, mesmo que a distância nos separe, sei que estaremos sempre perto em coração e amizade.

À minha família de Salvador, que me ensinou a amar e admirar novamente. Em meio a tudo o que aconteceu, vocês me mostraram que eu nunca estava sozinha. À minha família de Conquista, minhas avós Tania e Yara, queria dar o mundo para vocês, ao meu avô querido Gessy te amo, minhas tias que tanto amo e admiro, vocês são a força para continuar, amo vocês muito.

E, por fim, agradeço a todos que de alguma forma fizeram parte dessa caminhada, cada um contribuindo para que eu chegasse até aqui. Sou eternamente grata por tudo e por todos.

Índice

Resumo	11
Abstract	13
1. Introdução geral	15
1.1. Estudos sobre o estado da arte: objetivos, métodos de análise e exemplo com o tema filogeografia.....	15
1.2. Bacias hidrográficas como cenários para estudos de Biogeografia	
1.3. Peixes de água doce como modelo para estudos filogeográficos: destaque para a ictiofauna da Região Neotropical	25
1.4. A ecorregião de água doce Mata Atlântica Nordeste	26
2. Objetivos.....	34
2.1 Objetivos Gerais.....	34
2.2 Objetivos Específicos	34
3. Capítulo 1- What do we know about the phylogeography of freshwater fishes? An overview from 2007 to 2020!	36
4. Capítulo 2- Comparative phylogeography of freshwater fish species co-distributed in the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion	69
5. Conclusões Gerais	154
6. Referências Bibliográficas Gerais	156
7. Anexos	164

Resumo

A história filogeográfica dos peixes de água doce está intimamente ligada à história da paisagem, tornando-os bons modelos para estudos desta natureza. Apesar disto, a literatura indica que os trabalhos de filogeografia com o grupo ainda são incipientes, especialmente na Região Neotropical, que abriga a maior riqueza e diversidade destes organismos. Embora esta informação seja apresentada em alguns estudos, em nenhum deles foi realizada uma revisão sistemática da literatura disponível para avaliar o estado da arte da filogeografia de peixes de água doce. Assim, no capítulo um desta tese, foram analisados 306 artigos científicos sobre o tema publicados entre 2007 e 2020, com foco na ictiofauna da Região Neotropical. Os resultados indicam que os estudos estão concentrados na parte norte do globo, com os trabalhos realizados com a ictiofauna neotropical sendo limitados a poucas espécies e utilizando predominantemente marcadores mitocondriais, embora o uso de marcadores nucleares esteja crescendo. Já no capítulo 2, foi realizado um estudo de filogeografia comparada de peixes da ecorregião de água doce Mata Atlântica Nordeste (NMAF), uma das 70 propostas para a Região Neotropical. O estudo focou no Grupo Norte (GN) da NMAF, que inclui uma série de bacias atualmente isoladas entre si, que drenam um trecho do continente onde a plataforma continental é muito estreita, o que pode ter afetado a conectividade pretérita destas bacias associada às flutuações do nível do mar. Apesar do atual isolamento, as bacias do GN da NMAF compartilham algumas espécies de peixes das ordens Characiformes e Siluriformes, que foram utilizadas como modelo no presente estudo para testar em nível populacional se o tamanho da plataforma continental pode, de fato, ter interferido na conectividade entre estas drenagens e sua ictiofauna. Para isto, foram realizadas análises multilocus, com base em marcadores mitocondrial e nucleares, para as espécies *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *H. parvulus* e *Parotocinclus bahiensis*. Os resultados encontrados apontam para histórias filogeográficas distintas entre as espécies, refletindo variações no padrão de estruturação genética. Apesar das diferenças, de forma geral, o tamanho reduzido da plataforma continental pode ter contribuído para a estruturação encontrada, evidenciada pelo pequeno número de haplótipos compartilhados entre as bacias, especialmente nos trechos mais próximos à costa, já na planície litorânea. Além disso, *H. itaparicensis*, a espécie com distribuição mais costeira apresentou maior estruturação filogeográfica em comparação com aquelas distribuídas ao longo das bacias, evidenciando também a influência de eventos geomorfológicos distintos

em diferentes trechos das bacias do GN da NMAF. Interessantemente, os resultados encontrados apontaram para uma história biogeográfica ainda mais complexa do que aquela já proposta para as bacias hidrográficas da NMAF e sua ictiofauna.

Palavras-chave: ecorregião Mata Atlântica Nordeste, genética de populações, ictiofauna, paleodrenagens costeiras, plataforma continental brasileira, revisão de literatura

Abstract

The phylogeographic history of freshwater fishes is closely linked to the history of the landscape, making them excellent models for studies of this nature. However, the literature indicates that phylogeographic research on this group remains in its early stages, mainly in the Neotropical Region, which hosts the greatest richness and diversity of these organisms. Although some studies present this information, none have conducted a systematic review of the available literature to assess the state of the art in freshwater fish phylogeography. Thus, in Chapter 1 of this thesis, 306 scientific articles on the subject published between 2007 and 2020 were analyzed, focusing on the ichthyofauna of the Neotropical Region. The results show that studies are concentrated in the northern hemisphere, while research on Neotropical ichthyofauna has been limited to a few species and predominantly uses mitochondrial markers, although the use of nuclear markers is increasing. In Chapter 2, a comparative phylogeographic study was conducted on fishes from the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion (NMAF), one of the 70 proposed for the Neotropical Region. The study focused on the North Group (NG) of the NMAF, which includes a series of river basins that are currently isolated from one another. These basins drain a portion of the continent where the continental shelf is very narrow, potentially affecting the historical connectivity of these basins due to sea level fluctuations. Despite their current isolation, the NG basins of the NMAF share some fish species from the orders Characiformes and Siluriformes, which were used as models in this study to test at the population level whether the size of the continental shelf may, in fact, have influenced connectivity between these drainages and their ichthyofauna. For this purpose, multilocus analyses were performed using mitochondrial and nuclear markers for the species *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *H. parvellus*, and *Parotocinclus bahiensis*. The results revealed distinct phylogeographic histories among the species, reflecting variations in genetic structuring patterns. Despite these differences, the overall findings suggest that the reduced size of the continental shelf may have contributed to the observed structuring, as evidenced by the small number of haplotypes shared between basins, particularly in areas closer to the coast, such as the coastal plain. Furthermore, *H. itaparicensis*, the species with the most coastal distribution, exhibited greater phylogeographic structuring compared to those distributed along the basins, highlighting the influence of distinct geomorphological events in different sections of the NG basins of the NMAF. Interestingly, the results pointed

to an even more complex biogeographical history than that already proposed for the NMAF basins and their ichthyofauna.

Keywords: Brazilian continental shelf, coastal paleodrainages, ichthyofauna, Northeastern Mata Atlântica ecoregion, population genetics

1. Introdução geral

1.1 Estudos sobre o estado da arte: objetivos, métodos de análise e exemplo com o tema filogeografia

Nas últimas décadas, acompanhando a expansão da ciência e da tecnologia, tornou-se cada vez mais evidente a necessidade de avaliar essas expansões e de determinar os desenvolvimentos alcançados pelas diversas áreas do conhecimento (ULARU *et al.*, 2012). A internet, por exemplo, foi uma das maiores revoluções tecnológicas e mudou completamente a forma como as pessoas acessam a informação e se conectam. Assim, muitos dados têm sido gerados em um curto espaço de tempo, de maneira que estudos de revisão de literatura são necessários de tempos em tempos para entender e compreender a direção das pesquisas (ULARU *et al.*, 2012), fornecendo informações valiosas sobre o “estado da arte” das mesmas.

O “**estado da arte**” é uma análise abrangente e sistemática das pesquisas, estudos, publicações e descobertas relacionados a um determinado tema ou assunto (FERREIRA, 2002; PATRA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2020), realizada a partir de uma revisão crítica do conhecimento atualmente disponível, que inclui tanto as contribuições mais relevantes quanto as lacunas ainda existentes na literatura sobre o tema em questão (FLORES-SILVA e MODRZEJEWSKI, 2020). Assim, o principal objetivo de um trabalho que tem como foco avaliar o estado da arte de um determinado assunto é fornecer um panorama claro e atualizado sobre este, além de reconhecer o seu processo evolutivo com seus múltiplos enfoques e perspectivas (ROMANOWSKI e ENS, 2006). De acordo com Santos e Morosini (2021), existem diferentes tipos de estudos desta natureza e a escolha do método a ser utilizado depende do objetivo e de quais perguntas se pretende responder. Os principais métodos analíticos associados aos estudos sobre o estado da arte têm suas raízes na **bibliometria** e na **cienciometria**, duas áreas voltadas para a análise quantitativa de dados em ciência e tecnologia, mas que diferem em vários aspectos (*e.g.* VANTI, 2002; PARRA *et al.*, 2019). A bibliometria é um campo da ciência da informação que usa métodos estatísticos e matemáticos para analisar a produção e uso da literatura científica em todas as áreas do conhecimento (ALVARADO, 1984). Sendo assim, a bibliometria pode ser utilizada como fonte de informação sobre a estrutura do conhecimento publicado e divulgado, concentrando-se na coleta e análise de dados bibliográficos para medir a quantidade e o

impacto de publicações acadêmicas, bem como a frequência de citações destes estudos em trabalhos diversos (LIMA, 1986; BUFREM; PRATES, 2005; PATRA *et al.*, 2006). Por estas razões, a bibliometria é utilizada, por exemplo, para avaliar a qualidade de revistas e periódicos científicos, medidas de produtividade de autores e instituições, bem como para construir redes de colaboração e avaliar a importância de uma determinada disciplina científica (LIMA, 1986; PARRA *et al.*, 2019). Já a cienciometria é um método mais amplo, que inclui a medição e análise de diversas fontes de dados, como patentes, financiamentos, redes de colaboração e dados de acesso aberto, que se dedica à avaliação da produção científica e à identificação de tendências e padrões nas pesquisas (HAYASHI, 2013; PARRA *et al.*, 2019). Um estudo cienciométrico, portanto, utiliza métodos quantitativos para analisar a produção, o desempenho e o impacto da ciência, com foco em diferentes áreas do conhecimento (MACIAS-CHAPULA, 1998; PARRA *et al.*, 2019). Assim, estes dois tipos de estudos focados em apresentar o estado da arte de um determinado tema, embora complementares, diferem em aspectos importantes: a bibliometria está direcionada a contar e medir os resultados das publicações científicas enquanto a cienciometria busca compreender o significado e impacto da produção científica e tecnológica em uma determinada área (ver Tabela 1). Por outro lado, é interessante destacar que a cienciometria é amplamente utilizada em estudos bibliométricos que analisam a literatura científica e os dados sobre publicações científicas, citações e colaborações entre pesquisadores (*e.g* BEHEREGARAY, 2008; CHAVALARIAS e COINTET, 2009, 2013; MIGUEL *et al.*, 2017; KHOKHLOV e MORGUNOVA, 2020; PINTO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2024).

Tabela 1. Tipologia para definição e classificação de métodos de análise do estado da arte de um determinado tema: bibliometria e cienciometria. Modificado de Macias-Chapula (1988).

Tipologia	Bibliometria	Cienciometria
Objetos de estudo	Livros, documentos, revistas, artigos, autores, usuários	Disciplinas, assunto, áreas, campos
Variáveis	Número de empréstimos (circulação) e de citações, frequência de extensão de frases etc.	Fatores que diferenciam as subdisciplinas. Revistas, autores, documentos. Como os cientistas se comunicam
Métodos	Ranking, frequência, distribuição	Análise de conjunto e de correspondência
Objetivos	Alocar recursos: tempo, dinheiro etc.	Identificar domínios de interesse. Onde os assuntos estão concentrados. Compreender como e quando os cientistas se comunicam

A cienciometria sistemática, por sua vez, é uma vertente de pesquisas de revisão bibliográfica, que agrega uma revisão sistemática da literatura, permitindo uma junção de dados de pesquisas científicas e de seu estado do conhecimento, sendo uma ferramenta de determinação de quantidade de publicações científicas para uma área específica (LAURINDO e MAFRA, 2010). Ainda segundo estes autores, a cienciometria sistemática demonstra as oscilações de estudos e conhecimentos de futuras publicações. Muitos estudos de revisão bibliográfica são feitos com base na cienciometria sistemática ou com base na junção das duas análises, cienciométrica e bibliométrica, como mencionado anteriormente (e.g. BEHEREGARAY, 2008; KHOKHLOV, 2020, PINTO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2024). Um exemplo de estudo feito desta forma é apresentado a seguir.

Exemplo de um estudo sobre o estado da arte relacionado ao tema “filogeografia”

A filogeografia é uma ciência que tem suas raízes nos campos da biogeografia histórica e genética de populações (BERMINGHAN e MORITZ, 1998), tendo como foco o estudo dos princípios e processos, históricos e contemporâneos, que influenciaram a distribuição geográfica das linhagens genealógicas, em especial dentro e/ou entre espécies proximamente relacionadas (AVISE *et al.*, 1987). Beheregaray (2008) realizou uma revisão bibliográfica sobre filogeografia, na qual integrou os dois principais métodos aplicados em estudos focados em analisar o estado da arte de um determinado tema mencionados anteriormente, a bibliometria e cienciometria. Nesse trabalho, cujo objetivo principal foi descrever e analisar de forma detalhada os 20 primeiros anos da filogeografia enquanto área da ciência (*i.e.* desde seu surgimento em 1987 até 2006), o autor teve dois objetivos específicos, o de apresentar uma síntese numérica da literatura filogeográfica (bibliometria) e o de chamar a atenção para as disparidades na produtividade da pesquisa em filogeografia entre diferentes regiões do mundo, comentando sobre os obstáculos enfrentados por pesquisadores de algumas instituições (cienciometria). Uma das análises bibliométricas realizada por Beheregaray (2008) é evidenciada na Figura 1, na qual o autor apresenta a porcentagem de artigos publicados sobre filogeografia por continente considerando a distribuição dos organismos utilizados nestes estudos. Esse tipo de análise fornece um panorama geral para quais áreas do globo se conhece a história filogeográfica de determinados táxons. Já na Figura 2, observa-se o aspecto cienciométrico do estudo de Beheregaray (2008). Nesta, o autor apresenta um gráfico no qual relaciona o *Gross Domestic Product* (GDP, *i.e.* Produto Interno Bruto) de cada país com o número de artigos sobre

filogeografia produzidos por pesquisadores alocados neste país, indicando que quanto maior o PIB maior a quantidade de artigos sobre este tema produzidos.

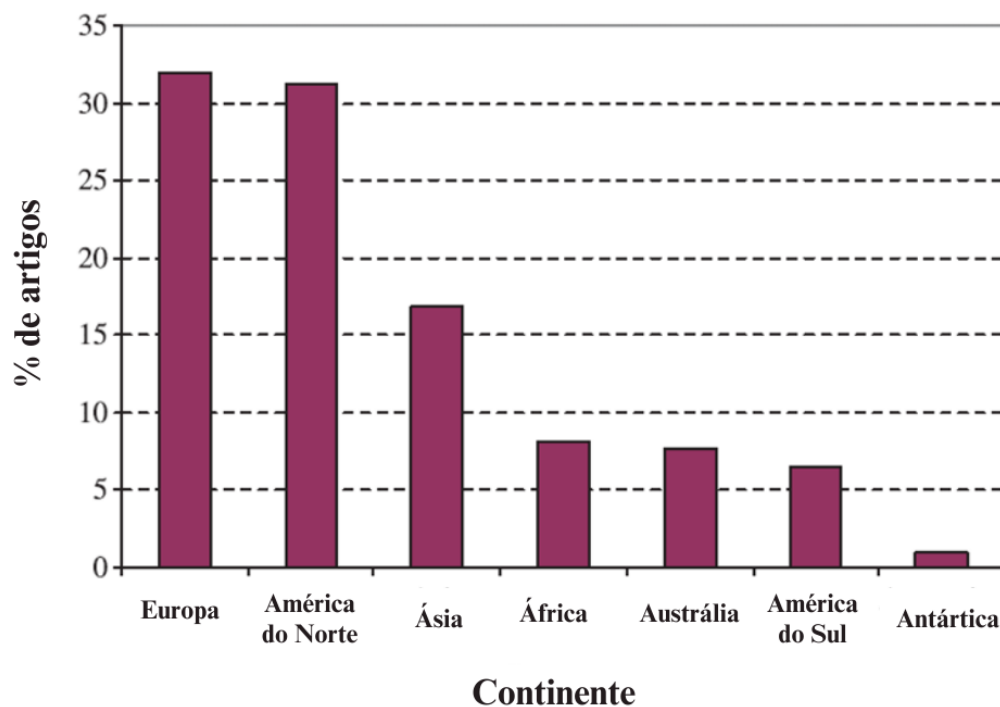


Figura 1. Porcentagem dos artigos sobre filogeografia publicados entre 1987 e 2006 por continente com base na distribuição dos organismos estudados. Fonte: Traduzido de Beheregaray (2008).

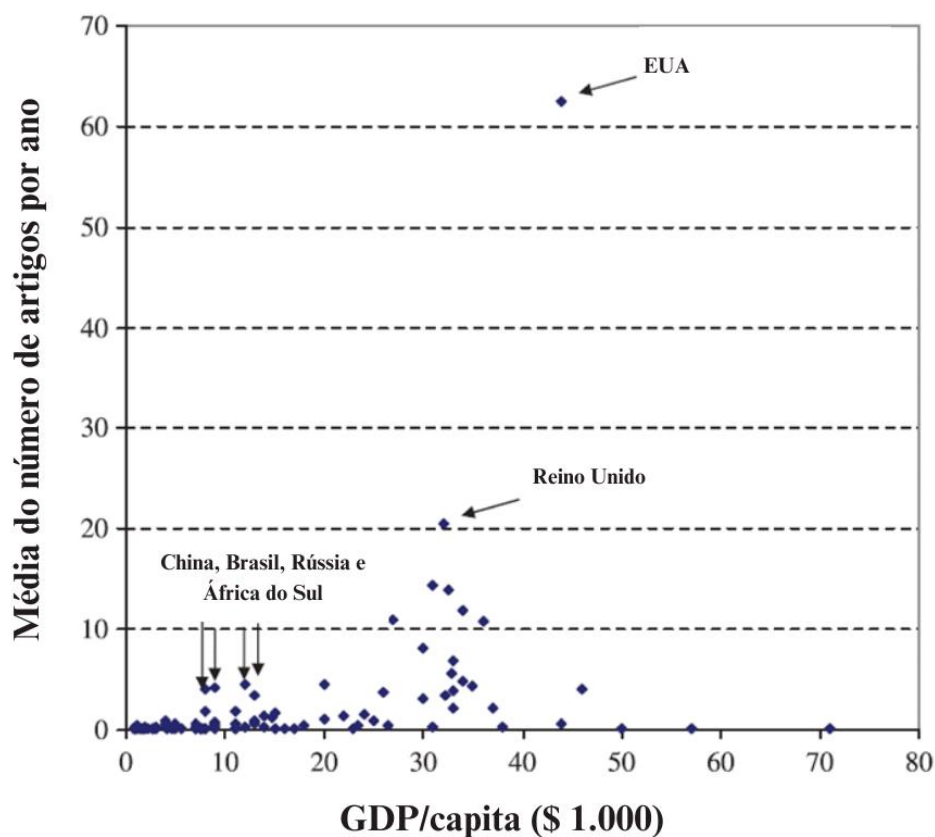


Figura 2. Produtividade de pesquisa e riqueza dos 100 países que mais publicaram artigos sobre filogeografia no período de 1987 e 2006. A produtividade é medida pelo número médio de publicações por ano e a riqueza o *Gross Domestic Product* (GDP, i.e. Produto Interno Bruto). Fonte: Traduzido de Beheregaray (2008).

Além de ter sintetizado o conhecimento sobre a filogeografia até aquele momento, Beheregaray (2008) também chamou atenção para algumas lacunas no conhecimento nesta área da ciência (*e.g.* áreas ou táxons estudados). De acordo com os dados levantados pelo autor, por exemplo, a grande maioria dos estudos filogeográficos realizados nos primeiros 20 anos do campo teve como foco organismos terrestres, especialmente vertebrados. Entre estes animais, os peixes representam o segundo grupo focal mais estudado (só perdem para mamíferos), mas apenas cerca de 6% dos estudos envolveram a ictiofauna ocorrente na América do Sul (BEHEREGARAY, 2008), que, para os peixes de água doce, é a mais rica e diversa do mundo (REIS, 2016). O trabalho de Beheregaray (2008) cumpre ainda outro importante papel dos trabalhos que revisão: servir de incentivo e base para o desenvolvimento de novos estudos naquela área. Estes estudos, por sua vez, podem incluir

outras análises revisionais para a atualização do estado da arte do tema, como as realizadas por alguns autores que analisaram dados de estudos filogeográficos em anos subsequentes (*e.g.* HICKERSON *et al.*, 2010; ARBELÁEZ-CORTÉS, 2013; HERNÁNDEZ-CANCHOLA *et al.*, 2021). Considerando que estudos de revisão são necessários de tempos em tempos (ULARU *et al.* 2012), que já se passaram mais de dez anos desde a publicação do trabalho de Beheregaray (2008) e que este estudo não teve como foco a filogeografia de peixes de água doce, o capítulo um do presente trabalho contém uma análise do estado da arte deste tema, com especial destaque para a Região Neotropical.

1.2. Bacias hidrográficas como cenários para estudos de biogeografia

A biogeografia é a ciência que se preocupa em documentar e compreender a distribuição da biodiversidade no espaço e no tempo (BROWN e LOMOLINO, 2006; RIDLEY, 2006; CARVALHO e ALMEIDA, 2011), sendo dos seus objetivos compreender e/ou estabelecer padrões de distribuição. Padrões podem ser definidos como uma organização não aleatória e repetitiva. A ocorrência de padrões distribucionais no mundo natural sugere que estes tenham sido gerados por processo ou processos biogeográficos gerais (BROWN e LOMOLINO, 2006; ALMEIDA e SANTOS, 2011). Esses processos, que atuam na formação de padrões biogeográficos, são causas ou conjuntos de causas responsáveis pela distribuição de um táxon, podendo ser abióticos ou bióticos (ALMEIDA e SANTOS, 2011). Processos abióticos, *i.e.* processos espaço-temporais do planeta, incluem os movimentos tectônicos das placas continentais, as mudanças no nível dos mares, mudanças no clima e nas correntes oceânicas. Esses processos normalmente operam em conjunto. Já em uma escala local, por exemplo, processos como erupções vulcânicas, fogo, furacões e modificações nas redes hidrográficas também influenciam a distribuição dos organismos. Os processos bióticos, *i.e.* processos espaço-temporais dos organismos, podem ser tanto evolutivos (*e.g.* adaptação, especiação e extinção) quanto ecológicos (*e.g.* interações bióticas como predação, competição e dispersão) (CARVALHO e ALMEIDA, 2011). Com isso, um evento biogeográfico pode ser definido como qualquer processo (*i.e.* causa ou conjunto de causas responsáveis pela distribuição geográfica de um táxon) capaz de modificar as distribuições de táxons: vicariância, dispersão, extinção, desaparecimento de barreira (CARVALHO e ALMEIDA, 2011). Sendo assim, para estudar biogeografia, é imprescindível não apenas compreender o(s) táxon(s) modelo(s), mas também entender sobre as áreas de interesse.

Neste sentido, por exemplo, o conhecimento da história das bacias hidrográficas é essencial para os estudos biogeográficos de organismos de água doce (*e.g.* peixes, esponjas, algas, crustáceos) ou daqueles cuja distribuição está associada em algum nível ao curso dos rios (*e.g.* anfíbios, aves, répteis) (BROWN e LOMOLINO, 2006).

As bacias hidrográficas são um conjunto de terras drenadas por um corpo d'água principal e seus afluentes, que inclui todos os componentes bióticos e abióticos dentro de suas fronteiras (BARRELLA *et al.*, 2000; SCHIAVETTI e CAMARGO, 2002; TEODORO *et al.*, 2007). O perímetro da bacia é limitado pelas partes mais altas de um relevo, que funcionam normalmente como divisores de águas, uma vez que as bacias hidrográficas se encontram isoladas umas das outras após sua formação (LEOPOLD *et al.*, 2020). O sistema de drenagem de uma bacia é constituído pelo rio principal e seus tributários; o estudo das ramificações e do desenvolvimento do sistema é importante, pois além dele ser indicador da maior ou menor velocidade com que a água deixa a bacia hidrográfica (SCHIAVETTI e CAMARGO, 2002; TEODORO *et al.*, 2007; SMITH *et al.* 2017), também ajuda a compreender a história destas bacias, que pode afetar direta ou indiretamente a distribuição da biota. Aqui, é importante destacar que, embora representem partes isoladas no espaço, as bacias hidrográficas não são consideradas unidades biogeográficas únicas (LIMA e RIBEIRO, 2011; DAGOSTA e DE PINNA, 2017), mas sim como unidades históricas híbridas, que foram fragmentadas e/ou trocaram biota com bacias adjacentes (CAMELIER e ZANATA, 2014; DAGOSTA e DE PINNA, 2017). No geral, esta história híbrida é gerada por uma série de eventos, que podem ter ocorrido em momentos diferentes da história das bacias (DAGOSTA e DE PINNA, 2017) e, aqui, destacam-se dois destes eventos, que serão detalhados a seguir: as capturas fluviais e paleodrenagens.

A captura fluvial, também chamada de captura de cabeceira, é um fenômeno geomorfológico em que as águas de um rio naturalmente alteram seu curso, passando a fluir para uma bacia vizinha por uma nova rota de drenagem (BISHOP, 1995; WILKINSON *et al.*, 2006). Esse processo é influenciado principalmente por fatores geológicos, topográficos, climáticos e tectônicos, sendo um importante fenômeno no processo de desenvolvimento da drenagem (CHRISTOFOLETTI, 1977; SUMMERFIELD, 1991; BISHOP, 1995; WILKINSON *et al.*, 2006). A captura fluvial frequentemente resulta em mudanças bruscas na direção do fluxo do corpo d'água, causadas geralmente por fatores estruturais como fraturas, falhas e variações na resistência litológica (COELHO-NETTO, 2003), formando uma espécie de anomalia conhecida como “cotovelo de captura” (*elbow capture*) (RIBEIRO *et al.*, 2006). Esta anomalia é perceptível no relevo (inclusive em mapas, ver Figura 3), sendo

amplamente mencionada na literatura como evidência da ocorrência de capturas fluviais na América do Sul, que influenciaram na distribuição atual de peixes de água doce, por exemplo (e.g. RIBEIRO *et al.*, 2006; ROXO *et al.*, 2014; CAMELIER *et al.*, 2018; BARRETO *et al.*, 2022; OLIVEIRA-SILVA *et al.*, 2023).

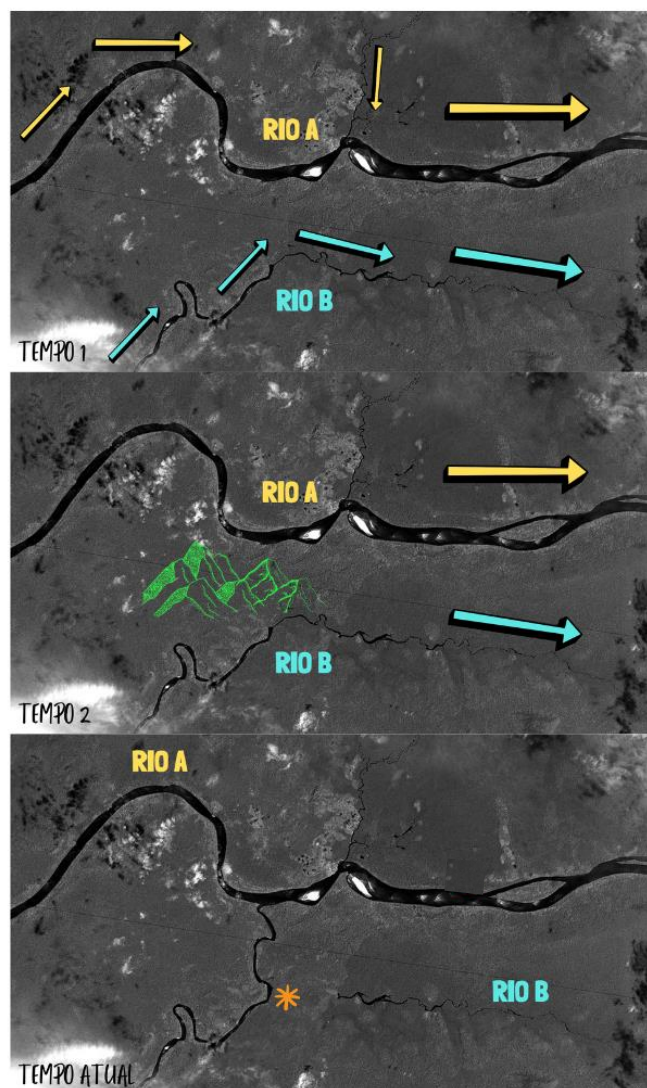


Figura 3. Representação esquemática de uma captura fluvial hipotética, evidenciando o curso dos rios A e B e seus afluentes no tempo 1; o soerguimento de uma montanha ocorrido no tempo 2, que fez com que um trecho do rio B fosse capturado pelo rio A; e a configuração atual dos rios A e B, na qual é possível identificar o local da captura que ocorreu no tempo 2 a partir do “cotovelo de captura”, indicado pelo asterisco (*).

As paleodrenagens, por sua vez, são estruturas geomorfológicas que indicam a presença de antigos rios ou vales em uma determinada área, remanescentes de períodos geológicos passados (MIALL, 2006). Elas representam antigos cursos de água que foram formados em

épocas anteriores da história da Terra (THOMAZ *et al.*, 2015; THOMAZ e KNOWLES, 2020). Esses sistemas fluviais podem ter sido modificados ou desativados devido às mudanças climáticas, alterações geológicas ou movimentos tectônicos por exemplo (MIALL, 1996, 2006; MURRAY-WALLACE e WOODROFFE, 2014). A presença das paleodrenagens exerce uma influência significativa na paisagem das bacias hidrográficas. Embora esses sistemas fluviais não estejam ativos no tempo presente, eles deixam marcas na topografia e nos padrões de drenagem da paisagem atual.

A ocorrência de paleodrenagens é especialmente evidente na linha da costa, onde são denominadas paleodrenagens costeiras. Essas paleodrenagens são importantes indicadores das flutuações do nível do mar ao longo do tempo geológico (GIOSAN *et al.*, 2005), representadas por movimentos de transgressões e regressões marinhas, processos geológicos que podem ter diversas causas (*e.g.* eventos tectônicos, alterações climáticas severas) (CATUNEANU, 2017). Durante as transgressões, o nível de água do mar sobe e este “avança” sobre as terras emersas, já nas regressões, o nível desce e o mar recua em relação às terras, deixando-as expostas (GIOSAN *et al.*, 2005) (Figura 4). Durante as regressões, os rios passam a drenar as áreas de terra expostas e podem se conectar via suas fozes; já nas transgressões, o mar cobre a plataforma continental e os rios, outrora ligados, desconectam-se. Assim como no caso das capturas fluviais, estes eventos ocorreram diversas vezes ao longo do tempo geológico no continente sul-americano, promovendo e interrompendo conexões entre rios na altura da linha da costa (ver THOMAZ *et al.*, 2015; THOMAZ e KNOWLES, 2018, 2020). Recentemente, Thomaz e Knowles (2018), utilizando dados de elevação/batimetria, identificaram mais de 140 paleodrenagens ao longo da costa leste brasileira (ver Figura 4) e propuseram que diferenças na exposição da plataforma continental ao longo da costa afetaram o grau de conectividade passada entre os rios. Exemplos de estudos biogeográficos que identificaram a influência das paleodrenagens costeiras na distribuição da biota são os estudos filogeográficos com peixes de água doce na região costeira do Brasil, que destacam o papel das paleodrenagens do Pleistoceno durante o último máximo glacial na distribuição atual de espécies/populações (*e.g.* DIAS *et al.*, 2014; THOMAZ *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2023).

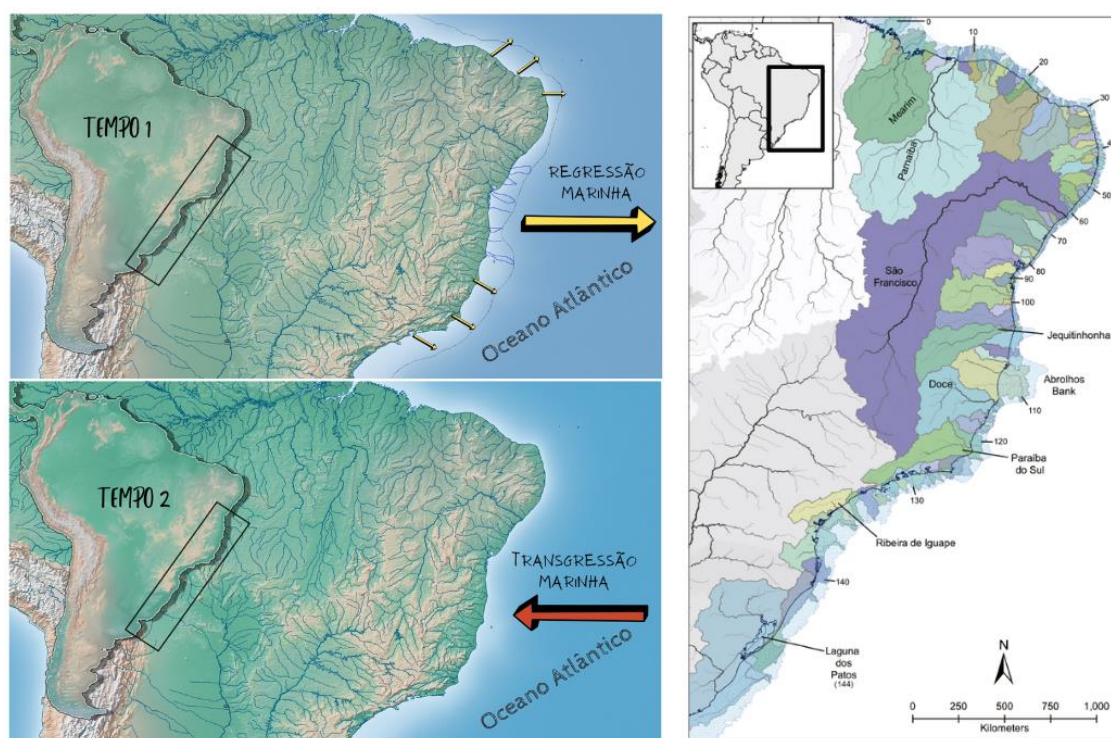


Figura 4. Representação esquemática de eventos hipotéticos de regressão e transgressão marinhas (lado esquerdo) na costa brasileira, na qual é possível observar a consequência dos mesmos nas bacias hidrográficas. Na regressão marinha (tempo 1), algumas bacias se conectam através de suas fozes, enquanto na transgressão (tempo 2), estas conexões são interrompidas. Do lado direito, é apresentado o mapa reconstrução de 145 paleodrenagens propostas para a região por Thomaz e Knowles (2018: fig. 3) para um recuo do nível do mar de -125 m durante os períodos glaciais do Pleistoceno; a linha preta indica a marca atual do litoral brasileiro.

Sendo assim, devido à natureza dendrítica das bacias hidrográficas, associada às mudanças no relevo (CAMPBELL *et al.*, 2007), os sistemas fluviais oferecem cenários complexos e interessantes para testar e/ou discutir hipóteses biogeográficas. Comparadas às paisagens onde os indivíduos se movem através de várias rotas de dispersão, os movimentos de organismos estritamente de água doce dentro das bacias hidrográficas são restritos aos ramos aquáticos destas bacias (DIAS *et al.*, 2012). Assim, a conectividade entre as subpopulações de organismos de água doce depende fortemente da configuração das conexões entre os fragmentos de habitat (RAHEL 2007; DIAS *et al.*, 2012). Como consequência, o grau de conectividade dentro de uma bacia hidrográfica deve ser um mecanismo importante para história evolutiva e biogeográfica dos organismos de água doce (DIAS *et al.*, 2014), tais como os peixes.

1.3. Peixes de água doce como modelo para estudos filogeográficos: destaque para a ictiofauna da Região Neotropical

Peixes de água doce são modelos particularmente interessantes para estudos filogeográficos (AVISE, 2009) devido à sua limitada capacidade de dispersão, o que os tornam sensíveis às mudanças históricas no ambiente (WEITZMAN e WEITZMAN, 1982; VARI, 1988). As barreiras terrestres e a presença do oceano isolam populações em diferentes bacias hidrográficas, já que a maioria das espécies de água doce não é capaz de atravessar áreas terrestres e não tolera ambientes de alta salinidade (VARI, 1988). Assim, a desconexão atual entre as bacias hidrográficas tende a resultar em uma estruturação genética significativa entre as populações de peixes de corpos d'água independentes (AVISE, 2000; WATERS *et al.*, 2007). Como mencionado, a dispersão dos peixes de água doce entre bacias depende de eventos de conexão, como capturas fluviais e paleodrenagens costeiras, que podem permitir a troca de fauna e influenciar o isolamento genético (RIBEIRO, 2006; ALBERT *et al.*, 2011; HIRSCHMANN *et al.*, 2015). Assim, para peixes de água doce, a filogeografia é integralmente relacionada à paisagem e a história da paisagem (AVISE, 2009), reforçando a ideia de o grupo ser um bom modelo de estudo desta natureza.

A ictiofauna de água doce da Região Neotropical é a mais diversificada do mundo, com mais de 6.000 espécies descritas (DAGOSTA e DE PINNA, 2019; ALBERT *et al.*, 2020). As explicações para essa diversificação ainda são poucos estudada, mas, segundo Ribeiro (2006), estas têm caráter histórico e ecológico, estando relacionadas a milhões de anos de evolução, desde a ruptura da Gondwana. Como mencionado, mudanças potencialmente vicariantes, como capturas fluviais e alterações variadas no curso dos rios devido à reconfiguração geomorfológica, contribuíram para a diversificação da ictiofauna na Região Neotropical (LUNDBERG *et al.*, 1998; HUBERT e RENNO, 2006; MORRONE, 2014). Albert *et al.* (2020) apontam que a diversidade de peixes de água doce na América do Sul, especificamente, é altamente influenciada pela evolução dos sistemas fluviais, incluindo rios que nascem em regiões de altas altitudes (*e.g.* cordilheiras andinas e escudos cristalinos) e que fluem por grandes planícies de inundação e pântanos.

A reconfiguração das drenagens durante períodos de atividade tectônica e variações do nível do mar no Quaternário moldaram a distribuição atual das espécies de peixes de água doce na América do Sul (RIBEIRO, 2006). Capturas fluviais e a formação de paleodrenagens costeiras durante o Pleistoceno, associadas às mudanças climáticas, resultaram em conexões

e desconexões temporárias entre drenagens, promovendo tanto eventos de especiação quanto de dispersão (THOMAZ *et al.*, 2017; THOMAZ e KNOWLES, 2018). No Pleistoceno, as reativações tectônicas de falhas geológicas provocaram mudanças topográficas significativas nas drenagens costeiras do leste brasileiro, facilitando contatos secundários entre diferentes linhagens de peixes (BARRETO *et al.*, 2020, OLIVEIRA-SILVA *et al.*, 2023). As bacias hidrográficas da Mata Atlântica são um exemplo notável da complexidade histórica dos sistemas de drenagem da Região Neotropical, uma vez que ocupam parte do escudo cristalino brasileiro, caracterizado por alta diversidade topográfica e um elevado grau de endemismo (RIBEIRO, 2006; MENEZES *et al.*, 2007; ABILHOA *et al.*, 2011; CAMELIER e ZANATA, 2014). A atividade tectônica do Terciário e as variações do nível do mar no Quaternário moldaram o padrão de distribuição das espécies de peixes de água doce nessa região (RIBEIRO, 2006), tornando-a um local de grande importância para estudos filogeográficos, tal como o realizado no capítulo dois desta tese, que teve como foco a ecorregião de água doce Mata Atlântica Nordeste.

1.4. A ecorregião de água doce Mata Atlântica Nordeste

Uma ecorregião de água doce é um conjunto de rios, lagos, pântanos e outras áreas de água doce que compartilham características geológicas, físicas e biológicas distintas em uma determinada área geográfica (ABELL *et al.*, 2008). Essas regiões são consideradas importantes para a conservação da biodiversidade aquática, pois são habitat de uma variedade de espécies de peixes, crustáceos, anfíbios e aves aquáticas, entre outros animais (GROVES *et al.* 2002). Abell *et al.* (2008) propuseram a primeira regionalização biogeográfica global compreendendo todos os sistemas aquáticos continentais, que culminou na divisão de 426 ecorregiões com base na composição e distribuição, principalmente, de espécies de peixes de água doce (Figura 5).

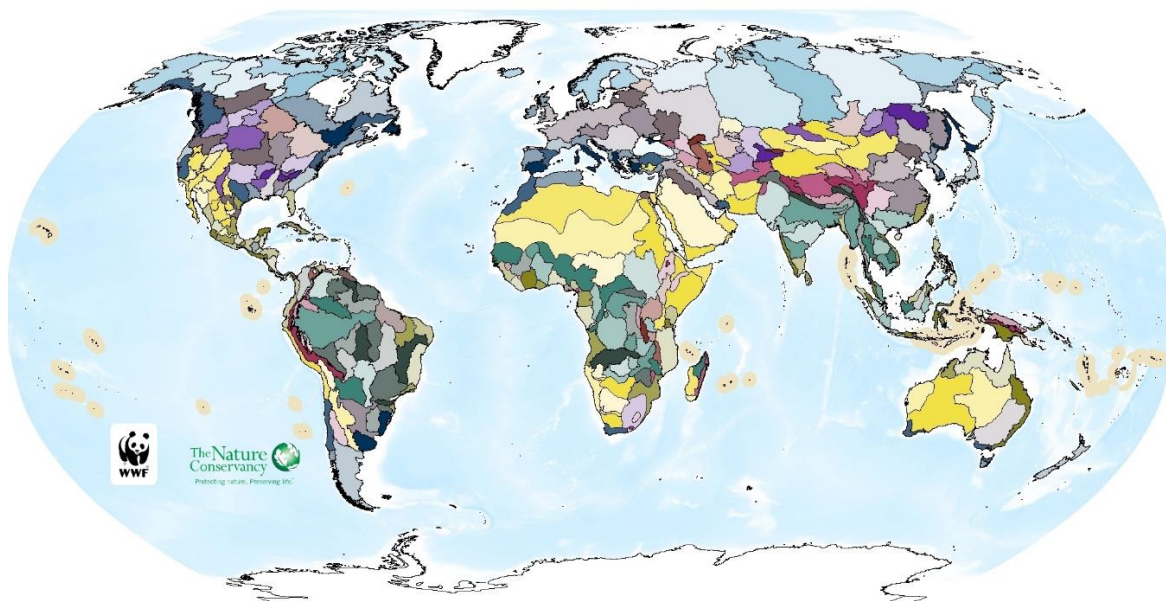


Figura 5. Mapa indicando as 426 ecorregiões de água doce da Terra propostas por Abell *et al.* (2008). Os limites e cores nos continentes indicam cada ecorregião. Mapa disponível em <https://www.feow.org/>.

A Mata Atlântica Nordeste (ecorregião 328; do inglês *Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion* - NMAF) é uma das 70 ecorregiões de água doce propostas para a Região Neotropical por Abell *et al.* (2008). A NMAF inclui todas as bacias costeiras do leste do Brasil entre a drenagem de rio Sergipe, ao norte, até o rio Itabapoana, ao Sul, tendo como principais drenagens de norte a sul: Sergipe, Vaza-Barris, Piauí, Real, Itapicuru, Inhambupe, Pojuca, Paraguaçu, Contas, Cachoeira, Almada, Una, Pardo, Jequitinhonha, Buranhém, Frades, Jucuruçu, Itanhém, Peruípe, Mucuri, Itaúnas, São Mateus, Doce, Itapemirim e Itabapoana (ABELL *et al.*, 2008; CAMELIER e ZANATA, 2014). Embora esta ecorregião represente uma unidade distinta, diversos estudos indicam que as histórias biogeográficas e evolutivas das drenagens e de diversas espécies de peixes que nela ocorrem podem ser muito mais complexas do que originalmente proposto (*e.g.* CAMELIER e ZANATA, 2014; BARRETO *et al.*, 2022; SOUZA *et al.*, 2023; OLIVEIRA-SILVA *et al.*, 2023, 2024). Ao estudarem a história biogeográfica da NMAF, por exemplo, Camelier e Zanata (2014) propuseram que, embora as bacias que a compõem formem uma unidade biogeográfica tal como indicado por Abell *et al.* (2008), a NMAF apresenta peculiaridades em sua composição ictiofaunística que permitem o reconhecimento de sub-regiões. Estas sub-regiões foram propostas pelas autoras com base no compartilhamento de espécies de peixes de água doce e indicam a heterogeneidade da NMAF, que tem três grupos principais de bacias: Grupo

Norte (GN), Grupo Centro (GC) e Grupo Sul (GS) (CAMELIER e ZANATA, 2014). O Grupo Norte é formado por oito drenagens entre o rio Sergipe e o rio Paraguaçu, o Grupo Centro por seis drenagens entre o rio de Contas e o rio Jequitinhonha e o Grupo Sul por nove drenagens entre o rio Buranhém e rio Doce (CAMELIER; ZANATA, 2014) (Figura 6).

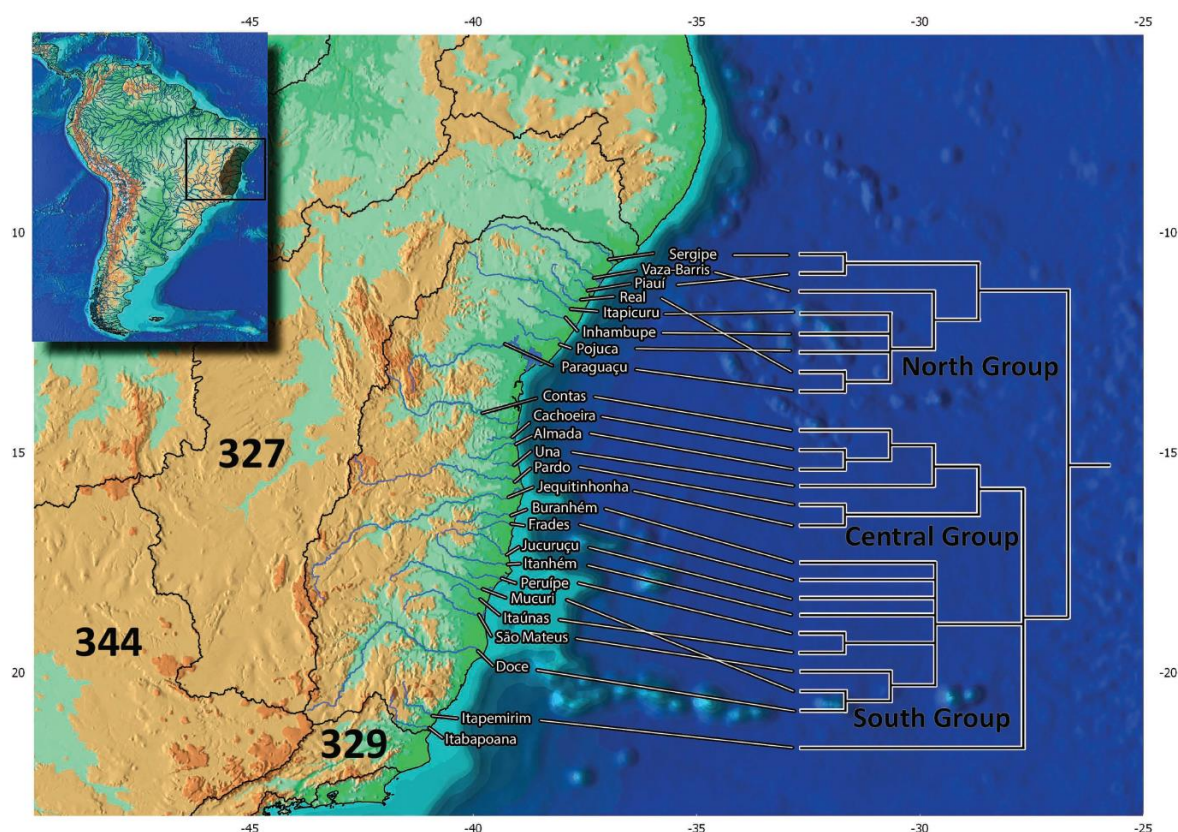


Figura 6. Mapa indicando a ecorregião Mata Atlântica Nordeste, suas principais bacias hidrográficas e os grupos propostos a partir da análise biogeográfica realizada por Camelier e Zanata (2014). As ecorregiões adjacentes indicadas no mapa são: (327) São Francisco, (329) Paraíba do Sul e (344) Alto Paraná *sensu* Abell *et al.* (2008). Fonte: Camelier e Zanata (2014).

Um exemplo do compartilhamento de fauna que chama atenção na NMAF é a do Grupo Norte, que inclui, de norte a sul, as bacias dos rios Sergipe, Vaza-Barris, Piauí, Real, Itapicuru, Inhambupe, Pojuca e Paraguaçu (CAMELIER e ZANATA, 2014). Sobre este agrupamento, é interessante destacar que algumas drenagens geograficamente localizadas dentro do GN não foram incluídas na análise das autoras por subamostragem na época, o que inclui aquelas localizadas entre as bacias dos rios Itapicuru (norte) e Pojuca (sul) (*e.g.* rios Itariri, Sauípe) (CAMELIER, comm. pers.). Além destas, as autoras não analisaram as bacias localizadas entre os rios Paraguaçu (limite sul do Grupo Norte) e Contas (limite norte do Grupo Centro), que incluem uma série de drenagens costeiras de menor porte e independentes, localizadas em uma região conhecida como Recôncavo Sul (*e.g.* rios Patipe,

Vermelho, Jequiriçá, Igrapipúna) (BURGER *et al.*, 2011; Figura 7). Por não terem sido incluídas na análise de Camelier e Zanata (2014), não há informação sobre a qual agrupamento da NMAF estas fazem parte.

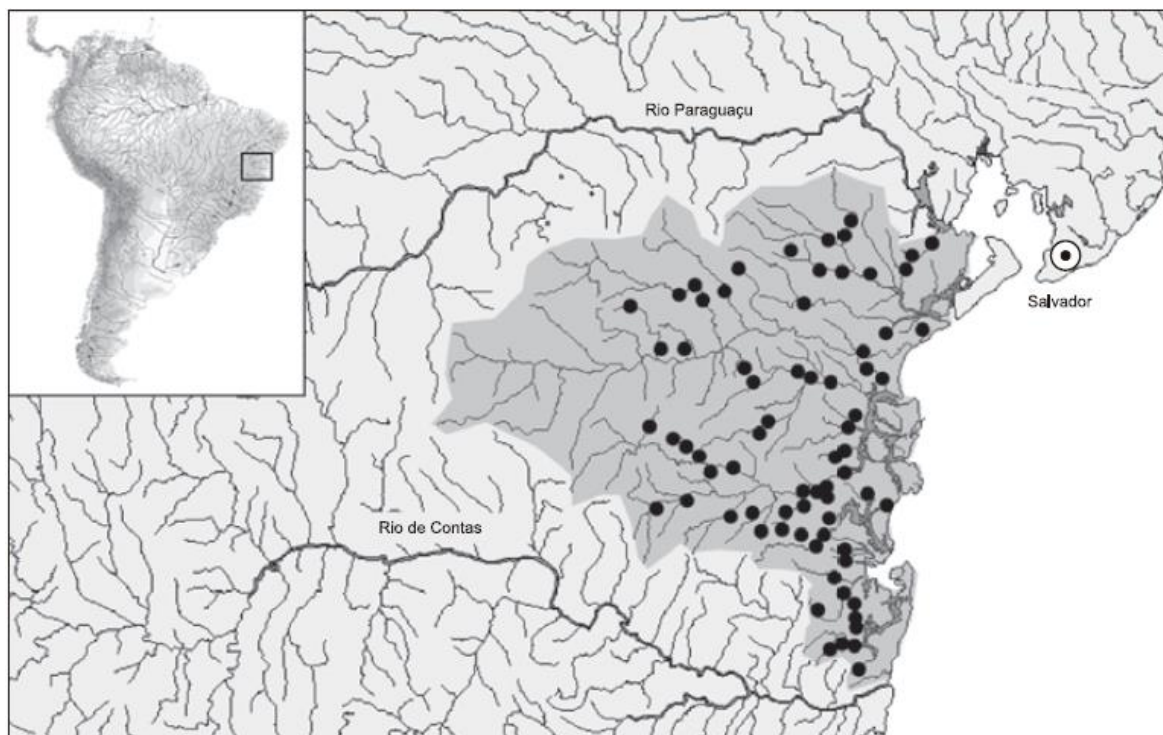


Figura 7. Mapa de parte da ecorregião de água doce Mata Atlântica Nordeste, indicando a bacia do Recôncavo Sul (sombreada) e pontos de coleta amostrados por Burger *et al.* (2011). Fonte: Burger *et al.* (2011).

Segundo Camelier e Zanata (2014), o GN é sustentado pelo compartilhamento da espécie *Hyphessobrycon parvellus* Ellis (Ordem Characiformes), originalmente descrita da bacia do rio Pojuca e registrada para todas as drenagens do grupo, com exceção do rio Inhambupe, cuja ausência foi justificada pelas autoras por subamostragem. Além do GN, *H. parvellus* também ocorre na bacia do rio de Contas (limite norte do Grupo Centro), o que, segundo as autoras, está relativamente dentro do esperado, pois, embora a drenagem do rio de Contas compartilhe um alto número de espécies com os demais rios do GC, especialmente Almada e Cachoeira, ela também compartilha algumas espécies com bacias do GN (CAMELIER e ZANATA, 2014). Além disto, os resultados encontrados por estas autoras sugerem, no Grupo Norte, uma estreita relação entre as bacias dos rios Sergipe e Piauí, sustentada pela presença de *Hyphessobrycon itaparicensis* Lima & Costa (Characiformes) e uma estreita relação entre as bacias dos rios Vaza-Barris, Real, Itapicuru, Inhambupe, Pojuca e Paraguaçu pela presença compartilhada de *Characidium bahiense*

Almeida (Characiformes). Ainda de acordo com o diagrama de consenso de Camelier e Zanata (2014: fig. 2), as drenagens dos rios Real, Itapicuru, Inhambupe, Pojuca e Paraguaçu são estreitamente relacionados entre si, com base no compartilhamento de *Parotocinclus bahiensis* (Miranda-Ribeiro) (Ordem Siluriformes). Já as espécies *Hyphessobrycon itaparicensis* e *Mimagoniates sylvicola* Menezes & Weitzman (ambas Characiformes) sustentam um relacionamento próximo entre as bacias dos rios Real e Paraguaçu, o que não está dentro do esperado, visto a distância geográfica comparativamente maior entre estas bacias (CAMELIER e ZANATA, 2014) (ver Figura 6). Outro detalhe destacado por Camelier e Zanata (2014) sobre o GN diz respeito à politomia formada pelas bacias dos rios (Itapicuru, Inhambupe, Pojuca, (Real, Paraguaçu)), indicando que as relações entre estas não foi resolvida com base na distribuição e compartilhamento das espécies de peixes de água doce analisadas pelas autoras.

Além da politomia encontrada no estudo de Camelier e Zanata (2014) entre algumas drenagens do Grupo Norte e da relação não esperada para algumas destas bacias (geograficamente mais distantes) chamarem atenção, as autoras não analisaram com profundidade quais eventos poderiam estar relacionados ao padrão de distribuição das espécies (*e.g.* capturas de cabeceiras, paleodrenagens costeiras), de maneira que algumas questões permaneceram em aberto. Como a plataforma continental brasileira é comparativamente estreita na porção mais ao norte, em especial na Região Nordeste (LEITE *et al.*, 2016), bem à altura do Grupo Norte da NMAF (ver Figura 8), o esperado é que as paleodrenagens costeiras tenham tido um menor efeito sobre o compartilhamento da fauna, mas, como mencionado, estas questões não foram discutidas por Camelier e Zanata (2014), já que não fazia parte do escopo do trabalho.

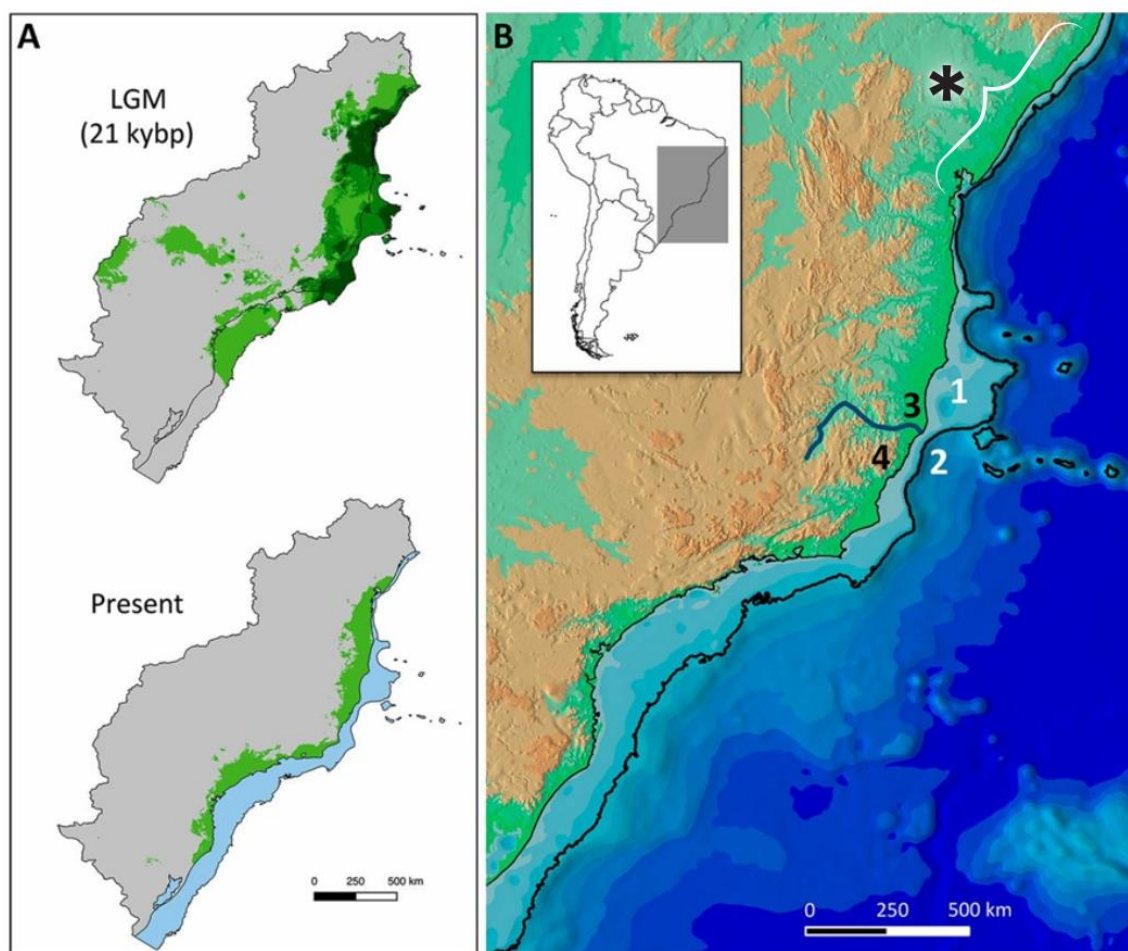


Figura 8. Mapa modificado de Leite *et al.* (2016) indicando as conexões entre a plataforma continental brasileira e a Mata Atlântica: (A) extensão projetada de áreas adequadas de floresta tropical perene de folhas largas (verde) durante o último máximo glacial (LGM) e o presente. O mapa LGM mostra a sobreposição de três modelos (verde escuro), dois modelos (verde médio) e um modelo (verde claro). Áreas adequadas para floresta tropical na plataforma continental durante o LGM (verde) estão submersas no presente (azul); (B) mapa topográfico da costa leste brasileira enfatizando a plataforma continental (azul claro) e quatro características principais mencionadas no trabalho dos autores: o Banco de Abrolhos (local 1), a Baía de Tubarão (local 2), o Rio Doce (local 3). O asterisco (*) no mapa apresentado em B indica a localização aproximada do Grupo Norte da ecorregião Mata Atlântica Nordeste proposto por Camelier e Zanata (2014).

Sendo assim, as espécies ocorrentes no GN, que tiveram papel fundamental nos resultados apresentados por Camelier e Zanata (2014), foram utilizadas como modelo para as análises filogeográficas propostas no capítulo dois do presente estudo. Este capítulo, portanto, teve como foco uma análise de filogeografia comparada de quatro espécies codistribuídas no Grupo Norte da NMAF (ver Figura 9) com o objetivo principal de avaliar se a plataforma continental brasileira, que é consideravelmente estreita na porção mais ao

norte da NMAF, garante uma estruturação filogeográfica das populações das espécies analisadas.

Informações taxonômicas e de distribuição destas espécies são apresentadas a seguir. *Characidium bahiense* (Figura 9A) é uma espécie de peixe da família Crenuchidae, endêmica das águas doces brasileiras (ALMEIDA, 1971; OLIVEIRA-SILVA *et al.*, 2023), descrita com base em material coletado em lagoas temporárias da região de Arembepé (litoral Norte da Bahia), no rio Capivara Grande (ALMEIDA, 1971). *Characidium bahiense* serviu como espécie modelo para estudos biogeográficos de peixes de água doce na NMAF (e.g. CAMELIER e ZANATA, 2014, OLIVEIRA-SILVA *et al.*, 2023, 2024), sendo uma das espécies que deu suporte para a formação do Grupo Norte da NMAF (ver CAMELIER e ZANATA, 2014). Segundo as autoras, o compartilhamento desta espécie sustenta a relação próxima entre as bacias dos rios Vaza-Barris, Real, Itapicuru, Inhambupe, Pojuca e Paraguaçu. *Hyphessobrycon itaparicensis* (Figura 9B) é uma espécie de Characidae que foi descrita em 2001 com base em exemplares coletados em um pequeno riacho na Ilha de Itaparica, na Baía de Todos os Santos, próximo a Salvador, Bahia (ver LIMA e COSTA, 2001). A espécie foi revisada recentemente por Zanata *et al.* (2018), que indicaram que a espécie está amplamente distribuída na parte mais ao norte da NMAF, nos estados da Bahia e Sergipe, principalmente próximo à região costeira, no baixo curso das bacias. *Hyphessobrycon parvulus* foi descrita com base em exemplares dos rios Catu (afluente do rio Pojuca, localidade tipo) e Itapicuru (ELLIS, 1911; LIMA e GERHARD, 2001). Mais recentemente, os limites de distribuição da espécie foram ampliados, de maneira que *H. parvulus* passou a ser conhecida para as drenagens costeiras localizadas na porção mais ao norte da NMAF (Figura 9C), entre as bacias dos rios Sergipe e Contas. (CAMELIER e ZANATA, 2014). Como mencionado, o compartilhamento desta espécie entre todas as bacias do Grupo Norte, com exceção do rio Inhambupe, suportou a proposta de relacionamento entre as mesmas apresentada por estas autoras. A espécie *Parotocinclus bahiensis* (Figura 9D) é um loricarídeo pertencente à subfamília Hypoptopomatinae, que foi descrito para a bacia do rio Itapicuru a partir de material coletado em seu alto curso (BRITSKI e GARAVELLO, 2009). Atualmente, sabe-se que a espécie não é endêmica do rio Itapicuru e que está amplamente distribuída no Grupo Norte da NMAF (CAMELIER e ZANATA, 2014).

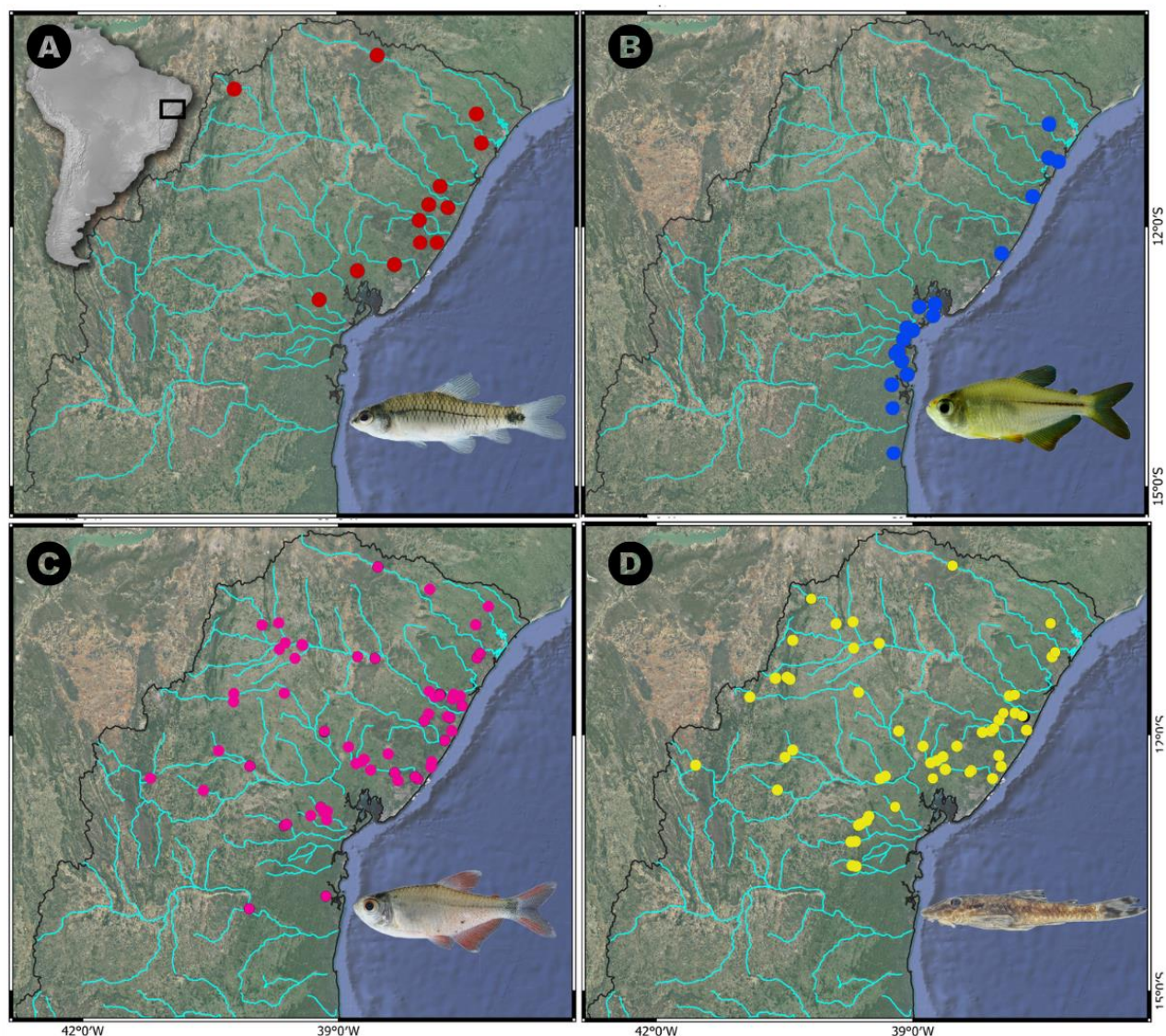


Figura 9. Distribuição geográfica das espécies de peixes de água doce ocorrentes no Grupo Norte da ecorregião Mata Atlântica Nordeste que foram utilizadas como modelo de estudo para o capítulo dois desta tese: (A) *Characidium bahiense* em vermelho, (B) *Hyphessobrycon itaparicensis* em azul, (C) *Hyphessobrycon parvulus* em rosa e (D) *Parotocinclus bahiensis* em amarelo.

2. Objetivos

2.1. Objetivos gerais

O presente trabalho teve como objetivos gerais (i) realizar estudo sobre o estado da arte da filogeografia de peixes de água doce fornecendo visão abrangente do conhecimento acerca do tema, com destaque para a Região Neotropical; e (ii) realizar estudo de filogeografia comparada de algumas espécies de peixes de água doce das ordens Characiformes e Siluriformes codistribuídas no Grupo Norte da ecorregião Mata Atlântica Nordeste (NMAF).

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Realizar um estudo de revisão bibliográfica amplo sobre o estado da arte da filogeografia de peixes de água doce, com foco na Região Neotropical, no período compreendido entre janeiro de 2007 e dezembro de 2020;

2.2.2. Apresentar um panorama sobre os estudos filogeográficos de peixes de água doce no período supracitado, incluindo informações sobre: objetivos dos trabalhos, principais métodos utilizados, grupos taxonômicos e áreas focais;

2.2.3. Avaliar os resultados obtidos nos estudos analisados na tentativa de estabelecer um panorama sobre os padrões filogeográficos encontrados para os peixes de água doce, com especial destaque para a Região Neotropical;

2.2.4. Analisar e descrever o padrão filogeográfico e história demográfica das espécies *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *H. parvellus* (Characiformes) e *Parotocinclus bahiensis* (Siluriformes) na NMAF com base em marcadores mitocondriais e nucleares;

2.2.5. Analisar de forma comparativa os resultados filogeográficos obtidos na tentativa de estabelecer um padrão geral para a ictiofauna da parte mais ao norte da NMAF;

2.2.6. Comparar os resultados obtidos para os táxons analisados com dados geomorfológicos da região de interesse na tentativa de detectar marcas da história geológica na distribuição das espécies modelo;

2.2.7. Avaliar se a plataforma continental brasileira, que é estreita na porção norte da NMAF, garante uma estruturação filogeográfica das populações das espécies analisadas;

2.2.8. Propor novas e/ou testar hipóteses já existentes sobre a história biogeográfica das bacias que drenam a ecorregião NMAF, com base em alguns representantes da sua ictiofauna.

De maneira a atender os objetivos propostos, a tese foi estruturada em dois capítulos, apresentados a seguir como manuscritos. O capítulo 1 já foi submetido ao periódico *Neotropical Ichthyology* e está em fase de revisão por pares. O capítulo 2 é um manuscrito em preparação, que será submetido ao periódico *Zoologica Scripta*. Os critérios de redação e formatação dos capítulos seguem as normas dos respectivos periódicos, as quais se encontram disponíveis nos ANEXOS 1 e 2 desta tese, respectivamente.



Capítulo 1

Título: What do we know about the phylogeography of freshwater fishes? An overview from 2007 to 2020!

Autoras: Rayana Dutra & Priscila Camelier

What do we know about the phylogeography of freshwater fishes? An overview from 2007 to 2020!

Rayana Dutra and Priscila Camelier

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução, Laboratório de Sistemática e Biogeografia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Rua Barão de Jeremoabo, 147, Ondina, 40170-290 Salvador, BA, Brazil.

rayanadutra@hotmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4640-9130>

(corresponding author), (PC) pricamelier@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1228-0076>

Abstract

This review systematically examines the literature on freshwater fish phylogeography, focusing on the Neotropical Region, from 2007 to 2020. Data were collected using research platforms and the studies were systematically tabulated, including information on the title, year, authorship, and the groups studied. We also assessed whether a comparative approach was used and whether the focus was on the taxon, geographic area, or both. A total of 306 articles from 41 countries were analyzed, revealing that most research has been concentrated in Asia, North America, and Europe, with Asia emerging as a key area due to increased scientific output from China. African countries were minimally represented. The studies covered 24 orders of freshwater fishes, 64% focusing on a single species and 31% on multiple species. Only 26% of the studies involving multiple species conducted genuine comparative analyses. Mitochondrial DNA, especially the CytB gene, was the most used marker, although there is a growing trend towards multilocus analyses combining both mitochondrial and nuclear DNA. Although the Neotropical Region represents 20% of the studies, it remains one of the least studied areas, despite its enormous diversity of freshwater fishes. This underscores the need for increased research efforts in this region.

Keywords

Biogeography, Freshwater ecoregions, Literature review, Population genetic

Resumo

Esta revisão examina sistematicamente a literatura sobre filogeografia de peixes de água doce, com foco na Região Neotropical, desde 2007 até 2020. Os dados foram coletados usando plataformas de pesquisa e os trabalhos foram sistematicamente tabulados, incluindo informações sobre título, ano, autoria e grupos estudados. Também avaliamos se abordagem comparativa foi usada e se o foco estava no táxon, área geográfica ou ambos. Ao todo, 306 artigos de 41 países foram analisados, revelando que a maioria das pesquisas se concentrou na Ásia, América do Norte e Europa, com destaque para Ásia, devido ao aumento da produção científica da China. Os países africanos foram minimamente representados. Os estudos incluíram 24 ordens de peixes de água doce, 64% focando em uma única espécie e 31% em múltiplas espécies. Apenas 26% dos estudos envolvendo múltiplas espécies conduziram análises efetivamente comparativas. O DNA mitocondrial, especialmente o gene CytB, foi o marcador mais usado, embora haja uma tendência crescente para análises multilocus, combinando DNA mitocondrial e nuclear. Embora a Região Neotropical represente 20% dos estudos, ela continua sendo uma das áreas menos estudadas, apesar de sua enorme diversidade de peixes de água doce. Este resultado ressalta a necessidade de maiores esforços de pesquisa nessa região.

Palavras-chave

Biogeografia, Ecorregiões de água doce, Genética populacional, Revisão de literatura

Running Head

Overview of freshwater fish phylogeography

Introduction

A literature review article provides a comprehensive view of research related to a specific theme, theory, or method, highlighting how previous studies contribute to strengthening the knowledge base on the subject (Paul, Criado, 2020). Moreover, it provides an understanding of the current state of the field, which is particularly valuable in relatively young disciplines such as phylogeography, which has just over 30 years of

history. The term phylogeography was introduced by Avise et al. (1987) to define a significant branch of biogeography that delves into unraveling intricate patterns and processes shaping the distribution of gene lineages. Phylogeographic approaches provide deep insights into how historical events have shaped the current distribution of genes, populations, and species (Avise et al., 1987; Avise, Hamrick, 1996; Avise, 2000). Furthermore, phylogeography allows for an integrated understanding of macro- and micro-evolutionary processes (Bermingham, Moritz, 1998), serving as a powerful tool to answer biogeographic, evolutionary, and taxonomic questions (e.g., Bagley et al., 2017; Camelier et al., 2018; Huang, 2020; Mendes et al., 2022; Oliveira et al., 2023).

Although the term phylogeography was coined in the 1980s, it was not until the early 2000s that it began to be effectively used in biogeographical studies (Beheregaray, 2008). Since then, it has become increasingly popular as a promising research area, particularly in the last decade due to advances in DNA sequencing techniques and bioinformatics (Hickerson et al., 2010), which have allowed for increasingly refined molecular data acquisition and analysis (Avise, 2000; Knowles, 2009; Edwards et al., 2015). Beheregaray (2008) conducted a bibliographic review on this study field, providing a numerical synthesis of the phylogeography literature based on examining of articles published from 1987 to 2006. According to the data presented by this author, the first 20 years of phylogeographic studies were mainly dedicated to the analysis of terrestrial vertebrates, with few studies focused on freshwater organisms (see Beheregaray, 2008). Most freshwater fishes, mainly those of the primary division *sensu* Myers (1938), present morphophysiological characteristics that confine them within a particular watershed after its formation (Vari, 1988), limiting their dispersion capacity and, consequently, the colonization of new water bodies from their original basins (Durand et al., 1999). Due to their restriction to drainages limited by terrestrial barriers and oceans, freshwater fishes constitute an exciting group for biogeographic studies (Weitzman, Weitzman, 1982; Vari, 1988) and for investigating paleogeographic events that have shaped their distribution (e.g., river captures, coastal paleodrainages; Vari, Weitzman, 1990; Bizerril, 1994; Bermingham, Moritz, 1998; Lundberg et al., 1998; Ribeiro, 2006; Hirschmann et al., 2015; Thomaz, Knowles, 2018; Waters et al., 2020; Oliveira et al., 2023). The strong historical relationship expected between aquatic environments and their associated ichthyofauna makes the phylogeography of freshwater fishes entirely related to the landscape and its history (Avise, 2009; Hirschmann et al., 2015), rendering the group an excellent model for this type of study (Avise, 2000, 2009). Although these organisms offer an excellent

opportunity for proposing and testing biogeographic hypotheses (Ribeiro, 2006; Camelier, Zanata, 2014), the biogeography, and especially the phylogeography of freshwater fishes, is still poorly understood (Beheregaray, 2008; Camelier et al., 2018).

According to Beheregaray (2008), phylogeographic information on fishes available up to that moment was essentially restricted to teleosts from North America and Europe, with few studies on the ichthyofauna of the Neotropical Region, particularly in South America. Although Beheregaray's work represents an essential bibliographic review, providing an interesting overview of the state of the art in phylogeography across various taxonomic groups, almost 15 years have passed since its publication. Furthermore, there has been no study of this nature focusing on freshwater fishes, particularly those occurring in the Neotropical Region to date. Therefore, the main aim of this study is to systematically review the literature to provide a comprehensive overview of the state of the art of freshwater fish phylogeography, with a particular focus on the Neotropical Region, spanning the period between 2007 and 2020. This systematic review objective to address previously unexplored questions, such as: “(i) Is the phylogeography of freshwater fishes indeed poorly studied, as previously mentioned in the literature? What has been the scenario in the last 14 years, especially after Beheregaray's review?; (ii) What analyses and methods have been employed in phylogeographic studies utilizing freshwater fishes as a model organism?; (iii) Which molecular markers have been used to investigate the phylogeography of freshwater fishes over the last few years?; (iv) In which regions of the globe, and particularly in which freshwater ecoregions *sensu* Abell et al. (2008), has there been more investment in phylogeographic studies of ichthyofauna?; (v) Has the expected phylogeographic structuring for freshwater organisms been observed in studies of ichthyofauna?”.

Material and Methods

To compile the database used for this systematic review, a search of the literature published between January 2007 and December 2020 was conducted on the following research platforms: Google Scholar (<https://scholar.google.com>) and Web of Science (Thomson Reuters). Google Scholar was used because it is a comprehensive and freely accessible academic database that allows for a full-text evaluation. Web of Science is an online academic database from ISI Web of Knowledge® that provides access to information from over 12,000 research journals. The timeframe was chosen due to the

latest bibliographic review on the field of phylogeography carried out by Beheregaray (2008), who analyzed studies published from 1987 to 2006. Searches for phylogeographic studies of freshwater fishes were conducted with three descriptors written precisely as follows: “Phylogeography” fish “freshwater fishes”. It was decided not to use quotation marks around the word ‘fish’ to ensure that searches would also include the word ‘fishes’, making them more comprehensive. The same descriptors were used in Portuguese and Spanish, which are the other two languages commonly used in biological publications (see Haddaway et al., 2020; Núñez, Amano, 2021): “Filogeografia” “peixes de água doce” (precisely written this way in Portuguese) and “Filogeografia” “peces de água dulce” (precisely written this way in Spanish). Estuarine fishes and those from marine orders were excluded from the analysis, except in cases where representatives of these groups were either freshwater species or were considered by the authors of the respective studies to be freshwater species. The dataset excluded duplicate articles, editorials, opinion pieces, conference or course documents, and abstracts. Additionally, course papers, dissertations, PhD theses, studies where the selected descriptors appeared only in the cited references, and those not primarily focused on freshwater fishes (*e.g.*, phylogeographic studies of fish parasite species) were also excluded. Only studies that were fully analyzed were included in the database.

The information extracted from the analyzed studies was tabulated in Excel, including the title, year, authorship, country affiliation of the first and last authors, indication of whether the work was a literature review or an applied study, analyzed freshwater ecoregions *sensu* Abell et al. (2008), the number of species studied and their respective orders (updated based on Fricke et al., 2024), molecular markers used, and the methods and analyses applied. The main conclusions of the studies were analyzed to identify phylogeographic pattern found for freshwater fishes, with an emphasis on the Neotropical Region. The ecoregions included in the studies were verified using geographical coordinate data available in the works and/or through direct analysis of distribution maps presented.

Results and discussion

Overall data. A total of 5,888 studies published between January 2007 and December 2020 were identified in the database searches based on the selected descriptors. Of these, 5,650 written in English (96%), 172 in Portuguese (3%), and 66 in Spanish (1%). After the

initial analysis, over 5,582 results were excluded, primarily consisting of studies that did not precisely include phylogeographic analyses and merely mentioned the term “phylogeography” in the introduction, discussion, and/or bibliography, leaving 306 that were used to construct the database (Table S1, available only in the online version). Although many studies were excluded (Fig. 1A), the number of articles analyzed in this study (306) is higher than the total analyzed for freshwater fishes by Beheregaray (2008), which was 216. This suggests a slight increase in phylogeographic studies on ichthyofauna in recent years compared to the first 20 years of the field of phylogeography.

FIGURE 1

Considering only the last 14 years, the analyzed data revealed no growth pattern in freshwater fish phylogeography studies. The average number of studies conducted annually stood at 22, with 2007 exhibiting minor prominence (13 published works) and 2020 emerging as the most prominent year, with 31 articles (Fig. 1B). Overall, Beheregaray (2008) highlighted an exponential growth in the field of phylogeography between 1987 and 2006 based on both published articles and citation counts. This exponential growth was expected as phylogeography emerged as a promising area of biogeography (Avice et al., 1987; Avice, 2000), which Beheregaray (2008) analyzed from its inception as a field of study, starting from zero published articles. Such magnitude of growth was not expected in the present study since phylogeography had already been established as a field of study by 2007. However, the results indicate that there has been growth in the number of studies conducted with freshwater fishes, albeit not exponential. This growth is probably due to the popularization of the topic (Avice, 2009; Hickerson et al., 2010) and technological development (Hickerson et al., 2010).

Researchers from institutions in 41 countries conducted studies on the phylogeography of freshwater fishes between January 2007 and December 2020 (Fig. 2). These results indicate a relatively good global coverage for studies with freshwater fishes, especially when considering that Beheregaray (2008) found 124 countries harboring researchers in phylogeography of 10 distinct taxonomic groups in the first 20 years of the field. According to this author, the United States emerged as the most productive nation in terms of the absolute number of publications on phylogeography. However, this trend has not persisted in more recent studies focusing on the phylogeography of freshwater fishes. In this context, China stands out with the highest number of publications for both the first

author (Fig. 2A) and the last author (Fig. 2B), while the United States holds the second position in both categories. China appeared in the 16th position in Beheregaray (2008: see Appendix of his study). The results found herein may be related to a combination of factors, such as the fact that China is one of the world's megadiverse regions for freshwater, harbouring a high diversity of freshwater fishes (Liu et al., 2017; He et al., 2020), primarily represented by Cyprinidae (Xing et al., 2016), the most speciose freshwater fish family (Fricke et al., 2024). In conjunction with this, there has been a significant increase in China's contribution to global scientific research over the last 20 years, which has likely led this country to gain prominence in several areas (Xie, Freeman, 2018; White, 2019), including the biological sciences. The countries with the fewest affiliated authors publishing in freshwater fish phylogeography are on the African continent. Specifically, only two countries host institutions with researchers contributing to this field: South Africa (most of them) and Nigeria. These results, with greater representation from China and the United States and lesser representation from African countries, are in line with expectations, as wealthier nations tend to account for most scientific articles published in various fields (*e.g.*, Benzer et al., 1993; Abell et al., 2008; Beheregaray, 2008), including phylogeography (*e.g.*, Beheregaray, 2008; Riddle, 2016; Edwards et al., 2021).

FIGURE 2

Taxonomic coverage. Between January 2007 and December 2020, freshwater fishes belonging to 24 orders were used as models for phylogeographic studies (Fig. 3). Among them, Cypriniformes emerged as the most extensively studied order in phylogeographic research, comprising 34.5% of all articles. Cypriniformes was followed by Siluriformes, Cyprinodontiformes, Perciformes, Characiformes, Gobiidiformes, Chichliformes, Salmoniformes, Centrarchiformes, and Galaxiiformes, in descending order of frequency. Conversely, Acanthuriformes, Acipenseriformes, Anguilliformes, Beloniformes, Lepidogalaxiiformes, Mugiliformes, and Pleuronectiformes were the least represented orders, each with only one recorded study. Considering only orders with most of their representatives restricted to freshwater environments (see Nelson et al., 2016), the most studied were Cypriniformes, Siluriformes, Cyprinodontiformes, Characiformes, and Cichliformes.

FIGURE 3

The sorting of papers by the nature of the study showed that of the 306 articles analyzed, 196 focused on a single species (64%), 96 on two or more species (31%), and in 17 articles, the number of species studied was unclear (5%). These unclear cases often pertain to review articles where the exact number of taxa analyzed is not always specified by the authors (*e.g.*, Yang et al., 2009; Wallis, Trewick, 2009; Matschiner et al., 2010; Bagley, Johnson, 2012; Diamante et al., 2015). Thus, most of the articles examined genealogical relationships within one taxon. Additionally, of the 96 studies involving two or more species, only 26 conducted a comparative genuine survey, which corresponds to less than 10% of the total analyzed. These results are consistent with the observations reported in the literature for the field of comparative phylogeography (see Beheregaray, 2008; Edwards et al., 2021). Only 8% of the studies analyzed by Beheregaray (2008) between 1987 and 2006 explicitly compared patterns across multiple codistributed taxa and were thus classified in the category of comparative phylogeography. In a more recent review, Edwards et al. (2021) point out that the number of publications related to comparative phylogeography increased between 1999 and 2008 but appears to have stagnated since around 2010, without the linear or exponential growth expected for new fields of study. According to these authors, however, despite these results, comparative phylogeography is not a “dead” field; on the contrary, it remains a vibrant and innovative discipline currently transforming. Although the output of studies in comparative phylogeography has plateaued in recent years, a slight increase can be observed (Edwards et al., 2021). This trend is also evident in the studies on freshwater ichthyofauna analyzed herein, which can be attributed to the greater explanatory power of comparative studies (see Avise et al., 2016; Riddle, 2016). Studies involving two or more species allow us to compare historical patterns of gene flow and divergence among species that overlap in time and space, helping to elucidate the relative influence of shared historical events on current biodiversity patterns (Hickerson et al., 2010). Accordingly, it is expected that the numerical discrepancies found herein will decrease over time and that more comparative phylogeographic studies of freshwater fish will be conducted.

Geographic coverage based on the location of freshwater fishes studied.

Phylogeographic studies on freshwater fishes conducted over the past 14 years have been carried out in 242 of the 426 freshwater ecoregions of the world proposed by Abell et al. (2008) (Fig. 4), meaning that the ichthyofauna of almost 60% of the freshwater ecoregions has already been the subject of phylogeographic studies. Although 54% of these ecoregions have been studied only once or twice, in some of them phylogeographic studies have been carried out recurrently. Among these, the most frequently studied were Eastern Coastal Australia (21 studies in this ecoregion), Xi Yang and Lower Yangtze (18 studies in each), and Central and Western Europe, Honshu–Shikoku–Kyushu, and Western Taiwan (15 studies in each). Although the most studied ecoregion (#807, Eastern Coastal Australia) is in the Southern Hemisphere, most of the studies on phylogeography of freshwater fishes were conducted in areas of the Northern Hemisphere (Fig. 4). This result is consistent with what has already been reported in the literature for phylogeographic studies (*e.g.*, Beheregaray, 2008; Hickerson et al., 2010; Edwards et al., 2021), including those conducted with fishes (see Beheregaray, 2008), reinforcing the still existing need for investment in studies of this nature in regions of the Southern Hemisphere.

The 242 ecoregions mentioned above were studied 822 times across the 306 articles analyzed, with each article potentially covering more than one ecoregion. Therefore, when these studies are classified based on the continental origin of the freshwater fish species, Asia emerges as the most intensively studied continent with 35% of the records of ecoregions studied, primarily driven by research conducted in China and a major center in Taiwan. Next, the freshwater ichthyofauna of North America and Europe stands out in phylogeographic studies, with 21% and 19%, respectively. These results suggest a modest shift in the focus of phylogeographic studies on freshwater fishes in recent years, marked by an increased number of studies conducted in Asian regions. Beheregaray (2008) reported that between 1987 and 2006, 68% of the fish studied originated from North America and Europe, with Asia contributing only 14%. This result may be related to several factors previously discussed (*e.g.*, the high diversity of freshwater fishes in China and the increase in China's contribution to global scientific research), which may have influenced the considerable increase in the number of researchers allocated to China who are investigating and publishing on the phylogeography of the Asian ichthyofauna. In contrast, Oceania, with 9%, and Africa, with only 5%, were the continents comparatively less studied. In Beheregaray's (2008) review, Oceania ranked fourth and Africa fifth, accounting for 7% and 6% of all articles on freshwater fish phylogeography, respectively

(see his Table 2), suggesting that there have been no significant changes to this scenario in recent years. Paradoxically, South America, known for having the most diverse ichthyofauna on Earth (Reis et al., 2016), ranked fourth, with 11% of the records of ecoregions studied. Although Beheregaray (2008) also found this paradoxical result, it can be said that there has been a relative increase in studies on the phylogeography of South American ichthyofauna recently. According to Beheregaray's results (see his Table 2), South America and Africa were tied for the last position in terms of phylogeographic studies on their ichthyofauna, each with 6% of all articles analyzed. Herein, Africa remains in the last position, but South America now ranks fourth, with more studies than Oceania.

FIGURE 4

Genetic markers, methodological analyses, and main results. Between January 2007 and December 2020, 58% of freshwater fish phylogeography studies were based solely on mitochondrial markers (mtDNA), 5% on nuclear markers (nuDNA), and only 37% used a multilocus approach, incorporating both mtDNA and nuDNA (Fig. 5). Mitochondrial DNA is widely used due to its lack of recombination, putative neutrality, and adequate population size, which results in a shorter time to achieve reciprocal monophyly between geographic regions (Hickerson et al., 2010). Genealogical information derived from mtDNA has been prominent since the early years of phylogeography as a science (see Beheregaray, 2008: fig. 6). According to the data collected by this author, more than 70% of phylogeographic studies conducted between 1987 and 2006 were based exclusively on mtDNA information. Among the mitochondrial markers most used for phylogeographic studies of freshwater fishes are the Control Region (D-loop/CR), Cytochrome Oxidase (CO) I and III, Dehydrogenase (ND) 1,2,3, 12S, 16S, ATP synthase gamma subunit (ATPase) 6 and 8, Cytochrome b (CytB). CytB was the most frequently analyzed region of the mitochondrial genome in the studies, used as a marker in 40% of them. This marker is commonly used to study population structure and genetic diversity since its high mutation rate enables the detection of genetic differentiation among populations (Avise, 2004), which might explain their frequent use in phylogeographic studies of freshwater fishes. Regarding the nuclear genome, 32 regions were utilized in phylogeographic studies, with particular emphasis on microsatellites, followed by seven nuDNA markers: S7, RAG1, RAG2, MYH6, Rhodopsin, Beta-actin, and GLYT. Microsatellites are highly polymorphic

and provide valuable insights into population structure and gene flow, making them popular in nuDNA studies (Harris, Taylor, 2010; Yang et al, 2013; Gunn et al., 2020). According to Beheregaray (2008), microsatellites began to be used as the sole source of information in phylogeographic studies starting in 1997, with a notable increase from the 2000s onwards. The use of this type of marker is also observed in phylogeographic studies of freshwater fishes (*e.g.*, Costedoad, Gilles, 2009; Hughes et al. 2012; Yang et al., 2013; Sasaki et al., 2016; Ruzzante et al., 2020) and in many studies based exclusively on nuDNA. Multilocus analyses, which combine both mitochondrial and nuclear markers, were conducted using at least one marker from each type in the phylogeographic studies with freshwater fish analyzed. As highlighted by Beheregaray (2008), phylogeographic studies based on multilocus DNA data began to gain prominence in the late 1990s and early 2000s. For studies involving freshwater fish, this increase was particularly significant between 2007 and 2011, followed by a period of oscillatory stability, with a resurgence observed between 2019 and 2020 (see Fig. 5). The increasing use of multilocus approaches underscores a trend towards more integrative and comprehensive methodologies in phylogeography (*e.g.*, Brito, Edwards 2008; Meraner et al., 2014; Li et al., 2016; Wong et al., 2017; Ricon-Sandoval, Berancur, 2019; Chen et al., 2020; Souza et al., 2023). These approaches are essential for understanding the complex evolutionary processes and demographic histories of species (Rannala, Yang, 2003; Gadagkar et al, 2005; Degnan, Rosenberg, 2006; Brito, Edwards 2008; Broughton et al., 2013). They also enhance the resolution of phylogeographic patterns, which can be obscured when relying on a single type of genetic marker (Bruto, Edwards, 2008). For instance, mitochondrial markers are often used for species identification and understanding maternal lineage (Brown et al., 1979), while nuclear markers provide insights into biparental inheritance and genetic diversity across populations (Bruto, Edwards, 2008). The trend towards multilocus studies is expected to continue growing as the cost of sequencing decreases and bioinformatics tools improve (Avise, 2004). Also, according to Beheregaray (2008), the number of studies combining multiple loci looks set to increase as new generations of phylogeographers start to experience the benefits of this approach. Our results indicate that this trend can also be observed among fish phylogeographic specialists, although mtDNA still holds a special status as the preferred marker in phylogeography.

Eighty-two per cent of the studies included phylogenetic analyses. Between 2007 and 2009, Maximum Parsimony and Neighbor-Joining methods were more prevalent in phylogeographic studies with freshwater fishes. However, starting in 2014, the use of these

methods declined noticeably. Conversely, studies utilizing Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI) increased. Currently, ML and BI phylogenetic analyses are the most employed in freshwater fish phylogeography studies. Nearly 80% of all studies employed a specific method to illustrate phylogeographic results, analyze population structure, and test hypotheses regarding gene flow or isolation within a particular freshwater fish species. Researchers constructed haplotype networks in nearly 70% of the papers to present their results. The prominence of this methodological approach was an expected outcome, as it is the most common way to present phylogeographic results (Garcia et al., 2021) since its formal proposal in the 1990s by Excoffier, Smouse (1994). These networks help intuitively visualize relationships among individuals, populations, and species, revealing insights on migration, population structure, and speciation (Excoffier, Smouse, 1994; Bernardi et al., 2014; Garcia et al., 2019, 2021). More than 40% of the analyzed studies also included molecular variance analysis (AMOVA, *e.g.*, Adamson et al., 2012; Hughes et al. 2012; Fluker et al., 2014; Ruzzante et al., 2020), a statistical method derived from the classical analysis of variance (ANOVA) that uses the molecular information collected in the population study to investigate the genetic differentiation of the sampled populations (Excoffier et al., 1992; Mengoni, Bazzocalupo, 2002; Huang et al., 2021). Since 2011, some phylogeographic studies on freshwater fishes have started to include spatial analysis of molecular variance (SAMOVA; Dupanloup et al., 2022) to define groups of populations that are geographically homogeneous and maximally differentiated from each other, as well as to identify potential genetic barriers between these groups (*e.g.*, Cambell. López, 2014; Chiozzi et al., 2018; Huang et al., 2019; Kirchner et al., 2020). However, these studies are still incipient; only 7% of all analyzed articles used this approach. Studies in which none of these analyses (haplotype networks, AMOVA, SAMOVA) were performed are mostly review papers, in which no phylogeographic studies were proposed per se.

FIGURE 5

The main conclusions of articles on the phylogeography of freshwater fishes were also analyzed, particularly focusing on the genetic structure within the species studied. In 80% of all articles, the findings indicate a phylogeographic structure in freshwater fish species (*e.g.*, Mesquita et al., 2007; Mäkinen, Merilä, 2008; Tominaga et al., 2009; Quezada-Romegialli et al., 2010; Pinton et al., 2013; Perdices et al., 2015; Levin et al.,

2017; Camelier et al., 2018; Ju et al., 2018; Chen et al., 2020). These results align with the literature, which suggests that the presence of a significant barrier to gene flow separating populations over long periods, as seen in several freshwater organisms (Avice, 2000), leads to high genetic divergence and the formation of allopatric lineages (Avice et al., 1987; Avice, 2000; Thomaz, Knowles, 2020). Conversely, 8% of the studies did not find genetic structuring, indicating that, in some cases, fish populations may be genetically homogeneous, possibly due to continuous gene flow or the absence of significant barriers (e.g., Chabarria, Pezold, 2013; Braga-Silva, Galetti, 2016; Sudasinghe et al., 2020). Studies that did not mention genetic structuring (12% of all) are mostly review papers that did not propose any phylogeographic studies themselves.

Neotropical Region. Only 20% of all analyzed articles on the phylogeography of freshwater fishes have focused on the ichthyofauna of the Neotropical Region. This highlights how understudied this region is, despite being home to the greatest diversity of freshwater fishes in the world (see Reis et al., 2016). Several authors have already highlighted the scarcity of phylogeographic studies on the biota of the Southern Hemisphere, where most of the Neotropical Region is located (e.g., Beheregaray, 2008; Hickerson et al., 2010; Edwards et al., 2021). This indicates that the results found herein for freshwater fishes are unsurprising. According to Beheregaray (2008), phylogeographic information is either inadequate or simply nonexistent for biotas inhabiting many regions of the Southern Hemisphere (such as Patagonia, Amazonia, Brazil's Atlantic Forest, and Brazil's Cerrado). The data collected here suggest that the situation for freshwater fishes has not changed significantly in recent years, despite an increase in overall comparative phylogeography studies in this hemisphere over the last two decades (see Edwards et al., 2021). According to these authors, less than 30% of comparative phylogeography studies have focused on the biota of the Southern Hemisphere.

Researchers affiliated with institutions from 17 countries conducted studies on the phylogeography of freshwater fishes in the Neotropical Region between January 2007 and December 2020. These results indicate a variety of countries where researchers studying phylogeography of freshwater fishes are located, including scientists from the Americas and other continents. Brazil leads in studies on the phylogeography of freshwater fishes in the Neotropical Region, with 34% of the articles, followed by the United States with 14%. These data are interesting and indicate that Brazil has gained prominence in research on phylogeography, especially regarding the ichthyofauna occurring in the Neotropical

Region. According to Beheregaray (2008), Brazil ranked 19th in overall phylogeography studies, and the results presented here indicate that for research on freshwater fish, the country ranks fourth. Researchers from five other South American countries also contribute to studies on the phylogeography of freshwater fishes in the Neotropical Region: Chile (8% of articles focused on the Neotropical Region), Argentina (5%), Colombia (3%), Uruguay (2%), and Bolivia (2%).

Approximately 70 freshwater ecoregions are included in the Neotropical Region (see Abell et al., 2008). The ichthyofauna of about 50 of these ecoregions (around 70%) has been the subject of phylogeographic studies conducted between January 2007 and December 2020. The most studied ecoregion is 349-Lagos Valdivianos, with eight studies. This ecoregion covers an area of endemism to the south, extending from the Valdivia River to Chiloé Island (Dyer, 2000). Researchers affiliated with institutions in Chile, Canada, the United Kingdom, and Argentina contributed to studies in this ecoregion. The next most studied ecoregions in the Neotropical Region are 344-Upper Paraná, 345-Lower Paraná, and 348-Patagonia, each with seven studies. Notably, researchers from institutions in Brazil (six studies), the Czech Republic, and Argentina (one study each) have significantly contributed to the phylogeographic knowledge of freshwater fishes in these ecoregions.

In the Neotropical Region, phylogeographic studies have covered a variety of freshwater fish orders. Characiformes are the most studied, with 26% studies, reflecting their diversity and prominence in Neotropical freshwater systems as highlighted by Toledo-Piza et al. (2024). Cyprinodontiformes and Siluriformes are also well-represented, with 21% and 17% studies respectively, highlighting their significance in Neotropical rivers and streams. Cichliformes have been the subject of 6% studies. Other orders, such as Galaxiiformes (5%), Gobiiformes (2.5%), Gymnotiformes (2.5%), Perciformes (2.5%), and Atheriniformes (2.5%), have also contributed to the understanding of Neotropical ichthyofauna phylogeography, albeit to a lesser extent. Less commonly studied orders, each with one study, include Centrarchiformes, Clupeiformes, Osmeriformes, Lepidogalaxiiformes, Synbranchiformes, Beloniformes, Mugiliformes, Pleuronectiformes, and Acanthuriformes.

Additionally, most of the studies conducted in the Neotropical Region have focused on the species, with few studies focused on the area (*e.g.*, river basin, freshwater ecoregion), indicating that the research is more geared towards addressing phylogeographic questions about the biota rather than the areas themselves. About 60% of these studies concentrated on a single species, while less than 40% included analyses with two or more species.

Similar to the rest of the world, phylogeographic studies in the Neotropical Region have primarily been based on mtDNA data (53%), followed by multilocus studies (39%), with few studies based solely on nuDNA markers (8%).

Main conclusions

This study provides a comprehensive overview of the research in freshwater fish phylogeography conducted between January 2007 and December 2020. The global distribution of studies, with researchers from 41 countries, indicates good coverage, especially in regions such as Asia, North America, and Europe. However, southern hemisphere regions, particularly Africa and parts of South America, remain underrepresented. This underscores the need for increased investment and research efforts to fill knowledge gaps and enhance the understanding of the phylogeography of freshwater fishes in these regions. The results also showed that most phylogeographic studies focus on a limited number of fish orders, with Cypriniformes, Siluriformes, and Cyprinodontiformes being the most studied. This concentration likely reflects the high diversity and wide distribution of these groups, especially in countries with a significant number of researchers specializing in freshwater fish phylogeography, such as China. The widespread use of mitochondrial markers, particularly the CytB gene, was evident probably due to its high mutation rate and effectiveness in detecting genetic differentiation between populations. However, the increasing inclusion of nuclear markers and multilocus analyses reflects a trend towards more integrative and comprehensive approaches that can offer more detailed insights into evolutionary processes related to the phylogeographic history of the freshwater ichthyofauna of the world. Although the Neotropical Region represents 20% of the studies, it remains one of the least studied areas, despite its enormous diversity of freshwater fishes. This underscores the need for increased research efforts in this region, particularly in underexplored areas such as the Amazon, Atlantic Forest, and Cerrado. The growing contribution from countries like Brazil is encouraging, but much remains to be done to understand the phylogeography of freshwater fishes in this region. In summary, this study underscores the importance of integrated phylogeographic approaches and the need for a more equitable distribution of research efforts globally. Promoting the inclusion of underrepresented regions and taxonomic groups is crucial for advancing our understanding of evolutionary dynamics and phylogeography of freshwater fish species worldwide.

Acknowledgments

We are grateful to Ana Carolina Sousa Almeida (UFBA) to provide comments and suggestions that improved this manuscript. This work was supported in part by the INCT – Peixes project, funded by MCTIC/CNPq (grant #405706/2022-7). RD was supported by a PhD scholarship from FAPESB (grant #BOL0209/2020). The authors were also funded by CNPq (grant # 423760/2018-1), FAPESB (grant #APP0037/2023), and FAPESP (PC: grants #2011/50282–7, #2016/03966-1, #2016/19075–9, and # 2017/09321–5).

References

- Abell R, Thieme ML, Revenga C, Bryer M, Kottelat M, Bogutskaya N, Coad B, Mandrak N, Balderas SC, Bussing W, Stiassny MLJ, Skelton P, Allen GR, Unmack P, Naseka RNg, Sindorf N, Robertson J, Armijo E, Higgins JV, Heibel TJ, Wikramanayake E, Olson D, López HL, Reis RE, Lundberg JG, Pérez MHS, Petry P.** Freshwater ecoregions of the world: A new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation. *BioScience*. 2008; 58:403-414. <https://doi.org/10.1641/B580507>
- Abreu JMS, Waltz BT, Albert JS, Piorski NM.** Genetic differentiation through dispersal and isolation in two freshwater fish species from coastal basins of Northeastern Brazil. *Neotrop Ichthyol*. 2020;18:e190114.
- Adamson EA, Hurwood DA, Mather PB.** Insights into historical drainage evolution based on the phylogeography of the chevron snakehead fish (*Channa striata*) in the Mekong Basin. *Freshw Biol*. 2012; 57(11):2211-2229. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2012.02864.x>
- Avice JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC.** Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann Rev Ecol Syst*. 1987; 18:489-522. <https://www.jstor.org/stable/2097141>
- Avice JC, Hamrick JL.** Conservation Genetics: case histories from nature. Chapman & Hall, New York. 1996.
- Avice JC.** Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University

Press, Cambridge. 2000.

Avise JC. Molecular markers, natural history and evolution. Springer Science & Business Media. 2004.

Bagley JC, Johnson JB. Phylogeography and biogeography of the lower Central American Neotropics: diversification between two continents and between two seas. *Biol Rev.* 2014; 89(4):767-790. <https://doi.org/10.1111/brv.12076>

Braga-Silva A, Galetti PM. Evidence of isolation by time in freshwater migratory fish *Prochilodus costatus* (Characiformes, Prochilodontidae). *Hydrobiologia.* 2016; 765:159-67. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2409-8>

Beheregaray LB. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Mol Ecol.* 2008; 17:3754-377 <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03857.x>

Benzer A, Pomaroli A, Hauffe H, Schmutzhard E. Geographical analysis of medical publications in 1990. *The Lancet.* 1993; 341:247.

Bermingham E, Moritz C. Comparative phylogeography: concepts and applications. *Mol Ecol.* 1998; 7:367-369. https://www.ccg.unam.mx/~vinuesa/tlem/pdfs/Bermingham_Moritz_Mol_Ecol_1998

Bernardi G, Ramon ML, Alva-Campbell Y, McCosker JE, Bucciarelli G, Garske LE, et al. Darwin's fishes: phylogeography of Galápagos Islands reef fishes. *Bull Mar Sci.* 2014; 90:533–549. <https://doi.org/10.5343/bms.2013.1036>

Bizerril CRSF. Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água doce do leste brasileiro. *Acta Biologica Leopoldensia, Porto Alegre.* 1994; 16(1):51-80.

Brown WM, George Jr M, Wilson AC. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979; 76(4):1967-1971. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.4.1967>

Brito PH, Edwards SV. Multilocus phylogeography and phylogenetics using sequence-based markers. *Genetica.* 2009; 135:439-455. <https://doi.org/10.1007/s10709-008-9293-3>

Broughton RE, Betancur RR, Li C., Arratia G., Ortí G. Multi-locus phylogenetic analysis reveals the pattern and tempo of bony fish evolution. *PLoS currents.* 2008; 16:5. [10.1371/currents.tol.2ca8041495ffafd0c92756e75247483e](https://doi.org/10.1371/currents.tol.2ca8041495ffafd0c92756e75247483e)

Camelier P, Menezes NA, Costal-Silva GJ, Oliveira C. Molecular and morphological data of the freshwater fish *Glandulocauda melanopleura* (Characiformes:Characidae) provide evidences of river captures and local differentiation in the BrazilianAtlantic Forest. PLoS ONE. 2018; 13(3):e0194247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194247>.

Camelier P, Zanata AM. Biogeography of freshwater fishes from the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion: distribution, endemism, and area relationships. Neotrop Ichthyol. 2014; 683-698. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20130228>

Campbell MA, Lopéz JA. Mitochondrial phylogeography of a Beringian relict: the endemic freshwater genus of blackfish *Dallia* (Esociformes). J Fish Biol. 2014; 84(2):523-538. <https://doi.org/10.1111/jfb.12314>

Chabbarria RE, Pezold F. Phylogeography and historical demography of *Sicydium salvini* in the eastern Pacific. Ichthyological Research. 2013; 60:353-362.

Chen W, Li C, Chen F, Li Y, Yang J, Li J, Li X. Phylogeographic analyses of a migratory freshwater fish (*Megalobrama terminalis*) reveal a shallow genetic structure and pronounced effects of sea-level changes. Gene. 2020; 737:144478. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144478>

Chiozzi G, Stiassny ML, Alter SE, De Marchi G, Mebrahtu Y, Tessema M, Asmamaw B, Fasola, Bellati, A. Fishes in the desert: mitochondrial variation and phylogeography of *Danakilia* (Actinopterygii: Cichlidae) and *Aphanius* (Actinopterygii: Cyprinodontidae) in the Danakil Depression of northeastern Africa. Mitochondrial DNA Part A. 2018; 29(7):1025-1040. <https://doi.org/10.1080/24701394.2017.1404043>

Costedoat C, Gilles A. Quaternary pattern of freshwater fishes in Europe: comparative phylogeography and conservation perspective. The Open Conservation Biology Journal. 2009; 3(1). <https://doi.org/10.2174/1874839200903010036>

Degnan JH, Rosenberg NA. Discordance of species trees with their most likely gene trees. PLoS genetics. 2006; 2(5):e68. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020068>

Diamante NA, Prioli AJ, Prioli SMAP. Scientometrics analysis on the use of molecular markers in studies of the Sciaenidae family (Teleostei: Perciformes). Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde. 2015; 21(1):23-30. <https://doi.org/10.5212/publicatio%20uepg.v21i1.7669>

Donthu N, Kumar S, Mukherjee D, Pandey N, Lim WM. How to conduct a bibliometric analysis: An overview and guidelines. *J Bus Res.* 2021; 133:285-296.

Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Mol Ecol.* 2002; 11(12):2571-81.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2002.01650.x>

Durand JD, Persat H, Bouvet Y. Phylogeography and postglacial dispersion of the chub (*Leuciscus cephalus*) in Europe. *Mol ecol.* 1999; 8(6):989-997.

Dyer B S. Systematic review and biogeography of the freshwater fishes of Chile. *Estudios Oceanológicos.* 2000; 19:77-98.

Edwards SV, Robin VV, Ferrand N, Moritz, C. The evolution of comparative phylogeography: putting the geography (and more) into comparative population genomics. *Genome Biol Evol.* 2021; 14(1):176. <https://doi.org/10.1093/gbe/evab176>

Edwards SV, Shultz AJ, Campbell-Staton SC. Next-generation sequencing and the expanding domain of phylogeography. *Folia Zool Brno.* 2015; 64(3):187-206.
<https://doi.org/10.25225/fozo.v64.i3.a2.2015>

Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics.* 1992; 131(2):479-491.
<https://doi.org/10.1093/genetics/131.2.479>

Excoffier L, Smouse PE. Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: molecular variance parsimony. *Genetics.* 1994; 136:343-59. PMID:8138170.

Fricke R, Eschmeyer WN, Fong JD. Eschmeyer's catalog of fishes: genera/species by family/subfamily [Internet]. San Francisco: California Academy of Science; 2024. Available from:

<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.as>

Fluker BL, Kuhajda BR, Harris PM. The influence of life-history strategy on genetic differentiation and lineage divergence in darters (Percidae: Etheostomatinae). *Evolution.* 2014; 68(11):3199-3216. <https://doi.org/10.1111/evo.12505>

Gadagkar SR, Rosenberg MS, Kumar S. Inferring species phylogenies from multiple genes: concatenated sequence tree versus consensus gene tree. *J Exp Zool B Mol Dev Evol.* 2005; 304(1):64-74. <https://doi.org/10.1002/jez.b.21026>

Garcia E, Rice CA, Eernisse DJ, Forsgren KL, Quimbayo JP, Rouse GW. Systematic relationships of sympatric pipefishes (*Syngnathus* spp.): A mismatch between morphological and molecular variation. *J Fish Biol.* 2019; 95:999–1012. pmid:31192446

Garcia E, Wright D, Gatins R, Roberts MB, Pinheiro HT, Salas E, et al. Haplotype network branch diversity, a new metric combining genetic and topological diversity to compare the complexity of haplotype networks. *PLoS ONE.* 2021; 16(6):e0251878. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251878>

Gunn JC, Berkman LK, Koppelman J, Taylor AT, Brewer S, Long JM, Eggert LS. Complex patterns of genetic and morphological differentiation in the Smallmouth Bass subspecies (*Micropterus dolomieu dolomieu* and *M. d. velox*) of the Central Interior Highlands. *Conservation Genetics.* 2020; 21:891-904. <https://doi.org/10.1007/s10592-020-01295-1>

Haddaway NR, Bethel A, Dicks LV, Koricheva J, Macura D, Petrokofsky G, Pullin AS, Savilaakso S, Stewart GB. Eight problems with literature reviews and how to fix them. *Nat Ecol Evol.* 2020; 4:1582–1589. <https://doi.org/10.1038/s41559-020-01295-x>

Harris LN, Taylor EB. Pleistocene glaciations and contemporary genetic diversity in a Beringian fish, the broad whitefish, *Coregonus nasus* (Pallas): inferences from microsatellite DNA variation. *J. Evol. Biol.* 2010; 23(1):72-86. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01858.x>

He D, Sui X, Sun H, Tao J, Ding C, Chen Y, Chen Y. Diversity, pattern and ecological drivers of freshwater fish in China and adjacent areas. *Rev Fish Biol Fish.* 2020; 30:387-404. <https://doi.org/10.1007/s11160-020-09600-4>

Hickerson MJ, Carstens BC, Cavender-Bares J, Crandall KA, Graham CH, Johnson JB, Rissler L, Victoriano PF, Yoder AD. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Mol Phylogenet Evol.* 2010; 54:291-301. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.09.016>

- Hirschmann A, Malabarba LR, Thomaz AT, Fagundes NJR.** Riverine habitat specificity constrains dispersion in a Neotropical fish (Characidae) along Southern Brazilian drainages. *Zool Scripta*. 2015; 44(4):374-382.
- Huang K, Wang T, Dunn DW, Zhang P, Sun H, Li B.** A generalized framework for AMOVA with multiple hierarchies and ploidies. *Integr Zool*. 2021; Jan;16(1):33-52. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12460>
- Huang JP.** Is population subdivision different from speciation? From phylogeography to species delimitation. *Ecol Evol*. 2020; 10(14):6890-6896. <https://doi.org/10.1002/ece3.6524>
- Huang XX, Hsu KC, Kang B, Kuo PH, Tsai WH, Liang CM, Lin HD, Wang WK.** Population structure of *Aphyocypris normalis*: Phylogeography and systematics. *ZooKeys*. 2019; 872. <https://doi.org/10.3897/zookeys.872.33105> 77
- Hughes JM, Real KM, Marshall JC, Schmidt DJ.** Extreme genetic structure in a small-bodied freshwater fish, the purple spotted gudgeon, *Mogurnda adspersa* (Eleotridae). *PloS one*. 2012; 7(7):e40546. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040546>
- Ju YM, Hsu KC, Yang JQ, Wu JH, Li S, Wang WK, Ding F, Li J, Lin HD.** Mitochondrial diversity and phylogeography of *Acrossocheilus paradoxus* (Teleostei: Cyprinidae). *Mitochondrial DNA Part A*. 2018; 29(8):1194-1202. <https://doi.org/10.1080/24701394.2018.1431227>
- Kirchner S, Sattmann H, Haring E, Victor R, Kruckenhauser L.** Hidden diversity—Delimitation of cryptic species and phylogeography of the cyprinid *Garra* species complex in Northern Oman. *J Zool Syst Evol Res*. 2021; 59(2):411-427. <https://doi.org/10.1111/jzs.12438>
- Knowles LL.** Statistical phylogeography, *Annu. Rev. Ecol. Syst*. 2009; 40:593-612. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095702>
- Krieger J, Fuerst PA.** Evidence for a slowed rate of molecular evolution in the order Acipenseriformes. *Mol Biol Evol*. 2002; 19(6):891-897. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004146>
- Levin BA, Simonov EP, Ermakov OA, Levina MA, Interesova EA, Kovalchuk OM, Malinina, Mamilov NS, Mustafayev NJ, Pilin DV, Pozdeev IV, Prostakov NI,**

- Roubenyan HR, Titov SV, Vekhov DA.** Phylogeny and phylogeography of the roaches, genus *Rutilus* (Cyprinidae), at the Eastern part of its range as inferred from mtDNA analysis. *Hydrobiologia*. 2017; 788:33-46. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2984-3>
- Li G, Tang Y, Zhang R, Zhao K.** Phylogeography of *Diptychus maculatus* (Cyprinidae) endemic to the northern margin of the QTP and Tien Shan region. *BMC Evol Biol*. 2016; 16:1-11. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0756-3>
- Liu C, He D, Chen Y, Olden JD.** Species invasions threaten the antiquity of China's freshwater fish fauna. *Divers Distrib*. 2017; 23:556-566 <https://doi.org/10.1111/ddi.12541>
- Lundberg JG, Marshall LG, Guerrero J, Horton B, Malabarba MCSL, Wesselingh F.** The stage for Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZMS, Lucena CAS, Editors. *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre: EDIPUCRS. 1998. p. 13-48.
- Oliveira-Silva L, Batalha-Filho H, Camelier P, Zanata AM.** Past riverine connectivity effects in population structure and distribution of an endemic freshwater fish from northeastern Brazilian rivers: Phylogeographic, taxonomic, and conservation implications. *Freshw Biol*. 2023; 68(10):1685-1702.
- Mäkinen HS, Merilä J.** Mitochondrial DNA phylogeography of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in Europe—evidence for multiple glacial refugia. *Mol Phylogenet Evol*. 2008; 46(1):167-182.
- Matschiner M, Hanel R, Salzburger W.** Phylogeography and speciation processes in marine fishes and fishes from large freshwater lakes. In: *Phylogeography: concepts, intraspecific patterns, and speciation processes*. New York. 2010; 1-31. <https://doi.org/10.5451/unibas-ep27292>
- Mendes IS, Melo BF, Damasceno JS, Teixeira DF, Carvalho DC.** Phylogeography of *Hypomasticus copelandii* (Teleostei, Anostomidae) Reveals Distinct Genetic Lineages along Atlantic Coastal Drainages of Eastern Brazil. *Diversity*; 2022; 14:29. <https://doi.org/10.3390/d14010029>
- Mengoni A, Bazzicalupo M.** The statistical treatment of data and the Analysis of MOlecular Variance (AMOVA) in molecular microbial ecology. *Ann Microbiol*, 2002; 52:95-101. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20023107169>

- Meraner A, Cornetti L, Gandolfi A.** Defining conservation units in a stocking-induced genetic melting pot: unraveling native and multiple exotic genetic imprints of recent and historical secondary contact in Adriatic grayling. *Ecol Evol.* 2014; 4(8):1313-1327. <https://doi.org/10.1002/ece3.931>
- Mesquita N, Cunha C, Carvalho GR, Coelho MM.** Comparative phylogeography of endemic cyprinids in the south-west Iberian Peninsula: evidence for a new ichthyogeographic area. *J Fish Biol.* 2007; 71:45-75. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01518.x>
- Myers GS.** Fresh-water fishes and West Indian zoogeography. Ann. Report Smithsonian Inst. 1938.
- Núñez MA, Amano T.** Monolingual searches can limit and bias results in global literature reviews. *Nat Ecol Evol.* 2021; 5:264. <https://doi.org/10.1038/s41559-020-01369-w>
- White, K.** Publication Output: U.S. Trends and International Comparisons [Internet]. Alexandria; 2019. Available at <https://nces.nsf.gov/pubs/nsb20206/>
- Nelson JS, Grande TC, Wilson MVH.** Fishes of the World. Fifth Edition. John Wiley, Sons, Inc., Hoboken, New Jersey: 2016.
- Paul J, Criado AR.** The art of writing literature review: What do we know and what do we need to know?. *Int Bus Rev.* 2020; 29(4):101717.
- Perdices A, Vasil'eva E, Vasil'ev V.** From Asia to Europe across Siberia: phylogeography of the Siberian spined loach (Teleostei, Cobitidae). *Zool Scr.* 2015; 44(1):29-40. <https://doi.org/10.1111/zsc.12085>
- Pinton A, Agnès JF, Paugy D, Otero O.** A large-scale phylogeny of *Synodontis* (Mochokidae, Siluriformes) reveals the influence of geological events on continental diversity during the Cenozoic. *Mol Phylogenet Evol.* 2013; 66(3):1027-1040. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.12.009>
- Quezada-Romegialli C, Fuentes M, Véliz D.** Comparative population genetics of *Basilichthys microlepidotus* (Atheriniformes: Atherinopsidae) and *Trichomycterus areolatus* (Siluriformes: Trichomycteridae) in north central Chile. *Environ Biol Fishes.* 2010; 89:173-186. <https://doi.org/10.1007/s10641-010-9710-1>

- Rannala B, Yang Z.** Bayes estimation of species divergence times and ancestral population sizes using DNA sequences from multiple loci. *Genetics*. 2003; 164(4):1645-1656. <https://doi.org/10.1093/genetics/164.4.1645>
- Reis RE, Albert JS, Di Dario F, Mincarone MM, Petry P, Rocha LA.** Fish biodiversity and conservation in South America. *J Fish Biol*. 2016; 89(1):12-47.
- Ribeiro AC.** 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. *Neotrop Ichthyol*. 2006; 4:225-246. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252006000200009>
- Riddle BR.** Comparative phylogeography clarifies the complexity and problems of continental distribution that drove AR Wallace to favor islands. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016; 113(29):7970-77. <https://doi.org/10.1073/pnas.1601072113>
- Rincon-Sandoval M, Betancur-R R, Maldonado-Ocampo JA.** Comparative phylogeography of trans-Andean freshwater fishes based on genome-wide nuclear and mitochondrial markers. *Mol Ecol*. 2019; 28(5):1096-1115. <https://doi.org/10.1111/mec.15036>
- Ruzzante DE, Simons AP, McCracken GR, Habit E, Walde SJ.** Multiple drainage reversal episodes and glacial refugia in a Patagonian fish revealed by sequenced microsatellites. *Proc Biol Sci B*. 2020; 287(1928):20200468. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0468>
- Sasaki M, Hammer MP, Unmack PJ, Adams M, Beheregaray LB.** Population genetics of a widely distributed small freshwater fish with varying conservation concerns: the southern purple-spotted gudgeon, *Mogurnda adspersa*. *Conserv genet*. 2016; 17:875-889. <https://doi.org/10.1007/s10592-016-0829-2>
- Souza V, Oliveira-Silva L, Dutra RT, Camelier P.** Phylogeography of *Oligosarcus acutirostris* (Characiformes: Characidae): testing biogeographic hypotheses in the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion. *Neotrop Ichthyol*. 2023; 21(2):e220084. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2022-0084>
- Sudasinghe H, Pethiyagoda R, Raghavan R, Dahanukar N, Rueber L, Meegaskumbura M.** Diversity, phylogeny and biogeography of *Systemus* (Teleostei,

Cyprinidae) in Sri Lanka. *Zoologica Scripta*. 2020; 49(6):710-731.

<https://doi.org/10.1111/zsc.12445>

Thomaz AT, Knowles LL. Flowing into the unknown: inferred paleodrainages for studying the ichthyofauna of Brazilian coastal rivers. *Neotrop Ichthyol*. 2018;

16(3):e180019. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180019>

Toledo-Piza M, Baena EG, Dagosta FC, Menezes NA, Andrade M, Benine RC, ...

Zanata A M. Checklist of the species of the Order Characiformes (Teleostei:

Ostariophysi). *Neotrop Ichthyol*. 2024; 22(1):e230086. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0086>

Tominaga K, Watanabe K, Kakioka R, Mori S, Jeon SR. Two highly divergent mitochondrial DNA lineages within *Pseudogobio esocinus* populations in central Honshu, Japan. *Ichthyol res*. 2009; 56:195-199. <https://doi.org/10.1007/s10228-008-0071-0>

Vari RP. The Curimatidae, a Lowland Neotropical fish family (Pisces: Characiformes): distribution, endemism, and phylogenetic biogeography. In: Vanzolini PE, Heyer WR (Eds.). *Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns*. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências. 1988; 343-377.

Vari RP, Weitzman SH. A review of the phylogenetic biogeography of the freshwater fishes of South America. In: Peters G, Hutterer R (Eds). *Vertebrates in the tropic: Proceedings of the International Symposium*. Bonn, Museum Alexander Koenig. 1990; 381-93.

Xie Q, Freeman RB. Bigger than you thought: China's contribution to scientific publications. *National Bureau of Economic Research*. 2018; w24829
<http://www.nber.org/papers/w24829>

Xing Y, Zhang C, Fan E, Zhao Y. Freshwater fishes of China: species richness, endemism, threatened species and conservation. *Divers Distrib*. 2016; 22(3):358-70.
<https://doi.org/10.1111/ddi.12399>

Weitzman SH, Weitzman MJ. Biogeography and evolutionary diversification in Neotropical freshwater fishes, with comments on the refuge theory. In: Prance, G. T. (Ed.). *Biological diversification in the Tropics*. New York, Columbia University Press. 1982; 403-422.

Wallis GP, Trewick SA. New Zealand phylogeography: evolution on a small continent. *Mol ecol.* 2009; 18(17):3548-3580. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04294.x>

Wong WY, Ma KY, Tsang LM, Chu KH. Genetic legacy of tertiary climatic change: a case study of two freshwater loaches, *Schistura fasciolata* and *Pseudogastromyzon myersi*, in Hong Kong. *Heredity.* 2017; 119(5):360-370. <https://doi.org/10.1038/hdy.2017.47>

Yang JQ, Tang WQ, Sun Y, Tsai KC, Zhou ZC, Liu ZZ, Lin HD. Microsatellite diversity and population genetic structure of *Squalidus argentatus* (Cyprinidae) on the Island of Hainan and mainland China. *Biochem Syst Ecol.* 2013; 50:7-15. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.03.023>

Yang S, Dong H, Lei F. Phylogeography of regional fauna on the Tibetan Plateau: a review. *Progress in Natural Science.* 2009; 19(7):789-99. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2008.10.006>

FIGURE CAPTIONS

Fig. 1. Number of phylogeographic studies on freshwater ichthyofauna published between January 2007 and December 2020. **A.** Overall results; **B.** Only analyzed articles.

Fig. 2. Maps showing the countries where researchers who studied freshwater fish phylogeography from January 2007 to December 2020 were affiliated. **A.** First author; **B.** Last author. Numbers indicate the frequency with which each country appeared. Gray indicates the absence of researchers in that country publishing in phylogeography along the period analyzed.

Fig. 3. Orders of freshwater fishes studied in phylogeographic works carried out between January 2007 and December 2020.

Fig 4. Map showing the freshwater ecoregions of the world *sensu* Abell et al. (2008), whose ichthyofauna representatives were included in phylogeographic studies conducted

between January 2007 and December 2020. Numbers indicate the frequency with which each ecoregion was studied.

Fig 5. Number of freshwater fish phylogeography articles published per year between January 2007 and December 2020, classified according to: **A.** Genetic markers used for data collection (mtDNA, nuDNA or both); **B.** Types of methodological analyses applied.

SUPPLEMENTARY FILE

Table S1. List of the 306 articles analyzed in this study, including information on the title, year of publication, link to the article, and journal.

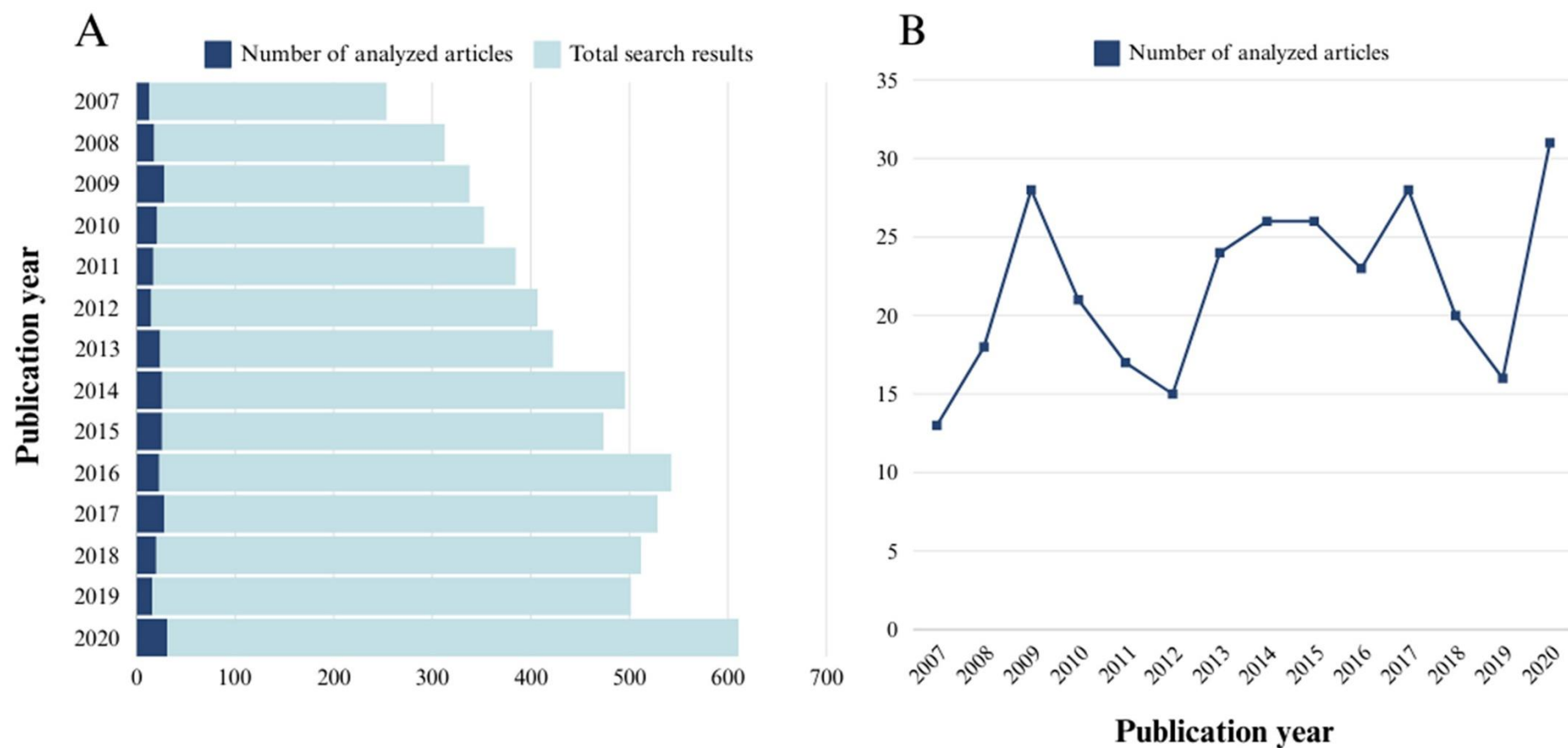


Fig 1.

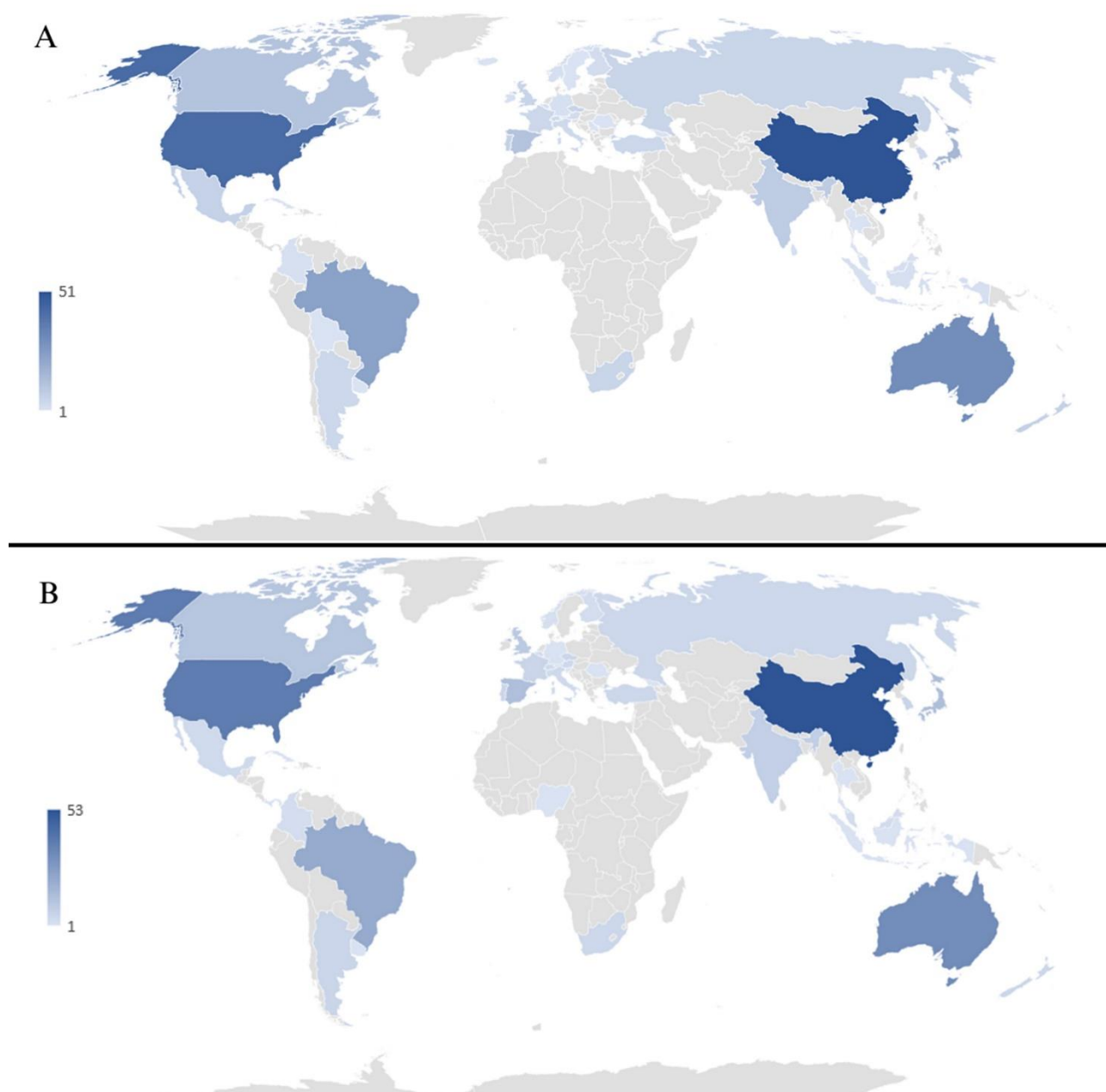


Fig 2.

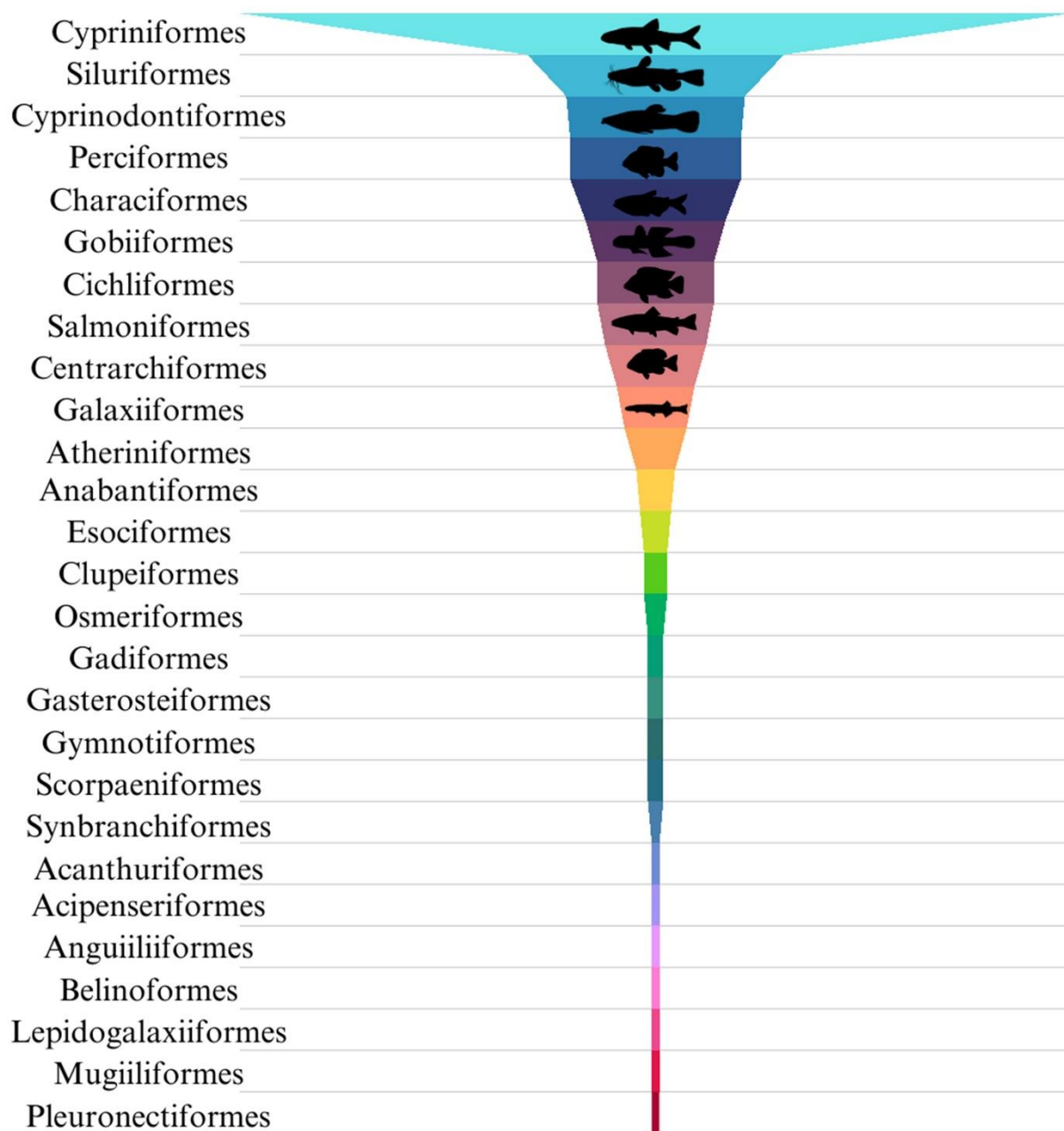


Fig 3.

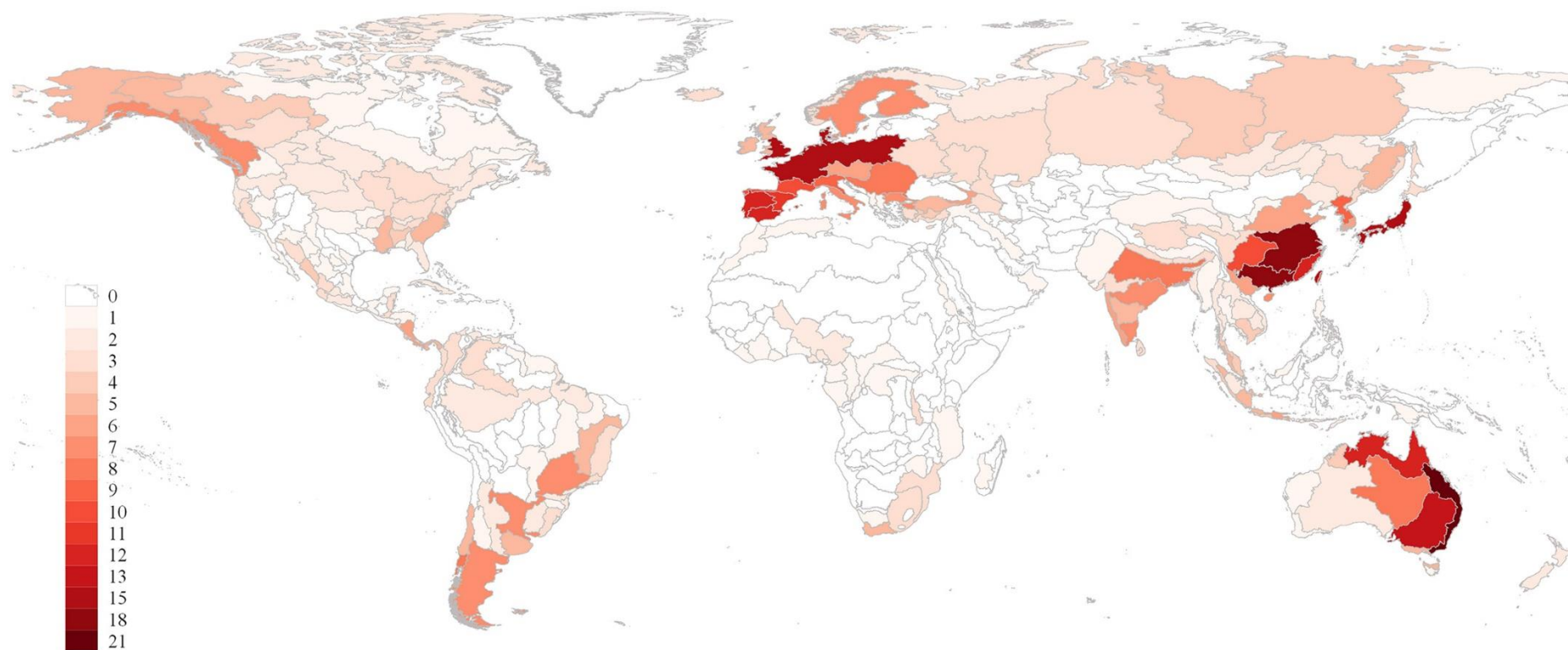


Fig 4.

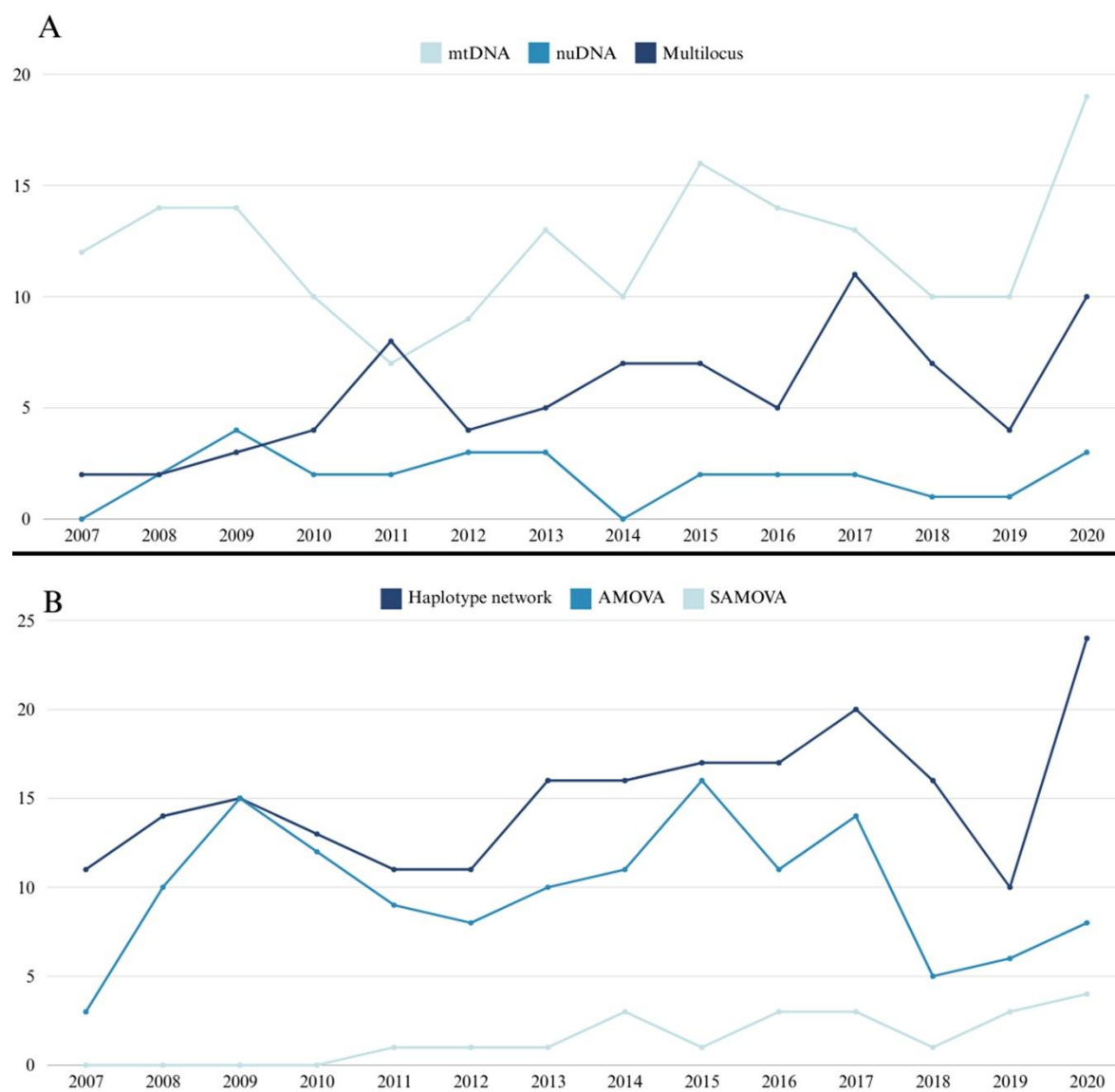


Fig 5.



Capítulo 2

Título: Comparative phylogeography of freshwater fish species co-distributed in the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion

Autoras: Rayana Tiago Dutra & Priscila Camelier

A ser submetido para o periódico *Zoologica Scripta* (ISSN:1463-6409), fator de impacto 2.3 e percentil 92%

Comparative phylogeography of freshwater fish species co-distributed in the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion

RAYANA DUTRA AND PRISCILA CAMELIER

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução, Laboratório de Sistemática e Biogeografia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Rua Barão de Jeremoabo, 147, Ondina, 40170-290 Salvador, BA, Brazil. (RTD)

rayanadutra@hotmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4640-9130>

(corresponding author), (PC) pricamelier@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1228-0076>

Abstract

The Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion (NMAF) encompasses several river basins currently isolated from each other that drain the Brazilian coast in a notably narrow continental shelf region. This ecoregion harbours a highly endemic and biogeographically significant ichthyofauna shaped by a complex geological history. This study applied a multilocus comparative phylogeographic approach using three molecular markers (COI, MYH6, RAG1) in four freshwater fish species distributed across the NMAF (*Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *Hyphessobrycon parvellus*, and *Parotocinclus bahiensis*) aiming testing hypotheses about the distribution of species and the influence of the continental shelf on the phylogeographic structuring of populations. Results reveal varying degrees of genetic differentiation among species, with *H. itaparicensis* displaying strong latitudinal structuring, likely influenced by the limited connectivity in the narrow continental shelf region. In contrast, *C. bahiense*, *H. parvellus*, and *P. bahiensis* showed weak genetic structuring, potentially shaped by fluvial captures and shared historical connections. The genetic diversity patterns suggest recent demographic expansions for most species, corroborated by molecular clock analyses. Comparative results aligned with historical drainage hypotheses support the role of paleodrainages in shaping distribution patterns, particularly for lowland species like *H. itaparicensis*. This study underscores the

importance of integrating molecular, geological, and ecological data to uncover complex biogeographic processes in neotropical freshwater systems

KEYWORDS

Atlantic Forest, Brazilian Continental Shelf, Characiformes, coastal paleodrainages, population genetics, Siluriformes

1. INTRODUÇÃO

A filogeografia buscar entender padrões e processos que envolvem a relação da distribuição geográfica de linhagens com a evolução da diversidade genética, permitindo a compreensão de como os eventos históricos moldaram a distribuição de genes, populações e espécies (Avice & Hamrick, 1996; Avice, 2000). Quando realizada com apenas uma espécie, no entanto, a análise filogeográfica por si só pode não ser eficiente na recuperação de padrões, uma vez que os resultados encontrados podem representar apenas uma idiossincrasia do táxon analisado (Zink, 1996). Ao comparar padrões históricos de fluxo gênico e divergência entre táxons que se sobrepõem no espaço e no tempo, a filogeografia comparada tem contribuído para formulação de hipóteses capazes de ajudar a explicar a influência dos eventos históricos da Terra nos padrões atuais de biodiversidade (Hickerson et al., 2010; Avice et al., 2016). Assim, os trabalhos de filogeografia comparada têm sido cada vez mais recomendados, especialmente para estudos focados em uma área ou domínio (e.g., Zink, 1996; Bermingham & Moritz, 1998; Hickerson et al., 2010; Edwards et al., 2022).

Apesar do aumento do número de trabalhos de filogeografia comparada na última década (e.g., Egge & Hagbo, 2015; Riddle, 2016; Schaik et al., 2018; Kohli et al., 2020; Ritter et al., 2021; Edwards et al., 2022; Pinadero et al., 2023) e dos peixes de água doce serem considerados bons modelos para estudos filogeográficos (Avice, 2009; Hirschmann et al., 2015; Camelier et al., 2018), ainda são poucos os estudos realizados com este grupo no Hemisfério Sul (Beheregaray, 2008; Martins & Domingues, 2011; Dutra & Camelier, submetido). Este número é ainda menor para peixes endêmicos de rios e riachos da Mata Atlântica (MA) (Turchetto-Zolet et al., 2013), sendo que a maioria dos trabalhos teve como foco espécies de distribuição restrita às bacias que drenam trechos da MA localizados nas regiões Sudeste e Sul do Brasil (e.g., Thomaz et al., 2015; Lima et al., 2017; Camelier et al., 2018; Pio & Carvalho, 2021).

A ecorregião de água doce Mata Atlântica Nordeste (ecorregião 328, *Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion*, NMAF) foi proposta por Abell et al. (2008) e inclui todas as drenagens costeiras do leste do Brasil compreendidas entre o rio Sergipe ao norte até o rio Itabapoana ao sul (Camelier & Zanata, 2014), o que representa uma área considerável do domínio Mata Atlântica. As bacias da NMAF fazem parte de um conjunto de rios que drenam, principalmente, a faixa litorânea do Brasil (na Mata Atlântica), na parte leste do escudo cristalino brasileiro, uma área de topografia complexa, que foi

moldada pela atividade tectônica ocorrida no Terciário e mudanças no nível do mar no Quaternário (Ribeiro, 2006). A ictiofauna desta região, incluindo aquela ocorrente nas bacias da NMAF, é reconhecida pelo alto grau de endemismo e grande significado biogeográfico (Bizerril, 1994; Ribeiro, 2006; Camelier & Zanata, 2014; Silva et al., 2020). De acordo com Camelier & Zanata (2014), a NMAF é dividida em três sub-regiões (Grupo Norte, Grupo Centro e Grupo Sul), tendo como base o compartilhamento de espécies de peixes de água doce entre suas bacias hidrográficas, que são atualmente isoladas entre si. O Grupo Norte é formado por oito drenagens entre os rios Sergipe e Paraguaçu, o Grupo Centro por seis drenagens entre os rios de Contas e Jequitinhonha e o Grupo Sul por nove drenagens entre os rios Buranhém e Doce (Camelier & Zanata, 2014). Apesar das autoras terem estudado a grande maioria das bacias que compõem a NMAF, drenagens independentes de menor porte localizadas entre as bacias dos rios Paraguaçu (limite sul do Grupo Norte) e Contas (limite norte do Grupo Sul), em uma região conhecida como Recôncavo Sul (ver Burger et al., 2011), não foram incluídas na análise por subamostragem, de maneira que a relação destas bacias com as demais da NMAF é desconhecida. Embora o compartilhamento de espécies e a formação dos agrupamentos sejam um bom ponto de partida para o levantamento de hipóteses gerais sobre a história biogeográfica destas bacias, estudos adicionais ainda se fazem necessário não apenas para testá-las, como também para a proposição de outras hipóteses biogeográficas, mais refinadas, conforme ressaltado pelas próprias autoras (ver Camelier & Zanata, 2014).

Por estarem restritos aos corpos d'água após sua formação, espera-se uma forte relação histórica entre os peixes de água doce e as bacias hidrográficas que os abrigam (Vari, 1988; Hischmann et al., 2015), de maneira que o compartilhamento de espécies entre drenagens atualmente isoladas entre si pode ser um indicativo de conexões pretéritas entre as mesmas, conforme já sugerido por Camelier & Zanata (2014) para a NMAF. Estas conexões, por sua vez, podem ser resultantes de eventos de capturas fluviais (em geral pelas cabeceiras), confluência de corpos d'água por seus cursos inferiores após um evento de regressão marinha (com a formação de paleodrenagens costeiras) e/ou, apesar de menos comum, pela dispersão via oceano quando baixas condições de salinidade são estabelecidas (ver Bishop, 1995; Ribeiro, 2006; Thomaz & Knowles, 2018).

As conexões e desconexões associadas aos eventos de regressão e transgressão marinha, respectivamente, têm especial influência na história das bacias hidrográficas que drenam regiões costeiras e sua ictiofauna (Thomaz & Knowles, 2018). Especificamente para as drenagens da NMAF, o compartilhamento de espécies de peixes, principalmente

aquelas ocorrentes em trechos da planície litorânea, próximos à linha da costa, pode estar associado à exposição da plataforma continental brasileira durante o Último Máximo Glacial (UGM) no Quaternário (Murray-Wallace & Woodroffe, 2014). Neste período, os níveis globais da água do mar caíram até -150 m (Ribeiro, 2006; Leite et al., 2016), favorecendo a formação de cerca de 150 paleodrenagens ao longo da costa brasileira propostas por Thomaz & Knowles (2018). Dominguez et al. (2013) também apontaram a existência de paleocanais que evidenciam processos sedimentares continentais ativos ao longo da plataforma brasileira exposta durante períodos de baixo nível do mar, indicando a presença de matas ciliares e, conseqüentemente, rios nesta região. Estes paleocanais também teriam potencial para interligar drenagens que, hoje, encontram-se isoladas entre si.

A MA apresenta forte diferenciação latitudinal e a história geomorfológica da plataforma continental deve ter desempenhado um papel importante, ainda que ignorado, neste processo (Leite et al., 2016). Segundo Thomaz & Knowles (2018), embora as paleodrenagens costeiras inferidas forneçam informações valiosas sobre conexões pretéritas, nem todas as conexões influenciaram igualmente a ictiofauna na região. As diferenças na exposição da plataforma continental ao longo da costa, diferenças na duração das conexões devido às variações na inclinação ao longo da costa, bem como diferentes respostas das espécies às conexões fluviais podem ter afetado o grau de conectividade passada entre os rios e/ou entre suas espécies de peixes (Papadopoulou & Knowles, 2015; Thomaz & Knowles, 2018). De forma geral, as bacias atualmente isoladas que drenam a MA tendem a ter sido mais conectadas no passado (durante o Pleistoceno) na região Sudeste, onde houve a formação de grandes paleodrenagens costeiras, em relação ao que pode ter ocorrido na região Nordeste (Thomaz & Knowles, 2018). Segundo estas autoras, embora a estrutura genética entre as populações dos peixes dos rios do sudeste seja amplamente explicada pelas distribuições de paleodrenagens, o mesmo pode não acontecer com os rios do nordeste, dada a conectividade limitada promovida entre os rios durante o recuo do nível do mar nesta área. Neste caso, seria interessante explorar se a diferença na exposição da plataforma continental ao longo da costa afeta os padrões de distribuição e divergência genética da ictiofauna. Thomaz & Knowles (2020) fizeram um estudo desta natureza, mas com foco em espécies de peixes de água doce codistribuídas em bacias que drenam as ecorregiões de água doce localizadas mais ao sul da Mata Atlântica, de maneira que nenhum estudo foi realizado em bacias mais ao norte, como aquelas do Grupo Norte da NMAF, onde a plataforma continental é especialmente estreita.

De acordo com Camelier & Zanata (2014), o GN inclui, de norte a sul, as bacias dos rios Sergipe, Vaza-Barris, Piauí, Real, Itapicuru, Inhambupe, Pojuca e Paraguaçu, sendo sustentado pela ocorrência compartilhada de *Hyphessobrycon parvellus* Ellis (ordem Characiformes). Além disto, segundo as autoras, dentro do GN, há uma relação mais próxima entre as bacias dos rios Sergipe e Piauí, sustentada pela ocorrência de *Hyphessobrycon itaparicensis* Lima & Costa (ordem Characiformes) e uma estreita relação entre as bacias dos rios Vaza-Barris, Real, Itapicuru, Inhambupe, Pojuca e Paraguaçu devido ao compartilhamento de *Characidium bahiense* Almeida (ordem Characiformes). A relação entre estes últimos rios, no entanto, não foi totalmente resolvida (ver Camelier & Zanata, 2014: fig. 2). Além disso, de acordo com o diagrama de consenso apresentado por estas autoras, as drenagens dos rios Real, Itapicuru, Inhambupe, Pojuca e Paraguaçu são estreitamente relacionadas, com base na co-ocorrência da espécie *Parotocinclus bahiensis* (Miranda Ribeiro) (ordem Siluriformes). Apesar da politomia encontrada no estudo de Camelier & Zanata (2014) entre algumas drenagens do GN, as autoras não investigaram em detalhes quais eventos poderiam estar relacionados ao padrão de distribuição encontrado para a ictiofauna da região (*e.g.*, capturas de cabeceiras, paleodrenagens costeiras). Neste contexto, no presente trabalho, foi realizado um estudo de filogeografia comparada de algumas espécies de peixes de água doce das ordens Characiformes e Siluriformes codistribuídas no Grupo Norte da ecorregião Mata Atlântica para responder três questões principais: (1) O tamanho da plataforma continental na porção mais ao norte da NMAF afeta os padrões de estruturação e divergência genética das espécies analisadas?; (2) O padrão de distribuição em nível populacional das espécies estudadas é similar ao padrão em nível específico proposto por Camelier & Zanata (2014)?; e (3) É possível resolver as relações entre algumas bacias do Grupo Norte da NMAF com base em estudos populacionais?.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Foram utilizadas como espécies modelo três representantes da ordem Characiformes (*i.e.*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *H. parvellus* e *Characidium bahiense*) e um da ordem Siluriformes (*Parotocinclus bahiensis*) co-distribuídos na NMAF e cujo

compartilhamento culminou na proposta de relacionamento entre as bacias apresentada por Camelier & Zanata (2014). A maior parte das amostras de tecido destas espécies já estava disponível na coleção ictiológica do Museu de História Natural da Bahia (MHNBA), incluindo material depositado na própria coleção e amostras obtidas previamente por empréstimo/doação de outras instituições (i.e., Laboratório de Biologia e Genética de Peixe da Universidade Estadual Paulista, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Universidade Federal de Sergipe). Coletas adicionais, realizadas principalmente com o objetivo de cobrir a distribuição das espécies modelo na área de interesse, foram realizadas durante o presente estudo, no período entre 2021 e 2023, e todo o material coletado foi depositado na coleção ictiológica do MHNBA. A licença de coleta para as expedições realizadas foi emitida pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO #71863).

Antes das análises moleculares propriamente ditas, os *vouchers* de todas as amostras das espécies de interesse foram analisados e identificados em nível específico, com base nos caracteres diagnósticos de morfologia externa apresentados na literatura (e.g., Almeida, 1971; Britski & Garavello, 2009; Zanata et al., 2018; Oliveira-Silva et al., 2023) e em consulta aos especialistas dos grupos. Além do material referente às espécies modelo, também foram coletadas/obtidas amostras/sequências de representantes de Characiformes e Siluriformes, que foram utilizados como grupos externos nas análises filogenéticas. Estes táxons foram escolhidos principalmente com base nas relações evolutivas propostas em estudos filogenéticos prévios e na disponibilidade de dados (amostras de tecido e/ou sequências em banco de dados), tal como detalhado a seguir. Para *Characidium bahiense*, foram escolhidas as espécies *Characidium* cf. *lagosantense* e *C. pterostictum* Gomes (ver Oliveira-Silva et al., 2023, 2024). Para *Hyphessobrycon itaparicensis* e *Hyphessobrycon parvellus*, o grupo externo foi escolhido com base nos trabalhos de Mirande (2018) e Camelier et al. (in prep.) e incluiu as espécies *Hasemania nana* (Lütken), *Hemigrammus marginatus* Ellis, *Moenkhausia costae* (Steindachner) e *Nematocharax venustus* Weitzman, Menezes & Britski. No caso de *Hyphessobrycon parvellus*, também foram incluídas amostras de *Hyphessobrycon brumado* Zanata & Camelier, *Hyphessobrycon diastatos* Dagosta, Marinho & Camelier e *Hyphessobrycon negodagua* Lima & Gerhard, espécies que já foram propostas como putativamente relacionadas a *H. parvellus* (ver Lima & Gerhard, 2001; Zanata & Camelier, 2010; Dagosta et al., 2014). Para *Parotocinclus bahiensis*, o grupo externo incluiu as espécies *Otothyris travassosi* Garavello, Britski & Schaefer, *Parotocinclus robustus* Lehmann &

Reis e *P. prata* Ribeiro, Melo & Pereira com base em Roxo et al. (2014), *P. maculicauda* (Steindachner) (espécie-tipo do gênero), além de *P. cristatus* Garavello, *P. jimi* Garavello, *P. minutus* Garavello e *P. nandae* Lehmann, Camelier & Zanata, congêneres ocorrentes na NMAF. A lista de todo o material utilizado no presente estudo está disponível na Tabela S1 (Apêndice 1).

2.2. Extração de DNA genômico, amplificação e sequenciamento

O DNA genômico de todas as espécies foi extraído de tecido muscular preservado em etanol a 96% com o Kit de extração *DNA Wizard Genomic* (Promega; www.promega.com), seguindo as instruções do fabricante. Para a análise multilocus, foram amplificadas as sequências parciais de três marcadores, sendo um mitocondrial, Citocromo Oxidase I (COI), e dois nucleares, Alfa-miosina de Cadeia Pesada (MYH6) e Gene Ativador de Recombinação 1 (RAG1), utilizando o método de reação em cadeia da polimerase (do inglês *Polymerase Chain Reactin*, PCR), com primers já descritos na literatura (ver Tabela 1). Estes marcadores são costumeiramente utilizados em estudos de filogenia e filogeografia de peixes das ordens Characiformes e Siluriformes (e.g., Campbell et al., 2015; Ramos-Fregonezi et al., 2017; Sudasinghe et al., 2020; Souza et al., 2023; Oliveira-Silva et al., 2023, 2024).

Tabela 1. Sequências de *primers* utilizados neste estudo.

Marcador	Primer	Sequência (5'-3')	Referência
COI	H7271-COXI	TCCTATGTAGCCGAATGGTTCTTTT	Melo et al. (2011)
	COI L6252	AAGGCGGGGAAAGCCCCGGCAG	
	FishF1_t1	TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	Ward et al. (2005)
	FishR1_t1	TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAGATAT	
MYH6	R1322	CTCACCACCATCCAGTTGAACAT	Li et al. (2007)
	F507	GGAGAATCARTCKGTGCTCATCA	

RAG1	RAG1-2533F	CTGAGCTGCAGTCAGTACCATAAGATGT	López et al. (2004)
	RAG1-4090R	CTGAGTCCTTGTGAGCTTCCATRAAYTT	

Para amplificar o marcador mitocondrial COI, foi utilizado o volume total de 15 µl, contendo 8,58 µl de ddH₂O, 2,4 µl de dNTPs (1,25M), 1,5 µl de tampão 10X (Buffer), 0,6 de MgCl₂, 0,6 µl de cada primer, 0,12 µl de Taq Platinum® Polymerase (Invitrogen) e 1,0 µl de DNA total. Amplificações para os marcadores nucleares MYH6 e RAG1 foram feitas em um volume total de 15 µl, contendo 1,5 µl de tampão 10X (Buffer), 0,8 de MgCl₂, 2,4 µl de dNTPs (200 nM de cada), 0,6 µl de cada primer, 0,12 µl de Taq Platinum® Polymerase (Invitrogen), 8,38 µl de ddH₂O e 0,6 µl de DNA total.

As reações de PCR foram realizadas em termociclador Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems). Para o marcador COI, as condições de termociclagem utilizadas foram: (1) desnaturação inicial a 94°C por 4 min; (2) 40 ciclos de amplificação, divididos nas etapas: (a) desnaturação a 92°C por 30 s, (b) anelamento a 54°C para os primers FishF1 e Fish R1 e a 58°C para os primers COI L6252 e H7271-COXI, (c) extensão a 72°C por 1 min e 30 s; e (3) extensão final a 72°C por 10 min. Para o MYH6, as condições de termociclagem consistiram de uma etapa inicial de (1) desnaturação a 95°C por 4 min; seguida de (2) 35 ciclos de amplificação, divididos nas seguintes etapas: (a) desnaturação a 95°C por 40 s, (b) anelamento entre 60°C a 62°C por 1 min e (c) extensão a 72°C por 1 min e 30 s; (3) extensão final a 72°C por 7 min. Para o RAG1, as condições de termociclagem consistiram de uma etapa inicial de (1) desnaturação a 95°C por 4 min; seguida de (2) 30 ciclos de amplificação, divididos nas seguintes etapas: (a) desnaturação a 95°C por 40 s, (b) anelamento entre 58°C por 1 min e (c) extensão a 72°C por 1 min e 30 s; e (3) extensão final a 72°C por 10 min.

Os segmentos de DNA amplificados nas reações de PCR foram visualizados em gel de agarose 1% e, então, purificados utilizando PEG, seguindo as instruções do fabricante. Os produtos de PCR purificados foram sequenciados utilizando o *kit Big Dye™ Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (FIOCRUZ - Bahia) através de um sequenciador automático ABI 3500 XL *Genetic Analyser* (Applied Biosystems).

As sequências consenso de cada gene (i.e., *contigs*) foram montadas no programa Genious v. 4.8.5 (Domínio Ltd.) a partir da visualização e checagem simultânea do eletroferograma. O alinhamento foi feito utilizando o Muscle

(<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>) (Edgar, 2004), sob os parâmetros do *default*.

Todos os alinhamentos foram analisados e verificados no programa BioEdit v. 7.0.9.0 (Hall, 1999) para correção manual. As sequências de marcadores nucleares tiveram suas fases determinadas utilizando o algoritmo PHASE (Stephens et al., 2001) no modo *default* do DnaSP v. 5.10 (Librado & Rozas, 2009). Para cada matriz de dados, o melhor modelo de evolução nucleotídica foi calculado no programa MrModeltest2 (Nylander, 2004), com base no critério de informação de Akaike (AIC).

2.3. Análises filogenéticas e tempos de divergência

A reconstrução filogenética das sequências obtidas foi feita utilizando os métodos probabilísticos de Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB). A análise de MV foi realizada através do programa RAxML-HPC2 v. 8.2.4. (Stamatakis, 2014) e a robustez topológica foi investigada através do teste estatístico de *bootstrap* com 1.000 pseudoréplicas. A análise IB foi realizada no MrBayes v. 3.2.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001; licença gratuita) e consistiu em duas corridas simultâneas, incluindo 100 milhões de gerações cada, sendo cada uma com quatro MCMC e uma árvore salva a cada 500 gerações. Assim, foram excluídas 4 mil árvores iniciais, devido ao *burn-in* de 10% e os valores de probabilidade posterior foram estimados com as árvores restantes. O desempenho da MCMC foi checado no programa Tracer v1.7.1 (Rambaut & Drummond, 2009), além da convergência entre as corridas, feita através do *Effective Sample Size* (ESS). Os valores de ESS maiores que 200 indicam bom desempenho da análise. As topologias geradas foram visualizadas e editadas no programa FigTree v. 1.3.1 (Rambaut, 2009).

As estimativas de tempo de divergência das espécies de interesse foram obtidas a partir de datação molecular utilizando a análise de relógio molecular, implementada nos programas do pacote BEAST v. 1.8.4 (Drummond et al., 2012) e com base na matriz de dados concatenada. No BEAUti v. 1.8.4, foi gerado o arquivo de entrada da análise, sob os seguintes parâmetros: modelo de substituição para cada marcador (ver Tabela 2), modelo de relógio *Strict Clock*, árvore randômica de partida e *prior Yule Model*. A calibração foi feita utilizando a taxa de substituição do marcador COI de 1% por milhão de anos (Myr) tal como proposto por Thomaz et al. (2015). Em seguida, foi estimado as taxas para os loci nucleares utilizando uma distribuição exponencial padrão. A análise em si consistiu em

duas corridas simultâneas de 100 milhões de gerações cada, com uma árvore salva a cada 10 mil gerações e *burn-in* de 20%. O desempenho e a convergência dos parâmetros entre as corridas foram analisados no programa Tracer v. 1.7.1, onde também foi checado o desempenho da análise (ESS>200). Depois da remoção do *burn-in*, as corridas independentes foram combinadas no LogCombiner v. 1.8.4, a topologia consenso, com o tempo de divergência entre os clados, foi gerada no TreeAnnotator v. 1.8.4 e, posteriormente, visualizada e editada através do FigTree.

Tabela 2. Modelos de substituição nucleotídicas utilizados no presente estudo por espécie e por marcadores mitocondrial (COI) e nucleares (MYH6 e RAG1). Os modelos foram escolhidos com base nos critérios AIC (*Akaike Information Criterion*) para a análise de Máxima verossimilhança e BIC (*Bayesian Information Criterion*) para a Inferência Bayesiana.

Espécies	Marcadores					
	COI		MYH6		RAG1	
	BIC	AIC	BIC	AIC	BIC	AIC
<i>Characidium bahiense</i>	HKY	HKY+I	HKY+G	HKY	K80	GTR
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	GTR+G	GTR+I+G	HKY+G	HKY+I	-	-
<i>Hyphessobrycon parvulus</i>	GTR	SYM+G	GTR+G	GTR+I	SYM+G	GTR+G
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	GTR+G	GTR+G	F81+I+G	GTR+I	F81+G	F81+I

2.4. Análises filogeográficas e de demografia histórica

As redes de haplótipos foram construídas através do método de Median-joining network (Bandelt et al., 1999) implementado no programa PopART (Leigh & Bryant, 2015) (<http://popart.otago.ac.nz/index.shtml>). Os arquivos de entrada deste programa foram gerados no MEGA 5 a partir das matrizes dos marcadores COI, MYH6 e RAG1 já alinhadas (formato .nex) e no EXCEL, onde foi produzida uma tabela de presença e ausência nas bacias (formato .txt).

A análise de *Spatial Analysis of Molecular Variance* (SAMOVA, Dupanloup et al., 2002) foi realizada para detectar agrupamentos geográficos geneticamente diferenciados e avaliar a estrutura populacional entre as amostras das espécies modelo considerando a variação genética em função da distribuição geográfica. Para isso, foi utilizadas sequências concatenadas dos três marcadores. Cada localidade foi tratada como uma população e as coordenadas geográficas foram coletadas usando sistema de GPS. A análise foi realizada no software SAMOVA v.2.0 (Dupanloup et al., 2002), seguindo os quatro passos detalhados a seguir: (i) configuração de parâmetros iniciais, na qual foi definido um

número inicial de agrupamentos populacionais (K) variando de 2 a 6 para *Characidium bahiense*, 2 a 10 para *Hyphessobrycon itaparicensis*, 2 a 17 para *H. parvellus* e 2 a 7 para *Parotocinclus bahiensis* para explorar diferentes níveis de estruturação genética. Para cada valor de K, o algoritmo identificou os agrupamentos que maximizam a variação entre grupos (F_{CT}) e minimizam a variação dentro dos grupos; (ii) construção da matriz de distâncias genéticas, na qual foi utilizado o modelo de substituição de nucleotídeos de Kimura 2 Parâmetros (K2P); (iii) execução da análise SAMOVA: o algoritmo foi rodado para cada valor de K e o valor ótimo foi selecionado com base na maximização de F_{CT}. A significância estatística da estruturação genética foi avaliada por meio de testes de permutação (1.000 permutações) para verificar se a estrutura observada é diferente do que seria esperado ao acaso; e (iv) interpretação dos resultados: o valor ótimo de K foi utilizado para inferir agrupamentos geográficos geneticamente diferenciados. A significância das comparações entre populações foi avaliada através da estatística F_{CT}, sendo valores altos indicativos de forte estruturação genética.

Para testar as diferentes hipóteses de estruturação genética das espécies modelo ao longo da área de interesse, foi implementada a Análise de Variância Molecular (AMOVA; Excoffier et al., 1992) no programa Arlequin v.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010) (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/Arlequin35.html>). Neste caso, foram testados os mesmos cenários para as quatro espécies: (i) isolamento atual das bacias; (ii) conexões pretéritas entre afluentes de uma mesma paleodrenagem costeira com base em Thomaz & Knowles (2018); (iii) relação entre as bacias com base na hipótese biogeográfica de Camelier & Zanata (2014). Para o cenário iii, foram feitos quatro testes para os Grupos Norte e Centro da ecorregião Mata Atlântica Nordeste propostos por Camelier e Zanata (2014). Como algumas espécies também ocorrem no Grupo Centro e outras ocorrem em bacias geograficamente localizadas no Grupo Norte, mas que não foram incluídas na análise das autoras. Sendo assim para o cenário iii, foram feitos os seguintes testes: (a) com dois grupos – Grupo Norte + Bacias do Recôncavo Sul *sensu* Burger et al. (2011) e Grupo Centro; (b) com dois grupos – Grupo Norte e Grupo Centro + Bacias do Recôncavo Sul; (c) com quatro grupos – Sergipe + Piauí, Vaza-Barris, Real + Itapicuru + Inhambupe + Pojuca + Paraguaçu e Grupo Centro; (d) com cinco grupos – Sergipe + Piauí, Real + Paraguaçu, Vaza-Barris, Itapicuru + Inhambupe + Pojuca e Grupo Centro. Todos os cenários, no entanto, foram adaptados à distribuição de cada espécie modelo tal como apresentado na Tabela 3. A significância dos testes foi obtida com mil permutações. Para estas análises, foram utilizados apenas dados do marcador mitocondrial COI, para o qual

havia maior quantidade de localidades amostradas e que também recuperou uma maior estruturação genética entre as sequências aqui analisadas. Para análise do grau de diferenciação genético ou de subdivisão interpopulacional (Φ_{ST}), foram considerados os seguintes valores propostos por Wright (1978): entre 0,00 e 0,05, baixa; entre 0,05 e 0,15, moderada; entre 0,15 e 0,25, alta; maior que 0,25, muito alta. A significância do teste foi verificada pelo método de permutação aleatória com 1.000 permutações. A diversidade nucleotídica por sítio (π), o número de haplótipos (h), bem como a diversidade haplotípica (H_d) foram calculados no programa DnaSP. Os valores de $\pi > 0,5\%$ e $H_d > 0,5$ foram considerados elevados, como sugerido por Grant & Bowen (1988). Para detectar possíveis sinais de expansão demográfica, os testes de neutralidade de Tajimas'D (Tajima, 1989) e F_u' FS (Fu, 1997) foram aplicados, além do teste de mudança no tamanho da população R_2 (Ramos-Onsins & Rozas, 2002), também no DnaSP. A significância desses testes foi determinada com base em mil simulações coalescentes.

Tabela 3. Formação dos grupos para cada cenário analisado da Análise de Variação Molecular (AMOVA) para as espécies *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *Hyphessobrycon parvulus* e *Parotocinclus bahiensis*. Cenários testados: (i) isolamento atual das bacias; (ii) conexões pretéritas entre afluentes de uma mesma paleodrenagem costeira com base em Thomaz & Knowles (2018); (iii) relação entre as bacias com base na hipótese biogeográfica de Camelier & Zanata (2014). Para o cenário iii, foram feitos os seguintes testes de agrupamento: (a) com dois grupos – Grupo Norte + Bacias do Recôncavo Sul *sensu* Burger *et al.* (2011) e Grupo Centro; (b) com dois grupos – Grupo Norte e Grupo Centro + Bacias do Recôncavo Sul; (c) com quatro grupos – Sergipe + Piauí, Vaza-Barris, Real + Itapicuru + Inhambuê + Pojuca + Paraguaçu e Grupo Centro; (d) com cinco grupos – Sergipe + Piauí, Real + Paraguaçu, Vaza-Barris, Itapicuru + Inhambuê + Pojuca e Grupo Centro.

Espécie	Grupos					
	Cenário i	Cenário ii	Cenário iii			
			a	b	c	d
Characiformes						
<i>Characidium bahiense</i>	1. Vaza-Barris 2. Real 3. Itapicuru 4. Sauípe 5. Pojuca 6. Capivara Grande 7. Paraguaçu	1. Vaza-Barris 2. Real 3. Itapicuru 4. Sauípe 5. Pojuca 6. Capivara Grande + Paraguaçu	-	-	1. Vaza-Barris 2. Real + Itapicuru + Pojuca + Capivara Grande + Paraguaçu + Sauípe	1. Vaza-Barris 2. Real + Paraguaçu 3. Itapicuru + Pojuca 4. Capivara Grande + Sauípe
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	1. Sergipe 2. Piauí 3. Real 4. Sauípe 5. Ilha de Itaparica 6. Paraguaçu 7. Vermelho 8. Santarém 9. Igrapiúna 10. Almada	1. Sergipe 2. Piauí + Real 3. Sauípe 4. Ilha de Itaparica + Paraguaçu 5. Vermelho + Santarém 6. Igrapiúna 7. Almada	1. Sergipe + Piauí + Real + Sauípe + Ilha de Itaparica + Paraguaçu + Vermelho + Santarém + Igrapiúna 2. Almada	1. Sergipe + Piauí + Real + Sauípe + Ilha de Itaparica + Paraguaçu 2. Vermelho + Santarém + Igrapiúna + Almada	1. Sergipe + Piauí 2. Real + Sauípe 3. Ilha de Itaparica + Paraguaçu + Vermelho + Santarém + Igrapiúna + Almada	1. Sergipe + Piauí 2. Real + Paraguaçu 3. Sauípe 4. Ilha de Itaparica + Vermelho + Santarém + Igrapiúna + Almada

<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	1. Sergipe 2. Vaza-Barris 3. Piauí 4. Real 5. Itapicuru 6. Itariri 7. Inhambupe 8. Pojuca 9. Sauípe 10. Paraguaçu 11. Jequiriçá 12. Jaguaripe 13. Igrapiúna 14. Contas	1. Sergipe 2. Vaza-Barris 3. Piauí + Real 4. Itapicuru + Itariri + Inhambupe 5. Pojuca + Sauípe 6. Paraguaçu 7. Jequiriçá + Jaguaripe 8. Igrapiúna 9. Contas	1. Sergipe + Vaza-Barris + Piauí + Real + Itapicuru + Itariri + Inhambupe + Pojuca + Sauípe + Paraguaçu + Jequiriçá + Jaguaripe + Igrapiúna 2. Contas	1. Sergipe + Vaza-Barris + Real + Piauí + Itapicuru + Itariri + Inhambupe + Pojuca + Sauípe + Paraguaçu + Jequiriçá + Jaguaripe + Igrapiúna + Contas 2. Jaguaripe + Jequiriçá + Igrapiúna + Contas	1. Sergipe + Piauí 2. Vaza-Barris + Real + Itapicuru + Itariri + Inhambupe + Pojuca + Sauípe + Paraguaçu + Jequiriçá + Jaguaripe + Igrapiúna + Contas 3. Contas	1. Sergipe + Piauí 2. Vaza-Barris + Itapicuru + Itariri + Inhambupe + Pojuca + Sauípe + Paraguaçu + Real 3. Paraguaçu + Real 4. Contas + Igrapiúna + Jequiriçá + Jaguaripe
Siluriformes						
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	1. Vaza-Barris 2. Real 3. Itapicuru 4. Itariri 5. Inhambupe 6. Sauípe 7. Paraguaçu	1. Vaza-Barris 2. Real 3. Itapicuru + Itariri + Inhambupe 4. Sauípe 5. Paraguaçu	-	-	1. Vaza-Barris 2. Real + Itapicuru + Itariri + Inhambupe + Sauípe + Paraguaçu	1. Vaza-Barris 2. Itapicuru + Itariri + Inhambupe + Sauípe 3. Real + Paraguaçu

3. RESULTADOS

3.1. Matrizes de dados

Para *Characidium bahiense*, foram analisados, ao todo, 31 espécimes de sete bacias da ecorregião NMAF (i.e., Vaza-Barris, Real, Itapicuru, Itariri, Pojuca, Sauípe e Capivara Grande), sendo que cinco delas foram previamente estudadas por Oliveira-Silva et al. (2023) e as bacias dos rios Itariri e Sauípe pela primeira vez no presente estudo. Para esta espécie, foram analisadas 31 sequências do marcador COI com 587pb, 30 de MYH6 e 29 de RAG1 com 660pb e 1.152pb, respectivamente. A matriz de dados concatenados incluiu 28 sequências com 2.268pb. Para as análises filogenéticas e de relógio molecular, além das amostras de *C. bahiense*, as matrizes também incluíram sequências gênicas de três espécimes do grupo externo, sendo duas de *C. cf. lagosantense* e uma de *C. pterostictum* (ver Tabela S1, Apêndice 1).

Para *Hyphessobrycon itaparicensis*, foram analisados 55 espécimes de dez localidades na NMAF, que incluem as bacias dos rios Sergipe, Piauí, Real, Sauípe, Paraguaçu, Vermelho, Santarém, Igrapiúna e Almada, além de um córrego independente na Ilha de Itaparica, para onde a espécie foi descrita. Amostras destas localidades já haviam sido analisadas por Camelier et al. (in prep.), com exceção daquelas coletadas na bacia do rio Almada. Espécimes de *Hyphessobrycon itaparicensis* foram amostrados nesta bacia pela primeira vez no presente estudo e o rio Almada passou a representar o limite sul da distribuição da espécie. No caso de *Hyphessobrycon itaparicensis*, a matriz do COI incluiu 42 sequências (600pb), a do MYH6 41 sequências (695pb) e a matriz de dados concatenados incluiu 31 sequências com 1.295pb. Para as análises filogenéticas e de relógio molecular, além das amostras de *Hyphessobrycon itaparicensis*, as matrizes também incluíram sequências gênicas de quatro espécimes do grupo externo, sendo uma de *Hasemania nana*, uma de *Hemigrammus marginatus*, uma de *Moenkhausia costae* e uma de *Nematocharax venustus* (ver Tabela S1, Apêndice 1). Camelier et al. (in prep.) não analisaram sequências do RAG1, que foram tentativamente incluídas no presente estudo, mas sem sucesso por conta de dificuldades encontradas na extração de DNA e amplificação do marcador.

Para *Hyphessobrycon parvellus*, foram analisados, ao todo, 84 espécimes de 14 bacias na NMAF: Sergipe, Vaza-Barris, Piauí, Real, Itapicuru, Itariri, Inhambupe, Pojuca, Sauípe, Paraguaçu, Jequiriçá, Jaguaripe, Igrapiúna e Contas. No caso desta espécie, a

matriz do COI para as análises filogenéticas incluiu 101 sequências (768pb), sendo 83 de *Hyphessobrycon parvellus* e 18 do grupo externo, sendo uma de *Hasemania nana*, uma de *Hemigrammus marginatus*, uma de *Hyphessobrycon brumado*, uma de *Hyphessobrycon diastatos*, 12 de *Hyphessobrycon negodagua*, uma de *Moenkhausia costae* e uma de *Nematocharax venustus*. As matrizes dos marcadores nucleares incluíram um número consideravelmente menor de amostras quando comparadas à do marcador COI em função das dificuldades encontradas na amplificação destes no presente estudo. Esta matriz, entretanto, contém sequências de, pelo menos, dois indivíduos de cada um dos haplogrupos de *Hyphessobrycon parvellus*, proposto com base na rede de haplótipos do marcador COI (ver Fig. 8). Assim, as matrizes nucleares e concatenada são compostas por 21 indivíduos (sendo 18 deles pertencentes a *H. parvellus*) e incluem 688pb para o MYH6, 1.265pb para o RAG1 e 2.721pb para a concatenada.

No caso de *Parotocinclus bahiensis*, foram analisados, ao todo, 56 espécimes de 13 bacias na NMAF: Sergipe, Vaza-Barris, Real, Itariri, Itapicuru, Inhambupe, Pojuca, Paraguaçu, Jequiriçá, Jaguaripe, Almas, Contas e Almada. Além destes, alguns indivíduos ocorrentes principalmente no Grupo Norte da NMAF só foram identificados em nível genérico (*Parotocinclus* sp.) por apresentarem diferenças morfológicas sutis em relação àquelas que são diagnósticas para *P. bahiensis*. Ainda assim, estes espécimes foram incluídos no presente estudo inclusive para auxiliar futuras decisões taxonômicas. Para *Parotocinclus bahiensis*, portanto, a matriz do COI para as análises filogenéticas incluiu 102 sequências (724pb), sendo 55 de *P. bahiensis* e 47 do grupo externo, sendo um de *Otothyris travassosi*, três de *P. cristatus*, dois de *P. jimi*, dois de *P. maculicauda*, oito de *P. minutus*, um de *P. nandae*, um *P. robustus* e 27 de *Parotocinclus* sp.. As matrizes dos marcadores nucleares incluíram um número consideravelmente menor de amostras quando comparadas à do marcador COI em função das dificuldades encontradas na amplificação destes no presente estudo. Esta matriz, entretanto, contém sequências de, pelo menos, dois indivíduos de cada haplogrupo de *P. bahiensis* proposto a partir da rede de haplótipos com base na matriz do COI (ver Fig. 10). Assim, as matrizes nucleares e concatenada são compostas por 16 indivíduos (sendo 13 deles pertencentes a *P. bahiensis*) e incluem 702pb para o MYH6, 1.238pb para o RAG1 e 2.664pb para a concatenada.

3.2. Análises filogenéticas e tempos de divergência por espécie modelo

A conformação geral das árvores e as relações obtidas nas análises de Inferência Bayesiana (IB) e Máxima Verossimilhança (MV) a partir de cada uma das matrizes de dados (COI, MYH6, RAG1 e concatenada) são idênticas para todas as espécies. Assim, serão apresentadas apenas as topologias de IB, onde serão indicados, além dos valores de probabilidade posterior, os valores de *bootstrap* da análise de MV.

Characidium bahiense

Os resultados obtidos indicam que todos os indivíduos de *C. bahiense* analisados formam um grupo monofilético (Figs. 1A-1D), apesar do baixo valor de suporte para alguns marcadores na análise de IB (ver Fig. 1B). De forma geral, as politomias geradas e/ou os valores de suporte baixo para os agrupamentos formados indicam que as análises filogenéticas não evidenciaram estruturação genética dentro de *C. bahiense*. Os resultados obtidos também não evidenciaram uma relação clara entre as bacias da NMAF analisadas, exceto no caso das dos rios Real e Paraguaçu, que apareceram como proximamente relacionadas na análise concatenada (Fig. 1D). Os resultados indicam ainda que indivíduos de uma mesma bacia hidrográfica não formam clados, com exceção daqueles ocorrentes nas bacias dos rios Vaza-Barris, Itapicuru e Sauípe, que foram recuperados como proximamente relacionados entre si nas análises com base nos marcadores COI e RAG1 (Figs. 1A e 1C, respectivamente).

De acordo com as datações obtidas a partir da análise de relógio molecular baseada na matriz concatenada (Fig. 5A), a primeira divergência em *C. bahiense*, que culminou na separação entre indivíduos do rio Sauípe e demais, ocorreu, muito provavelmente no Holoceno, entre 0,0003 e 0,0067 milhões de anos (m.a.). Para as demais populações, as separações ocorreram há menos de 0,0009 m.a., indicando uma história muito recente para a espécie na NMAF.

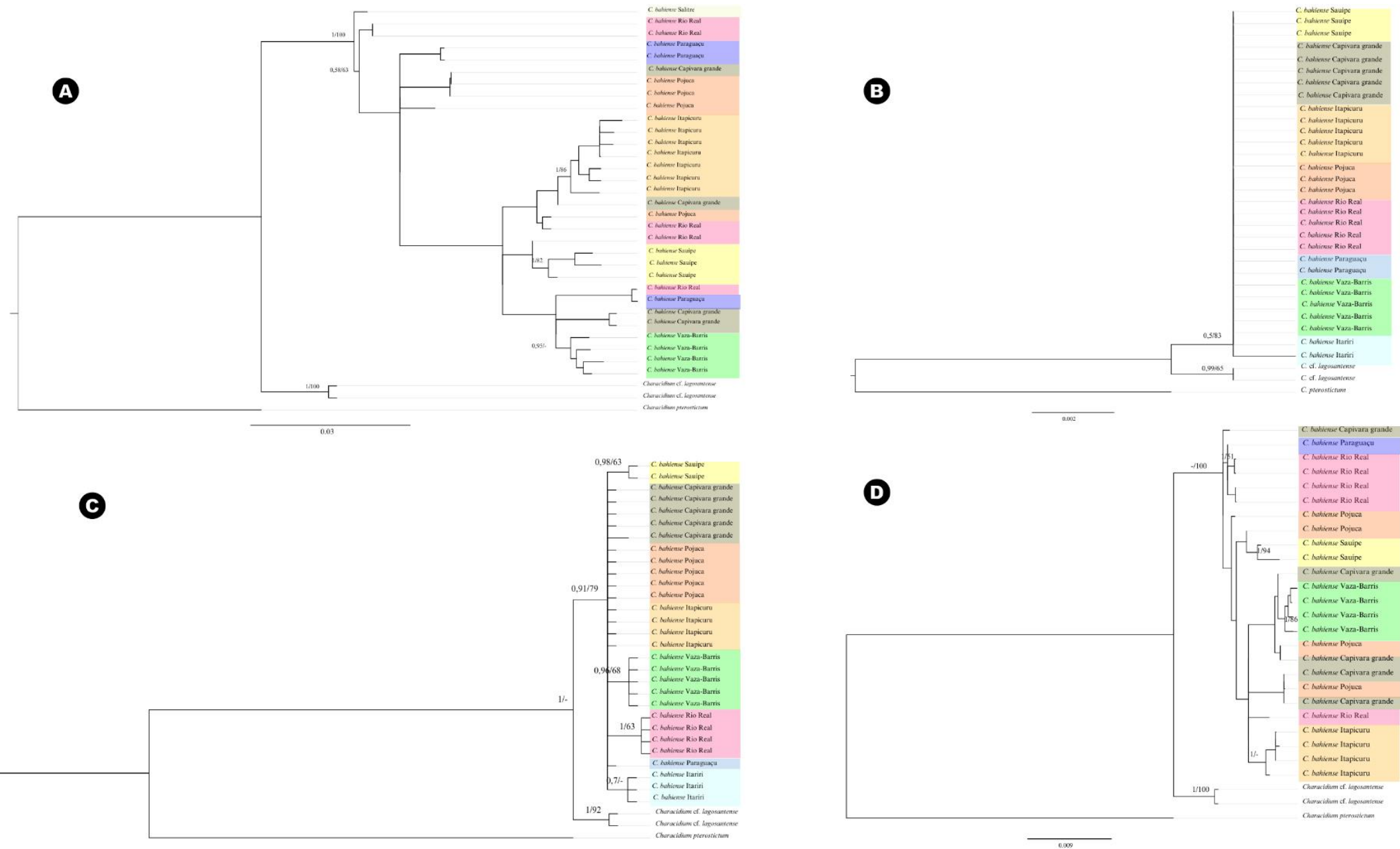


Figura 1. Topologias obtidas através da análise de Inferência Bayesiana das quatro matrizes de dados de *Characidium bahiense* indicando as relações entre os espécimes analisados. Os números nos nós indicam os valores de probabilidade posterior e *bootstrap* (%). **A.** Topologia baseada na matriz do marcador mitocondrial COI; **B.** Topologia baseada no marcador nuclear MYH6; **C.** Topologia baseada no marcador nuclear RAG1; e **D.** Topologia baseada na matriz de dados concatenados (COI+MYH6+RAG1). As cores destacadas nas topologias representam cada bacia hidrográfica amostrada, conforme indicado nos mapas de distribuição apresentado nas redes haplótipos desta espécie.

Hyphessobrycon itaparicensis

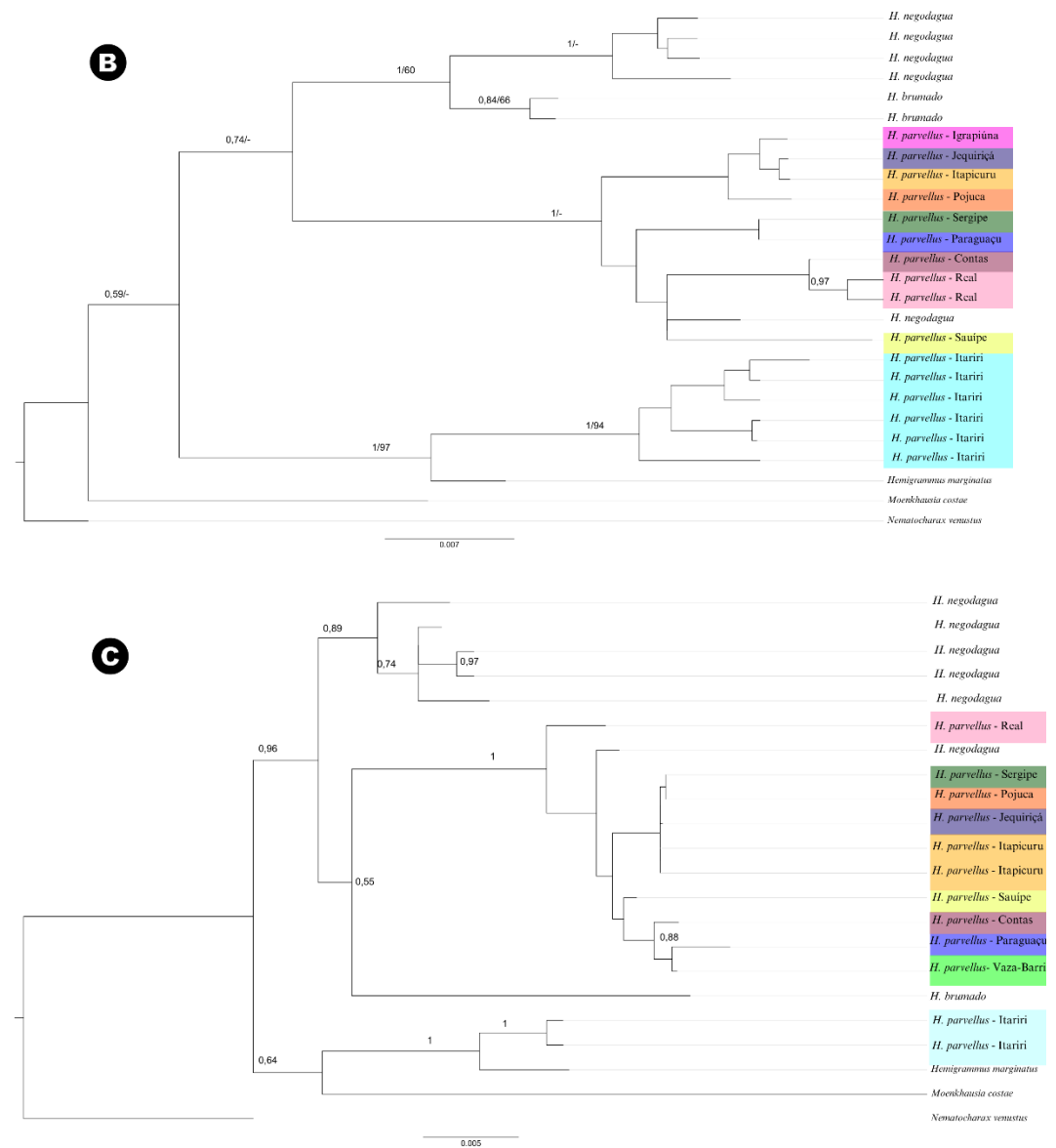
Os resultados obtidos indicam que todos os indivíduos de *H. itaparicensis* analisados formam um grupo monofilético, com alto valor de suporte (Figs. 2A-2C). Além disso, as topologias obtidas a partir das matrizes do marcador mitocondrial e concatenada indicam uma forte estruturação genética em *H. itaparicensis*, sendo possível distinguir, nesta espécie, três grupos haplotípicos monofiléticos e bem suportados estatisticamente (Figs. 2A e 2C). Estes agrupamentos foram nomeados de 1 a 3, no sentido norte-sul de distribuição: Haplogrupo 1 (HAP1), que inclui as populações dos rios Sergipe, Piauí, Real e Sauípe, ocorrentes no extremo norte na NMAF; Haplogrupo 2 (HAP2), que inclui aquelas populações da localidade tipo, na Ilha de Itaparica, além das dos rios Patipe, Vermelho e Santarém, na região do Recôncavo Sul; e Haplogrupo 3 (HAP3), que inclui as populações dos rios Igrapiúna e Almada, já na porção mais central da NMAF. Sobre o HAP2, é válido mencionar que este também inclui a população do rio Paraguaçu, para a qual só há dados do marcador MYH6 (ver Fig. 2C). Os resultados obtidos também indicam que o HAP1 e HAP2 são mais proximamente relacionados entre si e este clado é grupo-irmão do HAP3 (Figs. 2A e 2C). A topologia obtida a partir do MYH6 não recupera a mesma estruturação proposta dentro da espécie com base nas análises do marcador mitocondrial e matriz concatenada, exceto pelas populações dos rios Real e Sauípe (dentro do HAP1), que formaram um clado com elevado valor de suporte (Fig. 2B).

De acordo com as datações obtidas a partir da análise de relógio molecular baseada na matriz concatenada (Fig. 5B), a primeira divergência em *H. itaparicensis*, que culminou na separação entre o clado (HAP1, HAP2) e o HAP3 ocorreu provavelmente no final do Plioceno, entre aproximadamente 2,7 e 4,4 milhões de anos. A separação entre os HAP1 e HAP2, por sua vez, teria ocorrido mais recentemente, entre 1,7 e 3,2 m.a., ainda no Plioceno. Dentro do HAP3, as populações dos rios Igrapiúna e Almada se separaram entre 0,3 e 1,2 milhões de anos, já no Pleistoceno. Os eventos cladogenéticos dentro do HAP2 tiveram início entre 0,5 e 1,2 m.a. e aqueles dentro do HAP1 são mais recentes, tendo ocorrido entre 0,06 e 0,5 m.a., também no Pleistoceno.

Hyphessobrycon parvellus

Em nenhuma das análises realizadas, a espécie *Hyphessobrycon parvellus* foi recuperada como monofilética (Figs. 3A-3D), uma vez que indivíduos coletados na bacia do rio Itariri são mais relacionados a *Hemigrammus marginatus* do que às demais populações de *Hyphessobrycon parvellus*, formando um clado muito bem suportado com esta outra espécie. Aqui, é importante ressaltar que todos os *vouchers* das espécies modelo foram analisados no presente estudo e identificados em nível específico seguindo os caracteres diagnósticos, de maneira que, morfológicamente, não há indicativo de que as amostras provenientes da bacia do rio Itariri não sejam *H. parvellus*. Além disso, nas análises baseadas nas matrizes individuais (COI, MYH6, RAG1), alguns agrupamentos propostos para *Hyphessobrycon parvellus* incluem também indivíduos de *Hyphessobrycon negodagua* (Figs. 3A-3D), corroborando o não monofiletismo de *H. parvellus*. A separação entre estas duas espécies só foi evidenciada na topologia baseada em dados concatenados (Fig. 3D). No presente estudo, *Hyphessobrycon parvellus sensu stricto* é representada pelo agrupamento que inclui indivíduos da bacia do rio Pojuca, de onde a espécie foi descrita. Embora não seja foco do presente estudo, os resultados obtidos indicam que estas espécies de *Hyphessobrycon* carecem de uma análise taxonômica mais acurada na NMAF, incluindo dados morfológicos e moleculares, tal como já proposto por Zanata (comm. pers.). De forma geral, as politomias geradas e/ou os valores de suporte baixo para os agrupamentos formados indicam que as análises filogenéticas não evidenciaram estruturação genética dentro de *H. parvellus*. Os resultados obtidos também não apontam para uma relação clara entre as bacias da NMAF analisadas e indicam, ainda, que indivíduos de uma mesma bacia hidrográfica não formam clados, com exceção daqueles ocorrentes na bacia do rio Itariri (Fig. 3).

De acordo com as datações obtidas a partir da análise de relógio molecular baseada na matriz concatenada (Fig. 5C), o evento cladogenético que culminou na separação entre *H. parvellus* do rio Itariri das demais populações ocorreu entre aproximadamente 6,7 e 8,9 m.a., no Mioceno. Já em *H. parvellus sensu stricto*, a primeira divergência, que culminou na separação entre indivíduos do rio Igrapiúna dos demais, ocorreu, muito provavelmente no Pleistoceno, entre 0,77 e 1,45 milhões de anos. Além disso, as populações localizadas nas bacias mais ao norte na NMAF (i.e., Sergipe, Vaza-Barris, Real e Sauípe) se separaram das demais mais recentemente no Pleistoceno, entre aproximadamente 0,3 e 0,5 milhões de anos.



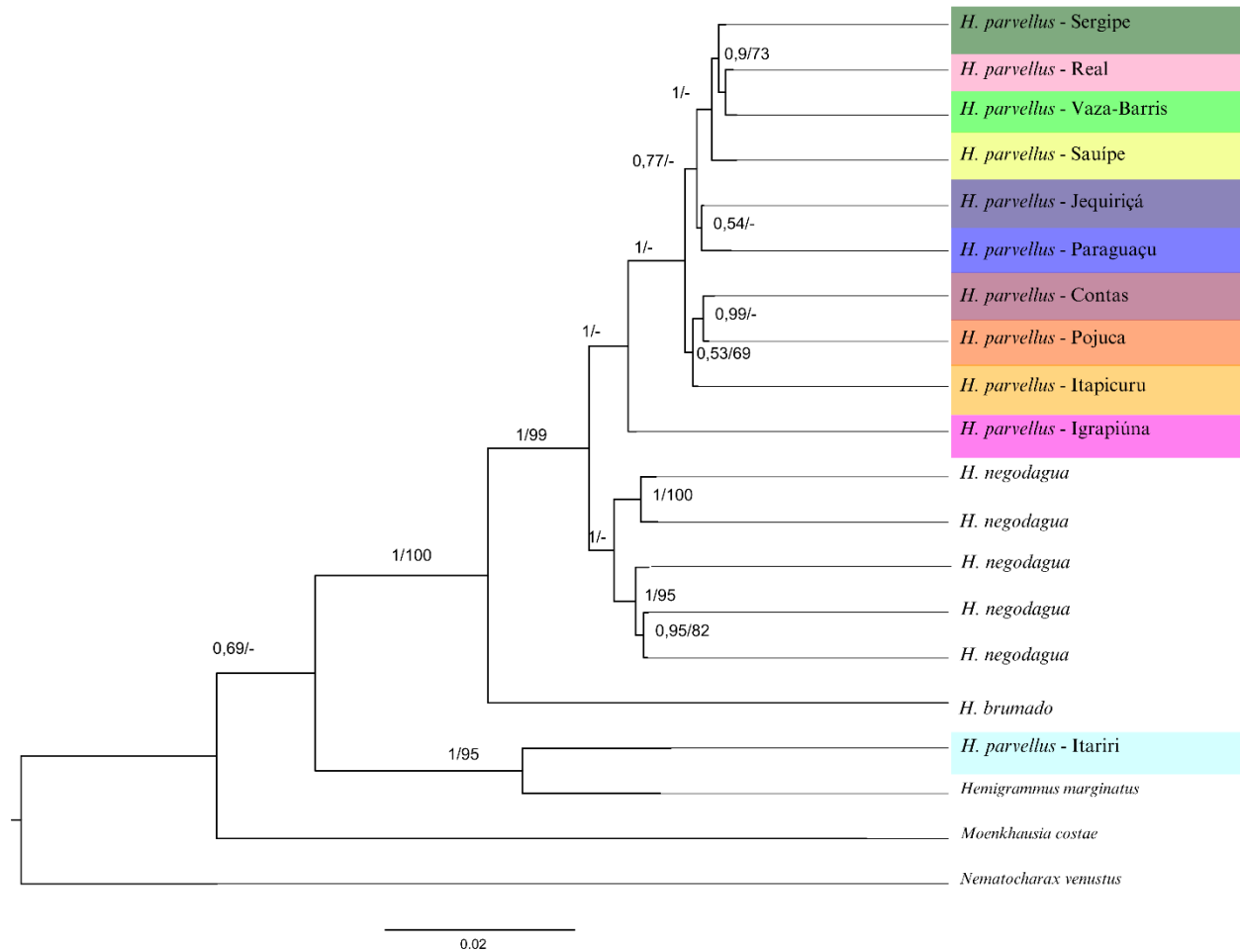
D

Figura 3. Topologias obtidas através da análise de Inferência Bayesiana das quatro matrizes de dados de *Hyphessobrycon parvellus* indicando as relações entre os espécimes analisados. Os números nos nós indicam os valores de probabilidade posterior e *bootstrap* (%). **A.** Topologia baseada na matriz do marcador mitocondrial COI; **B.** Topologia baseada no marcador nuclear MYH6; **C.** Topologia baseada no marcador nuclear RAG1; e **D.** Topologia baseada na matriz de dados concatenados (COI+MYH6+RAG1). As cores destacadas nas topologias representam cada bacia hidrográfica amostrada, conforme indicado nos mapas de distribuição apresentado nas redes haplótipos desta espécie.

Parotocinclus bahiensis

De todas as espécies analisadas no presente estudo, as relações evolutivas em *P. bahiensis* foram as mais complexas de serem compreendidas. Em nenhuma das análises realizadas, a espécie foi recuperada como monofilética (Figs. 4A-4D), mas as topologias geradas apresentam propostas relativamente diferentes, embora sempre envolvendo *P. minutus*. A topologia obtida com base no marcador COI, para onde há maior número de amostras disponíveis, indica que as populações de *P. bahiensis* da bacia do rio Real e do alto curso do Vaza-Barris são mais intimamente relacionadas a *P. minutus* e *Parotocinclus* sp. (dos rios Sergipe e Vaza-Barris) do que aos demais *P. bahiensis* (Fig. 4A). O baixo valor de suporte dos agrupamentos propostos com base nos marcadores nucleares e na matriz de dados concatenados também corrobora a relação pouco resolvida entre *P. minutus* e algumas populações de *P. bahiensis* analisadas no presente estudo (Figs. 4B-4D). *Parotocinclus bahiensis sensu stricto* é representada pelo agrupamento que inclui indivíduos da bacia do rio Itapicuru, de onde a espécie foi descrita. Embora não seja foco do presente estudo, os resultados obtidos indicam que alguns representantes do gênero *Parotocinclus* carecem de uma análise taxonômica mais acurada na NMAF, incluindo dados morfológicos e moleculares, tal como já proposto por Zanata (comm. pers.). De forma geral, as politomias geradas e/ou os valores de suporte baixo para os agrupamentos formados indicam que as análises filogenéticas não evidenciaram estruturação genética dentro de *P. bahiensis*. Os resultados obtidos também não apontam para uma relação clara entre as bacias da NMAF analisadas e indicam, ainda, que indivíduos de uma mesma bacia hidrográfica não formam clados. De acordo com as datações obtidas a partir da análise de relógio molecular baseada na matriz concatenada (Fig. 5D), os eventos cladogenéticos que culminaram na separação entre *P. bahiensis* dos rios Itariri e Paraguaçu das demais populações ocorreram entre aproximadamente 0,3 e 0,7 m.a., no Pleistoceno. Embora os demais eventos cladogenéticos dentro da espécie também datem do Pleistoceno, estes foram mais recentes.

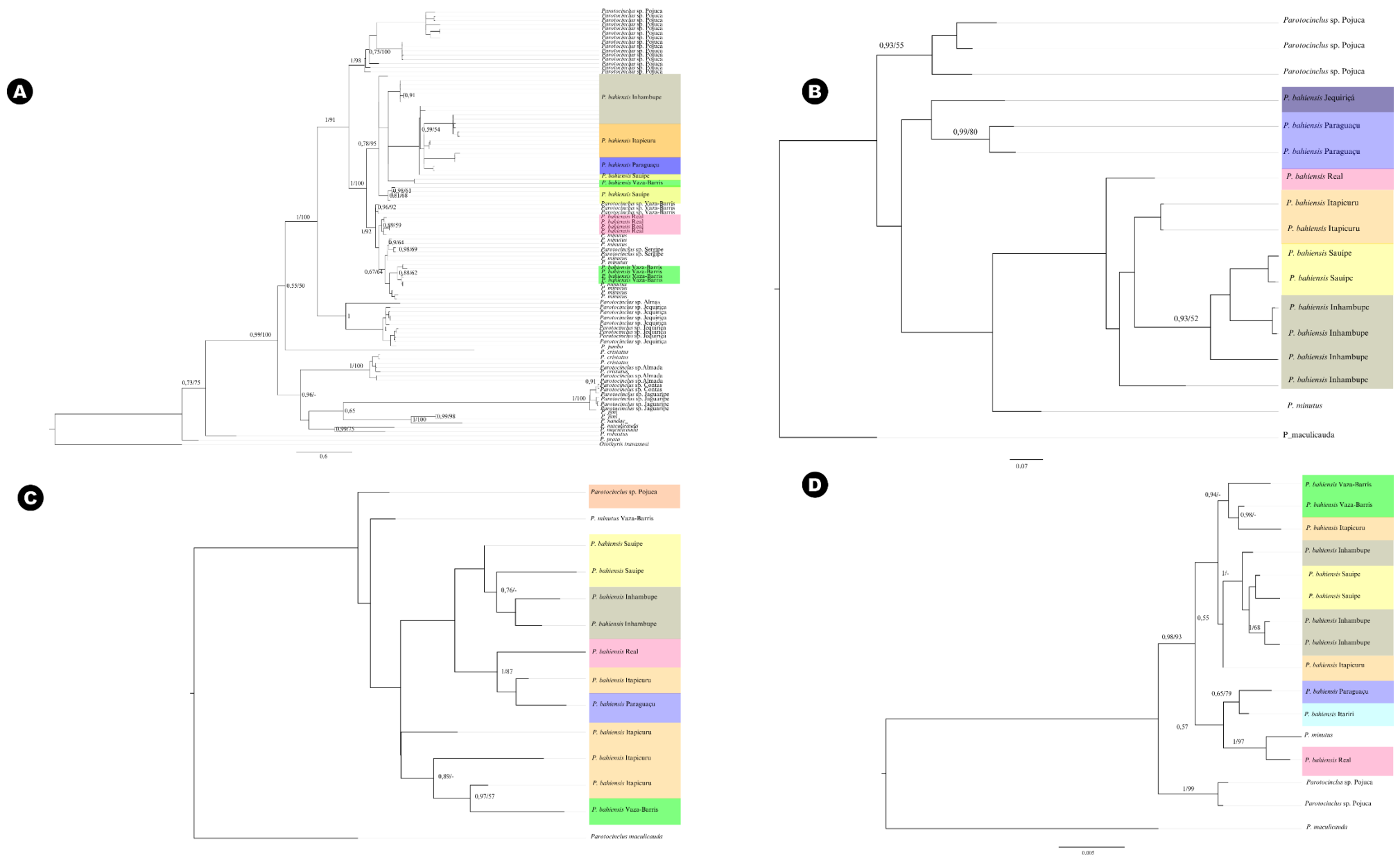


Figura 4. Topologias obtidas através da análise de Inferência Bayesiana das quatro matrizes de dados de *Parotocinclus bahiensis* indicando as relações entre os espécimes analisados. Os números nos nós indicam os valores de probabilidade posterior e *bootstrap* (%). **A.** Topologia baseada na matriz do marcador mitocondrial COI; **B.** Topologia baseada no marcador nuclear MYH6; **C.** Topologia baseada no marcador nuclear RAG1; e **D.** Topologia baseada na matriz de dados concatenados (COI+MYH6+RAG1). As cores destacadas nas topologias representam cada bacia hidrográfica amostrada, conforme indicado nos mapas de distribuição apresentado nas redes haplótipos desta espécie.

3.2. Análises filogeográficas

Os resultados das análises filogeográficas serão apresentados em duas partes. Na primeira, serão disponibilizados resultados mais específicos, direcionados para cada uma das espécies modelo, e, na segunda, serão apresentados os resultados sob uma óptica comparativa.

Estrutura filogeográfica

No presente estudo, foram encontrados nove haplótipos para *Characidium bahiense* com base no marcador COI (Fig. 6A), sendo apenas um deles compartilhado (H7), estando presente nas bacias dos rios Real, Pojuca, Capivara Grande e Paraguaçu. Os demais haplótipos são exclusivos das bacias onde ocorrem, sendo três encontrados apenas no rio Sauípe (H1/H2/H3), dois no Itapicuru (H8/H9) e um no Vaza-Barris (H6). Além do haplótipo compartilhado, as bacias dos rios Pojuca e Capivara Grande também apresentam um haplótipo exclusivo cada (H4 e H5, respectivamente). Embora tenham sido encontrados haplótipos exclusivos, o compartilhamento de um haplótipo entre diversas bacias e os poucos passos mutacionais que separam os haplótipos (1 a 9 passos) indicam pouca estruturação filogeográfica dentro da espécie. A ausência de estruturação também foi indicada pelas redes de haplótipos construídas com base nos marcadores nucleares. Para o MYH6 (Fig. 6B), foram encontrados apenas dois haplótipos (separados por um passo mutacional), sendo um compartilhado por todas as bacias e outro exclusivo do rio Sauípe. Já para o RAG1, cinco haplótipos foram identificados (Fig. 6C), sendo apenas um compartilhado entre as bacias dos rios Real, Itapicuru, Itariri, Sauípe, Pojuca e Capivara Grande. Na bacia do rio Vaza-Barris, ocorre apenas um haplótipo, que é exclusivo e divergente do haplótipo compartilhado por apenas um passo mutacional. Além do haplótipo compartilhado, as populações dos rios Real, Sauípe e Capivara Grande apresentaram haplótipos exclusivos, também separados por um único passo mutacional daquele que é compartilhado.

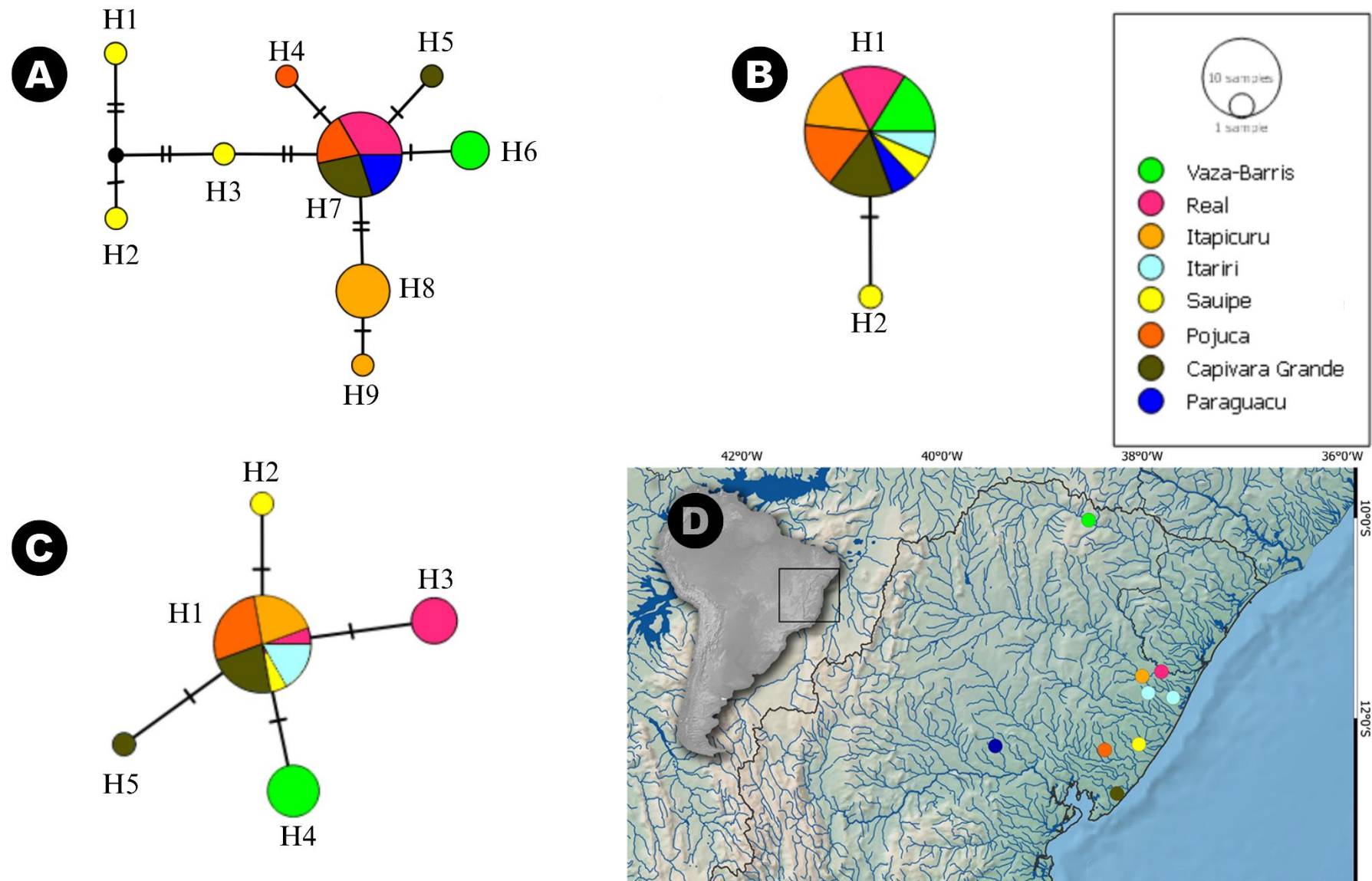


Figura 6. Redes de haplótipos de *Characidium bahiense*, inferidas a partir dos marcadores (A) mitocondrial COI (587pb) e nucleares (B) MYH6 (660pb) e (C) RAG1 (1.152pb). Cada haplótipo é representado por um círculo e há relação de proporcionalidade entre o tamanho dos círculos e a frequência do haplótipo que este representa. As linhas representam as relações entre os haplótipos e os traços observados nestas linhas referem-se aos passos mutacionais que diferem os haplótipos. As cores representam as amostras de *C. bahiense* de diferentes bacias hidrográficas e a distribuição de cada haplótipo é apresentada no mapa. Os círculos pretos indicam um vetor mediano (median vector, mv).

Para *Hyphessobrycon itaparicensis*, foram encontrados 13 haplótipos baseados no marcador mitocondrial COI ocorrentes em onze bacias hidrográficas (Fig. 7A), sendo apenas dois compartilhados entre diferentes drenagens: um entre os rios Sergipe e Piauí (H2) e outro entre os rios Piauí e Sauípe (H5). Todas as demais bacias apresentaram haplótipos exclusivos, o que reflete um padrão de isolamento genético entre essas populações. A conformação da rede obtida para este marcador indica forte estruturação filogeográfica para esta espécie, com três haplogrupos, separados por até 63 passos mutacionais: HAP1, de distribuição mais ao norte, incluindo as populações dos rios Sergipe, Piauí, Real e Sauípe (H1 a H5), HAP2, mais central e que inclui populações de Itaparica e dos rios Patipe, Vermelho e Santarém (H6 a H11), e HAP3, de distribuição mais ao sul, incluindo as populações dos rios Igrapiúna e Almada (H12 e H13). O HAP2, mais central, diferencia-se do HAP1 e do HAP3 por, pelo menos, 25 e 38 passos mutacionais, respectivamente, indicando uma profunda divergência genética entre essas regiões (Fig. 7A). Para o marcador MYH6 (Fig. 7B), foram identificados quatro haplótipos, sendo um central (H3) e compartilhado entre seis bacias (i.e., Paraguaçu, Ilha de Itaparica, Vermelho, Patipe, Santarém, Igrapiúna), dois localizados em bacias mais ao norte, que se separam do haplótipo central por 1-2 passos mutacionais, sendo um exclusivo do rio Sauípe (H2) e outro compartilhado entre os rios Real e Sauípe (H1), e um, de localização mais ao sul, exclusivo do rio Almada (H4), que se separa do haplótipo central por um passo mutacional. Embora de forma menos evidente, a rede com base neste marcador também indicou certa divergência genética latitudinal na espécie.

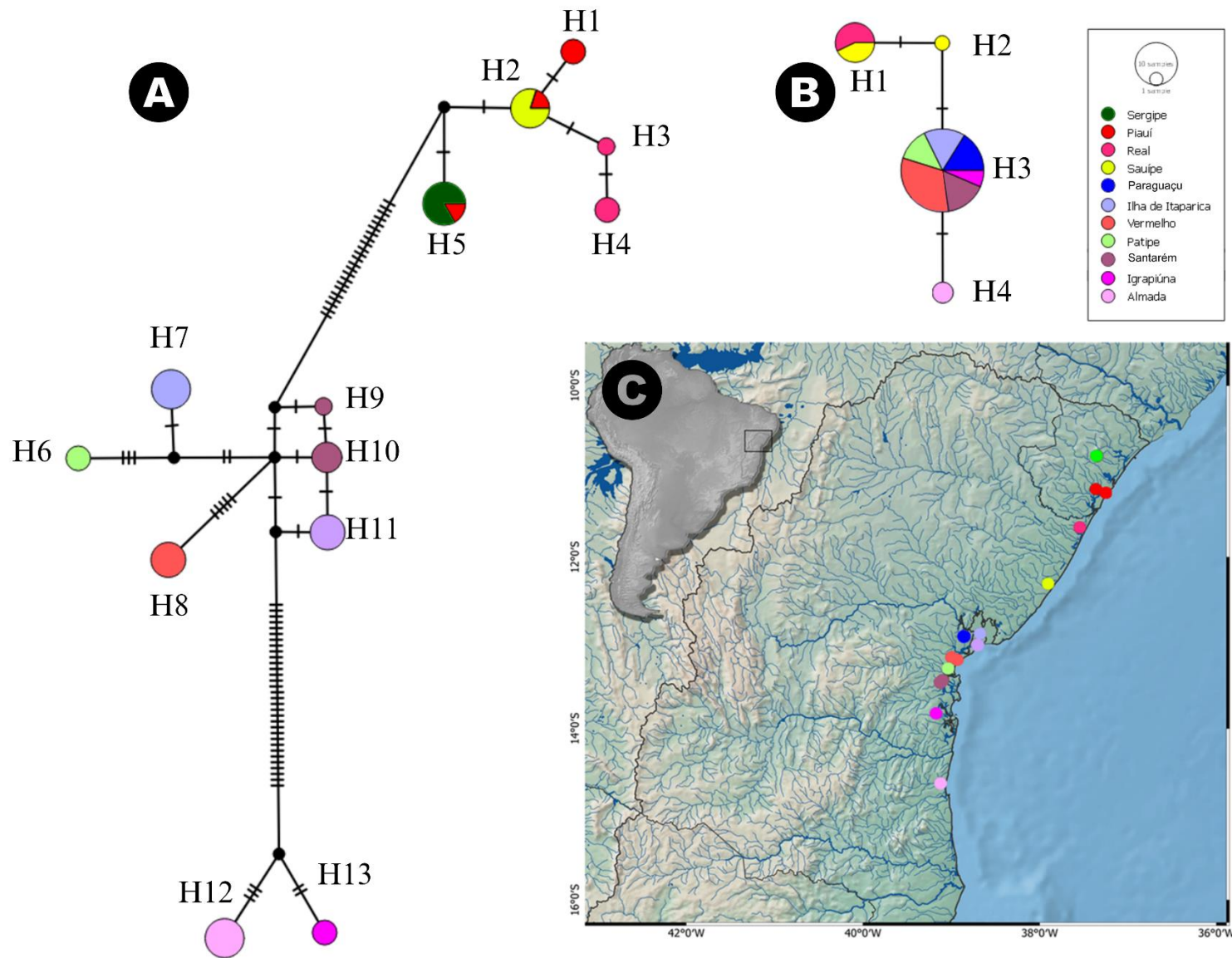


Figura 7. Redes de haplótipos de *Hyphessobrycon itaparicensis*, inferidas a partir dos marcadores (A) mitocondrial COI (600pb) e nuclear (B) MYH6 (695pb). Cada haplótipo é representado por um círculo e há relação de proporcionalidade entre o tamanho dos círculos e a frequência do haplótipo que este representa. As linhas representam as relações entre os haplótipos e os traços observados nestas linhas referem-se aos passos mutacionais que diferem os haplótipos. As cores representam as amostras de *H. itaparicensis* de diferentes bacias hidrográficas e a distribuição de cada haplótipo é apresentada no mapa. Os círculos pretos indicam um vetor mediano (*median vector*, mv).

No caso de *Hyphessobrycon parvellus*, foram encontrados 13 haplótipos do marcador COI (Fig. 8A), sendo quatro compartilhados e nove exclusivos das bacias onde ocorrem. Dos haplótipos compartilhados, um foi encontrado nas bacias mais ao norte da NMAF, estando presente nos rios Sergipe, Vaza-Barris, Piauí e Real (H1); um ocorre apenas nas bacias dos rios Itapicuru e Inhambupe (H10); outro nas dos rios Itapicuru, Inhambupe, Pojuca, Igrapiúna e Contas (H13, sendo o mais amplamente distribuído na NMAF); e último ocorre apenas nas drenagens dos rios Paraguaçu e Jequiriçá (H11). Dois haplótipos exclusivos foram encontrados nas bacias dos rios Sauípe (H4/H5) e Paraguaçu (H11/H12), já nas dos rios Vaza-Barris, Piauí, Itapicuru, Itariri e Jaguaripe ocorre um haplótipo exclusivo em cada. De forma geral, a divergência genética entre os haplótipos de COI de *H. parvellus* variou entre 1-6 passos mutacionais, com exceção daquele ocorrente na bacia do rio Itariri, que diverge dos demais por, no mínimo, 67 passos mutacionais (Fig. 8Aa). Esta grande divergência genética está de acordo com os resultados das análises filogenéticas (Figs. 8A-8C), que sugerem que as amostras ocorrentes nesta bacia não pertençam à *H. parvellus*. A divergência genética entre estas amostras e as demais também é evidenciada nas redes de haplótipos construídas com base nos marcadores nucleares: no caso do MYH6 e RAG1, o haplótipo exclusivo do Itariri diverge dos demais por, no mínimo, 15 e 26 passos mutacionais, respectivamente (Figs. 8B e 8C), respectivamente). Ainda sobre as redes geradas a partir dos marcadores nucleares, destaca-se que, para o MYH6, foram encontrados outros três haplótipos, sendo um exclusivo do rio Real (H1), separado por 1-2 passos mutacionais dos dois haplótipos compartilhados, sendo um deles ocorrente nas bacias dos rios Sergipe, Sauípe, Pojuca, Paraguaçu e Contas (H2) e o outro nas dos rios Itapicuru, Pojuca, Jequiriçá e Igrapiúna (H3) (Fig. 8B); e no caso do RAG1, foram encontrados outros quatro haplótipos, também separados entre si por 1-5 passos mutacionais, sendo um (H3) compartilhado entre as bacias dos rios Sergipe, Itapicuru, Sauípe, Pojuca e Jaguaripe, um haplótipo compartilhado entre os rios Itapicuru e Contas (H2) e dois exclusivos, sendo um da bacia do rio Real (H4) e outro do rio Paraguaçu (H1) (Fig. 8C).

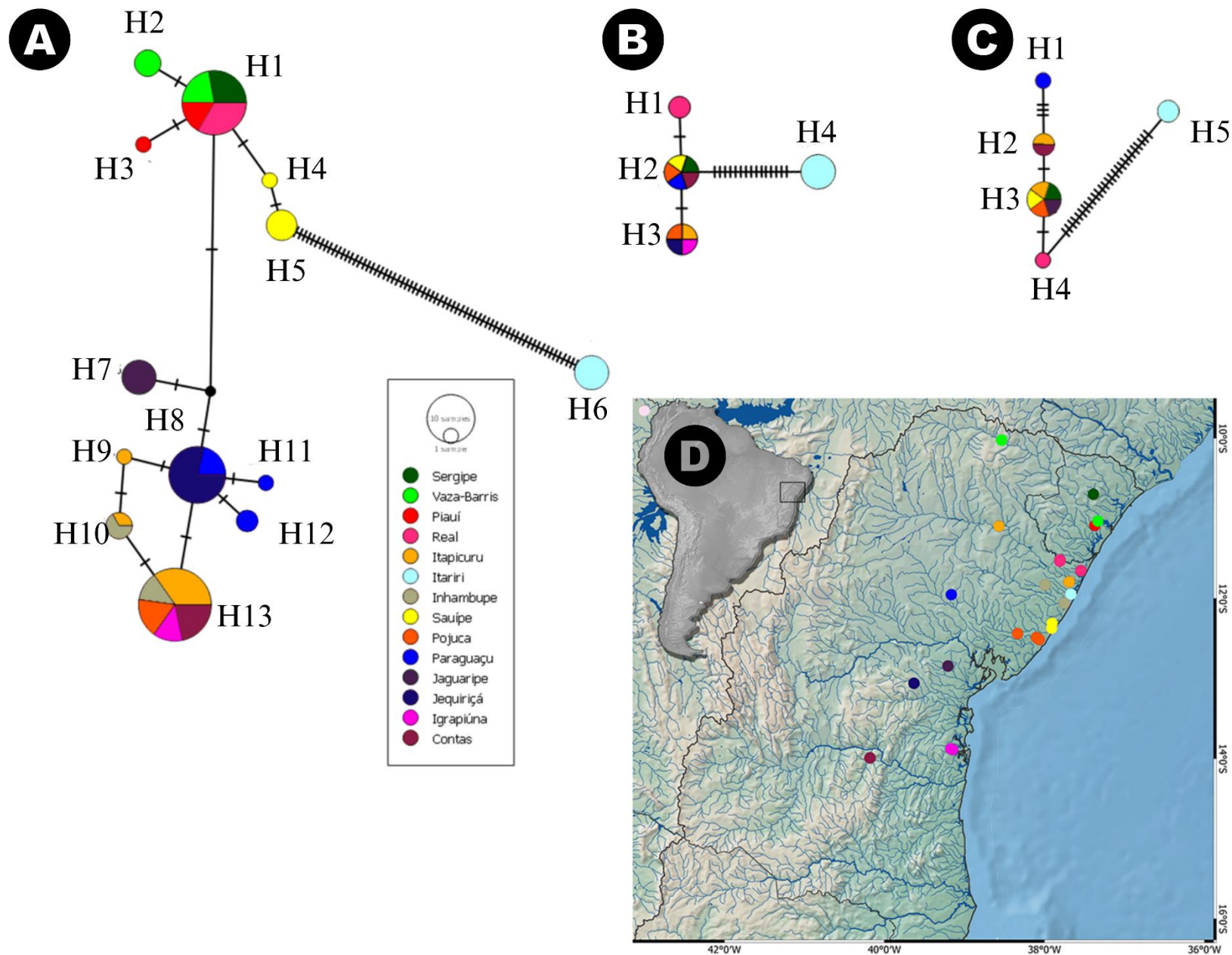


Figura 8. Redes de haplótipos de *Hyphessobrycon parvellus*, inferidas a partir dos marcadores (A) mitocondrial COI (768pb) e nucleares (B) MYH6 (688pb) e (C) RAG1 (1.265pb). Cada haplótipo é representado por um círculo e há relação de proporcionalidade entre o tamanho dos círculos e a frequência do haplótipo que este representa. As linhas representam as relações entre os haplótipos e os traços observados nestas linhas referem-se aos passos mutacionais que diferem os haplótipos. As cores representam as amostras de *H. parvellus* de diferentes bacias hidrográficas e a distribuição de cada haplótipo é apresentada no mapa. Os círculos pretos indicam um vetor mediano (*median vector*, mv).

Na Fig. 9, é apresentada a rede de haplótipos baseada no COI com a inclusão de amostras de *H. brumado*, *H. diastatos* e *H. negodagua* apenas para evidenciar a estruturação genética intra e interespecífica em *H. parvellus*, especialmente em relação a *H. negodagua*. Esta espécie, endêmica do rio Paraguaçu, apresentou quatro haplótipos, sem formar um grupo coeso, com até nove passos mutacionais entre eles, mas distantes apenas de 3-6 passos mutacionais dos haplótipos de *H. parvellus* ocorrentes nas bacias dos rios Sergipe, Vaza-Barris, Piauí, Real e Sauípe. *Hyphessobrycon diastatos*, com haplótipo único, diverge deste mesmo haplótipo compartilhado de *H. parvellus* por 12 passos mutacionais, enquanto *H. burmado* apresenta divergência de, pelo menos, 50 passos mutacionais em relação aos haplótipos de *H. parvellus* (Fig. 9). Assim como o indicado pelas análises filogenéticas, os resultados das redes de haplótipos para estas espécies indicam que estas carecem de uma análise taxonômica mais acurada na NMAF, incluindo dados morfológicos e moleculares.

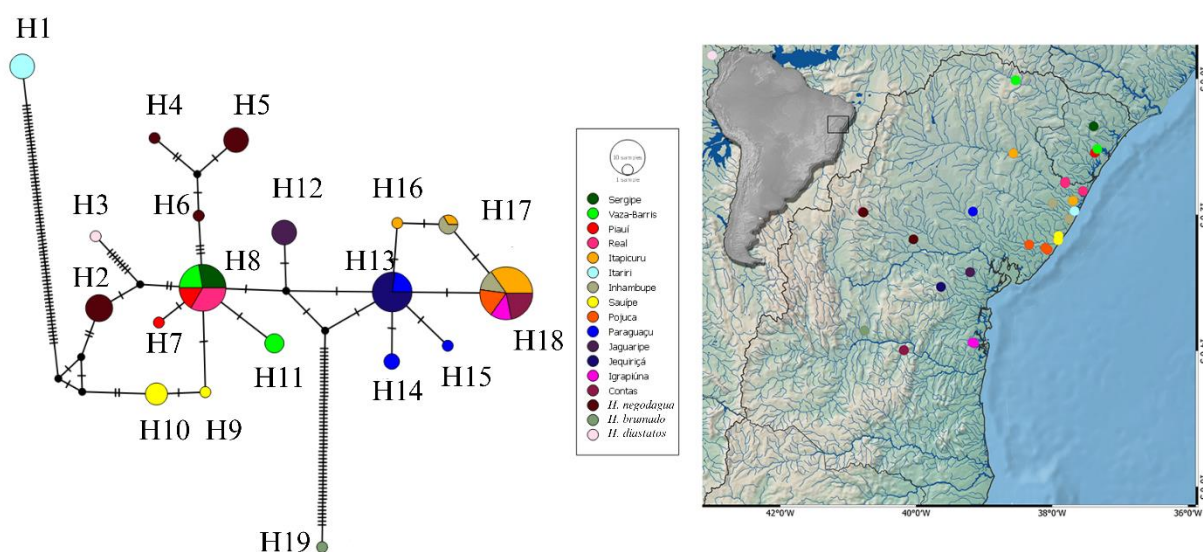


Figura 9. Rede de haplótipos inferida a partir de 768 pb do marcador mitocondrial COI de *Hyphessobrycon parvellus*, *H. brumado*, *H. diastatos* e *H. negodagua*. Cada haplótipo é representado por um círculo e há relação de proporcionalidade entre o tamanho dos círculos e a frequência do haplótipo que este representa. As linhas representam as relações entre os haplótipos e os traços observados nestas linhas referem-se aos passos mutacionais que diferem os haplótipos. As cores representam as amostras de *H. parvellus* de diferentes bacias hidrográficas e a distribuição de cada haplótipo é apresentada no mapa. Os círculos pretos indicam um vetor mediano (*median vector*, mv).

Para *Parotocinclus bahiensis*, foram encontrados 14 haplótipos do marcador COI (Fig. 10A), separados por 1 a 15 passos mutacionais, sendo dois são compartilhados (H6 e H7) e 12 exclusivos das bacias onde ocorrem. Dos compartilhados, o H7 foi encontrado nas populações dos rios Itapicuru, Inhambupe e Sauípe, enquanto o H6 ocorre nos rios Vaza-Barris, Itapicuru e Paraguaçu. Interessantemente, um dos haplótipos ocorrentes no rio Itapicuru, que foi compartilhado com outras bacias (H7), foi encontrado no alto e baixo curso desta drenagem. No baixo curso do rio, já na linha próxima à costa, ocorrem, além do H7, o H6 (que também é compartilhado) e o H5, que é exclusivo do rio Itapicuru. As drenagens dos rios Vaza-Barris e Real, distribuição mais ao norte de *P. bahiensis* na NMAF, apresentam dois haplótipos exclusivos cada (H3/H4 e H1/H2, respectivamente), que estão separados dos demais por, no mínimo, sete passos mutacionais, evidenciando uma certa estruturação latitudinal na espécie, não evidenciada nas análises filogenéticas. Além destes, haplótipos exclusivos foram encontrados nas seguintes bacias: Vaza-Barris (H11), Itapicuru (H5), Itariri (H10/H11), Sauípe (H8/H9) e Paraguaçu (H13/H14). Para o marcador MYH6 (Fig. 10B), foram identificados três haplótipos em *Parotocinclus bahiensis*. Dois haplótipos foram compartilhados: H1 entre os rios Vaza-Barris, Real, Itapicuru e Inhambupe, e o H2 entre as populações dos rios Sauípe e Inhambupe. Além disso, um haplótipo exclusivo foi observado no rio Paraguaçu (H3). Já para o marcador RAG1 (Fig. 10C), foram encontrados nove haplótipos, sendo apenas um compartilhado (H4) entre as drenagens dos rios Sauípe e Itapicuru e oito exclusivos das demais bacias. As mutações entre os haplótipos variaram entre 1 e 10 passos.

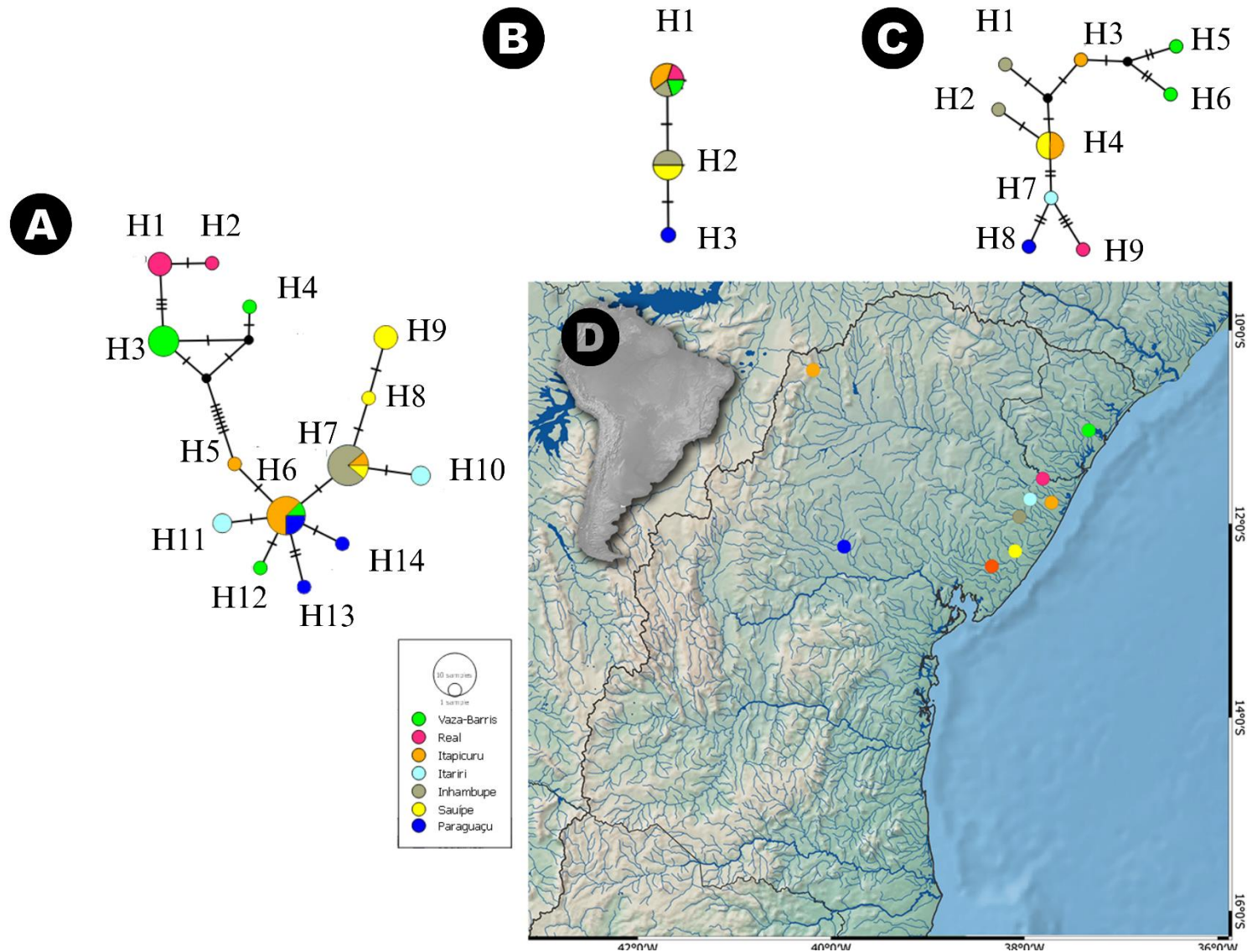


Figura 10. Redes de haplótipos de *Parotocinclus bahiensis*, inferidas a partir dos marcadores (A) mitocondrial COI (724pb) e nucleares (B) MYH6 (702pb) e (C) RAG1 (1.238pb). Cada haplótipo é representado por um círculo e há relação de proporcionalidade entre o tamanho dos círculos e a frequência do haplótipo que este representa. As linhas representam as relações entre os haplótipos e os traços observados nestas linhas referem-se aos passos mutacionais que diferem os haplótipos. As cores representam as amostras de *P. bahiensis* de diferentes bacias hidrográficas e a distribuição de cada haplótipo é apresentada no mapa. Os círculos pretos indicam um vetor mediano (*median vector*, mv).

Na Fig. 11A, é apresentada a rede de haplótipos baseada no COI com a inclusão de amostras de *Parotocinclus minutus* e *Parotocinclus* sp. para evidenciar a estruturação genética intra e interespecífica em *P. bahiensis*. Para *P. minutus*, espécie descrita para o rio Vaza-Barris, foram encontrados três haplótipos exclusivos, separados por apenas 1-4 passos mutacionais dos haplótipos de *P. bahiensis* ocorrentes nas bacias mais ao norte na NMAF, a saber: Sergipe, Vaza-Barris (baixo curso) e Real. Estes haplótipos estão separados por, pelo menos, sete passos mutacionais daqueles de *P. bahiensis* encontrados no Vaza-Barris e também nas bacias entre os rios Itariri (ao norte) e Paraguaçu (ao sul). Além destes haplótipos exclusivos, *P. minutus* tem um haplótipo (H7) que é idêntico ao que foi encontrado na bacia do rio Real para amostras identificadas morfologicamente como *P. bahiensis*. Considerando este cenário e a posição geográfica da bacia do rio Real, pode ser que esta se trate zona híbrida, tal como será discutido adiante. Os resultados da rede de haplótipos apresentada para o COI evidenciam, portanto, a necessidade de análise detalhada destas espécies na NMAF, incluindo dados morfológicos e moleculares, como já apontado pelas hipóteses filogenéticas propostas no presente estudo. Na bacia do rio Pojuca, ocorrem três haplótipos exclusivos de *Parotocinclus* sp. (H20/H21/H22) para o marcador COI, separados por, no mínimo, 14-15 passos mutacionais daqueles de *P. bahiensis* (Fig. 11A). Já na Fig. 11B, é apresentada a rede de haplótipos com base nos 702pb do MYH6, que também evidencia a complexidade da história evolutiva de *P. bahiensis* e *P. minutus*. No caso deste marcador, além do caso envolvendo *P. minutus* e algumas amostras de *P. bahiensis* do rio Real, há compartilhamento do mesmo haplótipo entre *P. minutus* (Vaza-Barris) e espécimes identificados morfologicamente como *P. bahiensis* coletados também nos rios Itapicuru e Inhambupe.

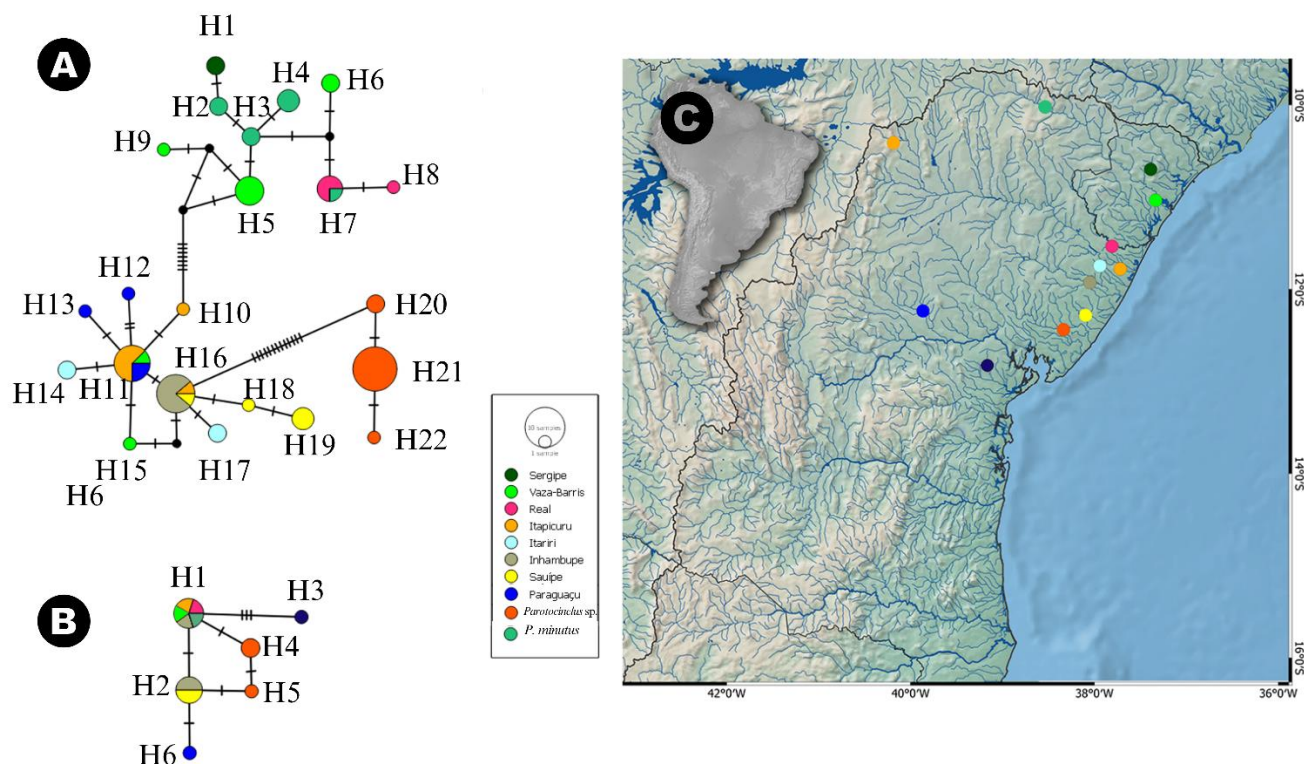


Figura 11. Rede de haplótipos inferida a partir de (A) 724 pb do marcador mitocondrial COI e (B) 702 pb do marcador nuclear MYH6 de *Parotocinclus bahiensis*, *P. minutus* e *Parotocinclus* sp.. Cada haplótipo é representado por um círculo e há relação de proporcionalidade entre o tamanho dos círculos e a frequência do haplótipo que este representa. As linhas representam as relações entre os haplótipos e os traços observados nestas linhas referem-se aos passos mutacionais que diferem os haplótipos. As cores representam as amostras de *P. bahiensis* de diferentes bacias hidrográficas e a distribuição de cada haplótipo é apresentada no mapa. Os círculos pretos indicam um vetor mediano (*median vector*, mv).

Estatísticas sumárias e demografia histórica

As estatísticas sumárias para os marcadores analisados nas espécies modelo *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *H. parvulus* e *Parotocinclus bahiensis* são apresentadas na Tabela 4. Para o marcador COI, foram obtidas 31 sequências de *C. bahiense* com 587pb, apresentando 14 sítios variáveis, resultando em nove haplótipos, elevada diversidade haplotípica ($H_d > 0,5$), mas diversidade nucleotídica baixa ($\pi < 0,5\%$). Os testes de neutralidade (D e FS) e o teste R2 não foram significativos, sugerindo que não houve sinal significativo de expansão populacional para esta espécie com base no marcador COI. Para *H. itaparicensis*, com 42 sequências de 580pb, foram encontrados 62 sítios variáveis e 13 haplótipos, com diversidade haplotípica alta ($H_d = 0,926$), mas baixa diversidade nucleotídica ($\pi = 0,037$). O teste de Fu's F_s não foi significativo, mas os valores dos testes de Ramos-Onsins ($R^2 = 0,0000^*$) e de Tajima ($D =$

0,0000*) sugeriram uma possível expansão populacional recente desta espécie.

Hyphessobrycon parvellus, com 83 sequências de 525pb, apresentou 80 sítios variáveis e 13 haplótipos, também com elevada diversidade haplotípica e baixa diversidade nucleotídica ($Hd = 0,832$ e $\pi = 0,019\%$). Embora os testes de neutralidade (D e Fs) não tenham sido significativos, o teste de Ramos-Onsins sugere recente expansão populacional para a espécie ($R2 = 0,0000^*$). Finalmente, para *P. bahiensis*, com 40 sequências de 682pb, foram identificados 21 sítios variáveis e 14 haplótipos, com diversidade haplotípica alta ($Hd = 0,885$), mas baixa diversidade nucleotídica ($\pi < 0,5\%$). Assim como no caso de *H. parvellus*, os testes de neutralidade (D e Fs) não foram significativos para *P. bahiensis*, mas o teste de Ramos-Onsins sugere expansão populacional ($R2 = 0,0000^*$).

Para o marcador MYH6, *C. bahiense* incluiu 32 sequências com 623pb, um único sítio variável, com baixos valores de diversidade haplotípica e nucleotídica ($Hd = 0,0033$ e $\pi = 0,00010\%$, respectivamente). Os testes de neutralidade (D e Fs) não foram significativos, mas o teste de Ramos-Onsins sugere expansão populacional para *C. bahiense* com base neste marcador ($R2 = 0,0000^*$). Para *H. itaparicensis*, foram analisadas 41 sequências (684pb), com quatro sítios variáveis, quatro haplótipos, baixa diversidade haplotípica e nucleotídica ($Hd < 0,5$ e $\pi < 0,5\%$, respectivamente). Assim como *C. bahiense*, os testes de neutralidade não indicaram expansão populacional com base no MYH6 para *H. itaparicensis*, que só foi detectada com base no de Ramos-Onsins. Em *H. parvellus*, com 15 sequências de 629pb do MYH6, foram identificados 17 sítios variáveis, quatro haplótipos, além de elevada diversidade haplotípica ($Hd = 0,781$), embora baixa diversidade nucleotídica ($\pi < 0,5\%$). Para esta espécie, enquanto o teste de Fu's Fs não foi significativo, o de Tajima, com valor positivo e significativo ($D = 1,99466^*$), indica que a população sofreu recente gargalo ou apresenta estrutura genética populacional. Já o teste de Ramos-Onsins indicou uma possível expansão populacional para *H. parvellus* ($R2 = 0,0000^*$). Para *P. bahiensis*, foram analisadas 14 sequências de 702pb, com 10 sítios variáveis, três haplótipos, além de elevada diversidade haplotípica ($Hd = 0,839$), embora baixa diversidade nucleotídica ($\pi = 0,0042\%$). Para *P. bahiensis*, os testes de neutralidade não indicaram mudança no tamanho populacional com base no MYH6, que só foi detectada com base no de Ramos-Onsins ($R2 = 0,0000^*$), que indicou expansão recente.

Para o marcador RAG1, foram analisadas 32 sequências de *C. bahiense* com 1.152pb, 74 sítios variáveis e cinco haplótipos, além de alta diversidade haplotípica ($Hd = 0,809$) e baixa diversidade nucleotídica ($\pi = 0,00495\%$). O teste de Fu's Fs não foi significativo, mas os valores dos testes de Ramos-Onsins ($R^2=0,0000^*$) e de Tajima ($D = -$

2,18661*) foram significativos e indicaram mudança significativa no tamanho populacional, com provável expansão para esta espécie. Como indicado anteriormente, não há dados deste marcador para *Hyphessobrycon itaparicensis*. Já para *H. parvellus*, foram analisadas 14 sequências de 1.411pb, 27 sítios variáveis e cinco haplótipos, com diversidade haplotípica alta e nucleotídica baixa ($Hd = 0,813$ e $\pi = 0,00509\%$, respectivamente). Para esta espécie, os testes de neutralidade não indicaram mudança significativa no tamanho populacional, que só foi detectada com base no de Ramos-Onsins ($R2 = 0,0000^*$), que indicou expansão recente. Por fim, para *P. bahiensis*, foram analisadas 12 sequências de 1.143pb, com 17 sítios variáveis, nove haplótipos, elevada diversidade haplotípica e baixa diversidade nucleotídica ($Hd = 0,909$ e $\pi = 0,00337\%$, respectivamente). O teste de Tajima não foi significativo, mas os valores dos testes Fu's F_s ($F_s = -3,082^*$) e de Ramos-Onsins ($R2 = 0,0000^*$) foram significativos e indicaram sinal de expansão populacional.

Tabela 4. Estatísticas sumárias e valores dos testes de neutralidade de D e FS e do teste de mudança no tamanho populacional R2 utilizando os marcadores mitocondrial (COI) e nucleares (MYH6 e/ou RAG1) para as espécies modelo *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *H. parvellus* e *Parotocinclus bahiensis*. N: número das sequências, H: número de haplótipos, Hd: diversidade haplotípica; SD: desvio padrão; π : percentual de diversidade nucleotídica; D: Teste Tajima's; Fs: Teste Fu's; R²: Ramos-Onsins.

Marcador	Índices	<i>C. bahiense</i>	<i>H. itaparicensis</i>	<i>H. parvellus</i>	<i>P. bahiensis</i>
COI	N	31	42	83	40
	Pares de base	587	580	525	682
	Número de sítios variáveis	14	62	80	21
	H/Hd (SD)	9/0,735 (0,072)	13/0,926 (0,015)	13/0,832(0,00055)	14/0,885 (0,029)
	π (%)	0,00303	0,03724	0,019	0,00708
	D	-1,2838 ^{ns}	0,0000*	-1,215 ^{ns}	-0,17423 ^{ns}
	R ²	0,0000 ^{ns}	0,0000*	0,0000*	0,0000*
	Fs	-3,9961 ^{ns}	0,0000 ^{ns}	6,900 ^{ns}	-0,54132 ^{ns}
MYH6	N	32	41	15	14
	Pares de base	623	684	629	702
	Número de sítios variáveis	1	4	17	10
	H/Hd (SD)	2/0,0033 (0,058)	4/0,406 (0,085)	4/0,781 (0,053)	3/0,839 (0,052)
	π (%)	0,00010	0,00103	0,01242	0,00420
	D	-1,14244 ^{ns}	0,01898 ^{ns}	1,99466*	0,13917 ^{ns}
	R ²	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*
	Fs	-1,2648 ^{ns}	-0,165 ^{ns}	6,781 ^{ns}	-0,905 ^{ns}
RAG1	N	32	-	14	12
	Pares de base	1.152	-	1.411	1.143
	Número de sítios variáveis	74	-	27	17
	H/Hd (SD)	5/0,809 (0,035)	-	5/0,813 (0,094)	9/0,909 (0,069)
	π (%)	0,00495	-	0,00509	0,00337
	D	-2,18661*	-	-0,65481 ^{ns}	-1,1814 ^{ns}
	R ²	0,0000*	-	0,0000*	0,0000*
	Fs	1,837 ^{ns}	-	1,577 ^{ns}	-3,082*

Obs.: Os asteriscos indicam valores significativos ($p < 0,05$); (ns): não significativo; (-): dados ausentes.

Análise espacial de variância molecular (SAMOVA)

A análise SAMOVA foi realizada para identificar grupos de populações geneticamente diferenciadas, maximizando a variação entre grupos e minimizando a variação dentro dos grupos, com base na distribuição geográfica das amostras. Foram testados valores de K (número de grupos para cada espécie) e os resultados estão apresentados na Tabela 5. Com base nos valores de FCT e na significância estatística, o número ótimo de grupos foi K = 4 para *Characidium bahiense*, K = 9 para *Hyphessobrycon itaparicensis*, K = 8 para *H. parvellus* e K = 5 para *Parotocinclus bahiensis*, nos quais a variabilidade genética entre os grupos foi maximizada, indicando que as populações analisadas são estruturalmente diferenciadas com esses grupos.

A análise de SAMOVA para *Characidium bahiense* indicou que o maior valor de FCT foi encontrado quando as populações foram divididas em quatro grupos (Tabela 5) (FCT = 0.85, $p < 0.01$): (i) Real + Pojuca + Capivara Grande + Paraguaçu + I, (ii) Sauípe, (iii) Itapicuru + Itariri e (iv) Vaza-Barris. A distribuição espacial dos grupos genéticos de *C. bahiense* definidos pela SAMOVA foi visualizada em um mapa georreferenciado apresentado na Fig. 12A. Para *Hyphessobrycon itaparicensis*, foram indicadas nove populações (Fig. 12B): (i) Real, (ii) Sergipe, (iii) Sauípe + Piauí, (iv) Patipe, (v) Vermelho, (vi) Ilha de Itaparica, (vii) Santarém, (viii) Igrapiúna e (ix) Almada. Já para *Hyphessobrycon parvellus*, foram propostas oito populações (Fig. 12C), i.e., (i) Sergipe + Real, (ii) Vaza-Barris, (iii) Piauí, (iv) Itapicuru + Inhambuê + Pojuca + Igrapiúna + Contas, (v) Itariri, (vi) Sauípe, (vii) Paraguaçu + Jequiriçá e (viii) Jaguaripe. E, por fim, a análise SAMOVA para *Parotocinclus bahiensis* recuperou seis populações (Fig. 12D), i.e. (i) Vaza-Barris, (ii) Piauí, (iii) Itapicuru, (iv) Itariri + Paraguaçu, (v) Inhambuê e (vi) Sauípe.

Tabela 5. Resultados da análise SAMOVA (*Spatial Analysis of Molecular Variance*) para as espécies modelo, mostrando a estruturação genética entre as populações nas diferentes bacias hidrográficas da ecorregião Mata Atlântica Nordeste. A tabela apresenta o número de grupos (K), a porcentagem de variação genética entre os grupos FCT e os valores de significância (P-valor) estatística associados. O asterisco indica o valor de K escolhido para a espécie com base nos valores de FCT e significância.

Espécie	K	FCT	P-valor
<i>Characidium bahiense</i>	2	0.64	<0.01
	3	0.77	<0.01
	4*	0.85	<0.01
	5	0.84	0.051
	6	0.84	0.052

<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	2	0.54	0.018
	3	0.88	<0.01
	4	0.89	<0.01
	5	0.91	<0.01
	6	0.93	<0.01
	7	0.94	<0.01
	8	0.95	<0.01
	9*	0.96	0.013
	10	0.95	0.03
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	2	0.97	0.57
	3	0.945	<0.01
	4	0.946	<0.01
	5	0.951	<0.01
	6	0.957	<0.01
	7	0.968	<0.01
	8*	0.987	<0.01
	9	0.973	<0.01
	10	0.979	<0.01
	11	0.985	<0.01
	12	0.986	<0.01
	13	0.986	<0.01
	14	0.987	<0.01
	15	0.987	0.01
	16	0.8	0.05
	17	0.92	0.05
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	2	0.42	0.10
	3	0.53	0.012
	4	0.53	0.03
	5	0.51	<0.01
	6*	0.53	<0.01

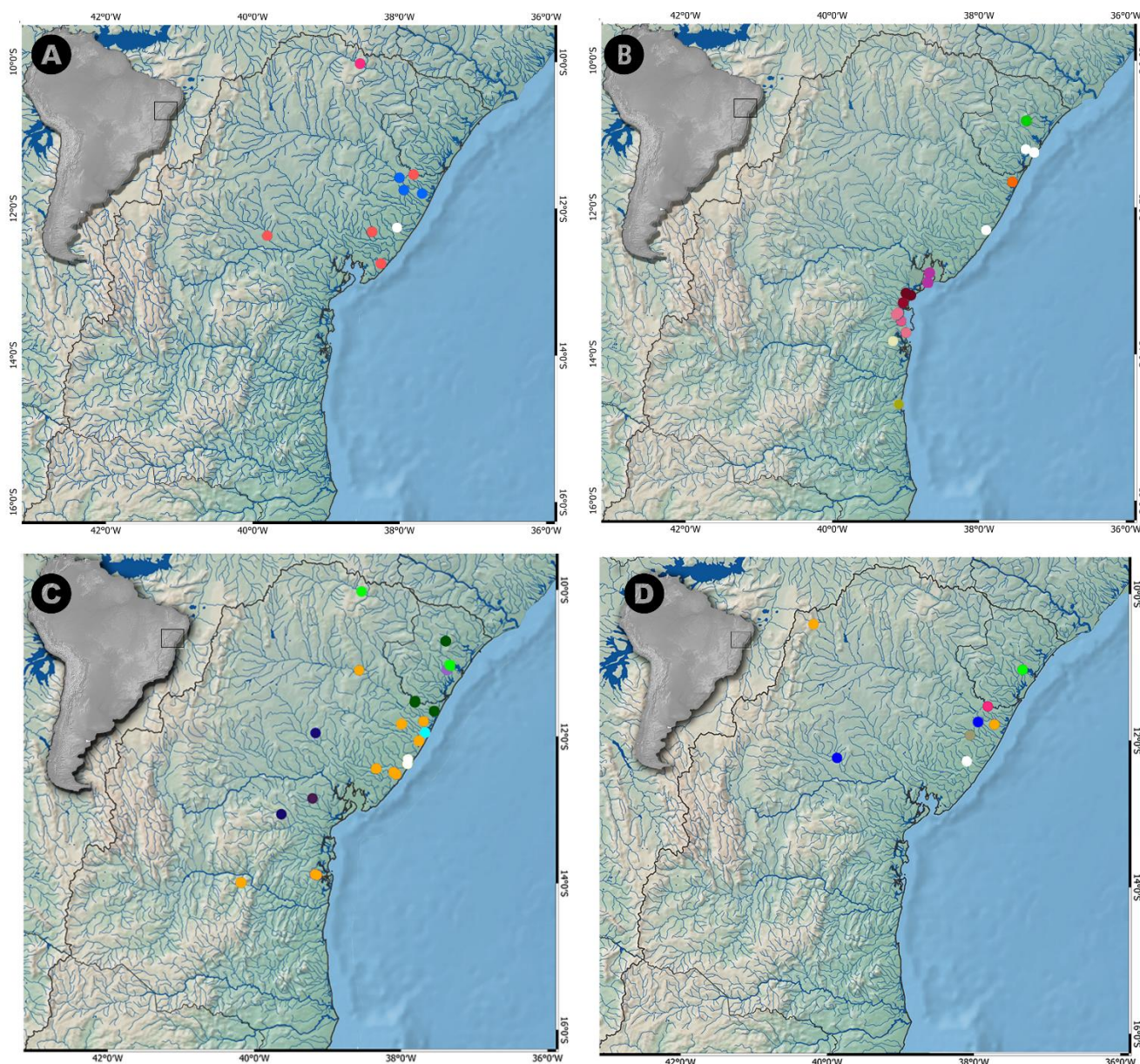


Figura 12. Mapas indicando a distribuição das populações propostas pela Análise espacial de variância molecular (SAMOVA) com base nos marcadores COI, MYH6 e RAG para as espécies A. *Characidium bahiense* (K=4); B. *Hyphessobrycon itaparicensis* (K=9); C. *Hyphessobrycon parvellus* (K=8); e D. *Parotocinclus bahiensis* (K=6). Nos mapas, cores idênticas indicam uma mesma população.

Análise de variância molecular (AMOVA)

As análises de AMOVA foram baseadas apenas no marcador mitocondrial COI, em virtude da melhor estruturação apresentada por este para todas as espécies. Como mencionado no ‘Material & Métodos’, foram testados os mesmos cenários para as quatro espécies: (i) isolamento atual das bacias; (ii) conexões pretéritas entre afluentes de uma

mesma paleodrenagem costeira com base em Thomaz & Knowles (2018); (iii) relação entre as bacias com base na hipótese biogeográfica de Camelier & Zanata (2014), sendo este último com alguns cenários alternativos propostos (Ver Tabela 3). Para *Characidium bahiense*, a variação dentro de todos os grupos nos diferentes cenários propostos foi maior do que a variação entre grupos (Tabela 6), evidenciando a pouca estruturação genética já proposta para a espécie. Além disso, de todos os cenários propostos, o único que teve valores significativos de FCT foi o de conexões pretéritas entre afluentes de uma mesma paleodrenagem costeira, que, para *C. bahiense*, considerou seis grupos, sendo que apenas os rios Paraguaçu e Capivara Grande fizeram parte de uma mesma paleodrenagem no Pleistoceno. No entanto, para este cenário, também foi observada uma variação negativa entre as populações dentro dos grupos (-16,09%, ver Tabela 6), sugerindo que há menos diferenciação genética intra-grupo do que o esperado ao acaso.

Tabela 6. Resultados da Análise de Variância Molecular (AMOVA) para os cenários testados com base no mtDNA de *Characidium bahiense*. Para a explicação de cada um dos cenários, consultar a Tabela 3. apresentada na seção Material & Métodos.

Cenários	Fonte de variação	%Variação	Índice de fixação
i	Entre grupos	35.48	FCT= -
	Entre populações dentro dos grupos	-	FST= 0.3848*
	Dentro das populações	64.52	FSC= -
ii	Entre grupos	52.83	FCT= 0.52826*
	Entre populações dentro dos grupos	-16.09	FST= 0.36740
	Dentro das populações	63.26	FSC= -0.34098
iii-c	Entre grupos	39.67	FCT= 0.39668
	Entre populações dentro dos grupos	14.60	FST= 0.5426*
	Dentro das populações	45.73	FSC= 0.24197
iii-d	Entre grupos	16.63	FCT= 0.16635
	Entre populações dentro dos grupos	20.38	FST= 0.37014
	Dentro das populações	62.99	FSC=0.24446

* = $p < 0.05$

De forma geral, a AMOVA para *Hyphessobrycon itaparicensis* revelou uma forte estruturação genética entre as diferentes populações e cenários testados (Tabela 7), indicando que todos eles contribuíram para o padrão de distribuição encontrado atualmente na espécie. No entanto, embora os cenários testados tenham contribuído para explicar este padrão, o que melhor explicou a estruturação observada foi o isolamento atual das bacias (Cenário i, Tabela 3), no qual praticamente toda a variação genética foi explicada pela diferenciação entre grupos, com valores muito altos (FCT = 98,92%) de diferenciação

entre eles. O segundo cenário mais explicativo foi o iii-d, que considerou a hipótese biogeográfica de Camelier & Zanata (2014). No cenário baseado em paleodrenagens costeiras (ii), a variação entre grupos permaneceu alta, mas a diferenciação entre populações dentro dos grupos também foi significativa, sugerindo que as populações de diferentes paleodrenagens compartilham alguma história genética comum. Os testes de diferenciação indicaram que, embora haja uma alta estruturação entre populações, ainda existe alguma variação dentro das populações, refletindo a complexidade dos processos históricos que moldaram a diversidade genética de *H. itaparicensis*.

Tabela 7. Resultados da Análise de Variância Molecular (AMOVA) para os cenários testados com base no mtDNA de *Hyphessobrycon itaparicensis*. Para a explicação de cada um dos cenários, consultar a Tabela 3 apresentada na seção Material & Métodos.

Cenários	Fonte de variação	%Variação	Índice de fixação
I	Entre grupos	98.92	FCT= -
	Entre populações dentro dos grupos	-	FST= 0.9892*
	Dentro das populações	1.08	FSC= -
Ii	Entre grupos	83.36	FCT= 0.83359*
	Entre populações dentro dos grupos	15.65	FST= 0.99008*
	Dentro das populações	0.99	FSC= 0.94041*
iii-a	Entre grupos	45.30	FCT= 0.45301
	Entre populações dentro dos grupos	53.99	FST= 0.99294*
	Dentro das populações	0.71	FSC= 0.98709*
iii-b	Entre grupos	56.45	FCT= 0.56449*
	Entre populações dentro dos grupos	42.76	FST= 0.99209*
	Dentro das populações	0.79	FSC= 0.98184*
iii-c	Entre grupos	45.95	FCT= 0.45954
	Entre populações dentro dos grupos	53.16	FST= 0.9912*
	Dentro das populações	0.88	FSC= 0.9836*
iii-d	Entre grupos	87.16	FCT= 0.8716*
	Entre populações dentro dos grupos	12.05	FST= 0.9921*
	Dentro das populações	0.79	FSC= 0.9385*

* = $p < 0.05$

A análise de AMOVA para *Hyphessobrycon parvellus* mostrou uma forte estruturação genética entre as populações (Tabela 8). Considerando os resultados encontrados e a não significância dos mesmos ($p > 0,05$), observa-se que o único que ajuda a explicar a atual distribuição da espécie foi o isolamento atual das bacias (Cenário i, Tabela 3), no qual a variação genética entre grupos foi muito alta (97,27%) e significativa. Para a grande maioria dos demais cenários propostos, houve um comportamento anômalo,

com variações negativas entre grupos, indicando que as populações dentro dos grupos propostos não seguem o padrão esperado de estruturação histórica.

Tabela 8. Resultados da Análise de Variância Molecular (AMOVA) para os cenários testados com base no mtDNA de *Hyphessobrycon parvulus*. Para a explicação de cada um dos cenários, consultar a Tabela 3 apresentada na seção Material & Métodos.

Cenários	Fonte de variação	%Variação	Índice de Fixação
I	Entre grupos	97.27	FCT = 0.97273*
	Entre populações dentro dos grupos	0.36	FST = 0.97630*
	Dentro das populações	2.37	FSC = 0.13078*
ii	Entre grupos	-51.87	FCT = -0.51867
	Entre populações dentro dos grupos	149.31	FST = 0.97448*
	Dentro das populações	2.55	FSC = 0.98319*
iii-a	Entre grupos	-71.82	FCT = -0.71816
	Entre populações dentro dos grupos	167.86	FST = 0.96044*
	Dentro das populações	3.96	FSC = 0.97697*
iii-b	Entre grupos	7.31	FCT = 0.07313*
	Entre populações dentro dos grupos	90.35	FST = 0.97663*
	Dentro das populações	2.34	FSC = 0.97479*
iii-c	Entre grupos	-36.57	FCT = -0.3657
	Entre populações dentro dos grupos	133.53	FST = 0.9696*
	Dentro das populações	3.03	FSC = 0.9778*
iii-d	Entre grupos	-15.45	FCT = -0.1545
	Entre populações dentro dos grupos	112.92	FST = 0.9746*
	Dentro das populações	2.53	FSC = 0.9747*

* $p < 0.05$

De forma geral, a AMOVA para *Parotocinclus bahiensis* revelou certa estruturação genética entre as diferentes populações e cenários testados (Tabela 9), indicando que todos eles contribuíram de alguma forma para o padrão de distribuição encontrado atualmente na espécie. Entre estes, no entanto, os cenários que melhor explicam esta distribuição são o isolamento atual das bacias (Cenário i, sete grupos, ver Tabela 3) e a conexão pretérita através de paleodrenagens costeiras (Cenário ii, cinco grupo, ver Tabela 3). Embora os cenários propostos com base na hipótese biogeográfica de Camelier & Zanata (2014) também tenham ajudado a entender a distribuição desta espécie na NMAF, a contribuição deles foi consideravelmente menor (ver Tabela 9).

Tabela 9. Resultados da Análise de Variância Molecular (AMOVA) para os cenários testados com base no mtDNA de *Parotocinclus bahiensis*. Para a explicação de cada um dos cenários, consultar a Tabela 3 apresentada na seção Material & Métodos.

Cenários	Fonte de variação	%Variação	Índice de Fixação
i	Entre grupos	69.97	FCT = -
	Entre populações dentro dos grupos	-	FST = 0.7137*
	Dentro das populações	25.62	FSC = -
ii	Entre grupos	66.73	FCT = 0.6673*
	Entre populações dentro dos grupos	-	FST = 0.7465*
	Dentro das populações	-	FSC = 0.2379*
iii-c	Entre grupos	25.69	FCT = 0.3086*
	Entre populações dentro dos grupos	44.28	FST = 0.7685*
	Dentro das populações	25.62	FSC = 0.6652*
iii-d	Entre grupos	40.014	FCT = 0.3401*
	Entre populações dentro dos grupos	29.95	FST = 0.7464*
	Dentro das populações	25.62	FSC = 0.6157*

* $p < 0.05$

Análise filogeográfica comparada

Considerando a diversidade genética intraespecífica, os resultados obtidos indicam que, de forma geral, as espécies modelo apresentaram baixos valores de diversidade nucleotídica para todos os marcadores utilizados (Tabela 4). Este resultado é condizente com a datação recente proposta para as mesmas com base nas análises do relógio molecular (Fig. 5), como será discutido adiante. Já a diversidade haplotípica (Hd) foi, no geral, elevada para todos os marcadores em todas as espécies, indicando alta variabilidade genética para as sequências analisadas. A única exceção foi para o MYH6, cujos valores de Hd foram considerados baixos para *Characidium bahiense* e *Hyphessobrycon itaparicensis* (Tabela 4). Em relação à história demográfica das espécies modelo na área de estudo, observa-se que, de forma geral, os resultados dos testes de neutralidade (D e FS) e do teste R2, quando significativos, indicaram que as populações analisadas experimentaram mudanças de tamanho, com sinal de expansão populacional recente (Tabela 4). Além disso, os resultados também indicaram sinal de gargalo populacional para o marcador MYH6 em *H. parvulus*, que não foi registrado para nenhuma outra espécie e/ou marcador.

As espécies analisadas apresentaram estruturas filogeográficas distintas, de maneira que não foi possível estabelecer um padrão generalizado para a região de interesse. Considerando o marcador mitocondrial COI, a única espécie que apresentou uma forte estruturação genética evidente ao longo da área de estudo foi *H. itaparicensis*, que,

interessantemente, também é a única cuja distribuição está restrita ao baixo curso das bacias hidrográficas, já na planície litorânea. Os haplogrupos formados por esta espécie indicaram a existência de uma descontinuidade filogeográfica latitudinal dos rios e riachos da NMAF, evidenciada por duas “quebras filogeográficas” definidas aqui pelos limites de distribuição dos haplogrupos (Fig. 13). Estas quebras separam as populações de *H. itaparicensis* ocorrentes na região do Recôncavo Sul (i.e., HAP2) daquelas das drenagens localizadas no extremo norte (HAP1) e na porção mais central (HAP3) da NMAF (Fig. 13: quebras I e II, respectivamente). Ao comparar os resultados de *H. itaparicensis* com os das demais espécies, é possível observar uma tendência de estruturação filogeográfica latitudinal especialmente na área de ocorrência do HAP1, que inclui as populações dos rios Sergipe, Piauí, Real e Sauípe. Para a sua congênere, *H. parvellus*, também foi recuperada a proximidade entre as populações ocorrentes nas bacias dos rios Sergipe, Piauí e Real, que compartilham o mesmo haplótipo (Fig. 8). Já no caso de *Parotocinclus bahiensis*, as bacias dos rios Vaza-Barris e Real apresentam haplótipos exclusivos, que estão mais proximamente relacionados entre si e separados dos demais por, no mínimo, sete passos mutacionais, evidenciando certa estruturação latitudinal na espécie em seu limite norte de distribuição. No caso do rio Sauípe, que está na altura da quebra I proposta para *H. itaparicensis*, a presença de haplótipos exclusivos para as espécies *Characidium bahiense*, *H. parvellus* e *P. bahiensis* nesta bacia indicam certa estruturação na região, apesar dos poucos passos mutacionais que separam estes dos demais (ver Figs. 7, 8 e 10).

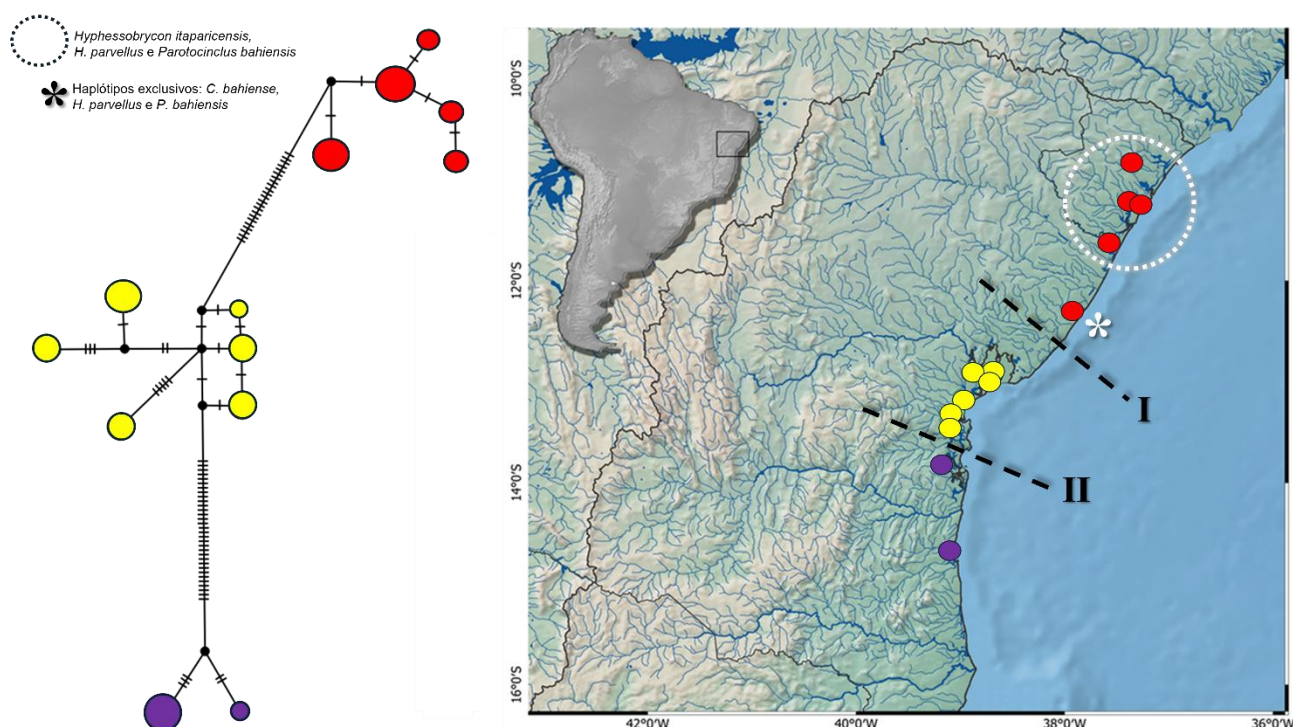


Figura 13. Descontinuidades filogeográficas (I e II) propostas para a ecorregião Mata Atlântica Nordeste (NMAF) com base na distribuição dos haplogrupos de *Hyphessobrycon itaparicensis*. Estes foram definidos a partir da rede de haplótipos do marcador mitocondrial COI (à esquerda). As cores representam os diferentes haplogrupos e a distribuição de cada um é apresentada no mapa: HAP1 (vermelho), HAP2 (amarelo) e HAP3 (roxo). No mapa, o círculo tracejado indica região onde destaca-se também os resultados filogeográficos das espécies *Hyphessobrycon parvellus* e *Parotocinclus bahiensis*. O asterisco indica a bacia do rio São Francisco, onde há haplótipos exclusivos para as espécies *Characidium bahiense*, *H. parvellus* e *P. bahiensis*.

Das espécies analisadas, a única que tem distribuição registrada para a região onde ocorrem os HAP2 ou HAP3 de *H. itaparicensis* é sua congênere *H. parvellus*, com populações nos rios Jaguaripe, Jequiriçá, Igrapiúna e Contas. Diferente do que foi observado em *H. itaparicensis*, no entanto, para *H. parvellus*, não foi detectada a estruturação com base no COI. Aqui, é importante mencionar que, embora o HAP2 forme um agrupamento distinto dos HAP1 e HAP3, é possível detectar estruturação interna, uma vez que cada bacia deste haplogrupo tem haplótipos exclusivos. Já no caso de *H. parvellus*, as bacias não só compartilham haplótipos entre si, como também entre drenagens mais ao norte na NMAF, geograficamente próximas àquelas onde só ocorre o HAP1 de *H. itaparicensis*. Ainda sobre *H. itaparicensis* e a estruturação interna observada nos haplogrupos, destaca-se que, além do não compartilhamento de haplótipos dentro dos HAP2 e HAP3, a análise de SAMOVA (proposta com base na matriz concatenada) indicou nove populações distintas, que equivalem aos haplótipos exclusivos de cada bacia.

Os resultados da AMOVA indicaram que, de forma geral, os cenários que melhor explicam o padrão de distribuição das espécies modelo são o isolamento atual das bacias devido às transgressões marinhas e as conexões entre afluentes que pertenceram a uma mesma paleodrenagem costeira no Pleistoceno. Para todas as espécies, ambos cenários tiveram seu percentual de contribuição, podendo ser o melhor ou segundo melhor cenário explicativo.

4. DISCUSSÃO

Estudos filogenéticos baseados em dados moleculares frequentemente resultam em algumas inconsistências entre as hipóteses propostas a partir de marcadores mitocondriais (mtDNA) e nucleares (nuDNA), tais como as encontradas no presente estudo. Estas discrepâncias, que já foram amplamente discutidas na literatura (e.g., Avise, 2000; Degnan & Rosenberg, 2009; Brunes et al., 2010; Koblmüller et al., 2010; Toews & Brelsford, 2012; Naidoo et al., 2015), podem ocorrer devido às diferenças nas taxas de mutação entre estes marcadores (Avise, 2009). O COI, marcador mitocondrial utilizado no presente estudo, por exemplo, apresenta uma taxa de mutação considerada rápida (Mueller, 2006), sendo particularmente eficaz para detectar eventos evolutivos e mudanças recentes, sendo um marcador popular para estudos em níveis inter e intraespecíficos (Hebert *et al.*, 2003; Avise, 2004, 2009; Koblmüller et al., 2010). Por outro lado, os marcadores nucleares utilizados, MYH6 e RAG1, devido às taxas de evolução mais lentas, tendem a fornecer uma resolução mais robusta para eventos históricos mais antigos (Avise, 2009). Estas tendências foram observadas no presente estudo, a partir das politomias nas topologias geradas para as espécies modelo com base nesses marcadores. Especificamente para o MYH6, convém destacar que, embora este seja um marcador nuclear amplamente empregado em estudos filogenéticos e filogeográficos de peixes (Dutra & Camelier, submetido), sua natureza codificante e taxa de evolução relativamente lenta (Near et al., 2012; Arcila et al., 2017) indicam que ele é mais adequado para investigar relações evolutivas em níveis mais profundos, como entre gêneros ou famílias. Para estudos de genética populacional, que exploram variações intraespecíficas mais recentes, o uso do MYH6 pode apresentar limitações, uma vez que sua baixa variabilidade dificulta a detecção de polimorfismos necessários para identificar estruturação genética em escalas temporais mais curtas (Paz-Vinas et al., 2013). Os resultados encontrados no presente

estudo, tanto para as análises filogenéticas quanto filogeográficas corroboram esta informação.

A combinação de dados mitocondriais e nucleares, por sua vez, tem se mostrado uma abordagem poderosa para investigações filogenéticas e filogeográficas, permitindo uma compreensão mais abrangente dos processos evolutivos (e.g., Brito, Edwards 2008; Avise, 2009; Meraner et al., 2014; Li et al., 2016; Wong et al., 2017; Ricon-Sandoval, Berancur, 2019; Chen et al., 2020; Souza et al., 2023). A análise integrada dessas duas fontes de informação genética oferece uma visão mais completa da história evolutiva dos táxons, uma vez que diferentes partes do genoma podem refletir eventos e processos distintos (Slowinski & Page, 1999; Avise, 2009; Toews & Brelsford, 2012; Arcila et al., 2017). Os resultados do presente estudo corroboram esses achados, demonstrando a relevância do uso conjunto de mtDNA e nuDNA para elucidar padrões complexos de divergência genética e estruturação populacional.

A ausência de uma estruturação genética clara nas filogenias propostas, evidenciada pelas politomias e pelos baixos valores de suporte, pode ser explicada por conexões recentes entre diferentes bacias hidrográficas (Lima et al., 2017), o que teria facilitado o fluxo gênico entre as populações. Além disso, esse padrão pode estar relacionado ao fenômeno de separação incompleta de linhagens (*incomplete lineage sorting*), em que populações ainda compartilham haplótipos ancestrais. Esse fenômeno ocorre com maior frequência em linhagens que se divergiram recentemente, pois o tempo de separação é insuficiente para que ocorra a completa fixação dos polimorfismos ancestrais nas populações descendentes (Avise, 2000; Funk & Omland, 2003). A ausência de uma estruturação genética das espécies modelo só foi evidenciada nas análises filogeográficas em si, o que está de acordo com o proposto na literatura, que indica que análises filogenéticas, muitas vezes, não conseguem recuperar estruturação populacional (Avise, 2000; Knowles & Maddison, 2002; Funk & Omland, 2003).

Os resultados da diversidade genética observados para as espécies modelo refletem, em parte, a dinâmica evolutiva e a história demográfica das populações na região na NMAF. De maneira geral, a baixa diversidade nucleotídica para os marcadores analisados (COI, MYH6 e RAG1) é consistente com as datações mais recentes obtidas nas análises de relógio molecular. Em estudos de genética populacional, baixos níveis de diversidade nucleotídica são frequentemente associados a eventos de fundação ou à expansão recente de populações, uma vez que o tempo para o acúmulo de novas mutações pode ser limitado (Slatkin & Hudson, 1991; Avise, 2000; Excoffier et al., 2009). Por outro lado, os altos

valores de diversidade haplotípica observados para todos os marcadores, com exceção do MYH6 para *Characidium bahiense* e *Hyphessobrycon itaparicensis*, sugerem uma alta variabilidade genética, o que pode indicar uma rápida diversificação recente de haplótipos. A alta diversidade haplotípica em conjunto com baixa diversidade nucleotídica é frequentemente interpretada como um sinal de expansão populacional recente, em que novos haplótipos se formam rapidamente sem que o acúmulo de mutações em nível nucleotídico seja significativo (Grant & Bowen, 1998). Os resultados dos testes de neutralidade (Tajima's D, Fu's Fs e R2), quando significativos, também indicaram um possível cenário de expansão populacional recente. O teste de Fu's Fs é particularmente sensível a expansões populacionais, sendo baseado no excesso de haplótipos raros em uma população (Fu, 1997). Esses resultados são corroborados por outros estudos em peixes de água doce neotropicais, que também observaram sinais de expansão populacional em suas análises filogeográficas (e.g., Machado et al., 2016; Pereira et al., 2019; Sousa et al., 2021; Barreto et al., 2022; Oliveira-Silva et al., 2023; Souza et al., 2023). Por outro lado, a detecção de um possível gargalo populacional para o marcador MYH6 em *Hyphessobrycon parvulus* sugere uma história demográfica distinta para essa espécie em relação aos demais marcadores e espécies analisadas. Como mencionado, o MYH6 tende a apresentar uma taxa de evolução mais lenta e, portanto, ser menos informativo para eventos evolutivos recentes em comparação com marcadores mitocondriais (Shaw et al., 2002; Provan et al., 2001). Assim, o sinal de gargalo detectado pode indicar um evento histórico de redução populacional que impactou de forma mais pronunciada a diversidade genética nuclear em *H. parvulus*, potencialmente antes de uma fase de expansão observada nas demais análises.

A análise filogeográfica das quatro espécies de peixes de água doce utilizadas como modelo (*Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *Hyphessobrycon parvulus* e *Parotocinclus bahiensis*) revela uma interação complexa entre processos históricos e características biológicas específicas de cada espécie na NMAF. Os padrões observados indicam que a estruturação genética das populações não segue o modelo clássico de isolamento em sistemas fluviais, como seria esperado para espécies de água doce com distribuição atual restrita a águas continentais isoladas, conforme discutido por Avise (2009). Por outro lado, o fato de populações de uma mesma bacia não formarem clados bem como compartilharem haplótipos com bacias adjacentes corrobora a natureza híbrida da ictiofauna das drenagens analisadas, já proposta na literatura (e.g., Bizerril, 1994; Ribeiro, 2006; Camelier & Zanata, 2014). Sendo assim, estes resultados estão dentro do

esperado uma vez que, embora representem partes isoladas no espaço, as bacias hidrográficas não são consideradas unidades biogeográficas únicas (Lima e Ribeiro, 2011; Dagosta & de Pinna, 2017), mas sim como unidades que foram fragmentadas e/ou trocaram biota com bacias adjacentes. As incongruências espaciais e temporais entre as espécies também indicam que respostas evolutivas independentes desempenharam um papel significativo, refletindo diferenças nas capacidades de dispersão, adaptações ecológicas e história de vida de cada espécie (Bermingham & Martin 1998; Avise 2000; Hickerson et al. 2010). Esses resultados indicam a importância de considerar uma combinação de fatores históricos e biológicos para entender os padrões de diversidade genética e a estruturação populacional em sistemas de água doce na região da NMAF. Eventos geológicos e paleoclimáticos apresentados a seguir, juntamente com características biológicas de cada espécie, parecem ter influenciado de forma distinta as trajetórias evolutivas das populações estudadas.

Na costa brasileira, o tamanho da plataforma continental é uma característica geográfica que pode influenciar a conectividade entre as bacias hidrográficas e, consequentemente, os padrões de estruturação genética da ictiofauna ocorrente nestas (Papadopoulou & Knowles; Thomaz & Knowles, 2018, 2020). As bacias localizadas na porção mais ao norte da NMAF estão associadas a uma região ainda mais estreita desta plataforma (ver Leite et al., 2016: fig. 3), o que tende a aumentar a fragmentação dos habitats de água doce e limitar a dispersão entre bacias adjacentes. Os resultados obtidos no presente estudo ajudam a corroborar estas hipóteses de forma distintas e complementares. Para *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon parvellus* e *Parotocinclus bahiensis*, por exemplo, não foi detectada uma forte estruturação genética entre populações ao longo do trecho analisado da NMAF, como a encontrada para *Hyphessobrycon itaparicensis*. No entanto, diferente de *H. itaparicensis*, cuja distribuição é reconhecidamente restrita ao baixo curso dos rios, na região de planície bem próxima à linha da costa (Brito et al., 2014; Zanata et al., 2018), as outras três espécies também ocorrem nos interiores das bacias, em trechos mais próximos às regiões de cabeceiras (ver Britski & Garavello, 2009; Oliveira-Silva et al., 2023). No caso de *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon parvellus* e *Parotocinclus bahiensis*, portanto, os efeitos do tamanho reduzido da plataforma continental e da consequente ausência de conectividade através de paleodrenagens costeiras podem ter sido mascarados por conexões causadas por outros eventos, como as capturas fluviais. De acordo com Thomaz et al. (2015) e Lima et al. (2017), estes eventos tiveram papel mais significativo como mecanismo responsável pela

variação da estruturação genética populacional em espécies ocorrem nos interiores das bacias, como é o caso das três supracitadas. Mais recentemente, Oliveira-Silva et al. (2023) propuseram diversas capturas fluviais na NMAF que teriam sido responsáveis pelo atual padrão de distribuição de *Characidium bahiense* na ecorregião, confirmando a relevância destes fenômenos para a história filogeográfica da espécie, tal como indicado no presente estudo. Aqui, é válido mencionar que, apesar das capturas fluviais aparentemente terem tido um papel mais significativo na distribuição de *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon parvulus* e *Parotocinclus bahiensis* na NMAF, as paleodrenagens costeiras também interferiram na história biogeográfica destas espécies, como indicado pelos resultados da AMOVA para *Characidium bahiense* e *Parotocinclus bahiensis* e pelo compartilhamento de um mesmo haplótipo entre os rios Piauí e Real em *Hyphessobrycon parvulus*, uma vez que estas drenagens fizeram parte de uma mesma paleodrenagem no Pleistoceno (ver Thomaz & Knowles, 2018).

Como mencionado, a provável influência da largura da plataforma continental brasileira na história filogeográfica dos táxons modelo é mais evidente em *H. itaparicensis*, que é a espécie de distribuição mais limitada à linha da costa, e para qual houve uma estruturação filogeográfica latitudinal mais significativa na NMAF. Embora os resultados da AMOVA para esta espécie tenham indicado que a desconexão atual entre as bacias é o cenário que melhor explica a sua distribuição, em termos práticos, este cenário é muito similar ao encontrado no Pleistoceno, com muitas destas drenagens sendo relacionadas às paleodrenagens costeiras distintas, também isoladas entre si (ver Thomaz & Knowles, 2018). Interessantemente, as poucas paleodrenagens costeiras propostas por estas autoras para a região de ocorrência de *Hyphessobrycon itaparicensis* coincidem com a distribuição dentro dos haplogrupos propostos para esta espécie com base no marcador COI. Dentro do HAP1, as bacias dos rios Piauí e Real fizeram parte de uma mesma paleodrenagem no Pleistoceno, e, dentro do HAP2, foram detectadas duas possíveis conexões pretéritas, uma entre a região da Ilha de Itaparica e a bacia do rio Paraguaçu e outra incluindo os rios Vermelho, Patipe e Santarém. Em outras palavras, o recente contato entre estas populações pode ter reduzido a divergência genética dentro de cada um deles, mas a estruturação entre os haplogrupos se manteve. De acordo com Thomaz et al. (2015), a ausência de rotas de dispersão via paleodrenagens explicam a maioria da estrutura populacional em peixes de planície, como é o caso de *H. itaparicensis*.

Desta forma, os resultados obtidos no presente estudo indicam que a largura da plataforma continental brasileira comparativamente menor na porção mais ao norte da

NMAF pode sim ter atuado como barreira efetiva à dispersão das espécies de peixes analisadas, não permitindo um fluxo gênico durante períodos de regressão marinha, quando não houve grandes áreas da plataforma expostas na área. Resultados similares foram encontrados em outras regiões do globo, nas quais estudos com as espécies *Galaxiella pusilla* (Mack) (ordem Osmeriformes) e *Poecilia butleri* Jordan (Ordem Cyprinodontiformes) mostraram que regiões com a plataforma continental mais estreita apresentavam uma maior estruturação filogeográfica na Austrália e México, respectivamente (ver Unmack et al., 2012 e Zúñiga-Veja et al., 2014).

Os resultados obtidos no presente estudo também indicam que os padrões de estruturação genética das espécies analisadas apresentam congruências com os padrões de distribuição identificados por Camelier & Zanata (2014) para a NMAF. No presente estudo, observou-se que as populações das espécies *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *Hyphessobrycon parvulus* e *Parotocinclus bahiensis* apresentaram estruturação genética que reflete parcialmente os agrupamentos descritos em nível específico pelas autoras. Por exemplo, populações de diferentes bacias da NMAF, como as dos rios Sergipe e Piauí compartilharam haplótipos e formaram uma população única de acordo com os resultados da SAMOVA em *H. itaparicensis*, assim como observado por Camelier & Zanata (2014). Outro exemplo encontrado foram as politomias e os compartilhamentos de haplótipos entre os rios Itapicuru, Inhambupe e Pojuca, que estão em concordância com as politomias propostas pelas autoras. Segundo Camelier & Zanata (2014), o agrupamento formado pelos rios Real e Paraguaçu dentro do GN da NMAF chama atenção devido à distância geográfica entre estas duas bacias. Resultado similar foi encontrado no presente para *C. bahiense*, cujas populações destas drenagens também compartilham haplótipos. A concordância entre os padrões específicos e populacionais reforça a ideia de que fatores históricos de longa duração, como mudanças climáticas e geológicas na NMAF, têm atuado de forma similar tanto na diversificação entre espécies quanto na estruturação dentro de populações das espécies estudadas. Assim, os resultados deste estudo não apenas corroboram o modelo biogeográfico proposto por Camelier & Zanata (2014), mas também ampliam a compreensão sobre os processos microevolutivos que continuam a moldar a diversidade genética da NMAF. Embora os resultados obtidos no presente estudo ajudem a compreender as relações entre as bacias da NMAF propostas por Camelier & Zanata (2014), não foi possível resolver as politomias encontradas entre os rios do GN da NMAF encontradas pelas autoras. A dificuldade em resolver essas relações entre as bacias em nível populacional pode ser atribuída a diversos

fatores evolutivos e históricos. Como discutido anteriormente, a recente separação geográfica das populações e a possibilidade de fluxos gênicos contínuos entre bacias adjacentes podem ter impedido uma completa divergência genética.

Ainda sobre as bacias do GN da NMAF, vale destacar que, embora Camelier & Zanata (2014) não tenham incluído o rio Sauípe em suas análises, foi observada no presente estudo uma dinâmica bastante peculiar nesta bacia. O rio Sauípe foi o único da região que apresentou uma estruturação genética evidente, com haplótipos exclusivos para a maioria das espécies e com indicativo de populações únicas para todas as espécies nos resultados da SAMOVA, sugerindo uma diferenciação genética que não foi observada em outras bacias vizinhas. A compreensão destes resultados é dificultada pela ausência de estudos geológicos e genéticos específicos na literatura para essa região. Uma hipótese interessante é que o rio Sauípe possa representar uma zona de transição ou uma barreira genética natural, ainda não identificada, que poderia estar contribuindo para o isolamento populacional das espécies. Isso levanta a possibilidade de o rio Sauípe estar associado a uma das quebras geográficas sugeridas para *Hyphessobrycon itaparicensis* no presente estudo, servindo como um potencial barreira à dispersão e facilitando a divergência populacional. Investigações futuras, integrando dados geológicos e genéticos adicionais, serão essenciais para esclarecer os processos que moldam a estruturação genética observada nesta região.

Embora fora do escopo principal deste estudo, outra questão interessante no Grupo Norte da NMAF é a possível zona híbrida encontrada em *Parotocinclus bahiensis* e *P. minutus* na região dos rios Real e Vaza-Barris. Barreto et al. (2020) exploraram zonas híbridas em peixes de água doce, enfatizando que estas regiões representam interfaces dinâmicas onde populações geneticamente distintas interagem e podem ocorrer trocas genéticas. Os resultados merecem ser melhor investigados, mas é interessante notar a clina geográfica observada na distribuição destas espécies e seus haplótipos do marcador COI (ver Fig. 11). Nesta, é possível observar que, na altura do rio Real, há certa estruturação em *P. bahiensis*, com os haplótipos ocorrentes mais ao norte, nas bacias dos rios Vaza-Barris (baixo curso) e Real, separando-se dos demais por mais de sete passos mutacionais. Sendo assim, os resultados aqui obtidos podem ser reflexo de um evento de contato secundário entre as populações de *P. minutus* e *P. bahiensis* da parte mais ao norte da NMAF. Durante períodos de regressão marinha ou mudanças climáticas no Pleistoceno, as bacias do Real e Vaza-Barris podem ter funcionado como corredores de dispersão temporários, permitindo interações entre populações anteriormente isoladas. Estudos anteriores, como os de Avise

(2000) e Toews & Brelsford (2012), já discutem a importância das zonas híbridas como marcadores de eventos históricos de conectividade populacional. Cenários alternativos ao da existência de uma zona híbrida seriam: (i) considerar que as populações dos rios Real e Vaza-Barris de *P. bahiensis* se tratam, na verdade, de *P. minutus*; ou (ii) *Parotocinclus minutus* é sinônimo-júnior de *P. bahiensis*, que estaria amplamente distribuída na região, incluindo o alto curso do rio Vaza-Barris. Como mencionado anteriormente, a análise taxonômica destas espécies não fez parte do escopo do presente estudo, mas corroboram a necessidade de uma análise comparativa mais aprofundada do gênero na NMAF, integrando dados moleculares e morfológicos como já apontado por Zanata (comm. pers.).

Os resultados obtidos no presente estudo reforçam a complexidade dos padrões biogeográficos e/ou de estruturação populacional da ictiofauna das bacias da NMAF já apontada na literatura (e.g. Camelier & Zanata, 2014; Oliveira-Silva et al., 2023; Souza et al., 2023). Especificamente para a porção mais ao norte desta ecorregião, verificou-se que não há um padrão filogeográfico unificado para a maioria das espécies estudadas. Para três das espécies modelo (*Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon parvulus* e *Parotocinclus bahiensis*), os dados sugerem que não há uma estruturação genética clara entre as bacias, refletindo possíveis conexões históricas recentes ou separações incompletas de linhagens. Por outro lado, *Hyphessobrycon itaparicensis* apresentou um padrão distinto, com estruturação genética evidente e populações que podem refletir histórias evolutivas diferentes daquelas ocorridas no continente. Esses achados ressaltam a necessidade de ampliar os estudos integrativos na ecorregião, utilizando abordagens metodológicas que combinem dados moleculares, geológicos e ecológicos para elucidar melhor os processos históricos que moldaram a história da área e sua ictiofauna.

5. REFERÊNCIAS

- Abell, R., Thieme, M. L., Revenga, C., Bryer, M., Kottelat, M., Bogutskaya, N., ... & Petry, P. (2008). Freshwater ecoregions of the world: A new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation. *Bioscience*, 58(5), 403–414. <https://doi.org/10.1641/B580507>
- Almeida, F. F. M. (1971). Geochronological division of the Precambrian of South America. *Revista Brasileira de Geociências*, 1, 13–21.
- Arcila, D., Ortí, G., Vari, R., Armbruster, J. W., Stiassny, M. L., Ko, K. D., ... & Betancur-R, R. (2017). Genome-wide interrogation advances resolution of recalcitrant groups in the tree of life. *Nature Ecology & Evolution*, 1(2), 0020. <https://doi.org/10.1038/s41559-016-0020>
- Avise, J. C. (2004). *The hope, hype, and reality of genetic engineering: Remarkable stories from agriculture, industry, medicine, and the environment*. Oxford University Press.
- Avise, J. C., Bowen, B. W., & Ayala, F. J. (2016). In the light of evolution X: Comparative phylogeography. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(29), 7957–7961. <https://doi.org/10.1073/pnas.1604338113>
- Avise, J. C., & Hamrick, J. L. (1996). *Conservation genetics: Case histories from nature*. Chapman & Hall.
- Avise, J. C. (2000). *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press.
- Avise, J. C. (2009). Phylogeography: Retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36(1), 3–15. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.02032.x>
- Avise, 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. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 489–522. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.002421>
- Bandelt, H. J., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), 37–48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
- Barreto, S. B., Knowles, L. L., Affonso, P. R. A. D. M., & Batalha-Filho, H. (2020). Riverscape properties contribute to the origin and structure of a hybrid zone in a Neotropical freshwater fish. *Journal of Evolutionary Biology*, 33(11), 1530–1542. <https://doi.org/10.1111/jeb.13703>
- Barreto, S. B., Knowles, L. L., Mascarenhas, R., Affonso, P. R. A. D. M., & Batalha-Filho, H. (2022). Drainage rearrangements and in situ diversification of an endemic freshwater

fish genus from north-eastern Brazilian rivers. *Freshwater Biology*, 67(5), 759–773.
<https://doi.org/10.1111/fwb.13888>

Beheregaray, L. B. (2008). Twenty years of phylogeography: The state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*, 17, 3754–3774.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03857.x>

Bermingham, E., & Moritz, C. (1998). Comparative phylogeography: Concepts and applications. *Molecular Ecology*, 7(4), 367–369. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00309.x>

Bishop, P. (1995). Drainage rearrangement by river capture, beheading and diversion. *Progress in Physical Geography*, 19(4), 449–473.
<https://doi.org/10.1177/030913339501900402>

Bizerril, C. R. S. F. (1994). Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água doce do leste brasileiro. *Acta Biológica Leopoldensia*, 16(1), 51–80.

Brito, M. F., Lima, S. Q., Berbel-Filho, W. M., & Torres, R. A. (2014). New records and distribution extension of *Hyphessobrycon itaparicensis* Lima & Costa, 2001 (Characiformes: Characidae) in coastal drainages of Sergipe State, northeastern Brazil. *Check List*, 10(5), 1156–1160. <https://doi.org/10.15560/10.5.1156>

Brito, P. H., & Edwards, S. V. (2009). Multilocus phylogeography and phylogenetics using sequence-based markers. *Genetica*, 135, 439–455. <https://doi.org/10.1007/s10709-008-9305-8>

Britski, H. A., & Garavello, J. C. (2009). Redescription of *Parotocinclus bahiensis* (Miranda-Ribeiro, 1918) (Pisces, Ostariophysi, Loricariidae). *Zootaxa*, 2143(1), 59–67.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.2143.1.4>

Brown, J. H., & Lomolino, M. V. (1998). *Biogeografia* (2^a ed.). Sinauer Associates.

Brunes, T. O., Sequeira, F., Haddad, C. F., & Alexandrino, J. (2010). Gene and species trees of a Neotropical group of treefrogs: Genetic diversification in the Brazilian Atlantic Forest and the origin of a polyploid species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(3), 1120–1133. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.07.019>

Burger, R., Zanata, A. M., & Camelier, P. (2011). Estudo taxonômico da ictiofauna de água doce da bacia do Recôncavo Sul, Bahia, Brasil. *Biota Neotropica*, 11(4), 273–290.
<https://doi.org/10.1590/S1676-06032011000400026>

Camelier, P., & Zanata, A. M. (2014). Biogeography of freshwater fishes from the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion: Distribution, endemism, and area relationships. *Neotropical Ichthyology*, 12(4), 683–698. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20140057>

Camelier, P., Menezes, N. A., Costal-Silva, G. J., & Oliveira, C. (2018). Molecular and morphological data of the freshwater fish *Glandulocauda melanopleura* (Characiformes:

Characidae) provide evidence of river captures and local differentiation in the Brazilian Atlantic Forest. *PLoS ONE*, 13(3), e0194247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194247>

Campbell, M. A., & López, J. A. (2014). Mitochondrial phylogeography of a Beringian relict: The endemic freshwater genus of blackfish *Dallia* (Esociformes). *Journal of Fish Biology*, 84(2), 523–538. <https://doi.org/10.1111/jfb.12314>

Chen, W., Li, C., Chen, F., Li, Y., Yang, J., Li, J., & Li, X. (2020). Phylogeographic analyses of a migratory freshwater fish (*Megalobrama terminalis*) reveal a shallow genetic structure and pronounced effects of sea-level changes. *Gene*, 737, 144478. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144478>

Dagosta, F. C., Marinho, M. M., & Camelier, P. (2014). A new species of *Hyphessobrycon* Durbin (Characiformes: Characidae) from the middle Rio São Francisco and upper and middle Rio Tocantins basins, Brazil, with comments on its biogeographic history. *Neotropical Ichthyology*, 12(2), 365–375. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20140025>

Dagosta, F. C. P., & Pinna, M. (2017). Biogeography of Amazonian fishes: Deconstructing river basins as biogeographic units. *Neotropical Ichthyology*, 15(3), e170034. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170034>

Degnan, J. H., & Rosenberg, N. A. (2009). Gene tree discordance, phylogenetic inference and the multispecies coalescent. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(6), 332–340. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.01.009>

Dominguez, J. M. L., da Silva, R. P., & Nunes, A. S., Freire, A. F. M. (2013). The narrow, shallow, low accommodation shelf of central Brazil: Sedimentology, evolution, and human uses. *Geomorphology*, 203, 46–59. <https://doi.org/10.1016/j.geomorph.2013.12.004>

Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., & Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29(8), 1969–1973. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss075>

Dupanloup, I., Schneider, S., & Excoffier, L. (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11(12), 2571–2581. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01650.x>

Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>

Edwards, S. V., Robin, V. V., Ferrand, N., & Moritz, C. (2022). The evolution of comparative phylogeography: Putting the geography (and more) into comparative population genomics. *Genome Biology and Evolution*, 14(1), evab253. <https://doi.org/10.1093/gbe/evab253>

Egge, J. J., & Hagbo, T. J. (2015). Comparative phylogeography of Mississippi Embayment fishes. *PLoS ONE*, 10(3), e0116719. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116719>

Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>

Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479–491.

Freckleton, R. P. (2009). The seven deadly sins of comparative analysis. *Journal of Evolutionary Biology*, 22(7), 1367–1375. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01757.x>

Fu, Y. X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking, and background selection. *Genetics*, 147(2), 915–925.

Fujisawa, T., & Barraclough, T. G. (2013). Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed Yule coalescent approach: A revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic Biology*, 62(5), 707–724. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syt033>

Funk, D. J., & Omland, K. E. (2003). Species-level paraphyly and polyphyly: Frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34(1), 397–423. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132421>

Grant, W. S., & Bowen, B. W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5), 415–426. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.5.415>

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. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl_1), S96–S99. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>

Hickerson, M. J., Carstens, B. C., Cavender-Bares, J., Crandall, K. A., Graham, C. H., Johnson, J. B., ... & Yoder, A. D. (2010). Phylogeography's past, present, and future: 10 years after. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54(1), 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.09.016>

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. <https://doi.org/10.1111/zsc.12106>

Knowles, L. L., & Maddison, W. P. (2002). Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, 11(12), 2623–2635. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01637.x>

Koblmüller, S., Egger, B., Sturmbauer, C., & Sefc, K. M. (2010). Rapid radiation, ancient incomplete lineage sorting and ancient hybridization in the endemic Lake Tanganyika cichlid tribe *Tropheini*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(1), 318–334. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.01.007>

- Kohli, M., Djernæs, M., Herrera, M. S., Sahlen, G., Pilgrim, E., Simonsen, T. J., ... & Ware, J. (2021). Comparative phylogeography uncovers evolutionary past of Holarctic dragonflies. *PeerJ*, 9, e11338. <https://doi.org/10.7717/peerj.11338>
- Leigh, J. W., Bryant, D., & Nakagawa, S. (2015). POPART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110–1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
- Leite, Y. L., Costa, L. P., Loss, A. C., Rocha, R. G., Batalha-Filho, H., Bastos, A. C., ... & Pardini, R. (2016). Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(4), 1008–1013. <https://doi.org/10.1073/pnas.1513062113>
- Li, C., Ortí, G., Zhang, G., & Lu, G. (2007). A practical approach to phylogenomics: The phylogeny of ray-finned fish (*Actinopterygii*) as a case study. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1), 44. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-44>
- Li, W. J., McKenzie, E. H., Liu, J. K., Bhat, D. J., Dai, D. Q., Camporesi, E., ... & Hyde, K. D. (2020). Taxonomy and phylogeny of hyaline-spored coelomycetes. *Fungal Diversity*, 100(1), 279–801. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00431-4>
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451–1452. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>
- Lima, F. C., & Gerhard, P. (2001). A new *Hyphessobrycon*. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 12(2), 105–114.
- Lima, S. M., Berbel-Filho, W. M., Araújo, T. F., Lazzarotto, H., Tatarenkov, A., & Avise, J. C. (2017). Headwater capture evidenced by paleo-rivers reconstruction and population genetic structure of the armored catfish (*Pareiorhaphis garbei*) in the Serra do Mar mountains of southeastern Brazil. *Frontiers in Genetics*, 8, 199. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00199>
- López, J. A., Chen, W. J., & Ortí, G. (2004). Esociform phylogeny. *Copeia*, 2004(3), 449–464. <https://doi.org/10.1643/CG-03-130R1>
- Machado, D. D., Ribeiro, A. C., & Silva, G. (2016). Comparative phylogeography of freshwater fishes: Testing shared responses to Pleistocene climate change. *Journal of Biogeography*, 43(3), 511–522. <https://doi.org/10.1111/jbi.12637>
- Martins, F. M., & Domingues, M. V. (2011). Filogeografia. *Revista da Biologia, Vol. Especial - Biogeografia*, 26–30.
- Melo, B. F., Benine, R. C., Mariquela, 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(1), 49–56. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252011000100002>

- Meraner, A., Cornetti, L., & Gandolfi, A. (2014). Defining conservation units in a stocking-induced genetic melting pot: Unraveling native and multiple exotic genetic imprints of recent and historical secondary contact in Adriatic grayling. *Ecology and Evolution*, 4(8), 1313–1327. <https://doi.org/10.1002/ece3.931>
- Meraner, A., Venturi, A., Ficetola, G. F., Rossi, S., Candiotto, A., & Gandolfi, A. (2013). Massive invasion of exotic *Barbus barbus* and introgressive hybridization with endemic *Barbus plebejus* in Northern Italy: Where, how and why? *Molecular Ecology*, 22(21), 5295–5312. <https://doi.org/10.1111/mec.12494>
- Mirande, J. M. (2019). Morphology, molecules and the phylogeny of Characidae (Teleostei, Characiformes). *Cladistics*, 35(3), 282–300. <https://doi.org/10.1111/cla.12350>
- Mueller, R. L. (2006). Evolutionary rates, divergence dates, and the performance of mitochondrial genes in Bayesian phylogenetic analysis. *Systematic Biology*, 55(2), 289–300. <https://doi.org/10.1080/106351505000541672>
- Naidoo, T., Schoeman, M. C., Goodman, S. M., Taylor, P. J., & Lamb, J. M. (2015). Discordance between mitochondrial and nuclear genetic structure in the bat *Chaerephon pumilus* (Chiroptera: Molossidae) from southern Africa. *Mammalian Biology*, 81, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2015.01.001>
- Near, T. J., Dornburg, A., Eytan, R. I., Keck, B. P., Smith, W. L., Kuhn, K. L., ... & Wainwright, P. C. (2013). Phylogeny and tempo of diversification in the superradiation of spiny-rayed fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(31), 12738–12743. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304661110>
- Neigel, J. E., & Avise, J. C. (1986). Phylogenetic relationships of mitochondrial DNA under various demographic models of speciation. In Nevo, E., & Karlins, S. (Eds.), *Evolutionary Processes and Theory* (pp. 515–534). New York: Academic Press.
- Nylander, J. A. A. (2004). MrModeltest, v. 2.0. Uppsala, Sweden: Distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University. Disponível em: <https://github.com/nylander/MrModeltest2>
- Oliveira-Silva, L., Batalha-Filho, H., Camelier, P., & Zanata, A. M. (2024). Underestimated diversity in *Characidium* (Characiformes: Crenuchidae) from Neotropical rivers revealed by an integrative approach. *Systematics and Biodiversity*, 22(1), 2346510. <https://doi.org/10.1080/14772000.2023.2346510>
- Oliveira-Silva, L., Batalha-Filho, H., Camelier, P., & Zanata, A. M. (2023). Past riverine connectivity effects in population structure and distribution of an endemic freshwater fish from northeastern Brazilian rivers: Phylogeographic, taxonomic, and conservation implications. *Freshwater Biology*, 68(10), 1685–1702. <https://doi.org/10.1111/fw.b.14013>
- Olson, D., Dinerstein, E., Canevari, P., Davidson, I., Castro, G., Morisset, V., Abell, R., & Toledo, E. (1998). Freshwater Biodiversity of Latin America and the Caribbean: A Conservation Assessment. Biodiversity Support Program, Washington, DC.

- Papadopoulou, A., & Knowles, L. L. (2015). Species-specific responses to island connectivity cycles: Refined models for testing phylogeographic concordance across a Mediterranean Pleistocene Aggregate Island Complex. *Molecular Ecology*, 24(16), 4252–4268. <https://doi.org/10.1111/mec.13302>
- Paz-Vinas, I., Loot, G., Stevens, V. M., & Blanchet, S. (2013). Evolutionary processes driving spatial patterns of intraspecific genetic diversity in river landscapes: A review. *Biological Reviews*, 88(2), 377–392. <https://doi.org/10.1111/brv.12009>
- Pereira, L. H. G., Hanner, R., Foresti, F., & Oliveira, C. (2019). Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? *BMC Evolutionary Biology*, 19(1), 26. <https://doi.org/10.1186/s12862-019-1367-3>
- Pinadero, S. J., Marchán, D. F., Navarro, A. M., Tilikj, N., Novo, M., Domínguez, J., ... & Trigo, D. (2023). Comparative phylogeography and integrative systematic revision of Iberian endemic earthworms (Crassiclitellata, Lumbricidae). *Zoologica Scripta*, 52(4), 345–357. <https://doi.org/10.1111/zsc.12553>
- Pio, N. L., & Carvalho, T. P. (2021). Evidence on the paleodrainage connectivity during Pleistocene: Phylogeography of a Hypoptopomatine endemic to southeastern Brazilian coastal drainages. *Neotropical Ichthyology*, 19(2), e200128. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2020-0128>
- 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. <https://doi.org/10.1080/10635150600755586>
- Provan, J., Powell, W., & Hollingsworth, P. M. (2001). Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(3), 142–147. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)02144-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)02144-0)
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., & Achaz, G. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21, 1864–1877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05431.x>
- Ramos-Fregonezi, A. M., Malabarba, L. R., & Fagundes, N. J. (2017). Population genetic structure of *Cnesterodon decemmaculatus* (Poeciliidae): A freshwater look at the Pampa biome in Southern South America. *Frontiers in Genetics*, 8, 214. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00214>
- Ramos-Ossins, S. E., & Rozas, J. (2002). Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*, 19(12), 2092–2100. <https://doi.org/10.1093/molbev/msf215>
- 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. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252006000200005>

- Riddle, B. R. (2016). Comparative phylogeography clarifies the complexity and problems of continental distribution that drove AR Wallace to favor islands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(29), 7970–7977. <https://doi.org/10.1073/pnas.1602531113>
- Rincón-Sandoval, M., Betancur-R, R., & Maldonado-Ocampo, J. A. (2019). Comparative phylogeography of trans-Andean freshwater fishes based on genome-wide nuclear and mitochondrial markers. *Molecular Ecology*, 28(5), 1096–1115. <https://doi.org/10.1111/mec.14823>
- Ritter, C. D., Coelho, L. A., Capurcho, J. M., Borges, S. H., Cornelius, C., & Ribas, C. C. (2021). Sister species, different histories: Comparative phylogeography of two bird species associated with Amazonian open vegetation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 132(1), 161–173. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa102>
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Roxo, F. F., Albert, J. S., Silva, G. S. C., Zawadzki, C. H., Foresti, F., & et al. (2014). Molecular Phylogeny and Biogeographic History of the Armored Neotropical Catfish Subfamilies *Hypoptopomatinae*, *Neoplecostominae*, and *Otothyridae* (Siluriformes: Loricariidae). *PLOS ONE*, 9(8), e105564. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105564>
- Shaw, K. L. (2002). Conflict between nuclear and mitochondrial DNA phylogenies of a recent species radiation: what mtDNA reveals and conceals about modes of speciation in Hawaiian crickets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(25), 16122–16127. <https://doi.org/10.1073/pnas.252577099>
- Silva, A. T., Chagas, R. J., Santos, A. C. D. A., Zanata, A. M., Rodrigues, B. K., Polaz, C. N. M., ... & Pinho, M. (2020). Freshwater fishes of the Bahia State, Northeastern Brazil. *Biota Neotropica*, 20(4), e20200969. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2020-0969>
- Slatkin, M., & Hudson, R. R. (1991). Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, 129(2), 555–562.
- Slowinski, J. B. (1999). How should species phylogenies be inferred from sequence data?. *Systematic Biology*, 48(4), 814–825. <https://doi.org/10.1093/sysbio/48.4.814>
- Sousa, J. L. P., de Araújo Bitencourt, J., Sampaio, I., Schneider, H., & de Mello Affonso, P. R. A. (2021). “More than meets the eye”: Phylogeographic inferences and remarkable cryptic diversity and in endemic catfish *Parotocinclus* (Loricariidae: Hypoptopomatinae) from neglected and impacted basins in South America. *Conservation Genetics*, 22, 411–425. <https://doi.org/10.1007/s10592-021-01450-7>
- Souza, V., Oliveira-Silva, L., Dutra, R. T., & Camelier, P. (2023). Phylogeography of *Oligosarcus acutirostris* (Characiformes: Characidae): Testing biogeographic hypotheses in the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion. *Neotropical Ichthyology*, 21(2), e220084. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2022-0084>

- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Stephens, M., Smith, N. J., & Donnelly, P. (2001). A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics*, 68, 978–989. <https://doi.org/10.1086/319501>
- Sudasinghe, H., Pethiyagoda, R., Ranasinghe, R. H. T., Raghavan, R., Dahanukar, N., & Meegaskumbura, M. (2020). A molecular phylogeny of the freshwater-fish genus *Rasbora* (Teleostei: Cyprinidae) in Sri Lanka reveals a remarkable diversification—and a cryptic species. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 58(4), 1076–1110. <https://doi.org/10.1111/jzs.12306>
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585–595. <https://doi.org/10.1093/genetics/123.3.585>
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10), 2731–2739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
- Thomaz, A. T., & Knowles, L. L. (2018). Flowing into the unknown: Inferred paleodrainages for studying the ichthyofauna of Brazilian coastal rivers. *Neotropical Ichthyology*, 16(3), e180019. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180019>
- 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*. <https://doi.org/10.1111/jbi.12597>
- Thomaz, A. T., Malabarba, L. R., & Knowles, L. L. (2017). Genomic signatures of paleodrainages in a freshwater fish along the southeastern coast of Brazil: Genetic structure reflects past riverine properties. *Heredity*, 119(4), 287–294. <https://doi.org/10.1038/hdy.2017.47>
- Thomaz, A. T., & Knowles, L. L. (2020). Common barriers, but temporal dissonance: Genomic tests suggest ecological and paleo-landscape sieves structure a coastal riverine fish community. *Molecular Ecology*. <https://doi.org/10.1111/mec.15357>
- Thomé, M. T. C., Zamudio, K. R., Giovanelli, J. G. R., Haddad, C. F. B., Baldissera, F. A., & Alexandrino, J. (2010). Phylogeography of endemic toads and frogs from the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(3), 1018–1031. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.02.009>
- Toews, D. P., & Brelsford, A. (2012). The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Molecular Ecology*, 21(16), 3907–3930. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05650.x>

- Turchetto-Zolet, A. C., Pinheiro, F., Salgueiro, F., & Palma-Silva, C. (2013). Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology*, 22(5), 1193-1213. <https://doi.org/10.1111/mec.12185>
- Unmack, P. J., Bagley, J. C., Adams, M., Hammer, M. P., & Johnson, J. B. (2012). Molecular phylogeny and phylogeography of the Australian freshwater fish genus *Galaxiella*, with an emphasis on dwarf galaxias (*G. pusilla*). *PLoS One*, 7(6), e38433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038433>
- Vari, R. P. (1988). The Curimatidae, a lowland neotropical fish family (Pisces: Characiformes): Distribution, endemism, and phylogenetic biogeography. In *Neotropical Distribution Patterns: Proceedings of a Workshop* (pp. 1-24). Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências.
- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., & Hebert, P. D. N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847–1857. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1716>
- Weitzman, S. H., Menezes, N. A., & Weitzman, M. J. (1988). Phylogenetic biogeography of the glandulocaudini (Teleostei: Characiformes, Characidae) with comments on the distribution of other freshwater fishes in eastern and southeastern Brazil. In W. R. Heyer & P. E. Vanzolini (Eds.), *Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns* (pp. 379-427). Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências.
- Wong, W. Y., Ma, K. Y., Tsang, L. M., & Chu, K. H. (2017). Genetic legacy of tertiary climatic change: A case study of two freshwater loaches, *Schistura fasciolata* and *Pseudogastromyzon myersi*, in Hong Kong. *Heredity*, 119(5), 360-370. <https://doi.org/10.1038/hdy.2017.47>
- Zanata, A. M., & Camelier, P. (2010). *Hyphessobrycon brumado*: A new characid fish (Ostariophysi: Characiformes) from the upper Rio de Contas drainage, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 8, 771-777. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252010000300017>
- Zanata, A. M., Camelier, P., Carvalho, F. R., & Lima, S. M. (2018). Redescription of *Hyphessobrycon itaparicensis*, a senior synonym of *H. sergipanus* (Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology*, 16(1), e170141. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170141>
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P., & Stamatakis, A. (2013). A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29, 2869–2876. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt499>
- Zink, R. M. (1996). Comparative phylogeography in North American birds. *Evolution*, 50(1), 308-317. <https://doi.org/10.2307/2410635>
- Zúñiga-Vega, J. J., Ingley, S. J., Unmack, P. J., & Johnson, J. B. (2014). Do freshwater ecoregions and continental shelf width predict patterns of historical gene flow in the freshwater fish *Poecilia butleri*? *Biological Journal of the Linnean Society*, 112(3), 399–416. <https://doi.org/10.1111/bij.12289>

APÊNDICE 1

Tabela S1. Lista das espécies e espécimes utilizados nas análises moleculares e seus respectivos números de *voucher* e tecido, localidades e marcadores sequenciados. O (-) indica que aquele marcador não foi amplificado no presente estudo ou que sua sequência não estava disponível no *GenBank*.

Táxon	Voucher	Bacia	Localidade	Latitude	Longitude	Marcadores		
						COI	MYH6	RAG 1
Espécies modelo								
Charciformes								
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4042	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	-	X	X
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4043	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	-	X	X
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4044	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	-	-	-
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4045	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	-	X	X
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4046	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	-	-	-
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4202	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	-	-
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4203	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	X	X
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4204	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	-	-
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4205	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	X	X
<i>Characidium bahiense</i>	UFBA-PEI 4206	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	-	-
<i>Characidium bahiense</i>	2108	São Francisco	Rio Sapão na confluência com Rio Preto, sob ponte no povoado São Marcelo	11°01'15.2"S	45°31'38.7"W	OQ998739	OR021938	OQ995395
<i>Characidium bahiense</i>	2076	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	OQ998752	OR021938	OQ995380
<i>Characidium bahiense</i>	2077	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	OQ998753	OR021937	OQ995381
<i>Characidium bahiense</i>	2078	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	OQ998754	OR021936	OQ995382
<i>Characidium bahiense</i>	2079	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	OQ998755	OR021935	OQ995383
<i>Characidium bahiense</i>	2080	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	OQ998756	OR021934	OQ995384

<i>Characidium bahiense</i>	2060	Real	Rio Real na Fazenda Amurta	11°31'05"S	37°48'23"W	OQ998757	OR021973	OQ995375
<i>Characidium bahiense</i>	2061	Real	Rio Real na Fazenda Amurta	11°31'05"S	37°48'23"W	OQ998758	OR021974	OQ995376
<i>Characidium bahiense</i>	2062	Real	Rio Real na Fazenda Amurta	11°31'05"S	37°48'23"W	OQ998759	OR021975	OQ995377
<i>Characidium bahiense</i>	2063	Real	Rio Real na Fazenda Amurta	11°31'05"S	37°48'23"W	OQ998760	OR021976	OQ995378
<i>Characidium bahiense</i>	2064	Real	Rio Real na Fazenda Amurta	11°31'05"S	37°48'23"W	OQ998761	OR021977	OQ995379
<i>Characidium bahiense</i>	2048	Itapicuru	Riacho afluente do Rio Itapicuru, a 8 km da Linha Verde	11°47'34"S	37°41'29.6"W	OQ998762	-	-
<i>Characidium bahiense</i>	2051	Itapicuru	Riacho afluente do Rio Itapicuru, a 8 km da Linha Verde	11°47'34"S	37°41'29.6"W	OQ998763	-	-
<i>Characidium bahiense</i>	2039	Itapicuru	Rio Itapicuru na Fazenda Pau Ferro	11°34'41.0"S	38°00'02.6"W	OQ998764	OR021963	OQ995375
<i>Characidium bahiense</i>	2040	Itapicuru	Rio Itapicuru na Fazenda Pau Ferro	11°34'41.0"S	38°00'02.6"W	OQ998765	OR021964	OQ995376
<i>Characidium bahiense</i>	2041	Itapicuru	Rio Itapicuru na Fazenda Pau Ferro	11°34'41.0"S	38°00'02.6"W	OQ998766	OR021965	OQ995377
<i>Characidium bahiense</i>	2042	Itapicuru	Rio Itapicuru na Fazenda Pau Ferro	11°34'41.0"S	38°00'02.6"W	OQ998767	OR021966	-
<i>Characidium bahiense</i>	2043	Itapicuru	Rio Itapicuru na Fazenda Pau Ferro	11°34'41.0"S	38°00'02.6"W	OQ998769	OR021967	OQ995379
<i>Characidium bahiense</i>	2099	Pojuca	Rio Catu	12°18'51.5"S	38°22'29"W	OQ998768	OR021958	OQ995390
<i>Characidium bahiense</i>	2100	Pojuca	Rio Catu	12°18'51.5"S	38°22'29"W	OQ998770	OR021959	OQ995391
<i>Characidium bahiense</i>	2101	Pojuca	Rio Catu	12°18'51.5"S	38°22'29"W	OQ998771	OR021960	OQ995392
<i>Characidium bahiense</i>	2102	Pojuca	Rio Catu	12°18'51.5"S	38°22'29"W	OQ998772	OR021961	OQ995393
<i>Characidium bahiense</i>	2103	Pojuca	Rio Catu	12°18'51.5"S	38°22'29"W	OQ998773	OR021962	OQ995394
<i>Characidium bahiense</i>	2378	Capivara Grande	Rio Capivara Grande, na estrada que segue 6km após a sede da Embasa de Areembepe, logo após o sítio Canto dos Passaros	12°44'53.1"S	38°15'10.5"W	OQ998773	OR021970	OQ995409
<i>Characidium bahiense</i>	2379	Capivara Grande	Rio Capivara Grande, na estrada que segue 6km após a sede da Embasa de Areembepe, logo após o sítio Canto dos Passaros	12°44'53.1"S	38°15'10.5"W	OQ998774	OR021971	OQ995410
<i>Characidium bahiense</i>	2380	Capivara Grande	Rio Capivara Grande, na estrada que segue 6km após a sede da Embasa de Areembepe, logo após o sítio Canto dos Passaros	12°44'53.1"S	38°15'10.5"W	OQ998775	OR021972	OQ995411
<i>Characidium bahiense</i>	2381	Capivara Grande	Rio Capivara Grande, na estrada que segue 6km após a sede da Embasa de Areembepe, logo após o sítio Canto dos Passaros	12°44'53.1"S	38°15'10.5"W	OQ998776	OR021973	OQ995412

<i>Characidium bahiense</i>	2382	Capivara Grande	Rio Capivara Grande, na estrada que segue 6km após a sede da Embasa de Areembepe,	12°44'53.1"S	38°15'10.5"W	OQ998777	OR021974	OQ995413
<i>Characidium bahiense</i>	4463	Paraguaçu	Rio Santo Antônio, tributário do rio Paraguaçu, Pantanal de Marimbús, comunidade quilombola do Remanso	12°39'57.2"S	41°19'31.0"W	OQ998778		-
<i>Characidium bahiense</i>	4464	Paraguaçu	Rio Santo Antônio, tributário do rio Paraguaçu, Pantanal de Marimbús, comunidade quilombola do Remanso	12°39'57.2"S	41°19'31.0"W	OQ998779	OR021978	-
<i>Characidium bahiense</i>	4465	Paraguaçu	Rio Santo Antônio, tributário do rio Paraguaçu, Pantanal de Marimbús, comunidade quilombola do Remanso	12°39'57.2"S	41°19'31.0"W	OQ998780	OR021979	
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSE1	Sergipe		10°49'13"S	37°20'48.6"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSE2	Sergipe		10°49'13"S	37°20'48.6"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSE3	Sergipe		10°49'13"S	37°20'48.6"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSE4	Sergipe		10°49'13"S	37°20'48.6"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSE5	Sergipe		10°49'13"S	37°20'48.6"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPI1	Piauí		11°12'26.4"S	37°21'46.5"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPI2	Piauí		11°12'26.4"S	37°21'46.5"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPI3	Piauí		11°12'26.4"S	37°21'46.5"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPI4	Piauí		11°12'26.4"S	37°21'46.5"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaMA1	Real		11°39'9.9"S	37°32'44.6"W	X	X	
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaMA2	Real		11°39'9.9"S	37°32'44.6"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaMA3	Real		11°39'9.9"S	37°32'44.6"W	-	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaMA4	Real		11°39'9.9"S	37°32'44.6"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSA1	Sauípe		12°18'36.10"S	37°54'15.00"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSA2	Sauípe		12°18'36.10"S	37°54'15.00"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSA3	Sauípe		12°18'36.10"S	37°54'15.00"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSA4	Sauípe		12°18'36.10"S	37°54'15.00"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaSA5	Sauípe		12°18'36.10"S	37°54'15.00"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAR1	Paraguaçu		12°55'29.00"S	38°51'23.00"W	-	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAR2	Paraguaçu		12°55'29.00"S	38°51'23.00"W	-	X	-

<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAR3	Paraguaçu	12°55'29.00"S	38°51'23.00"W	-	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAR4	Paraguaçu	12°55'29.00"S	38°51'23.00"W	-	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAR5	Paraguaçu	12°55'29.00"S	38°51'23.00"W	-	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaILHA1	Ilha de Itaparica	13°1'38.80"S		X	X	-
				38°41'52.50"W			
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaILHA2	Ilha de Itaparica	13°1'38.80"S		X	X	-
				38°41'52.50"W			
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaILHA3	Ilha de Itaparica	13°1'38.80"S		X	X	-
				38°41'52.50"W			
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaILHA4	Ilha de Itaparica	13°1'38.80"S		X	X	-
				38°41'52.50"W			
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaILHA5	Ilha de Itaparica	13°1'38.80"S		X	X	-
				38°41'52.50"W			
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAT1	Patipe	13°17'56.00"S	39°02'11.40"W		-	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAT2	Patipe	13°17'56.00"S	39°02'11.40"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAT3	Patipe	13°17'56.00"S	39°02'11.40"W		X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAT4	Patipe	13°17'56.00"S	39°02'11.40"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaPAT5	Patipe	13°17'56.00"S	39°02'11.40"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaVER1	Vermelho	13°26'12.3"S	39° 5'18.4"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaVER2	Vermelho	13°26'12.3"S	39° 5'18.4"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaVER3	Vermelho	13°26'12.3"S	39° 5'18.4"W		X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaVER4	Vermelho	13°26'12.3"S	39° 5'18.4"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaVER5	Vermelho	13°26'12.3"S	39° 5'18.4"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaCA1	Vermelho	13°33'00"S	39°03'31.6"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaCA2	Vermelho	13°33'00"S	39°03'31.6"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaCA3	Vermelho	13°33'00"S	39°03'31.6"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaCA4	Vermelho	13°33'00"S	39°03'31.6"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaCA5	Vermelho	13°33'00"S	39°03'31.6"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaITU1	Santarém	13°42'26"S	38°59'42"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaITU2	Santarém	13°42'26"S	38°59'42"W	-	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaITU3	Santarém	13°42'26"S	38°59'42"W	X	X	-

<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaITU4	Santarém		13°42'26"S	38°59'42"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaITU5	Santarém		13°42'26"S	38°59'42"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaCG1	Igrapiuna		13°49'24.6"S	39°10'19.9"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	HitaCG2	Igrapiuna		13°49'24.6"S	39°10'19.9"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	UFBA-PEI 3094	Almada	Córrego sem nome dentro da Fazenda União	14°38'27.9"S	39°05'45.8"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	UFBA-PEI 3095	Almada	Córrego sem nome dentro da Fazenda União	14°38'27.9"S	39°05'45.8"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	UFBA-PEI 3096	Almada	Córrego sem nome dentro da Fazenda União	14°38'27.9"S	39°05'45.8"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	UFBA-PEI 3097	Almada	Córrego sem nome dentro da Fazenda União	14°38'27.9"S	39°05'45.8"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon itaparicensis</i>	UFBA-PEI 3098	Almada	Córrego sem nome dentro da Fazenda União	14°38'27.9"S	39°05'45.8"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 136	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte na BA-095 entre Cipó e Tucano	11°05'52"S	38°34'9"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 137	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte na BA-095 entre Cipó e Tucano	11°05'52"S	38°34'9"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 138	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte na BA-095 entre Cipó e Tucano	11°05'52"S	38°34'9"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 139	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte na BA-095 entre Cipó e Tucano	11°05'52"S	38°34'9"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 140	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte na BA-095 entre Cipó e Tucano	11°05'52"S	38°34'9"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 203	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 205	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 285	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 286	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 287	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 288	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-

<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 289	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 568	Inhambupe	Riacho afluyente do Rio Inhambupe na BA 400, a 500 m da Linha Verde	12°03'38.3"S	37°45'01"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 569	Inhambupe	Riacho afluyente do Rio Inhambupe na BA 400, a 500 m da Linha Verde	12°03'38.3"S	37°45'01"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 570	Inhambupe	Riacho afluyente do Rio Inhambupe na BA 400, a 500 m da Linha Verde	12°03'38.3"S	37°45'01"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 571	Inhambupe	Riacho afluyente do Rio Inhambupe na BA 400, a 500 m da Linha Verde	12°03'38.3"S	37°45'01"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 572	Inhambupe	Riacho afluyente do Rio Inhambupe na BA 400, a 500 m da Linha Verde	12°03'38.3"S	37°45'01"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 616	Pojuca	Rio Pojuca, em área vizinha à Reserva Sapiranga	12°30'46"S	38°04'00"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 617	Pojuca	Rio Pojuca, em área vizinha à Reserva Sapiranga	12°30'46"S	38°04'00"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 618	Pojuca	Rio Pojuca, em área vizinha à Reserva Sapiranga	12°30'46"S	38°04'00"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 619	Pojuca	Rio Pojuca, em área vizinha à Reserva Sapiranga	12°30'46"S	38°04'00"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 620	Pojuca	Rio Pojuca, em área vizinha à Reserva Sapiranga	12°30'46"S	38°04'00"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1166	Igrapiuna	Cachoeira do Amor no Povoado da Boa Esperança	13°53'18.7"S	39°08'46.1"W	X	X	X
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1167	Igrapiuna	Cachoeira do Amor no Povoado da Boa Esperança	13°53'18.7"S	39°08'46.1"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1169	Igrapiuna	Cachoeira do Amor no Povoado da Boa Esperança	13°53'18.7"S	39°08'46.1"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1192	Contas	Rio da Jibóia, afluyente do Rio de Contas sob a ponte na BR-116 entre Jequié e Manoel Vitorino	13°59'27"S	40°10'38"W	X	X	X
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1193	Contas	Rio da Jibóia, afluyente do Rio de Contas sob a ponte na BR-116 entre Jequié e Manoel Vitorino	13°59'27"S	40°10'38"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1194	Contas	Rio da Jibóia, afluyente do Rio de Contas sob a ponte na BR-116 entre Jequié e Manoel Vitorino	13°59'27"S	40°10'38"W	X	-	-

<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1195	Contas	Rio da Jibóia, afluente do Rio de Contas sob a ponte na BR-116 entre Jequié e Manoel Vitorino	13°59'27"S	40°10'38"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1196	Contas	Rio da Jibóia, afluente do Rio de Contas sob a ponte na BR-116 entre Jequié e Manoel Vitorino	13°59'27"S	40°10'38"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1693	Inhambupe	Rio do Cumbre, na ponte sob a BR-101	11°49'48"S	37°59'28"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1694	Inhambupe	Rio do Cumbre, na ponte sob a BR-101	11°49'48"S	37°59'28"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1815	Real	Rio Cajueirinho, afluente do Rio Real, entrada a direita da BR-101, na fazenda Cajueirinho	11°32'02"S	37°48'31"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1816	Real	Rio Cajueirinho, afluente do Rio Real, entrada a direita da BR-101, na fazenda Cajueirinho	11°32'02"S	37°48'31"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1817	Real	Rio Cajueirinho, afluente do Rio Real, entrada a direita da BR-101, na fazenda Cajueirinho	11°32'02"S	37°48'31"W	X	X	X
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1818	Real	Rio Cajueirinho, afluente do Rio Real, entrada a direita da BR-101, na fazenda Cajueirinho	11°32'02"S	37°48'31"W	X	X	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1819	Real	Rio Cajueirinho, afluente do Rio Real, entrada a direita da BR-101, na fazenda Cajueirinho	11°32'02"S	37°48'31"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1820	Real	Rio Cajueirinho, afluente do Rio Real, entrada a direita da BR-101, na fazenda Cajueirinho	11°32'02"S	37°48'31"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1836	Piauí	Ponte sob o Riacho dos Macacos, afluente do Rio Piauí, no GPS diz que o nome do Rio é Rio dos Fundos	11°05'19"S	37°22'14"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1837	Piauí	Ponte sob o Riacho dos Macacos, afluente do Rio Piauí, no GPS diz que o nome do Rio é Rio dos Fundos	11°05'19"S	37°22'14"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1838	Piauí	Ponte sob o Riacho dos Macacos, afluente do Rio Piauí, no GPS diz que o nome do Rio é Rio dos Fundos	11°05'19"S	37°22'14"W	X	-	-

<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1839	Piauí	Ponte sob o Riacho dos Macacos, afluente do Rio Piauí, no GPS diz que o nome do Rio é Rio dos Fundos	11°05'19"S	37°22'14"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1864	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR 101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1865	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR 101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1866	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR 101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1867	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR 101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1868	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR 101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1936	Sergipe	Pequeno reservatório na cidade de Itabaiana	10°41'57.7"S	37°23'18"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1937	Sergipe	Pequeno reservatório na cidade de Itabaiana	10°41'57.7"S	37°23'18"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1938	Sergipe	Pequeno reservatório na cidade de Itabaiana	10°41'57.7"S	37°23'18"W	X	X	X
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1939	Sergipe	Pequeno reservatório na cidade de Itabaiana	10°41'57.7"S	37°23'18"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1940	Sergipe	Pequeno reservatório na cidade de Itabaiana	10°41'57.7"S	37°23'18"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1981	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1982	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1983	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1984	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1985	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	X	X
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 1986	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 2144	Paraguaçu	Riacho Palmeiral, afluente do Rio Duas Barras, sob ponte na BA-131	11°57'30.1"S	40°47'05.7"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 2145	Paraguaçu	Riacho Palmeiral, afluente do Rio Duas Barras, sob ponte na BA-131	11°57'30.1"S	40°47'05.7"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 2146	Paraguaçu	Riacho Palmeiral, afluente do Rio Duas Barras, sob ponte na BA-131	11°57'30.1"S	40°47'05.7"W	X	-	-

<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 2147	Paraguaçu	Riacho Palmeiral, afluente do Rio Duas Barras, sob ponte na BA-131	11°57'30.1"S	40°47'05.7"W	X	X	X
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 2148	Paraguaçu	Riacho Palmeiral, afluente do Rio Duas Barras, sob ponte na BA-131	11°57'30.1"S	40°47'05.7"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 2149	Paraguaçu	Riacho Palmeiral, afluente do Rio Duas Barras, sob ponte na BA-131	11°57'30.1"S	40°47'05.7"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 3034	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a Fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 3035	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a Fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 3036	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a Fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 3037	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a Fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 3038	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a Fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4025	Sauípe	Riacho afluente do Rio Sauípe na BA-099 próximo ao povoado de Mutuim	12°18'36"S	37°54'15"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4026	Sauípe	Riacho afluente do Rio Sauípe na BA-099 próximo ao povoado de Mutuim	12°18'36"S	37°54'15"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4027	Sauípe	Riacho afluente do Rio Sauípe na BA-099 próximo ao povoado de Mutuim	12°18'36"S	37°54'15"W	X	X	X
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4028	Sauípe	Riacho afluente do Rio Sauípe na BA-099 próximo ao povoado de Mutuim	12°18'36"S	37°54'15"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4029	Sauípe	Riacho afluente do Rio Sauípe na BA-099 próximo ao povoado de Mutuim	12°18'36"S	37°54'15"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4051	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4052	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	X	X	X
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4053	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4054	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4055	Itariri	Rio Itariri sob ponte na BA-099	11°56'46"S	37°40'11"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4116	Itapicuru	Córrego afluente do Rio Itapicuru na BA-233 entre Esplanada e Conde	11°47'34"S	37°41'29"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4117	Itapicuru	Córrego afluente do Rio Itapicuru na BA-233 entre Esplanada e Conde	11°47'34"S	37°41'29"W	X	X	-

<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4118	Itapicuru	Córrego afluente do Rio Itapicuru na BA-233 entre Esplanada e Conde	11°47'34"S	37°41'29"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4119	Itapicuru	Córrego afluente do Rio Itapicuru na BA-233 entre Esplanada e Conde	11°47'34"S	37°41'29"W	X	-	-
<i>Hyphessobrycon parvellus</i>	UFBA-PEI 4120	Itapicuru	Córrego afluente do Rio Itapicuru na BA-233 entre Esplanada e Conde	11°47'34"S	37°41'29"W	X	-	-
Siluriformes							-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 210	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 211	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 548	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte, no povoado Itapicuru, a 500m da BR-407	10°24'40.3"S	40°11'09.7"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 549	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte, no povoado Itapicuru, a 500m da BR-407	10°24'40.3"S	40°11'09.7"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 550	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte, no povoado Itapicuru, a 500m da BR-407	10°24'40.3"S	40°11'09.7"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 551	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte, no povoado Itapicuru, a 500m da BR-407	10°24'40.3"S	40°11'09.7"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 552	Itapicuru	Rio Itapicuru, sob ponte, no povoado Itapicuru, a 500m da BR-407	10°24'40.3"S	40°11'09.7"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1205	Itapicuru	Rio Itapicuru-mirim, Barragem Velha de Pedras Altas	11°11'03.1"S	40°02'58.7"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1206	Itapicuru	Rio Itapicuru-mirim, Barragem Velha de Pedras Altas	11°11'03.1"S	40°02'58.7"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1207	Itapicuru	Rio Itapicuru-mirim, Barragem Velha de Pedras Altas	11°11'03.1"S	40°02'58.7"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1644	Inhambupe	Rio Inhambupe, sob a ponte na BR-101	11°55'37"S	38°02'59"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1645	Inhambupe	Rio Inhambupe, sob a ponte na BR-101	11°55'37"S	38°02'59"W	X	-	
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1646	Inhambupe	Rio Inhambupe, sob a ponte na BR-101	11°55'37"S	38°02'59"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1647	Inhambupe	Rio Inhambupe, sob a ponte na BR-101	11°55'37"S	38°02'59"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1648	Inhambupe	Rio Inhambupe, sob a ponte na BR-101	11°55'37"S	38°02'59"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1704	Inhambupe	Rio do Cumbre, na ponte sob a BR-101	11°49'48"S	37°59'28"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1705	Inhambupe	Rio do Cumbre, na ponte sob a BR-101	11°49'48"S	37°59'28"W	X	-	-

<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1716	Itariri	Rio Itariri sob a ponte na BR-101, entre Esplanada e Palmeira	11°44'47"S	37°56'26"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1717	Itariri	Rio Itariri sob a ponte na BR-101, entre Esplanada e Palmeira	11°44'47"S	37°56'26"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1718	Itariri	Rio Itariri sob a ponte na BR-101, entre Esplanada e Palmeira	11°44'47"S	37°56'26"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1719	Itariri	Rio Itariri sob a ponte na BR-101, entre Esplanada e Palmeira	11°44'47"S	37°56'26"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1759	Real	Riacho Cajueirinho ao lado do Rio Real	11°32'02"S	37°48'31"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1760	Real	Riacho Cajueirinho ao lado do Rio Real	11°32'02"S	37°48'31"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1761	Real	Riacho Cajueirinho ao lado do Rio Real	11°32'02"S	37°48'31"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1762	Real	Riacho Cajueirinho ao lado do Rio Real	11°32'02"S	37°48'31"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1897	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR-101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1898	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR-101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1899	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR-101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1900	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR-101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1901	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR-101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1902	Vaza-Barris	Rio próximo a Pousada Minante em estrada de chão na direita da BR-101, sentido Aracaju	11°02'06"S	37°20'02"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1969	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1970	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1971	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1972	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 1973	Jequiçá	Riacho afluente do Rio Jequiçá-Mirim na estrada de terra para Alto da Alagoinha	13°02'35.1"S	39°39'14.1"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 2009	Paraguaçu	Rio do Peixe, afluente do Rio Jacuípe, na BR-324	11°57'8.1"S	39°09'49.9"W	X	X	X

<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 2010	Paraguaçu	Rio do Peixe, afluente do Rio Jacuípe, na BR-324	11°57'8.1"S	39°09'49.9"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 2011	Paraguaçu	Rio do Peixe, afluente do Rio Jacuípe, na BR-324	11°57'8.1"S	39°09'49.9"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 2012	Paraguaçu	Rio do Peixe, afluente do Rio Jacuípe, na BR-324	11°57'8.1"S	39°09'49.9"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 2017	Pojuca	Rio Pojuca, sob ponte na BA-509, aproximadamente 2km de C. do Jacuípe	12°19'30.5"S	38°47'25.5"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 2018	Pojuca	Rio Pojuca, sob ponte na BA-509, aproximadamente 2km de C. do Jacuípe	12°19'30.5"S	38°47'25.5"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 2019	Pojuca	Rio Pojuca, sob ponte na BA-509, aproximadamente 2km de C. do Jacuípe	12°19'30.5"S	38°47'25.5"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 2020	Pojuca	Rio Pojuca, sob ponte na BA-509, aproximadamente 2km de C. do Jacuípe	12°19'30.5"S	38°47'25.5"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 2021	Pojuca	Rio Pojuca, sob ponte na BA-509, aproximadamente 2km de C. do Jacuípe	12°19'30.5"S	38°47'25.5"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 3072	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 3073	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 3074	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 3075	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 3076	Jequiriçá	Rio Jequiriçá Mirim em estrada de terra próximo a fazenda Hulha Branca	13°03'33.5"S	39°38'04"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 4194	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 4195	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	X	X
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 4196	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 4197	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	-	-
<i>Parotocinclus bahiensis</i>	UFBA-PEI 4198	Sauípe	Rio Sauípe sob ponte na BA-505	12°15'28"S	38°01'59"W	X	-	-
Grupo externo								
<i>Characidium</i> cf. <i>lagosantense</i>	4461					OQ998798	OR021981	OQ995422
<i>Characidium</i> cf. <i>lagosantense</i>	4460					OQ998797	OR021980	OQ995421
<i>Characidium pterostictum</i>	MNLM4901					MH667871	HQ288994	HQ289188

<i>Hasemania nana</i>	KW11T187						KU568842.1	-	
<i>Hemigrammus marginatus</i>	DCC01369						HM906017.1	HQ289066	HQ289259
<i>Hyphessobrycon brumado</i>	5932	Contas	Rio Brumado, na ponte do Coronel	13°29'37"S	41°52'06"W	X	X		x
<i>Hyphessobrycon brumado</i>	5936	Contas	Rio Brumado, na ponte do Coronel	13°29'37"S	41°52'06"W	-	X		-
<i>Hyphessobrycon diastatos</i>	3581	São Francisco	Rio Sapão, na confluência com o Rio Preto, sob ponte no povoado São Marcelo	11°01'14.8"S	45°31'40"W	X	-		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 462	Paraguaçu	Rio Riachinho, acima da cachoeira do Riachinho	12°34'19.9"S	41°30'52.4"W	X	X		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 463	Paraguaçu	Rio Riachinho, acima da cachoeira do Riachinho	12°34'19.9"S	41°30'52.4"W	X	X		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 464	Paraguaçu	Rio Riachinho, acima da cachoeira do Riachinho	12°34'19.9"S	41°30'52.4"W	X	X		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 465	Paraguaçu	Rio Riachinho, acima da cachoeira do Riachinho	12°34'19.9"S	41°30'52.4"W	X	X		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 466	Paraguaçu	Rio Riachinho, acima da cachoeira do Riachinho	12°34'19.9"S	41°30'52.4"W	X	-		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 495	Paraguaçu	Rio Preto, entre Palmeiras e Capão na ponte da Ceroula	12°33'02.2"S	41°33'34.3"W	X	-		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 496	Paraguaçu	Rio Preto, entre Palmeiras e Capão na ponte da Ceroula	12°33'02.2"S	41°33'34.3"W	X	-		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 1031	Paraguaçu	Lagoa isolada da Barragem de Apertado, entre Fazenda Tremedal e Mucugê	13°07'22.8"S	41°24'09.5"W	X	-		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 1032	Paraguaçu	Lagoa isolada da Barragem de Apertado, entre Fazenda Tremedal e Mucugê	13°07'22.8"S	41°24'09.5"W	X	X		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 1033	Paraguaçu	Lagoa isolada da Barragem de Apertado, entre Fazenda Tremedal e Mucugê	13°07'22.8"S	41°24'09.5"W	X	X		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 1034	Paraguaçu	Lagoa isolada da Barragem de Apertado, entre Fazenda Tremedal e Mucugê	13°07'22.8"S	41°24'09.5"W	X	X		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 1035	Paraguaçu	Lagoa isolada da Barragem de Apertado, entre Fazenda Tremedal e Mucugê	13°07'22.8"S	41°24'09.5"W	X	-		-
<i>Hyphessobrycon negodagua</i>	UFBA-PEI 1036	Paraguaçu	Lagoa isolada da Barragem de Apertado, entre Fazenda Tremedal e Mucugê	13°07'22.8"S	41°24'09.5"W	X	-		-
<i>Moenkhausia costae</i>							HM405163.1	MG063138	KC196437
<i>Nematocharax venustus</i>							MN011363.1	MG063138	MG063138
<i>Otothyris travassosi</i>	LBP1971						KM104466	-	-

<i>Parotocinclus cristatus</i>	UFBA-PEI 442					-	X	-
<i>Parotocinclus cristatus</i>	UFBA-PEI 443					-	X	-
<i>Parotocinclus cristatus</i>	UFBA-PEI 444					-	X	-
<i>Parotocinclus jimi</i>	UFBA-PEI 1350	Contas	Rio preto da Criciúma afluente da cachoeira dezenove sob ponte em estrada de terra no "dezenove" perpendicular à BA-330	13°58'36"S	39°56'56"W	-	X	-
<i>Parotocinclus jimi</i>	UFBA-PEI 1354					-	-	-
<i>Parotocinclus jumbo</i>						X	-	-
<i>Parotocinclus prata</i>	LBP8249					X	-	-
<i>Parotocinclus maculicauda</i>	MNLM5136					X	MK155400	MK155589
<i>Parotocinclus maculicauda</i>	MNLM6171					X	-	-
<i>Parotocinclus minutus</i>	UFBA-PEI 004	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, logo abaixo do açude Cocorobó	09°52'52"S	39°02'06"W	-	-	-
<i>Parotocinclus minutus</i>	UFBA-PEI 005	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, logo abaixo do açude Cocorobó	09°52'52"S	39°02'06"W	-	-	-
<i>Parotocinclus minutus</i>	UFBA-PEI 006	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, logo abaixo do açude Cocorobó	09°52'52"S	39°02'06"W	X	X	X
<i>Parotocinclus minutus</i>	UFBA-PEI 007	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, logo abaixo do açude Cocorobó	09°52'52"S	39°02'06"W	X	-	-
<i>Parotocinclus minutus</i>	UFBA-PEI 173	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	X	-	-
<i>Parotocinclus minutus</i>	UFBA-PEI 174	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	X	-	-
<i>Parotocinclus minutus</i>	UFBA-PEI 175	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	X	-	-
<i>Parotocinclus minutus</i>	UFBA-PEI 176	Vaza-Barris	Rio Vaza-Barris, na comunidade Brejo Grande	10°01'22"S	38°32'10"W	X	-	-
<i>Parotocinclus nandae</i>	UFBA-PEI 1213					-	-	-
<i>Parotocinclus robustus</i>	LBP8258					X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 065	Pojuca	Rio Pojuca, no bairro Alfredo Leite	12°26'20"S	38°20'11"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 066	Pojuca	Rio Pojuca, no bairro Alfredo Leite	12°26'20"S	38°20'11"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 067	Pojuca	Rio Pojuca, no bairro Alfredo Leite	12°26'20"S	38°20'11"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 068	Pojuca	Rio Pojuca, no bairro Alfredo Leite	12°26'20"S	38°20'11"W	X	-	-

<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 069	Pojuca	Rio Pojuca, no bairro Alfredo Leite	12°26'20"S	38°20'11"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 102	Pojuca	Rio Catu, próximo à rodovia BR-110, entre Catu e Alagoinhas	12°21'08.5"S	38°22'30"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 103	Pojuca	Rio Catu, próximo à rodovia BR-110, entre Catu e Alagoinhas	12°21'08.5"S	38°22'30"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 104	Pojuca	Rio Catu, próximo à rodovia BR-110, entre Catu e Alagoinhas	12°21'08.5"S	38°22'30"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 105	Pojuca	Rio Catu, próximo à rodovia BR-110, entre Catu e Alagoinhas	12°21'08.5"S	38°22'30"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 106	Pojuca	Rio Catu, próximo à rodovia BR-110, entre Catu e Alagoinhas	12°21'08.5"S	38°22'30"W	X	X	X
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 306	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 307	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 308	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 309	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 310	Jaguaripe	Rio Jaguaripe sob ponte na BR-101 entre Conceição do Almeida e Santo Antônio de Jesus	12°50'38"S	39°12'20"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 1921	Sergipe	Pequeno reservatório na cidade de Itabaiana	10°41'57.7"S	37°23'18"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 1922	Sergipe	Pequeno reservatório na cidade de Itabaiana	10°41'57.7"S	37°23'18"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 3286	Almas	Riacho afluente do Rio Preto na estrada BA-120 após o povoado de Cocão	13°34'0.7"S	39°36'54.4"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 3314	Almada	Ribeirão do Retiro à jusante da Cachoeira na fazenda Renascer	14°36'33"S	39°11'47"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 3315	Almada	Ribeirão do Retiro à jusante da Cachoeira na fazenda Renascer	14°36'33"S	39°11'47"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 3316	Almada	Ribeirão do Retiro à jusante da Cachoeira na fazenda Renascer	14°36'33"S	39°11'47"W	X	-	-

<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 3317	Almada	Ribeirão do Retiro à jusante da Cachoeira na fazenda Renascer	14°36'33"S	39°11'47"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 1681	Vaza-Barris	Rio Pitanga, no bairro Recreio dos Passarinhos	10°57'11"S	37°12'18"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 1684	Vaza-Barris	Rio Pitanga, no bairro Recreio dos Passarinhos	10°57'11"S	37°12'18"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 1685	Vaza-Barris	Rio Pitanga, no bairro Recreio dos Passarinhos	10°57'11"S	37°12'18"W	X	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 1526	Contas	Rio Gavião, em Condeúba, bacia do Rio de Contas	15°44'52.6"S	42°77'55"W	-	-	-
<i>Parotocinclus</i> sp.	UFBA-PEI 1527	Contas	Rio Gavião, em Condeúba, bacia do Rio de Contas	15°44'52.6"S	42°77'55"W	-	-	-

5. CONCLUSÕES GERAIS

O presente estudo abordou questões filogeográficas com foco na Região Neotropical, especialmente na ecorregião de água doce Mata Atlântica Nordeste (MNAF). Os resultados foram apresentados em dois capítulos. O primeiro capítulo consistiu em uma revisão sistemática do tema, com um levantamento extenso e detalhado sobre o estado da arte da filogeografia de peixes de água doce, com foco na Região Neotropical. A análise dos 306 artigos publicados entre janeiro de 2007 e dezembro de 2020 evidenciou a escassez de pesquisas nessa região, com a maior concentração dos estudos em países do hemisfério Norte (tanto em relação à ictiofauna analisada quanto à afiliação dos pesquisadores). Ao todo, 24 ordens de peixes foram alvo de estudos filogeográficos no período, sendo a ordem Cypriniformes a mais estudada. Cerca de 70% dos trabalhos foram focados em uma única espécie e 30% em múltiplas espécies, sendo que, destes, apenas 26% conduziram análises comparativas efetivas. O DNA mitocondrial, especialmente o marcador *CytB*, foi o mais utilizado, apesar de uma tendência crescente para análises multilocus, que combinam DNA mitocondrial e nuclear. Embora a Região Neotropical represente 20% dos estudos, ela continua sendo uma das áreas menos estudadas, apesar de sua enorme riqueza e diversidade de peixes de água doce. Este resultado ressalta a necessidade de maiores esforços de pesquisa nessa região.

No segundo capítulo, foi utilizada uma abordagem de filogeografia comparada para compreender a história evolutiva de *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon itaparicensis*, *H. parvellus* e *Parotocinclus bahiensis*, distribuídas em rios e riachos costeiros que drenam a ecorregião MNAF. As análises filogenéticas e filogeográficas, incluindo AMOVA e estudos de demografia histórica, foram realizadas a partir de amostras coletadas em diversas localidades, abrangendo também a bacia tipo, para investigar divergências populacionais e os cenários envolvidos na distribuição atual dessas populações. Os resultados indicaram alta variabilidade genética nas espécies analisadas, com elevada diversidade haplotípica, mas baixa diversidade nucleotídica. Evidências de expansão populacional recente foram observadas para algumas espécies, enquanto *H. parvellus* apresentou sinais de gargalo populacional em um marcador específico. A estruturação filogeográfica variou entre as espécies, sem um padrão geral, mas *H. itaparicensis*, espécie restrita à planície litorânea, destacou-se por apresentar descontinuidades filogeográficas latitudinais marcantes. Apesar das diferenças, de forma geral, o tamanho reduzido da

plataforma continental pode ter contribuído para a estruturação encontrada, evidenciada pelo pequeno número de haplótipos compartilhados entre as bacias, especialmente nos trechos mais próximos à costa, já na planície litorânea. Para as espécies continentais, como *Characidium bahiense*, *Hyphessobrycon parvulus* e *Parotocinclus bahiensis*, os padrões observados, com estruturação genética menos pronunciada, parecem ser fruto da combinação de diferentes fenômenos hidrológicos e geológicos ocorridos em períodos distintos, sendo potencialmente moldado pelas capturas fluviais.

Os resultados do presente estudo, especialmente aqueles obtidos no capítulo 2, indicam que as bacias hidrográficas que drenam trechos mais ao norte da NMAF apresentam uma história evolutiva complexa, influenciada por diversos eventos históricos e geomorfológicos. Em consonância com Camelier e Zanata (2014), a concordância entre padrões específicos e populacionais reforça que fatores históricos de longa duração, como mudanças climáticas e geológicas, têm desempenhado papel semelhante na diversificação entre espécies e na estruturação das populações estudadas. Por fim, apesar do aumento progressivo nos estudos filogeográficos, a ictiofauna da Mata Atlântica, especialmente em sua parte mais ao norte, ainda necessita de investigações para fornecer uma compreensão mais ampla dos processos envolvidos em sua história evolutiva e biogeográfica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

- ABELL, R.; THIEME, M. L.; REVENGA, C.; BRYER, M.; KOTTELAT, M.; BOGUTSKAYA, N.; COAD, B.; MANDRAK, N.; BALDERAS, S. C.; BUSSING, W.; STIASSNY, M. L. J.; SKELTON, P.; ALLEN, G. R.; UNMACK, P.; NASEKA, A.; NG, R.; SINDORF, N.; ROBERTSON, J.; ARMIJO, E.; HIGGINS, J. V.; HEIBEL, T. J.; WIKRAMANAYAKE, E.; OLSON, D.; LÓPEZ, H. L.; REIS, R. E.; LUNDBERG, J. G.; SABAJ PÉREZ, M. H.; PETRY, P. Freshwater ecoregions of the world: a new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation. *BioScience*, v. 58, n. 5, p. 403-414, 2008.
- ABILHOA, V.; BRAGA, R. R.; BORNATOWSKI, H.; VITULE, J. R. Fishes of the Atlantic Rain Forest streams: ecological patterns and conservation. *Changing diversity in changing environment*, p. 259-282, 2011.
- ALBERT, J. S.; TAGLIACOLLO, V. A.; DAGOSTA, F. Diversification of Neotropical freshwater fishes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, v. 51, n. 1, p. 27-53, 2020.
- ALBERT, JAMES S.; PETRY, PAULO; REIS, ROBERTO E. Major biogeographic and phylogenetic patterns. *Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes*, v. 1, p. 21-57, 2011.
- ALMEIDA, E. A.; DE CARVALHO, C. J. B. Biogeografia da América do Sul: padrões & processos. São Paulo: Roca, 2011.
- ALMEIDA, F. F. M. Geochronological division of the Precambrian of South America. *Revista Brasileira de Geociências*, v. 1, p. 13-21, 1971.
- ALVARADO, R. U. A bibliometria no Brasil. *Ciência da Informação*, v. 13, n. 2, 1984.
- ARAÚJO, C. A. Bibliometria: evolução histórica e questões atuais. *Em Questão*, v. 12, n. 1, p. 11-32, 2006.
- ARBELÁEZ-CORTÉS, E. Knowledge of Colombian biodiversity: published and indexed. *Biodiversity and Conservation*, v. 22, p. 2875-2906, 2013.
- AVISE, J. C. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, v. 36, p. 3-15, 2009.
- AVISE, J. C. Phylogeography: The history and formation of species. Cambridge: Harvard University Press, 2000.

- AVISE, J. C.; ARNOLD, J.; BALL, R. M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; REEB, C. A.; SAUNDERS, N. C.** Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 18, n. 1, p. 489-522, 1987.
- AVISE, J. C.; HAMRICK, J. L.** Conservation genetics: case histories from nature. New York: Chapman & Hall, 1996.
- BARRELLA, W.; PETRERE, JR. M.; SMITH, W. S.; MONTAG, L. F. A.** As relações entre as matas ciliares, os rios e os peixes. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO FILHO, H. F. *Matas Ciliares: conservação e recuperação*. p. 187-207, 2000.
- BARRETO, S. B.; KNOWLES, L. L.; AFFONSO, P. R. A. D. M.; BATALHA-FILHO, H.** Riverscape properties contribute to the origin and structure of a hybrid zone in a Neotropical freshwater fish. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 33, n. 11, p. 1530-1542, 2020.
- BARRETO, S. B.; KNOWLES, L. L.; MASCARENHAS, R.; AFFONSO, P. R. A. D. M.; BATALHA-FILHO, H.** Drainage rearrangements and in situ diversification of an endemic freshwater fish genus from northeastern Brazilian rivers. *Freshwater Biology*, v. 2022, p. 1-15, 2022.
- BEHEREGARAY, L. B.** Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*, v. 17, n. 17, p. 3754-3774, 2008.
- BERMINGHAM, E.; MORITZ, C.** Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology*, v. 7, n. 4, p. 367-369, 1998.
- BISHOP, P.** Drainage rearrangement by river capture, beheading and diversion. *Progress in Physical Geography*, v. 19, p. 449-473, 1995.
- BRITSKI, H. A.; GARAVELLO, J. C.** Redescription of *Parotocinclus bahiensis* (Miranda-Ribeiro, 1918) (Pisces, Ostariophysi, Loricariidae). *Zootaxa*, v. 2143, n. 1, p. 59-67, 2009.
- BROWN, J. H.; LOMOLINO, M. V.** *Biogeografia*. 2. ed. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2006.
- BUFREM, L.; PRATES, Y.** O saber científico registrado e as práticas de mensuração da informação. *Ciência da Informação*, v. 34, n. 2, p. 9-25, 2005.
- BURGER, R.; ZANATA, A. M.; CAMELIER, P.** Estudo taxonômico da ictiofauna de água doce da bacia do Recôncavo Sul, Bahia, Brasil. *Biota Neotropica*, v. 11, p. 273-290, 2011.

- CAMELIER, P.; MENEZES, N. A.; COSTA-SILVA, G. J.; OLIVEIRA, C.** Molecular and morphological data of the freshwater fish *Glandulocauda melanopleura* provide evidences of river captures and local differentiation in the Brazilian Atlantic Forest. *PLoS ONE*, v. 13, n. 3, e019424, 2018.
- CAMELIER, P.; ZANATA, A. M.** Biogeography of freshwater fishes from the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion: distribution, endemism, and area relationships. *Neotropical Ichthyology*, v. 12, n. 4, p. 683–698, 2014.
- CAMPBELL GRANT, E. H.; LOWE, W. H.; FAGAN, W. F.** Living in the branches: population dynamics and ecological processes in dendritic networks. *Ecology Letters*, v. 10, n. 2, p. 165–175, 2007.
- CATUNEANU, O.** Sequence stratigraphy: guidelines for a standard methodology. *Stratigraphy & Timescales*, v. 2, p. 1-57, 2017.
- CHAVALARIAS, D.; COINTET, J. P.** The reconstruction of science phylogeny. *arXiv preprint*, arXiv:0904.3154, 2009.
- CHAVALARIAS, D.; COINTET, J. P.** Phylomemetic patterns in science evolution—the rise and fall of scientific fields. *PLoS ONE*, v. 8, n. 2, e54847, 2013.
- CHRISTOFOLETTI, A.** Considerações sobre o nível de base, rupturas de declive, capturas fluviais e morfogênese do perfil longitudinal. *Geografia*, p. 81-102, 1977.
- COELHO-NETTO, A. L. C.** Evolução de cabeceiras de drenagem no médio vale do rio Paraíba do Sul (SP/RJ): a formação e o crescimento da rede de canais sob controle estrutural. *Revista Brasileira de Geomorfologia*, v. 4, n. 2, 2003.
- DAGOSTA, F. C. P.; PINNA, M.** Biogeography of Amazonian fishes: deconstructing river basins as biogeographic units. *Neotropical Ichthyology*, v. 15, n. 3, e170034, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170034>. Acesso em: 21 nov. 2024.
- DIAS, M. S.; CORNU, J. F.; OBERDORFF, T.; LASSO, C. A.; TEDESCO, P. A.** Natural fragmentation in river networks as a driver of speciation for freshwater fishes. *Ecography*, v. 36, n. 6, p. 683-689, 2012.
- DIAS, M. S.; OBERDORFF, T.; HUGUENY, B.; LEPRIEUR, F.; JÉZÉQUEL, C.; CORNU, J. F.; BROSSE, S.; GRENOUILLET, G.; TEDESCO, P. A.** Global imprint of historical connectivity on freshwater fish biodiversity. *Ecology Letters*, v. 17, n. 9, p. 1130–1140, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ele.12319>.
- DOMINGUEZ, J. M. L. et al.** The narrow, shallow, low accommodation shelf of central Brazil: sedimentology, evolution, and human uses. *Geomorphology*, v. 203, p. 46-59, 2013.

- EDWARDS, S. V. et al.** The evolution of comparative phylogeography: putting the geography (and more) into comparative population genomics. *Genome Biology and Evolution*, v. 14, n. 1, 2022.
- FERREIRA, N. S. D. A.** As pesquisas denominadas "estado da arte". *Educação & Sociedade*, v. 23, p. 257-272, 2002.
- FLORES-SILVA, R. F.; ZUCOLOTTI, A. M.** Pesquisas sobre o estado da arte no ensino de ciências e biologia: um estudo a partir de teses e dissertações. *Revista Thema*, v. 17, n. 1, p. 221-232, 2020.
- FUNK, D. J.; OMLAND, K. E.** Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, v. 34, n. 1, p. 397-423, 2003.
- GIOSAN, L.; DONNELLY, J. P.; VESPREMEANU, E.; BHATTACHARYA, J. P.; OLARIU, C.; BUONAIUTO, F. S.** River delta morphodynamics: examples from the Danube delta. *Geomorphology*, [s. l.], v. [s. v.], p. [s. p.], [s. d.].
- GROVES, C. R.; JENSEN, D. B.; VALUTIS, L. L.; REDFORD, K. H.; SHAFFER, M. L.; SCOTT, J. M.; ANDERSON, M. G.** Planning for biodiversity conservation: putting conservation science into practice. *BioScience*, v. 52, n. 6, p. 499-512, 2002.
- HAYASHI, M. C. P.** Afinidades eletivas entre a cientometria e os estudos sociais da ciência. *Filosofia e Educação*, São Carlos, v. 5, n. 2, p. 33-46, 2013.
- HERNÁNDEZ-CANCHOLA, G.; VERDE ARREGOITIA, L. D.; COLUNGA-SALAS, P.; GÓMEZ-JIMÉNEZ, Y. A.; LEÓN-PANIAGUA, L.** A global review of phylogeographic studies on bats. *50 Years of Bat Research: Foundations and New Frontiers*, p. 289-309, 2021.
- HICKERSON, M. J. et al.** Phylogeography's past, present, and future: 10 years after. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 54, n. 1, p. 291-301, 2010.
- HIRSCHMANN, A.; MALABARBA, L. R.; THOMAZ, A. T.; FAGUNDES, N. J. R.** Riverine habitat specificity constrains dispersion in a Neotropical fish (Characidae) along Southern Brazilian drainages. *Zoologica Scripta*, v. 44, n. 4, p. 374-382, 2015.
- HUBERT, N.; RENNO, J. F.** Historical biogeography of South American freshwater fishes. *Journal of Biogeography*, v. 33, n. 8, p. 1414-1436, 2006.
- KHOKHLOV, A. N.; MORGUNOVA, G. V.** Is it worth teaching biology students the basics of scientometrics and the instructions for the design of scientific articles, and if so, why?. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, v. 76, p. 77-82, 2021.

- KNOWLES, L. L.; MADDISON, W. P.** Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, v. 11, n. 12, p. [s. p.], 2002.
- KOHLI, M. et al.** Comparative phylogeography uncovers evolutionary past of Holarctic dragonflies. *PeerJ*, v. 9, p. e11338, 2021.
- KOHL-SANTOS, P.; MOROSINI, M. C.** O revisitar da metodologia do estado do conhecimento para além de uma revisão bibliográfica. *Revista Panorâmica Online*, v. 33, p. [s. p.], 2021.
- LEITE, Y. L. et al.** Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 113, n. 4, p. 1008-1013, 2016.
- LEOPOLD, L. B.; WOLMAN, M. G.; MILLER, J. P.; WOHL, E. E.** *Fluvial processes in geomorphology*. Courier Dover Publications, 2020.
- LIMA, F. C.; GERHARD, P.** A new *Hyphessobrycon*. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, v. 12, n. 2, p. 105-114, 2001.
- LIMA, R.** Bibliometria: análise quantitativa da literatura como instrumento de administração em sistemas de informação. *Ciência da Informação*, v. 15, n. 2, p. 127-133, 1986.
- LIMA, S. M. et al.** Headwater capture evidenced by paleo-rivers reconstruction and population genetic structure of the armored catfish in the Serra do Mar mountains of southeastern Brazil. *Frontiers in Genetics*, v. 8, p. 199, 2017.
- LIMA, S.; COSTA, W. J.** *Hyphessobrycon itaparicensis* (Characiformes: Characidae): a new tetragonopterine fish from a coastal island of northeastern Brazil. *Cybium*, v. 25, n. 3, p. 233-237, 2001.
- LUNDBERG, J. G., MARSHALL, L. G., GUERRERO, J., HORTON, B., MALABARBA, M. C. S. L., & WESSELINGH, F.** The stage for Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*, p. 27-48, 1998.
- MACIAS-CHAPULA, C. A.** O papel da informetria e da cienciometria e sua perspectiva nacional e internacional. *Ciência da Informação*, v. 27, p. [s. p.], 1998.
- MARTINS, F. M.; DOMINGUES, M. V.** Filogeografia. *Revista da Biologia*, v. esp. Biogeografia, p. 26-30, 2011.
- MENEZES, N. A.; WEITZMAN S. H.; OYAKAWA O. T.; LIMA F. C. T.; CASTRO R. M. C.; WEITZMAN M. J.** *Peixes de água doce da Mata Atlântica: lista preliminar*

das espécies de água doce neotropicais. São Paulo: Museu de Zoologia – Universidade de São Paulo, 2007.

MIALL, A. D. *The geology of stratigraphic sequences*. Springer, 1996.

MIGUEL, M. C.; DA SILVEIRA, R. Z.; DE CARVALHO, S. M. S. Risco de auditoria a partir do mapeamento bibliométrico na base referencial de dados Elsevier Scopus | Audit risk from bibliometric mapping in the Elsevier Scopus referential database. *Revista de Tecnologia Aplicada*, v. 9, n. 3, p. 20-32, 2021.

MORRONE, J. J. Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa*, v. 3782, n. 1, p. 1-110, 2014.

MURRAY-WALLACE, C. V.; WOODROFFE, C. D. *Quaternary Sea-Level Changes: A Global Perspective*. Cambridge University Press, 2014.

OLIVEIRA-SILVA, L.; BATALHA-FILHO, H.; CAMELIER, P.; ZANATA, A. M. Underestimated diversity in *Characidium* (Characiformes: Crenuchidae) from Neotropical rivers revealed by an integrative approach. *Systematics and Biodiversity*, v. 22, n. 1, p. 2346510, 2024.

OLIVEIRA-SILVA, L.; BATALHA-FILHO, H.; CAMELIER, P.; ZANATA, A. M. Past riverine connectivity effects in population structure and distribution of an endemic freshwater fish from northeastern Brazilian rivers: Phylogeographic, taxonomic, and conservation implications. *Freshwater Biology*, v. 68, n. 10, p. 1685-1702, 2023.

PARRA, D.; VALVERDE, L.; PINO, F. J.; PATEL, M. K. A review on the role, cost and value of hydrogen energy systems for deep decarbonisation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 101, p. 279-294, 2019.

PATRA, S. K.; BHATTACHARYA, P.; VERMA, N. Bibliometric study of literature on bibliometrics. *DESIDOC Bulletin of Information Technology*, v. 26, n. 1, p. 27-32, 2006.

RAHEL, F. J. Biogeographic barriers, connectivity and homogenization of freshwater faunas: it's a small world after all. *Freshwater Biology*, v. 52, n. 4, p. 696-710, 2007.

RIBEIRO, A. C. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, v. 4, p. 225-246, 2006.

ROMANOWSKI, J. P.; ENS, R. T. As pesquisas denominadas do tipo Estado da Arte em educação. *Revista Diálogo Educacional*, Londrina, v. 6, n. 19, p. 37-50, 2006.

ROXO, F. F.; ALBERT, J. S.; SILVA, G. S. C.; ZAWADZKI, C. H.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Molecular Phylogeny and Biogeographic History of the Armored Neotropical Catfish Subfamilies Hypoptopomatinae, Neoplecostominae and Otothyriinae

- (Siluriformes: Loricariidae). *PLoS One*, v. 9, n. 8, p. e105564, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0105564.
- SCHIAVETTI, A.; CAMARGO, A. F. M.** *Conceitos de Bacias Hidrográficas: teorias e aplicações*. Ilhéus, BA: Editus, 2002. 293 p.
- SILVA, W. C. da; et al.** Systematic review and scientometrics of commercial eggs production in Brazil. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 10, e1399108459, 2020.
- SMITH, A.; YEE, S. H.; RUSSELL, M.; AWKERMANN, J.; FISHER, W. S.** Linking ecosystem service supply to stakeholder concerns on both land and sea: An example from Guánica Bay watershed, Puerto Rico. *Ecological Indicators*, v. 74, p. 371-383, 2017.
- SOUZA, V.; OLIVEIRA-SILVA, L.; DUTRA, R. T.; CAMELIER, P.** Phylogeography of *Oligosarcus acutirostris* (Characiformes: Characidae): testing biogeographic hypotheses in the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion. *Neotropical Ichthyology*, v. 21, n. 2, e220084, 2023.
- SUMMERFIELD, M. A.** Sub-aerial denudation of passive margins: regional elevation versus local relief models. *Earth and Planetary Science Letters*, v. 102, n. 3-4, p. 460-469, 1991.
- TEODORO, V. L. I.; TEIXEIRA, D.; COSTA, D. J. L.; FULLER, B. B.** O conceito de bacia hidrográfica e a importância da caracterização morfométrica para o entendimento da dinâmica ambiental local. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, v. 11, n. 1, p. 137-156, 2007.
- THOMAZ, A. T.; et al.** Testing the effect of palaeodrainages versus habitat stability on genetic divergence in riverine systems. *Journal of Biogeography*, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jbi.12597>.
- THOMAZ, A. T.; KNOWLES, L. L.** Flowing into the unknown: inferred paleodrainages for studying the ichthyofauna of Brazilian coastal rivers. *Neotropical Ichthyology*, v. 16, n. 3, 2018. doi:10.1590/1982-0224-20180019.
- THOMAZ, A. T.; KNOWLES, L. L.** Common barriers, but temporal dissonance: genomic tests suggest ecological and paleo-landscape sieves structure a coastal riverine fish community. *Molecular Ecology*, 2020. doi:10.1111/mec.15357.
- ULARU, E. G.; PUICAN, F. C.; APOSTU, A.; VELICANU, M.** Perspectives on big data and big data analytics. *Database Systems Journal*, v. 3, n. 4, p. 3-14, 2012.
- VANTI, N. A. P.** Da bibliometria à webometria: uma exploração conceitual dos mecanismos utilizados para medir o registro da informação e a difusão do conhecimento. *Ciência da Informação*, v. 31, p. 369-379, 2002.

- VARI, R. P.** The Curimatidae, a lowland neotropical fish family (Pisces: Characiformes): distribution, endemism, and phylogenetic biogeography. In: *Neotropical Distribution Patterns: Proceedings of a Workshop*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1988.
- WATERS, J. M.; ROWE, D. L.; APTE, S.; KING, T. M.; WALLIS, G. P.; ANDERSON, L.; NORRIS, R. J.; CRAW, D.; BURRIDGE, C. P.** Geological dates and molecular rates: rapid divergence of rivers and their biotas. *Systematic Biology*, v. 56, n. 2, p. 271-282, 2007.
- WEITZMAN, S. H.; WEITZMAN, M. J.** Biogeography and evolutionary diversification in Neotropical freshwater fishes, with comments on the refuge theory. In: PRANCE, G. T. (Ed.). *Biological diversification in the Tropics*. New York: Columbia University Press, 1982. p. 403-422.
- WILKINSON, M. J.; MARSHALL, L. G.; LUNDBERG, J. G.** River behavior on megafans and potential influences on diversification and distribution of aquatic organisms. *Journal of South American Earth Sciences*, v. 21, p. 151-172, 2006.