

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA

CAMILA PEREIRA BUARQUE DE GUSMÃO

Taxonomia e filogenética de peixes de ambientes recifais
com base em dados moleculares

Recife
2013

CAMILA PEREIRA BUARQUE DE GUSMÃO

Taxonomia e filogenética de peixes de ambientes recifais
com base em dados moleculares

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Pernambuco,
ao Programa de Pós Graduação em
Oceanografia para obtenção do título
de Mestre em Oceanografia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria
Elisabeth de Araújo

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria
Raquel Coimbra.

Recife

2013

Catálogo na fonte
Bibliotecário Marcos Aurélio Soares da Silva, CRB-4 / 1175

G982t Gusmão, Camila Pereira Buarque de.
Taxonomia e filogenética de peixes de ambientes recifais com base em dados moleculares / Camila Pereira Buarque de Gusmão. - Recife: O Autor, 2013.
61 folhas, il., gráfs., tabs.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Maria Elisabeth de Araújo.
Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Raquel Coimbra.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, 2013.
Inclui Referências e Apêndice.

1. Oceanografia. 2. *Pomacanthidae*. 3. *Sparisoma*. 4. Sinapomorfia. 5. Taxonomia de Peixes. I. Araújo, Maria Elisabeth de (Orientadora). II. Título.

551.46 CDD (22. ed.)

UFPE
BCTG/2013-133

Nome: GUSMÃO, Camila Pereira Buarque de

Título: Taxonomia e filogenética de peixes de ambientes recifais com base em dados moleculares

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Oceanografia.

Aprovado em: 28 de fevereiro de 2013

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Martin Lindsey Christoffersen
Universidade Federal da Paraíba (UFPB) – Membro titular externo.

Prof. Dr. Jesser Fidelis de Souza Filho
Universidade Federal de Pernambuco – Membro titular interno.

Profa Dra. Maria Elisabeth de Araújo
Universidade Federal de Pernambuco – Membro titular interno.

Profa. Dra. Caroline Vieira Feitosa
Universidade Federal do Ceará – Membro suplente externo.

Prof. Dr. Fábio Hissa Vieira Hazin
Universidade Federal de Pernambuco – Membro suplente interno.

Agradecimentos

Aos meus pais, Jayme e Vânia, por todo carinho, amor e apoio incondicional em todas minhas decisões. Meu pai, que é e será pra sempre meu guru para assuntos acadêmicos e profissionais. Minha mãe que, bom... é minha mãe!

À minha orientadora, Beth Araújo, pela oportunidade e principalmente por todo o apoio, paciência e compreensão durante esses dois anos. Acredito que todos os orientadores deveriam ser como a senhora, apaixonada por seu trabalho e que motiva e instiga seus alunos a buscar o mesmo. Nunca conheci ninguém que acreditasse tanto no potencial das pessoas. Agradeço de coração por todo o aprendizado regado à excitação durante nossos cinco anos de convivência.

À Tia Lelly, que além de ser minha tia/irmã-mais-velha, sempre termina sendo envolvida no meu trabalho e acaba fazendo nem que seja um gráfico! Além de ser revisora e aguentar meus pitis, claro!

Ao meu irmão Pedro e à minha cunhada Beth, por sempre terem me incentivado a buscar o melhor pra mim, por cada dia me ensinarem lições sem nem perceber e por todo o cuidado comigo e pelo apoio.

Ao tio Gustavo e família por terem me proporcionado experiências incríveis de lições de vida esse ano que me deram forças para concluir essa etapa e ter coragem de encarar o que está por vir!

À prof. Raquel Coimbra, da Universidade Rural, que aceitou ser minha co-orientadora. Muito aprendi no Laboratório de Genética Aplicada.

Às meninas orientandas da profa. Raquel, em especial Karine, Maíra e, mais especial, ainda Patrícia, que me ensinaram praticamente tudo que sei de genética, prática e teórica, por terem me auxiliado em toda parte de bancada do meu trabalho, além de terem se tornado minhas amigas! Essas merecem agradecimentos especiais!

A todas as pessoas do Laboratório de Nécton, meus companheiros há cinco anos, sempre me ajudando em qualquer coisa que eu precise, desde as coletas aos desabafos. Cabelo, Daniel, Vinny, Vana, Beth Cabral, Dan, Sidney e todos os outros que passaram por lá.

À Carol (coleguinha) pelo apoio e discussões construtivas. Também por ter me ajudado agora na reta final do trabalho.

Ao Marcus (Batista) doutorando do departamento de Genética do CCB/UFPE por ter se disponibilizado inúmeras vezes a me ajudar quando enganchava na bioinformática. Sem essa ajuda, acho que ainda estaria enganchada no MEGA5!

Ao Felipe (Cavalcante), pela ajuda imprescindível justamente na parte que a paciência tende a zero!

A todos os colegas e funcionários do Departamento de Oceanografia, por terem tornado esses anos mais agradáveis e divertidos.

À Plataforma de Sequenciamento do LABCEN/UFPE, pelo uso de suas instalações.

À CAPES e ao projeto “Rede de genética, ecologia, e biotecnologia em ciências do mar”, CNPq e projeto PELD, pelo apoio financeiro.

"Bring it on, work it out, move on!"

Harry Palmer

RESUMO

A taxonomia de peixes muitas vezes pode ser problemática devido ao fraco embasamento filogenético e à utilização de caracteres não homólogos. Por exemplo, os padrões de coloração, muito utilizados para peixes associados aos recifes, são altamente variáveis intraespecificamente em função de diversos fatores ambientais, como a dieta e ontogenia, podendo resultar em descrições precipitadas de espécies novas. A subfamília Scarinae não possui sequer chave de identificação e sua taxonomia ao nível de espécies está baseada em padrões de coloração e em combinações de caracteres merísticos sobrepostos. Com o desenvolvimento da genética molecular, muitas ferramentas foram criadas para auxiliar a taxonomia tradicional, permitindo-se agregar caracteres morfológicos a moleculares. Porém, surgiram novos problemas junto a essa prática: o uso indiscriminado dos dados moleculares, sem análise prévia da sua qualidade informativa. O objetivo desta pesquisa visa demonstrar a necessidade essencial de se determinar sinapomorfias para a validação dos clados considerados monofiléticos usando principalmente caracteres moleculares e coloração. O estudo foi dividido em duas fases, conforme segue: 1) Elaboração de uma proposta filogenética para Pomacanthidae, utilizando um método passo-a-passo de análise qualitativa de sequências de DNA. Foram utilizados as espécies estudadas por Bellwood et al. (2004), cujas sequências encontram-se no Genbank, e a metodologia descrita por Christoffersen et al. (2004), para testar a hipótese filogenética. A partir do método de análise qualitativa foram obtidas duas novas propostas para Pomacanthidae, onde foram considerados apenas os clados monofiléticos, sustentados por sinapomorfias ou homoplasias dos aminoácidos nas regiões estudadas, e não apenas a sequência de nucleotídeos sem critérios evolutivos. Algumas espécies de Pomacanthidae, *Pomacanthus semicirculatus*, *P. sextriatus* e *Chaetodontoplus duboulayi*, agruparam-se ao clado de Chaetodontidae, contrariando a monofilia desta família. Resultados como este permitem concluir que as propostas filogenéticas, utilizando-se somente as médias de similaridades das bases nitrogenadas, não evidenciam as sinapomorfias necessárias para assegurar os clados. 2) A segunda fase do estudo identificou um espécime de *Sparisoma* que apresentava uma coloração diferente, utilizando-se técnicas moleculares. Foi realizada a extração do DNA genômico do exemplar, PCR para amplificação das regiões 12S e 16S de DNA mitocondrial e sequenciamento. Estes resultados foram comparados com outras sequências de espécies de *Sparisoma*,

disponíveis no Genbank. O indivíduo em estudo foi geneticamente mais próximo a *Sparisoma viride*, uma espécie caribenha irmã da espécie *S. axillare*, registrada para o Brasil, cuja sequência ainda não foi depositada. Este resultado pode indicar que o fluxo gênico entre as populações brasileira e caribenha para essas espécies ainda não foi interrompido. Pode-se considerar que, embora bem mais prático e atualmente mais divulgado, o uso de caracteres moleculares e de coloração para identificação de espécies e propostas filogenéticas merecem mais atenção na aplicação conceitual de sinapomorfia e de espécie.

Palavras-chave: Pomacanthidae, *Sparisoma*, sinapomorfia, DNA, coloração.

ABSTRACT

The taxonomy of fish can often be problematic due to the poor phylogenetic basis and use of non-homologous characters. For example, staining patterns, widely used for fish associated with reefs, intraespecificamente are highly variable depending on various environmental factors such as diet and ontogeny may result in hasty descriptions of new species. The subfamily Scarinae does not even have identification key and a taxonomy to species level is based on color patterns and combinations of meristic characters overlap. With the development of molecular genetics, many tools have been created to assist the traditional taxonomy, allowing aggregate morphology to molecular. However, new problems have emerged with this practice: the indiscriminate use of molecular data without prior analysis of their quality informative. This research aims to demonstrate the essential need to determine synapomorphies for the validation of monophyletic clades considered primarily using molecular characters and coloration. The study was divided into two stages, as follows: 1) Preparation of a proposal for phylogenetic angelfish, using a step-by-step qualitative analysis of DNA sequences. We used the species studied by Bellwood et al. (2004) whose sequences are found in GenBank and the methodology described by Christoffersen et al. (2004), phylogenetic to test the hypothesis. From the method of qualitative analysis were obtained two new proposals for angelfish, which included only monophyletic clades, supported by synapomorphies or homoplasies of amino acids in the regions studied, not only the sequence of nucleotides without evolutionary criteria. Some species of angelfish, *Pomacanthus semicirculatus*, *P. sextriatus* and *Chaetodontoplus duboulayi*, grouped by clade

Chaetodontidae, contradicting the monophyly of this family. Results like this allow us to conclude that the phylogenetic proposals, using only the average similarity of the nitrogenous bases, do not show the synapomorphies to ensure clades. 2) The second phase of the study identified a specimen *Sparisoma* which had a different color, using molecular techniques. We performed the extraction of genomic DNA sample, PCR amplification of the 12S and 16S regions of mitochondrial DNA and sequencing. These results were compared with sequences of other species *Sparisoma* available in Genbank. The test subject was genetically closest to *Sparisoma viride*, a Caribbean sister species *S. axillare*, registered to Brazil, which sequence has not yet been deposited. This result may indicate that gene flow between the Brazilian and Caribbean populations for these species has not been disrupted. It might be considered that, although much more practical and currently most widespread, the use of molecular characters and coloring for species identification and phylogenetic proposals deserve more attention in the conceptual application of synapomorphy and species.

Keywords: angelfish, *Sparisoma*, synapomorphy, DNA staining.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. OBJETIVOS GERAIS	15
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
4. ARTIGOS CIENTÍFICOS	18
3.1 PROPOSTAS FILOGENÉTICAS DE TÁXONS DE POMACANTHIDAE E CHAETODONTHIDAE: UMA ANÁLISE CRÍTICA DOS CONCEITOS CLADÍSTICOS COM DADOS MOLECULARES	18
Resumo	19
Abstract.....	19
Introdução	20
Metodologia.....	21
Resultados.....	25
Discussão	30
Conclusão	34
Agradecimentos	35
Referências Bibliográficas.....	35
Anexo I.....	38
Anexo II.....	40
3.2 PADRÃO DE COLORAÇÃO COMO CARÁTER TAXÔNOMICO DE PEIXES RECIFAIS: ESTUDO DE CASO EM <i>Sparisoma aff. frondosum</i>	41
Resumo	42
Abstract.....	42
Introdução	43
Metodologia.....	44
Resultados.....	47
Discussão	51
Conclusão	54
Agradecimentos	54
Referências Bibliográficas.....	55
Apêndices	59
5. Considerações Finais	60

LISTA DE TABELAS

Artigo Científico 01: PROPOSTAS FILOGENÉTICAS DE TÁXONS DE POMACANTHIDAE E CHAETODONTHIDAE: UMA ANÁLISE CRÍTICA DOS CONCEITOS CLADÍSTICOS COM DADOS MOLECULARES

Tabela 1: Características morfológicas e ecológicas de Pomacanthidae utilizadas por Bellwood et al. (2004). *Invariavelmente (formato), **sinapomorfia ou plesiomorfia!
Obs.: Serão discutidas no presente estudo. 30

Artigo Científico 02: PADRÃO DE COLORAÇÃO COMO CARACTER TAXÔNOMICO DE PEIXES RECIFAIS: ESTUDO DE CASO EM *Sparisoma aff. frondosum*

Tabela 1: *Primers* utilizados nas reações de PCR para amplificação de genes 12S e 16S de um exemplar de *Sparisoma*. 46

Tabela 2: Matriz de distância genética pareada do gene 12S rRNA de mtDNA entre as espécies de *Sparisoma* que apresentaram maior similaridade com *Sparisoma aff. frondosum*. 50

Tabela 3: Matriz de distância genética pareada do gene 16S rRNA de mtDNA entre as espécies de *Sparisoma* que apresentaram maior similaridade com *Sparisoma aff. frondosum*. 51

LISTA DE FIGURAS

Artigo Científico 01: PROPOSTAS FILOGENÉTICAS DE TÁXONS DE POMACANTHIDAE E CHAETODONTIDAE: UMA ANÁLISE CRÍTICA DOS CONCEITOS CLADÍSTICOS COM DADOS MOLECULARES

Figura 1: Árvore de consenso de máxima verossimilhança obtida por Bellwood et al. (2004) a partir da junção de dados de 12S e 16S, com suporte de análise Bayesiana acima dos ramos e Bootstrap abaixo (para árvores de máxima parcimônia e máxima verossimilhança). 24

Figura 2: Cladograma de Bellwood et al (2004) para Pomacanthidae, considerando as novidades ecológicas. 25

Figura 3: Proposta filogenética para família Pomacanthidae a partir de sequências de Citocromo Oxidase I. 27

Figura 4: Proposta filogenética para família Pomacanthidae a partir de sequências de Citocromo-b. 29

Artigo Científico 02: PADRÃO DE COLORAÇÃO COMO CARACTER TAXÔNOMICO DE PEIXES RECIFAIS: ESTUDO DE CASO EM *Sparisoma aff. frondosum*

Figura 1: Exemplar de *Sparisoma aff. frondosum* no momento da captura. Foto: Cláudio Henrique Macedo. 47

Figura 2: *Sparisoma frondosum*. Foto: Camila Gusmão 48

Figura 3: *Sparisoma frondosum*. Foto: Camila Gusmão Figura 5: *Sparisoma axillare* com padrão noturno (acima) e diurno (abaixo). Foto: Marcus Vinícius Bezerra 49

Figura 4: *Sparisoma amplum*. Foto: S. R. Floeter, retirada de www.fishbase.org. 49

INTRODUÇÃO GERAL

A taxonomia é a ciência que trata de identificar os organismos através da comparação de suas características (Papavero, 1994). A partir da taxonomia, a sistemática classifica os organismos para descrever a diversidade, encontrar uma organização entre os grupos e compreender os processos que geram essa variedade biológica (Amorim, 1994).

Dentro da sistemática existem algumas escolas evolutivas. As principais são a gradista, feneticista e filogeneticista, sendo esta última aquela aplicada no presente trabalho. Os gradistas tendem a classificar os organismos de acordo com seu grau de evolução alcançado, considerando as adaptações ao meio como definidores diretos do grupo. Os feneticistas organizam os animais analisando o maior número de caracteres possíveis e, através de métodos numéricos, os agrupa de acordo com as similaridades encontradas. Os filogeneticistas, por sua vez, acreditam que a sistemática deve expressar a história evolutiva dos organismos e que os agrupamentos devem compartilhar caracteres exclusivos que garantem a sua monofilia (Amorim, 1994).

Os métodos utilizam características (caracteres taxonômicos), sejam elas morfológicas, moleculares ou de outra natureza, para analisar e agrupar as suas maneiras os organismos. Os caracteres podem ser encontrados em estados evolutivos diferentes, mais primitivos, ou pleisiomórficos, ou derivados de uma forma pretérita, ou apomórficos. As estruturas são homólogas, quando possuem uma mesma origem evolutiva, ou homoplásicos, quando um mesmo estado de caráter surge independentemente em organismos diferentes, sem ancestral comum próximo. Portanto, o método filogenético classifica os organismos apenas de acordo com as semelhanças apomórficas, considerando, entretanto, a ancestralidade dos caracteres utilizados (Hennig, 1966).

O método filogenético é, assim, fundamental para construções de hipóteses evolutivas, sempre observando a escolha de caracteres homólogos, ou seja, caracteres que representem a ancestralidade comum (monofilia do grupo). É necessária então uma análise qualitativa do caráter utilizado para que os clados sejam construídos e suportados por sinapomorfias, garantindo a monofilia dos agrupamentos (Hennig, 1966).

A família Pomacanthidae compreende os chamados peixes-anjo. São 90 espécies, distribuídas em ambientes recifais de todos os oceanos (www.fishbase.org). Esses peixes possuem muitas formas e coloridos diversificados e são especializados ecologicamente, principalmente no que diz respeito ao aparelho bucal (Bellwood et al., 2004; Know & Bellwood, 2005). Apesar de alguns autores afirmam que a família Pomacanthidae é monofilética, ela já foi considerado subfamília de Chaetodontidae por vários autores (*e.g.* Greenwood et al., 1966 Böhlke & Chaplin, 1968). Entretanto, Burgess (1974) fez uma revisão taxonômica e decidiu elevar essas duas sub-famílias de Pomacanthinae à categoria de família.

Os peixes do gênero *Sparisoma* são praticamente restritos ao Atlântico e fazem parte da família Labridae. São importantes componentes das comunidades recifais, tanto por sua abundância e diversidade, quanto por seu papel ecológico como herbívoros agentes na bioerosão (Choat, 1991; Bellwood, 1995). Esse gênero evoluiu recentemente, há aproximadamente 15 milhões de anos (Bellwood, 1994). Eram conhecidas seis espécies para o Atlântico Oeste, que se distribuíam da província Caribenha ao Brasil. Eram elas: *S. atomarium*, *S. aurofrenatum*, *S. chrysopterum*, *S. radians*, *S. rubripinne* e *S. viride*.

Entretanto, baseado em dados morfológicos, principalmente em padrões de coloração, Moura et al. (2001) afirmaram que as populações brasileiras e do Caribe estão em isolamento reprodutivo, ou seja, há espécies brasileiras novas, irmãs das espécies caribenhas. As novas espécies são: *S. amplum*, *S. frondosum* e *S. axillare*. Alguns anos depois, foi descrita mais uma espécie, *S. tuiupiranga*, cuja espécie irmã é *S. atomarium*, também do Caribe (Gasparinni et al. 2003). Posteriormente, foi realizado um estudo de taxonomia molecular, que corroborou este estudo, à exceção de *S. amplum*, para qual não foi encontrada divergência genética com relação à sua espécie irmã, *S. viride*. Entretanto, *S. amplum* continua como espécie válida registrada para o Brasil. Para os recifes do estado de Pernambuco estão registradas *S. amplum*, *S. frondosum*, *S. axillare* e *S. radians*. O gênero *Sparisoma* carece de chave de identificação e sua taxonomia é baseada principalmente em padrões de coloração (Moura et al. 2001), tornando a identificação de suas espécies complicada, o que muitas vezes resulta em erros.

OBJETIVOS GERAIS

1. Analisar propostas filogenéticas anteriores para as espécies de Pomacanthidae e Chaetodontidae, com base no estudo evolutivo de Bellwood et al. (2004), visando demonstrar a necessidade essencial de se determinar sinapomorfias para a validação dos clados considerados monofiléticos;
2. Identificar molecularmente um exemplar de *Sparisoma*, que apresentou uma coloração com padrão mais similar a *S. frondosum* e a *S. axillare* no padrão noturno, visando testar molecularmente quão diagnóstico é o padrão de coloração para diferenciar espécies co-genéricas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, D. S. 1994. **Elementos Básicos de Sistemática Filogenética**. Sociedade Brasileira de Entomologia, São Paulo.
- BELLWOOD, D. R. 1994. A phylogenetic study of the parrotfishes family Scaridae (Pisces: Labroidae), with a revision of genera. **Records of the Australian Museum**.
- BELLWOOD, D. R. 1995. Direct estimate of bioerosion by two parrotfish species, *Clorurus gibbus* and *C. sordidus*, on the Great Barrier Reef, Australia. **Marine Biology**, 121: 419–429.
- BÖHLKE, J. E., CHAPLIN, C.C.G. 1968. **Fishes of the Bahamas and adjacent tropical waters**. Livingston Publishing, Wynnewood.
- BURGESS, W. E. 1974. Evidence for the elevation to family status of the angelfishes (Pomacanthidae), previously considered to be a subfamily of the butterflyfish family, Chaetodontidae. **Pacific Science**, 28(1): 57-71.
- CHOAT, J. H. 1991. The biology of herbivorous fishes on coral reefs. In “**The Ecology of Fishes on Coral Reefs**” (P. F. Sale, Ed.), p. 120–155. Academic Press, London.
- Christoffersen et al. (2004). A molecular method for a qualitative analysis of potentially coding sequences of DNA. **Brazilian Journal of Biology**. 64(3A): 383-398.
- FLOETER, S. R.; GASPARINI, J. L. 2005. The southwestern Atlantic reef fish fauna: composition and zoogeographic patterns. **Journal of Fish Biology** 56: 1099-1114.
- GASPARINI, J. L.; JOYEUX, J.C.; FLOETER, S.R. 2003. *Sparisoma tuiupiranga*, a new species of parrotfish (Perciformes: Labroidae: Scaridae) from Brazil, with comments on the evolution of the genus. **Zootaxa**, 384: 1–14.

GREENWOOD, P. H.; D. E., ROSEN; S. H., WEITZMAN; G. S. MYERS. 1966. Phyletic studies of teleostean fishes, with a provisional classification of living forms. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, 131: 339-456.

HENNIG, W. 1966. **Phylogenetic Systematics**. Urbana. University of Illinois Press.

KONOW, N.; BELLWOOD, D. R. 2005. Prey-capture in *Pomacanthus semicirculatus* (Teleostei, Pomacanthidae): functional implications of intramandibular joints in marine angelfishes **The experimental Biology Journal**, 1421-33.

MOURA, R. L.; FIGUEIREDO, J. L.; SAZIMA, I. 2001. A new parrotfish (scaridae) from Brazil, and revalidation of *Sparisoma amplum* (Ranzani, 1842), *Sparisoma frondosum* (Agassiz, 1831), *Sparisoma axillare* (Steindachner, 1878) and *Scarus trispinosus* Valenciennes, 1840. **Bulletin of Marine Science**, 68(3): 505–524.

PAPAVERO, N. 1994. **Fundamentos práticos de taxonomia zoológica: coleções, bibliografia, nomenclatura**. 2a ed. Ed. Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

PROPOSTAS FILOGENÉTICAS DE TÁXONS DE POMACANTHIDAE E CHAETODONTHIDAE: UMA ANÁLISE CRÍTICA DOS CONCEITOS CLADÍSTICOS COM DADOS MOLECULARES.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi analisar as propostas filogenéticas prévias para as espécies de Pomacanthidae e Chaetodontidae, com base no estudo evolutivo e biogeográfico de Bellwood et al. (2004), visando demonstrar a necessidade essencial de se determinar sinapomorfias para a validação dos clados considerados monofiléticos. Foram analisadas sequências de Cit-b e COI, obtidas através do banco de dados Genbank. Foi utilizado o método passo-a-passo de análise qualitativa das sequências, descrito em Christoffersen et al. (2004), para construção dos cladogramas. Ambas as propostas separaram Pomacanthidae das famílias utilizadas como grupos-externos, Chaetodontidae, Kyphosidae e Scatophagidae. Entretanto, no cladograma construído a partir do Cit-b, a família apresentou-se parafilética. Não foi possível identificar as sinapomorfias que sustentariam os gêneros e famílias na árvore filogenética proposta por Bellwood et al. (2004), pois os autores não disponibilizam seus dados referentes às características evolutivas. Pomacanthidae permanece com sua história evolutiva mal compreendida geneticamente. Os caracteres utilizados para inferir relações filogenéticas devem ser avaliados qualitativamente.

Palavras-chave: Percoidea, sistemática evolutiva, DNA, Actinopterygii

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze previous phylogenetic proposals for Angelfish species and Chaetodontidae, based on the evolutionary and biogeographic study of Bellwood et al. (2004), to demonstrate the essential need to determine synapomorphies for validation of the clades considered monophyletic. We analyzed sequences of Cyt-b and COI obtained from Genbank database. The method used was a step-by-step qualitative analysis of the sequences described in Christoffersen et al. (2004) for cladograms constructions. Both proposals separated Pomacanthidae from families used as outgroups, Chaetodontidae, Kyphosidae and Scatophagidae. However, in the cladogram constructed from Cyt-b, the family appeared paraphyletic. It wasn't possible to identify synapomorphies that sustain families and genera in the phylogenetic tree proposed by Bellwood et al. (2004), because the authors haven't disclosed data regarding their evolutionary characteristics. Pomacanthidae with their evolutionary history remains genetically poorly understood. Characters used to infer phylogenetic relationships should be evaluated qualitatively.

Keywords: Percoidea, phylogenetic systematics, molecular taxonomic characters

INTRODUÇÃO

Na sistemática filogenética as classificações taxonômicas devem representar fielmente as relações de filogenia. Devido a isso, a escolha dos caracteres utilizados na construção de cladogramas é fundamental para embasar a hipótese evolutiva, uma vez que os táxons devem ser agrupados por sinapomorfias. Na maioria das vezes, os programas de construção de relações filogenéticas não distinguem plesiomorfias de apomorfias, resultando em agrupamentos parafiléticos (Amorim, 1994).

A escolha cuidadosa e *a priori* do grupo externo, assim como o estudo da polarização e das séries de transformação dos caracteres permitem que cada caráter seja compreendido durante o processo de elaboração filogenética, possibilitando a distinção entre estruturas sinapomórficas, simplesiomórficas ou homoplásicas (Amorim, 1994). Quando os cladogramas utilizam caracteres moleculares, dificilmente esses critérios são seguidos e os conceitos filogenéticos observados. O trabalho de Christoffersen et al. (2004) analisa essas questões e demonstra ser possível construir hipóteses filogenéticas baseadas em caracteres moleculares, atribuindo-se pesos diferentes às substituições de nucleotídeos, de acordo com a qualidade informativa a partir de cada mutação.

Segundo Avise (2004), o DNA mitocondrial é uma molécula geralmente circular, pequena (de 15 a 20 Kb) e com poucos genes (37 no total). 13 genes são codificadores de proteínas, 22 são de RNA transportadores e 2 são de subunidades ribossômicas. O genoma mitocondrial é dito compacto por não possuir íntrons, pseudogenes, sequências repetitivas ou espaçadoras. Uma de suas características mais importantes é ser de herança exclusivamente materna, sendo haplóide e não-recombinante (Beaumont & Hoare, 2003). Apresenta uma taxa de evolução elevada devido ao mecanismo de reparação deficiente durante a replicação, ou seja, seus genes são muito polimórficos (Meyer, 1993). Essas características tornam o mtDNA adequado para estudos de táxons próximos com tempo de divergência recente, sendo portanto bastante empregado na genética de populações, taxonomia e filogenética. (Saccone, 1994; Avise, op. cit.).

A família Pomacanthidae é uma das mais importantes dos ambientes recifais (Delbelius et al., 2003). É uma família bastante especializada (Bauchot et al., 1988) e, apesar de ser bastante diversa, com 90 espécies distribuídas em 8 gêneros

(www.fishbase.org), alguns autores acreditam em sua monofilia (e.g. Nelson, 1994; Chung e Woo, 1998; Bellwood et al, 2004).

O objetivo do presente estudo foi analisar propostas filogenéticas existentes para as espécies de Pomacanthidae e Chaetodontidae, com base no estudo evolutivo e biogeográfico de Bellwood et al (2004), visando demonstrar a necessidade essencial de se determinar sinapomorfias para a validação dos clados considerados monofiléticos.

METODOLOGIA:

Foram comparadas as sequências do citocromo-b (cit-b) e citocromo oxidase I (COI) das espécies estudadas por Bellwood et al. (2004) que estão disponíveis no Genbank. Os genes 12S e 16S, utilizados neste trabalho de Bellwood e colaboradores, são codificadores de rRNA, portanto não podem ser traduzidos em aminoácidos. Este procedimento é fundamental na metodologia e análises do presente trabalho devido ao estudo qualitativo das sequências, conforme Christoffersen et al. (2004). Escolheu-se, portanto, os genes cit-b e COI por codificarem proteínas e terem taxas de substituição de nucleotídeo elevadas (Avice, 2004; Kochzius et al, 2010). Foram comparadas sequências de 214 códons de do COI e 89 de Cit-b.

As 20 sequências de citocromo-b selecionadas tem os seguintes números de depósitos no Genbank:

- Amphichaetodon howensis* (Waite, 1903) (FJ167682.1)
- Apolemichthys trimaculatus* (Cuvier, 1831) (AF108623.1)
- Apolemichthys xanthurus* (Bennett, 1833) (AF108624.1)
- Centropyge bicolor* (Bloch, 1787) (JQ914309.1)
- Centropyge potteri* (Jordan & Metz, 1912) (AF108636.1)
- **Centropyge venusta* (Yasuda & Tominaga, 1969) (AF108638.1)
- Chaetodon kleini* Bloch, 1790 (JF457952.1)
- Chaetodon ornatissimus* Cuvier, 1831 (HQ329585.2)
- Chaetodon trifascialis* Quoy & Gaimard, 1825 (JF457988.1)
- Chaetodontoplus duboulayi* (Günther, 1867) (AF108641.1)
- Forcipiger flavissimus* Jordan & McGregor, 1898 (JF458132.1)

Genicanthus lamarck (Lacepède, 1802) (AF108644.1)
Genicanthus melanospilos (Bleeker, 1857) (AF108645.1)
Holacanthus passer Valenciennes, 1846 (JQ741501.1)
Paracentropyge multifasciata (Smith & Radcliffe, 1911) (AF108633.1)
Pomacanthus semicirculatus (Cuvier, 1831) (AF108649.1)
Pomacanthus sexstriatus (Cuvier, 1831) (FJ167724.1)
Pygoplites diacanthus (Boddaert, 1772) (AF108652.1)
Scatophagus argus (Linnaeus, 1766) (FJ167727.1)
Selenotoca multifasciata (Richardson, 1846) (FJ167728.1).

As sequências de citocromo oxidase I selecionadas (25) tem os seguintes números de acesso:

Apolemichthys trimaculatus (JQ349773.1)
Apolemichthys xanthurus (FJ582873.1)
Centropyge bicolor (FJ582947.1)
 ***Centropyge flavissima* (Cuvier, 1831) (JQ431559.1)
Centropyge loricula (Günther, 1874) (JQ431563.1)
Centropyge potteri (FJ582985.1)
Chaetodontoplus mesoleucus (Bloch, 1787) (FJ583094.1)
Genicanthus lamarck (FJ583423.1)
Genicanthus melanospilos (FJ583426.1)
Holacanthus ciliaris (Linnaeus, 1758) (JQ841232.1)
Holacanthus tricolor (Bloch, 1795) (JQ840537.1)
Paracentropyge multifasciata (FJ582979.1)
 **Centropyge venusta* (FJ582994.1)
Pomacanthus semicirculatus (Cuvier, 1831) (JQ350237.1)
Pomacanthus arcuatus (Linnaeus, 1758) (JQ841953.1)
Pomacanthus zonipectus (Gill, 1862) (GU440472.1)
Pygoplites diacanthus (JQ350299.1)
Chaetodon ornatissimus (JF434807.1)
Chaetodon trifascialis (JF434821.1)

Chaetodon kleinii (JF434785.1)

Forcipiger flavissimus (JF434973.1)

Kyphosus cinerascens (Forsskål, 1775) (JQ350079.1)

Kyphosus vaigiensis (Quoy & Gaimard, 1825) (JQ431874.1)

Scatophagus argus (JN021250.1)

Selenotoca multifasciata (DQ107759.1)

* Bellwood et al (2004) referem-se a esta espécie como *Sumireyakko venustus*, enquanto no Genbank consta como *Paracentropyge venustus*. Será utilizado o nome válido atual, *Centropyge venusta* (www.fishbase.org).

** Este é o nome válido para a espécie que Bellwood et al (2004) tratam como *Forcipiger flavissimus*.

Para a elaboração da proposta filogenética, considerou-se como característica principal os aminoácidos diferentes e secundária as bases nitrogenadas, cujas posições nos códons também foram ponderadas, segundo Christoffersen et al. (2004). Trata-se de um método qualitativo passo-a-passo para análise de sequências proteicas, onde são escolhidos códons informativos. As séries de transformação de aminoácidos são analisadas e as hipóteses mais parcimoniosas são propostas. As espécies de Scatophagidae e de Chaetodontidae foram escolhidas como grupos externos, assumindo Pomacanthidae como monofilético, seguindo Bellwood et al. (2004). No caso das sequências de COI, existem espécies de Kyphosidae disponíveis no Genbank, que foram usadas também como grupos externos.

As propostas filogenéticas, resultantes das análises acima especificadas (Fig. 03 e 04), foram comparadas àquelas apresentadas por Bellwood et al. (2004) (Fig. 01). Além da comparação das topografias dessas hipóteses, foram avaliadas as características mencionadas no texto desses autores (2004) para encontrar possíveis sinapomorfias (Fig. 02). Essas características são referentes aos diferentes formatos dos corpos dos peixes, seus hábitos alimentares, sexuais e sociais.

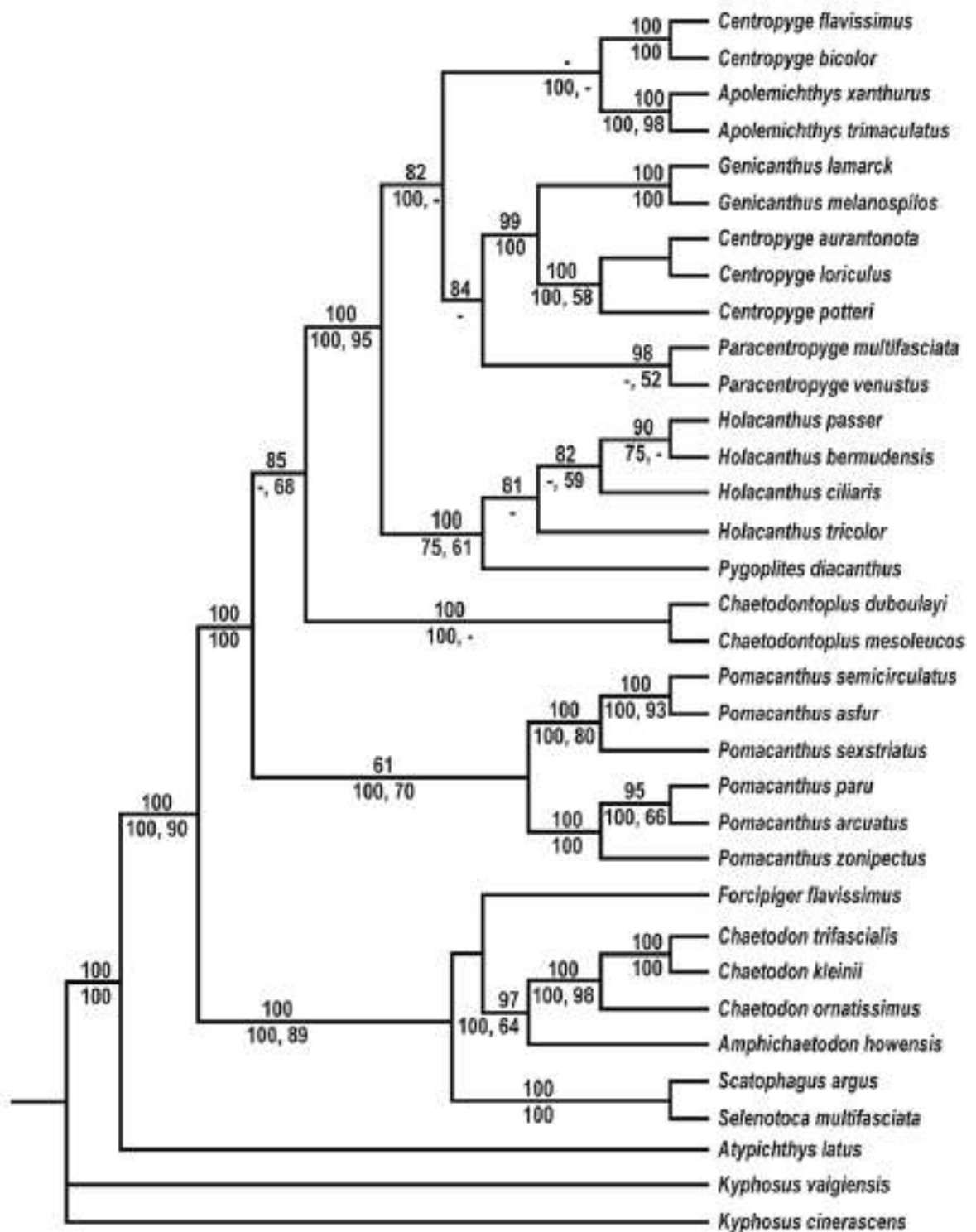


Figura 1: Árvore de consenso de máxima verossimilhança obtida por Bellwood et al. 2004 a partir da junção de dados de 12S e 16S, com suporte de análise Bayesiana acima dos ramos e *Bootstrap* abaixo (para árvores de máxima parcimônia e máxima verossimilhança).

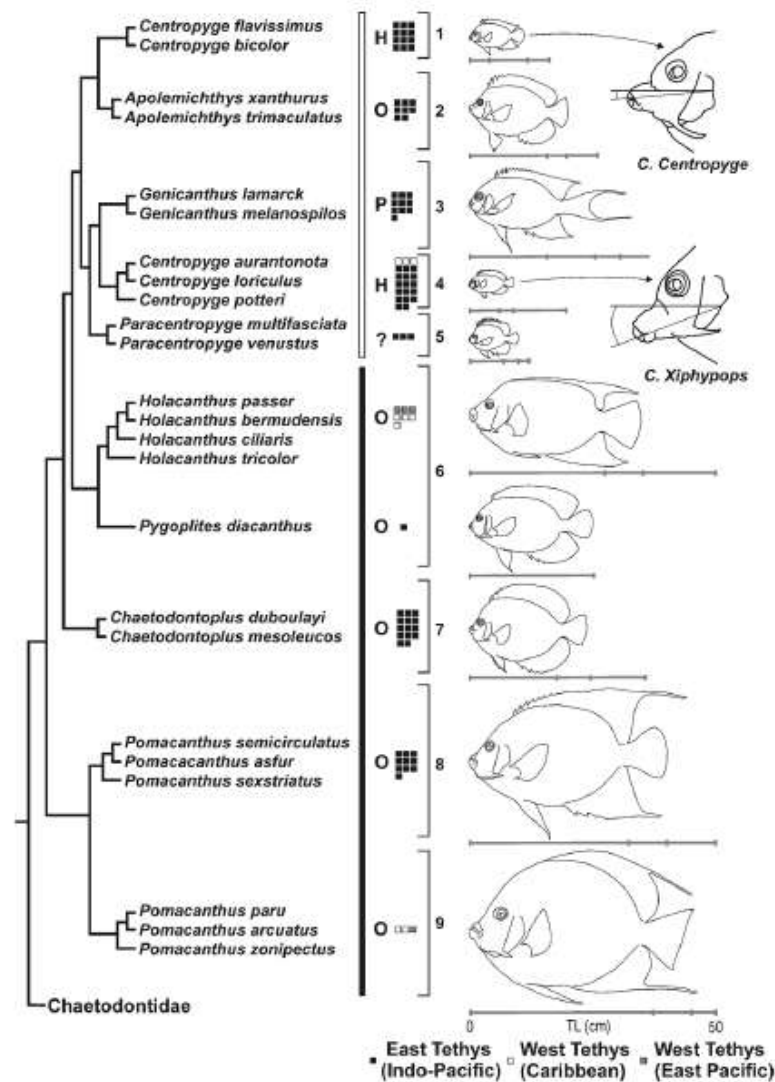


Figura 2: Cladograma de Bellwood et al. (2004) para Pomacanthidae, considerando as novidades ecológicas.

RESULTADOS:

Proposta filogenética usando sequências de Citocromo Oxidase I (COI):

O cladograma, elaborado a partir de sequências de COI (Fig. 03), mostrou que a separação entre os grupos externos (Chaetodontidae, Kyphosidae e Scatophagidae), que formaram uma politomia, e o grupo interno (Pomacanthidae), está embasada por quatro sinapomorfias (4-L, 56-A, 92-L, 99-A).

Essa proposta também reforçou a monofilia das quatro espécies de Chaetodontidae, as mesmas utilizadas na proposta a partir do Cit-b, afirmada por 2 sinapomorfias de COI (103-S, 152-L) para esse grupo. *Chaetodon trifascialis* e *C. kleinii* formaram um clado unido por uma sinapomorfia (29-T), tendo *C. ornatissimus* como espécie-irmã (95-L, 159-M, 170-I). As duas espécies de Scatophagidae, *Scatophagus argus* e *Selenotoca multifasciata* formam um clado monofilético sustentado por 3 sinapomorfias (56-V, 159-A, 201-S). No entanto, as duas espécies de *Kyphosus* (*K. cinerascens* e *K. vaigiensis*) compartilharam apenas uma homoplasia (159-I). Esse marcador não distinguiu bem as relações entre os gêneros de Pomacanthidae, exceto para o grupo formado pelas três espécies de *Pomacanthus* que se uniu a *Apolemichthy xanthurus*, por apenas uma homoplasia (Fig. 03).

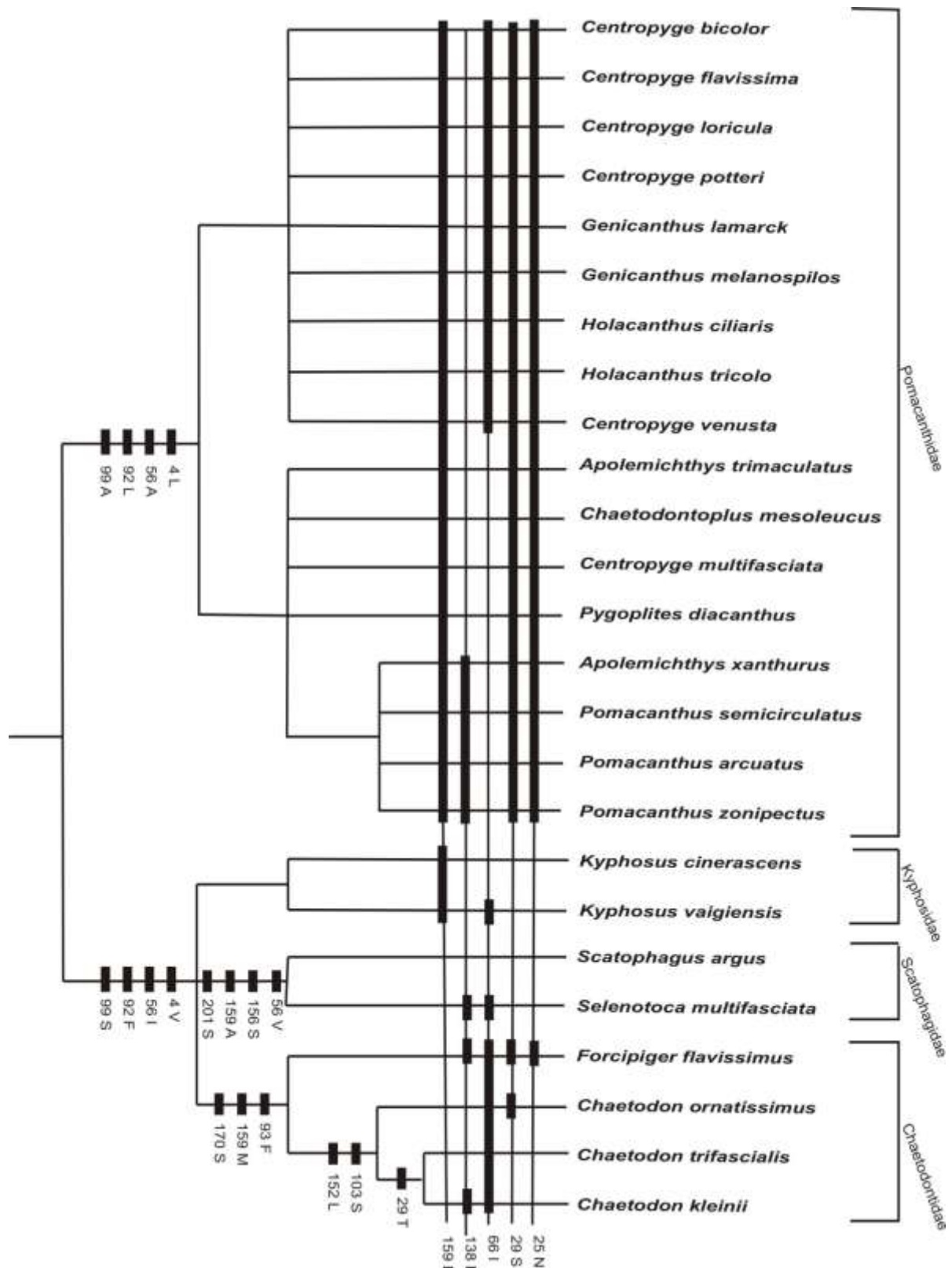


Figura 3: Proposta filogenética para família Pomacanthidae a partir de sequências de Citocromo Oxidase-I. Legenda aminoácidos: ver anexos.

Proposta filogenética usando sequências de Citocromo-b:

Na proposta filogenética aqui obtida (Fig. 04), aminoácidos diferentes, ocupando as posições 50 e 71, separaram o grupo externo (Scatophagidae) dos dois grandes clados dos grupos internos. Um destes últimos clados reúne espécies exclusivamente da família Pomacanthidae, enquanto o outro inclui, além das espécies de Chaetodontidae, três Pomacanthidae; *Pomacanthus sexstriatus*, *P. semicirculatus* e *Chaetodontoplus duboulayi* (Fig. 04).

Das 20 espécies estudadas, dez formaram clados menores (em relação aos dois grupos principais) sustentados por sinapomorfias oriundas dos aminoácidos compartilhados. Esses grupos monofiléticos foram os seguintes: as duas espécies do grupo externo, Scatophagidae (*Scatophagus argus* e *Selenotoca multifascialis*), as três espécies de *Chaetodon* (*C. kleinii*, *C. ornatissimus* e *C. trifascialis*) entre si e tendo *Amphichetodon howensis* como grupo irmão, as duas de *Pomacanthus* (*P. semicirculatus* e *P. sexstriatus*), e *Centropyge venusta* e *Paracentropyge multifasciata*. Estas duas últimas unem-se a três ramos, formando uma politomia (Fig. 04).

Apolemichthys trimaculatus e *Pygoplites diacanthus* também se unem, porém com uma homoplasia de um aminoácido (63-F) e outra de códon para o aminoácido sinônimo de leucina na posição 89 da sequência estudada. O compartilhamento de códons iguais para leucina também agruparam duas espécies das três de *Centropyge* (*C. bicolor* e *C. potteri*) entre si (77) e com as duas *Geniakanthus* (76), configurando estes gêneros irmãos (Fig. 04).

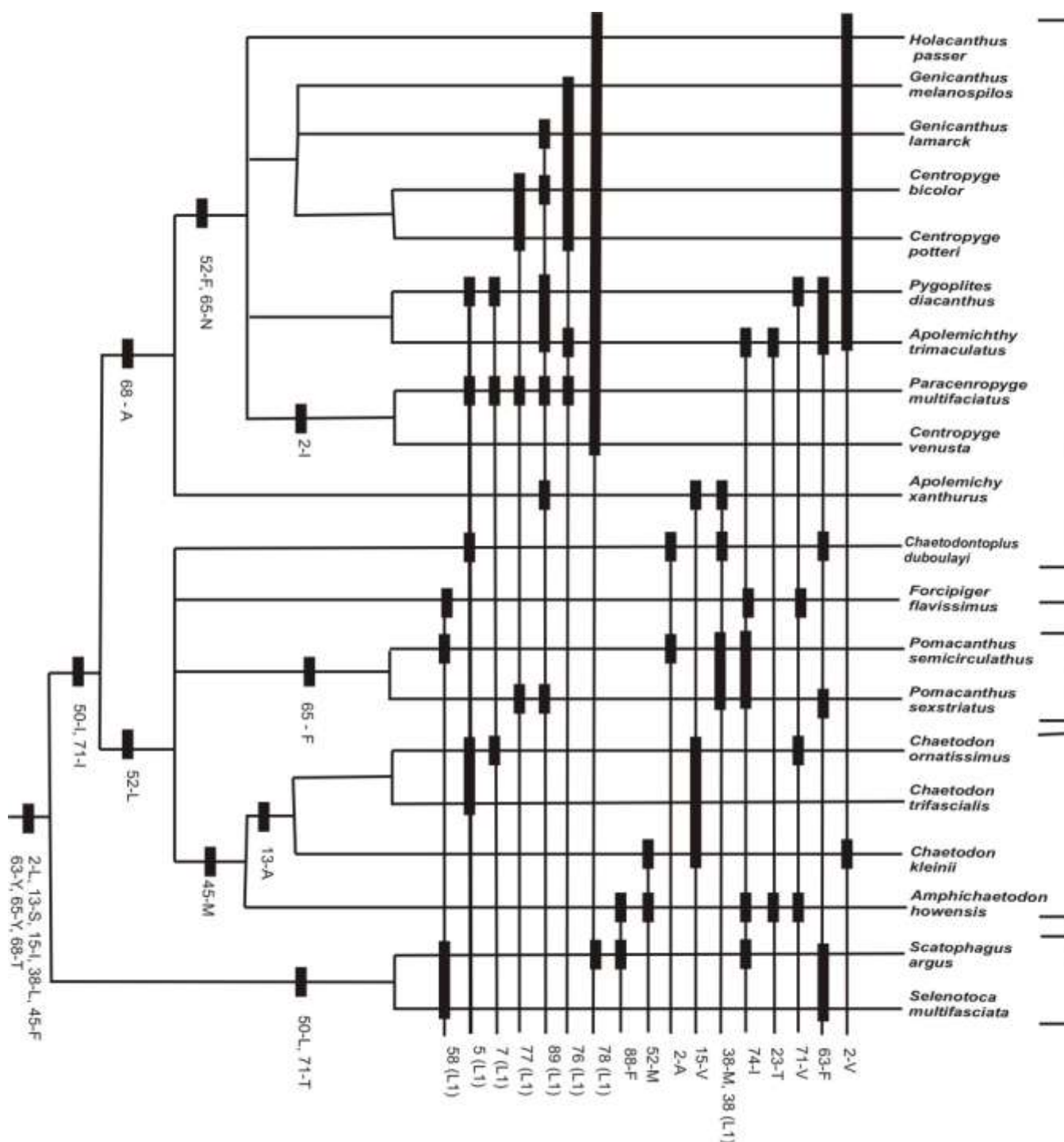


Figura 4: Proposta filogenética para família Pomacanthidae a partir de sequências de Citocromo-b. Legenda aminoácidos: ver anexos.

Comparação entre novidades evolutivas ecológicas:

A tabela 01 sumariza as características biológicas apresentadas no artigo de Bellwood et al (2004) para eventuais análises evolutivas, conforme discutem os autores.

Tabela 1: Características morfológicas e ecológicas de Pomacanthidae utilizadas por Bellwood et al. (2004). *.

Gêneros	Porte	Formato	Hábito Alimentar	Reprodução	Comportamento Social	Coloração juvenis
1. <i>Centropyge</i>	Pequeno	Oblongo *	Herbívoro	Protogínico	Harém	
2. <i>Apolemichtys</i>	Pequeno	Oblongo *	Planctívoro	Protogínico	Harém	
3. <i>Genicanthus</i>	Pequeno	Oblongo *	Onívoro		Harém	
4. <i>Centropyge</i>	Pequeno	Oblongo *	Herbívoro			
5. <i>Paracentropyge</i>	Pequeno	Oblongo *				
6. <i>Holacanthus</i> + <i>Pygoplites</i>	Grande	Oblongo	Onívoro			Barras verticais pálidas
7. <i>Chaetodontoplus</i>	Grande	Oblongo	Onívoro			Listras pálidas por trás da cabeça**
8. <i>Pomacanthus</i>	Grande	Oblongo	Onívoro		Solitários/Pares	Barras verticais pálidas
9. <i>Pomacanthus</i>	Grande	Redondo	Onívoro		Solitários/Pares	Barras verticais pálidas

DISCUSSÃO

Sabe-se que a taxa de evolução dos genes mitocondriais codificadores de proteínas é muito elevada, sendo este o caso do citocromo oxidase 1 (COI) - a região utilizada no Projeto Barcoding (Hebert et al., 2003a). Alguns autores, como Ratnasingham & Hebert (2007), acreditam que um único gene mitocondrial (COI) pode servir como padrão na taxonomia molecular, o que também é defendido por Hebert et al. (2003b). Estudos mostram que o COI serve para identificar espécies de quase todos os filos, a exceção de Cnidaria, pois esse possui uma lenta taxa de evolução molecular do mtDNA (Hebert, 2003b). Por exemplo, Ward et al. (2005) testaram o COI pra identificação de peixes, utilizando 207 espécies e conseguiram distinguir todas entre si, conforme afirmado por Hebert (2003b). Entretanto, os mesmos autores (2005) afirmaram ter encontrados vários casos de distâncias genéticas elevadas

intraespecificamente. Um desses casos ocorreu com uma espécie de gênero monotípico, podendo indicar tratar-se de mais de uma espécie que é considerada a mesma e necessitaria de uma revisão taxonômica cuidadosa. Grande et al. (2004), por sua vez, não conseguiu resolver as relações de parentesco entre alguns clados terminais quando estudara sequências de COI com espécies de moluscos. De forma semelhante, o presente trabalho teve dificuldade em relacionar espécies de Pomacanthidae ao utilizar o COI. Em um trabalho com peixes neotropicais, usando 20 espécies estudadas, apenas 13 obtiveram valores de diversidade genética do COI suficientes para utilização desse gene em suas identificações (Gomes, 2011).

Kochzius et al. (2010) estudaram algumas regiões do mtDNA e sua aplicabilidade na taxonomia e concluíram que os genes mitocondriais Cit-b e COI funcionam na identificação de espécies próximas em muitos casos. O Cit-b apresentou os maiores valores de divergência genética em todos os níveis taxonômicos testados (ordem, família, gênero e espécie), com exceção da distinção entre espécies muito próximas, ocasião na qual outras regiões foram mais eficientes. Neste último caso, o COI mostrou valores maiores do que nas demais regiões estudadas (Cit-b e 16S) pelos autores (2004). Entretanto, o percentual de espécies que apresentou divergência maior (7%) foi muito baixo, não chegando a representar 5% das espécies amostradas. Além disso, as sequências de COI tiveram muitas sobreposições dos valores de distância genética entre os diferentes níveis taxonômicos. Como a taxa de divergência desse gene é variável entre os táxons (Hebert, 200b), é possível que as espécies da família Pomacanthidae possuam baixas taxas de divergência do gene COI. Em outras palavras, é provável que as espécies desta família especializaram-se mais recentemente em relação às outras utilizadas como grupos externos.

Por muito tempo Pomacanthidae foi considerada uma família muito relacionada à Chaetodontidae (Burgess, 1974; Nelson, 1994). Para Bellwood et al. (2004), Pomacanthidae é “claramente monofilética”, assegurada pela articulação intra-mandibular única, encontrada em seus táxons, que permite fechá-la enquanto se projeta (Konow & Bellwood, 2005; 2011). A proposta filogenética elaborada para o gene COI também confirma esta monofilia. Entretanto, como a taxa de evolução do COI é muito variável entre os organismos, inclusive ao nível de filo (como Cnidaria), é possível que

a identificação do sinal filogenético deste gene, em Pomacanthidae, tenha sido perdido ou traga ruídos nas análises realizadas.

Nenhuma sinapomorfia ou homoplasia, utilizando aminoácidos das sequências do Cit-b foi encontrada para assegurar a monofilia de Pomacanthidae. Diferentemente do que foi encontrado por Bellwood et al. (2004), Chaetodontidae não se posicionou como um grupo mais basal em relação a Pomacanthidae, mas no mesmo nível como grupo irmão. Este resultado (Cit-b) também foi obtido utilizando-se o COI, no qual Chaetodontidae, Scatophagidae e Kyphosidae formaram um grupo monofilético, irmão de Pomacanthidae. Bellwood et al. (*op.cit*) consideram a presença de Scatophagidae como grupo externo de Chaetodontidae inesperada, contrastando com a taxonomia tradicional (Nelson, 1994) e hipóteses filogenéticas (Ferry-Graham et al., 2001). No entanto, Bellwood et al. (*op. cit*) não explicam como foi feita a escolha do grupo externo, conforme determina a teoria filogenética.

Todos os métodos de análise filogenética (Bayesiana, ML e MP) testados por Bellwood et al. (*op. cit*), produziram árvores de consenso com topologias similares e *bootstrap* suportando fortemente todos os agrupamentos ao nível de gênero. Contudo, admitem que tenham trabalhado com amostras pequenas (2 a 5 espécies por gênero) e recomendam uma reavaliação taxonômica dessa família.

Na hipótese construída a partir de sequências do Cit-b, as duas espécies de *Pomacanthus* não ficaram dentro do grupo exclusivo de Pomacanthidae. Porém, foram bem sustentadas por sinapomorfias e homoplasias, assim como as duas espécies de Scatophagidae (grupo externo) e as três de *Chaetodon*. Apenas uma homoplasia sustentou *Chaetodon trifascialis* como grupo irmão de *C. ornatissimus*, e não de *C. kleinii*, como encontrado por Bellwood et al. (2004).

O clado formado por *A. howensis* e as três espécies de *Chaetodon*, obtido por Bellwood et al. (2004) para dados moleculares de 12S e 16S, foi aqui reforçado, utilizando-se as sequências de Cit-b e COI. No entanto, a posição de *Forcipiger flavissima* como grupo externo destas quatro espécies, não está clara. Além desta espécie, *Genicanthus lamarck* e *G. melanospilos* tiveram posições indefinidas, sem sinapomorfias para assegurar o gênero e formando politomias. A primeira foi originalmente descrita como *Chaetodon bicolor* Bloch, 1787 e a segunda como *Holacanthus potteri* Jordan & Metz, 1921 (www.fishbase.org), indicando a proximidade

morfológica desses gêneros. Os dados de 12S e 16S também não suportaram a monofilia de *Centropyge*, que se apresentou em dois clados distintos (Bellwood *et al.* 2004), correspondendo à proposta tradicional de subgêneros (Allen *et al.* 1998).

Conforme Bellwood *et al.* (2004), a posição de *Chaetodontoplus* foi a mais instável, ficando basal em relação aos demais Pomacanthidae ou associado aos *Pomacanthus*, na análise ML, ou ainda um gênero no clado dos peixes anjos pigmeus. Na presente análise, a topografia de *Chaetodontoplus duboulayi* em relação às espécies desses dois gêneros e *Chaetodon* foi semelhante, ou seja, mais basal. Muitas autapomorfias (14, em 28 locus de aminoácidos variáveis) foram observadas na região Cit-b das espécies estudadas, indicando que este pode ser de fato um bom marcador para a taxonomia molecular de Pomacanthidae.

Os dados de alozimas (Chung & Woo, 1998), colocaram *Pygoplites* em uma posição interna ao grupo *Pomacanthus*. Originalmente, esta espécie pertencia ao gênero *Holacanthus*, que costuma ser tratado como grupo irmão de *Pygoplites diacanthus* (Fricke, 1999), tendo sido igualmente considerada parte deste gênero e descrita como *Chaetodon diacanthus* Boddaert, 1772 (www.fishbase.org). *Holacanthus passer*, no entanto, parece ser uma espécie taxonomicamente bem definida, mantendo o nome original de sua descrição. O fato de não ter sido encontradas autapomorfias nas sequências pesquisadas de COI (6 em 30 sítios) pode ainda indicar que este marcador não apresente taxas de divergência elevada em Pomacanthidae e assim, não seja adequado para taxonomia molecular das espécies desta família.

Segundo dados de alozimas (Chung & Woo, 1998), as espécies de *Paracentropyge* ocupam uma posição interna no grupo *Holacanthus*. Contrariamente a estes autores e Pyle & Randall (1993), Bellwood *et al.* (2004) asseguram a monofilia de *Paracentropyge*, que são morfológica e ecologicamente distintos de *Holacanthus* e *Centropyge*, embora a espécie *P. multifasciatus*, por exemplo, tenha sido considerada desses dois gêneros (www.fishbase.org). Na análise com Cit-b, esta espécie formou um clado com *Centropyge*, suportado por uma sinapomorfia (2-Isoleucina).

Os principais resultados de Bellwood *et al.* (2004) foram resumidos em um cladograma (fig. 1) que trás uma proposta evolutiva considerando as novidades ecológicas de Pomacanthidae, tendo Chaetodontidae como grupo externo. Os autores separam os gêneros em dois grupos principais: clado de 1 a 5, que inclui os peixes anjos

pigmeus, e clado 6 a 9, grandes peixes anjos. A síntese analítica dos dados biológicos utilizados pelos autores (2004) não foram suficientes para uma comparação ao nível de estado de caracteres homólogos. Além disso, alguns eram definidos com subjetividade, como o formato do corpo, e para outros não havia informação para todas as espécies, como ocorreu com os dados de reprodução.

Atualmente há uma nova política no meio científico para que os dados brutos das pesquisas sejam depositados em bancos e disponibilizados para consulta. No trabalho de Bellwood et al. (2004), por exemplo, teria sido possível identificar as sinapomorfias que sustentariam os gêneros e famílias analisados. Ficaria então evidente quais as características que suportariam ou não os agrupamentos monofiéticos, se a matriz de dados tivesse acessível no artigo. Essa constatação reforça a opinião de Randall & Gill (2010) ao ressaltar a importância da clareza dos dados utilizados em trabalhos de filogenética para que seja possível aos leitores reanalisar os resultados apresentados.

O fornecimento de árvores de agrupamento de táxons, com números que suportam as análises (bayesiana ou de *bootstrap*), é um padrão comum nos artigos ditos filogenéticos. Contudo, essas hipóteses evolutivas não poderão ser testadas sem o conhecimento da base de dados, que é o princípio do método científico, ou seja, a obtenção de conhecimento através de um método e a possibilidade de sua repetição para reforçar ou refutar as hipóteses levantadas (Bunge, 1974; 1980). Concorda-se com Randall & Gill (2010) e Christoffersen et al. (2004) ao afirmarem que os caracteres moleculares devem ser tratados da mesma maneira que os morfológicos, com avaliações cuidadosas das supostas homologias.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

As relações evolutivas das espécies de Pomacanthidae ainda não estão bem compreendidas, havendo indícios inclusive de parafilia da família por falta de sinapomorfia. A análise aqui apresentada sustenta a hipótese de que a família deve ser parafilética. É necessário que os estudos sistemáticos, não apenas desta família, sejam realizados observando o rigor dos conceitos filogenéticos, a qualidade informativa dos caracteres utilizados e os dados analisados disponibilizados pelos autores. Somente

dessa maneira os estados homólogos utilizados para que os táxons poderão ser identificados como sinapomórficos e assegurar a monofilia dos grupos taxonômicos.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem a CAPES, CNPq, PELD e projeto “Rede de genética, ecologia, e biotecnologia em ciências do mar” pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALLEN, G.R.; STEENE, R.; ALLEN, M. 1998. **A Guide to Angelfishes and Butterflyfishes**. Odyssey Publishing, Perth.

AMORIM, D. S. 1994. **Elementos Básicos de Sistemática Filogenética**. Sociedade Brasileira de Entomologia, São Paulo.

AVISE, J. C. 2004. **Molecular Markers, Natural History and Evolution**. 2a ed. Sinauer Associates, Sunderland.

BAUCHOT, R.; RIDET, J. M.; BAUCHOT, M.L. 1988. **Biology of the butterflyfishes**. Academic Publishers, Netherlands.

BEAUMONT, A. R.; HOARE, K. 2003. **Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture**. Blackwell Science Ltd., Oxford.

BELLWOOD, D. R.; VAN HERWERDEN, L.; KONOW, N. 2004. Evolution and biogeography of marine angelfishes (Pisces: Pomacanthidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** .33: 140-155.

BUNGE, M. 1974. **La ciencia, su método y su filosofía**. Siglo Veite, Buenos Aires.

BUNGE, M. 1980. **Epistemologia: curso de atualização**. T. A. Queiroz/Edit. Usp, São Paulo.

BURGESS, W. E. 1974. Evidence for elevation to family status of the angelfishes (Pomacanthidae), previously considered to be a subfamily of the butterflyfishes (Chaetodontidae). **Pacific Science**. 28:57 -71.

CHUNG, K. C.; WOO, N. Y. S. 1998. Phylogenetic relationships of the Pomacanthidae (Pisces: Teleostei) inferred from allozyme variation. **Journal of Zoology**. 246: 215–231.

CHRISTOFFERSEN, M. L.; ARAÚJO, M. E.; MOREIRA, M. A. M. 2004. A molecular method for a qualitative analysis of potentially coding sequences of DNA. **Brazilian Journal of Biology**. 64(3A): 383-398.

DELBELIUS, H.; TANAKA, H.; KUITER, R.H. 2003. **Angelfishes, a Comprehensive Guide to Pomacanthidae**. TMC Publishing, Chorley

FERRY-GRAHAM, L.A.; WAINWRIGHT, P.C.; HULSEY, C.D.; BELLWOOD, D.R. 2001. Evolution and mechanics of long jaws in butterfly fishes (Family Chaetodontidae). **Journal of Morphology** 248: 120–143.

FRICKE, R. 1999. **Fishes of the Mascarene Islands (Réunion, Mauritius, Rodriguez): an annotated checklist, with descriptions of new species**. Koerltz Books, 31:759.

GRANDE, C.; TEMPLADO, J.; CERVERA, J. L., ZARDOYA, R. 2004. Phylogenetic relationships among Opisthobranchia (Mollusca: Gastropoda) based on mitochondrial cox 1, trnV, and rrnL genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 33: 378–388

GOMES, V. N. 2011. **Avaliação da sequência nucleotídica do gene mitocondrial citocromo oxidase I na identificação de espécies de peixes neotropicais**. Dissertação. Universidade Estadual de Maringá.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L., DEWAARD, J. R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences**, 270: 313–321.

HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; DEWAARD, J. R. 2003b. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. **Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences**, 270: 596–599.

KOCHZIUS, M; SEIDEL, C.; ANTONIOU, A.; BOTLA, S. K.; CAMPO, D. 2010. Identifying Fishes through DNA Barcodes and Microarrays. **Plos One** 5-9.

KONOW, N; BELLWOOD, D.R. 2005. Prey-capture in *Pomacanthus semicirculatus* (Teleostei, Pomacanthida): functional implications of intramandibular joints in marine angelfishes. **Journal of Experimental Biology**. 208(8):1421-1433.

KONOW, N; BELLWOOD, D. R. 2011. Evolution of High Trophic Diversity Based on Limited Functional Disparity in the Feeding Apparatus of Marine Angelfishes (f. Pomacanthidae). **Plos One**. 6(9): e24113.

MEYER, A. 1993. **Evolution of mitochondrial DNA in fishes**. Biochemistry and molecular biology of fishes. Vol.2. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

NELSON, J. S., 1994 - **Fishes of the world**. John Willey and Sons Inc., New York.

PYLE, R. L.; RANDALL, J. E. 1993. A new species of *Centropyge* from the Cook Islands, with a redescription of *Centropyge boylei*. *Rev. Fr. Aquariol.* 19: 115–124.

SACCONE, C. 1994. The evolution of mitochondrial DNA. **Current Opinion in Genetic and Development**. 4:875-881.

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): 1847–185.

ANEXO I- Sequências de aminoácidos da região COI das espécies analisadas, traduzidas no programa MEGA5, a partir de sequências de nucleotídeos obtidas no Genbank (retirado diretamente do programa MEGA5). Cores diferentes para diferentes aminoácidos (com algumas repetições de cores). * indicam sítios não-polimórficos. A – Alanina; D - Ácido Aspártico; E - Ácido Glutâmico; F – Fenilalanina; G – Glicina; H – Histidina; I – Isoleucina; k – Lisina; L – Leucina; M – Metionina; N – asparagina; P – Prolina; Q – Glutamina; R – Arginina; S – Serina; T – Treonina; v – Valina; W – Triptofano; Y - Tirosina

[illegible]

Species/Abbrv																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																		
---------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

ANEXO II- Sequências de aminoácidos da região Cit-b das espécies analisadas, traduzidas no programa MEGA5, a partir de sequências de nucleotídeos obtidas no Genbank (retirado diretamente do programa MEGA5). Cores diferentes para diferentes aminoácidos (com algumas repetições de cores). * indicam sítios não-polimórficos. A – Alanina; D - Ácido Aspártico; E - Ácido Glutâmico; F – Fenilalanina; G – Glicina; H – Histidina; I – Isoleucina; k – Lisina; L – Leucina; M – Metionina; N – asparagina; P – Prolina; Q – Glutamina; R – Arginina; S – Serina; T – Treonina; v – Valina; W – Triptofano; Y - Tirosina

[illegible]

PADRÃO DE COLORAÇÃO COMO CARÁTER TAXÔNOMICO DE PEIXES
RECIFAIS: ESTUDO DE CASO EM *Sparisoma* aff. *frondosum*

COLLOR PATTERN AS A TAXONOMIC CHARACTER IN REEF FISHES: A
Sparisoma aff. *frondosum* CASE STUDY

Camila P. B. de Gusmão¹, Ana Patrícia S. de Lima², Maria Raquel M. Coimbra³, Maria Elisabeth de Araújo⁴.

^{1,4}Laboratório de Nectôn e Aquicultura, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Av. Arquitetura s/n, Cidade Universitária, Recife, PE, 50.740-550. E-mail: camilapgusmao@yahoo.com.br; betharau08@gmail.com.

^{2,3} Laboratório e Genética Aplicada. Departamento de Engenharia de Pesca. Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, 52171-030 E-mail: patilima@gmail.com, raquel@depaq.ufrpe.br.

Artigo submetido à Revista Gaia Scientia em 28 de janeiro de 2013

RESUMO

Pela praticidade na observação, os padrões de coloração eram e muitas vezes ainda são considerados um indicativo de variabilidade genética. O desenvolvimento dos marcadores moleculares permite que os valores de frequência alélica possam ser determinados diretamente. Esta pesquisa objetiva identificar molecularmente um exemplar de *Sparisoma*, coletado no estado de Pernambuco, que apresentou uma coloração diferente dos demais registrados na região. A hipótese visa testar quão diagnóstico é o padrão de coloração para diferenciar espécies dentro de um mesmo gênero. Comparações de padrões de coloração e análises moleculares (sequenciamento de trecho dos genes 12S e 16S de rRNA de DNA mitocondrial) foram os meios utilizados para identificação do exemplar aqui tratado como *Sparisoma* aff. *frondosum* que, provavelmente, pertence à espécie *S. axillare*. Necessita-se ainda conhecer os fatores que conduzem as variações dos padrões de coloração para que se comparem caracteres homólogos e não análogos ou plesiomórficos.

Palavras-chave: padrões de coloração, Labridae, caracter taxonômico

ABSTRACT

For their observation, collar patterns were and often still are considered an indicator of genetic variability. The development of molecular markers now allows the allelic frequency values to be determined directly. This research aims to identify molecularly a copy of *Sparisoma*, collected in the state of Pernambuco, which presented a different color from the others recorded in this region. The hypothesis aims to test how diagnostic is the color pattern to distinguish species within the same genus. Comparisons of collar patterns and molecular analyzes (sequencing of partial genes 12S and 16S rRNA mitochondrial DNA) were the means to identify the specimen. The sample analyzed here, treated as *Sparisoma* aff. *frondosum*, probably belongs to the species *S. axillare*. It is primordial to be aware of the factors that lead variations in collar patterns, in order to compare homologous characters rather than analogous or plesiomorphic.

Key-words: Collor pattern, Labridae, taxonomic character

INTRODUÇÃO

Padrões de coloração podem ser descritos como um mosaico de pontos ou manchas coloridas de vários tamanhos, cores e formas, enquanto seus polimorfismos referem-se à ocorrência de padrões de cores distintos dentro de uma população (Poulton, 1890; Hoffman & Blouin, 2000). Esses padrões estão entre os caracteres mais fáceis de observar nos organismos, sendo bastante utilizados na taxonomia, sistemática e filogenética. Muitos estudos de biologia evolutiva tentam elucidar mecanismos de ação da seleção natural e empregam esses padrões para essas inferências, pois é possível saber quais são as pressões seletivas que estão determinando o polimorfismo da coloração de uma espécie (Endler, 1980; Wiley, 1981; Quicke, 1993; Winston, 1999).

Os polimorfismos desses padrões podem se manter conservados ou promovidos por pressões ambientais de forma temporalmente variada. Por exemplo, a coloração pode estar associada à presença visível de predadores em lebistes (Poeciliidae) (Endler, 1978). Populações naturais desses peixes apresentam coloridos tão polimórficos que não é possível encontrar indivíduos com padrões semelhantes. Outras espécies, como *Labrissomus nuchipinnis*, possuem dimorfismo sexual tão evidente (Gibran et al, 2004), de modo que macho e fêmea parecem espécies distintas (Springer & Gomon, 1975).

O resultado dessa complexidade acaba provocando a descrição equivocada de espécies novas (Wiley, 1981) e espécies frequentemente divididas em sub-espécies (Gasparini et al., 1999). Pela praticidade na observação, os padrões de coloração eram e muitas vezes ainda são considerados um indicativo de variabilidade genética (Straughan & Main, 1966). O desenvolvimento dos marcadores moleculares permite que os valores de frequência alélica possam ser determinados diretamente (Avise, 2004; Hedrick, 2006), substituindo o uso dos padrões de coloração para realizar essas estimativas.

Muitos estudos são realizados com base em coleções de museus científicos, ou seja, material muitas vezes coletado anos atrás. O modo de coleta e armazenamento de espécimes para estudo também influenciam na manutenção do padrão de coloração que o exemplar possuía *in vivo* (Auricchio & Salomão, 2002). É possível encontrar trabalhos de taxonomia que descrevem a coloração dos exemplares de uma espécie também quando armazenado (Ramos, 2010).

Os peixes recifais apresentam coloridos bastante diversificados (Sale, 1991) e, por isso, a identificação de suas espécies baseiam-se principalmente em caracteres relativos à coloração (e.g. Moura et al., 2001,). O gênero *Sparisoma* (sub-família Scarinae, recentemente incluída na família Labridae) é um dos grupos de peixes recifais que apresenta uma grande variedade de padrões de coloração. As espécies são diferenciadas por caracteres merísticos sobrepostos e principalmente pela coloração, inclusive carecendo de chave de identificação (Moura et al., 2001).

Esta pesquisa objetiva identificar molecularmente um exemplar de *Sparisoma* que apresentou uma coloração com padrão mais similar a *S. frondosum*, porém podendo ser *S. axillare* no padrão noturno. A hipótese visa analisar quão diagnóstico é o padrão de coloração para diferenciar espécies dentro de um mesmo gênero.

METODOLOGIA

Coleta e armazenamento do material para análise genética:

O exemplar de *Sparisoma* aff. *frondosum*, alvo desta pesquisa, foi capturado em Barra de Sirinhaém, município localizado há 80 km de Recife (PE). O petrecho de pesca utilizado foi o covo, lançado a uma profundidade de aproximadamente 35 metros em mar aberto (S 08° 39' 434'', W 034° 54' 694''). A armadilha foi içada durante o dia e o animal encontrava-se vivo ao chegar no convés. Uma amostra de tecido muscular foi coletada, conservada em etanol 95% e mantida até o processo de extração de DNA resfriada, procedimento padrão para a preservação do DNA genômico (Sambrook et al., 1989).

Análise do padrão de colorido:

Registro fotográfico foi realizado no momento da captura para análise do padrão de coloração apresentado pelo indivíduo (figura 01). Para as demais espécies, com registros para os recifes pernambucanos, as descrições de colorido foram feitas com base em observações de mergulhos e na literatura para indivíduos em fase adulta, padrão intermediário, dado que o exemplar foco dessa pesquisa mede 32,2 cm. Por ser

uma espécie hermafrodita protogínica (Véras, 2008), acredita-se que o indivíduo seja macho, entretanto, não foi possível realizar uma sexagem precisa. O colorido das demais espécies foi descrito com base em fotografias e experiência de campo com indivíduos vivos, complementado com informações de publicações científicas.

Extração, amplificação e sequenciamento:

Os dados moleculares foram obtidos a partir do sequenciamento de fragmentos dos genes ribossomais 12S e 16S. O DNA genômico foi extraído seguindo o protocolo padrão de Fenol/Clorofórmio/Álcool Isoamílico (FCI), com algumas modificações (Sambrook et al., 1989).

Para a extração do DNA genômico foram usados 700 µL de tampão de extração (Tris-HCl 100 mM pH 7.5, 1% SDS) e 30 µL de Proteinase K (10 µg/ml). A mistura foi incubada a 50°C por 2 horas e depois a 37°C “overnight”. Em seguida, o DNA foi purificado sucessivamente com FCI (25:24:1), clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) e centrifugado a cada etapa a 10.000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um microtubo e o DNA total foi precipitado com 1 ml de etanol absoluto gelado, seguido de centrifugação a 10.000 g por 10 minutos. Para a remoção final do excesso de sal e etanol o precipitado foi lavado com 500 µL de etanol a 70% e brevemente centrifugado (10.000 g por 5 min). O DNA foi re-suspenso em TE (Tris-HCl 10 mM pH 8,0, EDTA 1 mM pH 8,0) e armazenado em freezer a -20°C.

As reações de PCR foram conduzidas utilizando-se as seguintes condições: a desnaturação a 94°C por 2 min; 35 ciclos sucessivos de desnaturação a 94°C por 30 s, anelamento a 50°C por 1 min, extensão a 72°C por 1 min e extensão final a 72°C por 10 min. Os amplicons foram separados em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio, o qual permite verificar a qualidade das amplificações obtidas; banda intensa, bem definida e com tamanho correspondente ao esperado. Em seguida foram purificados os fragmentos que apresentaram os tamanhos esperados, utilizando o kit de purificação Qiaquick PCR Purification (Qiagen), seguindo o protocolo do fabricante.

Após purificação os fragmentos foram sequenciados utilizando primers que constam na tabela abaixo (Tab. 1) no sequenciador Genetic Analyser 3.500 Applied

Biosystems da Plataforma de Genômica e Expressão Gênica do Laboratório Central da Universidade Federal de Pernambuco.

Tabela 1: Primers utilizados nas reações de PCR para amplificação de genes 12S e 16S de um exemplar de *Sparisoma*.

Regiões do rRNA	Primers (5'-3')	Tamanho esperado	Referências Bibliográficas
12S53F	CAC AAA GGC TTG GTC CTG ACT TT	1000 pb	Westneat & Alfaro, 2005
12S613R	TCG GTT CTA GAA CAG GCT CCT CTA G		
12S489F	CTG GGA TTA GAT ACC CCA CTA TGC		
12S991R	GGT ACA CTT ACC ATG TTA CGA CT		
16SAR	CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT	585 pb	Westneat & Alfaro, 2005
16SBR	CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T		

Bioinformática:

Os cromatogramas gerados foram analisados nos *softwares* do pacote Staden (Staden, 1996). As sequências geradas foram editadas e alinhadas no programa MEGA5 (Tamura et al., 2011), gerando sequências consenso, o material primordial para as análises. Esse produto foi comparado às demais sequências disponíveis na base de dados GenBank para espécies cogenéricas através da ferramenta Blast disponível no site do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). As sequências das espécies mais similares aquelas do exemplar de estudo foram alinhadas e analisadas através do *software* MEGA5, utilizando-se a ferramenta Muscle (Edgar, 2004). No mesmo programa foram calculadas as distâncias genéticas entre as sequências aqui obtidas e as espécies que apresentaram a partir de 96% de similaridade no Blast. Matrizes de distância gênica foram geradas (tabelas 2 e 3) baseadas no método de distancia-p (número de sítios polimórficos). Para a construção dessa matriz, foram utilizados apenas o trecho da sequência coincidente em todos os espécimes selecionados.

As sequências dos genes 12S e 16S de mtDNA obtidas a partir do exemplar de *Sparisoma* aff. *frondosum* eram de tamanhos diferentes das demais sequências de

Sparisoma disponíveis no Genbank. Portanto, foram realizados Blast das sequências por completo e apenas o trecho correspondente ao da menor sequência entre as selecionadas a partir do banco de dados.

RESULTADOS

Para Pernambuco estão registradas as seguintes espécies do gênero *Sparisoma*: *S. axillare*, *S. amplum*, *S. frondosum* e *S. radians*. As descrições do colorido de cada espécie e a análise das variações dos padrões estão abaixo apresentadas.

Sparisoma aff. *frondosum* (figura 1):

Corpo com duas colorações predominantes em tons variados de marrom na porção superior à linha mediana e em tons de vermelho e branco na porção inferior. A coloração das nadadeiras acompanham os tons da região do corpo. Na nadadeira caudal destaca-se a cor vermelha compacta na metade posterior, com exceção dos raios que delimitam a nadadeira, que são da cor do corpo em tom mais escuro. Porção inferior da cabeça trás duas manchas brancas irregulares e verticais, ambas partindo da região orbital.



Figura 1: Exemplar de *Sparisoma* aff. *frondosum* no momento da captura. Foto: Cláudio Henrique Macedo.

Sparisoma frondosum (Agassiz, 1831) (figura 2):

Duas colorações predominantes no corpo, com de tons terrosos na porção superior a linha mediana e em tons de vermelho e branco na porção inferior. A borda

das escamas da parte ventral é branca. Nadadeira caudal com pedúnculo possuindo uma barra branca e raios com manchas irregulares vermelhas e brancas.



Figura 2: *Sparisoma frondosum*. Foto: Camila Gusmão

Sparisoma axillare (Steindachner, 1878) (figura 3):

O padrão noturno apresenta corpo predominando tons de marrons, com exceção da região ventral, onde predomina os tons de vermelho. As bordas das escamas acinzentadas. A coloração das nadadeiras acompanha os tons da região do corpo. A nadadeira anal possui algumas manchas brancas. A nadadeira caudal é predominantemente vermelha, com algumas manchas mais claras próximas ao pedúnculo. A coloração diurna é caracterizada por escamas amarelas dispersas ao longo do corpo de tons de cinza e rosa. Escamas bem delimitadas, com bordas escurecidas e olhos vermelhos.



Figura 3: *Sparisoma axillare* com padrão noturno (acima) e diurno (abaixo). Fotos: Marcus Vinícius Bezerra

Sparisoma amplum (Ranzani, 1842) (figura 4):

Corpo acinzentado, com algumas colunas de escamas mais esbranquiçadas. Borda das escamas mais escuras. Ventre avermelhado e cabeça esverdeada. Base da nadadeira caudal com mancha vertical branca.



Figura 4: *Sparisoma amplum*. Foto: S. R. Floeter, retirada de www.fishbase.org

Sparisoma radians:

Corpo em tons de marrom e verde com ventre verde claro com pequenas manchas escuras na porção anterior. Linhas de cores laranja e azul próximas aos olhos. Pedúnculo da nadadeira peitoral com mancha preta. Borda dos raios das nadadeiras anal e caudal escurecidas.

Gene 12S rRNA:

Foi obtida uma sequência de 916 pb, submetida ao Genbank sob número de acesso KC526954. A comparação da sequência completa obtida (exemplar *Sparisoma* sp) com as demais depositadas no GenBank, através da ferramenta Blast, encontrou maior similaridade (97%) com *Sparisoma chrysopterum*. O fragmento reduzido constou de 384pb, pois era o tamanho da menor sequência selecionada do Genbank (*S. frondosum*). Neste caso, a maior similaridade encontrada foi entre *S. rubripinne* e a espécie em estudo (99%). Nesta análise, *S. chrysopterum*, *S. viride* e *S. radians* apresentaram 97% de similaridade, enquanto que *S. frondosum* ficou com 96% de bases coincidentes.

A matriz de similaridade mostrou que a menor distância gênica foi obtida com *S. rubripinne* (0,5%) (Tab. 2)

Tabela 2: Matriz de distância genética pareada do gene 12S rRNA de mtDNA entre as espécies de *Sparisoma* que apresentaram maior similaridade com *Sparisoma* aff. *frondosum*

Espécies	0	1	2	3	4
1. <i>Sparisoma rubripinne</i>	0,005				
2. <i>Sparisoma chrysopterum</i>	0,029	0,029			
3. <i>Sparisoma radians</i>	0,029	0,029	0,021		
4. <i>Sparisoma viride</i>	0,031	0,031	0,023	0,023	
5. <i>Sparisoma frondosum</i>	0,034	0,034	0,021	0,021	0,034

Gene 16S rRNA:

O sequenciamento do gene 16S resultou em um fragmento de 592 pares de base, submetido ao Genbank (número de acesso KC526953).

Ao se comparar as sequências desse peixe (*Sparisoma* aff. *frondosum*) no Blast, a maior similaridade encontrada foi com a espécie *Sparisoma rubripinne* (98%), seguida de *S. chrysopterum* e *S. viride* (97%) e *S. frondosum* (96%). Novamente foi comparado apenas o trecho de tamanho menor (498pb), cujo resultado mostrou ser *S. rubripinne* o mais similar à espécie do estudo (98%), ficando as demais espécies abaixo dos 96%.

A matriz de distancia gênica mostrou novamente maior proximidade entre *S. rubripinne* e a amostra (2% de diferença) (Tab. 3).

Tabela 3: Matriz de distância genética pareada do gene 16S rRNA de mtDNA entre as espécies de *Sparisoma* que apresentaram maior similaridade com *Sparisoma* aff. *frondosum*.

Espécies	0	1	2	3	4
1. <i>Sparisoma rubripinne</i>	0,020				
2. <i>Sparisoma chrysopterum</i>	0,030	0,036			
3. <i>Sparisoma radians</i>	0,050	0,058	0,042		
4. <i>Sparisoma viride</i>	0,034	0,036	0,028	0,048	
5. <i>Sparisoma frondosum</i>	0,030	0,036	0,012	0,038	0,028

DISCUSSÃO

O gênero *Sparisoma* ainda tem sua taxonomia imprecisa, estando suas espécies descritas com base em caracteres merísticos sobrepostos (Menezes e Figueiredo, 1985; Carvalho-Filho, 1992) e padrões de coloração (Moura et al., 2001). Para se ter uma idéia do grau de dificuldade em diagnosticar essas espécies, sequer existe chave de identificação para o grupo, o que pode tornar sua sistemática equivocada. Diversas espécies, que ocorrem no Caribe e no Brasil, são frequentemente separadas como espécies distintas e irmãs, assim como acontece em diversas outras famílias de peixes (e.g. Labridae) (Rocha & Rosa, 2001).

Nas comparações realizadas com as sequências de 12S e 16S, envolvendo o exemplar do presente estudo com as outras espécies de *Sparisoma*, os resultados obtidos reportam a duas questões: uma taxonômica e outra metodológica (algoritmo da ferramenta Blast). Era de se esperar que *S. frondosum*, espécie simpátrica a *Sparisoma aff. frondosum*, tivessem uma maior similaridade genética entre si. Todavia, as maiores semelhanças genéticas encontradas entre o exemplar do presente estudo foi com as espécies caribenhas *S. chrysopterum* e *S. rubripinne*, para a sequência completa e reduzida do gene 12S, respectivamente.

Sparisoma frondosum foi considerada como sinonímia de *S. chrysopterum* (e.g. Menezes & Figueiredo, 1985; Carvalho-Filho, 1992; Rocha et al., 1998). Entretanto, em uma recente revisão *S. frondosum* voltou a ser validada como espécie, com ocorrência exclusiva para a província brasileira, irmã de *S. chrysopterum*, que ocorre no Caribe (Moura et al., 2001). Contudo, nenhum estudo de taxonomia molecular foi encontrado para confirmar se estas duas espécies são, de fato, distintas.

Com *S. rubripinne* acontece algo semelhante, pois sua distribuição geográfica incluía as províncias caribenha, brasileira e Atlântico Leste. Porém recentemente foi considerada espécie-irmã de *S. axillare*, ficando esta restrita ao Brasil (Moura et al., 2001), e de *S. choati*, na costa oeste da África, reduzindo a distribuição de *S. rubripinne* ao Caribe (Rocha et al., 2012). A ausência de sequências de genes de *S. axillare* no banco de dados impossibilitou a sua comparação com *Sparisoma aff. frondosum*, que se assemelhou mais a *S. rubripinne* em três das quatro análises provenientes da ferramenta Blast. Portanto, não se pode descartar a possibilidade de que o espécime em estudo pertença à espécie *Sparisoma axillare*.

Além da análise genética, os padrões de colorido, comumente usados como caracteres diagnósticos para espécies, foram comparados. No presente estudo, por exemplo, é possível que a coloração diferenciada do exemplar de *Sparisoma* deva-se ao processo de captura (e.g tempo em que o animal fica preso na armadilha, rápida velocidade em que o petrecho é içado). O indivíduo em estudo poderia ser confundido com *S. frondosum*, uma vez que possuía corpo com tons de marrons na parte acima da linha mediana e vermelho e branco na porção ventral. Entretanto, o exemplar não apresentou a mancha branca no pedúnculo da nadadeira caudal, comum em *S. frondosum* (obs. pess.), nem as manchas verticais esbranquiçadas na cabeça, presente no

Sparisoma aff. *frondosum*. O espécime em questão também poderia ser confundido com *S. axillare*, no seu padrão noturno, porque ambos possuem o ventre avermelhado e corpo em tons de marrom. No entanto, a forma nitidamente lunada e vermelha da nadadeira caudal, verificada em *Sparisoma* aff. *frondosum*, corresponde a uma banda vermelha vertical e bem larga em *S. axillare*. As manchas brancas do rosto do exemplar em investigação não estão presentes na espécie aqui comparada.

Questões sistemáticas que descrevem espécies principalmente com base no colorido ocorrem em vários gêneros de peixes recifais. Recentemente, Bernal & Rocha (2011) concluíram que *Acanthurus bahianus* (Acanthuridae), registrada para o Caribe e Brasil, encontra-se em isolamento reprodutivo, e atribuindo o nome de *A. tractus* à espécie caribenha. Estas conclusões foram tiradas a partir de dados moleculares e morfológicos, principalmente a distinção de colorido da nadadeira caudal. Castellano-Gell et al. (2012), entretanto, acreditam que o fluxo gênico entre as duas províncias não foi interrompido e que, provavelmente, essas ainda pertencem a mesma espécie. Somado a isto, os referidos autores citados anteriormente (2012) não verificaram diferença entre os padrões de coloração.

Concorda-se com Castellano-Gell et al. (2012) ao afirmarem que é necessária uma análise mais acurada para se descobrir a fundamentação genética deste caracter: padrão de colorido, pois os resultados da presente pesquisa mostram que não houve correlação entre os genes estudados e os padrões de coloração das espécies.

A questão é também teórica, além de prática (identificação das espécies). Existem diversas definições para caracter, separando os autores basicamente em duas vertentes: aqueles que acreditam que um caracter é uma característica observável nos organismos (Farris et al., 1970; Wiley, 1981) e aqueles que acreditam ser um conceito teórico (Gertsch & Platnick, 1979; Amorim, 1994; Rieppel e Kearney, 2002;). Todos, entretanto, consideram a homologia como condição determinante para se comparar um caracter. Sabe-se então que para se entender um processo de cladogênese, que separa as espécies, é necessário conhecer os mecanismos que mantêm e geram as diferenças fenotípicas e genotípicas. Apesar de processos envolvendo a deriva gênica, seleção natural e fluxo gênico terem sido usados para explicar a variação da coloração, seu significado evolutivo não está claro na maioria dos casos (Symula, 2009). Por outro

lado, muitos autores acreditam que os fatores ecológicos são responsáveis por moldar os polimorfismos de padrões de coloração (Forsman et al., 2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

O exemplar analisado, aqui tratado como *Sparisoma* aff. *frondosum*, provavelmente pertence à espécie *S. axillare*. A grande similaridade genética (99%) encontrada entre o espécime coletado no Brasil e *S. rubripinne* leva a acreditar que as populações do Caribe e do Brasil podem ainda não ter atingido o isolamento reprodutivo.

As variações de colorido são caracteres válidos na sistemática taxonômica. Entretanto, em casos de espécies muito próximas e populações em processo de especiação recente, como deve ser o que está ocorrendo com espécies de *Sparisoma*, a utilização de padrões de coloração para diagnosticar isolamento reprodutivo pode resultar em interpretações equivocadas. É preciso conhecer os fatores que conduzem suas variações para que se compare caracteres homólogos e não análogos ou plesiomórficos.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem a todos do Laboratório de Genética Aplicada (LAGA-UFRPE), a CAPES e ao projeto “Rede de genética, ecologia, e biotecnologia em ciências do mar” pelo apoio financeiro e à Plataforma de Sequenciamento- LABCEN/CCB da UFPE pelo uso de suas instalações. Ao CNPq pelas bolsas e PELD –sítio 27.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, D. S. 1994. **Elementos Básicos de Sistemática Filogenética**. Sociedade Brasileira de Entomologia, São Paulo.
- AURICCHIO, P.; SALOMÃO, M. G. 2002. **Técnicas de coleta e preparação de vertebrados**. São Paulo:PARM.
- AVISE, J. C. 2004. **Molecular markers, natural history and evolution**. 2. ed. Library of Congress Catalog-in-Publication Data.
- BERNAL, M.A.; ROCHA, L.A. 2010. *Acanthurus tractus* Poey, 1860, a valid western Atlantic species of surgeonfish (Teleostei, Acanthuridae), distinct from *Acanthurus bahianus* Castelnau, 1855. **Zootaxa** 2905: 63–68.
- CARVALHO-FILHO, A. 1992. **Peixes: costa brasileira**. Ed. Marca D'água. 304 p.
- CASTELLANOS-GELL, J.; ROBAINAS-BARCIA, A; CASANE, D; CHEVALIER-MONTEAGUDO, P. PINA-AMARGÓS, F.; GARCÍA, E. 2012. The surgeonfish, *Acanthurus bahianus*, has crossed the Amazon–Orinoco outflow barrier. **Marine Biology**, 159:1561–1565.
- EDGAR, R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput **Nucleic Acids Research** 32(5):1792-1797.
- ENDLER, J. A. Predator's view of animal color patterns. 1978. **Evolutionary Biology**, 11:319-364.
- ENDLER, J. A. 1980. Natural Selection on Color Patterns in *Poecilia reticulata*. **Evolution**, 34(1):76-91.

FARRIS, J. S.; KLUGE, A. G.; ECKHART, M. J. 1970. A numerical approach to phylogenetic systematic. **Systematic Zoology**, 19:172-189.

FORSMAN, A.; AHNESJÖ, J.; CAEAR, S.; KARLSSON, M. K. 2008. A model of ecological and evolutionary consequences of color polymorphism. **Ecology**, 88:34-40.

GASPARINI, J. L.; MOURA, R.L.; SAZIMA, I. 1999. *Stegastes trinidadensis* sp.n. (Pisces: Pomacentridae), a new damselfish from Trindade Island, off Brazil. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, 10:3-11.

GERTSCH, W. J.; PLATNICK, N.I. 1979: A revision of the spider family Mecicobothriidae (Araneae, Mygalomorphae). **American Museum Novitates**.

GIBRAN, F. Z.; SANTOS, F. B.; SANTOS, H. F.; SABINO, J. 2004. Courtship behavior and spawning of the hairy blenny *Labrisomus nuchipinnis* (Labrisomidae) in southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, 2(3):163-166.

HEDRICK, P.W. 2006. Genetic polymorphism in heterogeneous environments: The age of genomics. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, 37:67-93.

HOFFMAN, E. A.; BLOUIN, M. S. 2000. A review of colour and pattern polymorphisms in anurans. **Biological Journal of the Linnean Society**, 70:633-665.

MOURA, R. L.; FIGUEIREDO, J. L.; SAZIMA. 2001. A new parrotfish (Scaridae) from Brazil, and revalidation of *Sparisoma amplum* (Ranzani, 842), *Sparisoma frondosum* (Agassiz, 1831), *Sparisoma axillare* (Steindachner, 1878) and *Scarus trispinosus* valenciennes, 1840. **Bulletin of Marine Science**, 68(3): 505–524.

MENEZES, N. A.; FIGUEIREDO, J. L. 1985. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. V. Teleostei (4)**. São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.

POULTON, E. B. 1890. **The Colors of Animals: Their Meaning and Use, Especially Considered in the Case of Insects**. New York: D. Appleton and Company.

QUICKE, D. L. J. 1993. **Principles and techniques of contemporary taxonomy**. Blackie Blackie Academic & Professional, Universidade da Califórnia.

RAMOS, C. S. 2010. **Revisão taxonômica de *Gymnorhamphichthys* (Gymnotiformes, Rhamphichthyidae) com descrição de duas novas espécies**. Dissertação. Belém: Universidade Federal do Pará.

RIEPPPEL, O.; KEARNEY, M. 2002. Similarity. *Biological Journal of the Linnean Society*. 75, 59–82

ROCHA, L. A., ROSA, I. L.; ROSA, R. S. 1998. Peixes recifais da costa da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 15: 553–566.

ROCHA, L. A., ROSA, R. S. 2001. *Halichaeres brasiliensis* (Bloch, 1971), a valis wrasse species (Teleostei: Labridae) from Brazil, with notes on the Caribbean species *Halichoeres radiatus* (Linnaeus, 1758). **Aqua, Journal of Ichthyology**, 4(4):161-166.

ROBERTSON, D. R.; KARG, F.; MOURA, R. L. ; VICTOR, B.C.; BERNARDI, G. 2006. Mechanisms of speciation and faunal enrichment in Atlantic parrotfishes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 40(3):795-807

ROCHA, L. A.; BRITO, A.; ROBERTSON, D. R. 2012. *Sparisoma choati*, a new species of Parrotfish (Labridae: Scarinae) from the tropical eastern Atlantic. **Zootaxa**, 3152: 61–67.

SALE, P. F. 1991. **The ecology of fishes on coral reefs**. Academic Press, San Diego.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. 1989. **Molecular Cloning - A Laboratory Manual**, 2a ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

SPRINGER, V. G., GOMON, M. F. 1975. Revision of the Blenniid fish genus *Omobranchus* with descriptions of three new species and notes on other species of the tribe Omobranchini. **Smithsonian contributions to zoology**. No 177.

STADEN, R. 1996. The Staden Sequence Analysis Package. **Molecular Biotechnology**, 5:233-241.

STRAUGHAN, I. R., MAIN, A. R. 1966. Speciation and polymorphism in the genus *Crinia* Tschudi in Queensland. **Proceedings of the Royal Society of Queensland**, 78:11-28.

SYMULA, R. E. 2009. **Evolutionary and ecological influences on color pattern variation in the Australian common froglet, *Crinia signifera***. Dissertation. The University of Texas at Austin.

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.

VÉRAS, D.P. 2008. **Biologia reprodutiva dos budiões-batata, *Sparisoma axillare* e *Sparisoma frondosum* (Actinopterygii: Scaridae), capturados na costa central do estado de Pernambuco**. Dissertação Recife: Universidade Federal do Pernambuco.

WILEY, E. O. 1981. **Phylogenetics. The theory and practice of phylogenetic systematics**. Nova York: John Wiley & Sons.

WINSTON, J. E. 1999. **Describing species. Practical taxonomic procedure for biologists**. Nova York: Columbia University Press.

APÊNDICE I- Sequência de nucleotídeos do gene 12S mtDNA obtidas através de sequenciamento do exemplar de *Sparisoma aff. frondosum*

5’-

TTGGTCCTGACTTTACTATCAACTATAGCTAGATTTACACATGCAAGTATCCGCACCCCCGTGAGAATGCCCCTAGCCCCCGCCT
AAGGGGCGGGGAGCTGGTATCAGGCACAAATTTATTAGCCCATGACACCTAGCCCAGCCACACCCTCAAGGGTATTCAGCAGTG
ATAAACATTAAGCCATAAGTGAAAACCTTGACTTAATTAAAGCTAACAGGGCTGGTAAATCTCGTGCCAGCCACCGCGGTTATACG
AAAGGCCCAAGTTGACAGACAACGGCGTAAAGGGTGGTTAAGGCATACCTCAATAAACTAGAGCTGAACCTTCCTCAAGACTGTT
ATACGTATACGAGAAGCAGAAGACCAACTACGAAGGTGGCTCTAAACCTCCTGACACCACGAAAGCTATGATACAAACTGGGAT
TAGATACCCCACTATGCATAGCCGTAAACAGACAGCCAGTACATTGGCTGTCCGCCCCGGGTACTACGAGCACGAGCTTGAAACC
CAAAGGACTTGACGGTGCTTTACATCCCCCTAGAGGAGCCTGTCCTAGAACCGATAACCCCCGTAAACCTCACCTTTTCTTGCTC
GTACCGCCTATATACCGCCGTCTCCAGCCTACCCTGTGAAGGACTCATAGTAAGCAGAATTGGCATAACCCCGAACGCCAGGTGCG
AGGTGTAGCGTATGGAAAGGGAAGAGATGGGCTACATTCAATGAACCAATGAATACGAATGATTAATTGAAACATTAATTTAAA
GGAGGATTTAGTAGTAAGTCGGGAATAGAGAGCCCTACTGAAACTGGCCCTGAAGCGCGTACACACCGCCCGTCACTCTCCCCAA
GCAACCAATTTATTCTGTTTCCTAAAACTAAATAGTGCTAAGGGGAGGCAAGTCGTAACATGGTAAGTGTAC-3’

APÊNDICE II- Sequência de nucleotídeos do gene 16S mtDNA obtidas através de sequenciamento do exemplar de *Sparisoma aff. frondosum*

5’-

AAAAACATCGCCTCTTGTAACCAACAAATAAGAGGTCCCGCCTGCCCTGTGACTACAAGTTTAACGGCCGCGGTATTTTGACCG
TGCGAAGGTAGCGCAATCACTTGTCTTTTAAATGAAGACCTGTATGAATGGCATCACGAGGGCTTAAGTGTCTCCTTTTCCAAGTC
AATGAAATTGATCCCCCGTGCAGAAGCGGGGATATGCCCATAGACGAGAAGACCCTATGGAGCTTTAGACACTAAAACAGCT
CATGTTAAAGCTCTAGAACAACAGATTAAACTGAGTGATGCCTGTCCTAATGTCTTCGGTTGGGGCGACCATGGGGCAACAAAAA
ACCCCCACGTGGAACAGAAGCACAGACTTCCAGAGCCGAGAGCTCCCGCTCTAAGAAACAAAACATTTGACCTTTAAGACCCGG
CAAGGCCGAGCAACGGACCAAGTTACCCTAGGGATAACAGCGCAATCCTCTTCAAGAGTCCCTATCGACAAGAGGGTTTACGAC
CTCGATGTTGGATCAGGACATCCTAATGGTGCAGCCGCTATTAAGGGTTCGTTTGTTCACGATTAAAGTCCTACGTGATCTGA-3’

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Sabendo-se da importância da determinação das relações evolutivas para a aplicação do método filogenético na sistemática, é preciso que as pesquisas científicas atribuam a devida atenção à escolha e tratamento dos caracteres utilizados nas análises. Os programas de construções de árvores filogenéticas não possuem instrumento que identifiquem as homoplasias a partir de matrizes de dados. Essa é uma atividade do pesquisador que tria os caracteres. Sem esse cuidado, termina-se por obter árvores fenéticas, que agrupam organismos baseadas apenas nas médias das similaridades, sem considerar a origem dos caracteres.

A sistemática molecular apresenta um desafio ainda maior aos cientistas. Muitas vezes nenhuma análise qualitativa das sequências nucleotídicas é utilizada. O presente trabalho utilizou um método passo-a-passo de análise de dados moleculares e mostrou-se eficiente para testar a qualidade informativa de um fragmento de DNA, pois permite que as homoplasias e plesiomorfias sejam detectadas.

Os cladogramas aqui obtidos para a família de peixes Pomacanthidae, construídos a partir do método passo-a-passo, mostraram que alguns gêneros desta família são parafiléticos. A monofilia da família também não foi assegurada. Esses resultados demonstram que as relações de parentesco dessa família não estão bem resolvidas, sendo necessários estudos complementares aos aqui apresentados.

O gênero de peixes *Sparisoma*, da família Labridae, também carece de estudos de taxonomia molecular e de uma acurada revisão morfológica. Suas espécies são descritas principalmente com base nos padrões de coloração, resultando em equívocos taxonômicos. O presente estudo permitiu observar a dificuldade na identificação de *Sparisoma*, mostrando a fragilidade do caráter mais utilizado em sua taxonomia, a coloração.