

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GRAZIELLE WEISS

FILOGENIA MOLECULAR E BIOGEOGRAFIA HISTÓRICA DE *CAENONOMADA*  
ASHMEAD, 1899 (HYMENOPTERA: APIDAE, TAPINOTASPIDINI)

CURITIBA

2011

GRAZIELLE WEISS

FILOGENIA MOLECULAR E BIOGEOGRAFIA HISTÓRICA DE *CAENONOMADA*  
ASHMEAD, 1899 (HYMENOPTERA: APIDAE, TAPINOTASPIDINI)

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, Departamento de Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Gabriel A. R. Melo.

Co-orientador: Dr. Eduardo A. B. Almeida.

CURITIBA

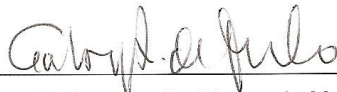
2011

---

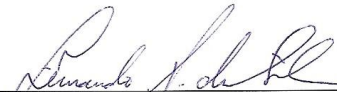
GRAZIELLE WEISS

“FILOGENIA MOLECULAR E BIOGEOGRAFIA HISTÓRICA DE  
CAENONOMADA ASHMEAD, 1899 (HYMENOPTERA: APIDAE,  
TAPINOTASPIDINI)”

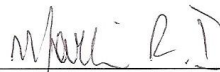
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Mestre em Ciências Biológicas”, no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Prof. Dr. Gabriel Augusto Rodrigues de Melo (Orientador)  
(UFPR)



Prof. Dr. Fernando Amaral da Silveira  
(UFMG)



Prof. Dr. Márcio Roberto Pie  
(UFPR)

Curitiba, 23 de fevereiro de 2011.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Gabriel A. R. Melo, pela orientação durante esses dois anos, pelo apoio, incentivo e pela oportunidade de realizar este trabalho, meu muito obrigada.

Ao Prof. Eduardo A. B. Almeida, meu co-orientador, que mesmo a distância me orientou de forma admirável. Obrigada, acima de tudo, pela confiança depositada em mim e pelo incentivo constante.

Ao Antônio J. C. Aguiar pelas valiosas discussões acerca da biogeografia das áreas abertas da América do Sul e pela revisão deste manuscrito.

À CAPES pela bolsa de estudos concedida.

Aos doutorandos Bolívar R. Garcete, Daniele R. Parizotto, Paschoal Grossi e aos Professores Antônio J. C. Aguiar e Carlos R. F. Brandão por terem fornecido exemplares das abelhas.

À Kelli S. Ramos, amiga querida, por ter me ensinado as técnicas de laboratório. Obrigada pelos ensinamentos, apoio e incentivo constante.

À Paula A. F. B. Bassi, técnica do Laboratório de Biologia Molecular “Danúncia Urban”, pelo auxílio no laboratório.

Ao Marcel K. Tschá e Ricardo Belmonte-Lopes, pela inestimável ajuda com alguns dos programas utilizados neste trabalho.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Entomologia que contribuíram, de diferentes maneiras, para minha formação.

Aos amigos Diego R. Bilski e Kirstern L. F. Haseyama pela revisão deste manuscrito.

À Paula Fabris pelo auxílio com a editoriação das imagens.

Aos professores membros da banca, Cláudio J. B. Carvalho, Fernando A. Silveira e Marcio R. Pie, por terem aceitado o convite, pelas valiosas críticas e contribuição com a qualidade deste trabalho.

À professora Danúncia Urban, pelos sábios ensinamentos e bom humor de todos os dias.

Aos amigos de laboratório (LBCH) por participarem ativamente da minha formação, em especial ao Nuno (Luiz R. R. Faria Jr.), Kelli S. Ramos, Aline C. Martins, Daniele R. Parizotto, Felipe R. Vivallo e Marcel G. Hermes.

Aos alunos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, em especial à Beatriz E. Silveira, Isabel C. Assumpção, Kirstern L. F. Haseyama, Láercio P. A. Neto e Marcel K. Tschá.

Ao José Eduardo Silva Pereira pela tradução do resumo e por todas as “facilidades” que me proporciona.

E, em especial, à minha família.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	IV
LISTA DE TABELAS.....	V
<b>RESUMO.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>2</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>3</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>5</b>
3.1. AMOSTRAGEM.....	5
3.2. ESCOLHA DOS GENES.....	6
3.3. TÉCNICAS MOLECULARES: EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO.....	8
3.4. EDIÇÃO DE SEQUÊNCIAS.....	9
3.5. ALINHAMENTO.....	10
3.6. ANÁLISES FILOGENÉTICAS.....	10
3.7. TAXAS DE SUBSTITUIÇÃO E PARÂMETROS DE EVOLUÇÃO MOLECULAR.....	12
3.8. BIOGEOGRAFIA E ESTIMATIVA DO TEMPO DE DIVERGÊNCIA.....	13
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>14</b>
4.1. DADOS MOLECULARES.....	14
4.2. SELEÇÃO DE MODELOS E COMPARAÇÕES ENTRE OS GENES.....	15
4.3. RELAÇÕES FILOGENÉTICAS.....	19
4.4. BIOGEOGRAFIA E ESTIMATIVA DO TEMPO DE DIVERGÊNCIA.....	22
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>24</b>
5.1. SELEÇÃO DE MODELOS E COMPARAÇÕES ENTRE OS GENES.....	24
5.2. RELAÇÕES FILOGENÉTICAS.....	25
5.3. BIOGEOGRAFIA E ESTIMATIVA DO TEMPO DE DIVERGÊNCIA.....	29
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>33</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>45</b>
APÊNDICE 1.....	45
APÊNDICE 2.....	51
APÊNDICE 3.....	63

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> – Mapa do gene <i>wingless</i> . Localização dos <i>primers</i> , éxons e íntrons estão indicadas. Modificado de Almeida & Danforth (2009).....	8
<b>FIGURA 2</b> – Proporção de bases nucleotídicas comparadas entre os quatro genes (com diferenciação entre éxons e íntrons para os genes nucleares) amostrados neste estudo.....	16
<b>FIGURA 3</b> – Comparações entre os quatro genes amostrados neste estudo baseadas nos parâmetros moleculares estimados pelo MrBayes: (a) taxas relativas de substituição entre os genes; (b) taxas relativas de substituição entre as posições dos códons de cada gene.....	18
<b>FIGURA 4</b> – Comparações entre os quatro genes amostrados neste estudo baseadas nos parâmetros moleculares estimados pelo MrBayes: (a) parâmetro $\alpha$ da distribuição gama; (b) proporção de sítios invariáveis.....	19
<b>FIGURA 5</b> – Filograma resultante da análise de inferência Bayesiana para a análise concatenada empregando um modelo misto consistindo dos modelos selecionados para cada loco gênico da partição (COI e 16S, GTR+ $\Gamma$ ; EF-1 $\alpha$ (éxons) e <i>wingless</i> (íntron), K80+ $\Gamma$ ; EF-1 $\alpha$ (íntron), HKY+ $\Gamma$ e <i>wingless</i> (éxons), HKY+I). O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, na parte superior de cada ramo, corresponde à probabilidade posterior, e os localizados na parte inferior dos ramos correspondem aos valores de <i>bootstrap</i> obtidas pela MV (à esquerda) e parcimônia (à direita). Nós não recuperados são indicados por “-”. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número <i>voucher</i> .....	21
<b>FIGURA 6</b> – Relações filogenéticas entre as quatro espécies de <i>Caenonomada</i> , cada uma delas representada por apenas um terminal (número de <i>voucher</i> indicado entre parênteses): <i>C. bruneri</i> (GW06), <i>C. labrata</i> (GW01), <i>C. unicalcarata</i> (GW02) e <i>C. aff. unicalcarata</i> (GW03). As relações foram inferidas utilizando-se as sequências do gene COI e máxima verossimilhança com o modelo GTR+ $\Gamma$ , (a) forçando-se a adequação do pressuposto do relógio molecular, ou (b) sem restrições à constância da taxa de substituição por unidade de tempo.....	22
<b>FIGURA 7</b> – Idade estimada das divergências entre as linhagens de <i>Caenonomada</i> .....	23
<b>FIGURA 8</b> – Cladograma para as espécies de <i>Caenonomada</i> sobreposto às respectivas áreas de ocorrência.....	23

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> – Lista das espécies incluídas neste estudo e seus respectivos dados de coleta.....	6
<b>TABELA 2</b> – Sequências dos <i>primers</i> utilizados para amplificar os genes COI, 16S rRNA, <i>wingless</i> e EF-1 $\alpha$ .....	8
<b>TABELA 3</b> – Espécimes sequenciados para cada um dos quatro genes (informações detalhadas sobre cada um dos terminais podem ser encontradas na Tabela 1).....	14
<b>TABELA 4</b> – Modelos selecionados pelos critérios de AICc e BIC.....	15



## RESUMO

*Caenonomada* (Apidae: Tapitaspidini) é um gênero de abelhas Neotropicais distribuído pela diagonal de biomas áridos da América do Sul. Três espécies são atualmente reconhecidas: *C. bruneri* endêmica do Chaco e Pampa; *C. labrata* endêmica do Cerrado; e *C. unicalcarata* endêmica da Caatinga, mas com populações disjuntas fora dos limites deste domínio, provavelmente constituindo uma espécie distinta, a qual está sendo tratada como *C. aff. unicalcarata* até receber validação taxonômica formal. Este padrão de endemismo oferece uma oportunidade para investigar a evolução e as relações biogeográficas das áreas secas da América do Sul. Assim, os objetivos deste estudo foram (1) resolver as relações filogenéticas entre as espécies de *Caenonomada* com base em caracteres moleculares; (2) estimar o tempo de divergência entre as linhagens de *Caenonomada*; e (3) avaliar as relações entre a história biogeográfica do gênero com a história da diagonal de áreas abertas da América do Sul. Foram utilizados dois locos nucleares (*wingless* e EF-1 $\alpha$ ) e dois locos mitocondriais (COI e 16S rRNA) para investigar as relações filogenéticas das espécies de *Caenonomada* (incluindo *C. aff. unicalcarata*). Quatro gêneros de Tapinotaspidini (*Chalepogenus*, *Lanthanomelissa*, *Monoeca* e *Tapinotaspidoides*) foram selecionados como grupo externo. Estes dados foram analisados pelos métodos de parcimônia, máxima verossimilhança e inferência Bayesiana. A datação molecular foi realizada com base no loco COI. Todos os resultados sugeriram a monofilia de *Caenonomada* e as seguintes relações entre suas espécies: ((*C. labrata*, *C. bruneri*), (*C. unicalcarata*, *C. aff. unicalcarata*)). Os dados também suportaram fortemente a distinção de *C. aff. unicalcarata*. A sobreposição do cladograma das espécies com suas respectivas áreas de ocorrência sugeriu que a Caatinga e o Cerrado apresentam uma relação próxima com o Chaco, indicando que este último seja uma área biogeográfica híbrida. A datação molecular indicou que a primeira separação no clado *Caenonomada* ocorreu há cerca de 11 Ma, durante o Mioceno Superior. As outras cladogêneses, que deram origem a *C. bruneri* + *C. labrata* e a *C. unicalcarata* + *C. aff. unicalcarata* ocorreram, respectivamente, há cerca de 5 e 4 Ma, durante a transição entre o Mioceno e o Plioceno. Mudanças geológicas durante o Mioceno, como o surgimento dos mares epicontinentais na América do Sul, são discutidas como os possíveis fatores causais de vicariância entre as espécies de *Caenonomada*.

Palavras-chave: Caatinga, Cerrado, Chaco, diagonal de áreas abertas da América do Sul, datação molecular.

## ABSTRACT

*Caenonomada* (Apidae: Tapinotaspidini) is a Neotropical bee genus distributed on the diagonal of arid biomes of South America. Three species are currently recognized: *C. bruneri*, endemic to the Chaco and the Pampa; *C. labrata*, endemic to the Cerrado; and *C. unicalcarata* endemic to the Caatinga. However, *C. unicalcarata* has disjunct populations outside the boundaries of the Caatinga, which are likely to represent a distinct species, and thus have been treated as *Caenonomada* aff. *unicalcarata* while awaiting for a formal taxonomic validation. This pattern of endemism offers an opportunity to explore the evolution and the biogeographic relationships among the South American dry areas. Therefore, this study focused on (1) depicting the phylogenetic relationships among the species of *Caenonomada* based on molecular characters; (2) estimating the times that the lineages of *Caenonomada* have diverged from one another; and (3) assessing the relationship between the biogeographic history of the genus and the history of the South American arid diagonal. Two nuclear (*wingless* and EF-1 $\alpha$ ) and two mitochondrial (COI and 16S rRNA) gene loci were sampled to investigate the phylogenetic relationships among the species of *Caenonomada* (including *C. aff. unicalcarata*). Four other Tapinotaspidini genera (*Chalepogenus*, *Lanthanomelissa*, *Monoeca* and *Tapinotaspoides*) were selected as outgroups. This data set was analyzed by means of parsimony, maximum likelihood and Bayesian inference. Molecular dating was conducted based on the COI data. All results supported the monophyly of *Caenonomada*, and following relation among its species: ((*C. labrata*, *C. bruneri*), (*C. unicalcarata*, *C. aff. unicalcarata*)). Likewise, the distinctiveness of *C. aff. unicalcarata* was widely supported. Superimposing the species cladogram on their respective geographic areas of occurrence suggested that both the Caatinga and the Cerrado exhibit a close relationship with the Chaco, indicating the latter as a hybrid biogeographic area. Molecular dating suggested that the first split in the *Caenonomada* clade occurred 11 Mya, during the late Miocene. The other two splits giving origin to *C. bruneri* + *C. labrata* and to *C. unicalcarata* + *C. aff. unicalcarata* would have occurred at about four to five Mya, respectively, during the transition between Miocene and Pliocene. Geological changes during the Miocene, such as the rising of epicontinental seas in South America, are discussed as potential causal factors in the vicariance of the *Caenonomada* species.

Keywords: Caatinga, Cerrado, Chaco, diagonal of arid biomes of South America, molecular dating.

## 1. INTRODUÇÃO

A tribo Tapinotaspidini representa um grupo de abelhas estritamente Neotropical, cuja distribuição geográfica compreende um território situado entre o Chile e o México, e a face leste dos Andes e o Oceano Atlântico (AGUIAR, 2007). Esta tribo é atualmente representada por 12 gêneros e 93 espécies descritas (AGUIAR, 2007). Porém, as propostas de relacionamentos filogenéticos tanto dentro como entre os gêneros ainda são instáveis e potencialmente relacionadas a uma diversidade de espécies ainda por ser descrita (AGUIAR & MELO, 2006).

Tem sido sugerido que as abelhas do gênero *Caenonomada* ocupam uma posição basal em Tapinotaspidini (ROIG-ALSINA, 1997; AGUIAR & MELO, 2006). Sua distribuição geográfica está associada à diagonal de áreas abertas secas, que se estende do norte da Argentina até o semi-árido do nordeste brasileiro (ZANELLA, 2002). Zanella (2002), baseado em caracteres morfológicos, reconheceu três espécies de *Caenonomada*: *C. bruneri* Ashmead, 1899, endêmica do Chaco e Pampa; *C. labrata* Zanella, 2002, endêmica do Cerrado; *C. unicalcarata* (Ducke, 1908), endêmica da Caatinga, porém com populações disjuntas nos Chacos da Argentina e do Brasil. Essas três espécies formam um grupo monofilético, em que *C. unicalcarata* apresenta-se como espécie irmã das outras duas. Porém, aquele autor sugere que as populações disjuntas de *C. unicalcarata*, fora dos limites da Caatinga, possam representar uma espécie nova não reconhecível morfológicamente. Com base em novos registros de locais intermediários, na Bolívia e Mato Grosso do Sul, Aguiar e Melo (2008) indicam o reconhecimento desta quarta espécie, sugerindo que a população da Caatinga seria considerada como *C. unicalcarata*, ao passo que a população distribuída no domínio do Chaco passaria a ser considerada uma espécie à parte e proximamente relacionada à *C. unicalcarata* (tratada abaixo, por isso, como *Caenonomada* aff. *unicalcarata*).

O padrão biogeográfico proposto para o gênero por Aguiar e Melo (2008) indica que tanto *C. unicalcarata* (endêmica da Caatinga) como *C. labrata* (endêmica do Cerrado) tem como espécies irmãs aquelas que ocorrem no Chaco (*C. aff. unicalcarata* e *C. bruneri*, respectivamente), sugerindo que o Chaco seja um componente híbrido, contendo um Chaco “seco” mais estritamente relacionado à Caatinga e um Chaco “úmido” diretamente relacionado com o Cerrado. Já o

cladograma de táxons e áreas proposto por Zanella (2002) indica que a Caatinga seria área irmã do clado formado pela associação estrita entre o Chaco e Cerrado. Segundo este autor, um antigo evento de vicariância teria separado o ancestral de *Caenonomada* em uma população na Caatinga e outra correspondendo ao ancestral de *C. bruneri* + *C. labrata*, mais ao sul. Posteriormente, outro evento separou a população ancestral destas duas espécies. Porém, não foi indicado naquele trabalho nenhum possível evento geológico associado aos eventos de vicariância. A presença de uma população de *C. unicalcarata* mais ao sul, em simpatria parcial com as outras duas espécies, foi interpretada por Zanella (2002) como resultado da expansão das formações abertas xerófilas ocorridas nos períodos glaciais do Quaternário.

*Caenonomada* apresenta uma distribuição geográfica interessante, cuja história pode ser mais bem compreendida com um estudo de datação das linhagens do gênero, aliada à utilização de ferramentas analíticas da biogeografia histórica. A falta de registro fóssil para *Caenonomada* (e para Tapinotaspidini em geral) dificulta a realização de inferências mais diretas sobre as idades dos eventos de cladogênese responsáveis pela diversidade atual do gênero. Mesmo sem os dados referentes ao registro fóssil das linhagens, o relógio molecular, desde a sua descoberta por Zuckerkandl e Pauling (1965), vem sendo utilizado com sucesso para a inferência de tempos de divergência dos clados de filogenias de vários grupos de organismos (BROMHAM & PENNY, 2003). A possibilidade de determinação de idades de eventos de especiação permite entender a história evolutiva do grupo estudado e propor interpretações que considerem o contexto geológico e ambiental nos quais ocorreram esses eventos.

Dessa forma, este trabalho deve contribuir, não somente para o entendimento das relações filogenéticas de *Caenonomada*, mas também para entender o relacionamento das áreas abertas da América do Sul associadas às espécies do gênero. Visto que os trabalhos relacionados à biogeografia das áreas abertas da América do Sul ainda são incipientes, espera-se que o padrão observado para *Caenonomada* possa ser observado futuramente em outros grupos e possibilite uma melhor interpretação da história biogeográfica das áreas de endemismo associadas a esses domínios fitogeográficos.

## 2. OBJETIVOS

Nesse contexto, os objetivos do presente trabalho foram: 1) reavaliar as relações filogenéticas de *Caenomada* e o *status* de *C. aff. unicalcarata* com base em uma filogenia molecular; 2) inferir o tempo de divergência entre as espécies de *Caenomada*; 3) avaliar a história biogeográfica do grupo e sua relação com a história da diagonal de áreas abertas secas da América do Sul.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1. AMOSTRAGEM

Para o estudo filogenético de *Caenomada*, foram incluídos, como terminais das análises, representantes das três espécies descritas e representantes da possível espécie nova *C. aff. unicalcarata*, além de espécies de quatro outros gêneros de Tapinotaspidini como grupos externos (*Chalepogenus muelleri*, *Lanthanomelissa betinae*, *Monoeca haemorrhoidalis* e *Tapinotaspoides serraticornis*). Estes representam linhagens proximamente relacionadas a *Caenomada* de acordo com os resultados obtidos por Aguiar & Melo (2006). Informações relativas aos espécimes terminais incluídos nas análises são apresentadas na Tabela 1. Os espécimes testemunhos (*vouchers*) foram depositados na Coleção Padre Jesus Santiago Moure (DZUP), do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná.

Os espécimes usados para o sequenciamento foram armazenados em freezer a -20 °C imersos em etanol absoluto. Alguns espécimes conservados em via seca também tiveram seu DNA total extraído para sequenciamento dos genes de interesse. Para tanto, antes da extração do DNA total os espécimes foram, também, imersos em etanol absoluto.

**TABELA 1:** Lista das espécies incluídas neste estudo e seus respectivos dados de coleta.

<b>Espécie [número voucher]</b>	<b>dados de coleta</b>
<i>Caenonomada bruneri</i> [GW06]*	Brasil, Mato Grosso do Sul, Porto Murtinho, 21°32'S 57°45'W, 23.ii.2009, Grossi & Parizotto
<i>Caenonomada bruneri</i> [GW11]	Paraguay, Alto Paraguay: La Victoria, 22°17'S 57°57'W, 6-9.xii.2000, B. Garcete
<i>Caenonomada labrata</i> [GW01]	Brasil, Paraná, Ponta Grossa, Parque Estadual Vila Velha, 25°12'S 49°58'W, 28.xii.2007, G. Melo
<i>Caenonomada labrata</i> [GW05]*	Brasil, Goiás, 24km de Teresina de Goiás, 13°34'S 47°11'W, 05.iv.2003, Melo, Aguiar, Marchi & Gonçalves
<i>Caenonomada unicalcarata</i> [GW04]	Brasil, Minas Gerais, Serranópolis, 15°49'S 42°52'W, 1.ii.2008, G. Melo
<i>Caenonomada unicalcarata</i> [GW12]	Brasil, Ceará, Crateús, Serra das Almas - Açude, 05°07'S 40°52'W, 3-8.iv.2009, Brandão, Feitosa & Quinet
<i>Caenonomada unicalcarata</i> [GW02]	Brasil, Goiás, Flores de Goiás, 14°27'S 47°60'W, 26.i.2010, A.J.C. Aguiar
<i>Caenonomada unicalcarata</i> [GW14]	Brasil, Goiás, Teresina de Goiás, 13°29'S, 47°11'W, 1-3.iv.2010, A.J.C Aguiar & A. Martins
<i>Caenonomada aff. unicalcarata</i> [GW03]	Brasil, Mato Grosso do Sul, Porto Murtinho, i.2009, 21°41'S 57°52'W, A.J.C. Aguiar
<i>Caenonomada aff. unicalcarata</i> [GW13]*	Brasil, Mato Grosso do Sul, Porto Murtinho, 21°46'S 57°34'W, 24.ii.2004, G. Melo & A.J.C. Aguiar
<i>Chalepogenus muelleri</i> [GW10]	Brasil, Rio Grande do Sul, Palmas, 30°58'S 53°37'W, 17.xi.2007, G. Melo
<i>Lanthanomelissa betinae</i> [GW 07]	Brasil, Paraná, 23km E de Palmeira, 25°28'S 49°46'W, 2.xi.2009, K. Ramos & V. Kanamura
<i>Monoeca haemorrhoidalis</i> [GW09]	Brasil, Paraná, Piraquara, Mananciais da Serra, 11.xii.2003, G. Melo
<i>Tapinotaspoides serraticornis</i> [GW08]	Brasil, Paraná, Ponta Grossa, Parque Estadual Vila Velha, 25°12'S 49°58'W, 28.xii.2007, G. Melo

\* espécimes conservados em via seca

### 3.2. ESCOLHA DOS GENES

Árvores filogenéticas de genes podem não ser necessariamente congruentes com as árvores filogenéticas das suas espécies, sendo que diferentes genes podem gerar diferentes árvores de espécies (AVISE, 1989; MOORE, 1995). Isto pode acontecer sob influência da heterogeneidade nos modos de evolução molecular ao longo de um genoma, bem como entre genomas nucleares e mitocondriais. Por exemplo, estima-se que genes mitocondriais apresentem taxas de substituição duas a nove vezes mais altas que os genes nucleares codificadores de proteínas (DESALLE *et al.*, 1987; MORIYAMA & POWELL, 1997; MONTEIRO & PIERCE, 2001). Desta forma, os genes mitocondriais apresentam resolução mais adequada para detectar eventos de separação relativamente recentes, como especiações incipientes, enquanto os genes nucleares detectam melhor eventos mais antigos como as relações entre táxons supra-específicos. Portanto, este trabalho utilizou-se da

combinação de diferentes locos nucleares e mitocondriais (ver abaixo) com o intuito de prover hipóteses mais robustas das relações entre as espécies de *Caenonomada*.

Dois genes mitocondriais têm sido frequentemente utilizados com êxito para resolver hipóteses filogenéticas das relações entre espécies de abelhas: 16S rRNA (16S) e citocromo oxidase sub-unidade I (COI) (p.ex., CAMERON, 1993; DANFORTH, 1999; KOULIANOS & SCHMID-HEMPEL, 2000; LEYS *et al.*, 2000; CAMERON & MARDULYN, 2001; CAMERON & WILLIAMS, 2003; COSTA *et al.*, 2003; SCHWARZ *et al.*, 2003; HINES *et al.*, 2006; RASMUSSEN & CAMERON, 2007; RASMUSSEN & CAMARGO, 2008; KUHLMANN *et al.*, 2009; RAMÍREZ *et al.*, 2010).

Entre os genes nucleares, os locos *wingless* e fator de alongação-1 alfa, cópia F2 (EF-1 $\alpha$ ) vêm sendo utilizados para investigar as relações entre diversos grupos de abelhas (p. ex., DANFORTH & JI, 1998; SIPES & WOLF, 2001; DANFORTH *et al.* 2003; KAWAKITA *et al.*, 2004; MICHEL-SALZAT *et al.*, 2004; DANFORTH *et al.*, 2006; MAGNACCA & DANFORTH, 2006; CAMERON *et al.*, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2008; KAWAKITA *et al.* 2008; PRAZ *et al.*, 2008; SCHAEFER & RENNER, 2008; ALMEIDA & DANFORTH, 2009; MICHEZ *et al.*, 2009; CARDINAL *et al.*, 2010). Informações sobre a utilidade filogenética desses dois genes podem ser encontradas em Danforth *et al.* (2004).

Com base nestas informações, foram amostradas regiões de dois genes mitocondriais, (16S e COI) e dois genes nucleares (*wingless* e EF-1 $\alpha$ ) para este estudo. Os *primers* (oligonucleotídeos iniciadores da reação) e as condições de PCR utilizadas para amplificar estes genes estão especificados na Tabela 2. Além dos *primers* descritos na literatura, foram desenhados cinco *primers* para o gene *wingless* (Bee-wg For 3, 4 e 5; Bee-wg Rev 2 e 3) cujas localizações no gene podem ser observadas na Figura 1. Esses *primers* foram desenhados para permitir a amplificação do íntron do gene de espécimes para os quais os *primers* anteriormente descritos não permitiram amplificação bem sucedida do loco mais amplo.

**TABELA 2:** Sequências dos primers utilizados para amplificar os genes COI, 16S rRNA, *wingless* e Ef-1 $\alpha$ .

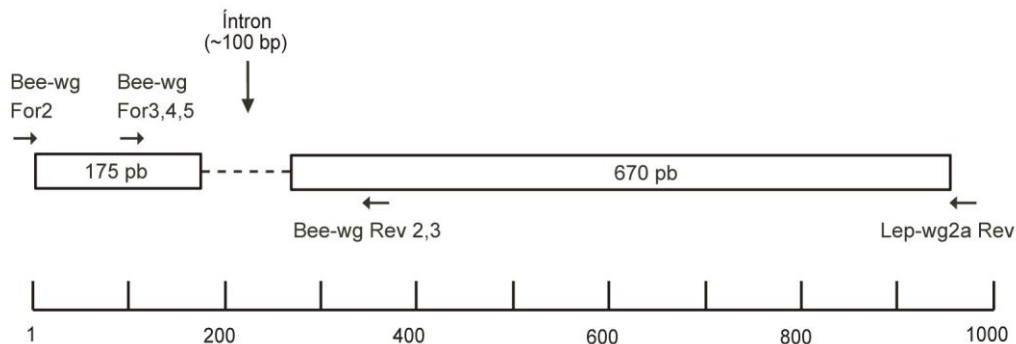
Gene	Primer	Sequência	Referência
16S rRNA <sup>a</sup>	16SWb	5' - CAC CTG TTT ATC AAA AAC AT -3'	Dowton & Austin (1994)
	874-16S1R	5' - TAT AGATAG AAA CCA AYC TG -3'	Cameron <i>et al.</i> (1992)
COI <sup>b</sup>	LCO	5' - GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G - 3'	Folmers <i>et al.</i> (1994)
	HCO	5' - TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA - 3'	Folmers <i>et al.</i> (1994)
<i>wingless</i> <sup>c</sup>	Bee-wg For2	5' - GGC AGC ATY CAG TCS TGY TCC TGC GA- 3'	Almeida & Danforth (2009)
	Bee-wg For3	5'- GAY TGG GAA TGG GGT GGY TGY TCG GA -3'	este trabalho
	Bee-wg For4	5'- TCG GAC AAC ATY GGT TAC GGB TAC GG -3'	este trabalho
	Bee-wg For5	5'- TGY TCG GAC AAC ATY GGT TAC GG -3'	este trabalho
	Bee-wg Rev2	5' - CC GTC GAA WCG RTC CTT YAR RTT GTC - 3'	este trabalho
	Bee-wg Rev3	5'- GCV CCG TCG AAW CGR TCC TTY A -3'	este trabalho
	Bee-wg2a Rev2	5' - ACT ICG CAR CAC CAR TGG AAT GTR - 3'	Brower & De Salle (1998)
EF-1 $\alpha$ <sup>d</sup>	HaF2For1	5' - GGG YAA AGG WTC CTT CAA RTA TGC - 3'	Danforth <i>et al.</i> (1999)
	F2-rev1	5' - A ATC AGC AGC ACC TTT AGG TGG - 3'	Danforth <i>et al.</i> (1999)

<sup>a</sup> Condições da PCR: 16SWb/874-16S1R: 94°C por 1min, 50°C 1min, 72°C por 1½min (35 ciclos).

<sup>b</sup> Condições da PCR: LCO/HCO: 94°C por 1min, 48°C 1min, 72°C por 45 seg (35 ciclos).

<sup>c</sup> Condições da PCR: Bee-wg-For2/Bee-wg-Rev2: 94°C por 1min, 60-61°C 1min, 72°C por 45 seg (35 ciclos).

<sup>d</sup> Condições da PCR: HaF2For1/F2-rev1: 94°C por 1min, 55-56°C 1min, 72°C por 1½min (35 ciclos).



**FIGURA 1.** Mapa do gene *wingless*. Localização dos *primers*, éxons e íntrons estão indicadas. Modificado de Almeida & Danforth (2009).

### 3.3. TÉCNICAS MOLECULARES: EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO DNA

O DNA genômico total foi extraído a partir da musculatura torácica dos exemplares fixados em etanol absoluto utilizando-se o kit EZ-DNA® (Biological Industries, Israel). Para tanto, primeiramente foi feita a separação do protórax do mesotórax para extração dos feixes de musculatura conservando-se, dessa forma, o tagma. Em seguida, as amostras foram maceradas individualmente em tubos do tipo Eppendorf de 1,5 ml juntamente com 300  $\mu$ l de tampão de digestão. A seguir, foram



adicionados 20 µl de proteinase K e incubadas a 55 °C por 3 horas. Após a incubação, foram adicionados 300 µl do Kit EZ-DNA para a separação do RNA, seguido por nova incubação a 30 °C por 1 hora e posterior centrifugação. O sobrenadante foi lavado três vezes em álcool para a precipitação do DNA, seco em estufa a 50 °C e ressuspenso em 50 µl de H<sub>2</sub>O ultrapura autoclavada. O DNA extraído foi quantificado em espectrofotômetro de massa e estocado em freezer a -20 °C.

A amplificação dos fragmentos genômicos foi realizada de acordo com protocolos padrões (PALUMBI, 1996). As condições de PCR seguidas para amplificação dos genes foram: (1) uma desnaturação inicial a 94 °C por 90 segundos, (2) 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 60 segundos, (3) anelamento a 48-61 °C por 60 segundos e (4) alongação a 72 °C por 45-60 segundos. Foram incluídos controles negativos em todas as reações realizadas para avaliar a presença e/ou ausência de possíveis contaminantes ou inibidores durante o processo de extração de DNA e/ou preparação das reações de PCR. As condições de PCR específicas para cada um dos genes amostrados estão listadas na Tabela 2. Para avaliar a eficácia da PCR em amplificar o fragmento desejado, foi realizada a eletroforese em gel de agarose, corada em banho de brometo de etídio para posterior visualização sob luz ultravioleta, e comparação da migração das bandas das amplificações das amostras com o marcador de peso molecular DNA Ladder 1Kb. Posteriormente, os produtos da PCR foram encaminhados para a empresa MacroGen Inc. para serem purificados e sequenciados. Para cada amostra, ambas as direções foram sequenciadas (*i.e.*, 5'-3' e 3'-5') visando corrigir possíveis erros ou ambiguidades de sequenciamento.

### **3.4. EDIÇÃO DAS SEQUÊNCIAS**

As sequências 5'-3' e 3'-5' de cada amostra foram alinhadas a fim de se obter a sequência consenso no software Staden Package (STADEN, 1996). Todas as sequências consenso produzidas tiveram seus eletroferogramas inspecionados visualmente com o auxílio do mesmo pacote, bem como o grau de confiabilidade para cada posição, a fim de ratificar as sequências de nucleotídeos e aumentar a

confiabilidade dos resultados. Quando nucleotídeos diferentes ocupavam as mesmas posições nas fitas complementares estes eram substituídos na sequência consenso pelos códigos para polimorfismos genéticos estabelecidos pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry).

### 3.5. ALINHAMENTO

As sequências consenso de cada um dos genes foram alinhadas com o programa Muscle (EDGAR, 2004a). Este programa foi escolhido por aliar acurácia à rapidez na construção das sequências alinhadas (EDGAR, 2004a,b). Posteriormente, os alinhamentos foram conferidos e editados manualmente com o programa BioEdit (HALL, 1999).

Após o alinhamento e edição, as matrizes dos genes individuais foram concatenadas com o auxílio do programa WinClada (NIXON, 2002). Na matriz concatenada as amostras que não foram amplificadas para determinada partição e, por consequência, não sequenciadas, foram consideradas como dados faltantes. A matriz concatenada pode ser visualizada no Apêndice1.

### 3.6. ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Análises filogenéticas foram conduzidas para os dados provenientes dos quatro locos gênicos separadamente (matrizes de dados individuais), bem como para as matrizes individuais dos éxons e íntrons de ambos os genes nucleares e, também, para a matriz de dados concatenados (*i.e.*, matriz combinada) com os quatro locos. Essas nove matrizes foram analisadas através de três métodos de reconstrução filogenética: parcimônia (p.ex., FARRIS, 1983), máxima verossimilhança (p.ex., SWOFFORD *et al.*, 1996) e inferência Bayesiana (p. ex., HUELSENBECK *et al.*, 2001). A seleção de modelos de substituição das nove matrizes mencionadas acima (COI, 16S rRNA, *wingless*, *wingless* [éxons], *wingless* [íntron], EF-1 $\alpha$ , EF-1 $\alpha$  [éxons], EF-1 $\alpha$  [íntron] e combinada), para as análises paramétricas, foi conduzida utilizando-se

os critérios de Akaike (AICc) e de informação Bayesiana (BIC), como sugerido por Posada e Crandall (1998), com o auxílio do programa jModelTest (POSADA, 2008). Para a seleção de modelos, foram considerados apenas os três esquemas de substituição implementados nos programas utilizados para análises filogenéticas, resultando assim na comparação de 24 modelos possíveis.

As análises de parcimônia, com pesagem igual dos caracteres, foram realizadas no programa Nona 2.0 (GOLOBOFF, 1999), com a utilização da interface Winclada 1.0 (NIXON, 2002) para visualização das matrizes e das árvores. Foram realizadas buscas heurísticas compreendendo 1.000 replicações (mult\*1.000), estocagem de 10.000 árvores na memória (hold\*10.000) e salvando-se 10 árvores por replicação (hold/10). As topologias resultantes foram submetidas a uma busca exata com o comando *mswap\**.

O suporte dos ramos foi verificado por frequências de *bootstrap* (FELSENSTEIN, 1985), calculadas a partir de 100 pseudorreplicações. As árvores consenso encontradas em cada pseudorreplicação foram salvas e usadas para calcular o suporte dos ramos.

A inferência Bayesiana foi realizada com o programa MrBayes 3.1.2 (HUELSENBECK & RONQUIST, 2005). As Cadeias de Markov - Monte Carlo - Metropolis (MCMCMC), implementadas no programa (ALTEKAR *et al.*, 2004), foram utilizadas para se estimar a probabilidade posterior de cada um dos clados encontrados na melhor topologia de cada uma das partições. Dois grupos de duas cadeias foram analisados por 1.000.000 gerações, sendo que as topologias iniciais de cada uma das cadeias eram arbitrárias. A convergência entre os resultados das duas corridas foi avaliada pela análise dos valores do fator de redução de escala potencial (*potential scale reduction factor*) (GELMAN & RUBIN, 1992) implementados no próprio programa MrBayes. Os programas AWTY (WILGENBUSCH *et al.* 2004) e Tracer v.1.5.0 (RAUMBAUD & DRUMMOND, 2003) também foram utilizados para avaliar a convergência entre os resultados dos dois grupos de cadeias. As topologias foram salvas a cada 100 gerações, e as 1.000 primeiras árvores de cada corrida foram descartadas (comando *burnin*) para as análises de cada um dos genes separadamente, bem como as 5.000 primeiras árvores para os dados combinados. A eficácia do descarte destas árvores foi avaliada por meio da análise visual do gráfico dos valores do logaritmo da verossimilhança (*log likelihood*) fornecido pelo MrBayes através do comando *sump*, bem como conforme resultados obtidos pelos

programas AWTY e Tracer. Visto que o MrBayes permite a análise particionada e que a utilização de modelos adequados para cada uma das partições é desejável para a realização de análises filogenéticas mais realistas (NYLANDER *et al.* 2004), optou-se pela utilização de modelos específicos de evolução para cada gene nas análises dos dados concatenados, sendo que estes foram analisados considerando os modelos sugeridos pelo jModelTest para cada um dos 4 locos gênicos sem diferenciação dos éxons e íntrons dos genes nucleares (quatro partições) bem como com a diferenciação dos éxons e íntrons dos genes nucleares (seis partições).

Utilizou-se o programa Garli v.0.96 (ZWICKL, 2006) para as análises de máxima verossimilhança (MV). Nas análises de cada um dos genes, individualmente, utilizaram-se modelos de evolução específicos. Para a análise dos dados combinados utilizou-se o modelo selecionado pelo jModelTest para a matriz composta pelo conjunto dos quatro genes. Tal medida se fez necessária porque o programa Garli v.0.96 não permite a implementação de sub-modelos específicos para diferentes partições de dados de uma mesma matriz. O término das análises se dava após 20.000 gerações sem um ganho significativo no valor de verossimilhança associado à topologia em questão. Todos os demais parâmetros foram mantidos conforme as configurações pré-definidas do programa. No programa Garli também foram realizadas análises de *bootstrap* com amostragem de 100 pseudorreplicações. O consenso de maioria das 100 pseudorreplicações do *bootstrap* da MV foi obtido através do script SumTrees que faz parte do pacote DendroPy (SUKUMARAN & HOLDER, 2010). A visualização e a editoração das árvores filogenéticas foram realizadas com os programas FigTree (RAMBAUT, 2006).

### **3.7. TAXAS DE SUBSTITUIÇÃO E PARÂMETROS DE EVOLUÇÃO MOLECULAR**

O MrBayes também foi utilizado para explorar algumas propriedades do conjunto de dados moleculares. Os parâmetros sumarizados na análise da matriz combinada, após o descarte inicial das árvores (comando *burnin*), foram utilizados como estimativas da frequência de bases, taxas relativas de substituição, proporção de sítios invariáveis e parâmetro  $\alpha$ . Os dados foram analisados com os modelos GTR+I para estimar a proporção de sítios invariáveis, GTR+ $\Gamma$  para estimar o

parâmetro  $\alpha$  e a frequência de bases, e GTR para estimar a taxa de substituição entre os genes. Os dados também foram analisados com o modelo GTR+SSR a fim de se obter a taxa relativa de substituição de cada posição do códon para os genes codificadores de proteínas (COI e éxons dos genes nucleares *wingless* e EF-1 $\alpha$ ), íntrons dos genes nucleares, e para o gene 16S.

### 3.8. BIOGEOGRAFIA E ESTIMATIVA DO TEMPO DE DIVERGÊNCIA

Inicialmente, foi testado se os comprimentos de ramos das filogenias obtidas com as análises de MV, sem o grupo externo e com apenas um representante de cada espécie do grupo interno (ver Figura 6), estavam de acordo com o modelo de relógio molecular. Para isso aplicou-se aos dados do gene COI um teste de significância estatística, no qual o valor de verossimilhança associado a uma topologia em que a evolução com taxa constante de evolução foi imposta como restrição no programa PAUP\* 4.0 (SWOFFORD, 2003) foi comparado à verossimilhança da topologia calculada sem restrições. O modelo de substituição utilizado foi aquele previamente selecionado para o loco COI (GTR+ $\Gamma$ ), e todos os parâmetros foram estimados durante a otimização. Foram realizadas duas análises: na primeira (hipótese nula), os comprimentos de ramo foram estimados assumindo-se o relógio molecular; na segunda (hipótese alternativa), os comprimentos de ramo foram estimados sem restrições. A avaliação da diferença entre as duas árvores foi realizada com o teste da razão da verossimilhança (p.ex. HUELSENBECK & RANNALA, 1997), empregando-se a distribuição de qui-quadrado para se determinar a significância do resultado. O número de graus de liberdade corresponde à diferença do número de parâmetros livres entre as duas análises.

Como não há dados fósseis disponíveis para a calibração das análises de datação, por meio do estabelecimento de idades mínimas para os nós da filogenia de *Caenonomada*, as idades dos clados foram estimadas utilizando uma taxa de substituição frequentemente empregada para os genes mitocondriais COI e COII de insetos de 0,02 substituições por sítio por milhão de anos, como proposto por Brower (1994). O cálculo da idade dos clados foi obtido pela razão entre o comprimento dos ramos e a taxa de substituição.

Um mapa de distribuição das espécies, incluindo novos registros (ver Apêndice 3), foi feito com a interface ArcMap do programa ArcGIS 9.0. O cladograma obtido com as análises filogenéticas foi plotado sobre o mapa de distribuição das espécies a fim de se obter o cladograma de táxons e áreas.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. DADOS MOLECULARES

O número total de pares de bases obtido com a matriz concatenada, contendo 14 terminais, foi de 2387 pb alinhados (511 pb do 16S, 618 pb do COI, 343 pb do *wingless* e 915 pb do EF-1 $\alpha$ ). Destes, 339 foram considerados caracteres informativos com base na parcimônia, sendo 83 referentes ao 16S, 144 ao COI, 48 ao *wingless* e 64 ao EF-1 $\alpha$ .

Não foi possível o sequenciamento de todos os espécimes disponíveis para todos os genes amostrados (16S, COI, *wingless* e EF-1 $\alpha$ ). Os espécimes que foram sequenciados e utilizados como terminais das análises filogenéticas constam na Tabela 3.

**TABELA 3:** Espécimes sequenciados para cada um dos quatro genes (informações detalhadas sobre cada um dos terminais podem ser encontradas na Tabela 1).

<b>Espécie [voucher]</b>	<b>COI</b>	<b>16S</b>	<b>EF-1<math>\alpha</math></b>	<b><i>wingless</i></b>
<i>Caenonomada bruneri</i> [GW06]	x	x	x	x
<i>Caenonomada bruneri</i> [GW11]	x	x		x
<i>Caenonomada labrata</i> [GW01]	x	x	x	x
<i>Caenonomada labrata</i> [GW05]		x		
<i>Caenonomada unicalcarata</i> [GW04]	x	x	x	x
<i>Caenonomada unicalcarata</i> [GW12]	x	x	x	x
<i>Caenonomada unicalcarata</i> [GW02]	x	x	x	x
<i>Caenonomada unicalcarata</i> [GW14]	x			x
<i>Caenonomada</i> aff. <i>unicalcarata</i> [GW03]	x	x	x	x
<i>Caenonomada</i> aff. <i>unicalcarata</i> [GW13]	x	x		x
<i>Chalepogenus muelleri</i> [GW10]	x	x	x	
<i>Lanthanomelissa betinae</i> [GW 07]	x	x		x
<i>Monoeca haemorrhoidalis</i> [GW09]	x	x	x	x
<i>Tapinotaspoidea serraticornis</i> [GW08]	x	x	x	x

## 4.2. SELEÇÃO DE MODELOS E COMPARAÇÕES ENTRE OS GENES

A seleção de modelos pelos critérios de Akaike (AICc) e de Informação Bayesiana (BIC) foi em parte congruente. Para os genes mitocondriais ambos os critérios indicaram a utilização do modelo GTR+ $\Gamma$ , modelo este bastante complexo. A incongruência quanto à seleção dos modelos pelos dois critérios ocorreu para os genes nucleares. Enquanto o AICc selecionou os modelos HKY+ $\Gamma$  para o *wingless* e o modelo GTR+ $\Gamma$  para o EF-1 $\alpha$ , o BIC indicou que o modelo K80+ $\Gamma$  seria suficientemente complexo para ambos os genes nucleares. Os resultados sugeridos para ambos os critérios também foram incongruentes para os éxons dos genes nucleares. Para a matriz concatenada não particionada o modelo selecionado pelo jModelTest foi o GTR+ $\Gamma$  (tanto pelo critério AICc quanto BIC). Os modelos selecionados para ambos os critérios para as nove partições analisadas podem ser visualizados na Tabela 4.

Antes de se optar por um dos modelos, nos casos de incongruência, realizaram-se análises de inferência Bayesiana para os modelos sugeridos por ambos os critérios. De maneira geral, as topologias encontradas para os diferentes modelos selecionados para uma mesma partição foram as mesmas, com pequenas variações nos valores da probabilidade posterior e no comprimento dos ramos.

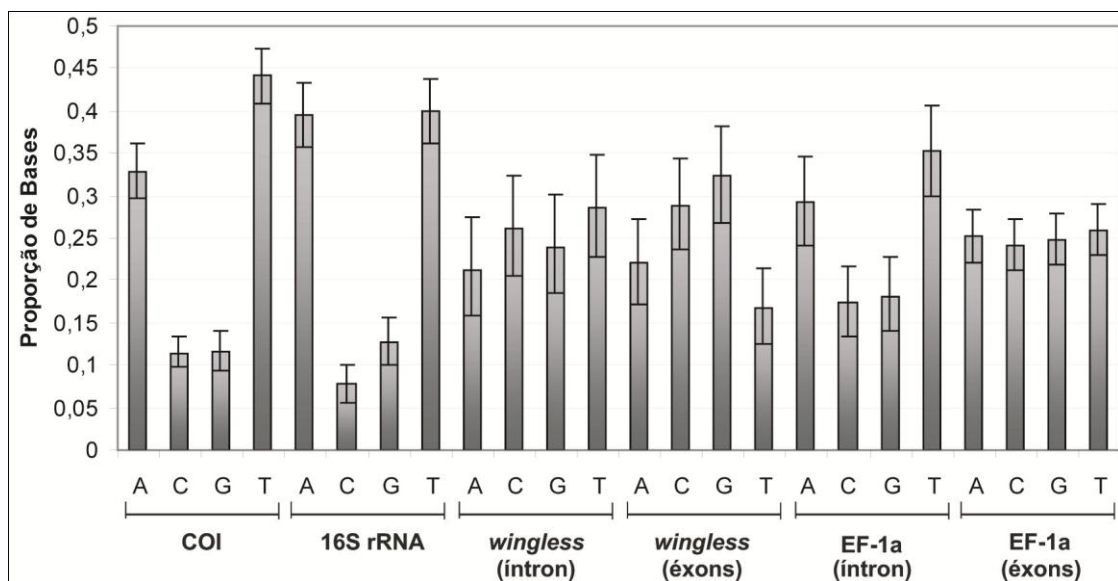
**TABELA 4:** Modelos selecionados pelos critérios de AICc e BIC.

Gene	AICc	BIC
COI	GTR+ $\Gamma$	GTR+ $\Gamma$
16S	GTR+ $\Gamma$	GTR+ $\Gamma$
<i>wingless</i>	HKY+ $\Gamma$	K80+ $\Gamma$
<i>wingless</i> (intron)	K80+ $\Gamma$	K80+ $\Gamma$
<i>wingless</i> (éxons)	GTR+I	HKY+I
EF-1a	GTR+ $\Gamma$	K80+ $\Gamma$
EF-1a (intron)	HKY+ $\Gamma$	HKY+ $\Gamma$
EF-1a (éxons)	SYM+I+ $\Gamma$	K80+ $\Gamma$
matriz concatenada	GTR+ $\Gamma$	GTR+ $\Gamma$

Como as topologias não diferiram para os diferentes modelos selecionados e considerando que a utilização de um modelo com mais parâmetros que o necessário é temerária (POSADA & CRANDALL, 2001; BOS & POSADA, 2005), principalmente

porque à medida que se adiciona parâmetros a um modelo adiciona-se o erro relacionado à estimativa destes parâmetros (BOS & POSADA, 2005), optou-se por apresentar neste trabalho resultados filogenéticos baseados em modelos mais simples. Sendo assim, os modelos utilizados em cada partição das análises de inferência Bayesiana e MV foram os propostos pelo BIC.

O resultado da caracterização das propriedades do conjunto de dados moleculares está apresentado nas Figuras 2, 3 e 4. No que se refere às frequências de bases de cada um dos locos amostrados as sequências dos genes mitocondriais apresentaram altas proporções das bases A e T (aproximadamente 80% em ambos os genes) quando comparadas às proporções das mesmas bases encontradas para os genes nucleares (aproximadamente 25%) (Figura 2).



**FIGURA 2.** Proporção de bases nucleotídicas comparadas entre os quatro genes (com diferenciação entre éxons e íntrons para os genes nucleares) amostrados neste estudo.

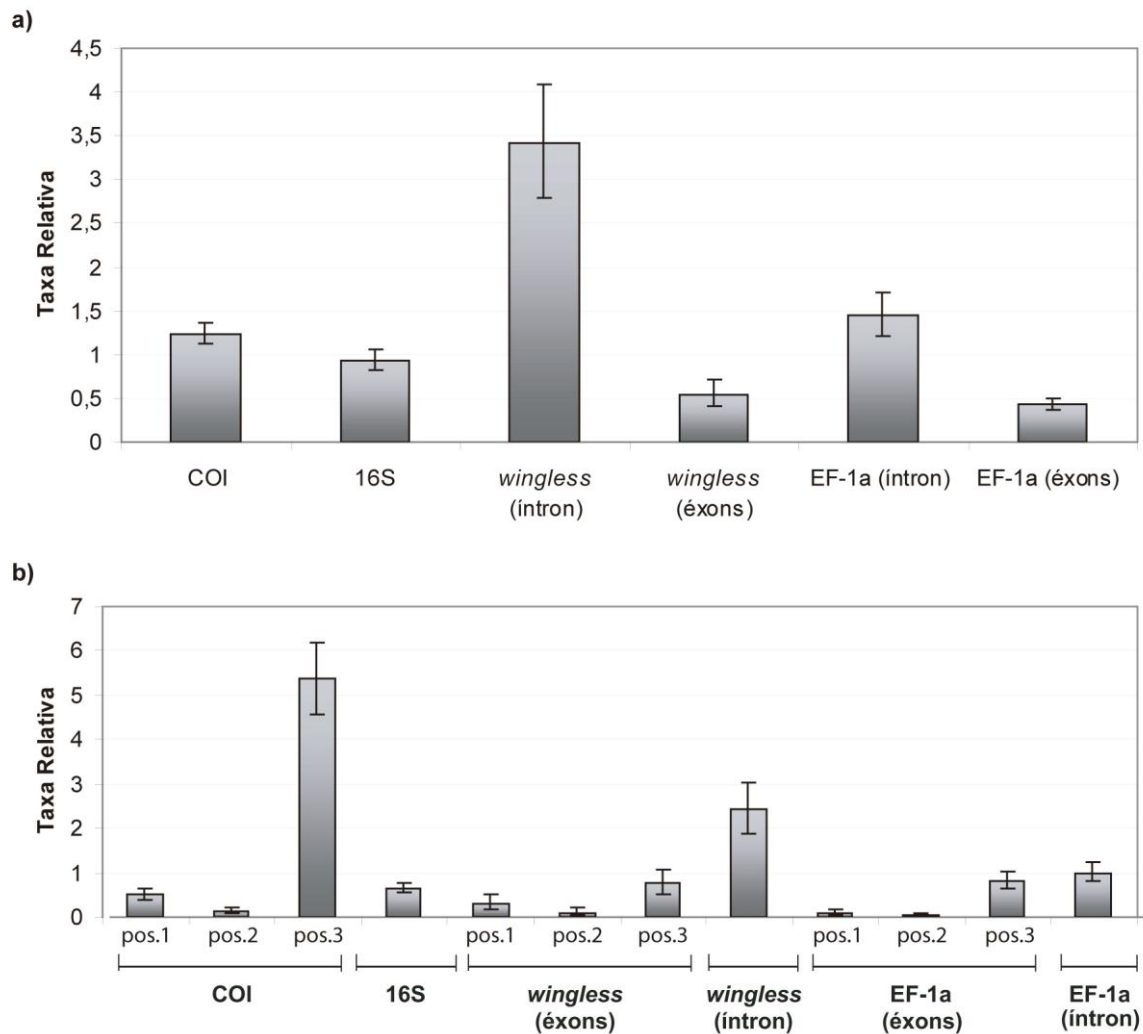
As taxas relativas de substituição de cada um dos locos gênicos amostrados podem ser visualizadas na Figura 3. As comparações das taxas de substituição entre os genes (Figura 3a) revelaram que os genes mitocondriais apresentam maiores taxas de substituição dos que as regiões codificadoras de proteína dos genes nucleares. No entanto, a diferença entre as taxas de substituição dos genes mitocondriais e dos éxons dos genes nucleares não foram tão significativas, quando



comparadas às taxas de substituição dos íntrons. Estas regiões chegaram a evoluir aproximadamente sete vezes mais rápido que os éxons (quando se compara o íntron e os éxons do *wingless*) e entre 2-3,5 vezes mais rápido que os genes mitocondriais.

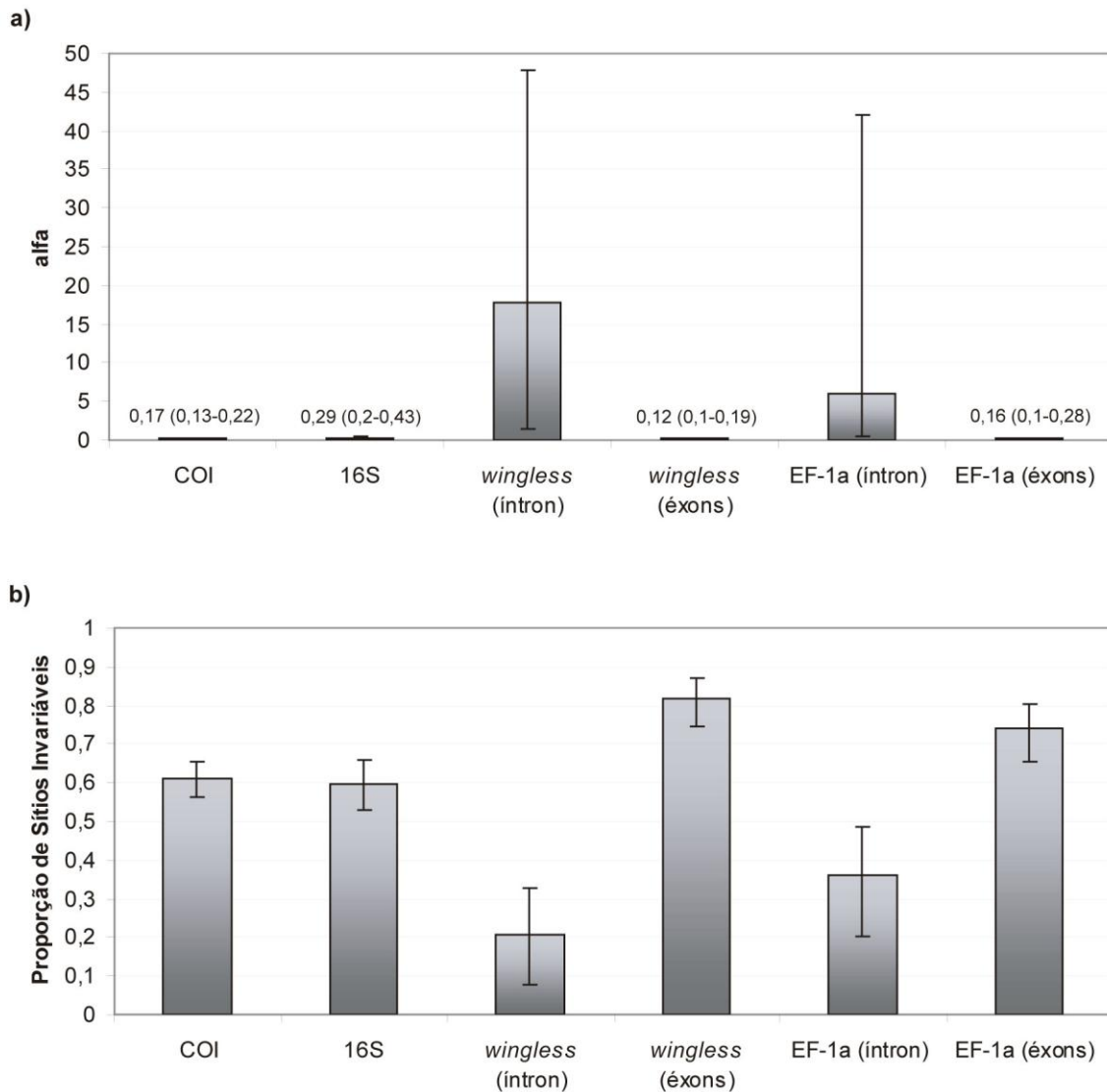
Um melhor entendimento da variação das taxas de substituição entre os genes é obtido quando se compara as taxas entre as posições do códon de cada gene (Figura 3b). As terceiras posições dos genes nucleares evoluíram a uma taxa aproximadamente sete vezes menor do que a terceira posição do COI. As taxas de substituição dos íntrons foram um pouco maiores do que as obtidas para as terceiras posições do éxons de ambos os genes nucleares, porém menores do que as obtidas para o gene COI. A taxa de substituição do gene mitocondrial 16S não diferiu significativamente das obtidas para as terceiras posições dos genes nucleares, sendo, também, menores do que a encontrada para as terceiras posições do COI.

Os valores de  $\alpha$ , parâmetro que descreve a forma da distribuição  $\Gamma$  e que fornece uma aproximação de quão variáveis são essas taxas dentro de cada loco, podem ser visualizados na Figura 4a. Altos valores de  $\alpha$  (íntrons dos genes nucleares) indicam taxas relativamente homogêneas entre os sítios, enquanto valores baixos de  $\alpha$  (éxons dos genes nucleares, COI e 16S) indicam alta heterogeneidade na taxa de variação entre os sítios. Os valores do parâmetro  $\alpha$  para as regiões não codificadoras dos genes nucleares foram os maiores entre o conjunto de dados analisados, enquanto os valores deste parâmetro associados às regiões transcritas foram similares entre si.



**FIGURA 3.** Comparações entre os quatro genes amostrados neste estudo baseadas nos parâmetros moleculares estimados pelo MrBayes: (a) taxas relativas de substituição entre os genes; (b) taxas relativas de substituição entre as posições dos códons de cada gene.

Quanto à proporção de sítios invariáveis (Figura 4b) as análises mostraram que as regiões que possuem menor variação entre os sítios são os éxons, seguidos pelos genes mitocondriais. Os íntrons apresentaram os menores valores da proporção de sítios invariáveis, indicando que estas regiões são as mais variáveis.



**FIGURA 4.** Comparações entre os quatro genes amostrados neste estudo baseadas nos parâmetros moleculares estimados pelo MrBayes: (a) parâmetro  $\alpha$  da distribuição gama; (b) proporção de sítios invariáveis.

### 4.3. RELAÇÕES FILOGENÉTICAS

As topologias obtidas com as análises de parcimônia, MV e inferência Bayesiana para cada uma das nove partições foram bastante similares. A principal diferença entre as análises se refere ao relacionamento entre os grupos externos. Como o propósito destes nas análises foi apenas o de fornecer dados suficientes para o enraizamento de *Caenonomada*, não serão detalhadas aqui as incongruências entre as topologias obtidas para estes táxons.

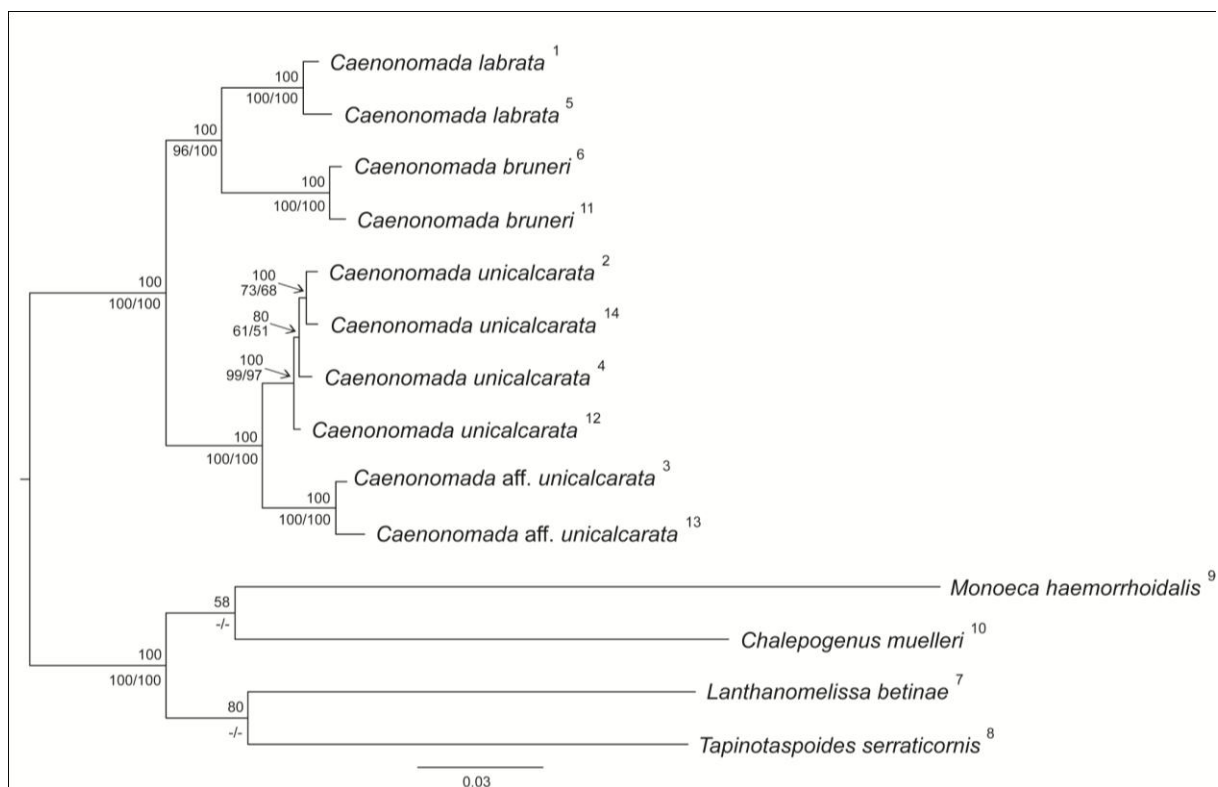
Devido à congruência topológica encontrada para as três análises de reconstrução filogenética a árvore obtida por inferência Bayesiana para a matriz concatenada (Figura 5) foi utilizada para mostrar os valores de suporte de ramos obtidos por frequência de *bootstrap* para a parcimônia e MV bem como por probabilidade posterior para a inferência Bayesiana. As árvores obtidas por parcimônia, MV e inferência Bayesiana para cada um dos genes e suas regiões podem ser visualizadas no Apêndice 2.

Na análise filogenética utilizando o critério da parcimônia foi encontrada uma única árvore, com comprimento de 217 passos, índice de consistência (CI) = 77 e índice de retenção (RI) = 72 para o conjunto de dados referentes ao gene 16S. Para o COI foram encontradas quatro árvores igualmente parcimoniosas, em um total de 357 passos (CI=71; RI=71). O consenso estrito dessas quatro árvores teve um total de 358 passos (CI=71; RI=70). Para os genes nucleares (*wingless* e EF-1 $\alpha$ ), foram encontradas uma e duas árvores, respectivamente, sendo que a árvore obtida pelo *wingless* possui 155 passos (CI=79; RI=64) e as encontradas para o EF-1 $\alpha$  possuem 249 passos (CI=90; RI=73). Já o consenso estrito obtido pelas duas árvores mais parcimoniosas encontradas para o EF-1 $\alpha$  possui 261 passos (CI=86; RI=59). Para a análise concatenada foi encontrada apenas uma árvore com 991 passos (CI= 77; RI=69). Os resultados obtidos com as análises dos éxons e íntrons dos genes nucleares podem ser visualizadas nas Figuras 11 e 12 do Apêndice 2.

Os resultados obtidos pelas três análises de reconstrução filogenética, para os genes mitocondriais (Figuras 1, 5 e 9 do Apêndice 2) e para a análise concatenada (Figura 5) mostram que os terminais tratados aqui como *C. aff. unicalcarata* representam uma espécie distinta. As quatro espécies de *Caenomada* formam um grupo monofilético, no qual *C. labrata* apresenta-se como espécie irmã de *C. bruneri* e o clado formado por essas espécies apresenta-se como grupo irmão do clado formado por *C. unicalcarata* e *C. aff. unicalcarata*. Essas relações foram bem suportadas pelos valores de medidas de suporte dos cladogramas, sendo que os valores obtidos por probabilidade posterior foram mais altos dos que aqueles obtidos por frequências de *bootstrap*.

Os resultados obtidos com os genes nucleares para as três análises foram parcialmente incongruentes aos resultados descritos acima. A monofilia de *Caenomada* foi corroborada pela análise independente dos genes nucleares e suas regiões, assim como a relação entre *C. labrata* e *C. bruneri* (com exceção do

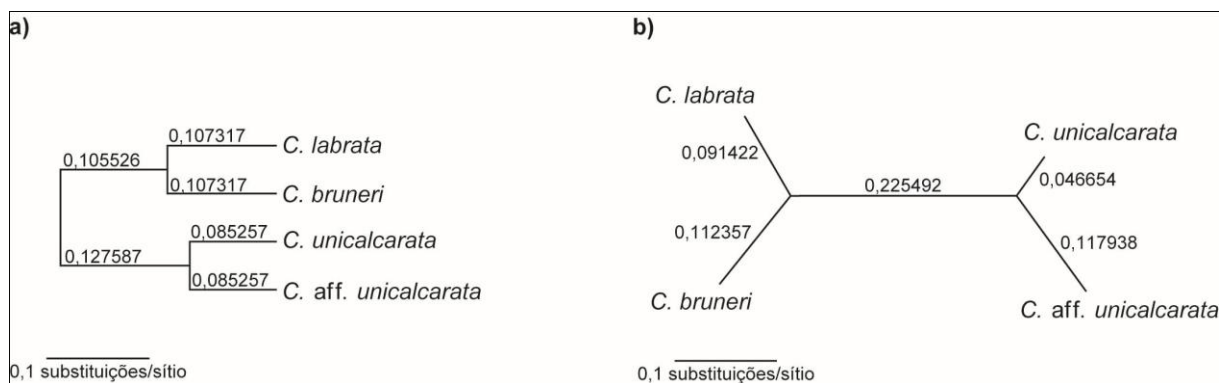
íntron do gene *wingless*, que gerou uma politomia para as quatro espécies). Porém, não houve resolução suficiente para que os espécimes aqui tratados como sendo *C. aff. unicalcarata* fossem filogeneticamente diferenciados de *C. unicalcarata* (Figuras do 2, 6 e 10 do Apêndice 2). Apesar de as topologias encontradas para os dois genes nucleares terem sido basicamente as mesmas, os valores das medidas de suporte dos clados encontrados nas análises diferem entre si. De maneira geral os valores obtidos por frequências de *bootstrap* são inferiores àqueles obtidos por probabilidade posterior, sendo que em alguns casos não chegaram a atingir 50%.



**FIGURA 5.** Filograma resultante da análise de inferência Bayesiana para a análise concatenada empregando um modelo misto consistindo dos modelos selecionados para cada loco gênico da partição (COI e 16S, GTR+ $\Gamma$ ; EF-1 $\alpha$  (éxons) e *wingless* (íntron), K80+ $\Gamma$ ; EF-1 $\alpha$  (íntron), HKY+ $\Gamma$  e *wingless* (éxons), HKY+I). O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, na parte superior de cada ramo, corresponde à probabilidade posterior, e os localizados na parte inferior dos ramos correspondem aos valores de *bootstrap* obtidas pela MV (à esquerda) e parcimônia (à direita). Nós não recuperados são indicados por “-”. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

#### 4.4. BIOGEOGRAFIA E ESTIMATIVA DO TEMPO DE DIVERGÊNCIA

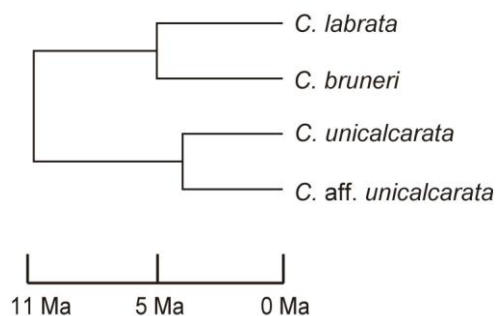
O logaritmo do valor de verossimilhança encontrado para a árvore em que se assumiu o relógio molecular foi -1317,0289, ao passo que o valor para a árvore cujos comprimentos de ramo foram estimados sem restrições foi -1316,2627. A diferença entre esses valores foi 0,7662 (Figura 6). O teste estatístico ( $2 \times$  diferença  $\log L = 1,5324$ ) mostrou-se não significativo ( $p = 0,4647$ ; 2 graus de liberdade), de modo que não se pode rejeitar a hipótese nula (as substituições teriam ocorrido sob taxa aproximadamente constante durante a história de diversificação de *Caenonomada*).



**FIGURA 6.** Relações filogenéticas entre as quatro espécies de *Caenonomada*, cada uma delas representada por apenas um terminal (número de *voucher* indicado entre parênteses): *C. bruneri* (GW06), *C. labrata* (GW01), *C. unicalcarata* (GW02) e *C. aff. unicalcarata* (GW03). As relações foram inferidas utilizando-se as sequências do gene COI e máxima verossimilhança com o modelo GTR+ $\Gamma$ , (a) forçando-se a adequação do pressuposto do relógio molecular, ou (b) sem restrições à constância da taxa de substituição por unidade de tempo.

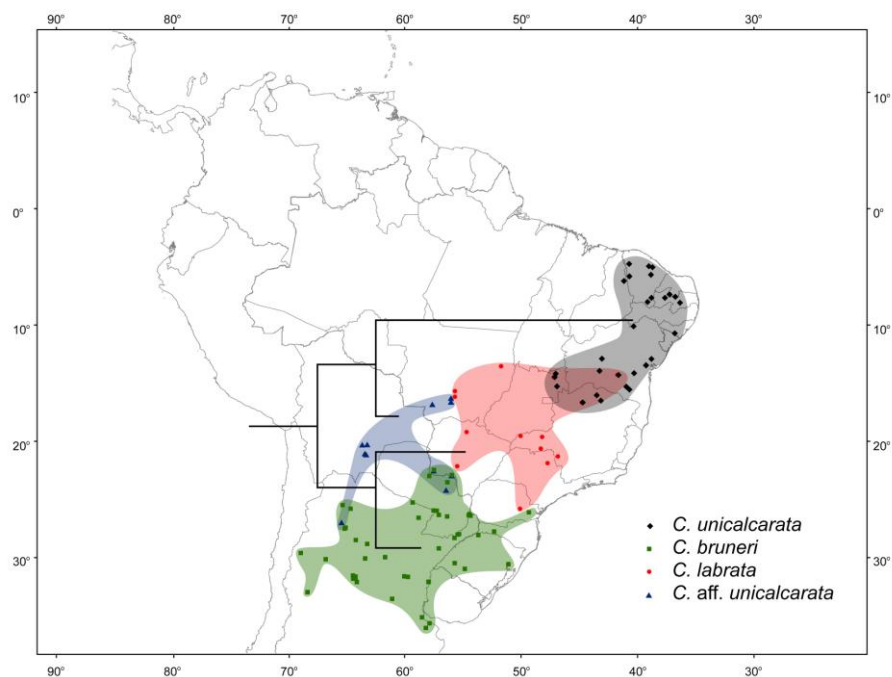
Segundo esses resultados, a divergência inicial entre as linhagens de *Caenonomada* teria ocorrido no Mioceno Superior, há aproximadamente 10,64 milhões de anos (Ma). Esta divergência deu origem a dois clados: um formado pelo ancestral de *C. labrata* + *C. bruneri* e outro formado pelo ancestral de *C. unicalcarata* + *C. aff. unicalcarata*. Os outros dois eventos de especiação ocorreram entre o final do Mioceno e início do Plioceno, sendo que a linhagem ancestral de *C. labrata* e *C.*

*bruneri* divergiu há cerca de 5,36 Ma e a separação da linhagem ancestral de *C. unicalcarata* e *C. aff. unicalcarata* ocorreu há 4,26 Ma (Figura 7).



**FIGURA 7.** Idade estimada das divergências entre as linhagens de *Caenomada*.

O cladograma para as espécies de *Caenomada* sobreposto às áreas de ocorrência de cada uma das espécies, obtido com a filogenia molecular do gênero (Figura 8), mostra uma relação estrita tanto da Caatinga como do Cerrado com o Chaco sugerindo que este seja uma área híbrida do ponto de vista biogeográfico.



**FIGURA 8.** Cladograma para as espécies de *Caenomada* sobreposto às respectivas áreas de ocorrência.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. SELEÇÃO DE MODELOS E COMPARAÇÕES ENTRE OS GENES

As proporções de bases encontradas tanto para os genes nucleares como para os mitocondriais refletem o modelo de evolução selecionado para cada gene. Os modelos mais simples, como o sugerido aqui para os genes nucleares (K80), tem como premissa ter as frequências das bases aproximadamente iguais. Já os modelos mais complexos, como o GTR requerido aqui para os genes mitocondriais, assumem que as proporções entre as bases sejam diferentes. A composição de bases das sequências dos genes 16S e COI com maior percentual de A e T seguiu o padrão já sugerido para o DNA mitocondrial de insetos (CROZIER & CROZIER, 1993; SIMON *et al.* 1994; SIMON *et al.* 2006).

De maneira geral, os valores do parâmetro  $\alpha$  da distribuição  $\Gamma$  das quatro regiões transcritas consideradas para análise (COI, 16S e éxons dos genes nucleares) não destoaram um do outro, indicando que todos possuem perfis similares em termos das variações das taxas de substituição. Esses resultados diferem dos dados publicados por Lin e Danforth (2004), que obtiveram valores do parâmetro  $\alpha$  maiores para os éxons dos genes nucleares do que para os genes mitocondriais, indicando um desempenho menor destes nas análises filogenéticas. Cabe salientar, que os resultados obtidos por aqueles autores foram baseados em análises de grupos supra-específicos. De acordo com os resultados obtidos aqui, em análises de níveis taxonômicos mais baixos, como é o caso de *Caenonomada*, tanto os éxons dos genes nucleares como os genes mitocondriais devem ser considerados quando da escolha dos genes, visto que ambos não diferem significativamente em termos das variações das taxas de substituição.

Os altos valores do parâmetro  $\alpha$  para as regiões não codificadoras dos genes nucleares já eram esperados, presumivelmente porque todos os sítios dentro de um íntron evoluem aproximadamente com a mesma taxa. Esta característica faz com que estas regiões sejam úteis em muitos estudos filogenéticos envolvendo genes nucleares (DANFORTH *et al.*, 1999; KAWAKITA *et al.*, 2003; LEYS *et al.*, 2002).



Segundo Yang (1998) e Lin & Danforth (2004) o bom desempenho dos íntrons pode estar relacionado aos altos valores de  $\alpha$ . Altos valores deste parâmetro correspondem a genes com muitas regiões com taxas de substituição muito altas e poucas regiões com taxas muito baixas. Com uma quantidade maior de regiões evoluindo rapidamente, os sítios tendem a saturar de maneira mais lenta, diminuindo os níveis de homoplasias (YANG, 1998; LIN & DANFORTH, 2004). Estes autores chegaram à correlação entre altos valores de  $\alpha$  e bom desempenho do gene com base na proporção de nós recuperados corretamente em seus estudos. Porém, nos dados encontrados aqui o clado que agrupa *C. unicalcarata* e *C. aff. unicalcarata* não foi recuperado pelo íntron do EF-1 $\alpha$  e nenhum dos dois clados que separam as linhagens de *Caenonomada* foi recuperado pelo íntron do *wingless*. Sendo assim, podemos concluir, com base nos resultados obtidos, que não necessariamente os altos valores de  $\alpha$  estão relacionados ao bom desempenho dos genes, pelo menos no que se refere às regiões intrônicas.

## 5.2. RELAÇÕES FILOGENÉTICAS

Apesar da natureza das análises de parcimônia, MV e inferência Bayesiana serem diferentes, as estimativas filogenéticas obtidas com esses três métodos podem convergir em certas situações (STEEL & PENNY, 2000; SWOFFORD *et al.*, 2001), como ocorrido neste trabalho. As topologias obtidas a partir das três análises para *Caenonomada* são praticamente idênticas, com a maior diferença sendo encontrada nos valores de suporte de alguns clados. Embora haja discussões sobre a melhor utilidade de alguns métodos filogenéticos em relação aos outros (SWOFFORD *et al.*, 1996, 2001; HOLDER & LEWIS, 2003), as propriedades dos genes utilizados e como eles evoluem têm uma influência muito maior sobre o resultado de uma análise filogenética do que o método específico escolhido para reconstruir as relações filogenéticas entre os táxons estudados (SIMON *et al.*, 2006).

Incongruências entre as topologias provenientes de genes mitocondriais e nucleares têm sido bastante frequentes em estudos filogenéticos (p. ex. SOTA & VOGLER, 2001; BELTRÁN *et al.* 2002; BULL *et al.* 2006; OVERTON & RHOADS, 2004;

LEACHÉ, 2009; FULTON & STROBECK, 2010). Essa diferença significativa no sinal filogenético é um padrão esperado em análises filogenéticas em nível específico, pois diferentes locos podem possuir histórias alélicas diferentes. De maneira geral os genes mitocondriais têm um maior poder de resolução em análises filogenéticas de táxons proximamente relacionados (ZHANG & HEWITT, 2003), o que foi corroborado no presente trabalho. Tanto o 16S como o COI geraram hipóteses de árvores bem resolvidas e com altos valores de suporte de ramos. O bom desempenho dos genes mitocondriais, principalmente do COI, na resolução filogenética de *Caenonomada* pode estar relacionado às suas altas taxas de substituição. Lin & Danforth (2004) sugerem que os genes com essa característica tenham um bom desempenho na recuperação de divergências mais recentes. No que se refere aos íntrons essa característica não está necessariamente relacionada ao bom desempenho do gene. Altas taxas de substituição para as regiões não codificadoras de proteínas são esperadas, visto que a pressão de seleção nestas regiões é menor do que em regiões codificadoras.

Apesar de possuírem baixa resolução em análises filogenéticas em nível específico, a utilização dos genes nucleares nestas análises se torna importante por eles serem mais informativos do que os genes mitocondriais em inferir relacionamentos entre táxons supra-específicos (LIN & DANFORTH, 2004), fornecendo assim hipóteses mais robustas sobre o enraizamento de *Caenonomada* e na relação deste clado com os grupos externos. De modo geral, isto pode ser observado nos valores de suporte de ramos dos cladogramas formados por *Caenonomada* e pelos grupos externos que foram relativamente mais altos para os genes nucleares do que para os genes mitocondriais. Além disso, como demonstrado por Kawakita *et al.* (2003) regiões não codificadoras de genes nucleares auxiliam na resolução filogenética de divergências de linhagens recentes. Mesmo com resolução insuficiente para resolver as relações entre *C. aff. unicalcarata* e *C. unicalcarata*, os genes nucleares corroboraram a hipótese de relacionamento entre os cladogramas formados por *C. labrata* e *C. bruneri* e do clado formado por estas espécies com o clado formado pelos espécimes representantes de *C. unicalcarata* + *C. aff. unicalcarata*. O fato do valor de suporte de ramos para as três análises filogenéticas ter sido maior para o EF-1 $\alpha$  do que para o *wingless* pode estar relacionado ao fato desse gene ter mais caracteres amostrados (915 pb, enquanto *wingless* teve 343 pb amostrados).

Segundo Hillis *et al.* (1994) o aumento no número de caracteres leva a estimativas mais precisas na resolução da árvore.

A incongruência entre genes mitocondriais e nucleares pode ser gerada por grandes diferenças nas taxas de substituição de nucleotídeos nas diferentes partições, mesmo no caso onde a topologia encontrada para estas seja congruente (BARKER & LUTZONI, 2002). Dessa forma, a adição de parâmetros relacionada a diferentes taxas de transversão, na hierarquia dos modelos escolhidos para as partições estudadas, neste caso GTR *versus* K80, pode ser uma das explicações da incongruência entre os resultados provenientes de dados mitocondriais e nucleares. Esse problema pode ser revertido com um aumento no número de caracteres, o que supostamente aumentaria a chance de que a topologia mais adequada fosse recuperada (HILLIS *et al.* 1994), o que privilegiaria as análises combinadas.

Sabe-se que árvores geradas pela análise de um único loco gênico não refletem necessariamente as relações entre os táxons amostrados. Inferências filogenéticas com base em partições individuais são de valor limitado para inferir filogenias de espécies. Sendo assim, a utilização de diferentes partições envolvendo diferentes funções e origens são mais adequadas para os estudos filogenéticos (WU, 1991; PAMILO & NEI, 1998; REED & SPERLING, 1999; COGNATO & VOGLER, 2001). Além disso, é de se esperar que as partições individuais tenham menor poder de resolução que análises combinadas (ALMEIDA & DANFORTH, 2009). O ruído existente em partições individuais pode, ainda, obscurecer o sinal que é amplificado quando diferentes partições são combinadas (NIXON & CARPENTER, 1996; BAKER & DESALLE, 1997). Na análise concatenada, incluindo todas as partições gênicas amostradas neste estudo, fica clara a melhoria da resolução filogenética em comparação com as análises individuais, com os valores de suporte de ramos chegando a 100% para a maioria dos clados para as três análises de reconstrução filogenética.

A existência de terminais com dados faltantes (ver Tabela 3) não parece ter afetado a resolução das diferentes análises de reconstrução filogenética utilizadas no presente trabalho. A utilização de táxons com dados faltantes em filogenias já é discutida há bastante tempo (p. ex., NIXON & DAVIS, 1991; PLATNICK *et al.*, 1991; WIENS & REEDER, 1995; WIENS, 1998; PHILIPPE *et al.*, 2004; WIENS, 2006). Existem poucas evidências que justifiquem a exclusão desses dados em análises moleculares, sendo que simulações indicam que, quando o número de caracteres é elevado (aproximadamente 2000 pb), a filogenia correta pode ser recuperada,

mesmo em casos onde metade dos táxons apresentem 90% de dados faltantes (WIENS, 2006). Tendo em vista os resultados obtidos com as três análises de reconstrução filogenética realizadas neste trabalho, para a matriz concatenada é possível dizer que a adição dos terminais com dados faltantes não foi prejudicial às análises aqui realizadas, visto que estas se mostraram capazes de recuperar a monofilia de *Caenonomada* bem como as relações entre as espécies do gênero.

A diferença nos valores das medidas de suporte dos clados nas análises de parcimônia e MV (*bootstrap*) e inferência Bayesiana (probabilidade posterior) é bastante comum em estudos filogenéticos (ERIXON *et al.*, 2003). Apesar de muitos autores discutirem formas de tornar possível a comparação destes valores (p. ex., WILCOX *et al.* 2002; ALFARO *et al.*, 2003; ERIXON *et al.*, 2003; HUELSENBECK & RANALLA, 2004) isso é bastante complicado, pois os métodos são quantitativamente diferentes. Simulações indicam que os valores de probabilidades posteriores são consistentemente superiores aos das frequências de *bootstrap* não-paramétrico obtidos por MV, embora os dois valores tendam a ser correlacionados (BUCKLEY *et al.*, 2002; CUMMINGS *et al.*, 2003; SUZUKI *et al.*, 2002; WILCOX *et al.*, 2002). Alguns autores argumentam que a probabilidade posterior é superior às proporções de *bootstrap* porque esta dá uma medida mais direta da confiabilidade de um dado nó, reduzindo os problemas relacionados à superestimativa do suporte de clados, desde que os modelos de evolução escolhidos sejam adequados (HUELSENBECK & RANNALA, 2004). Por outro lado, em casos onde os modelos de evolução utilizados nas análises envolvem menos parâmetros que o desejado, os valores de probabilidade posterior superestimam o suporte de agrupamentos falsos (ERIXON *et al.* 2003). Alfaro *et al.* (2003) sustentam que a probabilidade posterior é um preditor menos tendencioso da acurácia das análises filogenéticas que o *bootstrap*, além de ser menos dependente que o *bootstrap* do número de caracteres analisados para hipotetizar os agrupamentos em questão. Além disso, as probabilidades posteriores são calculadas assumindo uma prévia distribuição de todos os parâmetros do modelo, incluindo os comprimentos de ramo e a topologia, o que pode influenciar os valores de probabilidade posterior em muitos casos (p. ex. YANG & RANNALA, 2005). Esta dependência dos valores prévios de distribuição também dificulta a comparação das duas medidas de suporte de ramos (YANG & RANNALA, 2005). Soma-se que as frequências de *bootstrap* são baseadas no conceito de reamostragem e sua interpretação exata depende da forma como foi calculado.

Apesar do *bootstrap* ser um método difundido, seu uso para avaliar o suporte de ramos em filogenias é controverso. Há uma ampla discussão na literatura referente à utilidade do *bootstrap* como medida de suporte de clados, sendo que a interpretação dos valores e as próprias premissas do *bootstrap* são bastante criticadas por alguns pesquisadores (p. ex. CARPENTER, 1992; HOLMES, 2003; GRANT & KLUGE, 2003; EGAN, 2006; SANDERSON, 1995).

Considerando-se que uma quantidade razoável de dados foi utilizada e que os dados são provenientes de genes adequados para resolver as relações filogenéticas entre as espécies de *Caenonomada*, podemos concluir que os terminais tratados aqui como "*C. aff. unicalcarata*" representam uma espécie distinta, como proposto por Aguiar & Melo (2006) com base em dados morfológicos e de distribuição geográfica, que deve ser descrita formalmente. A hipótese de relacionamento na qual *C. labrata* apresenta-se como espécie irmã de *C. bruneri* e o clado formado por essas espécies apresenta-se como grupo irmão do clado formado por *C. unicalcarata* e *C. aff. unicalcarata* é congruente à hipótese proposta pelos mesmos autores citados acima e por Zanella (2002), que já havia relatado a proximidade filogenética entre *C. bruneri* e *C. Labrata*. Segundo Zanella (2002), o clado que agrupa *C. bruneri* e *C. labrata* é apoiado pelas seguintes sinapomorfias: fêmur posterior dos machos conspicuamente inchado e esporão da tíbia posterior dos machos com ápice rombo. O mesmo autor ainda sugere que, caso as populações disjuntas de *C. unicalcarata* passem a ser consideradas uma espécie distinta, como o resultado obtido no presente trabalho, alguns caracteres, tais como a perda secundária da projeção arredondada na margem anterior da tíbia posterior dos machos e a perda da reentrância na borda apical do E8, podem vir a ser considerados como sinapomorfias que agrupam a espécie nova e *C. unicalcarata*.

### 5.3. BIOGEOGRAFIA E ESTIMATIVA DO TEMPO DE DIVERGÊNCIA

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a divergência entre as linhagens de *Caenonomada* teria ocorrido anteriormente às grandes glaciações do Quaternário, como foi sugerido por Zanella (2002). Os eventos geológicos e

climáticos que ocorreram durante o Mioceno e Plioceno provavelmente foram os responsáveis pela diversificação do gênero.

A paisagem da América do Sul durante o Mioceno foi caracterizada por áreas florestadas e áreas de savanas que cobriam a maior parte do continente. No Mioceno Médio (ca. 17-15 Ma), o soerguimento dos Andes (e cadeias pré-andinas) formou uma grande barreira para os ventos úmidos do Pacífico causando uma diminuição da precipitação (*rain-shadow effect*) na face leste da Cordilheira, deixando o clima mais frio e seco, o que resultou na expansão das áreas secas e retração dos ambientes florestados (ORTIZ-JAUREGUIZAR & CLADERA, 2006). Durante o Mioceno Médio e Superior (ca. 17-5 Ma) três sucessivas transgressões marinhas do oceano Atlântico foram registradas no sul da América do Sul, formando um mar continental conhecido como “Mar Paranaense” (RÄSÄNEN *ET AL.* 1995; DONATO *et al.* 2003; ORTIZ-JAUREGUIZAR & CLADERA, 2006). Esse mar separou ambientes terrestres áridos do sul da América do Sul daqueles mais ao norte, espalhando-se pelos atuais territórios de praticamente todo o leste da Argentina, oeste do Uruguai, sul do Paraguai e sudeste da Bolívia (ORTIZ-JAUREGUIZAR & CLADERA, 2006). Durante o Mioceno Superior e o Plioceno Inferior (ca. 11-3 Ma) a ampla superfície inundada até então pelo “Mar Paranaense” foi sucedida por uma ampla planície que passou a conectar as áreas continentais até então separadas pela transgressão marinha (Ortiz-Jaureguizar, 1998).

As transgressões marinhas do Mioceno provavelmente tiveram uma profunda influência na evolução da biota das paisagens abertas sul-americanas, pela fragmentação de táxons amplamente distribuídos (PASCUAL & ORTIZ-JAUREGUIZAR, 1990). Estes eventos podem ter sido os responsáveis pela cladogênese do clado formado por *C. labrata* + *C. bruneri* há aproximadamente 5 Ma, quando regiões dos atuais Chaco e Pampa foram isoladas das demais áreas secas, incluindo nestas o Cerrado. As transgressões também podem ser consideradas o possível evento vicariante responsável pela divergência entre *C. unicalcarata* e *C. aff. unicalcarata* de acordo com a data estimada de cladogênese. Porém, estas duas espécies quase não diferem morfológicamente, indicando uma especiação incipiente, o que nos faz acreditar que o evento vicariante que resultou na especiação destas espécies ocorreu mais recentemente no tempo geológico, possivelmente durante as grandes glaciações do Pleistoceno.

As estimativas do tempo de divergência obtidas com os dados do gene COI são obviamente dependentes da precisão da taxa média de substituição adotada, no caso, de 0,02 mutações por milhão de ano (Brower, 1994). Apesar de amplamente utilizadas, sabe-se que taxas gerais, como a utilizada neste trabalho, não têm se mostrado adequadas para determinados grupos de organismos (p. ex. LOVETTE, 2004). Uma maneira de tornar a estimativa do tempo de divergência mais robusta é se utilizar tanto de dados provenientes do gene COI como de outros genes (nucleares e mitocondriais). Infelizmente, não se têm dados disponíveis referentes a taxas de substituição para nenhum dos dois genes nucleares utilizados neste estudo. No entanto, dados filogenéticos publicados recentemente de abelhas da tribo Euglossini (RAMÍREZ *et al.* 2010) baseados tanto nos gene COI como no EF-1 $\alpha$  e com datações calibradas com registros fósseis permitirão obter uma taxa de substituição para os dois genes para as abelhas. O cálculo dessas taxas será importante para estudos filogenéticos moleculares e biogeográficos de abelhas, como o presente, visto que a utilização de uma taxa geral, como já citado acima, não tem se mostrado adequada para alguns grupos de organismos, ora superestimando ora subestimando a data de divergência dos clados. Portanto, para obter estimativas de tempo de divergência mais confiáveis, taxas de substituição e pontos de calibração específicos devem ser adotados para cada linhagem (BROMHAM & PENNY, 2003).

Apesar do possível desvio de estimativa da cladogênese entre *C. unicalcarata* e *C. aff. unicalcarata*, os resultados apresentados aqui não mudam a interpretação histórica apresentada de que um antigo evento vicariante separou o ancestral de *Caenonomada* em uma população correspondendo ao ancestral de *C. bruneri* + *C. labrata* e outra correspondendo ao ancestral de *C. unicalcarata* + *C. aff. unicalcarata*. Posteriormente, outro evento, possivelmente relacionado às transgressões marinhas do Mioceno, separou a população ancestral de *C. bruneri* e *C. labrata* e mais recentemente no tempo geológico outro evento separou a população ancestral de *C. unicalcarata* e *C. aff. unicalcarata*. Fica em aberto aqui a questão da determinação do primeiro evento vicariante que separou o ancestral de *Caenonomada*. Não há citações de eventos geológicos ou climáticos que tenham ocorrido há aproximadamente 11Ma que possam explicar a formação de alguma barreira que tenha dividido a população ancestral de *Caenonomada*.

Deve-se destacar que as evidências para as inferências acerca do momento de ocorrência dos eventos responsáveis pela diversificação da biota das áreas abertas da América do Sul são escassas na literatura, impossibilitando a comparação do padrão encontrado para *Caenonomada* com os de outros organismos. Os dois eventos do Terciário, citados na literatura, que possivelmente afetaram a biota da diagonal de formações abertas secas: o soerguimento do Planalto Central Brasileiro (p. ex. SILVA, 1995) e o Mar Paranaense (p. ex. COLLI, 2005) são considerados de forma especulativa, carecendo de dados mais consistentes para corroborar seu papel na diversificação biológica.

A relação estrita, tanto da Caatinga como do Cerrado com o Chaco, sugerida pelo cladograma de táxons e áreas (Figura 8), sugere que este seja um componente híbrido com um Chaco mais seco proximoamente relacionado à Caatinga e um Chaco úmido estritamente relacionado ao Cerrado. O relacionamento entre Chaco e Caatinga tem sido sugerido para outros grupos de abelhas proximoamente relacionados que ocorrem nessas áreas (p. ex. AGUIAR & MELO, 2008; VIVALLO & MELO, 2009). Outra hipótese de relacionamento para a diagonal de áreas abertas, obtida a partir de dados de angiospermas, vertebrados e insetos, mostra a Caatinga ocupando uma posição isolada e basal no cladograma de áreas (PRADO & GIBBS, 1993; MORRONE & COSCARÓN, 1998; PRADO, 2000; PENNINGTON *et al.*, 2000, 2004; COLLI, 2005; PORZECANSKI & CRACRAFT, 2005; WERNECK & COLLI, 2006; RAMOS & MELO, 2010). No entanto, a biota da Caatinga contém espécies endêmicas de diferentes idades, algumas das quais se diferenciaram apenas recentemente e possuem uma estreita relação com espécies do Chaco, como parece ser o caso de *C. unicalcarata* e *C. aff. unicalcarata* e de outras abelhas da tribo Tapinotaspidini (ver AGUIAR & MELO, 2008). Dados mais consistentes para corroborar a diferenciação recente entre Chaco e Caatinga serão obtidos com o cálculo do tempo de divergência baseado também em dados de genes nucleares. Além disso, a integração de abordagens distintas como a modelagem de nicho das espécies de *Caenonomada* na época da divergência entre elas permitirão visualizar como as áreas abertas da América do Sul estavam relacionadas e assim poderemos inferir de forma mais crítica quais foram os prováveis eventos vicariantes responsáveis pela diversificação do gênero.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, A. J. C. 2007. Tapinotaspidini Roig-Alsina & Michener, 1993. *In: Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version.* (Orgs: MOURE, J.S.; URBAN, D. & MELO, G.A.R. Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acessado em 07/11/2010.
- AGUIAR, A.J.C. & MELO, G.A.R. 2006. Filogenia e classificação da tribo Tapinotaspidini (Hymenoptera, Apidae). *In: Anais do VII Encontro sobre Abelhas*, CD-ROM (Eds: SANTANA W.C., LOBO C.H. & HARTFELDER K.H.). FFCLRP-USP, FMRP-USP, Ribeirão Preto, 160–164.
- AGUIAR, A.J.C. & MELO, G.A.R. 2008. Biogeografia das áreas abertas da América do Sul, com ênfase em abelhas da tribo Tapinotaspidini. *In: Anais do VIII Encontro Sobre Abelhas*, CD-ROM (Eds: DE JONG, D., FRANCOY, T. M. & SANTANA, W. C.). FFCLRP-USP, FMRP-USP, Ribeirão Preto, 322-326.
- ALFARO, M.E.; ZOLLER, S. & LUZZONI, F. 2003. Bayes or bootstrap? A simulation study comparing the performance of Bayesian Markov chain Monte Carlo sampling and bootstrapping in assessing phylogenetic confidence. **Molecular Biology and Evolution** 20: 255–266.
- ALMEIDA, E.A.B. & DANFORTH, B.N. 2009. Phylogeny of colletid bees (Hymenoptera: Colletidae) inferred from four nuclear genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 50: 290-309.
- ALMEIDA, E.A.B., PACKER, L. & DANFORTH, B.N. 2008. Phylogeny of the Xeromelissinae (Hymenoptera: Colletidae) based upon morphology and molecules. **Apidologie** 39: 75–85.
- ALTEKAR, G.; DWARKADAS, S.; HUELSENBECK, J.P. & RONQUIST, F. 2004. Parallel Metropolis-coupled Markov chain Monte Carlo for Bayesian phylogenetic inference. **Bioinformatics** 20: 407–415.
- AVISE, J.C. 1989. Gene trees and organismal histories: A phylogenetic approach to population biology. **Evolution** 43: 1192-1208.
- BARKER, F.K. & LUTZONI, F.M. 2002. Spurious rejection of phylogenetic congruence by the ILD test: a simulation study. **Systematic Biology** 51: 625–637.
- BROWER, A.V.Z. & DESALLE, R. 1998. Patterns of mitochondrial versus nuclear DNA sequence divergence among nymphalid butterflies: the utility of wingless as a

- source of characters for phylogenetic inference. **Insect Molecular Biology** 7: 73–82.
- BAKER, R.H. & DESALLE, R. 1997. Multiple sources of character information and the phylogeny of Hawaiian drosophilids. **Systematic Biology** 46: 654–673.
- BELTRÁN, M.; JIGGINS, C.D.; BULL, V.; LINARES, M.; MALLET, J.; McMILLAN, W.O. & BERMINGHAM, E. 2002. Phylogenetic discordance at the species boundary: Comparative gene genealogies among rapidly radiating *Heliconius* butterflies. **Molecular Biology and Evolution** 19: 2176-2190.
- BROWER, A.V.Z. 1994. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 91: 6491–6495.
- BROMHAM, L. & PENNY, D. 2003. The modern molecular clock. **Nature** 4: 216-224.
- BOS, D.H. & POSADA, D. 2005. Using models of nucleotide evolution to build phylogenetic trees. **Developmental and Comparative Immunology** 29: 211–227.
- BUCKLEY, T.R.; ARENSBURGER, P.; SIMON, C. & CHAMBERS, G.K. 2002. Combined data, Bayesian phylogenetics, and the origin of the New Zealand cicada genera. **Systematic Biology** 51: 4–18.
- BULL, V.; BELTRÁN, M.; JIGGINS, C.D.; McMILLAN, W.O.; BERMINGHAM, E. & MALLET, J. 2006. Polyphyly and gene flow between non-sibling *Heliconius* species. **BMC Biology** 4: 11.
- CAMERON, S.A. 1993. Multiple origins of advanced eusociality in bees inferred from mitochondrial DNA sequences. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 90: 8687–8691.
- CAMERON, S. A., DERR, J. N., AUSTIN, A. D., WOOLEY, J. B. & WHARTON, R. A. 1992. The application of nucleotide sequence data to phylogeny of the Hymenoptera: a review. **Journal of Hymenoptera Research** 1: 63–79.
- CAMERON, S.A., HINES, H.M. & WILLIAMS, P.H. 2007. A comprehensive phylogeny of the bumble bees (*Bombus*). **Biological Journal of the Linnean Society** 91: 161–188.
- CAMERON, S.A. & MARDULYN, P. 2001. Multiple molecular data sets suggest independent origins of highly eusocial behavior in bees (Hymenoptera: Apinae). **Systematic Biology** 50: 194–214.

- CAMERON, S.A. & WILLIAMS, P.H. 2003. Phylogeny of bumble bees in the New World subgenus *Fervidobombus* (Hymenoptera: Apidae): congruence of molecular and morphological data. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 28: 552–563.
- CARDINAL, S.; STRAKA, J. & DANFORTH, B. 2010. Comprehensive phylogeny of apid bees reveals the evolutionary origins and antiquity of cleptoparasitism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 107: 16207-16211.
- CARPENTER, J.M. 1992. Random cladistics. **Cladistics** 8: 147–153.
- COGNATO, A.I. & A. VOGLER, P. 2001. Exploring data interaction and nucleotide alignment in a multiple gene analysis of *Ips* (Coleoptera: Scolytinae). **Systematic Biology** 50: 758–780.
- COLLI, G.R. 2005. As origens e a diversificação da herpetofauna do Cerrado. *In*: **Cerrado: Ecologia, Biodiversidade E Conservação** (EDS: SCARIOT, A.; SOUZA-SILVA, J.C. & FELFILI, J.M.). Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Distrito Federal, 249-264.
- COSTA, M.A., DEL LAMA, M.A., MELO, G.A.R. & SHEPPARD, W.S. 2003. Molecular phylogeny of the stingless bees (Apidae, Apinae, Meliponini) inferred from mitochondrial 16S rDNA sequences. **Apidologie** 34: 73-84.
- Crozier, R.H. & Crozier, Y.C. 1993. The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization. **Genetics** 133:97-117
- CUMMINGS, M.P.; HANDLEY, S.A.; MYERS, D.S.; REED, R.L.; ROKAS, A, & WINKA, K. 2003. Comparing bootstrap and posterior probability values in the four-taxon case. **Systematic Biology** 52:477–87.
- DANFORTH, B.N. & Ji, S. 1998. Elongation factor-1 $\alpha$  occurs as two copies in bees: Implications for phylogenetic analysis of EF-1 $\alpha$  sequences in insects. **Molecular Biology and Evolution** 15: 225-235.
- DANFORTH, B.N. 1999. Phylogeny of the bee genus *Lasioglossum* (Hymenoptera: Halictidae) based on mitochondrial cytochrome oxidase. **Systematic Entomology** 24: 377–393.
- DANFORTH, B.N., SAUQUET, H. & PACKER, L. 1999. Phylogeny of the bee genus *Halictus* (Hymenoptera: Halictidae), based on parsimony and likelihood analyses of nuclear EF-1 $\alpha$  sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 13: 605–618.

- DANFORTH, B.N.; CONWAY, L. & JI, S. 2003. Phylogeny of eusocial *Lasioglossum* reveals multiple losses of eusociality within a primitively eusocial clade of bees (Hymenoptera: Halictidae). **Systematic Biology** 52: 23–36.
- DANFORTH, B.N.; BRADY, S.G.; SIPES, S. D. & PEARSON, A. 2004. Single-copy nuclear genes recover Cretaceous-age divergences in bees. **Systematic Biology** 55: 309–326.
- DANFORTH, B.N.; SIPES, S.; FANG, J. & BRADY, S.G. 2006. The history of early bee diversification based on five genes plus morphology. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 103: 15118–15123.
- DESALLE, R.; FREEMAN, T.; PRAGER, E.M. & WILSON, A.C. 1987. Tempo and mode of sequence evolution in mitochondrial DNA of Hawaiian *Drosophila*. **Journal of Molecular Evolution** 26: 157–164.
- DONATO, M.; POSADAS, P.; MIRANDA-ESQUIVEL, D.R.; ORTIZ-JAUREGUIZAR, E. & CLADERA, G., 2003. Historical biogeography of the Andean subregion: evidence from *Listroderina* (Coleoptera: Curculionidae: Rhytirrinini) included in the South American geobiotic scenario. **Biological Journal of the Linnean Society** 80: 339–352.
- DOWTON, M. & AUSTIN, A.D. 1994. Molecular phylogeny of the insect order Hymenoptera: apocritan relationships. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 91: 9911–9915.
- EDGAR, R.C. 2004a. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research** 32 (5) 1792-1797.
- EDGAR, R.C. 2004b. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. **BMC Bioinformatics** 5: 113.
- EGAN, M.G. 2006. Support versus corroboration. **Journal of Biomedical Informatics** 39: 72–85.
- ERIXON, P.; SVENNBLAD, B.; BRITTON, T. & OXELMAN, B. 2003. Reliability of Bayesian Posterior Probabilities and Bootstrap Frequencies in Phylogenetics. **Systematic Biology** 52: 665–673.
- FARRIS, J.S. 1983. The logical basis of phylogenetic analysis. *In*: **Advances in Cladistics**, vol. 2. (Eds: PLATNICK, N.I. & FUNK, V.A.). New York, Columbia University Press, 7–36.

- FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution** 39: 783–791.
- FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, W., LUTZ, R. & VRIJENHOEK, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology** 3: 294–299.
- FULTON, T.L. & STROBECK, C. 2010. Multiple markers and multiple individuals refine true seal phylogeny and bring molecules and morphology back in line. **Proceedings of the Royal Society B** 277: 1065-1070.
- GELMAN, A. & RUBIN, D.B. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. **Statistical Science** 7: 457–472.
- GOLOBOFF, P. 1999. Nona (No Name) ver. 2.0. Distribuído pelo autor: <http://www.cladistics.com/aboutNona.htm>
- GRANT, T. & KLUGE, A.G. 2003. Data exploration in phylogenetic inference: Scientific, heuristic, or neither. **Cladistics** 19: 379–418.
- HALL, T. A. 1999. BioEdit: a User-friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series** 41: 95–98.
- HILLIS, D.M.; HUELSENBECK, J.P. & CUNNINGHAM, C.W. 1994. Application and accuracy of molecular phylogenies. **Science** 264: 671–677.
- HINES, H.M., CAMERON, S.A. & WILLIAMS, P.H. 2006. Molecular phylogeny of the bumble bee subgenus *Pyrobombus* (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*) with insights into gene utility for lower level analysis. **Invertebrate Systematics** 20: 289–303.
- HOLDER, M. & LEWIS, P.O. 2003. Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches. **Nature Reviews Genetics** 4: 275–84.
- HOLMES, S. 2003. Bootstrapping phylogenetic trees: theory and methods. **Statistical Science** 18: 241–255.
- HUELSENBECK, J.P. & RANNALA, B. 1997. Phylogenetic methods come of age: testing hypotheses in an evolutionary context. **Science** 276: 227–232.
- HUELSENBECK, J.P. & RANNALA, B. 2004. Frequentist properties of Bayesian posterior probabilities of phylogenetic trees under complex and simple substitution models. **Systematic Biology** 53:904–913.
- HUELSENBECK, J. P. & RONQUIST, F. 2005. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. **Bioinformatics** 17: 754–755.

- HUELSENBECK, J.P.; RONQUIST, F.; NIELSEN, R. & BOLLBACK, J.P. 2001. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. **Science** 294: 2310–2314.
- HUELSENBECK, J. P. & RONQUIST, F. 2005. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. **Bioinformatics** 17: 754–755.
- KAWAKITA, A.; SOTA, T.; ASCHER, J.S.; ITO, M.; TANAKA, H. & KATO, M. 2003. Evolution and phylogenetic utility of alignment gaps within intron sequences of three nuclear genes in bumble bees (*Bombus*). **Molecular Biology and Evolution** 20: 87–92.
- KAWAKITA, A.; SOTA, T.; ITO, M.; ASCHER, J.S.; TANAKA, H.; KATO, M. & ROUBIK, D.W. 2004. Phylogeny, historical biogeography, and character evolution in bumble bees (*Bombus*: Apidae) based on simultaneous analysis of three nuclear genes sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 31, 799–804.
- KAWAKITA, A.; ASCHER, J.S.; SOTA, T.; KATO, M. & ROUBIK, D.W. 2008. Phylogenetic analysis of the corbiculate bee tribes based on 12 nuclear protein-coding genes (Hymenoptera: Apoidea: Apidae). **Apidologie** 39: 163–175.
- KOULIANOS, S. & SCHMID-HEMPEL, H.P. 2000. Phylogenetic relationships among bumble bees (*Bombus*, Latreille) inferred from mitochondrial cytochrome *b* and cytochrome oxidase I sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 14: 335–341.
- KUHLMANN, M., ALMEIDA, E.A.B., LAURENNE, N. & QUICKE, D.L.J. 2009. Molecular phylogeny and historical biogeography of the bee genus *Colletes* Latreille, 1802 (Hymenoptera: Apiformes: Colletidae), based on mitochondrial COI and nuclear 28S sequence data. **Insect Systematics & Evolution** 40: 291-318.
- LEACHÉ, A.D. 2009. Species tree discordance traces to phylogeographic clade boundaries in North American fence lizards (*Sceloporus*). **Systematic Biology** 58: 547-559.
- LEYS, R., COOPER, S.J.B. & SCHWARZ, M.P. 2000. Molecular phylogeny of the large carpenter bees, genus *Xylocopa* (Hymenoptera: Apidae), based on mitochondrial DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 17: 407–418.
- LEYS, R.; COOPER, S.J.B. & SCHWARZ, M.P. 2002. Molecular phylogeny and historical biogeography of the large carpenter bees, genus *Xylocopa* (Hymenoptera: Apidae). **Biological Journal of the Linnean Society** 77, 249–266.

- LIN, C.P. & DANFORTH, B.N. 2004. How do insect nuclear and mitochondrial gene substitution patterns differ? Insights from Bayesian analyses of combined datasets. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 30: 686–702.
- LOVETTE, I.J. 2004. Mitochondrial dating and mixed support for the “2% rule” in birds. **The Auk** 121: 1-6.
- MAGNACCA, K.N. & DANFORTH, B.N. 2006. Low nuclear DNA variation supports a recent origin of Hawaiian *Hylaeus* bees (Hymenoptera: Colletidae) **Molecular Phylogenetics and Evolution** 43:908–915.
- MICHEL-SALZAT, A., CAMERON, S.A. & OLIVEIRA, M.L. 2004. Phylogeny of the orchid bees (Hymenoptera: Apinae: Euglossini): DNA and morphology yield equivalent patterns. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 32: 309–323.
- MICHEZ, D.; PATINY, S. & DANFORTH, B.N. 2009. Phylogeny of the bee family Melittidae (Hymenoptera: Anthophila) based on combined molecular and morphological data. **Systematic Entomology** 34: 574-597.
- MONTEIRO, A. & PIERCE, N.E. 2001. Phylogeny of *Bicyclus* (Lepidoptera: Nymphalidae) inferred from COI, COII, and EF-1 $\alpha$  gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 18: 264–281.
- MOORE, W.S. 1995. Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-genes trees. **Evolution** 49: 718-726.
- MORRONE, J.J. & COSCARÓN, M.C. 1998. Cladistics and biogeography of the assassin bug genus *Rasahus* Amyot & Serville (Heteroptera: Reduviidae: Peiratiinae). **Zoologische Mededelingen Leiden** 72: 73–87.
- MORIYAMA, E.N. & POWELL, J.R. 1997. Synonymous substitution rates in *Drosophila* mitochondrial versus nuclear genes. **Journal of Molecular Evolution** 45: 378–391.
- NIXON, K.C. & CARPENTER, J. M. 1996. On simultaneous analysis. **Cladistics** 12: 221–241.
- NIXON, K.C. 2002. WinClada v1.00.08. Distribuído pelo autor: <http://www.cladistics.com/wincDownload.htm>
- NIXON, K.C. & DAVIS, J. 1991. Polymorphic taxa, missing values and cladistic analysis. **Cladistics** 7: 233–241.
- NYLANDER, J.A.A.; RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.P. & NIEVES-ALDREY, J.L. 2004. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. **Systematic Biology** 53: 47–67.

- ORTIZ-JAUREGUIZAR, E. & CLADERA, G.A. 2006. Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic. **Journal of Arid Environments** 66: 498–532.
- Ortiz-Jaureguizar, E., 1998. Paleoeología y evolución de la fauna de mamíferos de América del sur durante la “Edad de las Planicies Australes” (Mioceno Superior–Plioceno Superior). **Estudios Geológicos** 54, 161–169.
- OVERTON, L.C. & RHOADS, D.D. 2004. Molecular phylogenetic relationships based on mitochondrial and nuclear gene sequences for the Todies (*Todus*, Todidae) of the Caribbean. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 32: 524–538.
- PALUMBI, S. R. 1996. Nucleic Acids II: the Polimerase Chain Reaction, p. 205–247. *In*: HILLIS, D. M.; MORITZ, C. & MABLE, B. K. (Eds.). **Molecular Systematics**. Second Edition. Massachusetts, Sinauer Associates, 655p.
- PAMILO, P. & NEI, M. 1988. Relationships between gene trees and species trees. **Molecular Biology and Evolution** 5: 568–583.
- PASCUAL, R. & ORTIZ-JAUREGUIZAR, E. 1990. Evolving climates and mammal faunas in Cenozoic South America. **Journal of Human Evolution** 19: 23–60.
- PENNINGTON, R.T.; PRADO, D.A. & PRENDY, C. 2000. Neotropical seasonally dry forests and Pleistocene vegetation. **Journal of Biogeography** 27: 261–273.
- PENNINGTON, R.T.; LAVIN, M.; PRADO, D.E.; PENDRY, C.A.; PELL, S.K. & BUTTERWORTH, C.A. 2004. Historical climate change and speciation: neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both tertiary and quaternary diversification. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B** 359: 515–537.
- PHILIPPE, H.; SNELL, E.A.; BAPTESTE, E.; LOPEZ, P.; HOLLAND, P.W.H. & CASANE, D. 2004. Phylogenomics of Eukaryotes: Impact of Missing Data on Large Alignments. **Molecular Biology and Evolution** 21: 1740–1752.
- PLATNICK, N.H.; GRISWOLD, C.E. & CODDINGTON, J.A. 1991. On missing entries in cladistic analysis. **Cladistics** 7: 337–343.
- PORZECANSKI, A.L. & CRACRAFT, J. 2005. Cladistic analysis of distributions and endemism (CADE): using raw distributions of birds to unravel the biogeography of the South American aridlands. **Journal of Biogeography** 32: 261–275.
- POSADA, D. & CRANDALL, K.A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics** 14: 817–818.
- POSADA, D. & CRANDALL, K.A. 2001. Selecting the best-fit model of nucleotide substitution. **Systematic Biology** 50: 580–601.



- POSADA D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. **Molecular Biology and Evolution** 25: 1253-1256.
- PRADO, D.E. & GIBBS, P.E. 1993. Patterns of species distributions in the dry seasonal forests of South America. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 80: 902–927.
- PRADO, D.E. 2000. Seasonally dry forests of tropical South America: from forgotten ecosystems to a new phytogeographic unit. **Edinburgh Journal of Botany** 57: 437–461.
- PRAZ, C.J.; MÜLLER, A.; DANFORTH, B.N.; GRISWOLD, T.L.; WIDMER, A. & DORN, S. 2008. Phylogeny and biogeography of bees of the tribe Osmiini (Hymenoptera: Megachilidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 49: 185–197.
- RAMBAUT, A. 2006. **FigTree. Tree Figure Drawing Tool Version 1.3.1** Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. Distribuído pelo autor: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- RAMBAUT, A. & Drummond, A.J. 2003. **Tracer. MCMC Trace Analysis Tool Version v.1.5.0** Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. Distribuído pelos autores: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>
- RAMÍREZ, S.R., ROUBIK, D.W., SKOV, C. & PIERCE, N.E. 2010. Phylogeny, diversification patterns and historical biogeography of euglossine orchid bees (Hymenoptera: Apidae). **Biological Journal of the Linnean Society** 100: 552-572.
- RAMOS, K.S. & MELO, G.A.R. 2010. Taxonomic revision and phylogenetic relationships of the bee genus *Parapsaenythia* Friese (Hymenoptera, Apidae, Protandrenini), with biogeographic inferences for the South American Chacoan Subregion. **Systematic Entomology** 35: 449-474.
- RÄSÄNEN, M.E.; LINNA, A.M.; SANTOS, J.C.R. & NEGRI, F.R.. 1995. Late Miocene tidal deposits in the Amazonian foreland basin. **Science** 269: 386–390.
- RASMUSSEN, C. & CAMARGO, J.M.F. 2008. A molecular phylogeny and the evolution of nest architecture and behavior in *Trigona* s.s. (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Apidologie** 39: 102-118.
- RASMUSSEN, C. & CAMERON, S.A. 2007. A molecular phylogeny of the Old World stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) and the non-monophyly of the large genus *Trigona*. **Systematic Entomology** 32: 26–39.

- REED, R.D. & SPERLING, F.A.H. 1999. Interaction of process partitions in phylogenetic analysis: An example from the swallowtail butterfly genus *Papilio*. **Molecular Biology and Evolution** 16: 286–297.
- ROIG-ALSINA, A. 1997. A generic study of the bees of the tribe Tapinotaspidini, with notes on the evolution of their oil-collecting structures (Hymenoptera, Apidae). **Mitteilungen Münchener Entomologischen Gesellschaft** 87: 3–21.
- SANDERSON, M.J. 1995. Objections to bootstrapping phylogenies: a critique. **Systematic Biology** 44: 299–320.
- SCHAEFER, H. & RENNER, S.S. 2008. A phylogeny of the oil bee tribe Ctenoplectrini (Hymenoptera: Anthophila) based on mitochondrial and nuclear data: evidence for early Eocene divergence and repeated out-of-Africa dispersal. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 47: 799–811.
- SCHWARZ, M.P.; BULL, N.J. & COOPER, S.J.B. 2003. Molecular phylogenetics of allodapine bees, with implications for the evolution of sociality and progressive rearing. **Systematic Biology** 52: 1–14.
- SIMON, C.; FRATI, F.; BECKENBACH, A.; CRESPI, B.; LIU, H. & FLOOK, P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. **Annals of the Entomological Society of America** 87:651–701.
- SIMON, C., BUCKLEY, T.R., FRATI, F., STEWART, J.B. & BECKENBACH, A.T. 2006. Incorporating Molecular Evolution into Phylogenetic analysis, and a New Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers for Animal Mitochondrial DNA. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** 37: 545–479.
- SIPES, S.D. & WOLF, P.G. 2001. Phylogenetic relationships within *Diadasia*, a group of specialist bees. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 19: 144–156.
- SILVA, J. M. C. 1995. Biogeographic analysis of the South American avifauna. **Steenstrupia** 21: 49-67.
- SOTA, T. & VOGLER, A.T. 2001. Incongruence of Mitochondrial and Nuclear Gene Trees in the Carabid Beetles *Ohomopterus*. **Systematic Biology** 50: 39-59.
- STADEN, R. 1996. The Staden sequence analysis package. **Molecular Biotechnology** 5: 233-241. Distribuído pelo autor: <http://staden.sourceforge.net/>
- STEEL, M. & PENNY, D. 2000. Parsimony, likelihood, and the role of models in molecular phylogenetics. **Molecular Biology and Evolution** 17: 839–850.

- SUKUMARAN, J. & HOLDER, M.T. 2010. DendroPy: a Python library for phylogenetic computing. **Bioinformatics** 26:1569-1571.
- SUZUKI, Y.; GLAZKO, G.V. & NEI, M. 2002. Overcredibility of molecular phylogenies obtained by Bayesian phylogenetics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 99:15138–43.
- SWOFFORD, D.L.; OLSEN, G.J.; WADDELL, P.J. & HILLIS, D.M. 1996. Phylogenetic Inference. *In: Molecular Systematics* (Eds: Hillis, D.M.; Moritz, C. & Mable, B.K.). Sinauer Associates, Sunderland, 407-514.
- SWOFFORD, D.L.; WADDELL, P.J.; HUELSENBECK, J.P.; FOSTER, P.G.; LEWIS, P.O. & ROGERS, J.S. 2001. Bias in phylogenetic estimation and its relevance to the choice between parsimony and likelihood methods. **Systematic Biology** 50, 525–539.
- SWOFFORD, D. L. 2003. PAUP\*. **Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods). Version 4**. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- VIVALLO, F. & MELO, G.A.R. 2009. Taxonomy and geographic distribution of the species of *Centris* of the *hyptidis* group (Hymenoptera: Apidae: Centridini), with description of a new species from central Brazil. **Zootaxa** 2075: 33–44.
- WERNECK, F.P. & COLLI, G.R. 2006. The lizard assemblage from Seasonally Dry Tropical Forest enclaves in the Cerrado biome, Brazil, and its association with the Pleistocenic Arc. **Journal of Biogeography** 33: 1983–1992.
- WIENS, J.J. 1998. Does adding characters with missing data increase or decrease phylogenetic accuracy? **Systematic Biology** 47: 625–640.
- WIENS, J.J. & REEDER, T.W. 1995. Combining data sets with different numbers of taxa for phylogenetic analysis. **Systematic Biology** 44: 548–558.
- WIENS, J.J. 2006. Missing data and the design of phylogenetic analysis. **Journal of Biomedical Informatics** 39: 34–42.
- WILCOX, T.P.; ZWICKL, D.J.; HEATH, T.A. & WILLIS, D. 2002. Phylogenetic relationships of the dwarf boas and a comparison of bayesian and bootstrap measures of phylogenetic support. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 25: 361–371.
- WILGENBUSCH J.C.; WARREN D.L. & SWOFFORD D.L. 2004. AWTY: A system for graphical exploration of MCMC convergence in Bayesian phylogenetic inference. Distribuído pelos autores: <http://ceb.csit.fsu.edu/awty>.
- WU, C-I. 1991. Inferences of species phylogeny in relation to segregation of ancient polymorphisms. **Genetics** 127:429-435.

- YANG, Z. 1998. On the best evolutionary rate for phylogenetic analysis. **Systematic Biology** 47: 125–133.
- YANG, Z. & RANNALA, B. 2005. Branch-length prior influences Bayesian posterior probability of phylogeny. **Systematic Biology** 54: 455–470.
- ZANELLA, F. C. V. 2002. Systematics and biogeography of the bee genus *Caenonomada* Ashmead, 1899 (Hymenoptera: Apidae: Tapinotaspidini). **Studies on Neotropical Fauna and Environment** 37: 249–261.
- ZHANG, D-X. & HEWITT, G.M. 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. **Molecular Ecology** 12: 563–84.
- ZUCKERKANDL, E. & PAULING, L. 1965. Evolutionary divergence and convergence in proteins. *In*: Bryson, V. and Vogel, H. (Eds). **Evolving Genes and Proteins**. New York: Academic Press. 97-166.
- ZWICKL, D. J. 2006. **Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion**. Ph.D. dissertation, The University of Texas at Austin. Distribuído pelo autor em: [http://www.nescent.org/informatics/download.php?software\\_id=4](http://www.nescent.org/informatics/download.php?software_id=4).

## APÊNDICES

**APÊNDICE 1:** Matriz de caracteres. Onde: COI, do caráter 1 ao 618; 16S do caráter 619 ao 1129; *wingless* do caráter 1130 ao 1472, sendo que do caráter 1276 ao 1392 corresponde a região intrônica e o restante aos éxons; e EF-1 $\alpha$  do caráter 1473 ao 2387, sendo que entre os caracteres 1986 e 2211 se encontra o íntron.

	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	5	15	25	35	45	55	65	75	
<i>C. labrata</i> [GW01]	KKTATATGAT	CTGGAATAAT	CGGAACATCA	ATAAGATTTA	TTATTCGAAT	AGAATTAAGA	ACTCCAGGAA	GATCAATTTA	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	GCWATATGAT	MCSGAATAAT	TGGAACATCA	ATAAGATTTA	TTATTCGAAT	AGAATTAAGA	ACTCCAGGAA	GATGAATTTA	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	GMKWTRWSAK	YSRSMATAWY	TGRAASATMW	WKRWGATTTA	TTWKTCSMMY	WGAAKTWKRA	ACYCMAKAAA	GATGAATTTA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	GCTATATGAT	CAGGTATAAY	TGGTACATCT	AKRAGATTTA	TTATTCGAAK	AGAATTAAGA	GCACCAGGCA	GATGAATTTA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	GCTATATGAT	CAGGTATAAT	TGGTACATCT	ATAAGATTTA	TTATTCGAAT	AGAATTAAGA	GCACCAGGCA	GATGAATTTA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	GCTRTATGAT	CAGGTATAAT	TGGTACATCT	ATAAGATTTA	TTATTCGAAT	AGAATTAAGA	GCACCAGGCA	GATGAATTTA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	GCTATATGAW	CAGGTATAAT	TGGTACATCT	ATAAGATTTA	TTATTCGAAT	AGAATTAAGA	GCACCAGGCA	GATGAATTTA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TKYWTWKKWT	YWKKTATAAT	CRGWAMRYMA	WYAWSAKWMW	TTWWTYRAWT	WKWWMATAKA	RSMSCASKYW	RATKMYWWA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GCAATATGAT	CAGGTATAAT	CGGTACATCA	ATAAGATTTA	TTATTCGAAT	AGAATTAAGA	GCACCAGGCA	GATGAATTTA	
<i>L. betinae</i> [GW07]	GYRYWAKKRW	SKRKAATRAW	CRKAAMKWTY	WKRWGATTTW	TRRKKCGGAY	AGAATTWKRA	RMTCCGGAA	ATTGGATTAG	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	GCTCTATGAT	CCGGAATAAT	AGGAACTTCA	ATAAGATTTA	TTATTCGTAT	AGAATTAAGA	GTCCCAGGAA	ATTGAATTTA	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	GCWKTATGRT	CTGGTATAAT	AGGAACTTCT	ATAAGTTTTA	TTATTCGTAT	AGAATTAAGA	GCTCCAGGTA	ATTGAATTTT	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	GCTATATGAG	CAGGAATAAT	TGGMWYWWY	RTRAGATTTA	TTATTCGAAT	AGAATTAAGW	GMTCCAGGGG	AATTGATTGG	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	85	95	105	115	125	135	145	155	
<i>C. labrata</i> [GW01]	TAATGATCAA	ATCTATAAAT	CAATGTGAAC	TGCTCATGCA	TTCCTAATAA	TCTTTTATTA	AGTTATACCA	TTCATAATTTG	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TAATGACCAA	ATTTATAAAT	CAATCGTTAC	TGCCCATGCA	TTTCTATAAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCA	TTTATAATTTG	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TWWTGACCAA	ATTTATAAAT	CAATCGTTAC	TGCCCATGCA	TTTCTATAAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCA	TTTATAATTTG	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TAATGATCAA	ATTTATAAAT	CAATGTGAAC	AGCTCATGCA	TTTTTAATAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCT	TTTATAATTTG	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TAATGATCAA	ATTTATAAAT	CAATGTGAAC	AGCTCATGCA	TTTTTAATAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCT	TTTATAATTTG	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TAATGATCAA	ATTTATAAAT	CAATGTGAAC	AGCTCATGCA	TTTTTAATAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCT	TTTATAATTTG	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	TAATGATCAA	ATTTATAAAT	CAATGTGAAC	AGCTCATGCA	TTTTTAATAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCT	TTTATAATTTG	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	YAATKAWCAM	WYTYWYAWY	CMAWKWKMM	WSCMTMWYSCM	WKWYWWATR	KWKTMTTKRK	ARWRKRAYM	WTMYARTWR	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TARWGATCAA	ATTTATAAAT	CAATGTGAAC	AGCTCATGCA	TTTTTAATAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCT	TTTATAATTTG	
<i>L. betinae</i> [GW07]	AAATGATCAA	ATTTATAAAT	CAATGTGAAC	AGCTCATGCA	TTTTTAATAA	TTTTTTTAT	GGTTATACCA	TTTATAATTTG	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TAATGATCAA	ATTTATAAAT	CAATGTGAAC	AGCCCATGCA	TTTTTAATAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCA	TTTATAATTTG	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TAATGATCAA	GTTTATAAAT	CTATCGTAAC	AGCTCATGCA	TTTTTAATAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCT	TTCATAATTTG	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	TAATGATCAA	ATTTATAAAT	CTATGTGAMC	AGCTCATGCT	TTTTTAATAA	TTTTTTTAT	AGTTATACCT	TTTATAATTTG	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	165	175	185	195	205	215	225	235	
<i>C. labrata</i> [GW01]	GAGGATTTGG	AAATTGATTA	ATTCCAATAA	TACTAGGAGC	CCYTGATATA	GCTTTCCAC	GAATAAACA	TATTAGATTT	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	GAGGATTTGG	AAATTGATTA	ATTCCTATAA	TATTAGGAGC	CCCTGATATA	GCTTTCCAC	GAATAAATA	TATTAGATTT	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	GAGGATTTGG	AAATTGATTA	ATTCCTATAA	TATTAGGAGC	CCCTGATATA	GCTTTCCAC	GAATAAATA	TATTAGATTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	GAGGATTTGG	AAATTGATTA	ATTCCTATAA	TACTAGGAGC	TCCTGATATA	GCTTTCCCTC	GAATAAATA	TATCAGATTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	GAGGATTTGG	AAATTGATTA	ATTCCTATAA	TACTAGGAGC	TCCTGATATA	GCTTTCCCTC	GAATAAATA	TATCAGATTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	GAGGATTTGG	AAATTGATTA	ATTCCTATAA	TACTAGGAGC	TCCTGATATA	GCTTTCCCTC	GAATAAATA	TATCAGATTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	GAGGATTTGG	AAATTGATTA	ATTCCTATAA	TACTAGGAGC	TCCTGATATA	GCTTTCCCTC	GAATAAATA	TATCAGATTT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	KAKKAKKMS	WMMTKRRWYA	MYTYMMTMR	WATKAGGAGC	TCCTGATATA	GCCTTCCCTC	GAATAAATA	TATCAGATTT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GAGGATTCGG	AAATTGATTA	ATTCCAATAA	TATTAGGAGC	TCCTGATATA	GCCTTCCCTC	GAATAAATA	TATTAGATTT	
<i>L. betinae</i> [GW07]	GTGGATTTGG	AAATTGATTA	ATTCCAATAA	TATTAGGAGC	TCCTGATATA	GCTTTCCCTC	GAATAAATA	TATTAGATTT	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	GAGGATTTGG	AAATTGATTA	ATTCCTATAA	TACTTGGAGC	TCCTGATATA	GCTTTCCCTC	GAATAAATA	TATTAGATTT	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	GAGGATTTGG	TAAATTGATTA	ATTCCTATAA	TATTAGGAAC	TCCTGATATA	GCTTTCCCTC	GAATAAATA	TATCAGATTT	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	GTGGATTTGG	TAAATTGATTA	GTTCCTATAA	TATTAGGGGC	TCCTGATATA	GCTTTCCAC	GAATAAATA	TATTAGATTT	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	245	255	265	275	285	295	305	315	
<i>C. labrata</i> [GW01]	TGATTACTAC	CAGCTTCATT	AATTTTACTA	TAAATAGAA	ACATATTTAA	TTTAACTCCA	GGAACAGGAT	GAACAGTTTA	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TGATTACTAC	CAGCTTCATT	AATTTTACTT	TAAACAAGAA	ATATATTTAA	TTTAACTCCA	GGTACAGGAT	GAACAGTATA	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TGATTACTAC	CAGCTTCATT	AATTTTACTT	TAAACAAGAA	ATATATTTAA	TTTAACTCCA	GGTACAGGAT	GAACAGTATA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TGATTACTCC	CAGCTTCATT	AATTTTACTA	TAAACAAGAA	ACTTATTTAA	CCTAACCCCA	GGTACAGGTT	GAACAGTTTA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TRATTACTCC	CAGCTTCATT	AATTTTACTA	TAAACAAGAA	ACTTATTTAA	CCTAACCCCA	GGTACAGGTT	GAACAGTTTA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TGATTACTCC	CAGCTTCATT	AATTTTACTA	TAAACAAGAA	ACTTATTTAA	CCTAACCCCA	GGTACAGGTT	GAACAGTTTA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	TGATTACTCC	CAGCTTCATT	AATTTTACTA	TAAACAAGAA	ACTTATTTAA	CCTAACCCCA	GGTACAGGTT	GAACAGTTTA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TGACTACTAC	CAGCTTCCCT	AATTTTACTT	TAAACAAGAA	ATTTATTTAA	CCTAACCCCA	GGCACAGGTT	GAACAGTTTA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TGACTACTAC	CAGCTTCCCT	AATTTTACTT	TAAACAAGAA	ATTTATTTAA	CCTAACCCCA	GGCACAGGTT	GAACAGTTTA	
<i>L. betinae</i> [GW07]	TGATTATTAC	CCATTTCCTT	AATTTTACTA	TAAACAAGAA	ATATATTTGA	TTTAACTCCA	GGTACAGGAT	GAACAGTATA	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TGATTATTAC	CAGTTTCCTT	AATTTTACTA	TAAACAAGAA	ATTTATTTAA	CCTAACCCCA	GGCACAGGTT	GAACAGTTTA	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TGATTACTCC	CAACTTCTTT	AATTTTACTA	TTTAAAGTA	ATATATTTAA	TCTAACCCCA	GGAACAGGAT	GAACAGTTTA	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	TGATTATTGG	CAGGATCTTT	ATTTATTTAA	TTTAAAGTA	ATATATTTAA	GTTAACTCCT	GGTACAGGTT	GAACAGTTTA	

	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	325	335	345	355	365	375	385	395	
<i>C. labrata</i> [GW01]	TCCTCCTTTA	TCTTCTTATT	TATTTCCAGC	ATCACCATCT	ACTGATATAT	TAATCTTCTC	TTTACATATT	TCAGGAGCAT	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TCCTCCTTTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	ATCTCCATCC	ACTGATATAT	TAATTTTTTC	TTTACATATT	TCAGGAGCAT	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TCCTCCTTTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	ATCTCCATCC	ACTGATATAT	TAATTTTTTC	TTTACATATT	TCAGGAGCAT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	CCCGCCATTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	TTCCCCCTCT	ACTGATATAT	TAATTTTTTC	TTTACATATT	TCAGGAGCAT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	CCCACCWTTA	TCTTCTTATT	KATYCCMTCG	TTCCCCCTYX	MMKGAYAYWT	WMMWKTYWYC	WYWYRYMYTY	YMKRTRYAW	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	CCCACCATTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	TTCCCCCTCT	ACTGATATAT	TAATTTTTTC	TTTACATATT	TCAGGAGCAT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	CCCACCATTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	TTCCCCCTCT	ACTGATATAT	TAATTTTTTC	TTTACATATT	TCAGGAGCAT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TCCTCCGCTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	TTCCCCCTCT	ACTGATATAT	TAATTTTTTC	TTTACATATT	TCAGGAGCAT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TCCTCCGCTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	TTCCCCCTCT	ACTGATATAT	TAATTTTTTC	TTTACATATT	TCAGGAGCAT	
<i>L. betinae</i> [GW07]	CCCACCATTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	ATCTCCATCC	GTTGATTTAG	TAATTTTTTC	TTTACATATT	TCTGGAATAT	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	CCCCCTCCTA	TCATTATATA	TATTTCCATG	AACCTCCATCA	GTTGATTTAG	TAATTTTTTC	TTTACATATT	TCAGGAATTT	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	CCCTCCCTTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	TTCCCCCTCT	GTAGATTTTA	TAATTTTTTC	TCTTCTTATT	TCTGGAGTAT	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	TCCTCCTTTA	TCTTCTTATT	TATTTCCATG	TAGACCCTCT	GTTGATTTAT	TAATTTTTTC	ATTACATATT	TCAGGAGCAT	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	405	415	425	435	445	455	465	475	
<i>C. labrata</i> [GW01]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	MNKRCRWTAT	AGKNSMAWYK	MMTTTKAMWA	WTACNWKWRK	ARKRWKAMRR	RMKKRRTSWA	RYMRYTYRWS	KSMMMKYMY	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	CCTCCAYTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	CCTCCAYTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>L. betinae</i> [GW07]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	CATCAATTAT	AGGAGCAATC	AATTTTATAA	TTACAATTAT	AATAATAAAA	AATGATCAAA	TAAATTATGA	TCAAATTTCA	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	485	495	505	515	525	535	545	555	
<i>C. labrata</i> [GW01]	TTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATTACTGCA	ATTTTACTTC	TAATTTTCACT	ACCAGTATTA	GCCGAGCCCA	TTACAATACT	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	CTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATCACTGCA	ATCTTACTTA	TGTATCATAT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TCACAATACT	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	CTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATCACTGCA	ATCTTACTTA	TGTATCATAT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TCACAATACT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATTACCCTG	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	WMMTWVWCY	GMTMRKTWV	KMYMMMGY	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATTACCCTG	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	TTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATTACCCTG	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TTWTTCCTT	GATMAGTTTT	TWTATCCGCT	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATTACCCTG	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
<i>L. betinae</i> [GW07]	TTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATTACCCTG	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATTACCCTG	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATTACCCTG	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	TTATTTTCTT	GATCAGTTTT	TATTACCCTG	ATTTTACTTC	TATTTTCTTT	ACCAGTATTA	GCTGGAGCAA	TTACAATACT	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	565	575	585	595	605	615	625	635	
<i>C. labrata</i> [GW01]	ATTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCATC	TGCCCAATGA	TTTATFNAGA	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	ATTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGWTCMCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	WKKYVWSAW	MKMAVWVWKA	WVAYKYMTT	YTTKRTCCCA	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTCTAAAAAA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TTTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGWTCMCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TTTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TTTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	TTTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TTTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TTTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>L. betinae</i> [GW07]	WKKYVWSAW	CGTAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TTTATTTGAT	CGTAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	ATTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	WTTATTTGAT	CGAAATTTTA	ATACCTCATT	TTTTGACCCCT	ATAGGAGGAG	GAGATCCCTC	TGCCCAATGA	TTTCTAAAAA	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	645	655	665	675	685	695	705	715	
<i>C. labrata</i> [GW01]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. labrata</i> [GW05]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	WTTAAATGGC	TGCAGWATRC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNAWVWAGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAC	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	NTWAAWVWGC	TGCAGTATAA	TAACTGTGAC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	ATTTAATGGC	TGCAGTATAA	CTGACTGTGC	AAAGGTAGCA	TAATCAATTG	TCTTTAATT	GAAGGCTGGA	ATGAAAGAAT	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	725	735	745	755	765	775	785	795	
<i>C. labrata</i> [GW01]	TAATGAGATA	TAAACTGTCT	CATATATATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. labrata</i> [GW05]	TAATGAGATA	TAAACTGTCT	CATATATATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TAATGAGATA	TAAACTGTCT	CATATATATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TAATGAGATA	TAAACTGTCT	CATATATATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TRATGAGATA	TAAACTGTCT	CGATGTGATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TAATGAGATA	TAAACTGTCT	CGATGTGATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TAATGAGATA	TAAACTGTCT	CGATGTGATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	TAATGAGATA	TAAACTGTCT	CGATGTGATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TAATGAGATA	TAAACTGTCT	CATATATATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TAATGAGATA	TAAACTGTCT	CATATATATT	AAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>L. betinae</i> [GW07]	TAATGAAATA	TAACTGTCT	CAATGTGATA	TAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TAATGAAATA	TAACTGTCT	CAATGTGATA	TAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TAATGAAATA	TAACTGTCT	CAATGTGATA	TAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	TAATGAAATA	TAACTGTCT	CAATGTGATA	TAATGAAATT	AAAATTTTAG	TAAAATGCT	TAAATTTTAT	TATGGGACGA	

	805	815	825	835	845	855	865	875
<i>C. labrata</i> [GW01]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTNATGAT	TATTTTATG	TATAAATTGA	TTTTGATATT	ATNNAGAAGT	AATNTTAAAN
<i>C. labrata</i> [GW05]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTNATGAT	TATTTCTATA	TATAAATTGA	TTTTGATATT	ATNNAGAAGT	AATNTTAAAN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTNATGAT	TATTTTGTGA	TATAGATAGA	TTTTTGATANT	ATNNATAAAG	TATTTTAAAN
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTNATGAT	TATTTTGTGA	TATAGATAGA	TTTTTGATANT	ATNNATAAAG	TATTTTAAAN
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTNATAAT	TATTTAAATA	TATATANAGA	TTTTGATANT	ATNNATAAAT	AATTTTAAAN
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTNATAAT	TATTTAAATA	TATATANAGA	TTTTGATANT	ATNNATAAAT	AATTTTAAAN
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTNATAAT	TATTTAAATA	TATATANAGA	TTTTGATANT	ATNNATAAAT	AATTTTAAAN
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTNATAAT	TATTTAAATA	TATATANAGA	TTTTGATAAT	ATNNATAAAT	AATTTTAAAN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTNATAAT	TATTTAAATA	TATATANAGA	TTTTGATAAT	ATNNATAAAT	AATTTTAAAN
<i>L. betinae</i> [GW07]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTGATAAT	TAATTTAAATA	TTAATANNNN	TTTTNNNNNT	ATNNNTAAT	AATTTTAAAN
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATNNNNNNN	NNNNNNNAAT	TATTAATAAA	TTTTAATTTT	ATCAATAAAT	ATTTGTTAAT
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TAAAGACCTA	TAGAATTTTA	TATTATTTAA	ATTTTCTACT	GAAATTTAAA	TTTTAATANN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNAAN
<i>C. muelleri</i> [GW10]	CAAGACCTTA	TAGAATTTTA	TATTNAAAT	TAAATAAAT	TNTATTNTGA	TTTTTTTNTT	AAANTTAAT	TAATTTTAAAN

	885	895	905	915	925	935	945	955
<i>C. labrata</i> [GW01]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTATAA	TTTTANNNTT	TATNNMTTTC	TTTAAATTTA
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTATAA	TTTTANNNTT	TATNNMTTTC	TTTAAATTTA
<i>C. bruneri</i> [GW06]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTATAA	NTTTAAATTA	AATNNMTTTC	TTTAAATTTA
<i>C. bruneri</i> [GW11]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTATAA	NTTTAAATTA	AATNNMTTTC	TTTAAATTTA
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTATAA	GTTTAAAGAT	TATNNMTTTC	TATAATTTTA
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTATAA	GTTTAAAGAT	TATNNMTTTC	TATAATTTTA
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTATAA	GTTTAAAGAT	TATNNMTTTC	TATAATTTTA
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTATAA	ATTTTAGATT	TATNNMTTTC	TATAATTTTA
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTATAA	ATTTTAGATT	TATNNMTTTC	TATAATTTTA
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTATTTAA	CNNTTTANNA	TTTTAANNNT	NATNNMTTTC	TATGATTTTA
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	AAAATTATAT	TTTATGGGGA	GGATAATTAA	ATTTAGTAAA	CNNTTTANNN	NNNNNNNTAT	TATTTATAAC	TATGATTTTA
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATTAA	ATTTAATAAA	CNNTTTANNN	NTTTAATTTT	AAATNNMTTTC	TATAATTTTA
<i>C. muelleri</i> [GW10]	NNNNNNNTAT	TTGATTGGGA	GGATAATAAA	ATTTAATAAA	CTTTTATAG	CTTTTATAAT	NNNNNNNNNC	TATAATTTTA

	965	975	985	995	1005	1015	1025	1035
<i>C. labrata</i> [GW01]	GAATNATTAN	AATAGAATTT	TTATTAATAA	ATTTTGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGAGAG
<i>C. labrata</i> [GW05]	GAATNATTAN	AATAGAATTT	TTATTAATAA	ATTTTGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGAGAG
<i>C. bruneri</i> [GW06]	GAATNATAAN	NNATGAATTT	TTATTAATAA	ATTTTGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGAGAG
<i>C. bruneri</i> [GW11]	GAATNATAAN	NNATGAATTT	TTATTAATAA	ATTTTGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGAGAG
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	GAATNATATN	NTTGAATTTT	TTATTAATAA	ATTTTGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGATAG
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	GAATNATATN	NTTGAATTTT	TTATTAATAA	ATTTTGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGATAG
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	GAATNATATN	NTTGAATTTT	TTATTAATAA	ATTTTGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGATAG
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GAATNATATN	AATAGAATTT	TTATTAATAA	ATTTTGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	YTTTGATAG
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GAATNATATN	AATAGAATTT	TTATTAATAA	ATTTTGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGATAG
<i>L. betinae</i> [GW07]	GAATNATAAN	NATTTGATTT	TTATTAATAA	TTATAAGATA	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGAGAG
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	GAATNATAAN	TAAAGATTTT	TTAATAAAGA	TTTTAATAAA	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGATAG
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	GAGTAATTTA	AATTCATCTA	ATAATATTTA	ATTTAAGAAA	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGAGAG
<i>C. muelleri</i> [GW10]	GAATNATATA	AATTCATCTT	TTAATAAATA	TTTATAGAAT	AAATTACCTT	AGGGATAACA	CGGTAATATT	CTTTGAGAG

	1045	1055	1065	1075	1085	1095	1105	1115
<i>C. labrata</i> [GW01]	TTCAATTTGA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	TTTAAAGTTG
<i>C. labrata</i> [GW05]	TTCAATTTGA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	TTTAAAGTTG
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TTCAATTTGA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	TTTAAAGTTG
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TTCAATTTGA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	TTTAAAGTTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	ATCATATTTA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	YTTAAGTTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	ATCATATTTA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	TTTAAAGTTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	ATCATATTTA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	TTTAAAGTTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GTCAATTTGA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	YTTAAGTTG
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GTCAATTTGA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	YTTAAGTTG
<i>L. betinae</i> [GW07]	ATCTAATTTA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	YTTAAGTTG
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TTCTTATTTA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	AAGTTTAAAT	ATTAAGTTG
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	ATCTTATTTA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGGAAAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	TTTAAAGTTG
<i>C. muelleri</i> [GW10]	ACCTTATTTA	TAAAGATGAT	TGCGACCTCG	ATGTTGAATT	AAGATTAATT	TTAAATGCAG	GAGTTTAAAT	ATTAAGTTG

	1125	1135	1145	1155	1165	1175	1185	1195
<i>C. labrata</i> [GW01]	TTCAACTTTC	CGGTGCCCGC	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>C. labrata</i> [GW05]	TTCAACTTTN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TTCAACTTTC	SGGKSCCYRY	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TTCAACTTTC	CGGTGCCCGC	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TTCAACTTTC	CGGTGCCCGC	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TTCAACTTTC	CGGTGCCCGC	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TTCAACTTTC	CGGTGCCCGC	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	CGGTGCCCGM	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TTCAACTTTC	CGGTGCCCGC	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GYTMAMMYCY	CRGKSCSS	RRWTKGGMAT	GGGTGGCTG	TTCCGMMRAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>L. betinae</i> [GW07]	YTCWMMYTYC	CGGAGCCCGM	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TTCAACTTTT	YGGAGCYCGC	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGATAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TTCCGACTTY	SGRWGCTCGM	GATTGGGAAT	GGGTGGCTG	TTCCGACAAC	ATCCGGTACG	GCTTCAAGTT	CTCCCGGAA
<i>C. muelleri</i> [GW10]	TTCAACTTTN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN

	1205	1215	1225	1235	1245	1255	1265	1275
<i>C. labrata</i> [GW01]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	AGGTCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	AGGTCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	AGGTCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	AGGTCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	AGGTCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	AGGTCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	AGGTCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	AGGTCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	AGGTCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>L. betinae</i> [GW07]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	TGCCCGTAA	YTCGCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	CGGCGCAAC	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TTCCGTGGACA	CGGGCGAGCG	CGGTCGCAAT	CTGCCCGAGA	AGATGAACCT	GCACAACAAC	GAGGCCGGCA	GAGCGGTAAG
<i>C. muelleri</i> [GW10]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN

	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	1285	1295	1305	1315	1325	1335	1345	1355	
<i>C. labrata</i> [GW01]	TCTCTCTCTC	TACTCCTTTN	NNNCTCTTTT	CTCGACTNNN	NNNCCGATTC	GGAGTAGCAC	GGAGAACGNN	NNNNNGAAGA	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TCTTTCTNNN	NNCTCCTTTN	NNNCTNNMNT	CTCGACTNNN	NNNCCGATCG	AGAGTAACGC	AGAGAACGNN	NNNNNGAAGA	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TCTCTCNNNN	NNCTCCTTTN	NNNCTNNMNT	CTCGACTNNN	NNNCCGATCG	AGAGTAACGC	AGAGAACGNN	NNNNNGAAGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TCTCTCNNNN	NNCTCCTTTN	NNNCTNNMNT	CTCGACTNNN	NNNCCGATCG	AGAGTAACGC	AGAGAACGNN	NNNNNGAAGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TCTCTCNNNN	NNCTCCTTTN	NNNCTNNMNT	CTCGACTNNN	NNNCCGATCG	AGAGTAACGC	AGAGAACGNN	NNNNNGAAGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TCTCTCNNNN	NNCTCCTTTN	NNNCTNNMNT	CTCGACTNNN	NNNCCGATCG	AGAGTAACGC	AGAGAACGNN	NNNNNGAAGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	TCTCTCNNNN	NNCTCCTTTN	NNNCTNNMNT	CTCGACTNNN	NNNCCGATCG	AGAGTAACGC	AGAGAACGNN	NNNNNGAAGA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TCTCTCNNNN	NNCTCCTTTN	NNNCTNNMNT	CTCGACTNNN	NNNCCGATCG	AGAGTAACGC	AGAGAACGNN	NNNNNGAAGA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TCTCTCNNNN	NNCTCCTTTN	NNNCTNNMNT	CTCGACTNNN	NNNCCGATCG	AGAGTAACGC	AGAGAACGNN	NNNNNGAAGA	
<i>L. betinae</i> [GW07]	CGTCTCTYNN	NNCCCTTGN	NNNTRNNMNT	CTGCTTTNNN	NNNCTMATT	GAAATAGGAA	GAGAAANNNN	NNNNNGAARM	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TCTCCCTTN	NNCTCCTTTG	CACCTATCT	CCCGCTAGC	TACMCGTTGA	AMCGCGGKAG	GAGAAANNNN	NNNNNGAGGA	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TTCTCTNNNN	NNCCCCCGCN	NNNCTGGAT	ACAACCCNNN	NNNCCGATCT	TGCNAAACGT	ACGAAAGGAG	GGCACGAARA	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	1365	1375	1385	1395	1405	1415	1425	1435	
<i>C. labrata</i> [GW01]	TGCACGNNNN	NNNNNNNNNN	NGTTCCGGTT	GCAGCAGCTG	TCCTCCGAGA	TGCGGCAGGA	CTGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TGCACGNNNN	NNNNNNNNNN	NGTTCCGGTT	GCAGCAGCTG	TCCTCCGAGA	TGCGGCAGGA	CTGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TGCACGNNNN	NNNNNNNNNN	NGTTCCGGTT	GCAGCAGCTG	TCCTCCGAGA	TGCGGCAGGA	CTGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TGCACGCTCG	CNNNNGTTTA	CGATTGTTTC	GCAGCAGCTG	TCGTCGGAGA	TGCGACAGGA	TGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TGCACGCTCG	CNNNNGTTTA	CGATTGTTTC	GCAGCAGCTG	TCGTCGGAGA	TGCGACAGGA	TGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TGCACGCTCG	CNNNNGTTTA	CGATTGTTTC	GCAGCAGCTG	TCGTCGGAGA	TGCGACAGGA	TGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	TGCACGCTCG	CNNNNGTTTA	CGATTGTTTC	GCAGCAGCTG	TCGTCGGAGA	TGCGACAGGA	TGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TGCACGCTCG	CNNNNGTTTA	CGATTGTTTC	GCAGCAGCTG	TCGTCGGAGA	TGCGACAGGA	TGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TGCACGCTCG	CNNNNGTTTA	CGATTGTTTC	GCAGCAGCTG	TCGTCGGAGA	TGCGACAGGA	TGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>L. betinae</i> [GW07]	AGMASSATAN	NNNNNNMNTT	CATCTGTTNN	ACAGCAGCTC	TCCTCAGAGA	TGCSAAGTGC	STGCAAGTGC	CMCGGATGT	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	AGCACGCTCG	ANNNNMNTG	TTCTCGTGT	ACAGCAGCTG	TCTTCGGARA	TGCGACAGGA	CTGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TGCACGCTGG	TGTGTGTTG	CGCTCTGTT	ACAGCAGCTG	TCGTCGGARA	TGCGACAGGA	TGCAAGTGC	CACGGCATGT	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	1445	1455	1465	1475	1485	1495	1505	1515	
<i>C. labrata</i> [GW01]	CCGGCTCCTG	CACGGTGAAG	ACCTGCTGGA	TGGAACCTAA	TAAATACTAT	GTTACCATCA	TTGATGCCCC	TGGCCACAGA	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	CCGGATCCTG	CACGGTGAAG	ACCTGCWGGG	TGGAACCTAA	CAAATACTAC	GTTACCATCA	TTGATGCCCC	TGGCCACAGA	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	CCGGCTCCTG	CACGGTGAAG	ACCTGCTGGA	TGNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	CCGGCTCCTG	CACGGTGAAG	ACCTGCTGGA	TGGAACCTAA	CAAATACTAT	GTTACCATCA	TTGATGCCCC	TGGCCACAGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	CCGGCTCCTG	CACGGTGAAG	ACCTGCTGGA	TGGAACCTAA	CAAATACTAT	GTTACCATCA	TTGATGCCCC	TGGCCACAGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	CCGGCTCCTG	CACGGTGAAG	ACCTGCTGGA	TGGAACCTAA	CAAATACTAT	GTTACCATCA	TTGATGCCCC	TGGCCACAGA	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	CCGGCTCCTG	CACGGTGAAG	ACCTGCTGGA	TGGAACCTAA	CAAATACTAT	GTTACCATCA	TTGATGCCCC	TGGCCACAGA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	CCGGCTCCTG	CACGGTGAAG	ACCTGCTGGA	TGGAACCTAA	CAAATACTAT	GTTACCATCA	TTGATGCCCC	TGGCCACAGA	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	CCGGCTCCTG	CACGGTGAAG	ACCTGCTGGA	TGGAACCTAA	CAAATACTAT	GTTACCATCA	TTGATGCCCC	TGGCCACAGA	
<i>L. betinae</i> [GW07]	CCGGCTCCTG	CRCKSTGAAG	ACWCSMTRGA	TGNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	CCGGATCCTG	CACCGTGAAG	ACCTGCTGGA	TGNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	CCGGCTCCTG	CACCGTGAAR	ACCTGCTGGA	TGGAACCTGC	CAAATACTAC	GTTACCATCA	TTGATGCCCC	TGGCCACAGA	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	1525	1535	1545	1555	1565	1575	1585	1595	
<i>C. labrata</i> [GW01]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>L. betinae</i> [GW07]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	GATTTTATCA	AGAACATGAT	TACTGGTACC	TCCCAGGCCG	ACTGCGCTGT	GTTGATCGTT	GCTGCAGGTA	CGGGAGAGTT	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	1605	1615	1625	1635	1645	1655	1665	1675	
<i>C. labrata</i> [GW01]	CGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	CGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	CGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	CGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	CGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	CGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	CGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	CGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	CGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>L. betinae</i> [GW07]	TGAGGCCCGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	CGAGGCCCGT	ATTTCAAAGA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	TGAAGCTGGT	ATCTCCAAA	ACGGACAAC	CCGTGAGCAC	GCTCTGCTCG	CTTTTACCCT	TGGTGTAAAG	CAGTTGATCG	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	1685	1695	1705	1715	1725	1735	1745	1755	
<i>C. labrata</i> [GW01]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>L. betinae</i> [GW07]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	TTGGTGTGAA	CAAAATGGAC	TCCACTGAGC	CACCATACTC	TGAAACTCGT	TTGAGGAAA	TCAAGAAA	AGTATCATCT	



	1765	1775	1785	1795	1805	1815	1825	1835
<i>C. labrata</i> [GW01]	TATATTAAGA	AGATCGGTTA	CAACCCCTGCA	GCTGTTGCAT	TCGTGCCAAT	TTCTGGCTGG	CACGGAGATA	ACATGTTGGA
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	TATATTAAGA	AGATCGGTTA	CAACCCCTGCG	GCTGTTGCCT	TCGTGCCAAT	TTCTGGCTGG	CACGGAGATA	ACATGTTGGA
<i>C. bruneri</i> [GW11]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	TATATTAAGA	AGATCGGTTA	CAACCCCTGCG	GCTGTTGCAT	TCGTGCCAAT	TTCCGGCTGG	CACGGAGATA	ACATGTTGGA
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	TATATTAAGA	AGATCGGTTA	TAACCCCTGCG	GCTGTTGCAT	TCGTGCCAAT	TTCCGGCTGG	CACGGAGATA	ACATGTTGGA
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	TATATTAAGA	AGATCGGTTA	CAACCCCTGCG	GCTGTTGCAT	TCGTGCCAAT	TTCCGGCTGG	CACGGAGATA	ACATGTTGGA
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	TATATTAAGA	AGATCGGTTA	YAACCCCTGCG	GCTGTTGCAT	TCGTGCCAAT	TTCCGGCTGG	CACGGAGATA	ACATGTTGGA
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	TATATTAAGA	AGATCGGTTA	CAACCCCTGCG	GCTGTTGCTT	TCGTGCCAAT	TTCTGGCTGG	CACGGAGATA	ACATGTTGGA
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	TATATTAAGA	AGATCGGTTA	CAACCCCTGCT	GCTGTTGCAT	TCGTGCCAAT	TTCTGGCTGG	CACGGAGATA	ACATGTTGGA
<i>C. muelleri</i> [GW10]	TACATTAAGA	AGATCGGTTA	CAACCCCTGCT	GCTGTTGCTT	TCGTGCCAAT	TTCTGGCTGG	CACGGAGATA	ACATGTTGGA

	1845	1855	1865	1875	1885	1895	1905	1915
<i>C. labrata</i> [GW01]	GGTCTCTTCC	AAAATGCCCT	GGTTC AAGGG	ATGGGTTGTT	GAGCGTAAAG	AGGGCAA AAC	TGAAGGAAA	TGCCTTATG
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	GGTCTCTTCC	AAAATGCCCT	GGTTC AAGGG	ATGGGTTGTT	GAGCGTAAAG	AGGGCAA AAC	TGAAGGAAA	TGCCTTATG
<i>C. bruneri</i> [GW11]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	GGTCTCTTCC	AAAATGCCCT	GGTTC AAGGG	ATGGGTTGTT	GAGCGTAAAG	AGGGCAA AAC	TGAAGGAAA	TGCCTTATG
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	GGTCTCTTCC	AAAATGCCCT	GGTTC AAGGG	ATGGGTTGTT	GAGCGTAAAG	AGGGCAA AAC	TGAAGGAAA	TGCCTTATG
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	GGTCTCTTCC	AAAATGCCCT	GGTTC AAGGG	ATGGGTTGTT	GAGCGTAAAG	AGGGCAA AAC	TGAAGGAAA	TGCCTTATG
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	GGTCTCTTCC	AAAATGCCCT	GGTTC AAGGG	ATGGGTTGTT	GAGCGTAAAG	AGGGCAA AAC	TGAAGGAAA	TGCCTTATG
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	GGTCTCTTCC	AAAATGCCCT	GGTTC AAGGG	ATGGGTTGTT	GAGCGTAAAG	AGGGCAA AAC	TGAAGGAAA	TGCCTTATG
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	GATCTCTTCC	AAAATGCCCT	GGTTC AAGGG	ATGGGTTGTT	GAGCGTAAAG	AGGGCAA AAC	TGAAGGAAA	TGCCTTATG
<i>C. muelleri</i> [GW10]	GGTCTCTTCC	AAAATGCCCT	GGTTC AAGGG	ATGGGTTGTT	GAGCGTAAAG	AGGGCAA AAC	TGAAGGAAA	TGCCTTATG

	1925	1935	1945	1955	1965	1975	1985	1995
<i>C. labrata</i> [GW01]	AAGCTCTCGA	TGCCATTCTT	CCACCTACCA	GACCTACAGA	CAAGGCTCTT	CGTCTTCCTC	TCCAGGTACA	TATGCCTCTG
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	AAGCTCTCGA	TGCCATTCTT	CCACCTACCA	GACCTACAGA	CAAGGCTCTT	CGTCTTCCTC	TCCAGGTACA	TATGCCTCTG
<i>C. bruneri</i> [GW11]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	AAGCTCTCGA	TGCCATTCTT	CCACCTACCA	GACCTACAGA	CAAGGCTCTT	CGTCTTCCTC	TCCAGGTACA	TATGCCTCTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	AAGCTCTCGA	TGCCATTCTT	CCACCTACCA	GACCTACAGA	CAAGGCTCTT	CGTCTTCCTC	TCCAGGTACA	TATGCCTCTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	AAGCTCTCGA	TGCCATTCTT	CCACCTACCA	GACCTACAGA	CAAGGCTCTT	CGTCTTCCTC	TCCAGGTACA	TATGCCTCTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	AAGCTCTCGA	TGCCATTCTT	CCACCTACCA	GACCTACAGA	CAAGGCTCTT	CGTCTTCCTC	TCCAGGTACA	TATGCCTCTG
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	AAGCTCTTGA	TGCCATTCTT	CCACCTACCA	GACCTACAGA	CAAGGCTCTT	CGTCTTCCTC	TCCAGGTACA	TATGCCTCTG
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	AAGCTCTCGA	TGCCATTCTT	CCACCTACCA	GACCTACAGA	CAAGGCTCTT	CGTCTTCCTC	TCCAGGTACA	TATGCCTCTG
<i>C. muelleri</i> [GW10]	AAGCTCTCGA	TGCCATTCTT	CCACCTACCA	GACCTACAGA	CAAGGCTCTT	CGTCTTCCTC	TCCAGGTACA	TATGCCTCTG

	2005	2015	2025	2035	2045	2055	2065	2075
<i>C. labrata</i> [GW01]	NATGAGA AACT	CTTAGTA AAT	GAACCTC NNA	CTTTG C ATG	TCTTAA TGA	TGATAA C AT	TTTCG C CAT	TCCGG G TTC
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	NATGAGA AACT	CTTAGTA AAT	GAACCTC NNA	CTTTG C ATG	TCTTAA TGA	TGATAA C AT	TTTCG C CAT	TCCGG G TTC
<i>C. bruneri</i> [GW11]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	NATGAGA AACT	CTTAGTA AAT	GAACCTC NNA	CTTTG C ATG	TCTTAA TGA	TGATAA C AT	TTTCG C CAT	TCCGG G TTC
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	NATGAGA AACT	CTTAGTA AAT	GAACCTC NNA	CTTTG C ATG	TCTTAA TGA	TGATAA C AT	TTTCG C CAT	TCCGG G TTC
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	NATGAGA AACT	CTTAGTA AAT	GAACCTC NNA	CTTTG C ATG	TCTTAA TGA	TGATAA C AT	TTTCG C CAT	TCCGG G TTC
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NATGAGA AACT	CTTAGTA AAT	GAACCTC NNA	CTTTG C ATG	TCTTAA TGA	TGATAA C AT	TTTCG C CAT	TCCGG G TTC
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	NATCAA AACT	AATACCA AT	TATTTTC NTA	CTTTC ATATG	TCTTTC ATGA	TGATAA C AT	TTTCG C CAT	TCCGG G TTC
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	AATACAA AACT	TTCAGTA AACT	AGTTTTT NNN	CTCTTC GCCT	CCTC ATGA	TGATAA C AT	TTTAGC TAT	TCCGG G TTC
<i>C. muelleri</i> [GW10]	NNNNNNNNNN	TCCGATA AACT	AATTTTT AT	TCTTTC GCTG	CCTTCA TGA	TGATAA C AT	TTTAGC TAT	TCCGG G TTC

	2085	2095	2105	2115	2125	2135	2145	2155
<i>C. labrata</i> [GW01]	CACCGGAGGA	TTTTATATAA	TCTGGTGATG	GTTAGAGACG	TCTGATACTT	AAATAAATTT	TCCACAA AAT	TGCTTTTAT
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	CACCGGAGGA	TTTTATATAA	TCTGGTGATG	GTTAGAGACG	TCTGATACTT	AAATAAATTT	TCCACAA AAT	TGCTTTTAT
<i>C. bruneri</i> [GW11]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	CACCGGAGGA	TTTTATATAA	TCTGGTGATG	GTTAGAGACG	TCTGATACTT	AAATAAATTT	TCCACAA AAT	TGCTTTTAT
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	CACCGGAGGA	TTTTATATAA	TCTGGTGATG	GTTAGAGACG	TCTGATACTT	AAATAAATTT	TCCACAA AAT	TGCTTTTAT
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	CACCGGAGGA	TTTTATATAA	TCTGGTGATG	GTTAGAGACG	TCTGATACTT	AAATAAATTT	TCCACAA AAT	TGCTTTTAT
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	CACCGGAGGA	TTTTATATAA	TCTGGTGATG	GTTAGAGACG	TCTGATACTT	AAATAAATTT	TCCACAA AAT	TGCTTTTAT
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	CACCGGAGGA	TNTTGTATAA	TCCGGTGATG	GTTAGAGACG	TCTGATTTGT	AAATAAATTT	CTTTAGA AAT	TGCTTTTAT
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	CACCGGAGGA	TCCTNNATGA	TCTGGTGATG	GTTAGAGACG	TCTGATNCAAT	AAATAAATTT	TGTGANA AAT	TGCTTTTAT
<i>C. muelleri</i> [GW10]	CACCGGAGGA	TTTTGCATAA	TCTGGTGATG	GTTAGAGACG	TCTGATTCGN	AAATAAATTT	TGTAAGA AAT	TGCTTTTAT

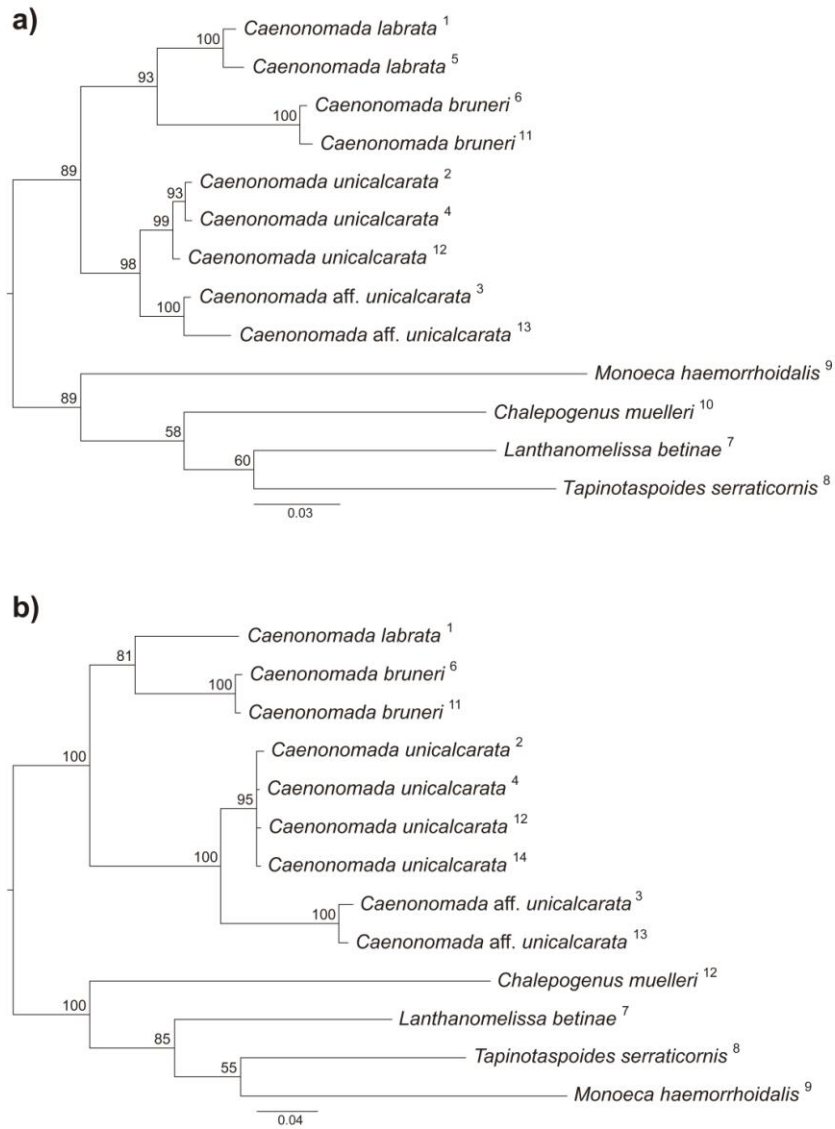
  

	2165	2175	2185	2195	2205	2215	2225	2235
<i>C. labrata</i> [GW01]	ATAANNNNAG	AACCTNNNAAT	AATAAATANGG	ATCGATTAAT	TATGATTACA	GGATGCTCTAC	AAAATGGTG	GTATTGGAAC
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	ATAANNNNAG	AACCTNNNAAT	AATAAATANGG	ATCGATTAAT	TATGATTACA	GGATGCTCTAC	AAAATGGTG	GTATTGGAAC
<i>C. bruneri</i> [GW11]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	ATAANNNNAG	AACCTNNNAAT	AATAAATANGG	ATCGATTAAT	TATGATTACA	GGATGCTCTAC	AAAATGGTG	GTATTGGAAC
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	ATAANNNNAG	AACCTNNNAAT	AATAAATANGG	ATCGATTAAT	TATGATTACA	GGATGCTCTAC	AAAATGGTG	GTATTGGAAC
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	ATAANNNNAG	AACCTNNNAAT	AATAAATANGG	ATCGATTAAT	TATGATTACA	GGATGCTCTAC	AAAATGGTG	GTATTGGAAC
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	ATAANNNNAG	AACCTNNNAAT	AATAAATANGG	ATCGATTAAT	TATGATTACA	GGATGCTCTAC	AAAATGGTG	GTATTGGAAC
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	ATGANNNNCA	AACANNNACT	AACAACATGG	TTTGATTGGA	TATGATTACA	GGATGCTCTAC	AAAATGGTG	GTATTGGAAC
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	GCAGAAGTAG	AATGTA AACT	AATGAGACGG	GTTGGTATATG	TGTGATTGCA	GGATGCTCTAC	AAAATGGTG	GTATTGGAAC
<i>C. muelleri</i> [GW10]	ATGANNNNAG	AACGNNACT	AATAATTGGT	ATNNNTCGAA	TATGATTACA	GGATGCTCTAC	AAAATGGTG	GTATTGGAAC

	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	2245	2255	2265	2275	2285	2295	2305	2315
<i>C. labrata</i> [GW01]	AGTACCAGTC	GGTCGTGTCG	AAACTGGTGT	GTTGAAGCCG	GGTATGGTTG	TCACATTGCG	TCCAGCTGGT	CTGACCACTG
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. bruneri</i> [GW06]	AGTACCAGTC	GGTCGTGTCG	AAACTGGTGT	GTTGAAGCCG	GGTATGGTTG	TCACATTGCG	TCCAGCTGGT	CTGACCACTG
<i>C. bruneri</i> [GW11]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	AGTACCAGTC	GGTCGTGTCG	AAACTGGTGT	GTTGAAGCCG	GGTATGGTTG	TCACATTGCG	TCCAGCTGGT	CTGACCACTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	AGTACCAGTC	GGTCGTGTCG	AAACTGGTGT	GTTGAAGCCG	GGTATGGTTG	TCACATTGCG	TCCAGCTGGT	CTGACCACTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	AGTACCAGTC	GGTCGTGTCG	AAACTGGTGT	GTTGAAGCCG	GGTATGGTTG	TCACATTGCG	TCCAGCTGGT	CTGACCACTG
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	AGTACCAGTC	GGTCGTGTCG	AAACTGGTGT	GTTGAAGCCG	GGTATGGTTG	TCACATTGCG	TCCAGCTGGT	CTGACCACTG
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	AGTACCAGTC	GGTCGTGTCG	AAACTGGTGT	GTTGAAGCCG	GGTATGGTTG	TCACATTGCG	TCCAGCTGGT	CTGACCACTG
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	AGTACCAGTC	GGTCGTGTCG	AAACTGGTGT	GTTGAAGCCG	GGTATGGTTG	TCACATTGCG	TCCAGCTGGT	CTGACCACTG
<i>C. muelleri</i> [GW10]	AGTACCAGTC	GGTCGTGTTG	AAACTGGTGT	GTTGAAGCCT	GGTATGGTTG	TGACATTCGC	TCCAGCTGGT	CTGACCACTG

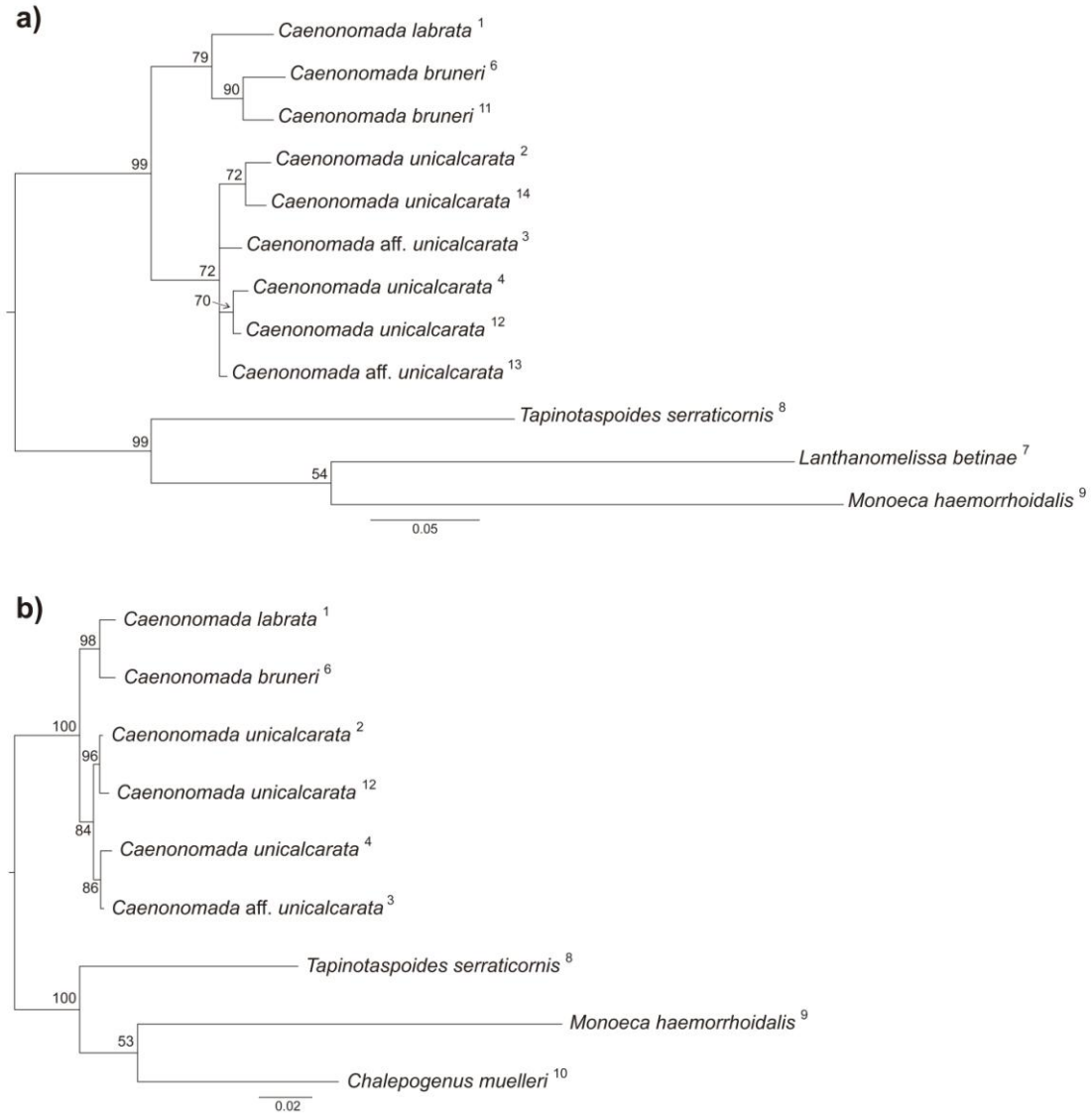
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	2325	2335	2345	2355	2365	2375	2385	
<i>C. labrata</i> [GW01]	AAGTCAAGTC	CGTCGAAATG	CACCACGAAG	CTTTGCAAGA	GGCTGTCCCT	GGTGACAACG	TTGGTTT	
<i>C. labrata</i> [GW05]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. bruneri</i> [GW06]	AAGTCAAGTC	CGTCGAAATG	CACCACGAAG	CTTTGCAAGA	GGCTGTCCCT	GGTGACAACG	TTGGTTT	
<i>C. bruneri</i> [GW11]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. unicalcarata</i> [GW02]	AAGTCAAGTC	CGTCGAAATG	CACCACGAAG	CTTTGCAAGA	GGCTGTCCCT	GGTGACAACG	TTGGTTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW04]	AAGTCAAGTC	CGTCGAAATG	CACCACGAAG	CTTTGCAAGA	GGCTGTCCCT	GGTGACAACG	TTGGTTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW12]	AAGTCAAGTC	CGTCGAAATG	CACCACGAAG	CTTTGCAAGA	GGCTGTCCCT	GGTGACAACG	TTGGTTT	
<i>C. unicalcarata</i> [GW14]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	AAGTCAAGTC	CGTCGAAATG	CACCACGAAG	CTTTGCAAGA	GGCTGTCCCT	GGTGACAACG	TTGGTTT	
<i>C. aff. unicalcarata</i> [GW03]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>L. betinae</i> [GW07]	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	
<i>T. serraticornis</i> [GW08]	AAGTCAAGTC	CGTCGAAATG	CACCACGAAG	CTTTGCAAGA	GGCTGTCCCT	GGTGACAACG	TTGGTTT	
<i>M. haemorrhoidalis</i> [GW09]	AAGTCAAGTC	CGTTGAAATG	CACCACGAAG	CCTTGCAAGA	GGCTGTCCCT	GGTGACAATG	TTGGCTT	
<i>C. muelleri</i> [GW10]	AAGTCAAGTC	CGTCGAAATG	CACCACGAAG	CYTTGCAAGA	GGCTGTCCCT	GGTGACAMSK	TTGGSTT	

## APÊNDICE 2



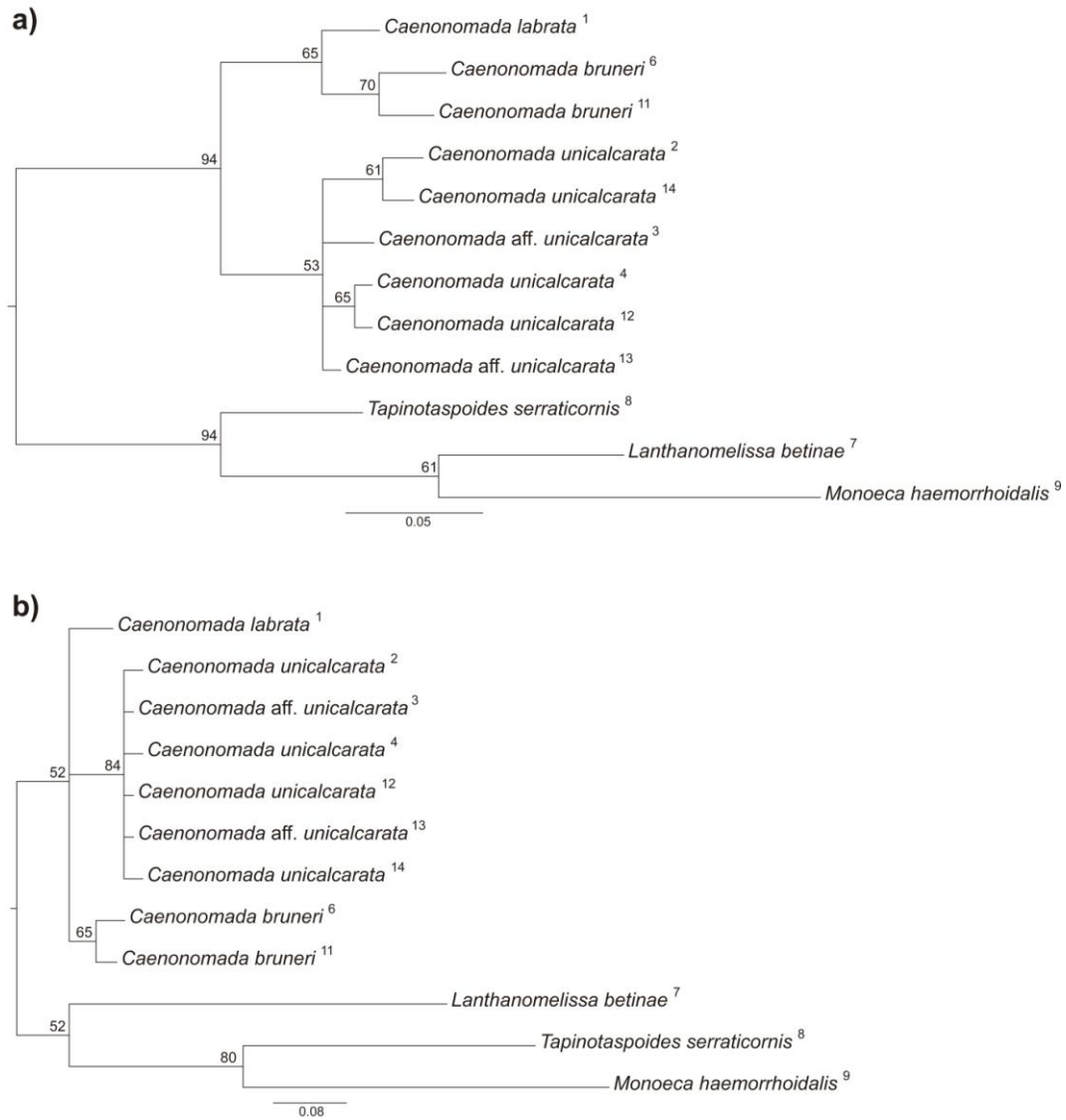
**FIGURA 1.** Filogramas resultantes da análise de inferência Bayesiana para os genes mitocondriais amostrados separadamente (a, b) em que: a) 16S rRNA, 511pb, modelo=GTR+ $\Gamma$ ; b) COI, 618pb, modelo=GTR+ $\Gamma$ . O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à probabilidade posterior. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

## APÊNDICE 2 (continuação)



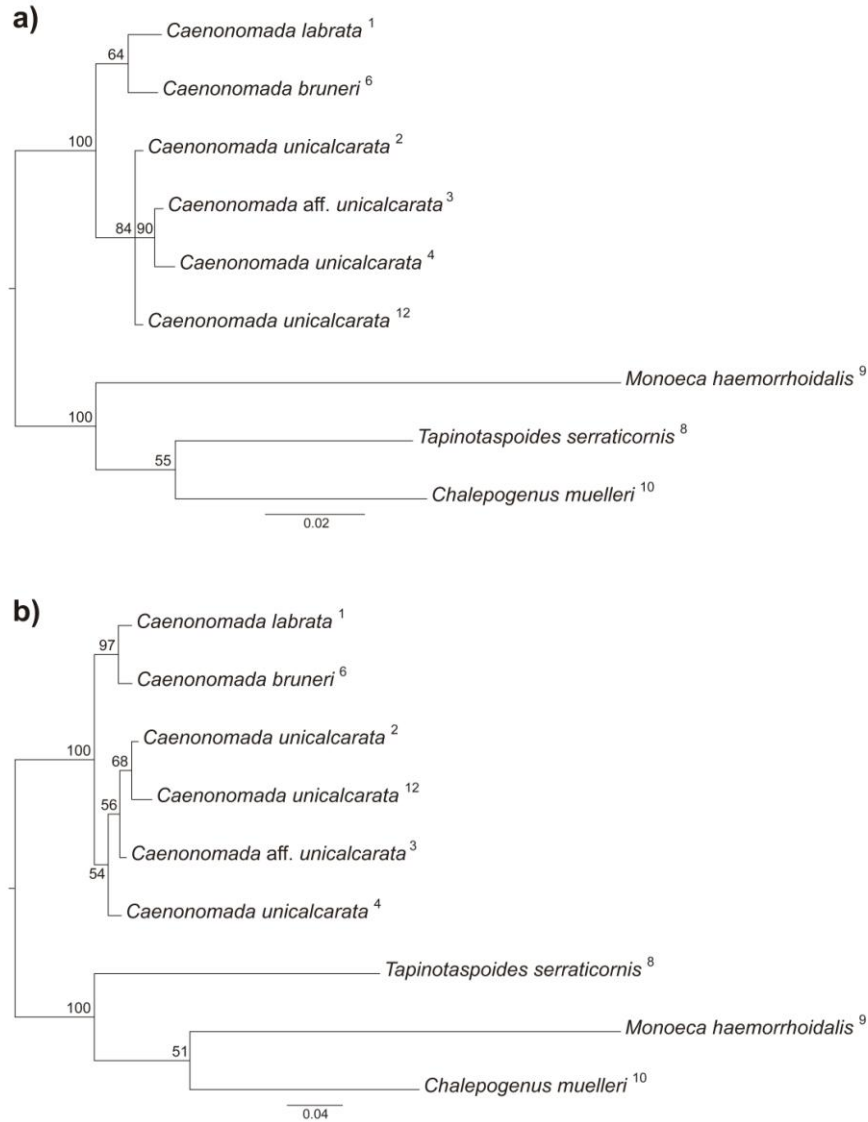
**FIGURA 2.** Filogramas resultantes da análise de inferência Bayesiana para os genes nucleares amostrados separadamente (a, b) em que: a) *wingless*, 343pb, modelo éxons=HKY+I, modelo íntron=K80+Γ; b) EF-1α, 915pb, modelo éxons=K80+Γ, modelo íntron=HKY+Γ. O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à probabilidade posterior. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

## APÊNDICE 2 (continuação)



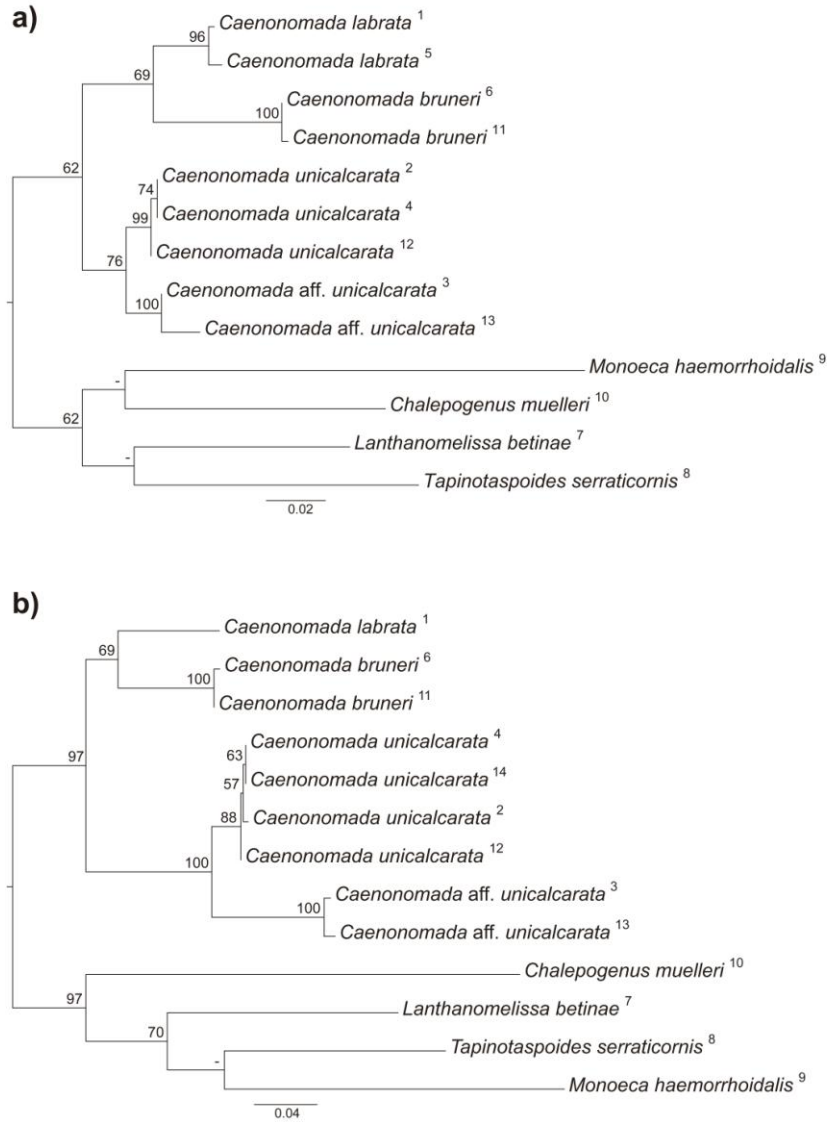
**FIGURA 3.** Filogramas resultantes da análise de inferência Bayesiana para o íntron e éxons do gene *wingless* (a, b) em que: a) éxons, 226pb, modelo=HKY+I; b) íntron, 117pb, modelo=K80+Γ. O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à probabilidade posterior. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

## APÊNDICE 2 (continuação)



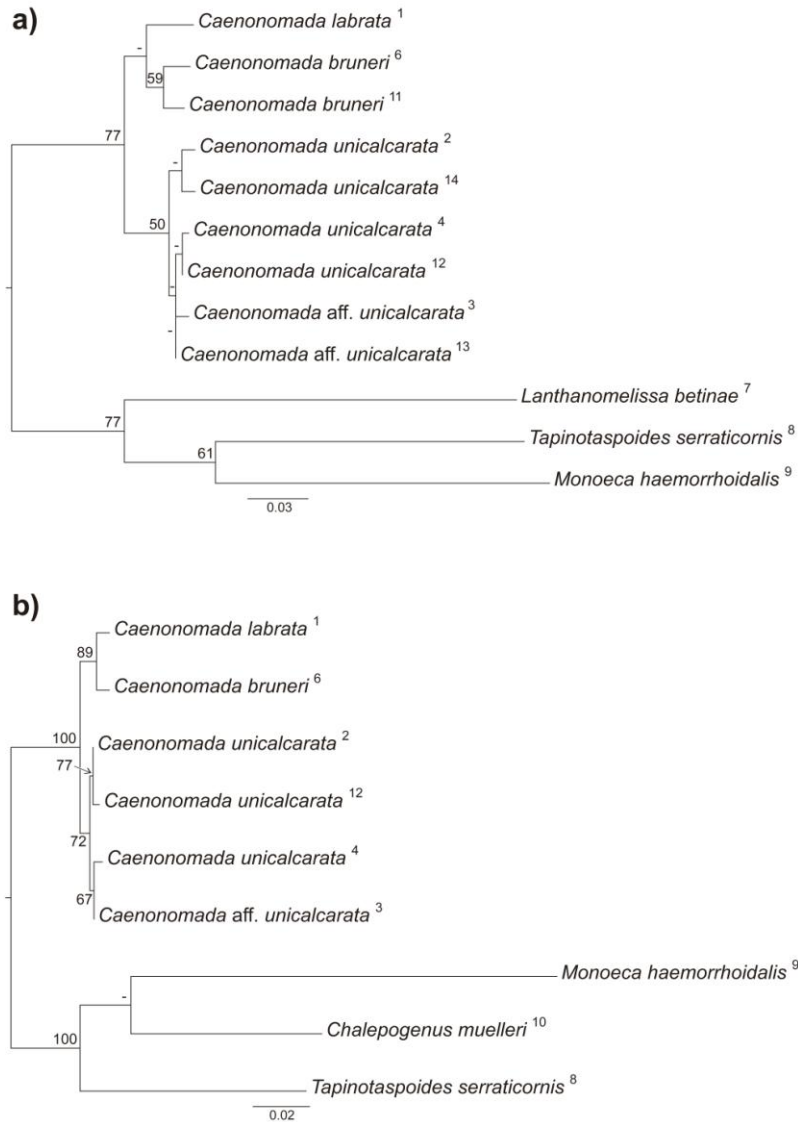
**FIGURA 4.** Filogramas resultantes da análise de inferência Bayesiana para o íntron e éxons do gene EF-1 $\alpha$  (a, b) em que: a) éxons, 689pb, modelo= K80+ $\Gamma$ ; b) íntron, 226pb, modelo=HKY+ $\Gamma$ . O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à probabilidade posterior. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

## APÊNDICE 2 (continuação)



**FIGURA 5.** O consenso das melhores árvores obtidas por máxima verossimilhança para os genes mitocondriais amostrados separadamente (a, b) em que: a) 16S rRNA, 511pb, modelo=GTR+ $\Gamma$ ; b) COI, 618pb, modelo=GTR+ $\Gamma$ . O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à frequência de *bootstrap* não-paramétrico obtidas por 100 pseudorreplicações. Nós não recuperados são indicados por "-". Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

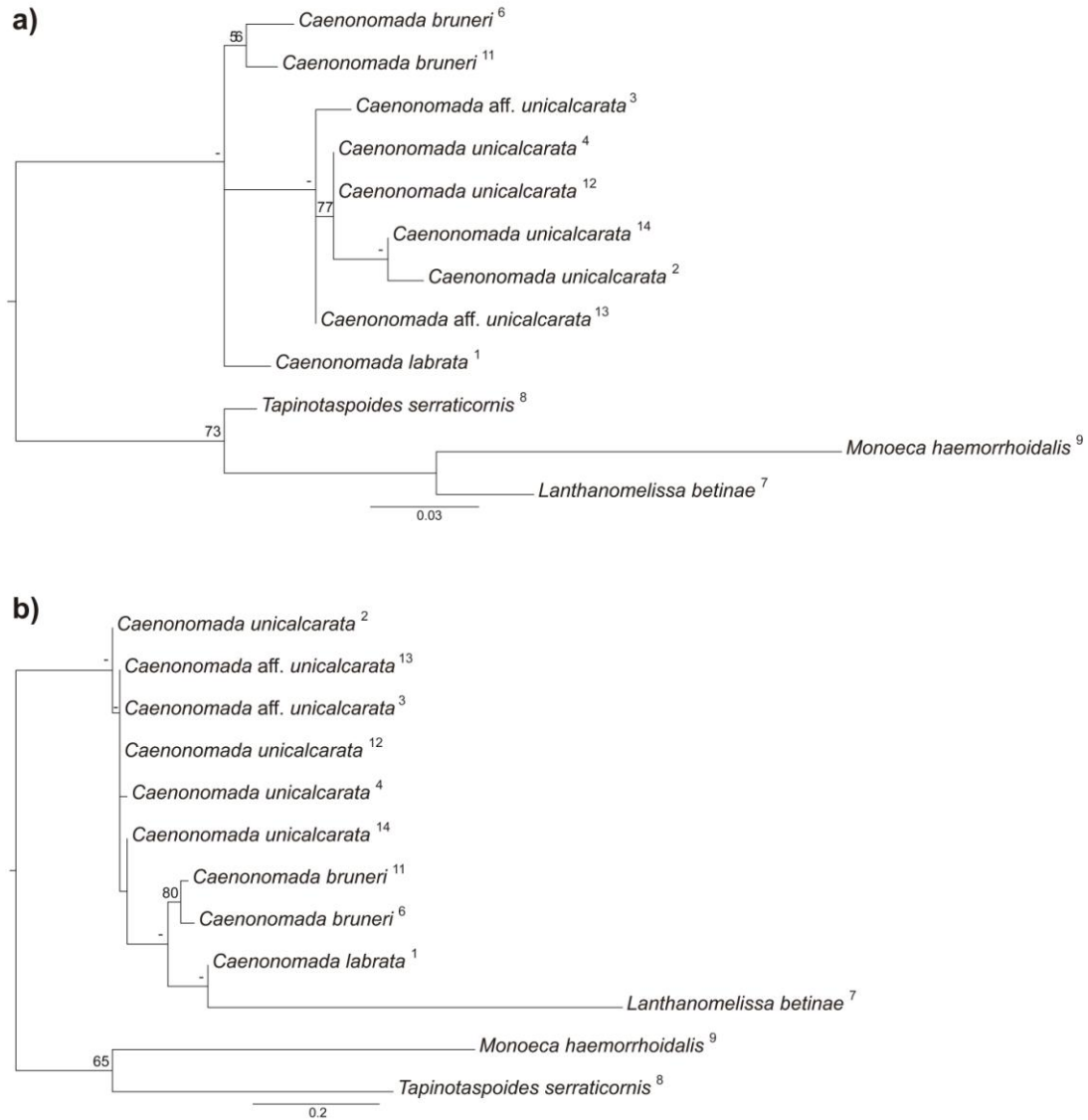
## APÊNDICE 2 (continuação)



**FIGURA 6.** O consenso das melhores árvores obtidas por máxima verossimilhança para os genes nucleares amostrados separadamente (a, b) em que: a) *wingless*, 343pb, modelo=K80+ $\Gamma$ ; b) EF-1 $\alpha$ , 915pb, modelo=K80+ $\Gamma$ . O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à frequência de *bootstrap* não-paramétrico obtidas por 100 pseudorreplicações. Nós não recuperados são indicados por "-". Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

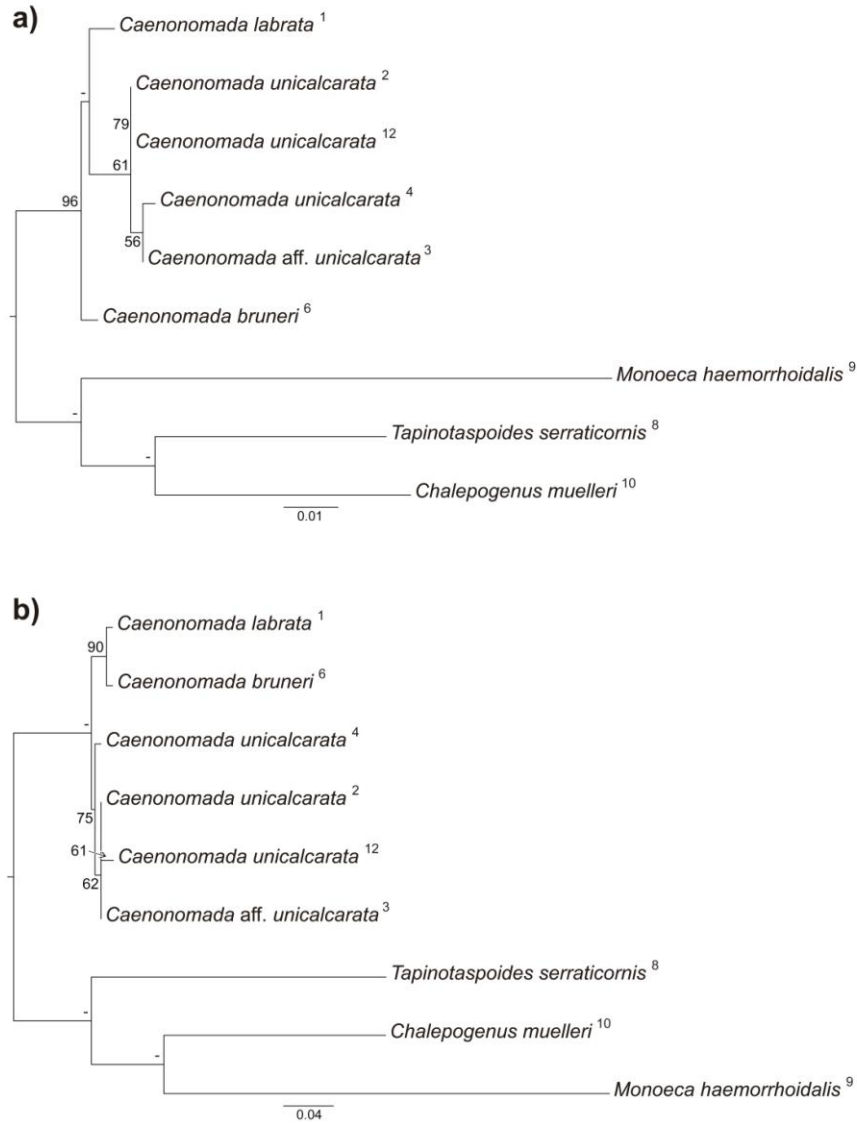


## APÊNDICE 2 (continuação)



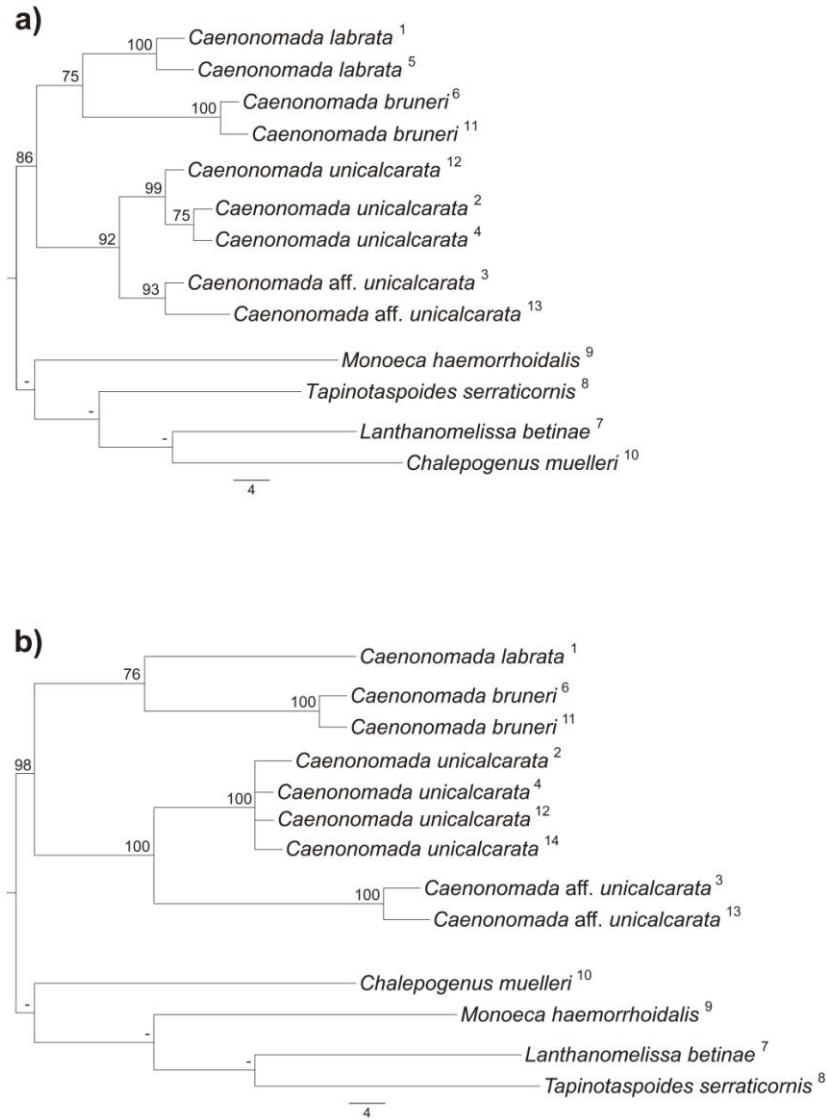
**FIGURA 7.** O consenso das melhores árvores obtidas por máxima verossimilhança para o íntron e éxons do gene *wingless* (a, b) em que: a) éxons, 226pb, modelo=HKY+I; b) íntron, 117pb, modelo=K80+Γ. O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à frequência de *bootstrap* não-paramétrico obtidas por 100 pseudorreplacções. Nós não recuperados são indicados por “-”. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

## APÊNDICE 2 (continuação)



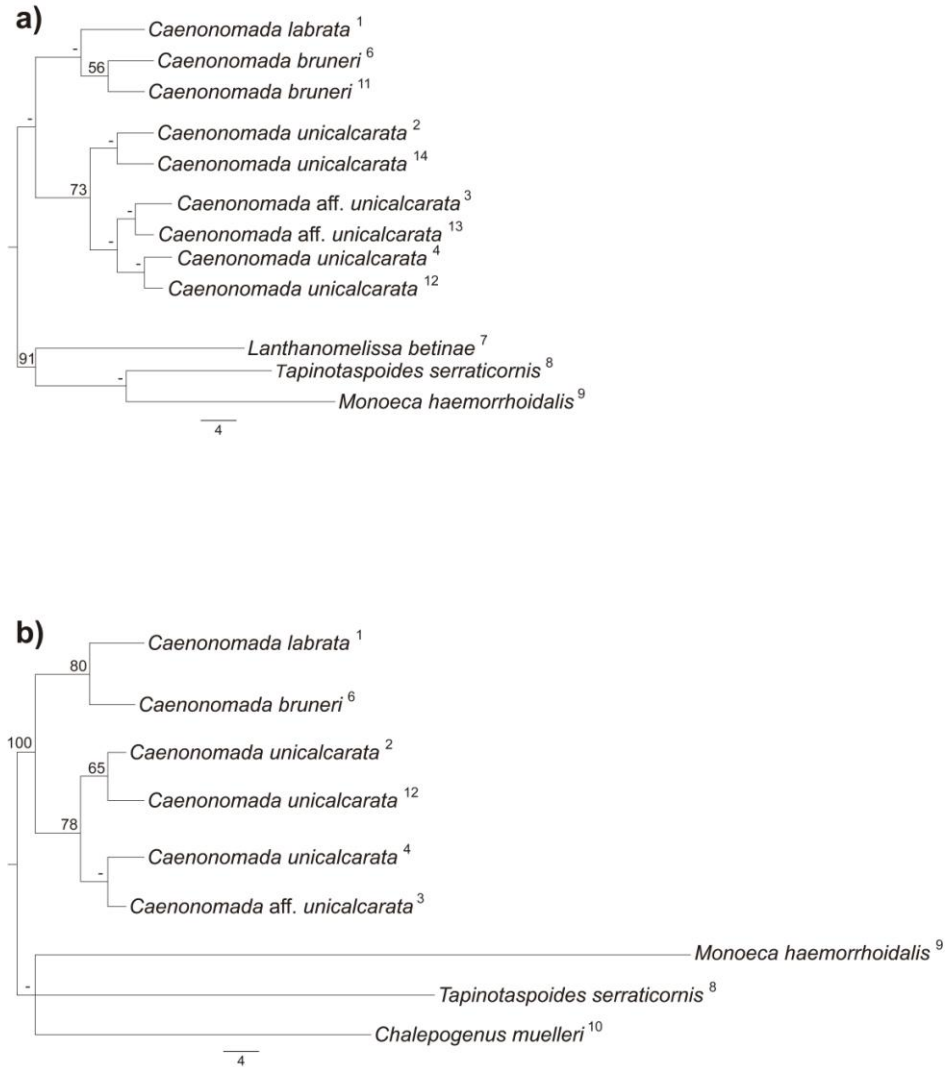
**FIGURA 8.** O consenso das melhores árvores obtidas por máxima verossimilhança para o íntron e éxons do gene EF-1 $\alpha$  (a, b) em que: a) éxons, 689pb, modelo=K80+ $\Gamma$ ; b) íntron, 226pb, modelo=HKY+ $\Gamma$ . O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à frequência de *bootstrap* não-paramétrico obtidas por 100 pseudorreplacções. Nós não recuperados são indicados por “-”. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

## APÊNDICE 2 (continuação)



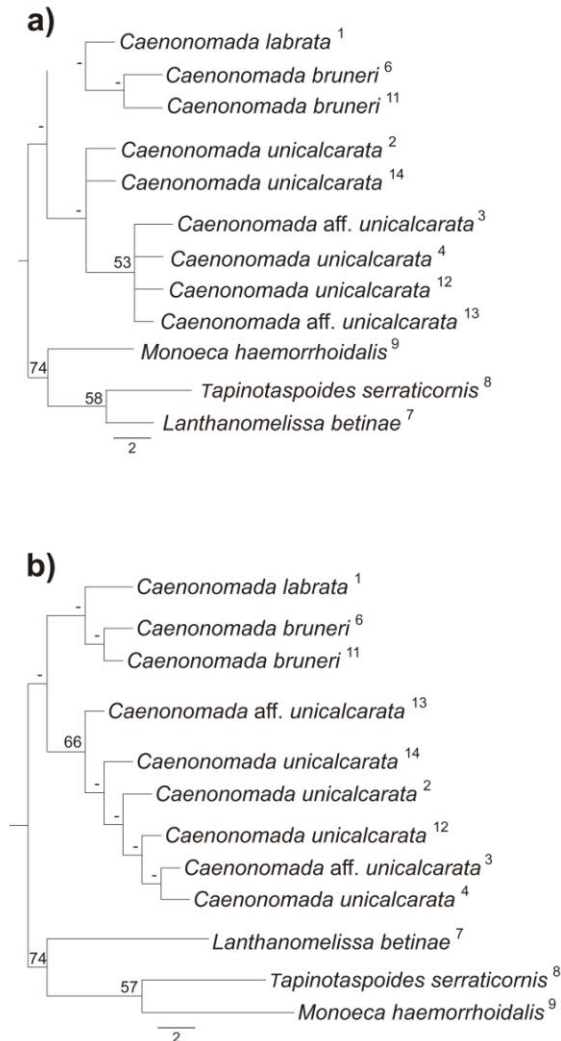
**FIGURA 9.** Árvores obtidas por parcimônia para os genes mitocondriais amostrados separadamente (a, b) em que: a) árvore mais parcimoniosa para o 16S rRNA (217 passos; CI=77; RI=72); b) consenso estrito de quatro árvores mais parcimoniosas obtido para o COI (358 passos; CI=71; RI=70). O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à frequência de *bootstrap* não-paramétrico obtidas por 100 pseudorreplicações. Nós não recuperados são indicados por "-". Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

## APÊNDICE 2 (continuação)



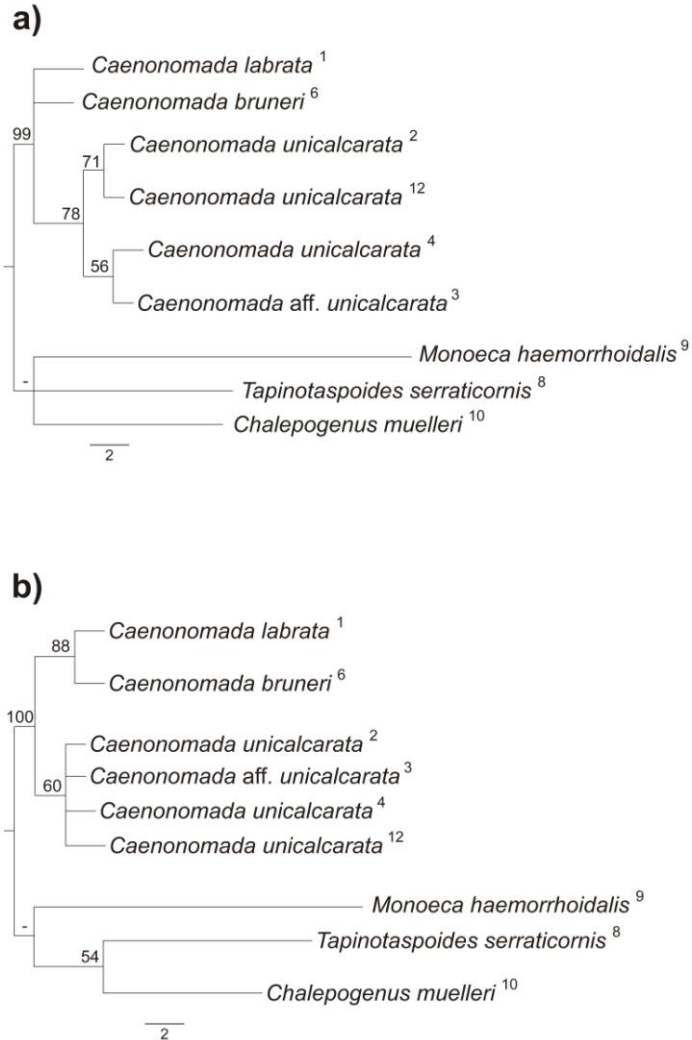
**FIGURA 10.** Árvores obtidas por parcimônia para os genes nucleares amostrados separadamente (a, b) em que: a) árvore mais parcimoniosa para o *wingless* (155 passos; CI=79; RI=64); b) consenso estrito de duas árvores mais parcimoniosas obtido para EF-1 $\alpha$  (249 passos; CI=90; RI=73). O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à frequência de *bootstrap* não-paramétrico obtidas por 100 pseudorreplicações. Nós não recuperados são indicados por "-". Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

## APÊNDICE 2 (continuação)



**FIGURA 11.** Árvores obtidas por parcimônia para o íntron e éxons do gene *wingless* (a, b) em que: a) árvore mais parcimoniosa para os éxons (100 passos; CI=84; RI=62); b) consenso estrito de três árvores mais parcimoniosas obtido para o íntron (53 passos; CI=73; RI=69). O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à frequência de *bootstrap* não-paramétrico obtidas por 100 pseudorreplicações. Nós não recuperados são indicados por “-”. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

## APÊNDICE 2 (continuação)



**FIGURA 12.** Árvores obtidas por parcimônia para o íntron e éxons do gene EF-1 $\alpha$  (a, b) em que: a) consenso estrito de três árvores mais parcimoniosas obtido para o éxons (120 passos; CI=95; RI=864); b) consenso estrito de duas árvores mais parcimoniosas obtido para o íntron (137 passos; CI=81; RI=51). O suporte dos ramos, apresentados próximos aos nós, corresponde à frequência de *bootstrap* não-paramétrico obtidas por 100 pseudorreplicações. Nós não recuperados são indicados por “-”. Os números sobrescritos ao lado do nome de cada espécie referem-se ao número *voucher*.

**APÊNDICE 3:** Material examinado do gênero *Caenonomada* para a confecção do mapa de distribuição das espécies.

***Caenonomada bruneri***

**ARGENTINA**, 1 macho (BLCU), “Argt. Misiones\ Pastore Gree\ March 1953” “C Juan Foerster”; 1 fêmea (BLCU), “ARG La Rioja\ Cebollar\ XI-2-72\ G.E. Bohart”; 1 fêmea (BLCU), “Rep. Argt.\ Terr. Formosa\ Gran Guardia\ Col. J. Foerster”; 1 fêmea (AMNH), “La Rioja\ Argentina S.A”; 1 fêmea (AMNH), “ARGENTINA, Corrientes\ Laguna Ibera\ October 21.1974\ Sixto Coscaron”; 1 macho (AMNH), “ARG.-E. Rios\ Liebig 2.86\ Zelich”; 1 fêmea (DZUP), “Sta Rosa R.A.\ La Pampa XII-61\ J. FOERSTER”; 1 fêmea (DZUP), “Sgo del ESTERO\ Rio Salado\ Wagner Col.”; 7 machos e 3 fêmeas (DZUP), “GRAN GUARDIA\ T. Formoso Argentina\ Dez. 1952\ J. Foerster”; 1 fêmea (DZUP), “Pindapoy\ Mis. Arg.”; 2 fêmeas (DZUP), “Concórdia\ Entre Rios\ II-1930”; 1 fêmea (DZUP), “Yunka viejo [Fortin Yunca, Dep. Formosa]\ I-II.26 Lindner\ D. Chaco-Exped.”; 1 fêmea (DZUP), “Prov.\ de Buenos Aires\ J. Boso col.”; 1 macho (DZUP), “ARGENTINA\ 1º de Mayo\ Entre Rios\ II-55 Fritz”; 1 fêmea (DZUP), “Prov. Córdoba\ Argentina\ XI/1957”; **BRASIL, Mato Grosso do Sul**, 17 fêmeas (DZUP), “Brasil, Mato Grosso do Sul\ 35 km Se de Porto\ Murtinho\ 21°46’S 57°34’W, 130m\ 23.ii.2004, Melo & Aguiar”; 11 fêmeas (DZUP), idem exceto “24.ii.2004” “100 m”; 1 fêmea (DZUP), “Brasil, Mato Grosso do Sul\ rodovia MS 384, 20 km NW\ de Bela Vista\ 22°00’S 56°43’, 200m\ 25.ii.2004, Melo & Aguiar”; **Paraná**, 1 fêmea (DZUP), “F. IGUASSU-PR\ Brasil-62\ Sakagami-Laroca”; 1 fêmea (DZUP), “CURITIBA\ Paraná BRASIL\ 14.XII.1955\ Michener & Lange”; **Rio Grande do Sul**, 1 macho (DZUP), “ESTEIO XII 1942\ R. Gr. Do Sul”; 1 fêmea (DZUP), “ESTEIO – R.G.S.\ Brasil\ Jan. 1953\ R. Laperrieri I.”; 1 fêmea (DZUP), “Tenente Portela\ Pq. Turvo RS\ Brasil 6.1.1986\ D. Wittmann col.”; **Santa Catarina**, 1 fêmea (DZUP), “Nova Teutônia\ S. Catarina Braz.\ XII-28-44\ Fritz Plaumann”; **PARAGUAI**, 1 fêmea e 1 macho (AMNH), “Paraguay\ Villa Rica\ 1900\ Burgdorf”; 1 macho (DZUP) “Paraguay \ Asunción \ Trinidad \ Jardín Botánico \ 79 msnm, 25°14’27”S 57°34’37”W \ 15.ii.1996 \ B. Garcete & F. Bauer”; 1 fêmea (DZUP), “Alto Paraguay: La Victoria \ 1,7km SW of Puerto La Victoria (puerto Casado) \ 76 msnm, 22°17’45”S 57°57’25”W \ 6-9.xii.2006 \ B. Garcette coll.”.

### ***Caenonomada labrata***

**BRASIL, Bahia:** 2 fêmeas, “Brasil, Bahia, 5 Km ao S de\ Rio de Contas\ 23.iv.1976, 12-15h,\ C. Elias & E. Elias, mata\ secundário, local úmido”; 1 fêmea, “Brasil, Bahia, 5 km ao S de\ Rio de Contas, 23.iv.1976,\ 8-12h, C. Elias & E. Elias,\ mato secundário,\ local úmido”; **Goiás:** 1 fêmea e 1 macho, “Brasil, Goiás, 24 km NE de\ Teresina de Goiás,\ 13°34'53”S 47°11'07”W,\ 450 m, 05.iv.2003, Melo,\ Aguiar, Marchi e Gonçalves”; **Mato Grosso,** 1 fêmea, “Abril” “Chapada”; 2 fêmeas, “Jan” “Chapada”; 3 fêmeas (UnB), “Brasil MT\ Loc. Manso\ Data 11.3.88\ Col. Kitayama”, 1 macho (UnB), “Brasil MT\ Loc. Manso\ Data 11.3.88\ Col. Rocha, I.R.”; **Minas Gerais:** 1 fêmea, “Uberlândia-MG\ Brasil 10/03/1992\ A.A. Barbosa”; 2 machos, “Brasil, Minas Gerais,\ São Francisco,\ 5-10.iv.10982, C. Elias”; **Paraná:** 1 fêmea, “Brasil, Paraná,\ Ponta Grossa,\ Pq. Est. Vila Velha,\ 26.xii.2007, G. Melo”.

### ***Caenonomada unicalcarata***

**BRASIL, Bahia:** 1 fêmea (DZUP), “Brasil, Bahia, 16 km ao N\ de Anagé, 21.xi.1976,\ 12-15h, C. Elias & E. Elias, mato secundário,\ local seco”; 2 machos (DZUP), “Brasil, Bahia, 20 km ao S\ de Livramento do\ Brumado, 11.xi.1976,\ 8-12, C. Elias & E. Elias,\ mato secundário local\ seco”, 2 machos (DZUP), idem exceto “22 km ao N\ de Livramento do Brumado\ 20.xi.1976, 12-\ 15h”; 1 fêmea (DZUP), “VITÓRIA DA CONQUISTA\ BAHIA Brasil\ 21/25-V-1981\ F.M. Oliveira”; 1 fêmea (DZUP), “MARACAS-BA\ Brasil II-63\ F.M. Oliveira”; 1 macho (DZUP), “MARACAS-BA\ Brasil II-63\ F.M. Oliveira”; 1 macho (DZUP), “Brasil, Bahia,\ Feira de Santana\ Campus da UEFES,\ 12°13’S, 38°58’W,\ 4.VIII.2000 G Melo”, 2 fêmeas (DZUP), idem exceto “10.VIII.2000” e “26.v.2000”; 1 macho (DZUP), “Feira de Santa [Santana]\ Ba 10/VI/1974\ S. Laroca –leg.”; 1 fêmea e 2 machos (DZUP), “Castro Alves\ BA 13/v/94\ C.A. Carvalho”; 1 macho (DZUP), “Rio de Contas – BA\ 24.IV.1976\ Enoque & C.Elias col”; 3 fêmeas (UnB), “BRASIL BA\ Bom Jesus da Lapa\ 8km E A. Raw\ 27.11.1999”; **Ceará:** 2 machos (DZUP), “S. BENEDITO\ Ceará BRASIL\ 16.iv.1956\ A.P. Soares”; 1 fêmea (DZUP), “Brasil\ Estado do\ Ceará” “Ceará\ Caridade\ 30-V-1999\ Ducke” “*Chacoana* ♀\ *unicalcarata*\ det. Ducke 1913”; 12 fêmeas (DZUP), “AURORA\ CEARA BRASIL\ VI 1956\ A.P. Soares”, 4 fêmeas (DZUP), idem exceto “10.IV.1956”; 1 macho e 1 fêmea (MZSP), “Brasil, Ceará, Crateús,\ RPPN Serra das Almas\ 05°07’S 40°52’W,\ 18.iii.2007, A. Soares & L.P. Amaral Neto”; 1 fêmea



(DZUP), “Pendência\ Soledade\ 28-x-55”; 1 fêmea (DZUP), “Soledade\ Nordeste\ Brasileiro”; 1 macho e 1 fêmea (AMNH), “Barbalha, Ceará”; **Goiás:** 1 macho (DZUP), “Brasil, Goiás, 24 km NE de\ Teresina de Goiás,\ 13°34'53”S 47°11'07”W,\ 450m, 05.iv.2003, Melo,\ Aguiar, Marchi e Gonçalves”; 2 machos (UnB), “Brasil, GO, Teresina de\ Goiás, 13°29'07.6”S,\ 47°11'16.4”W, 403 m,\ A.Aguiar & A. Martins”; 2 machos e 1 fêmea (UNB), “Brasil, GO, Flores de\ Goiás, S14°27'39”\ W47°60'15” 450 m.;\ 26.i.2010; AJCAguiar”; 1 macho e 2 fêmeas (UNB), idem exceto “S14°27'19”\ W46°51'29”, 468 m.\ 27.i.2010”; **Paraíba:** 2 fêmeas e 1 macho (UnB), “Brasil, Paraíba,\ Cajazeiras,\ iii-2001\ A.J.C. Aguiar”; 2 machos (DZUP), “Serra Batalha\ Sta. Luzia\ Paraíba BRASIL\ v-1955 L. Portela\ C.R. Gonçalves”; 10 fêmeas (DZUP), “Brasil, PB, São João\ do Cariri, EESJC\ C.H.L. Aguiar col.”; **Piauí,** 3 machos (UnB), “BRASIL, Piauí, São\ Miguel do Tapuio,\ 17.iv.2008, A.Aguiar col.”; 3 fêmeas (UnB), “BRASIL, Piauí, São\ Miguel do Tapuio,\ 17.iv.2008, A. Aguiar col.\ *Angelonia cornigera*”; **Sergipe:** 3 fêmeas (DZUP), “Lagoa Funda\ SE\ 07-06-82\ Araújo, C.Z.”; **Goiás,** 1 fêmea (DZUP), “Brasil, Flores, GO\ Rio Macaco\ 28.xii.2002\ A.J.C. Aguiar leg”.

***Caenonomada aff. unicalcarata***

**ARGENTINA,** 1 macho (MCZ-Havard), “Salta, ARGENT.\ Jan. 20, '66\ C.C. Porter”; **BOLÍVIA,** 1 fêmea (DZUP), “SUNCHAL\ Bolivia\ 17-II-1941\ Fritz leg”; 1 macho, “CORDILLERA\ Saiporo [Saipuru]-BOL\ Fritz leg.”; 4 machos e 4 fêmeas (BLCU), “BOLÍVIA Santa Cruz, 11 km\ N Boyube 2900' pantrap\ 5 mar'99 Mlwin F Parker\ 20°23.75'S 63°22.22'W”, 2 fêmeas (BLCU), idem exceto “6 Mar 99”; 2 fêmeas (BLCU), “BOLIVIA Santa Cruz 24 km\ S Camiri malaise 3550'\ 6 Mar'99 Mlrwin Parker\ 20°18.81'S 63°28.55'W”; **BRASIL, Mato Grosso do Sul,** 4 fêmeas e 4 machos (DZUP), “Brasil, Mato Grosso do Sul\ 35 km Se de Porto\ Murtinho\ 21°46'S 57°34'W, 130m\ 23.ii.2004, Melo & Aguiar”; 10 fêmeas e 3 machos (DZUP), idem exceto “24.ii.2004” “100 m”; 1 macho e 1 fêmea (DZUP), “Brasil, Mato Grosso do Sul\ rodovia MS 384, 20 km NW\ de Bela Vista\ 22°00'S 56°43', 200m\ 25.ii.2004, Melo & Aguiar”; **Mato Grosso,** 3 machos (DZUP), “CUIABA MT\ Brasil 19-I-68\ S. LAROCCA leg”; 1 fêmea (DZUP), “Cáceres, MT\ XII-1984\ C. Elias leg.\ POLONOROESTE”, 1 fêmea e 1 macho (DZUP), idem exceto “3-IV-1985”, 1 macho e 1 fêmea (DZUP), idem exceto “4-IV-1985” e “12.III.1985”; **PARAGUAY,** 1 fêmea (BLCU),

“PARAGUAY: San Pedro\ Cororo-Rio Ypane\ XI-24/27-1983\ Malaise trap\ M.  
Wasbauer coll.”.