

ANÁLISE FILOGENÉTICA DE DUAS ESPÉCIES SIMPÁTRICAS DE TUCUNARÉ (*Cichla*, PERCIFORMES), COM REGISTRO DE HIBRIDIZAÇÃO EM DIFERENTES PONTOS DA BACIA AMAZÔNICA

Fernanda Andrade¹, Horacio Schneider¹, Izeni Farias², Eliana Feldberg³ & Iracilda Sampaio^{1§}
¹Universidade Federal do Pará, Campus de Bragança, ²Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade do Amazonas, ³CPBA, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

ABSTRACT

Among the species of Amazonian fishes of recognized economic importance, we may highlight *Cichla* (tucunarés) species, which is the biggest cichlid from South America. This genus is described as having at least 15 different forms, but recent authors accept only five valid species: *Cichla temensis*, *C. monoculus*, *C. orinocensis*, *C. ocellaris* and *C. intermedia*. Recent chromosomal analysis in tucunarés from the Balbina reservoir suggested a possible hybridization between *Cichla monoculus* and *C. temensis* species. For the present paper we collected additional samples of tucunarés from several other rivers in the Amazon basin: Madeira (Porto Velho, RO), Uatumã (Balbina, AM), Tapajós (Santarém, PA), Tocantins (Tucuruí, PA; Estreito, MA), Guamá (Ourém, PA) and Moju (Moju, PA). High phenotypic variation was found, and the samples were classified into five different types: typical *Cichla monoculus* (Cmo), typical *C. temensis* (Cte), and three possible hybrids, named “like” *monoculus* (CTmo), “like” *temensis* (CTte) and an intermediary type (CTint). The mitochondrial rRNA 16S gene was sequenced in 40 specimens representing the five different types. The molecular analysis and cladistic reconstruction confirmed the hybridization between *C. monoculus* and *C. temensis* in all localities where the two species occur sympatrically. The results also indicate the existence of geographical isolation among the populations of tucunaré, suggesting successive changes in the recent history of the Amazon basin, may have drastically affected *Cichla*'s speciation.

PALAVRAS-CHAVES: *Cichla*, Tucunaré, Cichlidae, Perciformes, Hibridização

§autor para correspondência: Iracilda Sampaio
UFPA-Campus de Bragança
Alameda Leandro Ribeiro s/n, Aldeia
68.600-000, Bragança, Pará
iracilda@uol.com.br

INTRODUÇÃO

Cichlidae é uma das mais diversas e amplamente distribuídas famílias de peixes teleosteos, sendo seus representantes, em sua maioria, encontrados em ambientes de água doce. Dentre os ciclídeos neotropicais, o gênero *Cichla*, o tucunaré, inclui espécies de maior tamanho, e conseqüentemente de significativo valor comercial (Nelson, 1994).

Os tucunarés possuem preferência por ambientes lênticos e alimentam-se preferencialmente de peixes pequenos, camarões e insetos aquáticos. Não apresentam uma época reprodutiva definida, porém se reproduzem mais durante os meses quentes através de desova parcelada (desova apenas parte de seus ovos). Possuem cuidados parentais, como construção de ninhos e proteção da prole (Staeck *et al.*, 1985; Nelson, 1994).

A taxonomia de *Cichla* tem sido avaliada apenas com dados morfológicos. Mais de 15 formas diferentes têm sido sugeridas, mas apenas 5 espécies válidas são aceitas pelos taxonomistas atuais: *C. temensis*, da Amazônia Ocidental (rios Orinoco, Negro e Tapajós), *C. monoculus* da Amazônia Central (rios Solimões e Amazonas), *C. ocellaris*, Amazônia Venezuelana, *C. orinocensis*, da bacia do rio Orinoco e rio Negro, e *C. intermedia* do alto rio Negro e médio Orinoco (Machado-Allison, 1971, 1973; Kullander 1986; Kullander & Nijssen, 1989).

A única abordagem genética mais ampla em espécies de tucunarés foi a realizada por Alves (1998), que através de análise cromossômica confirmou o cariótipo de *C. monoculus* e *C. temensis*, ambas do rio Uatumã (Balbina, AM) com $2n=48$ cromossomos acrocêntricos. As duas espécies diferem em relação à localização da banda NOR: 2º par em *C. monoculus*, e 3º par em *C. temensis*. Alves encontrou ainda indivíduos supostamente híbridos (morfológicamente) com $2n=48$, um grupo apresentando a NOR no par 2 (denominado de *Cichla* sp1) e outro no par 3 (*Cichla* sp2).

Para testar a hipótese de hibridização proposta por Alves (1998), ampliamos os pontos de amostragem para outras áreas da bacia amazônica, de comprovada simpatria entre *Cichla monoculus* e *Cichla temensis*. Através do seqüenciamento de DNA mitocondrial foi possível confirmar a hibridização entre as duas espécies nas bacias do Tapajós, Moju, Tocantins e Guamá, além do Uatumã, previamente estudado por M. Alves.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição da amostra

No presente trabalho foram analisados 40 indivíduos do gênero *Cichla*, coletados em 7 diferentes locais da bacia Amazônica (Tabela 1). Nossa amostragem foi iniciada no rio Uatumã, lago da UHE de Balbina, em decorrência da análise cariotípica de Alves (1998), que sugeriu a hibridização entre *C. monoculus* e *C. temensis*. Foram coletadas também amostras nos rios Guamá, Moju e Tapajós, no Pará, e rio Madeira, em Rondônia.

Como pode ser visto na Tabela 1, os dois indivíduos coletados no rio Guamá (Ourém) e um do rio Moju apresentaram um fenótipo típico de *Cichla temensis* (código Cte). A amostragem do rio Tocantins (Estreito, Maranhão, e lago da UHE de Tucuruí, Pará) revelou a ocorrência de 5 *Cichla monoculus* típicos (Cmo), dois *C. temensis* típicos (Cte), e nove possivelmente híbridos – três tendendo mais para *C. temensis* (código CTte – tipo *temensis*), e seis tendendo mais para *C. monoculus* (código CTmo – tipo *monoculus*).

No rio Tapajós, Santarém (Pará), também foram encontradas as duas espécies e seus possíveis híbridos. Dos oito indivíduos amostrados, quatro apresentavam um fenótipo típico de *C. monoculus*, um de *C. temensis*, e três tinham um fenótipo bastante intermediário entre as duas espécies (código CTint – tipo intermediário).

Dos dez indivíduos selecionados do rio Uatumã, lago da UHE de Balbina (Amazonas), dois eram *C. monoculus* típicos, dois eram *C. temensis* típicos, e os demais apresentavam morfologia intermediária, sendo que três tendiam para *C. monoculus*, um para *C. temensis*, e dois bastante intermediários.

Do rio Madeira, Porto Velho (Rondônia), nosso ponto mais ocidental de amostragem, não encontramos evidência de ocorrência da espécie *Cichla temensis*. Seis indivíduos foram coletados e todos eram morfologicamente idênticos a *C. monoculus*. Destes, apenas três foram selecionados para a análise molecular.

As formas típicas (*C. monoculus* e *C. temensis*) e os híbridos mais comuns (CTmo e CTte) estão mostrados na Figura 1.

O desenho experimental

A partir da análise cariotípica de Alves (1998), e da sugestão de que *Cichla* sp1 e *Cichla* sp2 pudessem ser híbridos entre *Cichla monoculus* e *C. temensis*, delineamos a presente investigação, utilizando o seqüenciamento de DNA para confirmar a hibridização interespecífica em outros pontos da bacia amazônica onde as duas espécies ocorressem em sympatria.

Em relação ao gene, a escolha decaiu sobre o DNA mitocondrial, principalmente pelo fato deste apresentar herança materna, o que nos permitiria comprovar que o DNA do híbrido é 100% similar ao de uma das duas espécies (ou *C. monoculus* ou *C. temensis*), e não intermediário entre as duas caso fosse utilizado um gene nuclear.

O gene escolhido codifica a subunidade ribossômica mitocondrial 16S (rRNA 16S), previamente estudado em outros ciclídeos, e comprovadamente um bom marcador para discriminar espécies de peixes ciclídeos (Farias *et al.*, 1998, 1999)

Seqüenciamento do DNA

O DNA total foi extraído de tecido muscular usando-se o kit Puregene da Gentra™. Para isolar o gene mitocondrial 16S utilizamos a técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase), usando os seguintes iniciadores (*primers*) específicos para esta região: 16S-L 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3', e 16S-H 5'-TTTCCCCGCGGTCGCCCC-3' (Palumbi *et al.*, 1991). Esta combinação de *primers* amplifica um fragmento de DNA com cerca de 500 pares de bases.

Após a reação de PCR, as amostras eram purificadas com o kit Wizard PCR Preps da Promega™, e o fragmento resultante seqüenciado usando-se o protocolo do kit Big Dye Terminator mix, seguido de análise das reações pelo seqüenciador automático ABI 377 da Perkin Elmer™.

Análise das Seqüências

As seqüências obtidas eram editadas e alinhadas no programa XESEE (Eyeball Sequence Editor) de Cabot & Beckenbach (1989), e um cladograma de UPGMA foi gerado através do PAUP (Swofford, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De 40 seqüências de DNA obtidas, apenas 17 seqüências diferentes foram observadas. Elas diferem em 26 sítios dos quase 500 deste fragmento do gene 16S estudado. Entretanto, a pouca variabilidade observada é suficiente para discriminar as espécies, identificar as possíveis seqüências ancestrais, e evidenciar a hibridização entre *C. monoculus* e *C. temensis*.

A variação observada nas seqüências de 16S é mostrada na Tabela 2, onde está representado o alinhamento das 17 seqüências. Na coluna 1 temos a lista dos indivíduos com seus códigos e procedência (CTmo55 significa *Cichla* tipo *monoculus*, este de Tucuruí). Na coluna 2 observam-se os números (escritos na posição vertical), que identificam cada sítio,

começando com o 24 e terminando com o 412, e abaixo dos números estão as bases nitrogenadas que cada indivíduo apresenta para cada sítio (G, A, T ou C). Por convenção, e para facilitar a visualização, os pontos no alinhamento (...) significam que a base ali presente é igual a do indivíduo da primeira linha, o CTmo55 de Tucuruí. Na coluna 3 estão os indivíduos cujas seqüências são 100% similares a do indivíduo listado na coluna 1.

A seqüência 1, AAACGGTAATCACCTCACATACAAG, é a mesma nos indivíduos CTmo55, CTmo22, CTte23, CTmo56 de Tucuruí, e CTmo61, CTmo62 e CTte66 de Estreito, ambas localidades do rio Tocantins; a seqüência 2 é única do Cte17 de Tucuruí, diferindo da 1 nas posições 364 (T) e 394 (G). A seqüência 3 vista em Cte52 e Cte53 de Ourém, difere em única base em relação a número 1 (C na posição 359). As seqüências 4, 5 e 6 são únicas dos indivíduos 54, 65 e 10, respectivamente; a seqüência 7 é compartilhada pelos indivíduos 43, 46 e 49, todos de Balbina, o mesmo ocorrendo com a seqüência 8, que ocorre em sete indivíduos do lago de Balbina; seqüências 9, 10, 11, 12 13 e 15 são únicas; a 14 é compartilhada por 5 indivíduos de Santarém (32, 36, 39, 40 e 82) e um de Balbina (47); a 16 ocorre somente em indivíduos do lago de Tucuruí, e a 17 ocorre em um indivíduo de Tucuruí e outro de Estreito.

Comparando agora as seqüências de 16S entre os indivíduos, pois esta refletirá na topologia do cladograma descrito mais adiante, verifica-se que no primeiro sítio, o 24, a Adenina está presente em 13 indivíduos a começar pelo Cte 55 de Tucuruí, enquanto os 4 últimos indivíduos possuem Timina (T) na mesma posição (Ctmo47 de Balbina, Cmo 41 de Santarém, Cmo58 e CTmo de Tucuruí; no sítio seguinte, o 88, todos possuem Adenina, exceto o Cte54 de Moju que possui Guanina (G). O terceiro sítio variável é o 116, onde dois indivíduos do lago de Balbina possuem Guanina (G), e todos os demais possuem Adenina (A). Nota-se que em alguns sítios a variação é única de um determinado indivíduo (168, 246, 259, 359, 364, 371, 394 e 412), e em outros esta variação é compartilhada por mais de um indivíduo, em alguns casos de localidades geográficas distintas (131, 204, 313, dentre outros).

O cladograma obtido a partir das 17 seqüências diferentes do gene 16S (Figura 2), mostra uma divisão das populações de *Cichla* em dois grupos principais (clados). No clado da parte superior com 10 indivíduos (clado A), predominam indivíduos com códigos Cte (*Cichla temensis* típico) e CTte (híbrido com maior similaridade morfológica a *C. temensis*), e o da parte inferior (Clado B) com 7 indivíduos, onde predomina o código Cmo (*Cichla monoculus* típico).

O clado A pode ser dividido em A1 e A2, sendo que A1 reúne predominantemente indivíduos do extremo leste da distribuição de *Cichla* (Ourém, Moju e Tucuruí), enquanto que A2 abriga indivíduos de Balbina, de Santarém (lado oeste), além de um indivíduo do lago de Tucuruí (Cte10). O clado B também mostra uma clara diferença geográfica, com B1 reunindo indivíduos do rio Madeira (Rondônia) ligados ao clado B2 (Balbina e Santarém), e B3 com indivíduos do extremo leste (Tucuruí).

Várias conclusões podem ser obtidas a partir do cladograma da Figura 2. O fato de termos dois ramos principais, com predominância de *temensis* de um lado (clado A) e predominância de *monoculus* do outro lado (clado B), indica a existência de características ancestrais das duas espécies. No alinhamento da Tabela 2 existem três sítios que parecem indicar esta clara separação entre *monoculus* e *temensis*, razão pela qual sugerimos as denominações de linhagens *Temensis* e *Monoculus* (coluna 4): no sítio 204 todos do clado A possuem Timina e todos do clado B possuem Citosina; no 351 todos do clado A (exceto CTte65) possuem Citosina e todos do clado B possuem Timina; no 355 todos do clado A possuem Adenina e todos do clado B (exceto o Cmo77) possuem Guanina. Como Cte 65 e Cmo77 representam táxons terminais no cladograma, acreditamos que os nucleotídeos discrepantes observados nestes dois indivíduos representam homoplasias ou resultado de mutação reversa.

É importante notar que apesar da nítida separação em dois grupos principais, evidenciada pela variação dos sítios 204, 351 e 355, que pela nossa interpretação representariam os resquícios ancestrais das duas espécies, há uma clara indicação de hibridização entre *C. monoculus* e *C. temensis* em todas as bacias onde as duas espécies hoje convivem

simpatricamente. Tanto no clado A como no clado B existem indivíduos típicos (Cte e Cmo), como híbridos morfológicos (CTte, CTmo e CTint) em estreita similaridade na árvore filogenética. No clado A1 temos o agrupamento do híbrido tipo *monoculus* CTmo55 com os *temensis* típicos Cte52 e Cte54, além da presença de outros híbridos tipos *temensis* ou *monoculus* (ver também a Tabela 2). A estreita similaridade entre CTmo43 e Cte48 no lago de Balbina (clado A2) também indica hibridização. No clado B há uma predominância de *Cichla monoculus*, com alguns indivíduos bem típicos (Cmo41 e Cmo58), mas com vários híbridos (CTmo47 e CTmo71, e outros mostrados na Tabela 2). Entretanto, não há nenhum *Cichla temensis* típico no clado B.

É interessante notar a estreita ligação do indivíduo Cte10 de Tucuruí com exemplares de Santarém e Balbina, o que poderia representar migração de uma bacia para outra. Apesar do tucunaré ser um peixe bastante sedentário, acreditamos que esta migração pode ser feita de forma passiva através da calha do Amazonas, em touceiras de capim, ou mesmo pelas mãos do homem.

Outro fato que chama atenção no cladograma é a subdivisão dos cladogramas principais em A1 e A2, e B1, B2 e B3, indicando uma leve correlação com a distribuição geográfica das populações. Parece haver uma separação leste-oeste (ou noroeste-sudeste) em cada clado. Entretanto, a quantidade de variação genética exclusiva das diferentes populações é muito pequena (Tabela 2), e a interpretação do cenário que ocasionou estas diferenças geográficas (possivelmente a partir do final do Plioceno ou início do Pleistoceno, 3-2Ma), fica prejudicada pela extensiva hibridização que hoje se observa entre as duas espécies.

É evidente, entretanto, que as duas espécies estiveram separadas geograficamente por alguns milhares de anos, pois acumularam diferenças morfológicas marcantes, e até algumas diferenças cromossômicas, embora menos evidentes. Uma das possibilidades para explicar uma possível correlação entre o cladograma filogenético (Figura 2) e a bioecografia atual das duas espécies, seria imaginarmos um centro de dispersão para a espécie *Cichla monoculus* a noroeste da Amazônia, e de *Cichla temensis* mais a sudeste. As mudanças ocorridas na evolução recente da bacia amazônica, tais como elevação final dos Andes, formação de lagos e mudança de curso do rio Amazonas, e mesmo alterações do nível do mar durante os limites do Plioceno para o Pleistoceno podem ter contribuído para quebrar barreiras geográficas, resultando na expansão dos limites de distribuição das duas espécies por todas as bacias hidrográficas do Amazonas (ou na maioria delas). Como *C. monoculus* e *C. temensis* não acumularam diferenças cromossômicas suficientes para garantir o isolamento reprodutivo, deu-se então início ao processo de intercruzamento, que está destruindo o que a natureza levou alguns milhares de anos para criar – a individualidade genética das duas espécies.

É interessante que se investigue o estado de integridade das outras espécies de *Cichla*. O grande número de diferentes morfotipos (supostamente novas espécies) creditadas ao gênero, ao invés das cinco que são formalmente aceitas atualmente (Machado-Allison, 1971 e 1973; Kullander 1986; Kullander & Nijssen, 1989), pode ser na verdade resultado de hibridização, a exemplo do que descrevemos no presente estudo.



Cichla monoculus (Cmo)



Cichla temensis (Cte)



Híbrido tipo *monoculus* (CTmo)



Híbrido tipo *temensis* (CTte)

Figura 1. Padrão morfológico de duas espécies de tucunaré (*Cichla*) e das formas resultantes de hibridização entre elas.

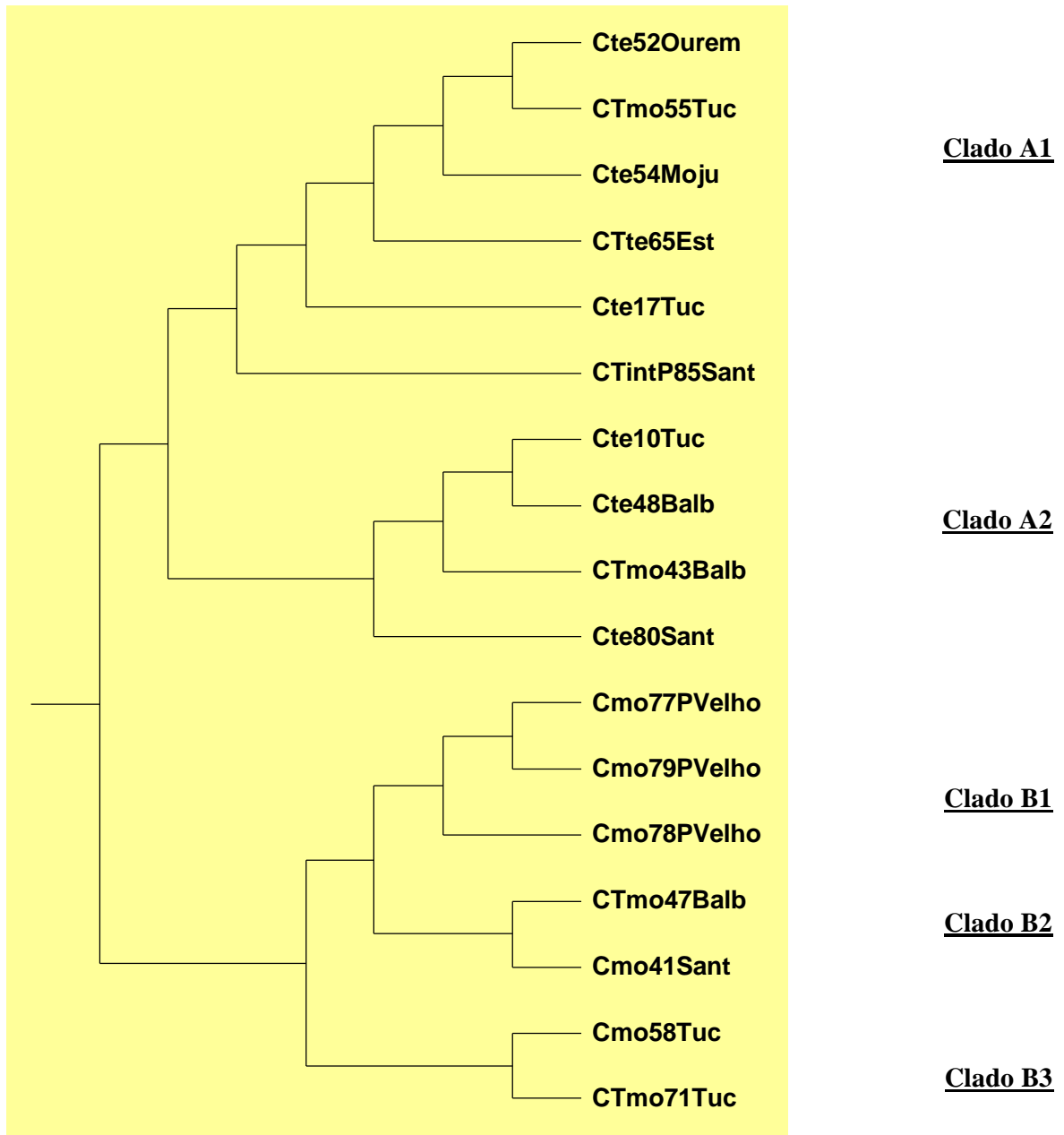


Figura 2. Cladograma de UPGMA obtido pelo PAUP a partir do gene 16S mitocondrial para as populações de *Cichla* da Amazônia brasileira.

Tabela 1 – Lista de espécimes analisados, identificação morfológica, e locais de origem de cada exemplar.

| CÓDIGO | MORFOTIPO | PROCEDÊNCIA |
|---------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| Cte52 | <i>Cichla temensis</i> | Rio Guamá - Ourém |
| Cte53 | <i>Cichla temensis</i> | Rio Guamá - Ourém |
| Cte54 | <i>Cichla temensis</i> | Rio Moju – Moju |
| Cmo64 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Tocantins – Estreito |
| CTmo61 | Híbrido tipo <i>monoculus</i> | Rio Tocantins – Estreito |
| CTmo62 | Híbrido tipo <i>monoculus</i> | Rio Tocantins – Estreito |
| CTte65 | Híbrido tipo <i>temensis</i> | Rio Tocantins – Estreito |
| CTte66 | Híbrido tipo <i>temensis</i> | Rio Tocantins – Estreito |
| Cmo1 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| Cmo9 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| Cmo60 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| Cmo58 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| Cte10 | <i>Cichla temensis</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| Cte17 | <i>Cichla temensis</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| CTmo22 | Híbrido tipo <i>monoculus</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| CTmo55 | Híbrido tipo <i>monoculus</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| CTmo56 | Híbrido tipo <i>monoculus</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| CTmo71 | Híbrido tipo <i>monoculus</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| CTte23 | Híbrido tipo <i>temensis</i> | Rio Tocantins - Lago de Tucuruí |
| Cmo39 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Tapajós - Santarém |
| Cmo34 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Tapajós – Santarém |
| Cmo36 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Tapajós – Santarém |
| Cmo41 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Tapajós – Santarém |
| Cte80 | <i>Cichla temensis</i> | Rio Tapajós - Santarém |
| CTint82 | Híbrido tipo intermediário | Rio Tapajós - Santarém |
| CTint85 | Híbrido tipo intermediário | Rio Tapajós - Santarém |
| CTint40 | Híbrido tipo intermediário | Rio Tapajós – Santarém |
| Cmo89 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| Cmo91 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| Cte92 | <i>Cichla temensis</i> | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| Cte93 | <i>Cichla temensis</i> | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| CTint45 | Híbrido tipo intermediário | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| CTint49 | Híbrido tipo intermediário | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| CTmo43 | Híbrido tipo <i>monoculus</i> | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| CTmo46 | Híbrido tipo <i>monoculus</i> | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| CTmo47 | Híbrido tipo <i>monoculus</i> | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| CTte48 | Híbrido tipo <i>temensis</i> | Rio Uatumã - Lago de Albina |
| Cmo77 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Madeira - Porto Velho |
| Cmo78 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Madeira - Porto Velho |
| Cmo79 | <i>Cichla monoculus</i> | Rio Madeira - Porto Velho |

Tabela 2 - Alinhamento dos 26 sítios variáveis do gene 16S em *Cichla monoculus*, *C. temensis* e seus híbridos.

| INDIVÍDUOS/ ORIGEM | POSIÇÃO DOS SÍTIOS VARIÁVEIS | INDIVÍDUOS COM A MESMA SEQÜÊNCIA | LINHA GEM |
|-----------------------|--|---|----------------------|
| | 11112222 2222333333 333334 2813670333 4566123455 567991 4861834567 6937391215 941452 | | |
| CTmo55-Tucuruí | AAACGGTAAT CACCCTCACA TACAAG | CTmo22-Tucuruí, CTte23-Tucuruí, CTmo56-Tucuruí, CTmo61-Estreito, CTmo62-Estreito, CTte66-Estreito | T |
| Cte17-Tucuruí |T.G.. | | e |
| Cte52-Ourém | C..... | Cte53-Ourém | m |
| Cte54-Moju | .G..... | | e |
| CTte65-Estreito |T..... | | n |
| Cte10-Tucuruí | ...T.A...CA..... | | s |
| CTmo43-Balbina | ..GT.A...CA.....A | CTmo46-Balbina, CTint49-Balbina | i |
| Cte48-Balbina | ..GT.A...CA..... | CTint45-Balbina, Cmo89-Balbina, Cmo91-Balbina, Cte92-Balbina, Cte93-Balbina, | s |
| CTint85-Santarém |GCA..... | | |
| Cte80-Santarém | ...TAA...CA.....T.G. | | |
| Cmo77-Porto Velho |AC..CA..T..... | | M |
| Cmo79-Porto Velho |AC..CA..TG..... | | o |
| Cmo78-Porto Velho |AC..C .G...A..TG..... | | n |
| Cmo34-Santarém | T....AC..CTA.GTG..... | Cmo36-Santarém, Cmo39-Santarém, CTint40-Santarém, CTint82-Santarém, CTmo47-Balbina | o c |
| Cmo41-Santarém | T....AC..C T...TA.GTG..... | | u |
| Cmo58-Tucuruí | T....ACG.C ..TTTAT.TG..... | Cmo1-Tucuruí, Cmo9-Tucuruí, Cmo60-Tucuruí | l |
| CTmo71-Tucuruí | T....ACGGC ..TTTAT.TG..... | Cmo64-Estreito | u s |

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M. N. (1998). *Análise Citogenética da Família Cichlidae: Gênero Cichla (Schneider, 1801) Perciformes, Labroidei*. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.
- CABOT, E. L. & BECKENBACH, T. (1989). Simultaneous editing nucleic acid and protein sequences with XESSE. *Comp. Applic. Biosci.* 5: 233-234.
- FARIAS, I.P (1998). *Molecular Phylogeny of Neotropical Cichlids: The Relationships of Cichlasomines and Heroines*. In Malabarba L. Reis R (ed). *Proceedings: International Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*, Porto Alegre: EDIPUCRS, 1998. Pg. 499 – 508.
- FARIAS, I.P., G. ORTÍ, I. SAMPAIO, H. SCHNEIDER, AND A. MEYER. (1999). Mitochondrial DNA phylogeny of the family Cichlidae: monophyly and fast molecular evolution of the Neotropical assemblage. *Journal of Molecular Evolution*, 48: 703-711.
- KULLANDER, S.O. (1986). *Cichlid fishes of the Amazon River drainage of Peru*. Swedish Museum of Natural History, Stockholm, 431 pp.
- KULLANDER, S.O. & NIJSSEN, H. (1989). *The cichlids of Surinam*. E.J. Brill, Leiden. 256 pp.
- MACHADO-ALLISON, A. (1971). Contribución al conocimiento de la taxonomía del gênero *Cichla* en Venezuela. Parte I. Osteología comparada. *Acta Biol. Venez.* 7:459-497.
- MACHADO-ALLISON, A. (1973). Contribución al conocimiento de la taxonomía del gênero *Cichla* en Venezuela. Parte II. Osteología comparada. *Acta Biol. Venez.* 8:155-205.
- NELSON, J.S. (1994). *Fishes of the world*. 3rd edition. John Wiley & Sons. New York, 600pp.
- PALUMBI, S.R., MARTIN, A.P., ROMANO, S., McMILLAN, W.O., STICE, L. & GRABOWSKI, G. (1991). *The simple fools guide to PCR*. Special Publ. Dept. Zoology, University of Hawaii, Honolulu.
- STAECK, W. & LINKE, H. (1985). *Large Cichlids: American Cichlids II, A Handbook for their identification, care and breeding*. Tetra-Verlag. Melle, Germany, 216p.
- SWOFFORD, D. L., (1998). *PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony and other methods*. Version 4.0. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.