

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

ANATOMIA EXTERNA E ESQUELÉTICA DE DUAS POPULAÇÕES DE *AUSTRALOHEROS RÍCAN* &
KULLANDER, 2006 (TELEOSTEI: PERCIFORMES: CICHLIDAE) DE ÁREAS ADJACENTES DAS BACIAS
DOS RIOS DOCE E SÃO FRANCISCO

Gilmar Ferreira do Carmo

Orientador: Prof. Mauro Luís Triques

Belo Horizonte – MG

Fevereiro – 2013

GILMAR FERREIRA DO CARMO

ANATOMIA EXTERNA E ESQUELÉTICA DE DUAS POPULAÇÕES DE *AUSTRALOHEROS RÍCAN* &
KULLANDER, 2006 (TELEOSTEI: PERCIFORMES: CICHLIDAE) DE ÁREAS ADJACENTES DAS BACIAS
DOS RIOS DOCE E SÃO FRANCISCO

Dissertação apresentada à Coordenação de Pós-Graduação em Zoologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Orientador: Prof. Mauro Luís Triques

Belo Horizonte – MG

Fevereiro – 2013

BANCA EXAMINADORA

Dr. Mauro Luís Triques

Depto. De Zoologia, ICB – Universidade Federal de Minas Gerais

Dr. Mário Alberto Cozzuol

Depto. De Zoologia, ICB – Universidade Federal de Minas Gerais

Dr. Fábio Vieira

Aqua Consultoria Ltda

Dr. Paulo Christiano de Anchieta Garcia (Suplente)

Depto. de Zoologia, ICB – Universidade Federal de Minas Gerais

RESUMO

Exemplares de duas populações de acarás do gênero *Australoheros* habitando bacias adjacentes foram analisadas, uma do rio Cipó (bacia do rio São Francisco, Parque Nacional da Serra do Cipó) e outra do rio Santa Bárbara (bacia do rio Doce, Reserva Particular de Peti), com base em caracteres de morfologia externa, morfométricos, merísticos, esqueléticos, ontogenéticos, moleculares. Inicialmente, supôs-se que fossem pertencentes à mesma espécie, se observados trabalhos com *Astyanax turmalinensis* (Triques & Queiroz, 2010) e *Trichomycterus brasiliensis* (Fowler, 1954), descritos em uma bacia hidrográfica e encontrados em bacias adjacentes. Porém, claras distinções qualitativas, morfométricas e alométricas, estas últimas reveladas por análises de regressão linear simples e covariância (ANCOVA), levaram à hipótese de se tratarem não só de espécies distintas entre si, mas de todas as suas congêneres. Apesar da abrangência limitada do trabalho, os resultados corroboram a ideia de endemismo entre bacias adjacentes e dentro delas. Também reforça esta mesma ideia o fato de as duas novas espécies do gênero serem claramente diagnosticadas das demais em regiões onde já havia espécies descritas. Uma caracterização morfológica foi feita para cada população, bem como uma diagnose, relativa à proposição de novas espécies. Também foi feita uma caracterização molecular para a população do PNSC e de *A. ipatinguensis*.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que tudo criou e que me deu a oportunidade de estudar Sua criação. À minha esposa, Renata Passos Freire Ferreira, sempre presente em minhas dificuldades e alegrias. Aos meus pais, Joaquim Matias da Silva e Dionísia Ferreira da Silva (sem comentários) e familiares. Ao Prof. Mauro Luís Triques, com quem aprendi a ser um verdadeiro sistemata, sendo ele um arguto orientador (com “o” maiúsculo). À CAPES, pela Bolsa de Mestrado. Aos Profs. Mário Alberto Cozzuol, Adalberto José dos Santos, Paulo Christiano de Anchieta Garcia e demais do Departamento de Zoologia do ICB, por terem materializado um antigo sonho meu: o da Pós-Graduação em Zoologia. À Editora Abril, especialmente pela coleção “O Mundo Dos Animais”, que me motivou, desde a década de 1980, a fazer e a gostar de Zoologia. Ao Sr. Felipe Polivanov Ottoni (UFRJ), sempre disponível em minhas dúvidas quanto ao grupo estudado. Ao Prof. Daniel C. de Carvalho e à aluna Gabriela Cavazza Cerri (PUC-Minas), pela análise molecular dos peixes coletados e coautoria no primeiro artigo científico submetido por mim. Ao Dr. Fábio Vieira e ao Sr. João P. C. Gomes (Centro de Transposição de Peixes, ICB/UFMG), pela ajuda com material comparativo e conhecimentos em Ictiologia. Ao barcelonês Juan Manuel Alfaro Lucas, meu companheiro de laboratório e de coletas, grande pessoa. À Profa. Evelise N. Fragoso-Moura, pela ajuda na sexagem dos peixes. Aos Srs. Ivan Campos (PNSC) e Tarcísio (Peti/CEMIG), por me permitirem ter acesso aos referidos santuários de vida selvagem para coletas e estudos. Ao Prof. Renato César Sachetto Tôrres e Sr. Elias Faleiro Silvério (Escola de Veterinária, UFMG), pela ajuda na radiografação dos exemplares. Aos meus colegas de outros laboratórios do Departamento de Zoologia do ICB, companheiros no evitar a solidão da rotina do laboratório e nas idas ao “Bandeirão”, bem como em resoluções de problemas práticos (em especial aos colegas Alessandro Lima e Ligiane Moras pelo conserto da fonte de energia de meu notebook, orientações quanto ao uso do Word for Windows, e algumas traduções). Ao Sr. Luiz Arthur Castanheira, pela ajuda quanto aos mapas. E a Deus, o alfa e o ômega.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	3
2.1. Localidades amostradas.....	3
2.2. Material analisado.....	4
2.2.1. Populações-alvo.....	4
2.2.2. Material comparativo.....	4
2.3. Anatomia externa.....	5
2.4. Sexagem.....	8
2.5. Proporções corporais.....	9
2.6. Análises estatísticas.....	10
2.6.1. Regressão linear simples.....	10
2.6.2. Covariância (ANCOVA).....	11
2.6.3. Análises de componentes principais e “cluster”.....	13
2.7. Análise osteológica.....	15
2.7.1. Diafanização.....	15
2.7.2. Dissecção, ilustrações e fotos.....	16
2.7.3. Radiografiação.....	18
2.8. Análise molecular.....	19
2.9. Delimitação de espécie.....	20
3. RESULTADOS.....	21
3.1. Descrição da anatomia externa das duas novas espécies.....	21
3.1.1. <i>Australoheros</i> sp. n. 1 (Figs. 7-8).....	21
3.1.2. <i>Australoheros</i> sp. n. 2 (Figs. 10-11).....	27
3.2. Variação ontogenética.....	33
3.3. Análises estatísticas entre as duas novas espécies.....	33
3.3.1. Regressão linear simples e covariância (ANCOVA).....	34
3.3.2. Componentes principais e “cluster”.....	34
3.4. Análise molecular.....	35
3.5. Notas sobre o habitat das duas novas espécies.....	35
4. DISCUSSÃO.....	36
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Australoheros* Rícan & Kullander, 2006 foi erigido a partir de espécies originalmente incluídas em *Cichlasoma*, ciclídeos popularmente denominados de acarás ou carás (cará-ferreira, em certas regiões de Minas Gerais). Ottoni & Costa (2008) e Rícan & Kullander (2008) fizeram as primeiras revisões do gênero, a primeira para as espécies do sudeste do Brasil, e a segunda para as espécies do sudeste e sul do Brasil, Uruguai e nordeste da Argentina. Vinte e sete espécies, atualmente pertencentes ao gênero, foram descritas em pouco mais de uma década (Casciotta *et al.*, 1995, 2006; Rícan & Kullander, 2003, 2006, 2008; Ottoni & Costa, 2008; Ottoni *et al.*, 2008, 2011; Ottoni & Cheffe, 2009; Ottoni, 2010, 2012; Schindler *et al.*, 2010; Rícan *et al.*, 2011). *Australoheros* possui distribuição Neotropical, ocorrendo no sistema dos rios Paraná-Paraguai-Uruguai, nordeste da Argentina, Uruguai e sul do Brasil, além de ocorrer ao longo das bacias costeiras do sudeste e sul do Brasil, até o sul da Bahia, e na bacia do São Francisco (Rícan & Kullander, 2006, 2008; Ottoni *et al.*, 2008, 2011; Ottoni & Costa, 2008; Ottoni, 2010, 2012; Rícan *et al.*, 2011). Habitam cursos d'água doce de diferentes tipos (córregos, ribeirões e lagoas) (Rícan & Kullander, 2003). Algumas espécies de *Australoheros* têm valor comercial em aquarismo (Rícan & Kullander, 2006).

Segundo Rícan & Kullander (2006) e Smith *et al.* (2008), o gênero faz parte da tribo Heroini Kullander, 1998, intimamente relacionado com gêneros da América Central, como *Caquetaia* e *Heroina* (Rícan & Kullander, 2006). O gênero *Australoheros* é um grupo monofilético caracterizado pelas seguintes sinapomorfias: baixas contagens de escamas (modalmente <25 na série de escamas E1); escamas do peito de tamanho comparável ao dos flancos; baixas contagens de vértebras (13+12-13); coloração característica com a interrupção das barras verticais abdominais 6-7 em sua porção meio-dorsal; juvenis com manchas de xantóforo na base da nadadeira caudal; e o desenvolvimento de quatro barras verticais abdominais (Rícan & Kullander, 2006). A tribo Heroini caracteriza-se por uma articulação simples entre palato e etmoide; cinco ou mais espinhos na nadadeira anal (vs. quatro ou menos em Cichlasomatini e muitos dos Cichlidae neotropicais); osso palatino deslocado para trás da extremidade do vômer; e mancha meio-lateral que se desenvolve na quarta barra escura vertical (vs. na quinta barra, contada da nadadeira caudal em direção ao focinho, exceto a mancha do pedúnculo caudal, em todos os outros grupos de Cichlidae neotropicais) (Kullander, 1998; Rícan & Kullander, 2006).

Com base em dados morfológicos e moleculares, Rícan & Kullander (2008) e Ottoni (2012) definiram cinco grupos de espécies dentro do gênero *Australoheros*, a saber: (1) grupo *A. scitulus*, compreendendo *A. scitulus* e *A. charrua*; (2) grupo *A. facetus*, compreendendo *A. facetus* e *A. guarani*; (3) grupo *A. forquilha*, compreendendo *A. forquilha* e *A. tembe*; (4) grupo *A. kaaygua*, compreendendo *A.*

kaaygua e *A. minuano*; e, finalmente, (5) grupo *A. austrani*, compreendendo espécies do sudeste e sul do Brasil, como *A. austrani*, *A. perdi*, *A. ipatinguensis*, *A. capixaba*, *A. barbosa*, *A. ribeirae*, *A. macauensis*, *A. muriae*, *A. macacuensis*, *A. robustus*, *A. tavaresi*, *A. montanus*, *A. paraibae*, *A. saquarema* e *A. mattosi*.

Há quatro espécies do gênero ainda sem definição quanto ao agrupamento de espécies a que poderiam pertencer: *Australoheros taura*, *A. ykeregua*, *A. acaroides* e *A. angiru*. Segundo Ottoni (2012) e Ottoni & Cheffe (2009), *A. taura* poderia ser incluída no grupo de espécies *A. scitulus*, levando-se em consideração apenas caracteres morfológicos, ainda que haja a possibilidade de ser do grupo *A. kaaygua* (Ottoni & Cheffe, 2009). Conforme as filogenias de Rícan *et al.* (2011: 20, fig. 11), percebe-se que *A. ykeregua* pertenceria ao grupo de espécies *A. forquilha* (assim como em Rícan & Kullander, 2006: 144, fig. 8, onde se lê “*A. sp. Forquilha*”), e *A. angiru* seria do grupo de espécies *A. scitulus* (vide também Rícan & Kullander, 2006: 144, fig. 8, sob os nomes “*A. sp. Jacutinga*” e “*A. sp. Jacutinga Ig*”). As filogenias de Rícan *et al.* (2011: 20, fig. 11) não permitem conclusão acerca das inclusões de *A. taura* e de *A. acaroides* nos grupos de espécies propostos.

Alguns levantamentos de ictiofauna já registraram a presença de *Australoheros* nas drenagens do Doce e do São Francisco (Vieira, 2011), bem como de “*Cichlasoma facetum*” (Vieira *et al.*, 2005), esta espécie incluída em *Australoheros* (Rícan & Kullander, 2006). Entretanto, não está esclarecido se as populações de *Australoheros* dessas duas drenagens, junto ao divisor de águas formado pela Cadeia do Espinhaço, pertencem à mesma espécie e se é (são) de espécie (s) já descrita (s).

Inventários de fauna têm mostrado algum compartilhamento de espécies de peixes em bacias adjacentes, mas, normalmente, as identificações são baseadas em chaves de identificação, não sendo explorados os recursos de estudos anatômicos que permitiriam decifrar se as espécies compartilhadas são realmente a mesma ou, de fato, espécies diferentes. O trabalho de Triques & Queiroz (2010) é uma exceção, uma vez que nele identificaram uma espécie de lambari (*Astyanax turmalinensis*) em outras bacias além da de sua descrição original (rio Jequitinhonha, em Minas Gerais), com base em análise de morfologia externa e esquelética mais detalhada. Sua distribuição geográfica foi ampliada para as bacias dos rios Doce e São Francisco. Uma vez que *Australoheros* é um gênero descrito recentemente, cuja maioria das espécies tem sido descrita também há pouco tempo, é interessante avaliar se populações de bacias adjacentes possam pertencer a uma única espécie. Dessa forma, a hipótese nula deste trabalho é: as duas populações de *Australoheros* de bacias distintas são da mesma espécie.

Assim, com base em extensivo estudo da anatomia externa e esquelética de duas populações de *Australoheros*, uma da bacia do médio rio das Velhas (drenagem do alto rio São Francisco, municípios de Jaboticatubas e Santana do Riacho, segundo o Ministério da Integração Nacional, disponível no site www.mi.gov.br/saofrancisco/rio), no Parque Nacional da Serra do Cipó (PNSC/MG), junto ao limite oeste da bacia do rio Doce, e outra população do médio rio Doce (segundo Vieira, 2011), junto ao rio Santa Bárbara (município de São Gonçalo do Rio Abaixo/MG, Reserva Particular do Patrimônio Natural [RPPN] de Peti/CEMIG), será verificado se se trata de uma única espécie ou mais de uma. Caso não seja (m) de espécie (s) conhecida (s), pretende-se fazer a descrição. Caso pertença (m) a espécie (s) já descrita (s), sua distribuição geográfica poderá ser estendida.

Este estudo tem diversas implicações, auxiliando a compreender melhor estas bacias hidrográficas como áreas de endemismo de espécies de peixes de pequeno porte, bem como propiciará o desenvolvimento de diversas linhas de pesquisa sobre o gênero na região, tais como de ecologia, conservação e outros.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Localidades amostradas

Já havia material armazenado no Laboratório de Sistemática de Peixes do ICB/UFMG, porém foram necessárias mais coletas. Material de coleta utilizado: puçás e redes de emalhar e de arrasto.

As coletas foram feitas em ribeirões, córregos e lagoas marginais do médio rio das Velhas (bacia do médio rio São Francisco), no Parque Nacional da Serra do Cipó (PNSC/MG) e arredores, municípios de Santana do Riacho e Jaboticatubas, Minas Gerais, 19° 23' S, 43° 35' O, entre 790 e 825 m de altitude, junto ao limite leste da bacia do rio Doce (Fig. 1). Outras coletas foram feitas entre os dias 18 e 19 de junho de 2012 em córregos e ribeirões dos municípios de Paraopeba, Angueretá, Curvelo, Inimutaba, Presidente Juscelino e Fechados (Fig. 2), estado de Minas Gerais, não tiveram sucesso em se obter indivíduos do gênero *Australoheros*, o que significa esforço em afluentes das bacias dos rios Paraopeba, das Velhas, Paraúna e Cipó (médio rio São Francisco).

Outras coletas foram feitas no córrego do Doné, do médio rio Doce, afluente da margem esquerda do rio Santa Bárbara (município de São Gonçalo do Rio Abaixo/MG, Reserva Particular do Patrimônio Natural [RPPN], Estação Ambiental de Peti/CEMIG), 19° 52' S, 43° 22' O, a 780 m de altitude (Fig. 3). Usaram-se puçás para coleta dos indivíduos de *Australoheros* de Peti no córrego do Doné, além de redes

de espera de malha 20 mm, porém não se obteve êxito com estas redes. Também foram feitas coletas entre os dias 08 e 09 de junho de 2012 no município de Belo Oriente, obtendo-se *A. ipatinguensis* em córrego próximo à localidade tipo desta espécie (Fig. 4). Diversas coletas foram feitas no rio Santa Bárbara, sem sucesso, bem como em tributários do rio do Peixe, afluente do rio Santo Antônio, bacia do rio Doce, município de Carmésia/MG (Fig. 5), também sem êxito.

A ausência de *Australoheros* deve-se, possivelmente, a dois fatores: uso de técnicas de coleta impróprias para as localidades e coletas em locais ou períodos em que não se podem encontrar esses peixes (migrações de pequena escala podem ocorrer nestes corpos d'água).

Os indivíduos coletados foram fixados em formol a 4% e, depois de uma semana, colocados em álcool a 70%. Nos casos de coletas para análise molecular, os indivíduos foram fixados em álcool absoluto. Posteriormente, esta amostragem foi tombada em livro próprio.

2.2. Material analisado

2.2.1. Populações-alvo

No total, foram utilizados 75 indivíduos de *Australoheros* do PNSC e 51 indivíduos de *Australoheros* de Peti (neste caso, incluídos dois indivíduos, 45,5-70,4 mm CP, coletados por Vieira, F. & Gomes, J. P. C. em 15/03/2012 em tributário do rio Santa Bárbara 7 km a jusante de Peti, uma vez que possuem proporções, contagens e características qualitativas dentro dos padrões da população de Peti).

Ao longo do estudo também foi obtido, por coleta ou empréstimo, material de diversas localidades, e o estudo abrangeu material tipo de *Australoheros ipatinguensis* e *A. perdi*, as quais foram descritas na mesma região da bacia do rio Doce a que pertence a área de Peti, bem como dados de literatura de todas as espécies do gênero.

O material analisado encontra-se depositado no Departamento de Zoologia do ICB/UFMG (DZUFMG), na Universidade Federal do rio de Janeiro (UFRJ), no Museu de Zoologia da USP (MZUSP) e no Centro de Transposição de Peixes do ICB/UFMG (MHN-UFMG). Junto à caracterização das populações estão indicados os materiais analisados.

2.2.2. Material comparativo

Especial atenção foi dada às espécies das bacias dos rios Doce São Francisco, nas quais foi encontrado o material das duas populações-alvo estudadas. Todo o material analisado, assim como

material tipo para as populações do PNSC e de Peti/CEMIG, foi registrado, neste trabalho, da seguinte forma: nome da espécie/população, acrônimo da instituição, número de tomo, número de indivíduos do lote, comprimentos padrões do menor ao maior exemplar, (número de indivíduos efetivamente utilizados e seus comprimentos padrões entre parênteses, quando necessário), dados de coleta (local, coordenadas, data e coletores).

Australoheros ipatinguensis: UFRJ 7551, 2 parátipos diafanizados, 26,4-34,3 mm CP, córrego Braúna, bacia do rio Doce, município de Ipatinga, estado de Minas Gerais, março de 1990, Costa, W.; UFRJ 7553, holótipo, 53,5 mm CP, córrego Braúna, bacia do rio Doce, município de Ipatinga, estado de Minas Gerais, março de 1990, Costa, W.; DZUFMG 128, 5, 21,5-35,2 mm CP, Fazenda Córrego do Achado, próximo à estrada entre Belo Oriente e Cachoeira Escura, município de Belo Oriente, estado de Minas Gerais, 19°16'48" S, 42°25'43" O, 09 de junho de 2012, Carmo, G. F. & Lucas, J. M. A.; DZUFMG 129, 2, 28,9-34,7 mm CP, Fazenda Córrego do Achado, próximo à estrada entre Belo Oriente e Cachoeira Escura, município de Belo Oriente, estado de Minas Gerais, 19°16'48" S, 42°25'43" O, 09 de junho de 2012, Carmo, G. F. & Lucas, J. M. A.

Australoheros perdi: Todos os indivíduos foram coletados por Fragoso-Moura, E. N. *et al.*, na lagoa Gambazinho, região lacustre do médio rio Doce, Parque Estadual do Rio Doce, município de Marliéria, Estado de Minas Gerais, 19° 47' 10,6" S, 42° 34' 48,3" O, exceto DZUFMG 116, que foram coletados no mesmo local, porém por Lucas, C. C. T. *et al.* DZUFMG 071, holótipo, 93,0 mm CP, março de 2007; DZUFMG 073, 11, 30,7-121,3 mm CP (5, 50,6-121,3 mm CP), janeiro de 2007; DZUFMG 074, 4, 81,7-120,2 mm CP, maio de 2007; DZUFMG 075, 5, além de duas cabeças, 40,4-122,0 mm CP (2, 63,6-122,0 mm CP), setembro de 2007; DZUFMG 076, 10, 15,4-31,0 mm CP (2, 21,0-29,4 mm CP), janeiro de 2008; DZUFMG 077, 73, 9,5-49,1 mm CP (7, 12,0-49,6 mm CP), setembro de 2008; DZUFMG 079, 4 diafanizados, 39,3-45,0 mm CP, setembro de 2008; DZUFMG 080, 1, além de uma cabeça, diafanizados, 45,0-46,0 mm CP, setembro de 2007; DZUFMG 116, 8, 20,7-68,1 mm CP (3, 50,0-68,3 mm CP), 20 de março de 2011; MZUSP 108138, 1, 99,1 mm CP, março de 2007; MZUSP 108139, 1, 106,7 mm CP, julho de 2007; MZUSP 108140, 4, 24,6-37,0 mm CP (1, 24,6 mm CP), setembro de 2008.

2.3. Anatomia externa

Medidas, contagens e a descrição da anatomia externa foram feitas seguindo Kullander (1986), Ottoni (2010) e Ottoni *et al.* (2011), a olho nu e/ou sob microscópio estereoscópico (Leica, MZ6), ponto a

ponto, utilizando-se paquímetro com precisão de décimo de milímetro. A contagem de escamas segue (Rícan & Kullander, 2006).

As medidas foram feitas ponto a ponto, a saber: (01) comprimento padrão, do ponto mediano imóvel mais anterior do neurocrânio, logo atrás da sínfise premaxilar protáctil, até a base dos raios caudais medianos; (02) comprimento da cabeça, do ponto mediano imóvel mais anterior do neurocrânio, logo atrás da sínfise premaxilar protáctil, até a extremidade posterior da margem óssea do opérculo; (03) largura da cabeça, medida na porção mais larga da cabeça, usualmente na região opercular; (04) altura cefálica preorbital, medida em uma linha vertical imaginária pelo extremo anterior da margem do olho, tomada nas linhas medianas dorsal e ventral da cabeça; (05) comprimento do focinho, do ponto mediano imóvel mais anterior do neurocrânio, logo atrás da sínfise premaxilar protáctil, até a margem mais anterior do olho; (06) diâmetro orbital horizontal; (07) altura da órbita, da margem inferior da órbita até a linha mediana ventral cefálica feita verticalmente; (08) comprimento da maxila superior, do ponto mediano imóvel mais anterior do neurocrânio, logo atrás da sínfise premaxilar protáctil, à extremidade posterior do osso maxilar, no seu canto inferior; (09) comprimento da mandíbula, da sínfise mandibular junto à base dos dentes até a margem posterior da mandíbula, no seu canto inferior; (10) largura interorbital, entre as margens superiores ósseas das órbitas; (11) altura da cabeça, feita numa linha vertical imaginária transversal ao comprimento do corpo, passando pela margem mais posterior do olho, tomada nas linhas medianas dorsal e ventral da cabeça; (12) altura do corpo, feita numa linha vertical imaginária transversal ao comprimento do corpo, passando pela origem da nadadeira pélvica até a base da nadadeira dorsal; (13) comprimento da nadadeira peitoral, da base do primeiro raio até a extremidade do raio mais longo; (14) comprimento da base da nadadeira peitoral, da sua origem até a base do seu último raio; (15) distância peitoral-pélvica, da base do último raio da nadadeira peitoral até a origem da nadadeira pélvica; (16) comprimento do espinho da nadadeira pélvica; (17) comprimento da nadadeira pélvica, da sua origem até a extremidade do raio mais longo; (18) comprimento do último espinho da nadadeira dorsal; (19) comprimento do último espinho da nadadeira anal; (20) comprimento da base da nadadeira dorsal, da sua origem até a base do seu último raio; (21) comprimento da base da nadadeira anal, da sua origem até a base do seu último raio; (22) comprimento pré-dorsal, do ponto mediano imóvel mais anterior do neurocrânio, logo atrás da sínfise premaxilar protáctil, até a origem da nadadeira dorsal; (23) comprimento pré-pélvico, da sínfise mandibular junto à base dos dentes até a origem da nadadeira pélvica; (24) altura do pedúnculo caudal, aproximadamente no meio do pedúnculo; (25) comprimento do pedúnculo caudal, do fim da base da nadadeira anal até a base dos raios inferiores da nadadeira caudal, medida feita horizontalmente; e (26) comprimento da nadadeira caudal, da

base dos raios caudais medianos até a extremidade destes mesmos raios. Destas medidas, três foram propostas neste trabalho: a altura da órbita, o comprimento da base da nadadeira peitoral e a distância peitoral-pélvica.

As contagens são: (01) espinhos da nadadeira dorsal; (02) raios da nadadeira dorsal, que estão divididos em raios indivisos anteriores e raios ramificados posteriores, sendo contados respectivamente da cabeça para a cauda; (03) espinhos da nadadeira anal; (04) raios da nadadeira anal, que estão divididos em raios indivisos anteriores e raios ramificados posteriores, sendo contados respectivamente da cabeça para a cauda; (05) espinhos da nadadeira pélvica; (06) raios da nadadeira pélvica; (07) raios da nadadeira peitoral, que estão divididos em raios indivisos e raios ramificados, sendo contados respectivamente da origem até o fim da nadadeira; (08) raios caudais, que estão divididos em raios dorsais e ventrais, sendo contados de cima para baixo a partir do primeiro raio indiviso até o raio mediano do lobo superior, e de baixo para cima a partir do primeiro raio indiviso até o raio mediano do lobo inferior (fórmula: raios indivisos do lobo superior + raios ramificados do lobo superior + raios indivisos do lobo inferior + raios ramificados do lobo inferior, sempre em numerais arábicos); (09) vértebras totais; (10) pares de costelas; (11) vértebras pré-caudais; (12) vértebras caudais, contadas a partir da primeira vértebra com espinho hemal (Goodrich, 1930:35-37; Romer & Parsons, 1977:167; Weitzman, 1962:38), incluindo o complexo hipural; (13) radiais proximais da nadadeira dorsal; (14) radiais proximais da nadadeira anal; (15) rastros branquiais do primeiro arco branquial, os quais estão em duas séries, uma no lado interno e a outra no lado externo, todas elas podendo sair do espécime facilmente sob manipulação e apenas sendo corretamente estudadas em espécimes diafanizados, corados e dissecados (a contagem é expressa como uma fórmula $[x+y]$, na qual “x” refere-se aos rastros ceratobranquiais e “y” àqueles do epibranchial, juntos com possíveis rastros da cartilagem intermediária); rastros internos e externos de cada osso são somados e expressos por um número simples); (16) escamas da série da linha lateral superior; (17) escamas da série da linha lateral inferior; (18) série transversal de escamas entre as linhas laterais; (19) escamas na altura do pedúnculo caudal; (20) série de escamas transversais na origem da nadadeira dorsal, desde a linha lateral superior, sem contá-la, até a origem da base da nadadeira dorsal; (21) série de escamas transversais acima da última escama da série da linha lateral superior até a base da nadadeira dorsal; (22) série de escamas transversais da origem da nadadeira anal até a linha lateral superior (sem incluir a escama da linha lateral superior); (23) série de escamas longitudinais contínua à linha lateral inferior, incluindo esta, desde a margem posterior óssea do opérculo até o fim do pedúnculo caudal (geralmente denominada de “E0” na literatura do grupo); (24) série de escamas longitudinais entre as séries superior e inferior da linha lateral,

desde a margem posterior óssea do opérculo até o fim do pedúnculo caudal (geralmente denominada de “E1”) e (25) série de escamas longitudinais contínua à linha lateral superior, incluindo esta, desde a margem posterior óssea do opérculo até o fim da série da linha lateral superior (geralmente denominada de “E2”).

As barras escuras verticais nos flancos do corpo foram contadas no sentido do pedúnculo caudal (sem contar a mancha do pedúnculo caudal) para a margem posterior do opérculo, seguindo Rícan & Kullander (2006). Barras verticais abdominais são as que se localizam entre a mancha meio-lateral do tronco (que se situa na barra vertical 4) e o opérculo, excluindo-se a barra sobre a mancha. A descrição do padrão de coloração segue Kullander (1986) e Ottoni & Costa (2008).

Após leitura de artigos descrevendo outras espécies do gênero (Casciotta *et al.*, 1995, 2006; Ottoni, 2010; Ottoni & Cheffe, 2009; Ottoni & Costa, 2008; Ottoni *et al.*, 2008, 2011; Rícan & Kullander, 2003, 2008; Rícan *et al.*, 2011; Schindler *et al.*, 2010), foi criada uma descrição da anatomia externa mais detalhada que a apresentada pelos mesmos. Isto significa que a descrição procurou ter um detalhamento maior que qualquer um destes artigos, reunindo as partes de cada artigo citado que faltaram entre eles. A descrição morfológica externa de caracteres qualitativos foi feita com base em 28 exemplares de Peti e 37 do PNSC, incluindo de portes pequeno, médio e grande. Propõe-se que esta proposta descritiva seja amplamente utilizada em outros trabalhos para o grupo, a fim de se ter mais informações para as devidas comparações entre espécies.

Uma vez que informações ontogenéticas podem ser relevantes em *Australoheros*, foram analisados indivíduos em diferentes estágios de desenvolvimento corporal, incluindo os de tamanhos máximo e mínimo disponíveis, a saber: juvenis desde 14,8 mm CP até adultos com 110,9 mm CP em *Australoheros* do PNSC, e juvenis desde 16,7 mm CP até adultos com 79,8 mm CP em *A.* de Peti, bem como para *A. perdi*.

2.4. Sexagem

Para o procedimento de sexagem, selecionaram-se os indivíduos que possuíssem o comprimento padrão de, pelo menos, 50 mm CP, os quais são considerados adultos (ver Tabelas 6-7 e Discussão para detalhes).

Primeiramente, retiraram-se as escamas do lado direito do corpo de cada indivíduo e fez-se um corte contínuo pouco profundo com uma tesoura, segundo os passos:

A) Da cabeça para a cauda, uma horizontal a partir de um ponto logo acima da base da nadadeira pélvica até logo acima do ânus, evitando-se cortar na linha mediana ventral do corpo, a fim de se preservar as proporções corporais em função de estudos futuros;

B) Do ponto acima, verticalmente, de baixo para cima, até a série de escamas E1;

C) A partir do ponto acima, outra horizontal no sentido da cauda para a cabeça até a interseção entre E1 e a vertical tomada da base do último raio da nadadeira pélvica.

O resultado é um corte em formato de “C” em vista lateral do lado direito do corpo, dentro do qual se encontra a cavidade abdominal, como se verifica na Fig. 6.

Rebate-se a pele cortada em direção à cabeça e se observa a consistência, formato e tamanho das gônadas, localizadas na região póstero-dorsal da cavidade abdominal, adjacente à bexiga natatória, acima dela. Por transparência, é possível notar se há ranhuras transversais nas gônadas mais delgadas, indicativo de sexo masculino, ou então os óvulos em diferentes fases de desenvolvimento nas gônadas, estas em forma de clava, indicativo de sexo feminino. A confirmação teve que ser feita, algumas vezes, retirando-se pequena parte da gônada com bisturi, a qual foi observada em lupa por meio de luz transmitida, revelando a natureza sexual do tecido.

2.5. Proporções corporais

As Tabelas 1-2 apresentam as amplitudes de variação das percentagens em relação ao comprimento padrão, ao comprimento da cabeça, à distância peitoral-pélvica e à altura do pedúnculo caudal, assim como dados merísticos, entre as duas populações de *Australoheros*, enquanto as Tabelas 3-5 apresentam os dados obtidos com os holótipos e parátipos de *A. ipatinguensis* e *A. perdi* que se encontravam no laboratório (material emprestado gentilmente pela UFRJ e MZUSP), bem como dados de Ottoni & Costa (2008), Ottoni *et al.* (2011) e Ottoni (2012) referentes a *A. ipatinguensis*, *A. perdi* e *A. mattosi*. Calcularam-se as percentagens em relação a estas medidas em todos os indivíduos de cada população, porém, a fim de se manter o padrão adotado em artigos referentes ao gênero (Rícan & Kullander, 2006, 2008; Ottoni & Costa, 2008; Ottoni & Cheffe, 2009; Ottoni, 2010, 2012; Ottoni *et al.*, 2011), foram apresentadas nas Tabelas 1-5, as amplitudes encontradas em indivíduos com, no mínimo, 50 mm CP, tamanho este relativo a indivíduos adultos (ver Tabelas 6-7 e Discussão para detalhes).

2.6. Análises estatísticas

Foram feitas análises de regressão linear simples e covariância (ANCOVA) entre as duas novas espécies para todas as proporções corporais em relação ao comprimento padrão, a saber: comprimento da cabeça, altura da cabeça, altura cefálica preorbital, comprimento do focinho, diâmetro orbital horizontal, altura da órbita, comprimento da maxila superior, comprimento da mandíbula, largura interorbital, altura do corpo, largura do corpo, comprimento da base da nadadeira peitoral, comprimento da nadadeira peitoral, comprimento da nadadeira pélvica, comprimento do espinho da nadadeira pélvica, distância peitoral-pélvica, comprimento da base da nadadeira dorsal, comprimento do último espinho da nadadeira dorsal, comprimento da base da nadadeira anal, comprimento do último espinho da nadadeira anal, comprimento pré-dorsal, comprimento pré-pélvico, comprimento da nadadeira caudal, comprimento do pedúnculo caudal e altura do pedúnculo caudal, totalizando 25 análises. Também foram feitas as mesmas análises estatísticas entre as novas espécies para as seguintes proporções corporais em relação ao comprimento da cabeça: largura do corpo, altura da cabeça, altura cefálica preorbital, comprimento do focinho, diâmetro orbital horizontal, altura da órbita, comprimento da maxila superior, comprimento da mandíbula e largura interorbital, ou seja, mais nove análises. Estudos estatísticos também foram feitos do comprimento do pedúnculo caudal em relação à sua altura e da base da nadadeira peitoral em relação à distância peitoral-pélvica, completando 36 análises. Finalmente, foram feitas todas as análises estatísticas das proporções corporais no holótipo e em 19 parátipos de *A. perdi*, exceto as relativas ao diâmetro orbital horizontal, altura da órbita, comprimento do espinho da nadadeira pélvica, comprimento da nadadeira pélvica, comprimento da base da nadadeira anal e comprimento pré-pélvico.

Por meio de regressão linear simples e ANCOVA foram encontradas e caracterizadas alometrias diferentes em muitas proporções entre as duas novas espécies. Serão apresentadas no corpo deste trabalho apenas aquelas em que os valores de r^2 (R-quadrado) sejam 0,6 ou mais (o que significa maior relação entre os parâmetros analisados), cujo valor-P seja menor que 5% ($P \leq 0,05$, o que significa maior significância na distinção entre as duas espécies e menor probabilidade de se rejeitar a hipótese de que sejam da mesma espécie) e nas quais se notaram padrões distintos muito claros entre *Australoheros* sp. n. 1 e *A.* sp. n. 2 (ainda que tenham valores baixos de R-quadrado, desde que $P \leq 0,05$).

2.6.1. Regressão linear simples

Foi feita regressão linear simples com todas as proporções corporais dos indivíduos de *Australoheros* do PNSC ($n = 44$) e *Australoheros* de Peti ($n = 46$), sejam em relação ao comprimento padrão, ao comprimento da cabeça, à distância peitoral-pélvica e à altura do pedúnculo caudal, utilizando-

se o programa Excel (Microsoft – Windows XP 2010), conforme o tutorial: a) importar dados (Ctrl+C e Ctrl+V) para a planilha do Excel; b) selecionar tudo; c) “Inserir”; d) “Linhas”; e) “Todos os tipos de gráfico”; e f) “X Y (Dispersão)”, do qual se obtém um gráfico de dispersão. Logo após, clicou-se com o botão direito do *mouse* sobre os pontos do gráfico obtido e, depois, em “Adicionar linha de tendência”, no qual se selecionaram: a) “Tipo de Regressão: Linear”; b) “Nome da Linha de Tendência: Automático”; c) “Avançar e Recuar: 0,0 períodos”; d) “Exibir equação no gráfico”; e e) “Exibir valor de R-quadrado no gráfico”. Todo este procedimento foi repetido com cada proporção. Quanto mais próximos de um forem os valores de R-quadrado (r^2), mais fortes serão as relações entre as duas variáveis (os pontos relativos aos dados, nos gráficos, estarão mais próximos à reta), enquanto valores progressivamente menores que um implicarão fracas relações entre as mesmas variáveis (os pontos relativos aos dados, nos gráficos, estarão mais dispersos, distantes, uns dos outros e da reta). Valores muito baixos de r^2 significam, em outras palavras, que outras variáveis independentes (eixo “X”) poderão justificar determinadas variáveis dependentes (eixo “Y”). Exemplo: se entre as variáveis peso (dependente) e comprimento (independente) houver uma reta positiva com $r^2 = 0,85$, logo, o comprimento justifica 85% do peso, enquanto os demais 15% são explicados por outras variáveis independentes (largura, altura etc). A variável dependente é a do eixo “Y”, enquanto a independente, a do eixo “X”, nos gráficos. Quanto às retas de regressão obtidas nos gráficos, elas poderão ser positivas (quanto maior o valor de “X”, maior o de “Y”) ou negativas (vice-versa), o que significa que a variável dependente (eixo “Y”) aumenta ou diminui em relação à variável independente (eixo “X”). Serão apresentados apenas os gráficos com as proporções que demonstrarem distinções claras entre as populações de *Australoheros* do PNSC e de *Australoheros* de Peti.

2.6.2. Covariância (ANCOVA)

ANCOVA é uma análise de covariância que combina a regressão e a ANOVA, em que se analisam os dados da variável dependente (eixo “Y”) e também variáveis preditoras quantitativas condicionantes, chamadas covariáveis, as quais não foram controladas pelos procedimentos experimentais. ANCOVA analisa a correlação entre estas covariáveis e a variável dependente, depois removendo a variância associada às covariáveis dos resultados da variável dependente, ao que se determina, depois, se as diferenças entre as médias nas condições experimentais são estatisticamente significativas ($P = 0,05$, onde P significa a chance de se afirmar que a hipótese nula é falsa quando, na realidade, ela é verdadeira) (Hammer *et al.*, 2001).

Para esta análise utilizou-se o programa PAST (PAleontological STatistics), versão 94.1b, muito usado em paleontologia, mas também aplicável em outras áreas do conhecimento, como ecologia, geologia, economia e engenharia (Hammer *et al.*, 2001).

As informações necessárias para as análises estatísticas utilizadas foram retiradas de Hammer & Harper (2006).

2.6.2.1. Formatação dos dados

A) Inserção de todos os dados morfométricos de cada espécime (como medidas brutas e não como percentagens) na tabela do programa PAST, de maneira que o número de cada indivíduo defina as linhas e que o tipo de medida defina as colunas, o que é possível marcando-se, primeiramente, a opção “Edit Labels” na parte superior da tela (o que permite alterações na tabela). Os dados das duas populações devem ser colocados na mesma tabela, porém, em colunas distintas, sendo a primeira coluna a da variável independente da primeira população (eixo “X”) e a segunda coluna a da variável dependente da primeira população (eixo “Y”). A terceira coluna é a da variável independente da segunda população (eixo “X”), enquanto a quarta coluna é da variável dependente da segunda população (eixo “Y”). Deste modo, formam-se quatro colunas. Como os dados estavam guardados no programa Excel, eles foram copiados e colados diretamente na tabela do PAST. Logo após este procedimento, deve-se retirar a opção “Edit Labels”, a fim de os dados ficarem fixos na tabela.

B) Com o *mouse*, selecionam-se todos os dados e, no menu “Statistics”, escolhe-se a opção “One-way ANCOVA”.

C) Também se testou de outra forma, a saber: na segunda coluna inseriram-se as proporções morfométricas da variável dependente em relação à variável independente do primeiro grupo (eixo “Y”), e, na quarta coluna, as proporções morfométricas da variável dependente em relação à variável independente do segundo grupo (eixo “Y”).

Com os dados de r^2 (obtidos por meio do Excel) e os de ANCOVA (gráficos e valores de P) construíram-se figuras dos gráficos demonstrativos, utilizando-se o programa Paint (Windows).

2.6.3. Análises de componentes principais e “cluster”

Foram empregadas análises quantitativas das medidas morfométricas de *Australoheros* do PNSC e A. de Peti, a fim de se obter diferenciação entre estas espécies. Para isto, novamente se utilizou o programa PAST (PAleontological STatistics), versão 94.1b.

2.6.3.1. Formatação dos dados

A) Inserção dos dados morfométricos de cada espécime (como medidas brutas e não como percentagens) na tabela do programa PAST, de maneira que o número de cada indivíduo defina as linhas e que o tipo de medida defina as colunas, o que é possível marcando-se, primeiramente, a opção “Edit Labels” na parte superior da tela (o que permite alterações na tabela). Os dados das diferentes espécies devem ser colocados na mesma tabela, compartilhando as mesmas colunas. Como os dados estavam guardados no programa Excel, eles foram copiados e colados diretamente na tabela do PAST. Logo após este procedimento, deve-se retirar a opção “Edit Labels”, a fim de os dados ficarem fixos na tabela.

B) Marcação dos indivíduos de cada grupo de espécimes com uma cor determinada, usando-se a opção “Row color/symbol” no menu “Edit”). Deste modo, o programa reconhecerá cada conjunto de indivíduos como um grupo diferente a ser estudado.

C) Aplicação de uma correção de desvio das medidas causado pelas diferenças de tamanho intraespecíficas, as quais se devem ao fato dos indivíduos de cada grupo serem de idades diversas (com juvenis e adultos misturados). Para isso deve-se usar o método alométrico de Burnaby, que aplica um logaritmo nas medidas, a fim de se corrigir o efeito do crescimento, e depois projeta as medidas em um espaço ortogonal ao primeiro componente principal (para corrigir as variações de tamanho não devidas ao crescimento). Selecionam-se todos os dados da tabela e, ao entrar no menu “Transform”, clica-se na opção “Remove size from distances”. Depois, seleciona-se a opção “Allometric Burnaby”.

2.6.3.2. Componentes Principais

Primeiramente, fez-se esta análise, na qual se encontram variáveis hipotéticas (os denominados componentes), responsáveis pela maior parte das variações entre os dados comparados. Estas variáveis são combinações lineares ortogonais das variáveis originais, de modo que estas fiquem reduzidas a apenas dois componentes principais. Os dados são então plotados em um novo sistema de coordenadas, definido pelos dois componentes principais. A análise de componentes principais é, portanto, uma maneira de

projetar pontos amostrais, originalmente presentes em um espaço multidimensional, para um plano bidimensional, com uma perda mínima de variação.

O tutorial utilizado é o que segue:

A) Seleção com o *mouse* de todas as medidas de ambos os grupos;

B) Seleção, dentro do menu “Multivar”, da opção “Principal components” e, dentro da mesma, da opção “Var-covar” (usado para medidas feitas todas na mesma unidade);

C) Seleção da opção “View scatter” (para visualizar a representação gráfica das medidas, plotadas em um sistema de coordenadas definido pelos dois componentes principais) e, então, na opção “95% elipses” (para visualizar as elipses de 95% de confiança para os pontos de cada grupo).

2.6.3.3. “Cluster”

A segunda análise realizada foi a de “clusters”, que consiste em agrupar cada conjunto de dados (neste caso, cada espécime medido) com o conjunto de dados mais similar a ele, formando um grande grupo (“cluster”) que, por sua vez, será agrupado com outro conjunto (simples ou “cluster”) que for o mais similar a ele, e assim sucessivamente. Esse processo termina originando um dendrograma, no qual cada dicotomia corresponde a um agrupamento entre conjuntos mais próximos.

Uma maneira evidente de se determinar a proximidade entre os conjuntos foi escolhida neste trabalho: é a distância euclidiana. Ela é simplesmente a distância linear entre dois pontos x e y em um espaço multidimensional, através da fórmula:

$$ED = \sqrt{\sum [(x_i - y_i)]^2}$$

Na qual ED corresponde à distância euclideana (“Euclidian Distance”) entre o conjunto de medidas x e o conjunto de medidas y .

O tutorial utilizado é o que segue:

A) Seleção com o *mouse* de todas as medidas de ambos os grupos;

B) Seleção, dentro do menu “Multivar”, da opção “Cluster Analysis” e, dentro da mesma, das opções “Paired group” e “Euclidean”.

2.7. Análise osteológica

2.7.1. Diafanização

A terminologia osteológica utilizada segue Rícan *et al.* (2011) e Ottoni (2012). Foram feitos três procedimentos de diafanização com um total de onze indivíduos de *Australoheros* das duas populações (cinco indivíduos de *Australoheros* do Cipó e seis de *Australoheros* de Peti). Seguiu-se o que é proposto por Taylor & Van Dyke (1985), cuja descrição das etapas é a seguinte:

Etapa 1 – Escolha dos indivíduos a serem diafanizados, tendo como critérios: A) não ser o maior e nem o menor indivíduo de cada população (mantendo-os para estudos de anatomia externa); B) indivíduos que representem, no conceito “tamanho”, adultos, formas jovens e indivíduos médios; C) serem, pelo menos, cinco indivíduos de cada população; e D) indivíduos já medidos e contados. Os frascos onde foram colocados os indivíduos e as soluções sempre foram bem lavados com água e detergente antes de seu uso;

Etapa 2 – Sexagem de indivíduos adultos (suas vísceras foram guardadas em álcool a 70% para análise posterior);

Etapa 3 – Indivíduos colocados em solução de álcool comercial (96 GL) por dois a sete dias;

Etapa 4 – Indivíduos colocados em solução de álcool absoluto (100%) por dois a quatro dias. O objetivo, até aqui, é a desidratação dos indivíduos;

Etapa 5 – Indivíduos colocados em solução corante de azul alciano (40 partes de ácido acético glacial e 60 partes de álcool etílico absoluto) por um a três dias, a fim de se corarem as cartilagens. Cuidou-se para que os frascos estivessem secos antes de se adicionar a solução;

Etapa 6 – Indivíduos colocados em solução saturada de bórax (tetraborato de sódio em pó dissolvido em água destilada) por um a dois dias. Essa Etapa foi usada muitas vezes durante o processo, para a neutralização;

Etapa 7 – Indivíduos colocados em solução branqueadora (100 mL de água destilada + 100 mL de água oxigenada 10 volumes + 3 pastilhas de KOH) por 40 a 140 minutos, com exposição à luz solar ou à luz artificial intensa. Formaram-se, vez por outra, bolhas, cuja grande intensidade (não observada) pode ser indício de acidificação da solução;

Etapa 8 – Indivíduos colocados em solução digestora (60% de água destilada + 40% de solução de bórax saturado + $\frac{1}{4}$ de colher de pancreatina por frasco de 300 mL) por quatro a doze dias, para que fossem digeridos os tecidos musculares e epiteliais, bem como a despigmentação em geral. Essa Etapa foi interrompida, variavelmente, pelas Etapas 6 e 7, sempre que houve necessidade;

Etapa 9 – O excesso de escamas dos indivíduos foi removido cuidadosamente e, logo após, os peixes foram colocados em solução de vermelho de alizarina (200 mL de água destilada + 3 pastilhas de KOH + vermelho de alizarina até a solução atingir a cor vinho) por 24 horas, a fim de se corar o esqueleto. O uso de KOH nesta solução deve-se à alteração do pH e favorecimento da fixação do corante aos ossos;

Etapa 10 – Indivíduos colocados em solução digestora até a diafanização, com trocas a cada semana;

Etapa 11 – Indivíduos colocados em solução saturada de bórax por dois dias; ou

Etapa 12 – Indivíduos colocados em soluções de glicerina com concentrações progressivamente maiores (25, 50, 75 e 100%), a fim de se evitar que os tecidos dos peixes retraiam rapidamente. Esta é a Etapa de diferenciação. O índice de refração da glicerina é similar ao do tecido mole dos indivíduos diafanizados, o que permite melhor visualização de seu esqueleto e cartilagens.

2.7.2. Dissecção, ilustrações e fotos

Material diafanizado foi dissecado seguindo Weitzman (1974), com o uso de bisturis, estiletos e tesoura oftálmica para microcirurgia, mantendo-se intacto o lado direito de cada espécime para estudos posteriores.

As etapas da dissecção foram:

A) Remoção dos ossos faciais:

- Separação da junção da sínfise mandibular, puxando os dentários de cada lado com duas pinças.
- Remoção do olho direito, sem destruir os ossos orbitais.
- Corte do assoalho de tecido mole da boca, desde a sínfise mandibular até o 1º basi-hial.
- Extensão do corte para trás, ladeando o basi-hial até a junção entre os ossos hipo-hiais dorsal e ventral de um lado e os ossos até o 1º basibrânquial e o hipobrânquial direitos, do outro lado.
- Separação do osso hipo-hial do aparelho hioide, junto com seus raios branquiostegiais, do 1º basibrânquial e hipobrânquial direitos, de modo que os hipo-hiais, cerato-hial anterior e cerato-hial posterior ficassem presos ao opérculo e livres da cesta branquial.
- Separação da junção entre os premaxilares, puxando estes últimos de cada lado com duas pinças.

- Separação dos ossos premaxilar, maxilar e palatino das cartilagens e dos ossos etmoides, o que é uma operação complexa, difícil de realizar sem danificar o espécime.

- Extensão do corte posteriormente, entre os ossos palatino e metapterigoide, de um lado, e o osso paraesfenoide, do outro, até alcançar a junta entre o osso hiomandibular e o crânio (mas sem cortá-la).

- Os ossos antorbital e nasal foram separados dos ossos etmoides (lateral e outros) de forma que permaneceram ligados aos ossos orbitais e maxilares do lado direito.

- Posicionamento do espécime de barriga para cima e separação dos seus ossos faciais direitos dos arcos branquiais, até expor a porção interna da junta capsular.

- Corte da junta, deslizando o bisturi afiado entre a superfície interna do hiomandibular e o crânio. Ao se cortar o ligamento entre eles, os ossos faciais se afastaram mais sob pressão lateral continuada, forçando o osso hiomandibular a saltar de sua junta fossiforme.

- Corte da pele e do tecido conjuntivo ao redor e acima do opérculo, na parte lateral da junção do osso hiomandibular com o crânio e na junção do esfenótico com o crânio, usando um bisturi.

B) Remoção da cintura peitoral:

- Corte dos ligamentos que unem as cinturas com tesoura e bisturi e, logo após, corte da junção entre a extremidade anterior dos coracoides, deslizando o bisturi entre os mesmos.

- Separação da margem posterior da cintura peitoral, cortando a pele, a musculatura e a fáscia entre a costela pleural anterior e a margem posterior da cintura peitoral direita.

- Extensão do corte dorsalmente, ao longo da margem da cintura peitoral, liberando o osso coracoide do crânio, destacando-se seu membro superior em relação ao epioccipital e, depois, removendo-se o osso extra-escapular juntamente com o membro superior do pós-temporal.

- Corte dos tecidos que separam o supracleitro, cleitro e coracoide do esôfago e da cavidade do corpo, soltando a cintura peitoral direita por completo.

C) Remoção da cintura pélvica:

- Corte dos tecidos moles ao redor da pelve direita, expondo seus ossos.

- Separação da junção da sínfise pélvica, puxando os ossos pélvicos de ambos os lados com duas pinças.

- Corte dos ligamentos restantes, que unem as cinturas, com uma tesoura ou bisturi, removendo a cintura pélvica direita por completo.

D) Remoção da cesta branquial:

- Separação dos ossos faringo-branquiais direitos dos seus ligamentos com o crânio.

- Corte dos ligamentos da parte posterior da cesta branquial e a porção anterior do tubo digestório e separação das barras epibranquiais com seus faringo-branquiais.

- Corte dos ligamentos do uro-hial da cintura peitoral esquerda.

- Separação dos faringo-branquiais do lado esquerdo dos seus epibranquiais, deixando os primeiros presos ao crânio.

- Corte dos raios branquiostegiais e do aparato hioide inferior, exceto os inter-hiais (tanto quanto possível), dos ossos faciais esquerdos e remoção da cesta branquial, juntamente com os ossos hioides inferiores esquerdos.

Ilustrações de esqueleto foram feitas em câmara clara por meio de lupa Leica MZ6, primeiramente em papel ofício branco e, logo após, utilizando-se folha vegetal para desenhos finais com canetas nanquim 0.2 e 0.05. Fotos de ossos da cabeça e do complexo caudal foram obtidas por meio de máquina digital Sony DSC-S730.

2.7.3. Radiografiação

Trinta e um indivíduos de *Australoheros* spp. foram radiografados na Escola de Veterinária da UFMG em uma mesa de comando Compacto 500 da marca VMI, regulada com um tempo de 0,04 segundos, tensão de 0,55 kV e corrente de 50 mA. Todo o material foi colocado em cassetes cobertos por plástico para as sessões de radiografia. As imagens foram processadas por um Sistema Digital CR e digitalizadas por meio do programa VEPRO ©. As imagens foram impressas em filmes próprios e também em formato digitalizado em CD-R.

Peixes radiografados, todos com, pelo menos, 40 mm CP: doze indivíduos de *Australoheros* de Peti (47,5-79,8 mm CP); oito de *Australoheros* do PNSC (39,3-87,1 mm CP); nove parátipos e o holótipo de *A. perdi* (50,6-121,5 mm CP); e o holótipo de *A. ipatinguensis* (53,5 mm CP).

2.8. Análise molecular

Nadadeiras direitas de cinco indivíduos de cada população (*Australoheros* de Peti, *A.* do PNSC e *A. ipatinguensis*) foram cortadas, fixadas e mantidas em álcool absoluto, a fim de se fazer análise molecular de DNA. Os espécimes de *A. ipatinguensis* e de *Australoheros* do PNSC foram fixados em álcool absoluto. Os indivíduos de *A. ipatinguensis* mantiveram-se em álcool absoluto, enquanto os de *A.* do PNSC foram transferidos para álcool a 70%.

DNA dos tecidos de nadadeiras de *Australoheros* do PNSC, *A.* de Peti e *A. ipatinguensis* foi isolado por homogeneização e digestão com proteinase K a 37° C “overnight”. Um fragmento de aproximadamente 650 bp do gene mitocondrial COI foi amplificado via reação em cadeia da polimerase (PCR), usando os oligonucleotídeos iniciadores (“primers”) FishF1 e FishR1 (Ward *et al.*, 2005), contendo 17,65 µl de água ultrapura, 2,5 µl de tampão 5X, 2,0 µl de dNTP (10 mM), 0,75 µl de MgCl₂ (50 mM), 0,5 µl de cada “primer” (10 µM), 0,1 µl de Taq DNA Polimerase e 1 µl de DNA molde. As condições de ciclos térmicos consistiram de um passo de desnaturação inicial a 95°C por 2 min, 35 ciclos a 94°C por 30 s, 54°C por 30 s e 72° C por 1 min, com uma extensão final a 72°C por 10 min. Os produtos da PCR (1-2 µl) foram visualizados em um gel de agarose e selecionados para sequenciamento direto. As sequências foram determinadas bidirecionalmente usando-se o Kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems, Inc., Foster City, California, USA), seguindo o protocolo do fabricante no equipamento a laser ABI PRISM 3130 Genetic Analyser.

As sequências COI foram analisadas através de uma pesquisa no banco de dados GenBank usando-se o algoritmo BLASTN (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) e por meio de pesquisa no BOLD (<http://www.boldsystems.org>). Sequências com baixa divergência pesquisadas com o GenBank e o sistema BOLD foram selecionadas para serem analisadas. Para fornecer uma representação gráfica da divergência entre as amostras analisadas, foi obtida uma árvore “neighbor-joining” (Saitou & Nei, 1987), utilizando-se o modelo de substituição de nucleotídeos em dois parâmetros de Kimura (K2P; Kimura, 1980) no programa Mega 5.10 (Tamura *et al.*, 2011).

2.9. Delimitação de espécie

Foi utilizada a delimitação de espécie segundo Davis & Nixon (1992). Este procedimento consiste em levantar, para cada conjunto de indivíduos de um determinado ponto de coleta, por exemplo, características e seus diferentes estados para cada exemplar. Ao se comparar, no caso deste trabalho, os estados de característica nos indivíduos de diferentes pontos, chega-se à conclusão se um estado de caráter foi “fixado” para aquele conjunto naquela região geográfica considerada, chamado de população. “Fixação” significa isolamento de linhagem suficiente para que um estado de caráter se apresente em todos os indivíduos daquela população, enquanto a “não fixação” seria a presença de diferentes estados para a mesma. Ao se comparar com outras populações, caso haja pelo menos um estado totalmente “fixado” que não seja encontrado na outra população considerada, sugere-se de que se trata de espécies distintas. Infere-se que a “não fixação” indica que ainda não houve diferenciação específica. A Tabela 7 simplifica este procedimento.

Optou-se por esta delimitação de espécie, porque possui teste simples e de clara observação, além de ser utilizado por outros autores em trabalhos relativos ao gênero *Australoheros* (Ottoni, 2010, 2012; Ottoni *et al.*, 2011; Rícan & Kullander, 2006; Schindler *et al.*, 2010), o que auxilia padronização metodológica ao se comparar os resultados. Tentou-se executar a mesma delimitação de espécie com dados moleculares, porém o material de *A. de Peti* apresentou problemas durante o processo de análise molecular, além não se obter material de *A. mattosi* e *A. perdi* para este tipo de estudo. Segundo Wiens & Servedio (2000), quanto maior a amostragem, para o caso de delimitação de espécie de Davis & Nixon (1992), mais segura é a interpretação da “fixação” de estados de caracteres. Deste modo, um grande esforço amostral foi feito, mas houve pouco êxito, o que limitou a comparação de material apenas referente a *A. do PNSC*, *A. de Peti* e *A. ipatinguensis* (para esta última, foram obtidos somente indivíduos jovens). Nenhum espécime de *A. mattosi* foi encontrado durante os trabalhos de coletas.

Esse procedimento de delimitação de espécie foi utilizado com uma adaptação importante: somente foram usados, para comparação, semáforos equivalentes quanto ao tamanho, seja para os espécimes analisados assim como para aqueles encontrados na literatura. Deste modo, consideraram-se apenas exemplares adultos para o procedimento, com 50 mm CP ou mais (nos exemplares analisados neste trabalho), ou com 40 mm CP ou mais, dependendo da espécie, na literatura. Considerou-se o desenvolvimento ontogenético, o que não foi observado no trabalho de Davis & Nixon (1992).

3. RESULTADOS

3.1. Descrição da anatomia externa das duas novas espécies

3.1.1. *Australoheros* sp. n. 1 (Figs. 7-8)

3.1.1.1. *Holótipo*

DZUFMG 130, 107,8 mm CP, macho, lagoa Comprida, 19°22'37" S, 43°35'44" O, margem esquerda do rio Cipó, bacia do médio rio São Francisco, Parque Nacional da Serra do Cipó, município de Jaboticatubas, estado de Minas Gerais, 24 de maio de 2012, col. Carmo, G. F. & Triques, M. L.

3.1.1.2. *Parátipos*

Todos os indivíduos foram coletados no município de Jaboticatubas, estado de Minas Gerais, Brasil: DZUFMG 098, 1, 82,9 mm CP, rio Cipó, próximo à Sede do IBAMA, Parque Nacional da Serra do Cipó, 25 de novembro de 2000, Exc. Disciplina de Ictiologia; DZUFMG 099, 2, 18,2-80,1 mm CP, ribeirão Mascates, afluente do rio Cipó, Exc. Disciplina de Ictiologia, sem dados de coleta; DZUFMG 104, 1, 79,2 mm CP, córrego das Pedras, próximo à Sede do IBAMA, Parque Nacional da Serra do Cipó, 25 de novembro de 2000; DZUFMG 105, 6, 25,3-87,1 mm CP, lagoa Comprida, 19°22'37"S, 43°35'44"O, margem esquerda do ribeirão Mascates, tributário da margem esquerda do rio Cipó, Parque Nacional da Serra do Cipó, 25 de novembro de 2000, Excursão DZUFMG; DZUFMG 106, 2, 32,8-41,0 mm CP, lago junto à lagoa dos Sapos, próximo ao rio Cipó e à Sede do IBAMA, Parque Nacional da Serra do Cipó, 10 de março de 2002, Exc. Disciplina de Ictiologia; DZUFMG 107, 14, 27,0-50,8 mm CP, lagoa Comprida, 19°22'37"S, 43°35'44"O, margem esquerda do ribeirão Mascates, tributário da margem esquerda do rio Cipó, Parque Nacional da Serra do Cipó, 25 de novembro de 2000, Excursão DZUFMG; DZUFMG 108, 1 diafanizado, 78,5 mm CP, extremidade SE da lagoa Comprida, margem esquerda do ribeirão Mascates, tributário da margem esquerda do rio Cipó, Parque Nacional da Serra do Cipó, 28 de março de 2002, Exc. Disciplina de Ictiologia; DZUFMG 118, 1 diafanizado, 43,9 mm CP, lagoa Comprida, 19°22'37"S, 43°35'44"O, margem esquerda do ribeirão Mascates, tributário da margem esquerda do rio Cipó, Parque Nacional da Serra do Cipó, 25 de novembro de 2000, Excursão DZUFMG; DZUFMG 122, 2 diafanizados, 39,0-48,4 mm CP, lago junto à lagoa dos Sapos, próximo ao rio Cipó e à Sede do IBAMA, 10 de março de 2002, Exc. Disciplina de Ictiologia; DZUFMG 123, 1 diafanizado, 23,7 mm CP, lagoa Comprida, 19°22'37"S, 43°35'44"O, margem esquerda do ribeirão Mascates, tributário da margem esquerda do rio Cipó, Parque Nacional da Serra do Cipó, 25 de novembro de 2000, Excursão DZUFMG; DZUFMG 125, 38, 14,8-65,4 mm CP, (7, 56,7-93,1 mm CP), córrego Zé Coelho, 19°20'59" S, 43°37'58" O, afluente margem esquerda rio Cipó, estrada de chão entre MG-010 e a Sede do PNSC, 23 e 24 de maio de 2012, col. Carmo, G. F. & Triques, M. L.; DZUFMG

126, 1, 110,9 mm CP, lagoa Comprida, 19°22'37" S, 43°35'44" O, margem esquerda do rio Cipó, bacia do médio rio São Francisco, Parque Nacional da Serra do Cipó, 24 de maio de 2012, col. Carmo, G. F. & Triques, M. L.; UFRJ 8970, 3, 29,7-39,3 mm CP, lagoa Comprida, 19°22'37" S, 43°35'44" O, margem esquerda do rio Cipó, bacia do médio rio São Francisco, Parque Nacional da Serra do Cipó, 25 de novembro de 2000, Excursão DZUFMG; UFRJ 8971, 3, 38,3-93,1 mm CP, córrego Zé Coelho, afluyente margem esquerda rio Cipó, estrada de chão entre MG-010 e a Sede do PNSC, 19°20'59" S, 43°37'58" O, 23 e 24 de maio de 2012, col. Carmo, G. F. & Triques, M. L.

3.1.1.3. Diagnose

Australoheros sp. n. 1 distingue-se de todas as outras espécies do gênero, exceto *A. taura*, por apresentar perfil dorsal do corpo entre o 2º e o último espinho da nadadeira dorsal reto e inclinado para baixo e para trás, em indivíduos maiores que 39 mm CP (vs. convexo nas demais espécies, incluindo *A. sp. n. 2*) e de *A. taura* por apresentar a mancha do pedúnculo caudal conspícua (vs. muito estreita ou inexistente em *A. taura*), por ter forte convexidade na região pré-dorsal em adultos maiores que 63 mm CP, formando uma corcova (vs. região pré-dorsal levemente convexa em *A. taura*), por ter perfil dorsal cefálico com depressão sobre o olho (vs. perfil dorsal cefálico levemente convexo em *A. taura*) e ser a largura da cabeça 57,4-69,2% do comprimento da cabeça (vs. largura da cabeça 46,9-52,7% do comprimento da cabeça em *A. taura*), além de muitas outras; também distingue-se de *A. sp. n. 2* por apresentar forte convexidade na região pré-dorsal em adultos maiores que 63 mm CP (vs. região pré-dorsal levemente convexa nesta espécie), por apresentar filamento da nadadeira pélvica alcançando, no máximo, metade da base da nadadeira anal (vs. até a base do último raio desta nadadeira em *A. sp. n. 2*) e por apresentar filamento da nadadeira anal alcançando, no máximo, três quartos da nadadeira caudal (vs. ultrapassando a margem posterior desta nadadeira em *A. sp. n. 2*).

3.1.1.4. Descrição

Baseada em 45 indivíduos, incluindo espécimes pequenos, médios e grandes. Dados morfométricos e merísticos estão nas Tabelas 1-2. Corpo alongado e lateralmente comprimido. Perfil dorsal da cabeça levemente convexo no focinho até a vertical que passa pela metade do olho, sobre o qual há uma depressão (esta última nítida, em espécimes acima de 25 mm CP), com forte convexidade formando uma corcova cefálica deste ponto até a origem da nadadeira dorsal em indivíduos maiores que 63 mm CP (levemente convexo nesta região em indivíduos menores). Perfil dorsal da base da nadadeira dorsal reto

entre o 2º e o último espinho, inclinado para baixo e para trás, convexo deste ponto até o término da base e aproximadamente reto e oblíquo para baixo deste ponto até o fim do pedúnculo caudal (em indivíduos maiores que 39 mm CP, sendo o perfil dorsal do corpo levemente convexo em indivíduos menores). Perfil ventral desde a sínfise mandibular até a origem da nadadeira pélvica convexo, deste ponto até o ânus levemente côncavo, aproximadamente reto e horizontal sob a região espinhosa da nadadeira anal, convexo sob a região dos raios e aproximadamente reto e oblíquo para cima deste ponto até o fim do pedúnculo caudal. Boca terminal; extremidade posterior do osso maxilar não alcançando vertical pela margem anterior da órbita. Dobra de pele do lábio inferior cobrindo porção correspondente à do lábio superior no canto da boca, cobrindo o osso maxilar superior lateralmente, formando um sulco ao longo do osso maxilar, característica para a protração da maxila superior. Mandíbula quase do mesmo tamanho da maxila superior. Dentes orais caniniformes sem cúspides laterais, um pouco recurvados para trás, hialinos com cúspides vermelhas. Série de dentes aumenta levemente em tamanho em direção à sínfise, sendo aproximadamente de mesmo tamanho os dentes mais anteriores das maxilas superior e inferior. Horizontal pela margem inferior da órbita passa pela sínfise maxilar superior ou pouco acima dela em indivíduos acima de 51 mm CP (em juvenis, passa entre mandíbula e maxilar superior quando a boca está fechada). Narina única, na metade da distância entre a sínfise da maxila superior e a margem anterior do olho (mais próxima desta margem em indivíduos menores que 51 mm CP). Opérculo não serrado.

Escamas do corpo ctenoides, exceto aquelas adjacentes à base da nadadeira dorsal e algumas das menores escamas adjacentes à base da nadadeira anal. Escamas do opérculo e pré-opérculo cicloides. Uma a quatro séries de escamas nas bochechas (escamas das bochechas inexistentes em indivíduos abaixo de 21 mm CP). Escamas na cabeça e peito pouco menores que as dos flancos. Base da nadadeira dorsal com série simples de escamas a partir do 10º espinho ao 1º raio dela (ausente em indivíduos menores que 22 mm CP). Segunda série de pequenas escamas adjacente à 1ª série na membrana da nadadeira dorsal a partir do último espinho ao 4º raio (ausente em indivíduos menores que 27 mm CP). Base da nadadeira anal com série simples de escamas a partir do 4º espinho ao 2º raio dela (ausente em indivíduos menores que 22 mm CP). Segunda série de pequenas escamas adjacente à 1ª série na membrana da nadadeira anal a partir do 1º ao 4º raios (ausente em indivíduos menores que 27 mm CP).

Nadadeira dorsal com origem localizada ao nível da margem posterior do opérculo; margem distal levemente convexa, com filamento longo na sua extremidade posterior, formado pelos raios de nº 3-5, alcançando metade da nadadeira caudal ou seu fim em indivíduos maiores que 55 mm CP (em indivíduos menores, moderadamente afilado e alcançando, no máximo, o primeiro terço da nadadeira caudal).

Nadadeira anal com origem localizada em vertical pela margem mais anterior da 4ª barra do tronco; levemente convexa, com filamento longo na sua extremidade posterior formado pelos raios de nº 3-4, alcançando metade até três quartos da nadadeira caudal em indivíduos maiores que 43 mm CP (moderadamente afilado em indivíduos menores, alcançando, no máximo, o primeiro terço da nadadeira caudal). Nadadeira caudal moderadamente alongada com margem distal arredondada; primeiro quinto até terço proximal recoberto por escamas pequenas ctenoides (ausentes em indivíduos menores que 25 mm CP). Nadadeira peitoral com origem na vertical que passa entre o primeiro e o segundo espinhos da nadadeira dorsal; extremidade distal convexa, estendendo-se até próximo da vertical que passa pela base do primeiro espinho da nadadeira anal e, também, na margem anterior da barra do tronco nº 4; base menor que a distância entre a base do último raio desta nadadeira e a origem da pélvica. Nadadeira pélvica com origem na vertical ou imediatamente posterior à origem da nadadeira peitoral; filamento formado pelos raios de nº 1-2 alcançando entre o 3º espinho e o 1º raio da nadadeira anal e, igualmente, entre as barras nº 2 e 3 do tronco (apenas moderadamente afilada em indivíduos menores até 15 mm CP que, quando adpressa, não alcança a origem da nadadeira anal).

Ectopterigoide amplo em vista lateral, com margem anterior convexa (Fig. 9; Ottoni & Costa, 2008: 211, fig. 3B). Braço do epibrânquial 1 longo e epibrânquial 2 com processos tubulares anterior e posterior longos, cujo comprimento é duas vezes seu diâmetro, aproximadamente (Ottoni & Costa, 2008: 211, fig. 4A e 4C). Microbranquiospinhos presentes somente no lado dorsal médio-posterior do ceratobranquial 4. Ceratobranquiais 5 parcialmente suturados medialmente e relativamente robustos, com 6-7 dentes ao longo da linha mediana e 22-24 dentes na sua margem posterior. Dentes posteriores tendem a ser progressivamente mais comprimidos e delgados quanto mais distantes da linha mediana. Dentes maiores medial e posteriormente, gradualmente menores anterior e lateralmente. Dentes posteriores com cúspide posterior curvada anteriormente, com uma segunda cúspide erguendo-se na região subapical anterior. Placa dentífera faringiana inferior formada pelos ceratobranquiais 5 40-60% mais larga que longa.

3.1.1.5. Coloração

3.2.1.5.1. Coloração em álcool

Cor de fundo da cabeça e do corpo castanho (mais claro em indivíduos menores). Lateral do corpo com sete barras verticais castanho-escuras (mais claras em indivíduos menores; apenas um indivíduo de 47,9 mm CP apresentou oito barras). Lista longitudinal castanho-escuro difusa e larga acima do meio do flanco, ao longo das séries de escamas E0 e E1, levemente mais escura que as barras verticais, com a

espessura de duas séries de escamas, prolongando-se da barra vertical 1 até a região póstero-superior do opérculo, conectando as barras 5-7 ao nível da série de escamas E1 (em indivíduos menores, barras verticais 5-7 conectadas dorsalmente abaixo do nível da linha lateral superior por meio desta lista longitudinal, sendo esta castanho-escura e larga acima do meio do flanco, prolongando-se na região póstero-superior do opérculo e da região posterior da órbita).

Todas as barras verticais do tronco são contínuas, exceto as de nº 6-7, que são interrompidas acima da lista longitudinal (em indivíduos menores, pode haver interrupção ou não). Três barras verticais abdominais em qualquer fase da vida (apenas um indivíduo, com 47,9 mm CP, apresentou 4 barras verticais abdominais). Barras 1-4 curvas, com a concavidade direcionada posteriormente (também em indivíduos menores). Barra vertical 5 aproximadamente retilínea (também em indivíduos menores). Barras verticais 6-7 curvas, com a concavidade direcionada anteriormente (em indivíduos menores, a barra 6 pode ser retilínea). Barra 5 bifurcada, ora dorsalmente apenas (em forma de "Y"), ora dorsal e ventralmente (em forma de "X"), sempre a partir da série de escamas E1, cujo braço posterior tem a mesma largura que o anterior (em indivíduos menores, somente a barra vertical 5 ou a 6 com bifurcação em forma de "Y"). Barras verticais 1-4 e 6-7 sem bifurcações ventralmente.

Três manchas escuras presentes. A mancha do pedúnculo caudal é conspícua, elipsoide, verticalmente alongada (altura duas a três vezes a largura) e passando pela linha lateral inferior. A mancha sobre a barra vertical 4 é menos conspícua em adultos e melhor visível em indivíduos menores, posicionando-se ao nível da lista longitudinal que une as barras verticais 5-7, entre as linhas laterais. A mancha sobre a margem posterior do opérculo é conspícua em adultos e menos visível em indivíduos menores, contínua à lista longitudinal.

Cabeça com duas barras dorsais castanho-escuras conspícuas, de um lado ao outro da cabeça. A primeira, no nível da margem orbital posterior; a segunda, no nível da margem anterorbital.

Nadadeira dorsal castanho-escuro na região dos espinhos, castanho-clara sobre os raios (esta, hialina em indivíduos menores), levemente invadida pelas barras verticais do tronco, um pouco mais escuras (tal invasão não ocorre ou é imperceptível em indivíduos menores que 20 mm CP). Nadadeira anal castanho-escuro, levemente invadida pelas barras verticais do tronco, estas um pouco mais escuras. Primeiro terço da nadadeira caudal castanho-escuro; deste ponto até o segundo terço castanho-claro; e terço distal com coloração levemente mais escura, formando três faixas verticais de diferentes cores

(totalmente hialina, em indivíduos menores). Nadadeira peitoral hialina. Nadadeira pélvica castanho-escuro uniforme, às vezes com porção distal hialina (principalmente em indivíduos menores).

Dimorfismo sexual não observado. Maior macho com 110,9 mm CP; maior fêmea, 68,8 mm CP.

3.1.1.5.2. Coloração *in vivo*

Baseada em doze indivíduos. Coloração de fundo, em geral, castanho-clara a amarelada, com tonalidade cinza em juvenis. Região ventral rósea. Barras verticais castanho-escuras a pretas e lista longitudinal pouco mais escura que estas barras, principalmente entre as barras 4-7. Há iridescência esverdeada ao longo dos flancos, mais intensa no opérculo, próxima e sobre a lista longitudinal. Íris amarelada em indivíduos com mais de 50 mm CP, castanho-escura nos de menor porte. Cabeça com mesmo padrão de colorido do restante do corpo, incluindo as três barras escuras da região dorsal, às vezes apresentando coloração amarela intensa em sua região pré-dorsal. Olhos não são atravessados pela lista longitudinal e nem pela barra 1 da cabeça, possuindo coloração variando do castanho (juvenis) ao amarelo (indivíduos maiores que 50 mm CP).

Nadadeira dorsal amarelada, cinza a hialina em indivíduos menores que 50 mm CP, apresentando manchas alaranjadas verticalmente alongadas entre raios e espinhos ao longo do comprimento da nadadeira, aparentemente se restringindo à parte posterior da mesma em indivíduos maiores que 90 mm CP, sendo ausentes em indivíduos maiores que 100 mm CP. Margem superior desta nadadeira apresenta tonalidade hialina ou azulada em indivíduos maiores que 30 mm CP. Há invasão parcial das barras verticais nesta nadadeira, mas com coloração mais clara que as dos flancos, em indivíduos maiores que 40 mm CP. Indivíduos grandes, possivelmente em período reprodutivo, apresentam escamas verdes na base desta nadadeira.

Nadadeira anal mais escura que a dorsal, castanho-claro com tonalidade amarelada em indivíduos maiores que 40 mm CP, não tendo tal tonalidade em juvenis. Terço posterior amarelo em indivíduos maiores que 40 mm CP, sendo hialino em juvenis. Indivíduos grandes supostamente em período reprodutivo apresentam escamas verdes metálicas na base desta nadadeira, além de região central escura e margem póstero-ventral amarela.

Nadadeira pélvica castanho-escura, com tonalidade amarelo-esverdeada, mais marcante em indivíduos maiores que 40 mm CP, sempre com a membrana e raios 1-2 mais escuros que o restante desta

nadadeira. Nadadeira peitoral amarelada em indivíduos maiores que 30 mm CP, sendo hialina nos menores.

Nadadeira caudal amarelada, mais escura no seu terço proximal, com margem posterior rósea ou com duas manchas róseas nas extremidades dorsal e ventral. Indivíduos menores que 40 mm CP apresentam coloração da nadadeira caudal hialina (com ou sem tonalidade amarelada) com manchas em padrão xadrez escuras.

O holótipo apresenta as seguintes distinções em relação à coloração *in vivo*: nadadeira caudal com primeiro terço preto, segundo terço amarelo e terço final também preto, formando um “V” com o vértice direcionado posteriormente.

3.1.2. *Australoheros* sp. n. 2 (Figs. 10-11)

3.1.2.1. *Material tipo*

Todos os indivíduos sob os acrônimos DZUFMG e UFRJ foram coletados no córrego do Doné, na Reserva Particular do Patrimônio Natural, Estação Ambiental de Peti/CEMIG, município de São Gonçalo do Rio Abaixo, Estado de Minas Gerais, Brasil, 19° 52' S, 43° 22' O, a 780 m de altitude, exceto dois indivíduos coletados por Vieira, F. e Gomes, J. P. C., sem tombo. DZUFMG 109, 27, 16,7-79,8 mm CP, 13 a 15 de maio de 2011, Carmo, G. F. & Triques, M. L.; DZUFMG 110, 1 diafanizado, 40,6 mm CP, 24 de outubro de 2002, Triques, M. L.; DZUFMG 111, 1, 36,7 mm CP, sem dados de coleta; DZUFMG 112, 2, 20,6-51,2 mm CP, 01 de junho de 2003, Queiroz, F. M. & Triques, M. L.; DZUFMG 117, 2 diafanizados, 47,1-67,1 mm CP, 13 a 15 de maio de 2011, Carmo, G. F. & Triques, M. L.; DZUFMG 119, 3 diafanizados, 18,8-64 mm CP, 13 a 15 de maio de 2011, Carmo, G. F. & Triques, M. L.; DZUFMG 127, 7, 31,8-59,7 mm CP (4, 51,2-59,7 mm CP), 08 de junho de 2012, Carmo, G. F. & Lucas, J. M. A.; UFRJ 8972, 3, 23,8-51,2 mm CP, 13 a 15 de maio de 2011, Carmo, G. F. & Triques, M. L.; UFRJ 8973, 3, 45,5-61,4 mm CP, 08 de junho de 2012, Carmo, G. F. & Lucas, J. M. A.; Sem tombo, 2, 45,5-70,4 mm CP, afluente do rio Santa Bárbara, município de São Gonçalo do Rio Abaixo, Minas Gerais, data 15/03/2012, por Vieira, F. & Gomes, J. P. C., Centro de Transposição de Peixes, ICB/UFMG. Embora coletas tenham sido realizadas diversas vezes no rio Santa Bárbara e em muitos riachos da área, apenas no local mais pantanoso do córrego Doné e no tributário fora da Reserva localizado 7 km a jusante foram encontrados exemplares do gênero *Australoheros*. Será providenciado, em estudos posteriores, um exemplar para servir de holótipo em coletas futuras, uma vez que dois grandes indivíduos obtidos danificaram-se, sendo eles portadores dos caracteres diagnósticos da nova espécie.

3.1.2.2. *Diagnose*

Australoheros sp. n. 2 é distinto de todas as espécies do gênero (incluindo *A.* sp. n 1) pelos longos filamentos das nadadeiras pélvica e anal em machos adultos com mais de 67,1 mm CP, aparentemente em período reprodutivo. O filamento pélvico alcança a base do último raio da nadadeira anal (vs., no máximo, até a origem do último espinho da nadadeira anal). O filamento da nadadeira anal ultrapassa a margem posterior da nadadeira caudal (vs., no máximo, até a margem posterior da nadadeira caudal).

3.1.2.3. *Descrição*

Baseada em 31 indivíduos, incluindo espécimes pequenos, médios e grandes. Dados morfométricos e merísticos estão nas Tabelas 1-2. Corpo alongado e lateralmente comprimido. Perfil dorsal da cabeça retilíneo para trás e para cima até a origem da nadadeira dorsal (levemente convexo nesta região, em indivíduos menores até 25 mm CP), com uma depressão acima do olho, levemente convexo a partir desta depressão até a origem da dorsal. Perfil dorsal da base da nadadeira dorsal horizontal muito pouco inclinado para baixo e para trás de sua origem até o último espinho, levemente convexo deste ponto até o fim da base. Perfil ventral da sínfise mandibular até a origem da nadadeira pélvica convexo, contorno abdominal entre este ponto e a origem da anal côncavo, sendo levemente convexo deste ponto até o fim da base da nadadeira anal. Perfis do pedúnculo caudal aproximadamente retilíneos e horizontais ventral e dorsalmente. Boca terminal; extremidade posterior do osso maxilar não alcançando vertical tangente à margem anterior da órbita (pode alcançar esta vertical em indivíduos menores até 42 mm CP). Dobra de pele do lábio inferior cobrindo porção do lábio superior no canto da boca, circundando o osso maxilar lateralmente até medialmente. Mandíbula quase do mesmo tamanho da superior. Dentes orais caniniformes sem cúspides laterais, um pouco recurvados para trás, sendo alaranjados, porém, com extremidades vermelhas. Série de dentes aumenta levemente em tamanho em direção à sínfise, sendo aproximadamente de mesmo tamanho os dentes mais anteriores das maxilas superior e inferior. Horizontal pela margem inferior da órbita varia: ora passa abaixo do nível entre mandíbula e maxilar superior quando a boca está fechada (juvenis até 27,1 mm CP), ora pela sínfise maxilar superior (indivíduos acima de 55,7 mm CP). Narina única na metade da distância entre a sínfise e a margem anterior do olho (mais próximas desta margem em indivíduos menores até 60 mm CP). Opérculo não serrado.

Escamas do corpo ctenoides, exceto aquelas adjacentes à base da nadadeira dorsal e algumas das menores escamas adjacentes à base da nadadeira anal. Escamas do opérculo e pré-opérculo cicloides (em

indivíduos menores que 49,5 mm CP, região à frente da nadadeira dorsal também com escamas cicloides, podendo ser ctenoides em indivíduos maiores). Uma a três séries de escamas nas bochechas (escamas das bochechas inexistentes em indivíduos menores que 16,8 mm CP). Escamas na cabeça e peito pouco menores que as dos flancos. Tronco e pedúnculo caudal recobertos por escamas ctenoides. Base da nadadeira dorsal com série simples de escamas a partir do 10^o ao último espinho dela (ausente em indivíduos menores que 16,8 mm CP). Segunda série de pequenas escamas adjacente à 1^a série na membrana da nadadeira dorsal a partir do último espinho ao 2^o raio (ausente em indivíduos menores que 23,8 mm CP). Base da nadadeira anal com série simples de escamas a partir do 5^o espinho ao 3^o raio dela (ausente em indivíduos menores que 16,8 mm CP). Segunda série de pequenas escamas adjacente à 1^a série na membrana da nadadeira anal a partir do 1^o ao 2^o raio (ausente em indivíduos menores que 23,8 mm CP).

Nadadeira dorsal com origem em vertical pela margem posterior do opérculo; margem distal levemente convexa, com filamento longo na sua extremidade posterior, formado pelos raios de n^o 3-6, alcançando vertical à metade ou a três quartos da nadadeira caudal em indivíduos maiores que 49,5 mm CP (em indivíduos menores, apenas moderadamente afilado e alcançando o primeiro terço da nadadeira caudal). Nadadeira anal com origem em vertical pela margem mais anterior da 4^a barra do tronco; levemente convexa, com filamento longo na sua extremidade posterior formado pelos raios de n^o 2-5 alcançando vertical à metade ou até o fim da nadadeira caudal em indivíduos maiores que 45,5-51,2 mm CP (em dois indivíduos maiores que 67,1 mm CP, este filamento ultrapassou a extremidade distal da nadadeira caudal) (em indivíduos menores, apenas moderadamente afilado e alcançando o primeiro terço da nadadeira caudal). Nadadeira caudal longa, com margem distal arredondada. Primeiro quinto até terço proximal da nadadeira caudal recoberta por escamas pequenas ctenoides (ausentes em indivíduos menores que 16,8 mm CP). Nadadeira peitoral com origem no nível da vertical que passa entre o 1^o e o 2^o espinhos da nadadeira dorsal; com extremidade distal arredondada, estendendo-se até próximo de vertical que passa pela base do primeiro espinho da nadadeira anal e, também, na margem anterior da barra escura do tronco n^o 4; base aproximadamente de mesmo tamanho que a distância entre esta nadadeira e a pélvica. Nadadeira pélvica com origem na vertical ou imediatamente posterior à origem da nadadeira peitoral; com filamento formado pelos raios de n^o 1 e 2 alcançando do primeiro terço à metade da base da nadadeira anal, ou seja, entre as barras n^o 2 a 3 do tronco, exceto nos três maiores exemplares, nos quais o filamento alcança a extremidade distal da base da nadadeira anal, alcançando a margem anterior da 1^a barra vertical;

filamento ausente em indivíduos menores que 20 mm CP e nadadeira pélvica apenas moderadamente afilada quando adpressa, alcançando a origem da nadadeira anal.

Ectopterigoide amplo, com margem anterior convexa (Fig. 9; Ottoni & Costa, 2008: 211, fig. 3B). Braço do epibrânquial 1 longo e epibrânquial 2 com processos tubulares anterior e posterior longos (Ottoni & Costa, 2008: 211, fig. 4A e 4C). Microbranquiospinhos presentes somente no lado dorsal médio-posterior do ceratobranquial 4. Ceratobranquiais 5 parcialmente suturados medialmente e relativamente robustos, com 6 dentes ao longo da linha mediana e 20-22 dentes na sua margem posterior. Dentes posteriores tendem a ser progressivamente mais comprimidos e delgados quanto mais distantes da linha mediana. Dentes maiores medial e posteriormente, gradualmente menores anterior e lateralmente. Dentes posteriores com cúspide posterior curvada anteriormente, com uma segunda cúspide erguendo-se na região subapical anterior. Esta placa dentígera faríngea inferior é 50-60% mais larga que comprida.

3.1.2.4. Coloração

3.1.2.4.1. Coloração em álcool

Cor de fundo da cabeça e do corpo castanho-acinzentado (indivíduos de menor porte podem ser melânicos, nos quais a coloração de fundo é castanho-claro). Lateral do corpo com sete barras verticais castanho-escuras oliváceas (castanho-escuras em juvenis melânicos; mais claras em indivíduos menores não melânicos; dois juvenis com seis barras verticais visíveis). Lista longitudinal castanho-escura olivácea difusa e larga acima do meio do flanco ao longo das séries de escamas E0 e E1, unindo as barras verticais 5-7, levemente mais escura que as barras verticais, com a espessura de uma série de escamas, prolongando-se da barra vertical 1 até a região pósterio-superior do opérculo, mais destacada entre as barras 4-7 (em indivíduos menores, barras verticais 5-6 conectadas dorsalmente abaixo do nível da linha lateral superior por meio desta lista longitudinal, sendo esta castanho-escura inconspícua e larga acima do meio do flanco, prolongando-se na região pósterio-superior do opérculo).

Todas as barras verticais do tronco são contínuas, exceto as de nº 6-7, que são interrompidas acima da lista longitudinal (em indivíduos menores pode haver interrupção ou não). Três barras verticais abdominais em qualquer fase da vida. Barras 1-5 curvas, com a concavidade direcionada posteriormente (pouco conspícuas e difíceis de serem distinguidas da cor de fundo em indivíduos menores melânicos) (em alguns juvenis, barras verticais 6-7 indistinguíveis). Barras verticais 6-7 curvas, com a concavidade direcionada anteriormente. Barra 5 ora bifurcada ventralmente a partir da série de escamas E1 em forma de “Y” invertido, cujo braço posterior tem a mesma largura que o anterior, ora em forma de “Y” com bifurcação

dorsal, ora com dupla bifurcação em forma de “X”, ora sem bifurcação alguma, estando conectada à barra 6 horizontalmente abaixo do nível da linha lateral superior (em indivíduos menores melânicos, barras verticais sem bifurcações visíveis). Barras verticais 1-4 sem bifurcações. Barras verticais 6 e 7 bifurcadas dorsalmente em forma de “Y” ou sem bifurcações.

Três manchas escuras presentes. Mancha do pedúnculo caudal conspícua, elipsoide, verticalmente alongada (altura duas a três vezes a largura) e passando pela linha lateral inferior. Mancha sobre a barra vertical 4 ao nível da lista longitudinal que une as barras verticais 5-7, entre as linhas laterais (exceto em juvenis melânicos). Mancha sobre a margem posterior do opérculo conspícua em adultos e menos visível em indivíduos menores melânicos, contínua à lista longitudinal (indivíduos menores melânicos apresentaram tal lista de cor castanho-escura, mais clara que as barras verticais e mais escura que o fundo do corpo).

Cabeça com três barras dorsais, de um lado ao outro da cabeça. A primeira, conspícua, no nível da margem posterior, é uma barra castanho-escura olivácea; anteriormente a esta, há outras duas, inconspícuas, de coloração grafite escura, na zona interorbital e logo anteriormente ao olho, em um fundo cor grafite um pouco mais clara (em juvenis melânicos, região dorsal da cabeça totalmente castanho-escura, sem distinção de barras verticais).

Nadadeira dorsal castanho-escura, levemente invadida pelas barras verticais do tronco um pouco mais escuras (tal invasão não ocorre ou não é perceptível em indivíduos menores que 40 mm CP; coloração grafite-escura em juvenis melânicos). Região posterior da nadadeira dorsal, na região dos raios, castanho-clara (hialina em indivíduos menores até 30 mm CP). Nadadeira anal castanho-escura, levemente invadida pelas barras verticais do tronco um pouco mais escuras. Nadadeira caudal castanho-escura na sua primeira metade, com o restante castanho-claro ou hialino (em indivíduos menores até 30 mm CP, nadadeira caudal totalmente hialina). Nadadeira peitoral hialina. Nadadeira pélvica castanho-escura uniforme (indivíduos menores até 30 mm CP com porção distal hialina).

Dimorfismo sexual: dois dos três maiores indivíduos são machos e apresentam filamentos mais longos nas nadadeiras anal e pélvica. Isto não foi observado em nenhum outro indivíduo de menor porte da mesma espécie, em indivíduos de mesmo porte ou maiores de outras localidades próximas e nem de outras espécies, coletados aproximadamente na mesma época do ano (entre abril e junho, fins de período chuvoso). Estas características podem constituir um dimorfismo sexual que, entretanto, precisa ser

confirmado, com a obtenção de mais fêmeas do mesmo porte físico. Maior macho com 79,8 mm CP; maior fêmea, 61,4 mm CP.

Três dos cinco juvenis até 25 mm CP da população de *Australoheros* sp. n. 2 apresentaram coloração muito escurecida e assim a mantiveram em solução de álcool 70%. Isto pode significar a existência de comportamento críptico com mudança de coloração como procedimento de defesa durante a sua captura. Supostamente, o padrão melânico pode ser o críptico, dado que é o diferente dos demais indivíduos. Assim, embora ainda se trate de suposição, em princípio, indivíduos escurecidos poderiam ser mais difíceis de serem identificados em águas barrentas, típicas do habitat. Entretanto, a existência de juvenis de até 25 mm CP não melânicos torna difícil a sustentação desta suposição.

3.1.2.4.2. Coloração *in vivo*

Baseada em dez indivíduos. Lateral do corpo variando entre o castanho-escuro (juvenis melânicos) ao castanho-claro (indivíduos maiores que 50 mm CP), com leves reflexos avermelhados. Há uma faixa na porção longitudinal dos flancos (espessura de três a quatro séries transversais de escamas, com a série de escamas E0 como seu eixo) com reflexos verde-oliváceos em indivíduos maiores que 40 mm CP (nos maiores que 60 mm CP, esta faixa apresentou-se esverdeada nas barras verticais e amarela brilhante entre estas barras). Sete barras verticais mais escuras que o fundo, invadindo levemente o primeiro quarto das nadadeiras dorsal e anal, com as três manchas dos flancos ainda mais escuras (manchas do pedúnculo caudal, da barra vertical 4 e da margem pósterio-superior do opérculo), sendo negras na maioria dos animais. Lista longitudinal levemente mais escura que as barras verticais, mais visível entre as barras 4-7 e a região pósterio-superior do opérculo até a margem posterior da órbita.

Cabeça castanho-escura com região pré-dorsal e focinho mais claros. Indivíduos maiores que 50 mm CP apresentaram bochechas e opérculo com reflexos verde-oliváceos, bem como a região superior da cabeça com tom amarelado. Regiões ventral, gular e inferior da cabeça mais claras que o resto do corpo, variando do cinza (juvenis) ao castanho-claro ou róseo (maiores que 60 mm CP). Três barras na região superior da cabeça com mesmo padrão de colorido das barras verticais dos flancos, exceto no que diz respeito aos reflexos verde-oliváceos, ausentes. Os dois maiores adultos apresentaram uma estreita faixa quase vertical amarelada logo após a margem posterior da órbita, na sua metade inferior. Olhos não são atravessados pela lista longitudinal e nem pela barra 1 da cabeça, possuindo coloração variando do castanho-escuro (juvenis) ao avermelhado (indivíduos maiores que 40 mm CP).

Nadadeiras anal e dorsal variando entre o castanho-escuro (juvenis) e o castanho-claro (indivíduos maiores que 40 mm CP), com sua porção posterior (a dos raios) variando do hialino (juvenis) ao amarelo com margem posterior levemente rósea (indivíduos maiores que 50 mm CP). Na nadadeira dorsal de indivíduos maiores que 30 mm CP, há manchas irregulares alaranjadas entre a membrana dos espinhos na metade mais próxima à sua base. Nadadeira peitoral variando do hialino (juvenis) ao amarelo (indivíduos maiores que 40 mm CP). Nadadeira caudal variando do hialino com primeiro terço levemente amarelado (juvenis menores que 30 mm CP), ao amarelo, com extremidade posterior rósea e primeiro terço cinza-escuro. Nadadeira pélvica variando do castanho-escuro (juvenis) ao castanho-claro ou cinza (indivíduos maiores que 40 mm CP), sempre com a membrana e raios 1-2 mais escuros que o restante destas nadadeiras.

3.2. Variação ontogenética

Notaram-se diferenças entre as duas espécies quanto à variação ontogenética, como se pode observar nas Tabelas 6-7. Por exemplo: pequenas escamas na nadadeira caudal aparecem em indivíduos maiores (22-26 mm CP) em *Australoheros* sp. n. 1 em relação a *A. sp. n. 2* (16,8 mm CP), assim como escamas na bochecha (surgem em indivíduos com 22 mm CP em *A. sp. n. 1*, vs. indivíduos com 16,8 mm CP em *A. sp. n. 2*); e a presença de apenas raios ramificados na nadadeira dorsal (a partir de indivíduos com 33-36 mm CP em *A. sp. n. 1*, vs. indivíduos com 25 mm CP em *A. sp. n. 2*). A depressão sobre o olho somente aparece em indivíduos maiores que 20-25 mm CP em *A. sp. n. 1*, enquanto todos os indivíduos de *A. sp. n. 2* analisados a apresentaram (inclusive exemplares com menos de 20 mm CP).

3.3. Análises estatísticas entre as duas novas espécies

Percebeu-se grande sobreposição entre as amplitudes de variação encontradas para as proporções e contagens dos indivíduos das duas populações (Tabelas 1-2) feitas em indivíduos a partir de 50 mm CP, exceto pequenas sobreposições para a largura da cabeça em relação ao comprimento padrão (21,1-24,6% em *Australoheros* sp. n. 1 e 20,1-21,8% em *Australoheros* sp. n. 2) e para o número de vértebras totais (25-26 em *Australoheros* sp. n. 1 e 26-27 em *Australoheros* sp. n. 2). Deste modo, as diferenças morfométricas não são perceptíveis, e, através de análises estatísticas, que incluíram também os indivíduos de menor porte, foram notados padrões distintos entre as novas espécies.

3.3.1. Regressão linear simples e covariância (ANCOVA)

Valores significativos de r^2 foram encontrados em algumas proporções, como é o caso do diâmetro da órbita, a altura da órbita e o comprimento da nadadeira pélvica. Apenas será apresentado o caso do comprimento da nadadeira pélvica em relação ao comprimento padrão, uma vez que é caráter diagnóstico para *Australoheros* sp. n. 2 (Fig. 12). Esta nadadeira é percentual e ontogeneticamente maior em *A.* sp. n. 2 ($r^2=0,6757$) que em *A.* sp. n. 1 ($r^2=0,7841$), especialmente se comparados indivíduos com mais de 68 mm CP, com valor-P sempre menor que 0,05 (Fig. 12).

As retas de regressão com padrões distintos entre as duas novas espécies foram encontradas para a largura da cabeça, a altura do corpo e a distância peitoral-pélvica, dentre outros. Mais uma vez, apenas se apresentarão os casos de percentuais da largura da cabeça e da altura do corpo em relação ao comprimento padrão (Figs. 13-14). Para todos os casos, o valor de r^2 é baixo, mas o valor-P apresentou-se significativo para se distinguir as duas espécies ($P<0,05$). A largura da cabeça é percentual e ontogeneticamente maior em *Australoheros* sp. n. 1 ($r^2=0,2282$) que em *A.* sp. n. 2 ($r^2=0,2187$) (Fig. 13). Também se observou que a altura do corpo é maior em *A.* sp. n. 1 ($r^2=0,1766$) que em *A.* sp. n. 2 ($r^2=0,1373$) (Fig. 14).

Quando comparados os resultados entre as duas novas espécies e o material analisado de *Australoheros perdi*, algumas distinções claras foram evidenciadas, mas será apresentado apenas o resultado referente ao percentual do comprimento da mandíbula em relação ao comprimento da cabeça (Fig. 15), uma vez que tem alto valor de r^2 e, também, por ser a mais significativa distinção entre *A. perdi* e as duas novas espécies. Observou-se que a mandíbula é relativa e ontogeneticamente maior em *A.* sp. n. 1 ($r^2=0,7203$) que nas demais espécies consideradas, porém, a inclinação das retas relativas a *A.* sp. n. 2 ($r^2=0,7722$) e a *A. perdi* ($r^2=0,4649$) são significativamente diferentes uma da outra, sendo maior a inclinação para *A.* sp. n. 2 (Fig. 15).

3.3.2. Componentes principais e “cluster”

Os resultados obtidos por meio de análise dos componentes principais revelaram distinções em relação a algumas medidas corporais, especialmente na largura da cabeça em relação aos comprimentos padrão (Fig. 16) e da cabeça (Fig. 17). As “nuvens amostrais” que representam cada espécie são distintas nestes casos, embora as elipses com 95% de abrangência amostral tenham apresentado algumas intersecções.

Os agrupamentos em “clusters” não ficaram claros (Fig. 18), e, deste modo, nenhuma conclusão se pode chegar.

3.4. Análise molecular

O material para análise molecular de *Australoheros* sp. n. 2 (cinco nadadeiras direitas) não pode ser processado, devidos a problemas técnicos durante o procedimento. Sendo assim, apenas material de *A. sp. n. 1* e *A. ipatinguensis*, bem como sequências disponíveis no GenBank (*A. facetus* do rio Rojas, Argentina [Rosso *et al.*, 2012]) e BOLD (“*A. facetus*” do rio São Francisco, [Carvalho *et al.*, 2011]) puderam ser comparadas.

Distâncias de pareamento (K2P) não apresentaram divergências intraespecíficas dentro de *Australoheros* sp. n. 1 e *A. ipatinguensis*. Quando foram comparadas as sequências obtidas para *A. sp. n. 1* com as sequências disponíveis no GenBank e BOLD, houve grande divergência entre a nova espécie e “*A. facetus*” do rio São Francisco (21%) e com *A. facetus* do rio Rojas (11%) (Fig. 19). Por outro lado, não foi apresentada distinção genética significativa entre *A. sp. n. 1* e *A. ipatinguensis* obtidos neste trabalho (0,2%: fig. 19). Neste trabalho, apenas um haplótipo foi observado para cada bacia hidrográfica (com a divergência de um nucleotídeo), e nenhum haplótipo compartilhado foi observado entre as populações das bacias dos rios Doce e São Francisco.

Como apresentado na árvore “neighbor-joining” (Fig. 19), *Australoheros* sp. n. 1 e *A. ipatinguensis* foram incluídos em clados distintos, mas com baixo suporte, devido à sua divergência genética de 0,2%. Este resultado sugere que *A. sp. n. 1* seja *A. ipatinguensis*. Por outro lado, grande divergência (11%) foi observada se comparados *A. facetus* do rio Rojas e o clado *A. sp. n. 1* + *A. ipatinguensis*. “*Australoheros facetus*” da bacia do rio São Francisco separou-se das demais espécies (suporte “bootstrap” 100), com divergência variando entre 19 e 21%.

3.5. Notas sobre o habitat das duas novas espécies

Muito embora não seja o objetivo deste trabalho apresentar dados ambientais ou ecológicos de *Australoheros*, parece apropriado indicar que, após extensivas coletas com redes de emalhar em rios e riachos, raros indivíduos foram obtidos em ambientes do fluxo rápido. No entanto, exemplares deste gênero foram coletados em maior número com redes de arrasto em lagoas e com puçás em alagadiços e pequenos riachos repletos de macrófitas aquáticas e com fundo lamacento (Figs. 20-21). Aparentemente, este é o seu

ambiente preferido, embora ocasionalmente se colete em riachos de fluxo rápido com rede de arrasto. Foram coletados um espécime de *A. sp. n. 1* em riachos de águas límpidas com fundo arenoso (DZUFMG 099, 2, 18,2-82,1 mm CP e DZUFMG 104, 1, 79,2 mm CP) e outro da mesma espécie no rio Cipó (DZUFMG 098, 82,9 mm CP), corpos d'água que apresentam características distintas das que se encontrou a maioria dos indivíduos das duas novas espécies.

Juntamente com os exemplares de *Australoheros sp. n. 1* coletaram-se *Hoplias sp.*, *Astyanax aff. bimaculatus*, *Characidium sp.*, *Gymnotus sp.* A comunidade ictiológica para os locais de coleta de *A. sp. n. 2* constitui-se de *Oligosarcus sp.*, *Geophagus sp.*, *Hoplias sp.*, *Astyanax aff. bimaculatus*, *Characidium sp.*

4. DISCUSSÃO

As novas espécies propostas enquadram-se dentro do gênero *Australoheros* por apresentarem suas características sinapomórficas (Rícan & Kullander, 2006). Não se observaram manchas de xantóforo na base da nadadeira caudal em nenhum indivíduo coletado (os menores exemplares obtidos têm 14 mm CP), outra característica sinapomórfica do gênero (Rícan & Kullander, 2006). Possivelmente estas manchas devem ser encontradas em indivíduos menores que 14 mm CP, dado que no trabalho de Rícan & Kullander (2006) não se informa até que porte elas podem ser verificadas.

As duas novas espécies pertencem ao grupo de espécies *Australoheros austrani* (Ottoni, 2012), por apresentarem mancha do pedúnculo caudal conspícua, lista longitudinal inconspícua, 14 raios modalmente na nadadeira peitoral e três barras verticais abdominais em qualquer fase da vida. Quanto ao número de vértebras, houve variação entre 12-14+12-14 no caso das duas novas espécies, o que não está de acordo com o grupo a que pertencem (o número de vértebras para o grupo *A. austrani* é de 13-15+12, segundo Ottoni [2012]). Esta discordância deverá ser analisada em estudos posteriores, a fim de se consolidar a caracterização do grupo de espécies *A. austrani*.

Dois caracteres qualitativos apresentaram-se claros para não apenas separar ambas as espécies entre si, mas as mesmas das congêneres, o que fez com que se rejeitasse a hipótese nula: populações de diferentes bacias fossem da mesma espécie. As diferenças qualitativas encontradas entre as duas novas espécies e destas para suas congêneres não deixa dúvidas quanto à distinção interespecífica, devido à sua natureza discreta. Procedeu-se a uma análise refinada dos caracteres morfométricos entre as duas populações-alvo do trabalho, assim como foram feitos diversos estudos estatísticos, a fim de complementar as distinções não apenas entre as duas novas espécies, bem como destas em relação a *A. mattsosi* (da

bacia do rio São Francisco) e de duas espécies da bacia do rio Doce (*A. ipatinguensis* e *A. perdi*), devido à proximidade geográfica.

Australoheros sp. n. 1 apresenta o perfil dorsal entre o 2º e o último espinho da nadadeira dorsal reto e inclinado para baixo e para trás, em indivíduos maiores que 39 mm CP, o que separa esta espécie de todas as congêneres, exceto *A. taura*, da qual se diferencia por apresentar altura do corpo 44,4-52,7% do CP (vs. 40,1-42,4% em *A. taura*), por ter duas escamas entre o fim da linha lateral superior até a base da nadadeira dorsal (vs. três escamas em *A. taura*) e por ter iridescência esverdeada nos flancos do corpo (vs. iridescência azulada em *A. taura*), além das distinções que se leem na diagnose de *A. sp. n. 1*. O perfil dorsal reto é, potencialmente, uma autapomorfia para *A. sp. n. 1*, neste caso sendo homoplástico em *A. taura*. Esta hipótese deverá ser testada em estudos filogenéticos posteriores.

No caso de *A. sp. n. 2*, os filamentos das nadadeiras pélvicas alcançando a base do último raio da nadadeira anal e o filamento da nadadeira anal ultrapassando a margem posterior da nadadeira caudal são características que separam esta nova espécie de todas as outras congêneres, incluindo *A. sp. n. 1*, o que pode ser corroborado pelo resultado na análise de componentes principais para este carácter (Fig. 17). É possível que o desenvolvimento dos filamentos das nadadeiras anal e pélvica tenha função sexual, porém não se pode comprovar se esta característica é exclusiva de machos, uma vez que um dos três indivíduos portadores de longo filamento da nadadeira pélvica não foi sexado (indivíduo com 70,4 mm CP, sem tombo, do rio Santa Bárbara).

Uma das duas únicas proporções que apresentou pouca sobreposição entre as duas populações também demonstrou comportamento alométrico antagônico. A largura da cabeça em relação ao comprimento padrão, que variou entre 21,1-24,6% em *Australoheros* sp. n. 1 e 20,1-21,8% em *Australoheros* sp. n. 2, demonstrou ser cada vez maior (crescimento alométrico positivo) no caso de *A. sp. n. 1*, enquanto em *A. sp. n. 2*, há diminuição (crescimento alométrico negativo) (Fig. 13). Apesar do baixo R-quadrado, mas valor-P menor que 0,05, admite-se que a diferença estatística é significativa, o que é mais uma ferramenta para se concluir que as duas populações sejam de espécies diferentes. Esse resultado, em especial, foi corroborado com a análise de componentes principais (Fig. 16). Os significados ecológico e evolutivo para esta distinção não estão claros. O mesmo se pode deduzir quanto à altura do corpo, que é maior ontogenética e proporcionalmente em *A. sp. n. 1* que em *A. sp. n. 2* (Fig. 14). Em qualquer caso, o fenômeno de deriva genética não pode ser descartada, o que significa que estudos pormenorizados na área da genética de populações são necessários para elucidação da situação dos animais do gênero *Australoheros* do sudeste do Brasil, o que não foi o escopo deste trabalho.

A coloração *in vivo* também revelou uma possível distinção entre as novas espécies. A iridescência avermelhada nas escamas, presente apenas em *Australoheros* sp. n. 2 (jovens e indivíduos médios), foi encontrada igualmente em *A. ipatinguensis*. *Australoheros* sp. n. 1, da bacia do rio São Francisco, apresentou iridescência esverdeada.

Com as distinções qualitativas entre as duas populações de *Australoheros* (perfil dorsal reto sob a região espinhosa da nadadeira dorsal e corcova sobre a cabeça em *A.* sp. n. 1 e os filmanetos das nadadeiras anal e pélvica em *A.* sp. n. 2), uma diferença com pouca sobreposição quanto à amplitude de variação da proporção da largura da cabeça em relação ao comprimento padrão, as alometrias positivas e negativas opostas para cada população e padrão de coloração, fica claro que *A.* sp. n. 1 seja distinta de *A.* sp. n. 2. Isto se baseia no fato de as naturezas das distinções de ambas as populações serem de crescimento alométrico, de padrão de coloração e de anatomia externa, algumas delas discretas. Diferenças de naturezas distintas não podem ser consideradas covariantes ou codependentes, não permitindo margem a dúvidas quanto à distinção das espécies.

Australoheros mattosi foi a primeira espécie descrita para a bacia do rio São Francisco, nas drenagens dos rios das Velhas e Paraopeba (Ottoni, 2012). Como o rio Cipó é tributário do rio das Velhas, primeiramente sugeriu-se que a população do PNSC e arredores pudesse aumentar a distribuição geográfica de *A. mattosi*. Porém, *A.* sp. n. 1 distingue-se de *A. mattosi* por ter série de pequenas escamas iniciando-se no 5º espinho da nadadeira anal (vs. a partir do 3º espinho da nadadeira anal em *A. mattosi*), por ter depressão sobre o olho (vs. perfil dorsal da cabeça levemente convexo em *A. mattosi*), por apresentar perfil dorsal entre o 2º e o último espinho da nadadeira dorsal reto e inclinado para baixo e para trás, em indivíduos maiores que 39 mm CP (vs. convexo em *A. mattosi*), por ter protuberância cefálica em indivíduos maiores que 63 mm CP (vs. perfil dorsal da cabeça levemente convexo em *A. mattosi*), por ter largura da cabeça 21,1-24,6% do CP (vs. 17,9-20,4% do CP em *A. mattosi*), por ter 13 vértebras pré-caudais (vs. 14 em *A. mattosi*), por ter 2 escamas do fim da série da linha lateral superior até a nadadeira dorsal (vs. 3 em *A. mattosi*) e por ter o epibrânquial 2 com processos tubulares anterior e posterior longos (vs. processos curtos em *A. mattosi*).

Três espécies foram descritas para a bacia do rio Doce, a saber: *Australoheros ipatinguensis* Ottoni & Costa, 2008, *A. capixaba* Ottoni, 2010 e *A. perdi* Ottoni *et al.*, 2011. Como o rio Santa Bárbara é tributário do rio Doce, também se esperava uma ampliação da distribuição geográfica de alguma destas espécies já descritas, porém *A.* sp. n. 2 diferencia-se de todas por apresentar longos filamentos das nadadeiras anal e pélvica, além de outras distinções. *Australoheros* sp. n. 2 distingue-se de *A. capixaba* por apresentar

depressão sobre o olho (vs. perfil dorsal da cabeça convexo em *A. capixaba*), por ter 2 escamas do fim da série da linha lateral superior até a nadadeira dorsal (vs. 3 em *A. capixaba*) e por ter mandíbula 10,2-12,1% do CP (vs. 6,4-8,3% do CP em *A. capixaba*). *Australoheros* sp. n. 2 distingue-se de *A. ipatinguensis* por ter altura do corpo 40,3-46,6% do CP (vs. 47,3-51,2% do CP em *A. ipatinguensis*), por ter 16-17 espinhos na nadadeira dorsal (vs. 15 em *A. ipatinguensis*) e por ter escamas ctenoides na linha mediana da região pré-dorsal em indivíduos maiores que 50 mm CP (vs. escamas cicloides em *A. ipatinguensis*). Finalmente, *A.* sp. n. 2 distingue-se de *A. perdi* por ter 26-27 vértebras totais (vs. 25 em *A. perdi*), por ter 26-28 escamas na série E1 (vs. 24-25 escamas em *A. perdi*), por ter escamas ctenoides na linha mediana da região pré-dorsal em indivíduos maiores que 50 mm CP (vs. escamas cicloides em *A. perdi*) e por ter 16-17 espinhos na nadadeira dorsal (vs. 14-16 em *A. perdi*).

Australoheros sp. n. 1 não é *A. perdi* por ter 7-8 raios na nadadeira anal (vs. 8-10 em *A. perdi*), por ter 4-5 escamas da origem da nadadeira dorsal até a linha lateral superior (vs. 3-4 escamas em *A. perdi*) e por ter 25-28 escamas na série E1 (vs. 24-25 escamas em *A. perdi*). *Australoheros* sp. n. 1 não é *A. ipatinguensis* por ter iridescência esverdeada nos flancos em indivíduos até 40 mm CP (vs. iridescência avermelhada em *A. ipatinguensis*), por ter 7-8 raios na nadadeira anal (vs. 9 em *A. ipatinguensis*) e por ter comprimento da maxila superior 32,2-38,3% do CP (vs. 25,4-27,6% do CP em *A. ipatinguensis*). *Australoheros* sp. n. 1 não é *A. capixaba* por ter depressão sobre o olho (vs. perfil dorsal da cabeça levemente convexo em *A. capixaba*), por ter iridescência esverdeada nos flancos em indivíduos até 40 mm CP (vs. iridescência avermelhada em *A. capixaba*) e por ter 2 escamas do final da linha lateral superior até a nadadeira dorsal (vs. 3 escamas em *A. capixaba*).

Australoheros sp. n. 2 não é *A. mattosi* por ter depressão sobre o olho (vs. perfil dorsal da cabeça levemente convexo em *A. mattosi*), por ter o epibrânquial 2 com processos tubulares anterior e posterior longos (vs. processos curtos em *A. mattosi*) e por ter mandíbula 29,0-33,7% do comprimento da cabeça (vs. 17,7-25,4% desse comprimento em *A. mattosi*).

Assim, resolve-se a questão original deste trabalho: há espécies distintas para as duas bacias adjacentes, e ambas são distintas das demais espécies encontradas nas mesmas bacias, reforçando a ideia de endemismo entre elas e dentro delas (Buckup, 1999; Castro, 1999). Conclui-se que as espécies do PNSC e de Peti apresentem claras diferenças com seus congêneres, do que se puderam redigir diagnoses.

Supõe-se que fenômenos biogeográficos favoreceram o isolamento geográfico em épocas geológicas recentes, durante o Quaternário (Buckup, 1999). Pérez *et al.* (2010) descreveram um novo

gênero de Heroini, *Plesioheros*, datado do Eoceno (Grupo Salta, noroeste da Argentina). A árvore de consenso obtida por Pérez *et al.* (2010), com base em caracteres morfológicos e osteológicos levantados por Kullander (1998), revelou que esse gênero fóssil é grupo-irmão de *Australoheros*. Ribeiro (2006) revelou que as Drenagens Costeiras do Leste do Brasil (incluindo a bacia do rio Doce) formaram-se logo após a separação entre Brasil e África, no Cretáceo, inicialmente unidas em uma depressão do tipo lacustre entre aqueles dois continentes (chamada de Megadomo Uruguai/Sudoeste da África). Sugere-se que, assim como Pérez *et al.* (2010) concluíram, o sistema de rios Paraguai-Uruguai (formada no Paleozoico) e, depois, a bacia do rio Doce, serviram-se como estoques primários para diversificação de Heroini de corpo alto, tais como *Australoheros*, por exemplo. O rio São Francisco, como Buckup (1999) expôs, teve eventos mais recentes de isolamento geográfico, durante o Cenozoico. Ribeiro (2006: 241, fig. 11B) incluiu o rio São Francisco no conjunto de bacias chamado de Margem Norte do Brasil. Portanto, eventos geomorfológicos e de vicariância podem ter transformado riachos e lagos tributários dos rios Doce e São Francisco em cenários para histórias evolutivas distintas, seja entre bacias ou dentro de cada bacia. Isso promoveu especiação relativamente rápida para algumas espécies de peixes desses tipos de ecossistemas, possivelmente incluindo as novas espécies aqui descritas, bem como outras congêneres da costa leste brasileira. Como as duas novas espécies são encontradas em corpos d'água de fluxo mais lento, brejosos e lacustres, com muita vegetação marginal (Figs. 20-21; apenas quatro indivíduos de *A. sp. n. 1* foram obtidos em rios de fluxo mais rápido: DZUFMG 098, 099 e 104), supõe-se que rios de médio e grande porte de fluxo rápido, assim como quedas d'água (Rícan & Kullander, 2008), tenham participado no isolamento geográfico/gênico para *Australoheros* nestes ambientes, como sugere Buckup (1999). Essa hipótese deverá ser testada com trabalhos filogenéticos, biogeográficos e taxonômicos mais abrangentes, porque, se houve especiação, só a descrição de espécies poderá demonstrar.

Foi apresentada uma análise genética inicial de *Australoheros sp. n. 1*, comparada com *A. ipatinguensis*, *A. facetus* do rio Rojas (Rosso *et al.*, 2012) e "*A. facetus*" da bacia do rio São Francisco (Carvalho *et al.*, 2011). A grande divergência observada para "*A. facetus*" da bacia do rio São Francisco em relação às demais espécies estudadas (Fig. 19) sugere que houve erro de identificação ou muito antigo processo de especiação. A fim de investigar falha de identificação, os exemplares utilizados por Carvalho *et al.* (2011) deverão passar por nova identificação. Resultados preliminares sugerem um possível erro de identificação, uma vez que os espécimes identificados como "*A. facetus*" devem pertencer ao complexo de espécies do gênero *Cichlasoma* (Daniel C. Carvalho, comunicação pessoal). Embora a amostragem seja pequena, o fato de *A. sp. n. 1* não compartilhar haplótipo com *A. ipatinguensis* e apresentar distinções

qualitativas, merísticas, morfométricas e estatísticas sugerem nenhum fluxo gênico e uma especiação alopátrica relativamente recente entre estas duas espécies, explicando a contradição entre resultados morfológicos e moleculares. Assim que outras sequências COI forem geradas pelo Brazilian Barcode of Life Project (www.brbo.org), também será possível uma comparação molecular mais ampla dentro do gênero *Australoheros*. Este tipo de análise não estava dentro do objetivo principal deste trabalho, mas foi de grande utilidade para a discussão de seus resultados, demonstrando que apenas estudos moleculares não podem resolver questões de sistemática, mas são ferramentas úteis em situações que os dados morfológicos deem margem a dúvidas. Além disso, deve-se adotar outros métodos moleculares (análise de DNA nuclear, e não o mitocondrial) a fim de se chegar a conclusões mais seguras quanto à distinção ou não entre estas populações/espécies.

Espera-se, para trabalhos futuros, padronização quanto aos dados morfométricos e merísticos, bem como descrições mais detalhadas uma vez que houve dados duvidosos ou faltosos para comparação interespecífica. Um exemplo está no trabalho de Rícan & Kullander (2003), as barras verticais foram contadas desde aquela em que se localiza a mancha do pedúnculo caudal, o que trouxe confusão quanto à contagem total de barras verticais (oito a nove, e não sete a oito, como se padronizou a partir dos trabalhos dos próprios Rícan & Kullander [2006] em diante), bem como quanto à contagem de barras verticais abdominais. Em Rícan & Kullander (2008: 45, fig. 18C, 13-2), as barras verticais abdominais 5 e 6 de *Australoheros minuano* aparecem ora fusionadas (podendo ser interpretadas como apenas uma barra), ora distintas.

Finalmente, observando-se as Tabelas 6-7, percebe-se que a maioria das características próprias de adultos é notória em indivíduos com, aproximadamente, 50 mm CP. Estabelecer tamanho padrão para adultos de uma determinada espécie é útil para efeito de comparação dos resultados de trabalhos taxonômicos. No caso deste trabalho, chegou-se à conclusão de que as duas novas espécies alcançam maturidade sexual com 50 mm CP, o que não é necessariamente válido para as demais espécies do gênero. Além disso, é de se esperar que algumas características pudessem surgir, ontogeneticamente, em idades e/ou tamanhos diferentes para cada espécie. Espera-se que análises desta natureza possam ser mais comuns e padronizadas, pois serão esclarecedoras quanto à descrição de novas espécies e sinonimização de outras.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buckup, P. A. 1999. **Sistemática e biogeografia de peixes de riacho**. In: *Ecologia de peixes de riachos* (E.P. Caramaschi, R. Mazzoni & P.R. Peres-Neto, eds.). Série Oecologia Brasiliensis, PPGE-UFRJ, Rio de Janeiro, v.VI, p.139-155.
- Carvalho, D. C., Oliveira, D. A. A., Pompeu, P. S., Leal, C. G., Oliveira, C. & Hanner, R. 2011. **Deep barcode divergence in Brazilian freshwater fishes: the case of the São Francisco River basin**. Mitochondrial DNA, 22: 80-86.
- Casciotta, J. R., Almirón, A. E. & Gómez, S. E. 2006. **A new species of *Australoheros* (Teleostei: Perciformes: Cichlidae) from the río Iguazú basin, Argentina**. Zoologische Abhandlungen (Dresden), 55: 77-83.
- Casciotta, J. R., Gómez, S. E. & Toresani, N. I. 1995. **'*Cichlasoma*' tembe, a new cichlid species from the río Paraná basin, Argentina (Osteichthyes: Labroidei)**. Ichthyol. Explor. Freshwaters, 6 (3): 193-200.
- Castro, R.M.C. 1999. **Evolução da ictiofauna de riachos sul-americanos: padrões gerais e possíveis processos causais**. In: *Ecologia de peixes de riachos* (E.P. Caramaschi, R. Mazzoni & P.R. Peres-Neto, eds.). Série Oecologia Brasiliensis, PPGE-UFRJ, Rio de Janeiro, v.VI, p.139-155.
- Davis, J. I. & Nixon, K. C. 1992. **Populations, genetic variation, and the delimitation of phylogenetic species**. Systematic Biology, 41 (4): 421-435.
- Goodrich, E. S. 1930. **Studies on the structure and development of vertebrates**. The University of Chicago Press, Chicago. 837 pp.
- Hammer, O. & Harper, D. A. T. 2006. **Paleontological Data Analysis**. Oxford, Blackwell Publishing, 351 pp.
- Hammer, O., Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. 2001. **Paleontological statistics software package for education and data analysis**. Palaeontologia Electronica, 4 (1): 9pp.
- Kimura, M. 1980. **A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide-sequences**. Journal of Molecular Evolution, 16: 111-120.
- Kullander, S. O. 1986. **Cichlid fishes of the Amazon river drainage of Peru**. Department of Vertebrate Zoology, Research Division, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden, 394 p.

- Kullander, S. O. 1998. **A phylogeny and classification of the South American Cichlidae (Teleostei: Perciformes)**. In: *Malabarba, L. R., Reis, R. P., Lucena, Z. M. & Lucena, C. A. S. (eds), Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre, Edipucrs, pp. 461-498.
- Otoni, F. P. 2010. ***Australoheros capixaba*, a new species of *Australoheros* from south-eastern Brazil (Labroidei: Cichlidae: Cichlasomatinae)**. *Vertebrate Zoology*, 60 (1): 19-25.
- Otoni, F. P. 2012. **Three new species of *Australoheros* from southeastern Brazil, with taxonomic notes on *Chromys oblonga*, *Heros autochton* and *H. jenynsii* (Teleostei: Labroidei: Cichlidae)**. *Vertebrate Zoology*, 62 (1): 83-96.
- Otoni, F. P. & Cheffe, M. M. 2009. **A new species of *Australoheros* from the upper rio das Antas, laguna dos Patos system, southern Brazil**. *Spixiana*, 32 (1): 153-159.
- Otoni, F. P. & Costa, W. J. E. M. 2008. **Taxonomic revision of the genus *Australoheros* Rícan & Kullander, 2006 (Teleostei: Cichlidae) with descriptions of nine new species from southeastern Brazil**. *Vertebrate Zoology*, 58 (2): 207-232.
- Otoni, F. P., Lezama, A. Q., Triques, M. L., Fragoso-Moura, E. N., Lucas, C. C. T. & Barbosa, F. A. R. 2011. ***Australoheros perdi*, new species (Teleostei: Labroidei: Cichlidae) from the lacustrine region of the Doce River Valley, southeastern Brazil, with biological information**. *Vertebrate Zoology*, 61 (1): 25-33.
- Otoni, F. P., Oyakawa, O. T. & Costa, W. J. E. M. 2008. **A new species of the genus *Australoheros* from the rio Ribeira do Iguape basin, Sao Paulo, Brazil (Labroidei: Cichlidae: Cichlasomatinae)**. *Vertebrate Zoology*, 58 (1): 75-81.
- Pérez, P. A., Malabarba, M. C. & Papa, C. 2010. **A new genus and species of Heroini (Perciformes: Cichlidae) from the early Eocene of southern South America**. *Neotropical Ichthyology*, 8: 631-642.
- Ribeiro, A. C. 2006. **Tectonic history and the biogeography of the freshwater coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin**. *Neotropical Ichthyology*, 4: 225-246.
- Rícan, O. & Kullander, S. O. 2003. **'*Cichlasoma*' *scitulum*: a new species of cichlid fish from the río de La Plata Region in Argentina, Brazil, and Uruguay**. *Copeia*, 2003 (4): 794-802.

- Rícan, O. & Kullander, S. O. 2006. **Character- and tree-based delimitation of species in the 'Cichlasoma' facetum group (Teleostei, Cichlidae) with the description of a new genus.** Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 44 (2): 136-142.
- Rícan, O. & Kullander, S. O. 2008. **The *Australoheros* (Teleostei: Cichlidae) species of the Uruguay and Paraná River drainages.** Zootaxa, 1724: 1-51.
- Rícan, O., Piálek, L., Almirón, A. & Casiota, J. R. 2011. **Two new species of *Australoheros* (Teleostei: Cichlidae), with notes on diversity of the genus and biogeography of the Río de la Plata basin.** Zootaxa, 2982: 1-26.
- Romer, A. S. & Parsons, T. S. 1977. **The Vertebrate body.** 5th edition. W. B. Saunders Company. 624 pp.
- Rosso, J., Magrabaña, E., González Castro, M. & Díaz de Astarloa, J. 2012. **DNA barcoding Neotropical fishes: recent advances from the Pampa Plain, Argentina.** Molecular Ecology Resources, 12: 999-1011.
- Saitou, N. & Nei, M. 1987. **The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees.** Molecular Biology and Evolution, 4: 406-425.
- Schindler, I., Ottoni, F. P. & Cheffe, M. M. 2010. ***Heros acaroides* Hensel, 1870 – a valid species of *Australoheros* (Teleostei: Perciformes: Cichlidae) from the Patos-Mirim lagoon system, south Brazil.** Vertebrate Zoology, 60 (2): 139-146.
- Smith, W. L., Chakrabarty, P. & Sparks, J. S. 2008. **Phylogeny, taxonomy, and evolution of Neotropical cichlids (Teleostei: Cichlidae: Cichlinae).** Cladistics, 24: 625-641.
- 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: 2731-2739.
- Taylor, W. R. & Van Dyke, G. C. 1985. **Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study.** Cybium, 9: 107-119.
- Triques, M. L. & Queiroz, F. M. 2010. **Fish, Characiformes, Characidae, *Astyanax turmalinensis* Triques, Vono & Caiafa, 2003: Distribution extension.** Check List, 6 (3): 400-401.
- Vieira, F. 2011. **Distribuição, impactos ambientais e conservação da fauna de peixes da bacia do rio Doce.** MG. Biota, Instituto Estadual de Florestas/MG, 2 (5): 5-22.

- Vieira, F., Santos, G. B. & Alves, B. M. 2005. **A ictiofauna do Parque Nacional da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil) e áreas adjacentes**. Lundiana, 6: 77-87.
- 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 of London B Biological Sciences, 360: 1847-1857.
- Weitzman, S. H. 1962. **The osteology of *Brycon meeki*, a generalized Characid fish, with an osteological definition of the family**. Stanford Ichthyological Bulletin, 8 (1): 1-77.
- Weitzman, S. H. 1974. **Osteology and evolutionary relationships of the Sternopytychidae, with a new classification of stomioid families**. Bulletin of the American Museum of Natural History, 153: 327-478.
- Wiens, J. J. & Servedio, M. R. 2000. **Species delimitation in systematics: inferring diagnostic differences between species**. Proceeding of the Royal Society London B, 267: 631-636.
- <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>
- <http://geosisemanet.meioambiente.mg.gov.br/#>
- <http://www.boldsystems.org>
- www.brbol.org
- www.mi.gov.br/saofrancisco/rio



Figura 1. Mapa dos municípios de Jaboticatubas e Santana do Riacho, estado de Minas Gerais, Brasil.

Linhas contínuas indicam corpos d'água; círculos pretos indicam locais de coletas; triângulo indica a localização da sede do ICMBio (IBAMA); Córrego Zé Coelho: 19° 20' S, 43° 37' O; Rio Cipó: 19° 20' S, 43° 37' O; Lagoa dos Sapos: 19° 20' S, 43° 37' O; Córrego das Pedras: 19° 21' S, 43° 35' O; Ribeirão Mascates: 19° 21' S, 43° 35' O; Lagoa Comprida: 19° 22' S, 43° 35' O. Fonte: <http://geosisemanet.meioambiente.mg.gov.br/#>

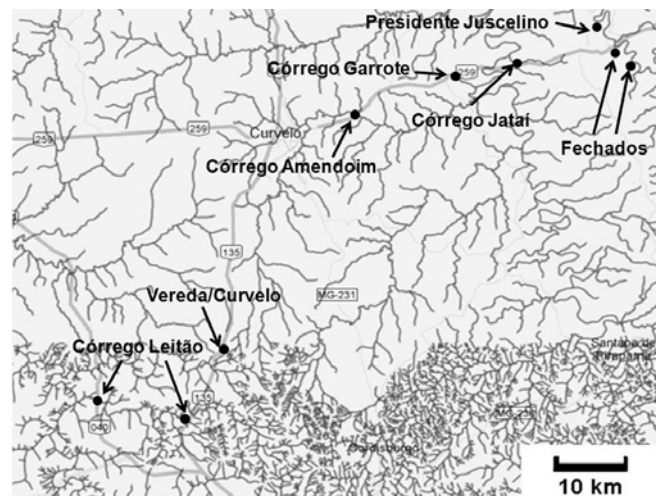


Figura 2. Mapa dos municípios de Paraopeba, Angueretá, Curvelo, Inimutaba, Presidente Juscelino e

Fechados, estado de Minas Gerais, Brasil. Linhas contínuas indicam corpos d'água; linhas que representam rodovias estão indicadas por números que as nomeiam; círculos pretos indicam locais de coletas; Córrego Leitão (Angueretá – BR-040): 19° 04' S, 44° 39' O; Córrego Leitão (Curvelo – BR-135): 19° 06' S, 44° 33' O; Vereda/Curvelo: 19° 02' S, 44° 31' O; Córrego Amendoim: 18° 43' S, 44° 20' O; Córrego Garrote: 18° 40' S, 44° 12' O; Córrego Jataí: 18° 40' S, 44° 10' O; Presidente Juscelino: 18° 38' S, 44° 03' O; Fechados: 18° 39' S, 44° 03' O e 18° 40' S, 44° 02' O. Fonte: <http://geosisemanet.meioambiente.mg.gov.br/#>

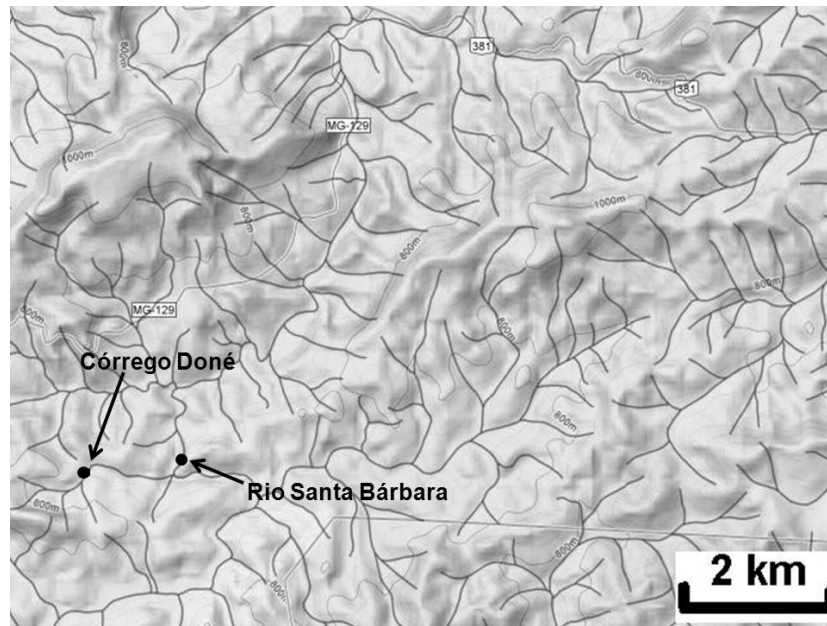


Figura 3. Mapa do município de São Gonçalo do Rio Abaixo, estado de Minas Gerais, Brasil. Linhas contínuas indicam corpos d'água; círculos pretos indicam locais de coletas; Córrego do Doné: 19° 52' S, 43° 22' O, 780 m; Rio Santa Bárbara: 19° 53' S, 43° 22' O. Fonte: <http://geosisemanet.meioambiente.mg.gov.br/#>

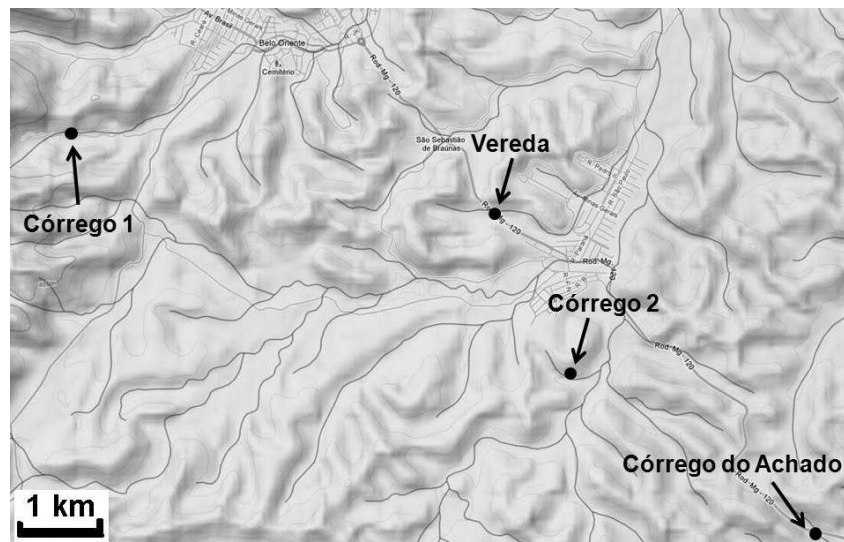


Figura 4. Mapa do município de Belo Oriente, estado de Minas Gerais, Brasil. Linhas contínuas indicam corpos d'água; círculos pretos indicam locais de coletas; Córrego 1: 19° 13' S, 42° 30' O, 295 m; Córrego 2: 19° 15' S, 42° 27' O, 235 m; Vereda: 19° 14' S, 42° 27' O, 242 m; Córrego do Achado: 19° 16' S, 42° 25' O, 250 m. Fonte: <http://geosisemanet.meioambiente.mg.gov.br/#>

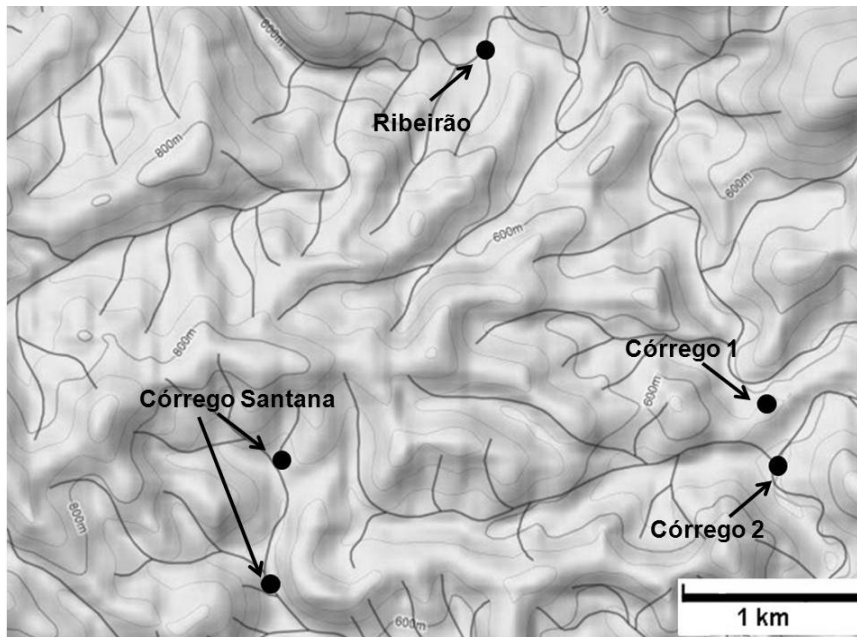


Figura 5. Mapa do município de Carmésia, estado de Minas Gerais, Brasil. Linhas contínuas indicam corpos d'água; círculos pretos indicam locais de coletas; Ribeirão (Fazenda Barra de São João): 19° 03' S, 43° 12' O, 526 m; Córregos 1 e 2: 19° 04' S, 43° 11' O, 526 m; Córrego Santana: 19° 05' S, 43° 12' O, 636 m. Fonte: <http://geosisemanet.meioambiente.mg.gov.br/#>

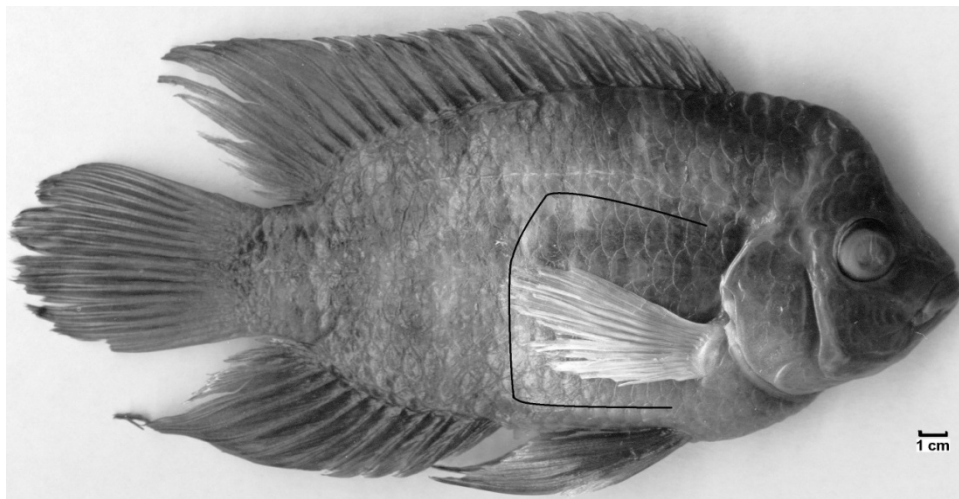


Figura 6. Exemplar de *Australoheros* do PNSC, 78,5 mm CP, fixado, em vista lateral apresentando seu lado direito, com desenho mostrando como foi feito o corte para sexagem. Foto: Triques, M. L.



Figura 7. *Australoheros* sp. n. 1. Holótipo em vista lateral, DZUFMG 130, macho, 107,8 mm CP, lagoa Comprida, no PNSC, drenagem rio Cipó. Foto: Triques, M. L.



Figura 8. *Australoheros* sp. n. 1. Parátipo em vista lateral, UFRJ 8971, macho, 93,1 mm CP, córrego Zé Coelho, no PNSC, drenagem rio Cipó. Animal ainda vivo. Foto: Carmo, G. F.; fotografado do lado direito e revertido.

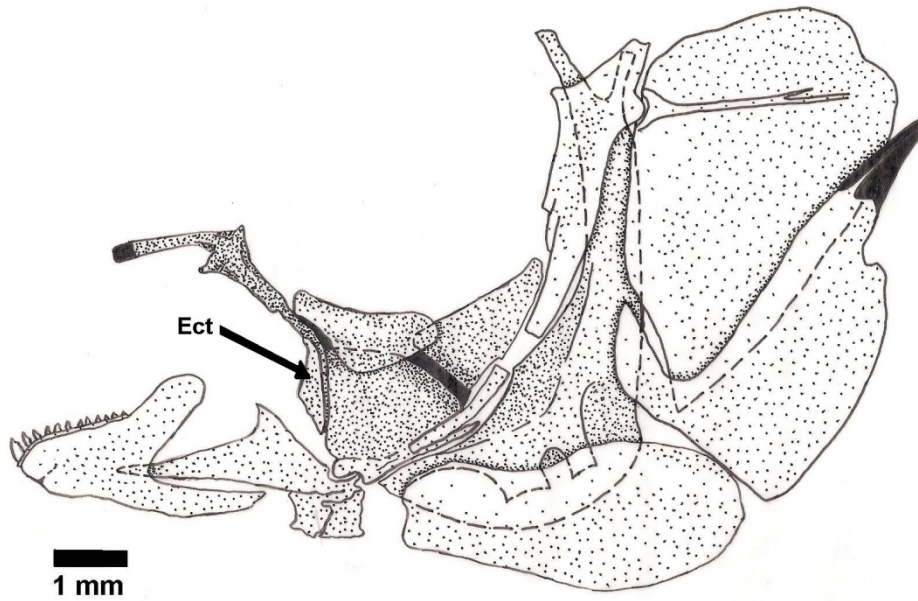


Figura 9. Ossos faciais de *Australoheros* sp. n. 2, 40,6 mm CP. Ect: ectopterygoide. Nomenclatura dos demais ossos encontrada em Ottoni & Costa (2008: 211, fig. 3). Ilustração de Carmo, G. F.



Figura 10. Exemplar de *Australoheros* sp. n. 2. Foto tirada logo após morte em formol. Macho, DZUFMG 109, 79,8 mm CP. Foto: Carmo, G. F.



Figura 11. Exemplar de *Australoheros* sp. n. 2. Animal ainda vivo. Macho, DZUFMG 109, 79,8 mm CP.

Foto: Carmo, G. F.; fotografado do lado direito e revertido.

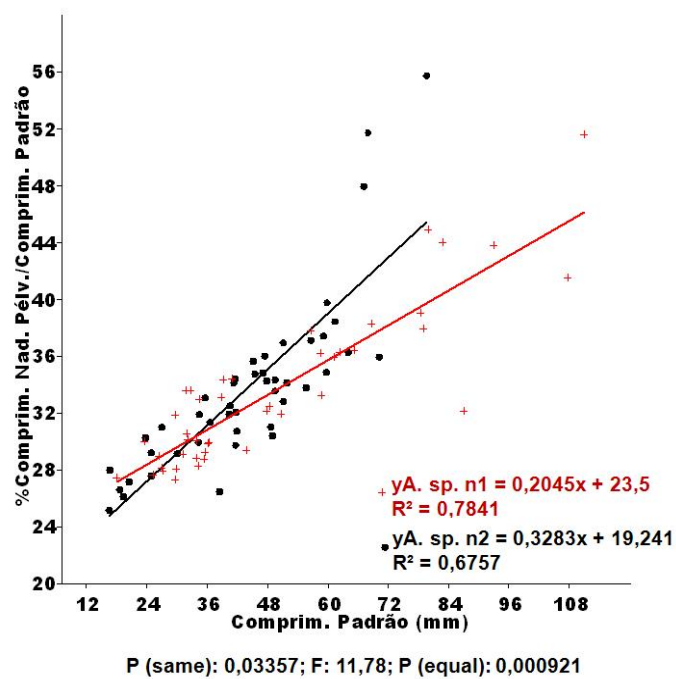


Figura 12. Regressão linear simples e análise ANCOVA da proporção do comprimento da nadadeira pélvica em relação ao comprimento padrão entre *Australoheros* sp. n. 1 ($n = 44$, reta e círculos pretos), *A.* sp. n. 2 ($n = 46$, reta e cruzeiras vermelhas).

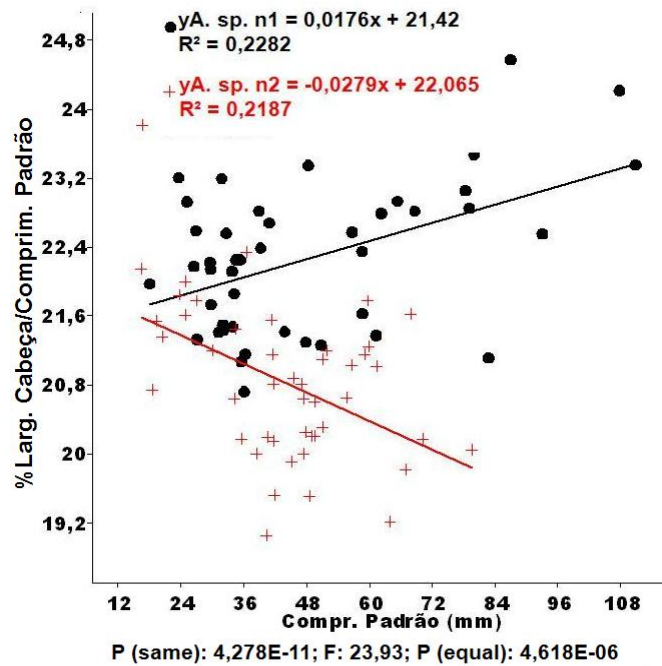


Figura 13. Regressão linear simples e análise ANCOVA da proporção da largura da cabeça em relação ao comprimento padrão entre *Australoheros* sp. n. 1 ($n = 44$, reta e círculos pretos) e *A.* sp. n. 2 ($n = 46$, reta e cruces vermelhas).

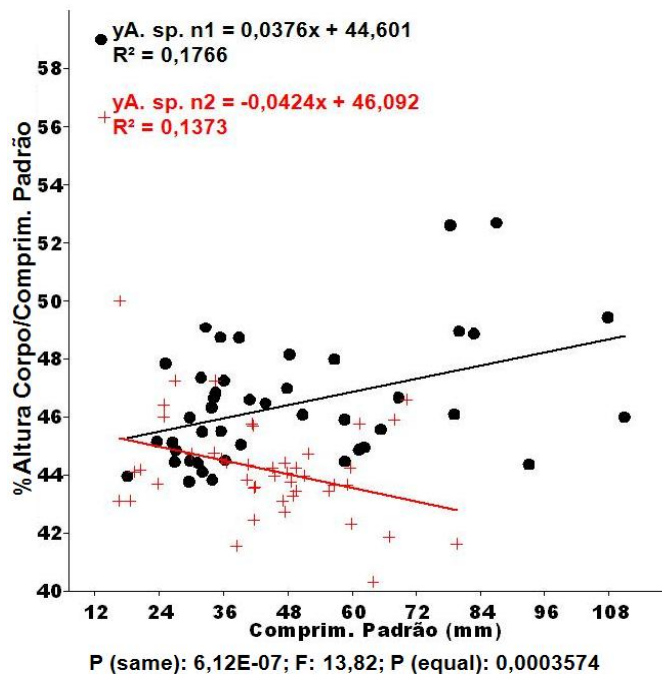


Figura 14. Regressão linear simples e análise ANCOVA da proporção da altura do corpo em relação ao comprimento padrão entre *Australoheros* sp. n. 1 ($n = 44$, reta e círculos pretos) e *A.* sp. n. 2 ($n = 46$, reta e cruces vermelhas).

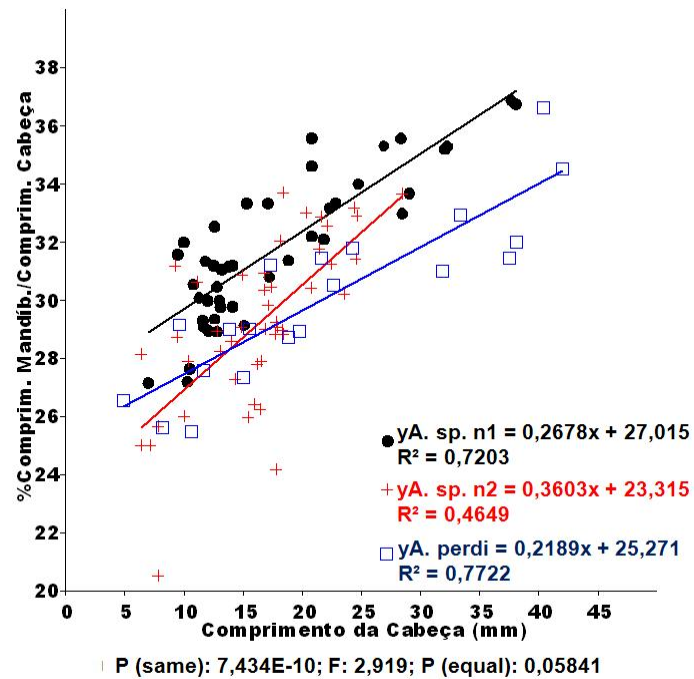


Figura 15. Regressão linear simples e análise ANCOVA da proporção da largura da cabeça em relação ao comprimento da cabeça entre *Australoheros* sp. n. 1 ($n = 44$, reta e círculos pretos), *A.* sp. n. 2 ($n = 46$, reta e cruces vermelhas) e *A. perdi* ($n = 20$, reta e quadrados azuis).

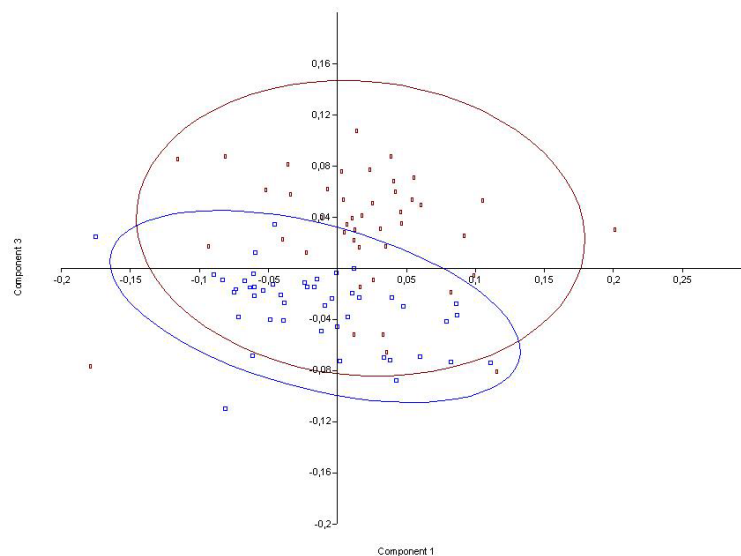


Figura 16. Análise de componentes principais obtida com dados de *Australoheros* sp. n. 1 (elipse e quadrados vermelhos) e *A.* sp. n. 2 (elipse e quadrados azuis). Componente 1: comprimento padrão; Componente 3: largura da cabeça.

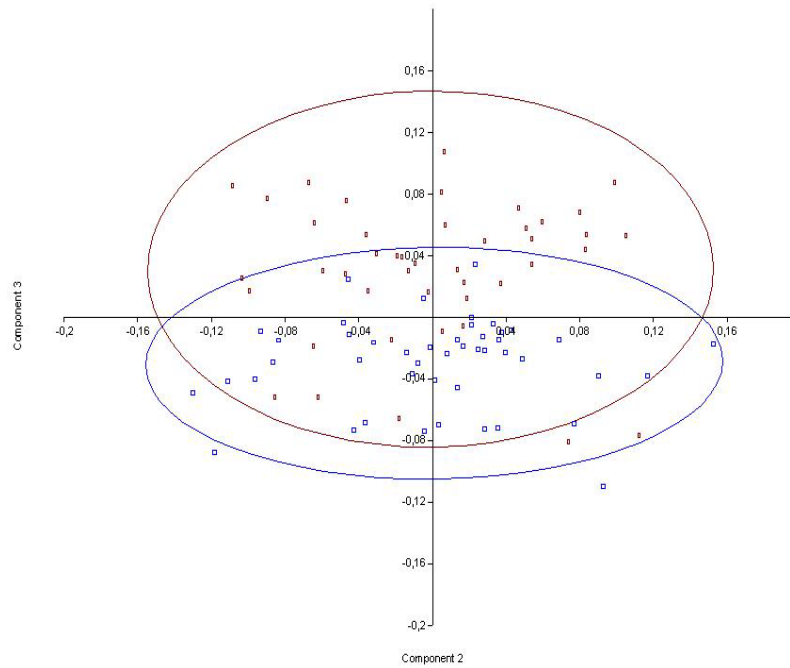


Figura 17. Análise de componentes principais obtida com dados de *Australoheros* sp. n. 1 (elipse e quadrados vermelhos) e *A.* sp. n. 2 (elipse e quadrados azuis). Componente 2: comprimento da cabeça; Componente 3: largura da cabeça.

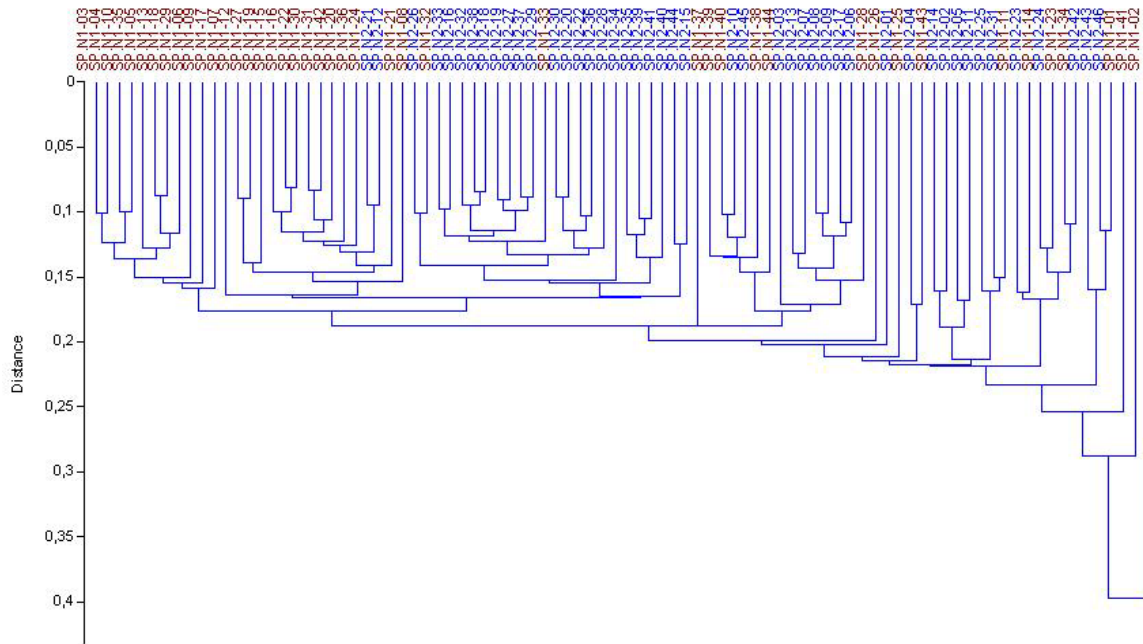


Figura 18. Análise de “cluster” obtida com dados de *Australoheros* sp. n. 1 (cor vermelha) e *A.* sp. n. 2 (cor azul).

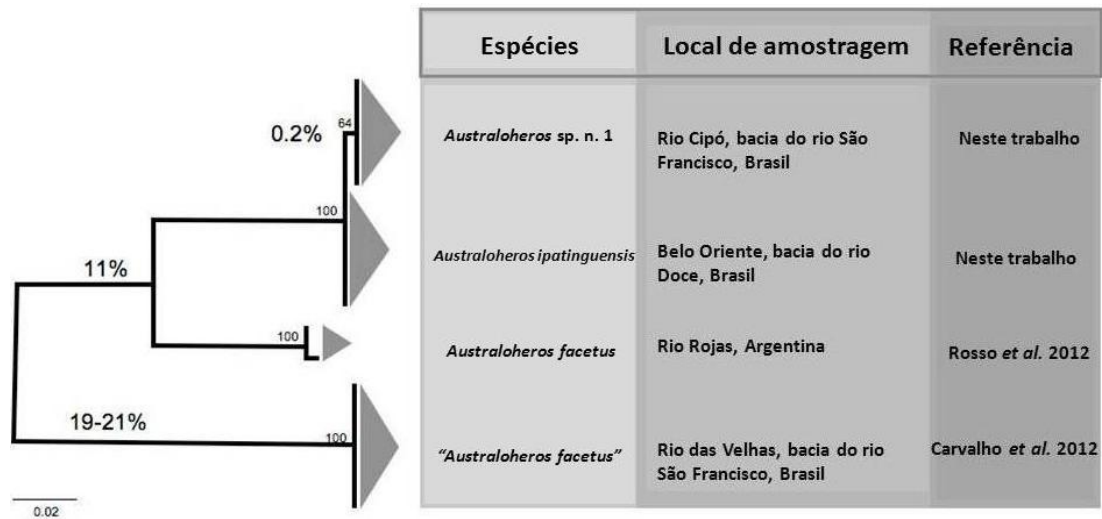


Figura 19. Árvore “neighbor-joining” de todas as sequências analisadas, identificação de espécies e local de coleta/distribuição geográfica. Valores de “bootstrap” são apresentados sobre os ramos. Percentagens de divergência genética encontradas para cada clado também estão indicadas. Os tamanhos dos triângulos são proporcionais ao número de espécimes em cada clado.



Figura 20. Lagoa Comprida, margem esquerda do rio Cipó, PNSC, município de Jaboticatubas, MG, 19°22'37" S, 43°35'44" O. Um dos habitats de *Australoheros* sp. n. 1. Foto de Carmo, G. F.



Figura 21. Porção pantanosa na cabeceira do córrego do Doné, afluente da margem esquerda do rio Santa Bárbara, Peti/CEMIG, município de São Gonçalo do Rio Abaixo, MG, 19° 52' S, 43° 22' O. Habitat de *Australoheros* sp. n. 2. Foto de Carmo, G. F.

Tabela 1. Dados morfométricos de *Australoheros* sp. n. 1 ($n = 16$) e *A.* sp. n. 2 ($n = 14$), acima de 50 mm de comprimento padrão. Variação de n , quando diferente, expressa em parênteses.

	<i>Australoheros</i> sp. n. 1 ($n = 16$)	<i>Australoheros</i> sp. n. 2 ($n = 14$)
Comprimento padrão (mm)		
	50,8-110,9	51,2-79,8
Percentagens do Comprimento Padrão		
Comprimento da cabeça	34,0-37,1	34,8-37,9
Largura da cabeça	21,1-24,6	20,1-21,8
Altura preorbital	21,1-26,9	18,4-23,9
Comprimento do focinho	10,9-14,1	10,4-13,2
Diâmetro orbital horizontal	8,1-14,4	10,4-13,3
Altura da órbita	11,2-18,3	11,0-16,1
Comprimento da maxila superior	11,4-13,4	11,0-13,0
Comprimento da mandíbula	11,4-13,1	10,2-12,1
Largura interorbital	12,9-17,4	13,0-15,3
Altura da cabeça	31,6-38,3	31,9-35,9
Altura do corpo	44,4-52,7	40,3-46,6
Comprimento da nadadeira peitoral	28,3-34,2	29,7-33,3
Comprimento da base da nadadeira peitoral	7,1-8,6	7,1-8,2
Comprimento peitoral-pélvico	9,5-13,0	8,3-11,2
Comprimento do espinho da nadadeira pélvica	16,0-18,8	15,8-18,9
Comprimento da nadadeira pélvica	31,9-51,6	32,8-55,8
Comprimento do último espinho da nadadeira dorsal	11,5-18,5	14,0-19,0
Comprimento do último espinho da nadadeira anal	15,0-18,8	16,3-18,4
Comprimento da base da nadadeira dorsal	55,5-63,7	56,7-63,4
Comprimento da base da nadadeira anal	26,4-31,7	28,1-32,0
Comprimento pré-dorsal	39,6-45,1	40,9-44,1
Comprimento pré-pélvico	44,3-47,3	42,9-48,2
Altura do pedúnculo caudal	17,2-20,6	17,9-19,8
Comprimento do pedúnculo caudal	5,0-8,5	5,5-7,8
Comprimento da nadadeira caudal	33,5-39,0	31,4-40,4
Percentagens de Comprimento Cefálico		
Largura da cabeça	57,4-69,2	52,3-60,2
Altura preorbital	59,0-76,9	51,9-68,6
Comprimento do focinho	30,8-39,8	28,9-38,0
Diâmetro orbital horizontal	23,6-38,8	29,8-37,0
Altura da órbita	30,3-51,2	31,1-46,1
Comprimento da maxila superior	32,2-38,3	31,1-35,8
Comprimento da mandíbula	31,4-36,9	29,0-33,7
Largura interorbital	36,2-50,9	34,8-42,6
Altura da cabeça	91,3-108,8	87,7-102,0
Percentagem de Distância Peitoral-Pélvica		
Comprimento da base da nadadeira peitoral	62,1-80,4	71,7-98,1
Percentagem da Altura do Pedúnculo Caudal		
Comprimento do pedúnculo caudal	29-41,3	25,8-41,7

Tabela 2. Dados merísticos de *Australoheros* sp. n. 1 ($n = 16$) e *A.* sp. n. 2 ($n = 14$), acima de 50 mm de comprimento padrão. Variação de n , quando diferente, expressa em parênteses.

	<i>Australoheros</i> sp. n. 1 ($n = 16$)	<i>Australoheros</i> sp. n. 2 ($n = 14$)
Espinhos da nadadeira dorsal	15-17	16-17
Total de raios da nadadeira dorsal	8-10	9-11
Espinhos da nadadeira anal	6-8	7-8
Total de raios da nadadeira anal	7-8	7-9
Espinhos da nadadeira pélvica	1	1
Raios da nadadeira pélvica	5	5
Raios da nadadeira peitoral	13-14	13-14
Raios caudais	20-23 (2-4+6-8+7-8+3-5)	19-25 (2-4+7-8+7-8+3-4)
Vértebras totais	25-26 (7)	26-27 (9)
Pares de costelas	10-11 (9)	10-11 (12)
Vértebras pré-caudais	13 (9)	13-14 (12)
Vértebras caudais	12-13 (7)	12-14 (9)
Radiais proximais da nadadeira dorsal	24-25 (7)	24-25 (7)
Radiais proximais da nadadeira anal	12-13 (7)	12-14 (8)
Rastros branquiais do primeiro arco branquial	(15-17)+(5-7) (3)	(15-18)+(5-8) (4)
Escamas da série de linha lateral superior	16-18	16-18
Escamas da série de linha lateral inferior	8-10	8-10
Escamas entre as linhas laterais	2	2
Escamas na altura do pedúnculo caudal	6-8	7
Série de escamas transversais na origem da nadadeira dorsal	4-5	4
Escamas do fim da série de linha lateral superior até a nadadeira dorsal	2	2
Série de escamas transversais na origem da nadadeira anal até a linha lateral superior	8-9	7-9
Número de escamas em E0	24-28	26-28
Número de escamas em E1	25-28	26-28
Número de escamas em E2	20-22	20-22

Tabela 3. Dados morfométricos de *Australoheros* spp. em relação ao comprimento padrão: *A. ipatinguensis* (Holótipo e 2 parátipos diafanizados, e dados de Ottoni & Costa, 2008), *A. perdi* (holótipo e 10 parátipos, e dados de Ottoni *et al.*, 2011) e *A. mattosi* (dados de Ottoni, 2012). Variação de *n*, quando diferente, expressa em parênteses.

	Amplitude da variação em <i>A. ipatinguensis</i> (Holótipo+parátipos)	Amplitude da variação em <i>A.</i> <i>ipatinguensis</i> (Ottoni & Costa, 2008)	Amplitude da variação em <i>A. perdi</i> (<i>n</i> = 11)	Amplitude da variação em <i>A. perdi</i> (Ottoni <i>et al.</i> , 2011)	Amplitude da variação em <i>A.</i> <i>mattosi</i> (Ottoni, 2012)
	53,5 (Hol)	19,6-53,5	12,0-120,2	39,8-121,1	43,0- 106,3
1 Comprimento da cabeça	37,6 (1)		33,8-37,9 (16)	38,6 (1 – Holót.)	36,9 (1 – Holót.)
2 Largura da cabeça	21,9 (1)		19,6-22,5	17,3-23,5	17,9-20,4
3 Altura cefálica preorbital	23,0 (1)		21,6-31,4	17,7-30,3	20,8-23,6
4 Comprimento do focinho	11,7 (1)		10,2-13,5	10,6-14,5	12,6-15,2
5 Diâmetro orbital horizontal	11,7 (1)		7,7-10,5 (2)	7,4-14,3	8,9-12,6
6 Altura da órbita	15,6 (1)		13,5-19,7 (2)		
7 Comprimento da maxila superior	11,5 (1)		11,2-13,5 (16)	9,8-13,0	10,2-12,1
8 Comprimento da mandíbula	11,5 (1)		10,5-12,4	7,8-10,2	6,7-9,4
9 Largura interorbital	15,8 (1)		12,4-17,2	10,9-15,4	14,4-15,9
10 Altura da cabeça	39,1 (1)		34,9-45,3	32,1-45,7	29,8-34,2
11 Altura do corpo	51,8 (1)	47,3-51,2	47,0-56,8	40,0-56,0	41,5-45,2
12 Comprimento da nadadeira peitoral	34,5 (1)	29,2-32,3	29,0-35,6	27,5-35,3	26,2-30,8
13 Comprimento da base da nadadeira peitoral	8,7 (1)		7,5-9,1		
14 Comprimento peitoral-pélvico	11,3 (1)		10,7-12,6		
15 Comprimento do espinho da nadadeira pélvica	18,6 (1)	14,6-17,8	17,8-18,4 (2)	14,3-20,4	13,5-18,2
16 Comprimento da nadadeira pélvica	43,8 (1)	29,6-46,5	44,7-47,7 (2)	26,1-49,9	28,4-50,0
17 Comprimento do último espinho da nadadeira dorsal	20,8 (1)	14,2-16,6	14,2-19,0 (15)	13,3-20,4	13,2-15,4
18 Comprimento do último espinho da nadadeira anal	18,2 (1)	14,3-15,6	15,2-19,4	14,4-20,8	13,5-17,3
19 Comprimento da base da nadadeira dorsal	59,4 (1)	55,7-58,7	59,1-68,9	54,2-66,4	53,4-58,3
20 Comprimento da base da nadadeira anal	30,2 (1)	25,4-29,0	30,3-30,7 (2)	25,7-31,9	23,3-29,6
21 Comprimento pré-dorsal	46,2 (1)	45,0-48,0	40,3-45,4 (16)	41,1-49,1	41,3-46,7
22 Comprimento pré-pélvico	48,4 (1)	43,8-47,3	47,6-47,8 (2)	42,9-48,3	41,4-45,1
23 Altura do pedúnculo caudal	18,7 (1)	15,7-18,0	18,4-22,3 (16)	16,5-22,7	15,0-18,2
24 Comprimento do pedúnculo caudal	5,4 (1)	6,6-8,0	5,7-8,1	9,3-13,4	7,6-10,8
25 Comprimento da nadadeira caudal	36,2 (1)	29,6-32,4	29,3-34,7 (10)	26,8-36,1	28,2-34,2

Tabela 4. Dados morfométricos de *Australoheros* spp.: *A. ipatinguensis* (Holótipo e 2 parátipos diafanizados, e dados de Ottoni & Costa, 2008), *A. perdi* (holótipo e 10 parátipos, e dados de Ottoni *et al.*, 2011) e *A. mattosi* (dados de Ottoni, 2012). Variação de *n*, quando diferente, expressa em parênteses.

	Amplitude da variação em <i>A. ipatinguensis</i> (Holótipo+parátipos)	Amplitude da variação em <i>A. ipatinguensis</i> (Ottoni & Costa, 2008)	Amplitude da variação em <i>A. perdi</i> (<i>n</i> = 11)	Amplitude da variação em <i>A. perdi</i> (Ottoni <i>et al.</i> , 2011)	Amplitude da variação em <i>A. mattosi</i> (Ottoni, 2012)	
Em Relação ao Comprimento da Cabeça						
1	Largura da cabeça	58,1 (1)	47,9-50,2	54,3-66,3	46,7-66,6	48,9-55,2
2	Altura preorbital	61,1 (1)	56,6-60,3	58,0-90,0	61,8-84,0	56,7-64,0
3	Comprimento do focinho	31,0 (1)	32,9-35,9	27,9-38,6	29,1-40,7	32,9-41,4
4	Diâmetro orbital horizontal	31,0 (1)	27,1-32,8	22,1-29,6 (2)	20,9-36,2	24,2-32,9
5	Altura da órbita	41,4 (1)		38,1-56,4 (2)		
6	Comprimento da maxila superior	30,5 (1)	25,4-27,6	30,3-38,4 (16)	24,1-37,0	28,0-32,7
7	Comprimento da mandíbula	30,5 (1)	17,0-19,2	28,7-36,6	19,6-28,4	17,7-25,4
8	Largura interorbital	41,9 (1)	37,1-39,3	34,5-49,3	28,7-43,5	37,8-43,0
9	Altura da cabeça	103,9 (1)	87,3-89,7	94,1-130,5	85,5- 129,5	82,9-99,1
Em Relação ao Comprimento Peitoral-Pélvico						
1	Comprimento da base da nadadeira peitoral	77,0 (1)		63,7-80,3		
Em Relação à Altura do Pedúnculo Caudal						
1	Comprimento do pedúnculo caudal	28,7 (1)		26,6-39,0		

Tabela 5. Dados merísticos de *Australoheros* spp.: *A. ipatinguensis* (Holótipo e 2 parátipos diafanizados, e dados de Ottoni & Costa, 2008), *A. perdi* (holótipo e 10 parátipos, e dados de Ottoni *et al.*, 2011) e *A. mattosi* (dados de Ottoni, 2012). Variação de *n*, quando diferente, expressa em parênteses.

	Amplitude da variação em <i>A. ipatinguensis</i> (Holótipo+parátipos)	Amplitude da variação em <i>A. ipatinguensis</i> (Ottoni & Costa, 2008)	Amplitude da variação em <i>A. perdi</i> (<i>n</i> = 10)	Amplitude da variação em <i>A. perdi</i> (Ottoni <i>et al.</i> , 2011)	Amplitude da variação em <i>A. mattosi</i> (Ottoni, 2012)
1 Espinhos da nadadeira dorsal	15 (3)	15	15-16 (5)	14-16	16-17
2 Raios da nadadeira dorsal	10-11 (3)	10-11	9-11 (5)	9-11	9-10
3 Espinhos da nadadeira anal	7-8 (3)	7	6-7 (5)	6-8	6-8
4 Raios da nadadeira anal	8-9 (3)	9	8-10 (5)	8-10	8-9
5 Espinhos da nadadeira pélvica	1 (3)	1	1 (2)	1	1
6 Raios da nadadeira pélvica	5 (3)	5	5 (2)	5	5
7 Raios da nadadeira peitoral	13-14 (3)	14	13-14	11-13	14
8 Raios caudais	20-22 (3) (3-4+7+7+3-4)	21-22 (3+8+8+2-3)	20-21 (4) (3-4+6-8+7+3-4)	22 (3+8+8+3)	21-22 (3+8+8+2-3)
9 Vértebras totais	26 (3)	26	25-26 (8)	25	26
10 Pares de costelas	10-11 (3)	10	9-11 (8)	11	11
11 Vértebras pré-caudais	13 (3)	14	12-14 (8)	13	14
12 Vértebras caudais	13 (3)	12	12-13 (8)	12	12
13 Radiais proximais na base da nadadeira dorsal	24-25 (3)	24-25	22-25 (7)	22-24	24-25
14 Radiais proximais na base da nadadeira anal	13-14 (3)	13	12-13 (7)	13	12
15 Rastros branquiais do primeiro arco branquial	(15-16)+(4-5) (2)	(13-16)+(3-5)	(14-15)+(5-7) (5)	(15-16)+(5-7)	
16 Escamas da série de linha lateral superior	17 (1)	16-17	15 (2)	13-18	16-18
17 Escamas da série de linha lateral inferior	6 (1)	7-9	9 (2)	6-10	7-10
18 Escamas entre as linhas laterais	2 (1)		2 (2)	1-2	2
19 Escamas na altura do pedúnculo caudal	7 (1)		7 (2)	7-8	7
20 Série de escamas transversais na origem da nadadeira dorsal	4 (1)	4	3-4 (2)	3-4	4
21 Escamas do fim da série de linha lateral superior até a nadadeira dorsal	1 (1)		2-3	2-3	3
22 Série de escamas transversais na origem da nadadeira anal até a linha lateral superior	9 (1)	8	9-10	8	8-9
23 Número de escamas em "E0"	24 (1)		27 (2)	24-26	25-28
24 Número de escamas em "E2"	22 (1)		20 (2)	22-24	21-23
25 Número de escamas em "E1"	24 (1)	25-26	25 (2)	24-25	25-29

Tabela 6. Modificações apresentadas pelos indivíduos de *Australoheros* sp. n. 1 ao longo de seu desenvolvimento ontogenético ($n = 37$). Lacunas em cinza contêm características encontradas nos cinco maiores indivíduos, sendo consideradas próprias da fase adulta.

Caracter	10-19,9 mm CP	20-29,9 mm CP	30-39,9 mm CP	40-49,9 mm CP	50-59,9 mm CP	60-69,9 mm CP	70 mm CP ou mais
Séries de pequenas escamas na base da nadadeira caudal	Ausentes (até 25-28 mm CP)	Presentes (cobrindo 1/5 a 1/2 da nadadeira)					
1ª série de pequenas escamas nas bases das nadadeiras dorsal e anal	Ausentes (até 22-26 mm CP)	Presentes (iniciando-se do 10º espinho ao 1º raio na base da dorsal; e do 4º espinho ao 2º raio na base da anal)					
2ª série de pequenas escamas nas bases das nadadeiras dorsal e anal	Ausentes (até 27-30 mm CP)	Presentes (iniciando-se do último espinho ao 4º raio na base da dorsal; e do 1º ao 4º raio na base da anal)					
Séries oblíquas de escamas nas bochechas	Ausentes (até 21-27 mm CP)	1-2 séries (35 mm CP)					3-4 séries
Coloração <i>in vivo</i> das nadadeiras anal, pélvica e caudal	Sem tonalidade amarelada ou tonalidade mais fraca, tendo a caudal padrão de coloração em xadrez e sem margem posterior rósea (até 40 mm CP)			Tonalidade amarelada nestas nadadeiras e margem posterior da caudal rósea sem padrão em xadrez			
Raios da nadadeira peitoral	Mais de 2 raios não ramificados (até 58-63 mm CP)					1-2 raios não ramificados	
Raios da nadadeira dorsal	Há raios não ramificados (até 33-36 mm CP)	Apenas com raios ramificados					
Raios da nadadeira anal	Há raios não ramificados (até 27 mm CP)	Apenas com raios ramificados					
Alcance da nadadeira dorsal	Até 1/3 da nadadeira (até 50-55 mm CP)				Entre 1/2 ao fim da nadadeira		
Alcance da nadadeira anal	Até 1/3 da nadadeira (até 40-43 mm CP)			Entre 1/2 a 3/4 da nadadeira			
Alcance da nadadeira pélvica	Não alcança origem nad. anal (15-18)	Alcança 3º espinho da nadadeira anal (até 47-50 mm CP)			Alcança entre 4º espinho ao 1º raio da nadadeira anal		
Invasão das barras verticais na nadadeira dorsal	Ausente (até 20-25 mm CP)	Inconspícua (até 40-45 mm CP)			Conspícua		
Depressão sobre o olho	Ausente (até 20-25 mm CP)	Presente					
Posição da narina	Mais próxima da órbita (até 51-55 mm CP)					1/2 da distância entre sínfise max. e margem ant. orb.	
Horizontal que passa pela margem inferior da órbita	Abaixo do nível entre mandíbula e maxila superior quando a boca está fechada até pouco abaixo da sínfise maxilar superior (até 51-56 mm CP)						Ao nível da sínfise maxilar superior ou acima desta
Protuberância cefálica na região pré-dorsal do macho	Ausente (até 51-63 mm CP)					Presente	

Tabela 6. Modificações apresentadas pelos indivíduos de *Australoheros* sp. n. 2 ao longo de seu desenvolvimento ontogenético, com base em 28 indivíduos.

Caracter	10-19,9 mm CP	20-29,9 mm CP	30-39,9 mm CP	40-49,9 mm CP	50-59,9 mm CP	60-69,9 mm CP	70 mm CP ou mais
Séries de pequenas escamas na base da nadadeira caudal	Ausentes (até 16,8 mm CP)	Presentes (cobrindo entre 1/5 a 1/4 da nadadeira)					
1ª série de pequenas escamas nas bases das nadadeiras dorsal e anal	Ausentes (até 16,8 mm CP)	Presentes (iniciando-se do 10º ao último espinho na base da dorsal; e do 5º espinho ao 3º raio na base da anal)					
2ª série de pequenas escamas nas bases das nadadeiras dorsal e anal	Ausentes (até 23,8 mm CP)	Presentes (iniciando-se do último espinho ao 2º raio na base da dorsal; e do 1º ao 2º raio na base da anal)					
Escamas na linha mediana da região pré-dorsal	Apenas cicloides (até 49,5 mm CP)				Podem ser ctenoides		
Séries oblíquas de escamas nas bochechas	Ausentes (até 16,8 mm CP)	1-2 séries (até 56,6-59,1 mm CP)			3 séries		
Raios da nadadeira peitoral	Mais de 2 raios não ramificados (até 52 mm CP)				1-2 raios não ramificados		
Raios da nadadeira dorsal	Há raios não ramificados (até 25 mm CP)		Apenas com raios ramificados				
Raios da nadadeira anal	Há raios não ramificados (até 25 mm CP)		Apenas com raios ramificados				
Alcance da nadadeira dorsal	Até 1/3 da nadadeira (até 49,5 mm CP)				Entre 1/2 a 4/5 da nadadeira		
Alcance da nadadeira anal	Até 1/3 da nadadeira (até 45,5-51,2 mm CP)				Entre 1/2 ao fim da nadadeira, podendo ultrapassá-la		
Alcance da nadadeira pélvica	Entre o 1º ao último espinho da base da nadadeira anal (até 61,2 mm CP)					Até o fim da base na nadadeira anal	
Invasão das barras verticais na nadadeira dorsal	Ausente (até 40 mm CP)			Inconspícua (até 55,7 mm CP)		Conspícua	
Coloração <i>in vivo</i> das nadadeiras dorsal, anal e pélvica	Castanho-escuro até 40 mm CP			Castanho-claro, tendo as nadadeiras dorsal e anal tonalidade amarelada e margem posterior rósea			
Posição da narina	Mais próxima da órbita (até 60 mm CP)					1/2 da distância entre sínfise max. e margem ant. orb.	
Horizontal que passa pela margem inferior da órbita	Abaixo do nível entre mandíbula e maxila superior quando a boca está fechada (até 27 mm CP)		Entre mandíbula e maxila superior quando a boca está fechada até pouco abaixo da sínfise maxilar superior (até 56,6-59,7 mm CP)			Ao nível da sínfise maxilar superior	

Tabela 7. Presença/Ausência de 10 atributos/caracteres entre cinco indivíduos de cada população hipotética, assim como um sumário dos perfis populacionais. As populações são distintas com base no caractere 9, “fixado” na população 2. Todos os outros caracteres estão “fixados” em ambas as populações (por exemplo, n^{os} 1, 3 e 8) ou presentes, mas “não fixados” em uma (por exemplo, n^{os} 2, 4, 7 e 10) ou em ambas as populações (por exemplo, n^o 5). Para os atributos/caracteres: 0 = ausência; 1 = presença (no indivíduo) ou “fixado” (na população); +/- = presença, mas “não fixação” na população. (Modificado de Davis & Nixon, 1992)

População/Indivíduo	Atributo/Caractere									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
População 1										
1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1
2	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0
3	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1
4	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0
5	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1
Perfil da população	1	+/-	1	+/-	+/-	0	0	1	0	+/-
População 2										
1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1
2	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1
3	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1
4	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1
5	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1
Perfil da população	1	0	1	1	+/-	+/-	+/-	1	1	1