UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

Gerson Paulino Lopes

Filogenia, Taxonomia e Biogeografia do gênero *Tamarinus* Trouessart, 1904 (Primates, Callitrichidae)

Manaus
2023

Gerson Paulino Lopes

Filogenia, Taxonomia e Biogeografia do gênero *Tamarinus* Trouessart, 1904 (Primates, Callitrichidae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia, da Universidade Federal do Amazonas e Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Tomas Hrbek
Coorientadora: Profa. Dra. Izeni Pires Farias

Manaus
2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Lopes, Gerson Paulino
L864f Filogenia, taxonomia e biogeografia do gênero Tamarinus Trouessart, 1904 (Primates, Callitrichidae) / Gerson Paulino Lopes . 2023
134 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Tomas Hrbek
Coorientadora: Izeni Pires Farias
Tese (Doutorado em Zoologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Primatas. 2. Sistemática molecular. 3. Saguis. 4. Amazônia. 5. Diversificação. I. Hrbek, Tomas. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Dedicatória

Dedico esta tese à minha esposa Tamily Santos, por todo apoio todos os momentos, seu apoio tem me sustentado pessoal e profissionalmente. Agradeço por teu amor e paciência nessa aventura chamada vida!!!

Agradecimentos

Esta tese é fruto de grande colaboração entre pessoas e instituições. Para todos expresso meus sinceros agradecimentos.

À Minha Esposa Tamily Santos, pelo apoio irrestrito em todas as etapas do doutorado. Sou grato pelos apoios à ideia deste projeto, bem como na coleta e processamento dos espécimes durante as expedições. Pelo auxílio nas etapas de solicitação e execução da verba para coleta dos dados de campo, bem como pela disponibilidade em coletar material quando eu não estava presente, bem como enviar o material para a universidade sempre que necessário. Sua paciência na revisão das diferentes versões desta tese. Também agradeço o suporte emocional em toda a etapa do doutorado, tempos difíceis vieram, tivemos que aprender a conviver com isso, porém você tem permanecido aqui, apesar das adversidades.

À filhota Vivi, pelos diversos momentos de aprendizado com diversão, sou muito grato por você sempre vislumbrar o maravilhoso mundo da Ciência quando temos nossas intermináveis conversas.
Ao Miguel, por tornar nossos dias melhores, sua chegada deixou nossas vidas mais divertida e, muito mais intensa.

Aos meus pais, Catarina de Araújo Lopes e Francisco Gerson Lopes (in memoriam), por todos os grandes ensinamentos que tornaram a vida melhor. Dona Catarina nunca poupou esforços para dar-me ajuda quando imprescindível, bem como puxar a orelha quando era preciso. Sou imensamente grato a você por ter chegado até aqui, muitíssimo obrigado **Mãe**, te amo! A todos os meus irmãos, por todos os momentos inesquecíveis.

À minha segunda família, por todo o suporte durante todas as etapas do doutorado, minha ~~querida~~ sogra Preta, Carol, Alex, Vivi, Bill, Belinha, Alfred, Suricato e Nina. Ao Pedro Paulo e à Preta pela ajuda com os perrengues em Tefé quando precisamos, bem como pela ajuda crucial quando entramos numa fase financeira difícil. Ao Alex Farias e Pedro Paulo pelas conversas e cervejadas que ajudam a vida a ser um pouco menos difícil.
Aos amigos Messias Lopes e Alissandro Mota, pelas conversas boas nas nossas reuniões necessárias e divertidas.

Aos nossos amigos médicos, Valdemir Brito e Valcinete Brito, que tornaram a convivência com a Covid-19 um pouco mais fácil. Obrigado pelo excelente atendimento domiciliar quando foram solicitados.
À família Silva, por todo o apoio durante nossa estadia em Manaus, obrigado por tudo, vocês foram cruciais, Dona Edi, Layze, Irene e demais membros da família.

Agradeço profundamente aos meus orientadores, Profa. Dra. Izeni Farias e Prof. Dr. Tomas Hrbek pela confiança, ensinamentos e apoio. À Profa. Izeni um agradecimento especial por aceitar orientar-me sem nos conhecermos. Agradeço a confiança por abraçar a ideia do projeto, bem como as sugestões para melhorá-lo.

À Universidade Federal do Amazonas por toda a infraestrutura e suporte. Viva a Universidade Pública, o alicerce da Educação e da Pesquisa no Brasil. Que através da Ciência todos sejam esclarecidos!!!!
Aos coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Professores Marcelo Menin (in memoriam) e Fabrício Baccaro, pela empatia com todos os alunos e por não medir esforços em fazer o programa funcionar. Graças aos esforços de vocês e dos outros professores este curso será um dos melhores dessa área. Ao Gildásio Ferreira pela ajuda e paciência com toda a burocracia junto à Universidade. À Profa. Cíntia Cornélius, por toda a sua disponibilidade e empatia para o ótimo andamento do programa.

Ao Instituto Mamirauá pelo apoio financeiro, logístico e suporte, bem como pelo financiamento das expedições.
Aos amigos do Grupo de Pesquisa em Ecologia de Vertebrados Terrestres e Biologia e Conservação de Primatas do Instituto Mamirauá: Ivan Lima, João Valsecchi, Louise Maranhão, Fernanda Paim, Tamily Santos.

Ao ICMBio Tefé pela parceria junto ao Instituto Mamirauá, bem como pelo apoio às expedições.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas pela bolsa de estudos (Grant 062.00121/2019), bem como pelo apoio às expedições (Grant ao Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá – FAPEAM PPP 016/2014).

À Fundação Gordon and Betty Moore pelo apoio às expedições (Grant #5344).

Ao Programa SISBIOTA (CNPq/FAPEAM SISBIOTA n° 563348/2010-0) e CAPES (Grant 3261/2013) por financiar as expedições na Amazônia e com apoio fundamental para o material do Laboratório de Evolução e Genética Animal.

Ao Líder do Grupo de Pesquisa em Ecologia de Vertebrados Terrestres e Curador da Coleção de Mamíferos do Instituto Mamirauá, Dr. João Valsecchi, pelo acesso aos espécimes e amostras de tecidos, bem como pelo apoio ao projeto.

À Curadora da Coleção de Mamíferos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia Maria Nazareth Ferreira da Silva pelas amostras de tecidos.

Aos diversos colaboradores pela ajuda na obtenção de espécimes e amostras, Fábio Röhe, Felipe Ennes e Ricardo Sampaio.

Ao meu amigo Fábio Röhe (Trupico) muitíssimo obrigado por aceitar em disponibilizar seus dados a um desconhecido. Quando entrei no Doutorado você já tinha coletado 90% das amostras de *Saguinus* deste estudo, ou seja, peguei o material na sombra, enquanto você teve muitas andanças, aventuras e alguns perrengues (como em Coari, quando foi abordado na floresta por um traficante armado) pela grande Amazônia. Além da amizade, pelas trocas e compartilhamento de ideias e discussões sobre os mamíferos amazônicos, especialmente os primatas.

Entrei para o Laboratório de Evolução e Genética Animal (LEGAL) que é chefiado pela Profa. Izeni Farias em 2017. Como biólogo, desenvolvi meu mestrado em anatomia comparada de primatas, porém sempre me interessei por sistemática molecular. No entanto, começar a trabalhar no LEGAL foi desafiador, pois eu tinha pouca experiência em biologia molecular e, todo a prática laboratorial gira em torno de extração e sequenciamento, com suas várias etapas até a obtenção das sequências. Felizmente, tive o prazer de trabalhar com colegas incríveis, que sempre estavam dispostos a ajudar e forneceram informações extremamente valiosas ao longo do caminho. Fábio Muniz, Ingrid Silva, Mário Nunes, Fabrício Bertuol, Valéria Machado, Joice Farias, Aline Ximenes, Pedro Senna.

Fabrício Bertuol desempenhou um papel fundamental nos procedimentos laboratoriais, embora, eu considero que ele nunca ficou satisfeito comigo em nenhuma das vezes que fizemos todo o processo juntos. A ele sou imensamente grato por todos os ensinamentos sobre os procedimentos laboratoriais durante o doutorado. Também agradeço por todas as sugestões e discussões do mundo apaixonante da genética, além das várias conversas e muitos cafezinhos na universidade.

Agradeço ao Fábio Muniz (Fabinho), Joiciane Farias (Joice) e Érico Polo pelas sugestões na primeira versão do plano de tese. Fabinho teve uma dedicação mais aprofundada, com correções minuciosas, muitas sugestões e discussões importantes e, ajuda no delineamento do plano.

Joiciane Farias (Joice) pelas discussões acerca da sistemática dos mamíferos, bem como pelos ensinamentos sobre genética, testes de estrutura genética e pelas diversas discussões proveitosas sobre biologia evolutiva.

Érico Polo foi fundamental na avalição do plano de tese, suas sugestões e perguntas ajudaram a melhorar e direcionar o plano. Também foi crucial com as análises filogenéticas, bem como os vários esclarecimentos e ensinamentos sobre as análises, sou imensamente grato a você por toda a ajuda e paciência.

Valéria Machado também ajudou com muitas dúvidas e sugestões sobre genética, bem como muitas sugestões na prévia da qualificação. Pedro Senna ajudou com várias sugestões, bem como com diversos insights na prévia da qualificação.

Aos avaliadores da aula de qualificação, Prof. Dr. Marcelo Menin (in memoriam), Dra. Fernanda Werneck, Dr. Winson Spironello, Dr. Mateus Ferreira e, Dr. Sérgio Borges pelas valiosas sugestões e críticas.

É difícil a distinção entre grandes parceiros e amigos intelectuais. Mas dedico este parágrafo aos grandes amigos com quem convivi durante os anos da pós-graduação, Joice, Val, Adna, Caroliny, Uesley, Washingtom, Fabrício e Fabrício, Jesus, Nasra, Carolina Bertuol.

Epígrafe

Tudo o que você pode ou imagina que pode, comece a fazer. O atrevimento tem inteligência, poder e magia. Comece agora.

Johann Wolfgang von Goethe

É o grau de comprometimento que determina o sucesso, não o número de seguidores.
Remo Lupin

É possível encontrar felicidade mesmo nas horas mais sombrias, basta se lembrar de acender a luz.
Albus Percival Wulfric Brian Dumbledore

Hakuna Matata.
Timão e Pumba

A lei da multiplicação das espécies em razão bastante elevada para trazer a luta pela existência, que tem como consequência a seleção natural, que determina a divergência de caracteres, a extinção de formas menos aperfeiçoadas.

Charles Darwin

Durante minha residência no distrito amazônico aproveitei todas as oportunidades para determinar os limites das espécies, e logo descobri que o Amazonas, o Rio Negro e o Madeira formavam os limites além dos quais certas espécies nunca passavam. Ao se aproximarem das nascentes, eles deixam de ser um limite, e a maioria das espécies é encontrada em ambas as margens.

Alfred Russel Wallace

Nada na biologia faz sentido, exceto à luz da evolução.
Theodosius Dobzhansky

Terra e Vida evoluem juntas.
Leon Croizat

O aspecto mais impressionante do mundo vivo é a sua diversidade. Não existem dois indivíduos iguais em populações que se reproduzem sexuadamente, nem duas populações, espécies ou táxons mais elevados que sejam iguais. Para onde quer que olhemos na natureza, encontramos singularidade.

Ernst Mayr

Se a sistemática é para ser uma ciência, ela deve curvar-se à exigência evidente de que objetos aos quais o mesmo rótulo é dado devem ser comparáveis de alguma forma.

Willi Hennig

Os gêneros concedidos aos primatas foram muitos e de importância variada. Algumas, é claro, são necessárias para reconhecer adequadamente as divisões naturais de uma Família; alguns são úteis para segregar, como grupos subgenéricos, certas porções de um gênero que parecem ter em comum, caracteres não possuídos por outras espécies do mesmo gênero; mas um número considerável de termos propostos não encontra lugar legítimo e apenas ajuda a engrossar a lista de sinônimos. No seguinte arranjo os gêneros propostos são colocados nas várias Famílias a que pertencem de acordo com o ano em que foram publicados pela primeira vez, começando com Linnaeus em 1758, antes do qual nenhum Autor pode ser reconhecido.

Daniel Giraud Elliot

As descrições não podem ser suficientemente completas e precisas o suficiente para satisfazer os trabalhadores posteriores. Cada geração de taxonomistas deve ver os espécimes reais usados pelas gerações anteriores e, acho que a tendência agora é, ou deveria ser, fazer descrições curtas, mas claro que explícitas e cuidadosamente calculadas, e tornar os espécimes amplamente disponíveis.

Philip Jackson Darlington, Jr.

Prefácio

Esta tese está estruturada em uma seção de **Introdução geral**, uma seção de **Resultados**, que inclui três capítulos, dos quais um já foi publicado e outro foi submetido à publicação. O terceiro capítulo trata da biogeografia do gênero *Tamarinus*, com a diversificação deste gênero atrelada à formação dos rios da Amazônia ocidental. A última seção trata da **Conclusão** da tese. Na Introdução geral, tratei da história taxonômica e filogenia do gênero *Tamarinus*, bem como as lacunas de conhecimento científico a serem preenchidas.

Resumo

Entre os primatas neotropicais, as espécies da família Callitrichidae inclui os menores e mais fenotipicamente distintos. Os calitriquídeos atualmente são classificados em dez gêneros: *Callithrix* Erxleben, 1777, *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807, *Leontocebus* Wagner, 1839, *Leontopithecus* Lesson, 1840, *Mico* Lesson, 1840, *Oedipomidas* Reichenbach, 1862, *Cebuella* Gray, 1866, *Tamarinus* Trouessart, 1904 *Callimico* Miranda-Ribeiro, 1911 e, *Callibella* van Roosmalen & van Roosmalen, 2003. Entre esses gêneros, apenas *Tamarinus* não foi revisado taxonomicamente, com a taxonomia ainda baseada em um estudo dos anos 1970 e, não mudou muito nos últimos 45 anos. Assim, nesta tese, utilizamos a representação reduzida do genoma (ddRAD) para gerar a filogenia mais completa do gênero *Tamarinus*, com todas as espécies e subespécies, bem como realizamos testes de hipótese taxonômicas de que as subespécies de *Tamarinus mystax* (*T. m. mystax*, *T. m. pileatus* e *T. m. pluto*), *Tamarinus imperator* (*T. i. imperator* e *T. i. subgrisescens*) podem representar linhagens evolutivas independentes. Além disso, construímos uma filogenia calibrada no tempo para as espécies do gênero *Tamarinus*, além de um modelo filogenético biogeográfico estatístico para o gênero, a fim de inferir a história biogeográfica e sua relação com a evolução da paisagem amazônica. Assim, testamos a hipótese de os rios amazônicos como promotores da diversificação das espécies do gênero *Tamarinus*. Descrevemos uma nova espécie de *Tamarinus* do interflúvio Juruá-Tefé, anteriormente atribuída à espécie *T. mystax*. Também elevamos *T. mystax* e *T. pileatus* ao nível de espécie, esta última, com uma nova proposta nomenclatural, com duas subespécies, *T. p. pileatus* e *T. p. pluto*. Nossas hipóteses filogenéticas também confirmam a existência de duas espécies de *Tamarinus* anteriormente agrupadas sob o epíteto específico de *Tamarinus imperator*, agora designadas como *T. imperator* e *T. subgrisescens*. Nossas análises filogenéticas recuperam o alto suporte para todas as espécies e para as relações entre as espécies. A divergência de *Tamarinus*, *Oedipomidas*, *Saguinus* e *Leontocebus* ocorreu no Mioceno Médio e Tardio. Nossa reconstrução biogeográfica associa o papel dos rios amazônicos como agentes vicariantes para a maioria das espécies, porém ressaltamos que para algumas espécies houve uma possível dispersão através de uma barreira geográfica.

Palavras-chave: Primatas, Sistemática molecular, Saguis, Amazônia, Diversificação.

Abstract

Among Neotropical primates, species in the family Callitrichidae include the smallest and most phenotypically distinct. Callitrichids are currently classified into ten genera: *Callithrix* Erxleben, 1777, *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807, *Leontocebus* Wagner, 1839, *Leontopithecus* Lesson, 1840, *Mico* Lesson, 1840, *Oedipomidas* Reichenbach, 1862, *Cebuella* Gray, 1866, *Tamarinus* Trouessart, 1904, *Callimico* Miranda -Ribeiro, 1911 and, *Callibella* van Roosmalen & van Roosmalen, 2003. Among these genera, only *Tamarinus* has not been revised taxonomically, with the taxonomy still based on a study from the 1970s, and has not changed much in the last 45 years. Thus, in this thesis, we used we generated double digest restriction associated DNA (ddRAD) to generate the most complete phylogeny of the genus *Tamarinus*, with all species and subspecies, as well as performing taxonomic hypothesis tests that the subspecies of *Tamarinus mystax* (*T. m. mystax*, *T. m. pileatus* and *T. m. pluto*), *Tamarinus imperator* (*T. i. imperator* and *T. i. subgrisescens*) may represent independent evolutionary lineages. In addition, we constructed a time-calibrated phylogeny for species of the genus *Tamarinus*, as well as a statistical biogeographical phylogenetic model for the genus, in order to infer the biogeographical history and its relationship with the evolution of the Amazonian landscape. Thus, we tested the hypothesis that the Amazonian rivers promote the diversification of species of the genus *Tamarinus*. We describe a new species of *Tamarinus* from the Juruá-Tefé interfluve, previously assigned to the species *T. mystax*. We also raised *T. mystax* and *T. pileatus* to species level, the latter, with a new nomenclatural proposal, with two subspecies, *T. p. pileatus* and *T. p. pluto*. Our phylogenetic hypotheses also confirm the existence of two *Tamarinus* species formerly grouped under the specific epithet *Tamarinus imperator*, now designated as *T. imperator* and *T. subgrisescens*. Our phylogenetic analyzes retrieve high support for all species and for relationships between species. The divergence of *Tamarinus*, *Oedipomidas*, *Saguinus* and *Leontocebus* occurred in the Middle and Late Miocene. Our biogeographical reconstruction associates the role of Amazonian rivers as vicariant agents for most species, but we emphasize that for some species there was a possible dispersion through a geographic barrier.

Keywords: Primates, Molecular systematics, Tamarins, Amazon, Diversification.

Sumário

Introdução geral **14**
Objetivos 21
Objetivo geral 21
Objetivos específicos 22
Referências 22
Capítulo 1. Taxonomic review of *Saguinus mystax* (Spix, 1823) (Primates, Callitrichidae), and description of a new species **34**
Introducion 35
Materials and Methods 37
Results 42
Discussion 49
Conclusions 51
References 54
Capítulo 2. Molecular systematics of tamarins with emphasis on genus *Tamarinus* (Primates, Callitrichidae) **59**
1. Introduction 60
2. Materials and Methods 64
3. Results 66
4. Discussion 78
Conclusion 83
References 85
Capítulo 3. Biogeografia do gênero *Tamarinus* (Primates, Callittrichidae) **100**
Introdução 101
Material e Métodos 107
Resultados 108
Discussão 111
Referências 116
Conclusão geral **134**
Perspectivas futuras **134**

Introdução geral

A ordem Primates consiste em mamíferos com origem no Cretáceo/Paleoceno (Goodman et al., 1998; Fabre et al., 2009; Perelman et al., 2011; Springer et al., 2012). Nas filogenias mais recentes há dois clados maiores de primatas: subordem Strepsirrhini (Lemuriformes – lêmures, Chiromyiformes – aye-aye e, Lorisiformes – Gálagos, lórises e potos) e subordem Haplorrhini (Tarsiiformes, Catarrhini e Platyrrhini) (Pocock, 1918; Hill, 1955; Martin, 1990; Bailey et al., 1991; Goodman et al., 1998; Zietkiewicz et al., 1999; Groves, 2001). Estas clados estão distribuídos pelas regiões tropicais e subtropicais, ao longo da Ásia (Strepsirrhini, Tarsiiformes e Catarrhini), África (Catarrhini e Strepsirrhini), Madagascar (Strepsirrhini) e, América (Platyrrhini) (Groves, 2001). Catarrhini (primatas do Velho Mundo) é o clado irmão de Platyrrhini, dois grupos geograficamente separados pelo Oceano Atlântico (Martin, 1990; Goodman et al., 1998; Perelman et al., 2011).

A taxonomia de Platyrrhini na maior parte do século XX foi baseada em duas famílias, Callitrichidae e Cebidae (Gray, 1821; Elliot, 1913; Pocock, 1917, 1920, 1925; Dollman, 1933; Simpson, 1945; Cabrera, 1957; Hill, 1957, 1960, 1962; Napier & Napier, 1967; Simons, 1972; Napier, 1976; Martin, 1990). Houve algumas proposições com uma terceira família (Callimiconidae) para acomodar *Callimico goeldi*, cujas características estão associadas tanto aos cebídeos (presença do terceiro molar desenvolvido), quantos aos calitriquídeos (molares superiores tri-tuberculares) (Dollman, 1933; Hill, 1957; Hershkovitz, 1972; 1977).

Nos estudos filogenéticos a família Callitrichidae sempre foi considerada como uma subfamília da família Cebidae (Rosenberger, 1980; Schneider et al., 1993, 2000). Assim, eram consideradas apenas três famílias de primatas neotropicais: Pitheciidae, Atelidae e Cebidae. Posteriormente, as avaliações taxonômicas mantiveram o status de família para Callitrichidae (Rylands & Mittermeier, 2000, 2009; Rylands et al. 2016). Esse arranjo taxonômico é seguido neste estudo.

Os primatas da família Callitrichidae são os menores primatas neotropicais (Leutenegger, 1973; Moynihan, 1976; Hampton, 1975; Ford, 1980), com distribuição na América do Sul e Central (Hershkovitz, 1977). As características únicas dos callitriquídeos incluem o pequeno porte, reprodução gemelar, ausência de um terceiro molar, molares superiores tri-tuberculares sem hipocone, presença de garras ao invés de unhas, com exceção do hálux e, foram consideradas como plesiomorfias entre os Platyrrhini (Schultz, 1948; Hershkovitz, 1968; 1970; 1972; Cartmill; 1974; Hershkovitz, 1977; Rosenberger, 1984; Rosenberger et al. 1990 (Pocock, 1925; Hill, 1957; 1959; 1960; 1962; Napier & Napier, 1967;

Simons, 1972). Entretanto, essas características foram designadas como adaptativas e, seriam uma consequência do nanismo filético, portanto, seriam características apomórficas dentro de Platyrrhini (Hamlett & Wislocki, 1934; Leutenegger, 1973; Hampton, 1975; Moynihan, 1976; Ford, 1980; Leutenegger, 1980). A partir das proposições de que o tamanho menor dos calitriquídeos seria uma característica derivada (Leutenegger, 1973; Moynihan, 1976; Hampton, 1975), foi proposto a teoria do nanismo filético (Ford, 1980; Leutenegger, 1980). Essa teoria indica que houve uma redução do tamanho corporal ao longo da evolução dos calitriquídeos, com consequente modificações mencionadas acima (Ford, 1980).

Atualmente, está família é composta por mais de 60 táxons, 47 espécies e 10 gêneros: *Callithrix* Erxleben, 1777, *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807, *Leontocebus* Wagner, 1839, *Leontopithecus* Lesson, 1840, *Mico* Lesson, 1840, *Oedipomidas* Reichenbach, 1862, *Cebuella* Gray, 1866, *Tamarinus* Trouessart, 1904 *Callimico* Miranda-Ribeiro, 1911, e *Callibella* van Roosmalen & van Roosmalen, 2003.

Uma das principais referências na biologia, sistemática, taxonomia e distribuição dos calitriquídeos é a monografia de Hershkovitz (1977). Hershkovitz baseou as relações entre os calitriquídeos em um princípio fundamental de aumento do tamanho do corpo ao longo do tempo. Ele designou quatro gêneros, *Cebuella*, *Leontopithecus*, *Callithrix* e *Saguinus* e, colocou *Callimico* em sua própria família, Callimiconidae (Hershkovitz, 1977).

Dentre os gêneros de Callitrichidae, *Saguinus* (sensu Hershkovitz, 1977) é um dos mais ricos em espécies. Hershkovitz (1977) se embasou em morfologia, pelagem e distribuição geográfica para estabelecer as relações entre as espécies do gênero *Saguinus* e, o dividiu em "três seções", com seis grupos de espécies. Essas seções foram divididas de acordo com os padrões de pelagem e pigmentação facial: **Seção face com pelos** – saguis da boca branca ou grupo *Saguinus nigricollis* (*S. nigricollis* e *S. fuscicollis*), saguis de bigodes ou grupo *Saguinus mystax* (*S. mystax*, *S. labiatus* e *S. imperator*) e grupo midas (*Saguinus midas*); **Seção face sem pelos** – saguis brasileiros da face nua ou grupo *S. bicolor* e, grupo *S. oedipus* (*S. oedipus* e *S. leucopus*); **Seção face com pigmentação mosqueada** – grupo *Saguinus inustus*. As relações entres os táxons que compunham essas seções era baseada na suposição de que a condição primitiva (plesiomórfica) seria a face com presença de pelos, enquanto a face mosqueada teria evoluído na direção da ausência total de pelos na face, que por sua vez seria a condição apomórfica e teria surgido mais de uma vez durante a evolução de *Saguinus* (Figura 1) (Hershkovitz, 1977).

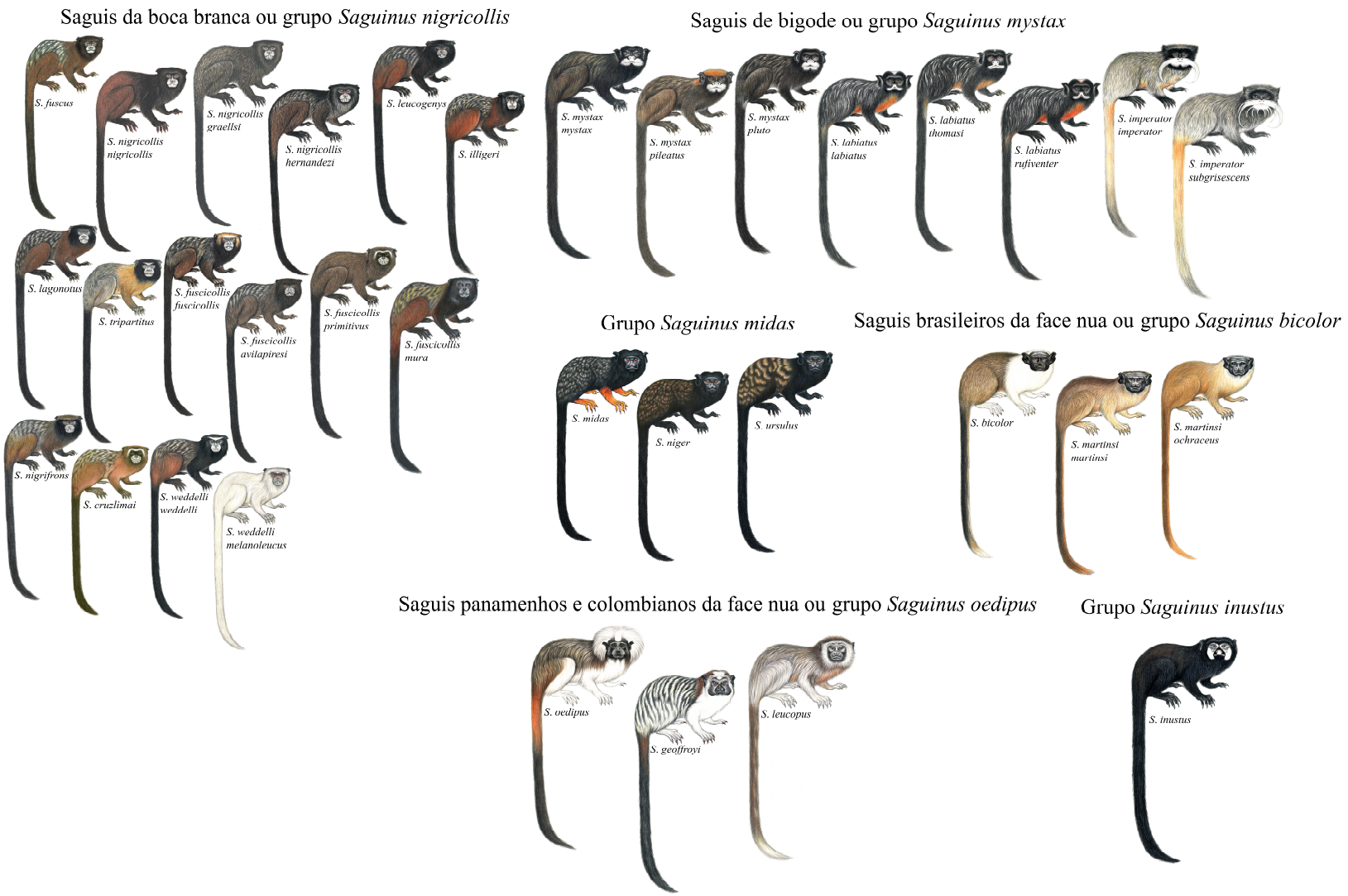


Figura 1. Grupos de *Saguinus* proposto por Hershkovitz (1977).

A taxonomia de Hershkovitz (1977) prevaleceu por alguns anos, porém estudos posteriores baseados em morfologia e genética trouxeram novas interpretações (Natori, 1988; Natori & Hanihara, 1988; Natori & Hanihara, 1992; Jacobs et al. 1995; Cropp et al. 1999; Araripe et al. 2008; Matauschek et al. 2011; Boubli et al. 2015; Buckner et al. 2015). A maioria destes grupos foi corroborada, exceção foi o grupo *S. inustus*, cujos resultados indicaram que *S. inustus* é um membro do grupo *S. mystax* (Figura 2) (Natori & Hanihara, 1992; Cropp et al. 1999; Cunha et al. 2011; Boubli et al. 2015; Buckner et al. 2015; Rohe 2021; Brcko et al. 2022).

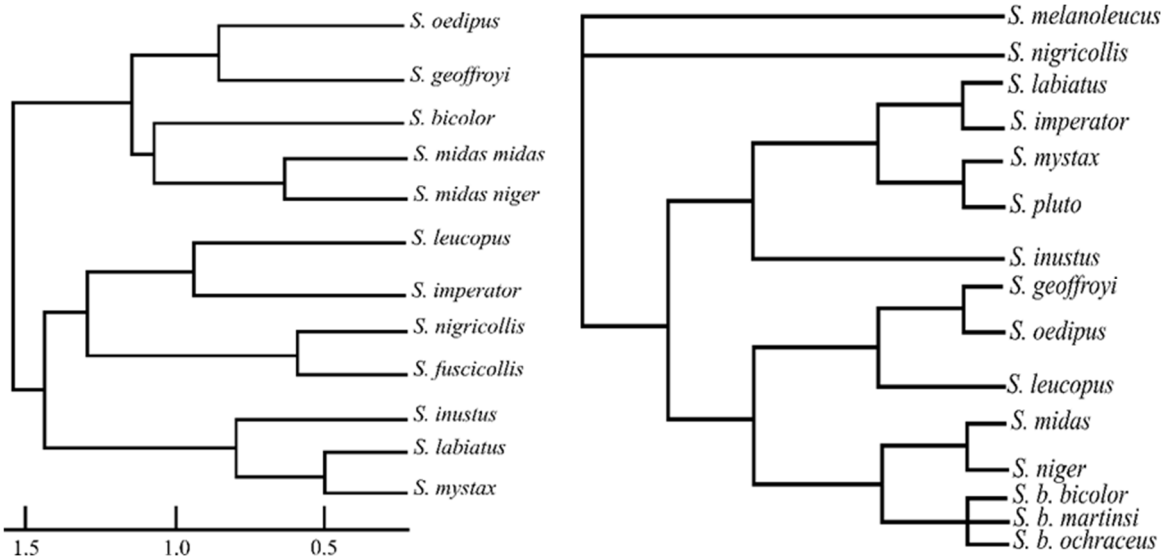


Figura 2. Filogenia de *Saguinus*. A filogenia da esquerda foi obtida a partir da morfologia dentária (Natori e Hanihara, 1992). A filogenia da direita é de dados mitocondriais (Cropp et al. 1999). Notar as relações de *S. inustus* com o grupo *S. mystax*. (Redesenhado de Natori & Hanihara, 1992 e, de Croop et al. 1999)

Já a filogenia a partir de proteínas, marcadores mitocondriais e nucleares evidenciaram dois grandes clados dentro do gênero *Saguinus* (Jacobs et al. 1995; Meireles et al. 1997; Canavez et al. 1999; Cropp et al. 1999; Tagliaro et al. 2005; Fabre et al. 2009; Matauschek et al. 2011; Perelman et al. 2011; Springer et al. 2012; Buckner et al. 2015). Esses clados recuperados dentro de *Saguinus* passaram a ser designados de acordo com o tamanho corporal, o clado de corpo pequeno corresponde ao grupo *S. nigricollis*, cujo peso corporal é menor que 450 g e, o restante das espécies está agrupado no clado de corpo grande, com peso corporal maior que 450 g (Figura 3) (Cropp et al. 1995; Matauschek et al. 2011; Buckner et al. 2015; Athaydes et al. 2021).

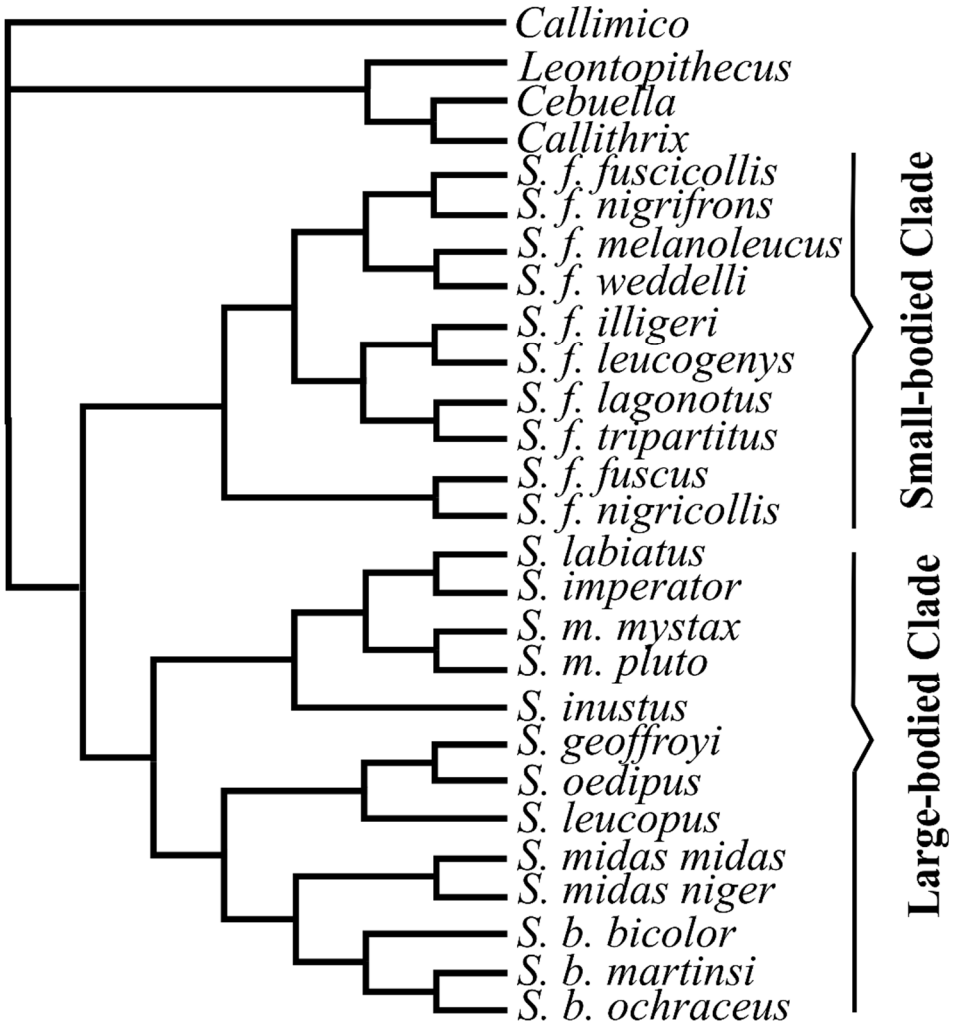


Figura 3. Filogenia molecular evidenciando os dois grandes clados de *Saguinus* (Redesenhado de Cropp et al. 1999).

Uma filogenia abrangente também evidenciou dois grandes grupos dentro do gênero *Saguinus*, os dois clados (clado de corpo pequeno e clado de corpo grande) possuem uma divergência de mais de 9 milhões de anos (Ma) (Figura 4) (Buckner et al. 2015). Essa divisão em dois grandes clados é apoiada por dados ecológicos e comportamentais (Yoneda, 1981; Terborgh, 1983; Yoneda, 1984; Garber, 1991, 1992; Peres, 1993, Bicca-Marques, 1999; Smith, 2000; Heymann and Buchanan-Smith, 2000; Nadjafzadeh and Heymann, 2008; Nyakatura and Heymann, 2010). Todos esses dados evidenciam histórias evolutivas distintas (Rylands et al. 2016).

A partir dessas evidências, houve a proposta da divisão de *Saguinus* em dois gêneros diferentes (Buckner et al. 2015). O grupo *S. nigricollis* ficou alocado no gênero *Leontocebus*, já o restante das espécies ficou alocada no gênero *Saguinus* (Buckner et al. 2015; Rylands et al. 2016).

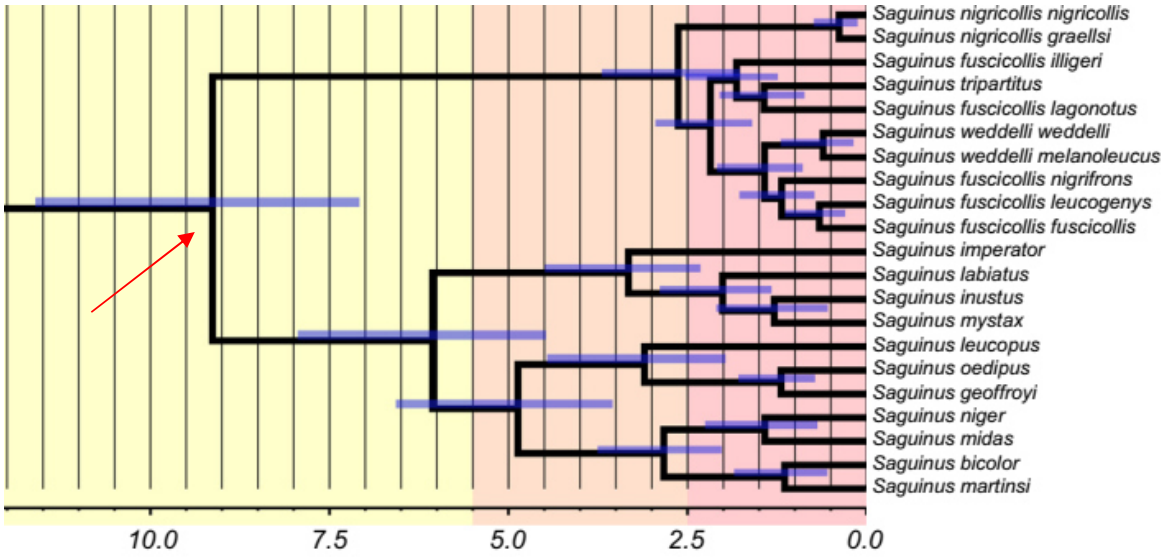


Figura 4. Filogenia calibrada no tempo da família Callitrichidae. Áreas coloridas referem-se aos principais períodos geológicos: amarelo - Mioceno, laranja - Plioceno, rosa - Pleistoceno. Barras azuis nos nós indicam a probabilidade posterior (95%). Seta vermelha indica a divergência entre os clados de corpo grande (*Saguinus*) e corpo pequeno (*Leontocebus*).

A atualização dos grupos de espécies dentro do gênero *Saguinus* indicou quatro grandes grupos: **grupo *S. mystax*** (*Saguinus mystax mystax* (Spix, 1823), *Saguinus mystax pileatus* (I. Geoffroy Saint-Hilaire & Deville, 1848), *Saguinus mystax pluto* (Lönnberg, 1926), *Saguinus labiatus labiatus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812)), *Saguinus labiatus thomasi* (Goeldi, 1907), *Saguinus labiatus rufiventer* (Gray, 1843), *Saguinus imperator imperator* (Goeldi, 1907), *Saguinus imperator subgrisescens* (Lönnberg, 1940) e *Saguinus inustus* (Schwarz, 1951); **grupo *S. oedipus*** (*Saguinus oedipus* (Linnaeus, 1758), *Saguinus geoffroyi* (Pucheran, 1845) e *Saguinus leucopus* (Günther, 1877); e, grupos ***S. midas* e *S. bicolor*** (*Saguinus midas* (Linnaeus, 1758), *Saguinus niger* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803), *Saguinus ursulus* Hoffmannsegg , 1807, *Saguinus bicolor* (Spix, 1823), *Saguinus martinsi martinsi* (Thomas, 1912), *Saguinus martinsi ochraceus* Hershkovitz, 1966 (Buckner et al. 2015; Rylands et al. 2016).

Mais recentemente, uma filogenia abrangente usando 44 marcadores moleculares encontrou uma profunda divergência entre os grupos de espécies de *Saguinus* (Brcko et al. 2022). Assim, foi proposto dividir o gênero *Saguinus* em três gêneros para acomodar cada um dos grupos de espécies. Para o primeiro grupo de espécies, que corresponde ao grupo *S. mystax*, foi proposto o gênero *Tamarinus* Trouessart 1904. Para o grupo *S. oedipus*, foi proposto o gênero *Oedipomidas* Reichenbach, 1840. O nome *Saguinus* ficou tornou-se disponível para as espécies dos grupos *S. midas*/*S. bicolor*, uma vez que este nome foi dado

pela primeira vez a uma espécie desse grupo. Esta divisão é suportada por dados morfológicos, ecológicos e biogeográficos (Brcko et al. 2022).

Embora tenha havido atualização da taxonomia das espécies dos gêneros *Oedipomidas* e *Saguinus* a taxonomia do gênero *Tamarinus* permaneceu praticamente inalterada desde o estudo seminal de Hershkovitz (1977). O gênero *Tamarinus* é composto por quatro espécies e oito subespécies: (*Tamarinus mystax mystax* (Spix, 1823), *Tamarinus mystax pileatus* (I. Geoffroy Saint-Hilaire & Deville, 1848), *Tamarinus mystax pluto* (Lönnberg, 1926), *Tamarinus labiatus labiatus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812)), *Tamarinus labiatus thomasi* (Goeldi, 1907), *Tamarinus labiatus rufiventer* (Gray, 1843), *Tamarinus imperator imperator* (Goeldi, 1907), *Tamarinus imperator subgrisescens* (Lönnberg, 1940) e *Tamarinus inustus* (Schwarz, 1951); (Hershkovitz, 1977; 1979; Groves, 2001).

Além disso, há escassez de amostras de algumas subespécies do gênero *Tamarinus*, o que restringiu as hipóteses filogenéticas, bem como a atualização da taxonomia. Assim, as filogenias moleculares já propostas foram limitadas pela ausência da de todos os integrantes do gênero *Tamarinus*, com hipóteses filogenéticas conflitantes (Buckner et al. 2015; Athaydes et al. 2021).

A maioria dos representantes do gênero *Tamarinus* está distribuída ao sul do rio Solimões/Amazonas, na área de endemismo Inambari, na Amazônia ocidental. Todas as espécies/subespécies tem suas distribuições limitadas pelos rios (Hershkovitz, 1977). As espécies de *Tamarinus* são encontradas principalmente em florestas de terra firme (Peres 1997) e, são altamente propensas à divisão por barreiras geográficas (Rylands et al., 1993). Assim, as espécies deste gênero são modelos ideais para testar hipóteses biogeográficas, bem como ajudar a elucidar os mecanismos de diversificação da biota amazônica. Embora tenha havido propostas biogeográficas para a diversificação das espécies do gênero *Tamarinus* (Croop et al., 1999; Buckner et al., 2015; Athaydes et al., 2021), os estudos foram limitados pela ausência de alguns táxons, uma vez que este gênero comporta nove espécies atualmente (Lopes et al., 2021), isso pode ter enviesado as hipóteses filogenéticas e biogeográficas propostas. Aqui, pretendemos realizar testes de hipóteses para explicar a diversificação do gênero *Tamarinus*, utilizando todas as espécies e subespécies, a fim de elucidar sua diversificação, bem como uma possível relação com a formação dos rios da Amazônia.

Os avanços recentes sobre as relações filogenéticas, biogeografia e taxonomia dos primatas neotropicais são devidos principalmente à aplicação de técnicas moleculares (Matauschek et al. 2011; Boubli et al. 2012; Lynch Alfaro et al. 2012ab, Boubli et al. 2015; Buckner et al. 2015; Lynch Alfaro et al. 2015; Mercês et al. 2015; Sampaio et al. 2015; Byrne et al. 2016; Carneiro et l. 2016; Lima et al. 2017; Boubli et al. 2018; Byrne et al. 2018; Carneiro et al. 2018; Lima et al. 2018; Silva et al. 2018; Boubli et al. 2019; Carneiro et al. 2020; Byrne et al. 2021; Boubli et al. 2021; Costa-Araújo et al. 2021; Rohe 2021; Rohe et al. 2021 em preparação; Brcko et al. 2022; Martins-Junior et al. 2022; Silva et al. 2022). Mais recentemente as filogenias baseadas em sequenciamento de alto rendimento, como a representação reduzida do genoma, têm gerado dados multilocus em escala genômica que tem esclarecido as relações filogenéticas de várias espécies de primatas (Sampaio et al. 2015; Lima et al. 2017; Boubli et al. 2018; Boubli et al. 2019; Boubli et al. 2021; Costa-Araújo et al., 2019, 2021; Rohe et al. 2021). Essa técnica permite podem gerar grandes volumes de dados de todo o genoma a um custo menor que as técnicas tradicionais, além disso, não é necessário um genoma de referência e, os dados podem ser prontamente coletados de organismos não-modelo (Davey & Blaxter 2010).

Assim, neste estudo pretendemos esclarecer a história evolutiva, taxonomia e biogeografia do gênero *Tamarinus* utilizando DNA genômico (DDRad) de todos os táxons do grupo. Nosso estudo aborda uma ampla amostragem geográfica, uma vez que todas as espécies/subespécies foram amostradas, o que implica na resolução da filogenia, tempos de divergência e taxonomia ao nível de gênero e espécies, 45 anos após o estudo de Hershkovitz (1977).

Esta tese está organizada em três capítulos com objetivos específicos para abordar a história evolutiva usando dados genômicos. No primeiro capítulo tratamos da taxonomia de *Tamarinus mystax* e suas três subespécies (*T. m. mystax*, *T. m. pileatus* e, *T. m. pluto*. O segundo capítulo trata da sistemática molecular de todos os integrantes do gênero *Tamarinus*, além de propor uma atualização taxonomia para *Tamarinus imperator*. No terceiro capítulo realizamos uma reconstrução espaço temporal para elucidar a diversificação das espécies do gênero *Tamarinus*.

Objetivos

Objetivo geral

Esclarecer a história evolutiva, taxonomia e biogeografia do gênero *Tamarinus*.

Objetivos específicos

Revisar a taxonomia de *Tamarinus mystax*;

Propor uma filogenia para as espécies do gênero *Tamarinus* e, testar o status taxonômico de *Tamarinus imperator*;

Reconstrução a história biogeográfica espaço-temporal da diversificação das espécies do gênero *Tamarinus*.

Referências

Araripe, J., Tagliaro, C. H., Rego, P. S., Sampaio, I., Ferrari, S. F., Schneider, H. 2008. Molecular phylogenetics of large-bodied tamarins, *Saguinus* spp. (Primates, Platyrrhini). Zoologica Scripta 37: 461–467.

Bailey, W. J., Fitch, D. H. A., Tagle, D. A., Czelusniak, J., Slightom, J. L., Goodman, M. 1991. Molecular evolution of the psi-eta-globin gene locus: Gibbon phylogeny and the hominoid slowdown. Molecular Biology and Evolution 8: 155–184.

Barroso, C. M. L., Schneider, H., Schneider, M. P. C., Sampaio, I., Harada, M. L., Czelusniak, J., Goodman, M. 1997. Update on the phylogenetic systematics of New World monkeys: Further DNA evidence for placing the pygmy marmoset (*Cebuella*) within the marmoset genus *Callithrix*. International Journal of Primatology 18: 651–674.

Bicca-Marques, J. C. 1999. Hand specialization, sympatry, and mixed-species associations in callitrichines. Journal of Human Evolution 36: 349–378.

Boubli, J. P., Rylands, A. B., Farias, I. P., Alfaro, M. E., Lynch Alfaro J. W. 2012. *Cebus* Phylogenetic Relationships: A Preliminary Reassessment of the Diversity of the Untufted Capuchin Monkeys. American Journal of Primatology 74: 381-394.

Boubli, J. P., Ribas, C., Lynch-Alfaro, J., Silva, M. N. F., Pinho, G. M., Farias, I. P. 2015. Spatial and temporal patterns of diversification in the Amazon: a test of the riverine hypothesis for all diurnal primates of Rio Negro and Rio Branco in Brazil. Molecular Phylogenetics and Evolution 82(B): 400–412.

Boubli, J. P., Silva, M. N. F., Rylands, A. B., Nash, S. D., Bertuol, F., Nunes, M., Mittermeier, R.A., Byrne, H., Silva, F. E., Röhe, F., Sampaio, I., Schneider, H., Farias, I. P., Hrbek, T. 2018. How many pygmy marmoset (*Cebuella* Gray, 1870) species are there? A taxonomic re–appraisal based on new molecular evidence. Molecular Phylogenetics and Evolution 120: 170–182.

Boubli, J. P., Byrne, H., Silva, M. N. F., Silva-Júnior, J., Costa-Araújo, R., Bertuol, F., Gonçalves, J., Melo, F. R., Rylands, A. B., Mittermeier, R. A., Silva, F. E., Nash, S. D., Canale, G., Alencar, R. M., Rossi, R. V., Carneiro, J., Sampaio, I, Farias, I. P., Schneider, H., Hrbek, T. 2019. On a new species of titi monkey (Primates: *Plecturocebus* Byrne et al., 2016), from Alta Floresta, southern Amazon, Brazil. Molecular Phylogenetics and Evolution 132: 117-137.

Boubli, J. P., Janiak, M. C., Porter, L. M., De La Torre, S., Cortés-Ortiz, L., Silva, M. N. F., Rylands, A. B., Nash, S., Bertuol, F., Byrne, H., Silva, F. E., Rohe, F., de Vries, D., Beck, R. M. D., Ruiz-Gartzia, I., Kuderna, L. F. K., Marques-Bonet, T., Hrbek, T., Farias, I., Van Heteren, A. H., Roos, C. 2021. Ancient DNA of the pygmy marmoset type specimen *Cebuella pygmaea* (Spix, 1823) resolves a taxonomic conundrum. Zoological Research 42: 761–771.

Bouckaert, R., Heled, J., Kühnert, D., Vaughan, T., Wu, C., Xie, D., Suchard, M., Rambaut, A., Drummond A. BEAST2: A software platform for Bayesian evolutionary analysis. PLoS Computational Biology 10: 1–6.

Brcko, I. C., Carneiro, J., Ruiz-García, M., Boubli J. P., Silva-Júnior J. S., Farias, I., Hrbek, T., Schneider, H., Sampaio, I. 2022. Phylogenetics and an updated taxonomic status of the Tamarins (Callitrichinae, Cebidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 173: 107504.

Buckner, J. C., Lynch Alfaro, J., Rylands, A. B., Alfaro, M. E. 2015. Biogeography of the marmosets and tamarins (Callitrichidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 82(B): 413–425.

Byrne, H., Rylands, A. B., Carneiro, J. C., Alfaro, J. W. L., Bertuol, F., Silva, M. N. F., Messias, M., Groves, C. P., Mittermeier, R. A., Farias, I., Hrbek, T., Schneider, H., Sampaio, I., & Boubli, J. P. 2016. Phylogenetic relationships of the New World titi monkeys (*Callicebus*): First appraisal of taxonomy based on molecular evidence. Frontiers in Zoology 13: 1–25.

Byrne, H., Lynch Alfaro, J. W., Sampaio, I., Farias I., Schneider, H., Hrbek,T., Boubli J. P. (2018). Titi monkey biogeography: parallel Pleistocene spread by *Plecturocebus* and *Cheracebus* into a post-Pebas Western Amazon. Zoologica Scripta 47: 499–517.

Byrne, H., Costa-Araújo, R., Farias, I. P., Silva, M. N. F., Messias, M. R., Hrbek, T., Boubli, J. P. 2021. Uncertainty Regarding Species Delimitation, Geographic Distribution, and the Evolutionary History of South-Central Amazonian Titi Monkey Species (*Plecturocebus*, Pitheciidae). International Journal Of Primatology.

Cabrera, A. 1957. Catalogo de los mamíferos de América del Sur. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” 4:1–307

Canavez, F. C., Moreira, M. A. M., Simon, F., Parham, P., Seuañez, H. N. 1999. Phylogenetic relationships of the Callitrichinae (Platyrrhini, Primates) based on ß2–microglobulin DNA sequences. American Journal of Primatology 48: 225–236.

Carneiro, J., Silva, Jr., J. S., Sampaio, I., Pissinatti, A., Hrbek, T., Messias, M. R., Rohe, F., Farias, I., Boubli, J., Schneider, H. 2016. Phylogeny of the titi monkeys of the *Callicebus moloch* group (Pitheciidae, Primates). American Journal of Primatology 78: 904–913.

Carneiro, J., Sampaio, I., Silva, Jr., J. S., Farias, I., Hrbek, T., Pissinatti, A., Silva, R., Martins-Junior, A., Boubli, J., Ferrari, S. F., Ferrari, S. F. 2018. Phylogeny, molecular dating and zoogeographic history of the titi monkeys (*Callicebus*, Pitheciidae) of Eastern Brazil. Molecular Phylogenetics and Evolution 124: 10–15.

Carneiro, J., Sampaio, I., Lima, T., Silva-Júnior, J. S., Farias, I., Hrbek, T., Valsecchi, J., Boubli, J., Schneider, H. 2020. Phylogenetic relationships in the genus *Cheracebus* (Callicebinae, Pitheciidae). American Journal of Primatology 82: e23167.

Cartmill, M. 1974. Pads and claws in arboreal locomotion. In: Jenkins, F. A. (Ed.) Primate Locomotion, p. 45–83. New York: Academic Press.

Costa-Araújo, R., Melo, F. R., Canale, G. R., Hernández-Rangel, S. M., Messias, M. R., Rossi, R. V., Silva, F. E., Silva, M. N. F., Nash, S. D, Boubli, J. P., Farias, I. P., Hrbek, T. 2019. The Munduruku marmoset: A new monkey species from southern Amazonia. PeerJ. 7: e7019.

Costa-Araújo, R., Silva-Jr. JS, Boubli, J. P., Rossi, R. V., Canale, G. R., Melo, F. R., Bertuol, F., Silva, F. E., Silva, D. A., Nash, S. D., Sampaio, I., Farias, I. P., Hrbek, T. 2021. An integrative analysis uncovers a new, pseudo-cryptic species of Amazonian marmoset (Primates: Callitrichidae: *Mico*) from the arc of deforestation. Scientific Reports 11: 15665.

Cropp, S. J., Larson, A., Cheverud, J. M. 1999. Historical biogeography of tamarins, genus *Saguinus*: the molecular phylogenetic evidence. American Journal of Physical Anthropology 108: 65–89.

Cunha, D. B., Monteiro, E., Vallinoto, M., Sampaio, I., Ferrari, S. F., Schneider, H. 2011. A molecular phylogeny of the tamarins (genus *Saguinus*) based on five nuclear sequence data from regions contain Alu insertions. American Journal of Physical Anthropology, 146: 385–391.

Davey, J. W., Blaxter, M. L. 2010. RADSeq: next-generation population genetics. Briefings in Functional Genomics 9: 416–423.

Dollman, G. 1933. Primates. Serie 3. British Museum Natural History, London.

Elliot, D. G. 1913. A review of the primates. Monograph no. 1 Vols. 1, 2 and 3. New York: American Museum of Natural History.

Fabre, P. H, Rodrigues, A., Douzery, E. J. P. 2009. Patterns of macroevolution among Primates inferred from a supermatrix of mitochondrial and nuclear DNA. Molecular Phylogenetics and Evolution 53: 808–825.

Ford, S. M. 1980. Callitrichids as phyletic dwarfs, and the place of the Callitrichidae in Platyrrhini. Primates 21: 31–43.

Ford, S. M. 1986. Systematics of the New World monkeys. In: Swindler, D. R., Erwin, J. (Eds). Comparative Primate Biology. Volume I: Systematics, Evolution and Anatomy, p. 73–135. New York: Alan R. Liss.

Ford, S. M., Davis, L. C. 2009. Marmoset postcrania and the skeleton of the Dwarf Marmoset, *Callibella humilis*. In: Ford, S. M., Porter, L. M., Davis, L. C. (Eds.) The Smallest Anthropoids, p. 411–448. New York: Springer.

Garber, P. A. 1991. A comparative study of positional behavior in three species of tamarin monkeys. Primates 32: 219–230.

Garber, P. A. 1992. Vertical clinging, small body size, and the evolution of feeding adaptations in the Callitrichinae. American Journal of Physical Anthropology 88: 469–482.

Goodman, M., Porter, C. A., Czelusniak, J., Page, S. L., Schneider, H., Shoshani, J., Gunnell, G., Groves, C. P. 1998. Toward a phylogenetic classification of Primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. Molecular Phylogenetics and Evolution 9: 585–598.

Groves CP. 2001. Primate taxonomy. Smithsonian Institution Press, Washington.

Groves, C. 2017. Primates (Taxonomy). In: Fuentes, A. (Ed.). The International Encyclopedia of Primatology, p. 1–9. Hoboken: Wiley.

Harada, M. L., Schneider, H., Schneider, M. P. C., Sampaio, I., Czelusniak, J., Goodman, M. 1995. DNA evidence on the phylogenetic systematics of New World monkeys: support for the sistergrouping of *Cebus* and *Saimiri* from two unlinked nuclear genes. Molecular Phylogenetics and Evolution 4: 331–349.

Hamlett, G. W. D., Wislocki, G. B. 1934. A proposed classification for types of twins in mammals. The Anatomical Record 61: 81–96.

Hampton, S. H., 1975. Placental development in the marmoset. In: Kondo, S., Kawai, M., Ehara, A. Contemporary Primatology, Basel: Karger, p. 106–114.

Hershkovitz, P. 1968. Metachromism or the principle of evolutionary change in mammalian tegumentary colors. Evolution 22: 556–575.

Hershkovitz, P. 1970. Notes on Tertiary platyrrhine monkeys and description of a new genus from the late Miocene of Colombia. Folia Primatologica 12: 1–37.

Hershkovitz, P. 1972. Notes on New World Monkeys. International Zoo Yearbook, 12: 3–12.

Hershkovitz, P. 1977. Living New World monkeys, Part 1 (Platyrrhini) with an introduction to primates, Volume 1. Chicago: Chicago University Press.

Hershkovitz, P. 1979. Races of the emperor tamarin, *Saguinus imperator* Göeldi Callitrichidae, Primates). Primates 20: 277–287.

Heymann, E. W., Buchanan-Smith, H. M. 2000. The behavioural ecology of mixed-species troops of 192 callitrichine primates. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society 75: 169–190

Hill, W. C. O. 1955. Primates: Comparative Anatomy and Taxonomy. II. Haplorhini: Tarsioidea. Edinburgh: Edinburgh University Press.

Hill, W. C. O. 1957. Primates: Comparative Anatomy and Taxonomy III. Hapalidae. Edinburgh: Edinburgh University Press.

Hill, W. C. O. 1960. Primates: Comparative Anatomy and Taxonomy IV. Cebidae part A. Edinburgh: Edinburgh University Press.

Hill, W. C. O. 1962. Primates: comparative anatomy and taxonomy V. Cebidae part B. Edinburgh: Edinburgh University Press.

Jacobs, C. S., Larson, A., Cheverud, J. M. 1995. Phylogenetic relationships and orthogenetic evolution of coat color among tamarins (genus *Saguinus*). Systematic Biology 44: 519–532.

Kay, R. F. 1990. The phyletic relationships of extant and fossil Pitheciinae (Platyrrhini, Anthropoidea). Journal of Human Evolution 19: 175–208.

Leutenegger, W. 1973. Maternal-fetal weight relationships in Primates. Folia Primatologica 20: 280–293.

Leutenegger, W. 1980. Monogamy in callitrichids: a consequence of phyletic dwarfism? International Journal of Primatology 1: 95–98.

Lima, M. G. M., Buckner, J. C., Silva-Junior, J. S., Aleixo, A., Martins, A., Boubli, J. P., Link, A., Farias, I. P., Silva, M. N., Röhe, F., Queiroz, H., Chiou, K. L., Di Fiore, A., Alfaro, M. E., Lynch Alfaro, J. W. 2017. Capuchin monkey biogeography: Understanding Sapajus Pleistocene range expansion and the current sympatry between *Cebus* and *Sapajus*. Journal of Biogeography 44, 810–820.

Lima, M. G. M., Silva-Júnior, J. S., Černý, D., Buckner, J. C., Aleixo, A., Chang, J, Zheng, J., Alfaro, M. E., Martins, A., Di Fiore, A., Boubli, J. P., Lynch Alfaro, J. W. 2018. A phylogenomic perspective on the robust capuchin monkey (*Sapajus*) radiation: First evidence for extensive population admixture across South America. Molecular Phylogenetics and Evolution 124, 137–150.

Lynch Alfaro, J. W., Boubli, J. P., Olson, L. E., Di Fiore, A., Wilson, B., Gutiérrez-Espeleta, G. A., Chiou, K. L., Schulte, M., Neitzel, S., Ross, V., Schwochow, D., Nguyen, M. T. T., Farias, I., Janson, C. H., Alfaro, M. E. 2012a. Explosive Pleistocene range expansion leads to widespread Amazonian sympatry between robust and gracile capuchin monkeys. Journal of Biogeography 39: 272–288.

Lynch Alfaro, J. W., Silva, Jr. J. S., Rylands, A. B. 2012b. How different are robust and gracile capuchin monkeys? An argument for the use of *Sapajus* and *Cebus*. American Journal of Primatology 74: 273–286.

Lynch Alfaro, J. W., Boubli, J. P., Paim, F. P., Ribas, C. C., Silva, M. N. F., Messias, M., Röhe, F., Mercês, M. P., Silva Júnior, J. S., Silva, C. R., Pinho, G. M., Koshkarian, G., Nguyen, M. T. T., Harada, M. L., Rabelo, R. M., Queiroz, H. L., Alfaro, M. E., Farias, I. P. 2015. Biogeography of squirrel monkeys (genus *Saimiri*): south-central Amazon origin and rapid pan-Amazonian diversification of a lowland primate. Molecular Phylogenetics and Evolution 82 (Part B): 436–454.

Martin, R. D. 1990. Primate Origins and Evolution: A Phylogenetic Reconstruction. Princeton: Princeton University Press.

Martins-Junior, A. M. G., Sampaio, I., Silva, A., Boubli, J., Hrbek, T., Farias, I., Ruiz-García, M., Schneider, H. 2022. Out of the shadows: Multilocus systematics and biogeography of night monkeys suggest a Central Amazonian origin and a very recent widespread southeastward expansion in South America. Molecular Phylogenetics and Evolution 170: 107426.

Matauschek, C., Roos, C., Heymann, E.W. 2011. Mitochondrial phylogeny of tamarins (*Saguinus* Hoffmannsegg, 1807) with taxonomic and biogeographic implications for the *S. nigricollis* species group. American Journal of Physical Anthropology 144: 564–574.

Mercês, M. P., Lynch Alfaro, J. W., Ferreira, W. A. S., Harada, M. L., Silva, Jr., J. S. 2015. Morphology and mitochondrial phylogenetics reveal that the Amazon River separates two eastern squirrel monkey species: *Saimiri sciureus* and *S. collinsi*. Molecular Phylogenetics and Evolution 82 (Part B): 426–435.

Meireles, C., Sampaio, I., Schneider, H., Ferrari, S. F., Coimbra-Filho, A.F., Pissinatti, A., Schneider, M. P. C. 1997. A comparative study of eleven protein systems in tamarins, genus *Saguinus* (Platyrrhini, Callitrichinae). Brazilian Journal of Genetics 20: 13–19.

Moynihan, M. 1976. The New World primates: adaptive radiation and the evolution of social behavior, languages, and intelligence. Princeton: Princeton University Press.

Nadjafzadeh, M. N., Heymann, E. W. 2008. Prey foraging of red titi monkeys, *Callicebus cupreus*, in comparison to sympatric tamarins, *Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*. American Journal of Physical Anthropology 135: 56–63.

Napier, J. S., Napier, P. H. 1967. A handbook of living primates. London: Academic Press.

Natori, M., Hanihara, T. 1988. An analysis of interspecific relationships of *Saguinus* based on cranial measurements. Primates 29: 255–262.

Natori, M., Hanihara, T. 1992. Variations in dental measurements between *Saguinus* species and their systematic relationships. Folia Primatologica 58: 84–92.

Nyakatura, J. A., Heymann, E. W. 2010. Effects of support size and orientation on symmetric gaits in free-ranging tamarins of Amazonian Peru: implications for the functional significance of primate gait sequence patterns. Journal of Human Evolution 58: 242–251.

Perelman, P., Johnson, W. E., Roos, C., Seuánez, H. N., Horvath, J. E., Moreira, M. A. M., Kessing, B., Pontius, J., Roelke, M., Rumpler, Y., Schneider, M. P. C., Silva, A., O'Brien, S. J., Pecon-Slattery, J. 2011. A molecular phylogeny of living primates. PLoS Genetics 73: e1001342.

Peres, C. A. 1993. Diet and feeding ecology of saddle-back (*Saguinus fuscicollis*) and moustached (*S. mystax*) tamarins in Amazonian terra firme forest. Journal of Zoology 230: 567–592.

Pocock, R. I. 1917. The genera of the Hapalidae. Journal of Natural History Series 8 20: 247–258.

Pocock, R. I. 1918. On the external characters of the lemurs and of *Tarsius*. Proceedings of the Zoological Society of London 88: 19–53.
Pocock, R. I. 1920. On the external characters of the South American monkeys. Proceedings of the Zoological Society of London 3: 91–113.

Pocock, R. I. 1925. Additional notes of the external characters of some platyrrhine monkeys. Proceedings of the Zoological Society of London 95:27–47.

Rohe, F. (2021). Sistemática molecular e biogeografia do gênero *Leontocebus* Wagner, 1839 (Callithrichidae-Primates). PhD Thesis. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

Rohe et al., (em preparação). Molecular systematics and taxonomy of the genus *Leontocebus* (Platyrrhini, Primates), the small-bodied tamarins from the western Amazon. Molecular Phylogenetics and Evolution.

Rosenberger, A. L. 1981. Systematics: the higher taxa. In: Coimbra-Filho, A. F., Mittermeier, R. A. (Eds). Ecology and Behavior of Neotropical Primates, p. 9–27. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências

Rosenberger, A. L. 1984. Aspects of the systematics and evolution of the marmosets. In: Melo, M. T. A Primatologia no Brasil. Brasília: Sociedade Brasileira de Primatologia, p 159–180.

Rylands, A. B., Heymann, E. W., Lynch-Alfaro, J., Buckner, J. C., Roos, C., Matauschek, C., Boubli, J. P., Sampaio, R., Mittermeier, R. A. 2016. Taxonomic review of the New World tamarins (Primates: Callitrichidae). Zoological Journal of the Linnean Society 177: 1003–1028.

Sampaio, R., Röhe, F., Pinho, G., Silva-Júnior, J. S., Farias, I. P., Rylands, A. B. 2015. Re–description and assessment of the taxonomic status of *Saguinus fuscicollis cruzlimai* Hershkovitz, 1966 (Primates, Callitrichinae). Primates 56: 131–144.

Schneider, H., Schneider, M. P. C., Sampaio, I., Harada, M. L., Stanhope, M., Czelusniak, J., Goodman, M. 1993. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, Primates). Molecular Phylogenetics and Evolution 2: 225–242.

Schneider, H. 2000. The current status of the New World monkey phylogeny. Anais da Academia Brasileira de Ciências 72, 165–172.

Schultz, A. H. 1948. The number of young at birth and the number of nipples in primates. American Journal of Physical Anthropology 6: 1–23.

Silva, F. E., Costa-Araújo, R., Boubli, J. P., Santana, M. I., Franco, C. L. B., Bertuol, F., Nunes, H., Silva-Júnior, J. S., Farias, I., Hrbek, T. 2018. In search of a meaningful classification for Amazonian marmosets: Should dwarf marmosets be considered *Mico* congenerics. Zoologica Scripta 47: 133–143.

Silva, F. E., Valsecchi, J., Roos, C., Bowler, M., Röhe, F., Sampaio, R., Janiak, M. C., Bertuol, F., Santana, M. I., Silva, J. S., Júnior, Rylands, A. B., Gubili, C., Hrbek, T., McDevitt, A. D., Boubli, J. P. 2022. Molecular phylogeny and systematics of bald uakaris, genus *Cacajao* Lesson, 1840 (Primates: Pitheciidae), with the description of a new species. Molecular Phylogenetics and Evolution 173: 107509.

Simpson, G. G. 1945. The principles of classification and a classification of mammals. Bullettin of the American Museum of Natural History 85:1–350.

Smith, A. C. 2000. Interspecific differences in prey captured by associating saddleback (*Saguinus fuscicollis*) and moustached (*Saguinus mystax*) tamarins. Journal of Zoology 251: 315–324.

Springer, M. S., Meredith, R. W., Gatesy, J., Emerling, C. A., Park, J., Rabosky, D. L., Stadler, T., Steiner, C., Ryder, O. A., Janeka, J. A., Fisher, C. A., Murphy, W. J. 2012. Macroevolutionary Dynamics and Historical Biogeography of Primate Diversification Inferred from a Species Supermatrix. Plos One 11: e49521.

Tagliaro, C. H., Schneider, H., Sampaio, I., Schneider, M. P. C., Vallinoto, M., Stanhope, M. 2005. Molecular phylogeny of the genus *Saguinus* (Platyrrhini, Primates) based on the ND1 mitochondrial gene and implications for conservation. Genetics and Molecular Biology 28: 46–53.

Terborgh, J. 1983. Five New World primates. A study in comparative ecology. Princeton: Princeton University Press.

Yoneda, M. 1981. Ecological studies of *Saguinus fuscicollis* and *Saguinus labiatus* with reference to habitat segregation and height preference. Kyoto University Overseas Research Reports of New World Monkeys 1981: 43–50.

Yoneda, M. 1984. Comparative studies on vertical separation, foraging behavior and traveling mode of saddle-backed tamarins (*Saguinus fuscicollis*) and red-chested moustached tamarins (*Saguinus labiatus*) in northern Bolivia. Primates 25: 414–422.

Zietkiewicz, E., Richer, C., Labuda, D. 1999. Phylogenetic affinities of tarsier in the context of primate Alu repeats. Molecular Phylogenetics and Evolution 11: 77–83.

Capítulo 1

PeerJ

Taxonomic review of *Saguinus mystax* (Spix, 1823) (Primates, Callitrichidae), and description of a new species

Gerson Paulino Lopes[1,2,3,4,*], Fábio Rohe[3,5,*], Fabrício Bertuol[3], Erico Polo[3], Ivan Junqueira Lima[4,6], João Valsecchi[2,4,7,8], Tamily Carvalho Melo Santos[4], Stephen D. Nash[9], Maria Nazareth Ferreira da Silva[10], Jean P. Boubli[10,11], Izeni Pires Farias[1,3] and Tomas Hrbek[1,3,12]

[1] Programa em Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil
[2] Grupo de Pesquisa em Ecologia e Conservação de Primatas, Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé, Amazonas, Brazil
[3] Laboratório de Evolução e Genética Animal/Departamento de Genética/Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil
[4] Grupo de Pesquisa em Ecologia de Vertebrados Terrestres, Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé, Amazonas, Brazil
[5] Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil
[6] Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil
[7] Rede de Pesquisa em Diversidade, Conservação e Uso da Fauna da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil
[8] Comunidad de Manejo de Fauna Silvestre en América Latina, Iquitos, Peru
[9] Department of Anatomical Sciences/Health Sciences Center, Stony Brook University, New York, United States of America
[10] Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brazil
[11] School of Science, Engineering and the Environment, University of Salford, Salford, United Kingdom
[12] Department of Biology, Trinity University, San Antonio, Texas, United States
* These authors contributed equally to this work.

Submitted 16 March 2022
Accepted 15 November 2022
Published 11 January 2023

Corresponding authors
Gerson Paulino Lopes,
gersonlps@hotmail.com
Tomas Hrbek,
tomas@evoamazon.net

Academic editor
Juan J. Morrone

Additional Information and Declarations can be found on page 19

DOI **10.7717/peerj.14526**

Copyright
2023 Lopes et al.

Distributed under
Creative Commons CC-BY 4.0

OPEN ACCESS

ABSTRACT

Although the Amazon has the greatest diversity of primates, there are still taxonomic uncertainties for many taxa, such as the species of the *Saguinus mystax* group. The most geographically broadly distributed and phenotypically diverse species in this group is *S. mystax*, and its phenotypic diversity has been recognized as three subspecies—*S. mystax mystax*, *S. mystax pileatus* and *S. mystax pluto*—with non-overlapping geographic distributions. In this sense, we carried out an extensive field survey in their distribution areas and used a framework of taxonomic hypothesis testing of genomic data combined with an integrative taxonomic decision-making framework to carry out a taxonomic revision of *S. mystax*. Our tests supported the existence of three lineages/species. The first species corresponds to *Saguinus mystax mystax* from the left bank of the Juruá River, which was raised to the species level, and we also discovered and described animals from the Juruá–Tefé interfluve previously attributed to *S. mystax mystax* as a new species. The subspecies *S. m. pileatus* and *S. m. pluto* are recognized as a single species, under a new nomenclatural combination. However, given their phenotypic distinction and allopatric

distribution, they potentially are a manifestation of an early stage of speciation, and therefore we maintain their subspecific designations.

Subjects Biodiversity, Bioinformatics, Molecular Biology, Taxonomy, Zoology
Keywords Platyrrhini, Phylogeny, New world monkeys, New species, Cryptic, Amazonian tamarin, Phylogenomic, Geographic distribution, Taxonomy, Species

INTRODUCTION

Marmosets and tamarins—species of the family Callitrichidae (*Rylands et al., 2000*, *2016*)—are the most morphologically distinct and smallest of Neotropical primates (*Hershkovitz, 1977*). Marmosets and tamarins are currently classified in eight genera: *Leontopithecus* Lesson, 1840, *Callimico* Miranda-Ribeiro, 1911, *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807, *Cebuella* Gray, 1866, *Callithrix* Erxleben, 1777, *Leontocebus* Wagner, 1839, *Mico* Lesson, 1840, and *Callibella* *van Roosmalen & van Roosmalen, 2003* (*Rylands et al., 2000*; *van Roosmalen & van Roosmalen, 2003*; *Buckner et al., 2015*; *Rylands et al., 2016*; *Silva et al., 2018*).

Tamarins of the genus *Saguinus* are distributed in forests of South and Central America (*Hershkovitz, 1977*; Fig. 1). Species of the genus *Saguinus* are currently organized into four species groups (*Rylands et al., 2016*): the *midas* group: *Saguinus midas* (Linnaeus, 1758), *Saguinus niger* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803), *Saguinus ursulus* Hoffmannsegg, 1807; the *bicolor* group: *Saguinus bicolor* (Spix, 1823), *Saguinus martinsi martinsi* (Thomas, 1912), *Saguinus martinsi ochraceus* Hershkovitz, 1966; the *oedipus* group: *Saguinus oedipus* (Linnaeus, 1758), *Saguinus geoffroyi* (Pucheran, 1845), and *Saguinus leucopus* (Günther, 1877); and the *mystax* group: *Saguinus mystax mystax* (Spix, 1823), *Saguinus mystax pileatus* (I. Geoffroy Saint-Hilaire & Deville, 1848), *Saguinus mystax pluto* (Lönnberg, 1926), *Saguinus labiatus labiatus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812), *Saguinus labiatus thomasi* (Goeldi, 1907), *Saguinus labiatus rufiventer* (Gray, 1843), *Saguinus imperator imperator* (Goeldi, 1907), *Saguinus imperator subgrisescens* (Lönnberg, 1940), and *Saguinus inustus* (Schwarz, 1951).

The *bicolor*, *midas* and *oedipus* groups have been subject to taxonomic revisions (*Hanihara & Natori, 1987*; *Kanazawa & Rosenberger, 1988*; *Skinner, 1991*; *Natori & Hanihara, 1992*; *Moore & Cheverud, 1992*; *Rylands, 1993*; *Vallinoto et al., 2006*; *Rylands & Mittermeier, 2009*; *Gregorin & Vivo, 2013*) since the seminal study of *Hershkovitz (1977)*. In contrast, the taxonomy of the *mystax* group has remained practically unchanged, and current taxonomy follows *Hershkovitz (1977)* who considered these taxa geographic races of the same species, hence relegating them to the subspecies status (*Rylands et al., 2016*). However, *Groves (2001)* noted that while *S. m. mystax* and *S. m. pluto* are quite similar to each other, *S. m. pileatus* is phenotypically divergent and therefore opinionated that it likely is a species. Following this logic, *Rylands & Mittermeier (2009)* opinionated that *S. m. mystax* and *S. m. pluto* are likely different species given that their areas of occurrence are separated by that of *S. m. pileatus* (Fig. 2). Taxonomic clarity and resolution

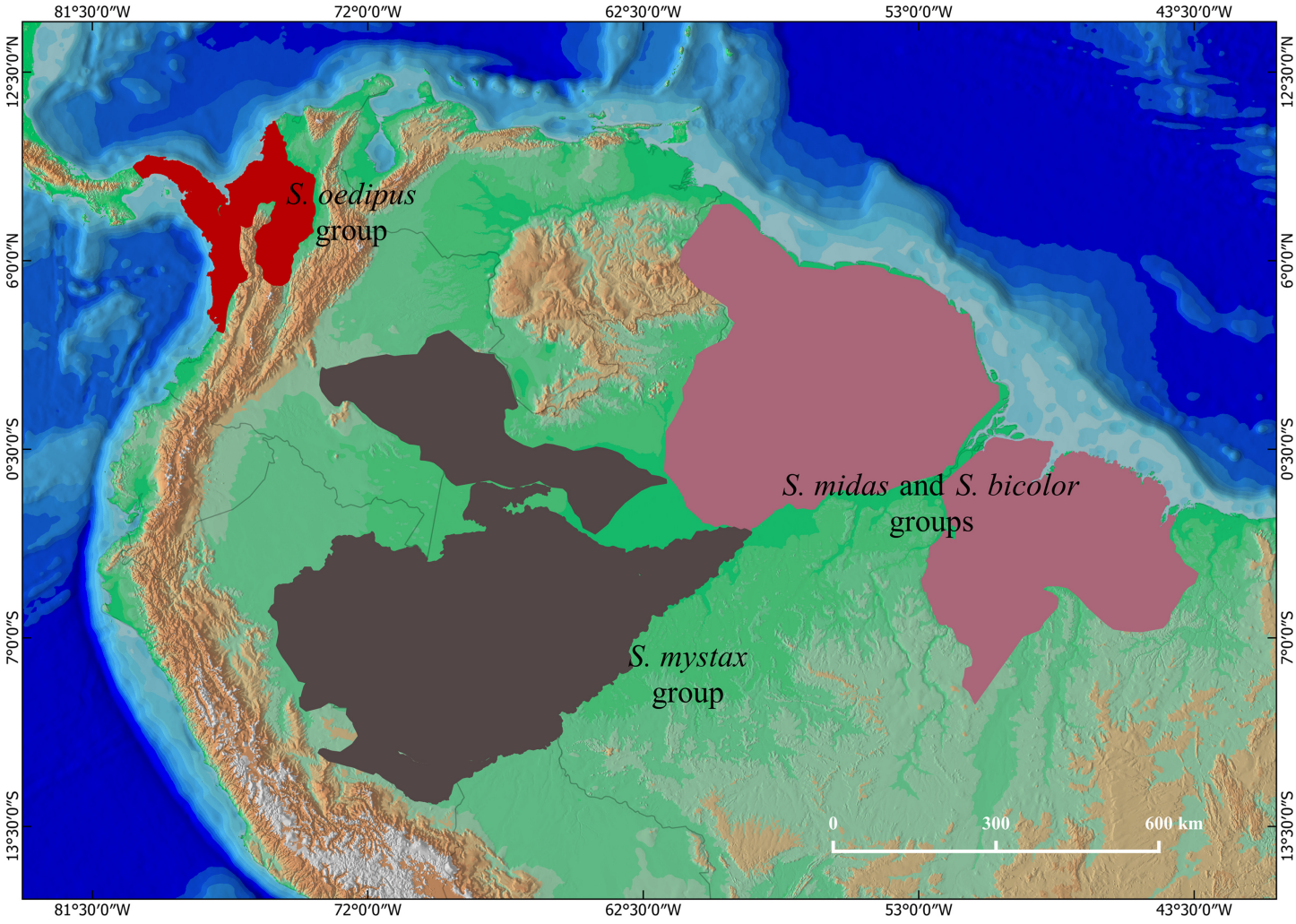


Figure 1 **The geographical distributions of *Saguinus*: the mystax group (brown), the *oedipus* group (red), and the *bicolor* and *midas* groups (purple).**
Full-size DOI: 10.7717/peerj.14526/fig-1

of this issue has, however, not advanced due to lack of specimens available for taxonomic analyses.

To clarify the taxonomy of subspecies of *Saguinus mystax*, we carried out extensive field surveys in their areas of distribution. During field surveys in the Juruá-Tefé interfluve, we observed that specimens of *S. m. mystax* from the right bank of the Juruá River differed in phenotype from the specimens from the left bank of this river (Figs. 3 and 4).

Considering the above, in this study we test the taxonomic hypothesis that the described taxa of *S. mystax* and the new morphotype are independent evolutionary lineages, *i.e.*, species (the General Lineage Species Concept of *de Queiroz, 1999*, *2007*). To this end, we generated double digest restriction associated DNA (ddRAD) data and used these data to conduct coalescent-based tests of taxonomic hypotheses (*Fujita et al., 2012*; *Leaché et al., 2014*). Subsequently we evaluated the results of these analyses in light of phenotypic coat color data and geographic distributions of the analyzed taxa.

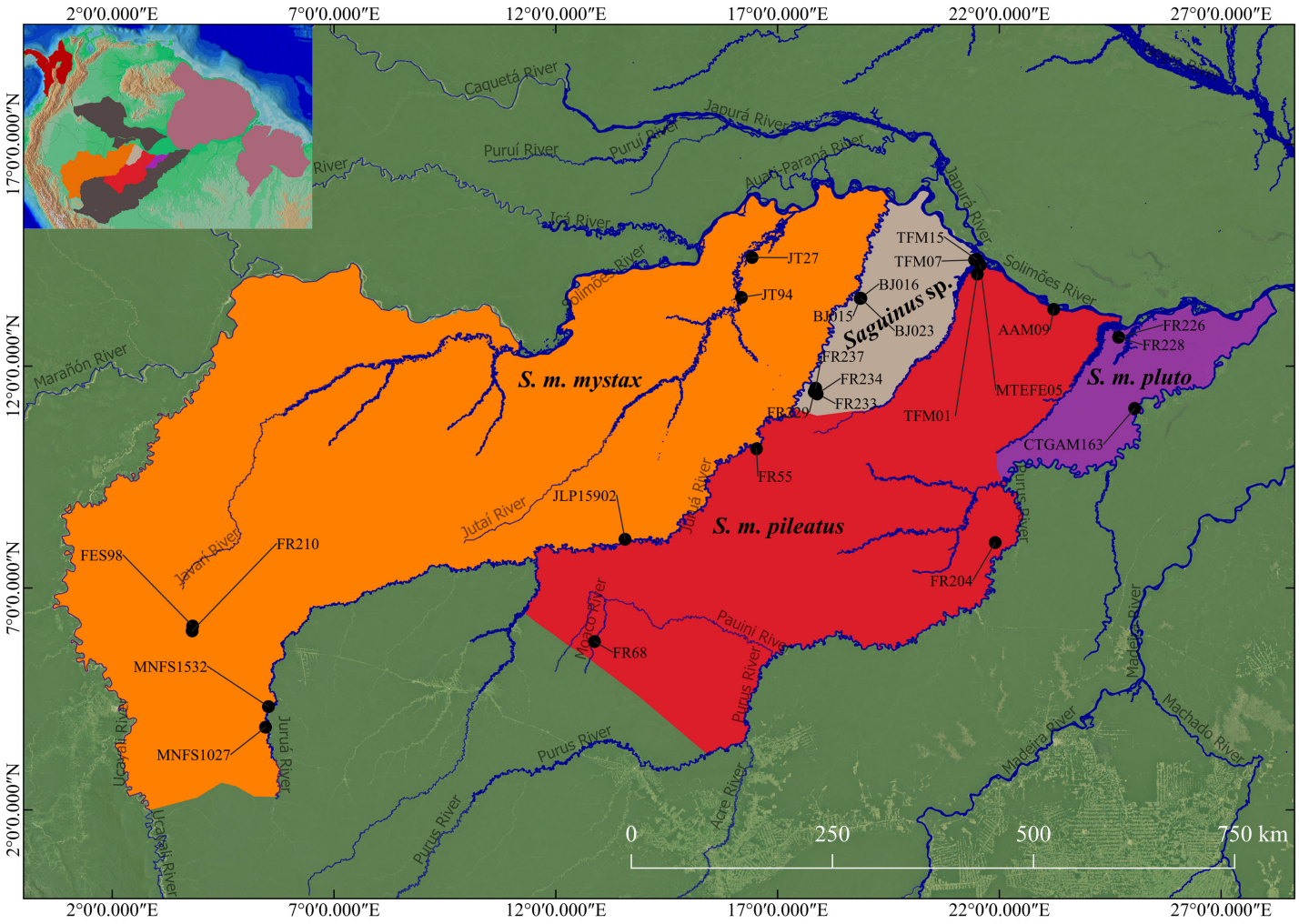


Figure 2 Geographic distribution of *S. mystax* subspecies and *Saguinus* sp. Black circles indicate location of genetic samples. Polygons modified from IUCN and *Sampaio, Rohe & Rylands (2018)*. Blue lines represent Amazonian rivers. The small map on superior side left shows the North of South America, and the distribution of *Saguinus* three species groups. Full-size DOI: 10.7717/peerj.14526/fig-2

MATERIALS AND METHODS

Specimen sampling

All analyzed specimens originated from museum collections. This study did not motivate the collection of these specimens. All specimens were collected under licenses granted by the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade/Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade and in accordance with the ethical recommendations of the Conselho Federal de Biologia (CFBio; Federal Council of Biologists), Resolution 301 (December 8, 2012).

Collection of phenotypic data

Using *Hershkovitz's (1968, 1977)* framework of chromogenetic fields (Fig. S1), we collected phenotypic data from specimens of *S. m. mystax*, *S. m. pluto*, *S. m. pileatus*, and *Saguinus* sp. Chromogenetic fields are defined as consistently distinct areas of the body identifiable



Figure 3 Coat color pattern of *Saguinus mystax* and *Saguinus sp*. analyzed in this study. Illustrations by Stephen D. Nash. Full-size DOI: 10.7717/peerj.14526/fig-3

by hair color and color patterns of the coat (*Hershkovitz, 1977*). Chromogenic fields have been found to be informative in taxonomic studies of callitrichids (*Hershkovitz, 1968*, *1977*; *Vivo, 1991*; *Mittermeier, Schwarz & Ayres, 1992*; *Silva & Noronha, 1998*; *Rohe et al., 2009*; *Sampaio et al., 2015*; *Garbino, 2015*; *Garbino & Martins-Junior, 2018*; *Costa-Araújo et al., 2019*, *2021*).

For each specimen we collected color and color pattern characteristics of each of the 11 chromogenetic fields. We considered color tones as character states. All data were collected in daylight conditions using the color codes of the *Munsell Color (2000)* and are summarized by taxon in Table 1. We examined 38 specimens deposited in the collections of the Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) and the Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá (IDSM); of these, 25 specimens were included in molecular analyses (Table S1).



Figure 4 **Dorsal views of skins of *Saguinus mystax* (left; IDSM03594) and *Saguinus* sp. (right; IDSM00067).** Full-size DOI: 10.7717/peerj.14526/fig-4

Collection of ddRAD data

We extracted DNA from tissues deposited at INPA, IDSM, and the Universidade Federal do Amazonas (UFAM). We extracted whole genomic DNA from tissue samples using the standard phenol-chloroform extraction protocol (*Sambrook & Russell, 2001*). We then generated ddRAD sequence data (*Peterson et al., 2012*) using a modified protocol optimized for the IonTorrent PGM described in *Boubli et al. (2018)* (see: https://github.com/legalLab/protocols-scripts). We generated data for 25 specimens of the *Saguinus mystax* species, including representatives of all described subspecies and spanning the known geographic distribution of the taxa within Brazil. We also generated data for three specimens of *Saguinus inustus*, an outgroup taxon. We used the *SdaI* and *Csp6I* restriction enzymes (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA), and size selected fragments in the range of 320–400 bp using PippinPrep (Sage Science, Beverly, MA, USA). Samples were sequenced on the IonTorrent PGM using the manufacturer's recommended protocol.

Table 1 Coat color pattern of taxa of the *Saguinus mystax* complex based on our specimen's examination.

Chromogenetic fields	S. *m. mystax*	*Saguinus* sp.	S. *m. pileatus*	S. *m. pluto*
I. Forehead	Light black	Light black	Reddish orange	Black
II. Crown	Light black	**Light black brown**	Reddish orange	Black
III. Temporal patch	Black	Black	Black	Black
IV. Mantle	Light black brown, subterminal band is orange, terminal band is black	**Light black brown, subterminal band is yellow, terminal band is black**	Light black brown with fine light brownish yellow or orange ticking	Black and ticked with light brownish yellow
V. Throat	Black	Black	Light black or brown	Black
VI. Chest	Black	Light black	Light black or brown	Light black
VII. Forelimbs	Black	**Light black brown, subterminal band is yellow, terminal band is black**	Light black	Light black and light brownish yellow
VIII. Saddle	Light black with orange	**Light black with brown**	Light black brown and light brownish yellow	Light black and light brownish yellow
IX. Rump	Light black with orange	**Light black with brown**	Light black brown and light brownish yellow	Light black and light brownish yellow
X. Hindlimbs	Light black with orange	**Light black with brown**	Light black	Light black and light brownish yellow
XI. Tail	Black	Black	Black	Black

Note:
Characters unique to *Saguinus* sp. are marked in bold.

Sequencing reads were processed using the pyRAD pipeline (*Eaton, 2014*). During *de novo* assembly, we used a minimum coverage of 6x per locus, assembling all fragments in the 300–400 bp range. Nucleotides with PHRED scores <30 were excluded, and loci with more than six low quality nucleotides were excluded. Subsequently we clustered alleles within loci and loci across individuals, both at a minimum of 88% similarity. Finally, we generated the final dataset by filtering the clusters such that all loci with more than 50% heterozygotes were excluded-likely paralogs, and the locus had to have been present in at least 19 of the 28 specimens. The resulting dataset contained 556 loci and 196,771 nucleotides. We subsequently statistically reduced the 556 loci into 163 partitions using PartitionFinder2 (*Lanfear et al. 2017*).

We also processed our raw reads using DiscoSnp-RAD (*Gauthier et al., 2020*), which uses De Bruijn graphs to circumvent the need for clustering of reads, reducing data loss due to low coverage within individuals. We extracted single nucleotide polymorphisms (SNPs) from our reads using a minimum read depth of five. Furthermore, we filtered these loci on rank (*Gauthier et al., 2020*), retaining those SNPs with rank >0.9—a statistic incorporating the discriminant power and read coverage of each SNP—and those that were present in at least 90% of the samples, *i.e.*, no more than two individuals had missing data at any particular SNP locus. The resulting variant call file (VCF) was filtered to retain all loci with 2–5 SNPs per locus following *Malinsky et al. (2018)* resulting in a 98.38% complete matrix comprising 158 uninked loci and 351 SNPs. We also filtered the original

VCF file to sample the highest quality SNP from each locus, generating a VCF of unlinked loci. The resulting matrix was 98.55% complete and comprised 4,550 unlinked loci.

Clustering analyses

An initial population structure analysis was performed using fineRADstructure (*Malinsky et al., 2018*) (Fig. S2). This method takes full advantage of ddRAD sequences by using all linked SNPs present at each locus to generate a co-ancestry table, and then uses Markov chains within a Bayesian framework to retrieve fine-scale groupings of individuals from this table. The MCMC chain for group definition was formed from 1 million steps, sampling every 1000th step, preceded by 1 million of burn-in steps. Convergence of the MCMC chain was verified visually.

Phylogenetic analyses

We used ASTRAL-III (*Zhang et al., 2018*) for phylogenetic reconstruction because it is fast, consistent with missing data (*Nute et al., 2018*) and considers the historical independence of different loci in a framework that takes incomplete lineage sorting into account (ILS). Furthermore, since ASTRAL-III constructs a supertree from pre-estimated gene trees, these can be inferred using the complete information contained in the ddRAD sequences. The estimation of gene trees was performed with RAxML (*Stamatakis, 2014*) using the Gamma GTR model of molecular evolution, from the best of 10 independent estimates of maximum likelihood trees and support values estimated from 100 bootstraps. Finally, before estimating the supertree in ASTRAL-III, following *Zhang, Sayyari & Mirarab (2017)* and *Mirarab (2019)* nodes with bootstrap support less than 10 were collapsed into polytomies using Newick Utilities (*Junier & Zdobnov, 2010*).

We also estimated a phylogeny using SVDquartets (*Chifman & Kubatko, 2014*) implemented in PAUP (*Swofford, 2002*). This method infers quartets based on summaries of SNPs in a concatenated sequence matrix of species using a full coalescent model. Sequences of *Saguinus inustus* were used as outgroup. We opted to use both methods since although both are fully coalescent methods of phylogenetic reconstruction, they have slightly different premises and use data in a different form (sequences *vs* SNPs).

Tests of taxonomic hypotheses

We carried out a path sampling analysis in BEAST2 (*Bouckaert et al., 2014*) testing competing taxonomic hypotheses derived from current taxonomy, our phylogenomic analyses and pelage color patterns. The potential taxa whose taxonomic status was tested were *S. m. mystax*, *S. m. pileatus*, *S. m. pluto* and *Saguinus* sp. The taxonomic hypotheses were: (1) one species—(*S. m. mystax* + *S. m. pileatus* + *S. m. pluto* + *Saguinus* sp.); (2) two species—(*S. m. mystax* + *Saguinus* sp., *S. m. pileatus* + *S. m. pluto*); (3) three species—(*S. m. mystax* + *Saguinus* sp., *S. m. pileatus*, *S. m. pluto*); (4) three species—(*S. m. mystax*, *Saguinus* sp., *S. m. pileatus* + *S. m. pluto*); (5) four species—(*S. m. mystax*, *Saguinus* sp., *S. m. pileatus*, *S. m. pluto*). Marginal probabilities of the competing taxonomic hypotheses were then compared by Bayes factors (*Kass & Raftery, 1995*).

RESULTS

Phenotypic analysis

Saguinus m. mystax, *S. m. pileatus*, *S. m. pluto* and *Saguinus* sp. were diagnosable by pelage color characters (Table 1; Fig. 3). Specimens of *Saguinus* sp. from the Juruá-Tefé interfluve showed a distinct set of diagnostic characters that differentiated these specimens from *Saguinus m. mystax* (Table 1; Figs. 3 and 4).

Phylogenetic analyses

Phylogenetic analyses carried out in ASTRAL-III and SVDQuartets were concordant and recovered three well-supported clades representing *S. m. mystax* from the left bank of the Juruá River, a clade from the right bank of the Juruá River—the Juruá-Tefé interfluve representing *Saguinus* sp., and a clade comprising *S. m. pileatus* and *S. m. pluto* (Fig. 5A). In the SVDQuartets analysis *S. m. pluto* was nested within *S. m. pileatus* (Fig. 5B), while in the ASTRAL-III analysis *S. m. pileatus* and *S. m. pluto* were recovered as monophyletic, however, the monophyly of *S. m. pileatus* was not supported (Fig. 5A).

Tests of taxonomic hypotheses

Taxonomic hypothesis testing indicated highest support for the existence of three species: *S. m. mystax*, *Saguinus* sp., and *S. m. pileatus* + *S. m. pluto*. Considering that a Bayes factor >10 is decisive (*Kass & Raftery, 1995*), the four species hypothesis (*S. m. mystax*, *Saguinus* sp., *S. m. pileatus*, *S. m. pluto*) was strongly rejected (BF = 100.92), as was the three species hypothesis compatible with current subspecific classification (*S. m. mystax* + *Saguinus* sp., *S. m. pileatus*, *S. m. pluto*) (BF = 116.64). All other taxonomic hypotheses were strongly rejected as well (Table 2).

The hypothesis that the subspecies of *Saguinus mystax* may represent taxa from independent evolutionary lineages is supported by phenotypic diagnoses and allopatric occurrence of the species. While *S. m. pileatus* and *S. m. pluto* were not supported as species, both taxa are morphologically diagnosable and are allopatrically distributed. Therefore, conservatively and in light of taxonomic stability, we maintain these two taxa as subspecies, until we can analyze additional geographically representative samples of *S. m. pluto*. The taxon *S. m. pileatus* was described by Saint-Hilaire & Deville in 1848 while the taxon *S. m. pluto* was described by Lönnberg in 1926. Consequently, the epithet *pileatus* takes precedence over *pluto* (*International Commission on Zoological Nomenclature, 1999*).

Taxonomy

Order Primates Linnaeus, 1758
Family Callitrichidae Thomas, 1903
Genus *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807

***Saguinus mystax* (Spix, 1823)**

Common name: Spix's Mustached Tamarin

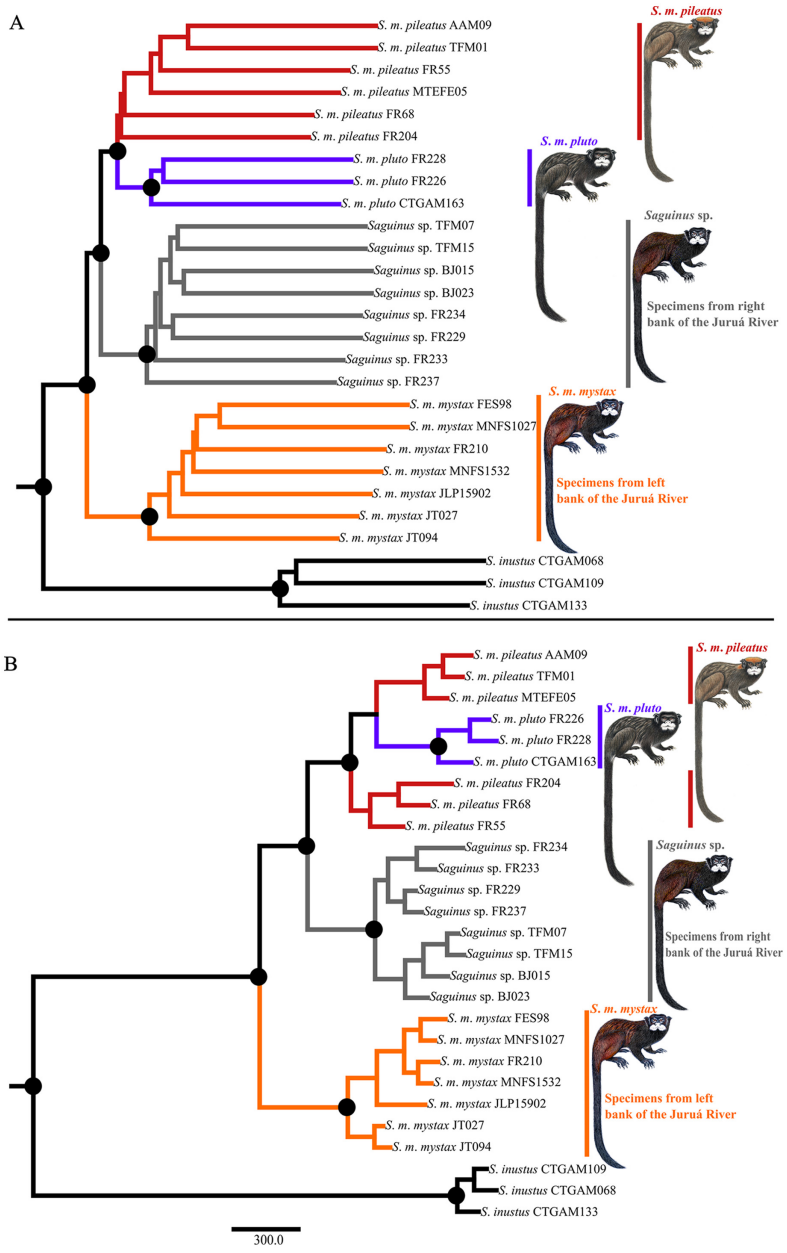


Figure 5 **Phylogeny of *Saguinus mystax*.** (A) ASTRAL-III phylogeny. (B) SVDquartet phylogeny. Black dots on major clades indicate supported clades *sensu* *Hillis & Bull (1993)*—support values >75%.
Full-size DOI: 10.7717/peerj.14526/fig-5

Description. Head light-black, skin of circumnarial and circumbucal area except at symphysis unpigmented and covered with comparatively long white hairs, whiskers well-developed, remainder of face pigmented or unpigmented and covered with black hairs. Mantle blackish brown with orange subterminal band, terminal band is black, basal one-fourth to one-half of hairs white and showing through irregularly at surface. Arms black, hairs of saddle, rump, and outer side of thighs light black with orange or ochraceus orange subterminal band. Lateral fringe like saddle, but basal portion of hairs drab or

Table 2 Test of taxonomic hypotheses using Path Sampling in BEAST2.

Hypothesis	Marginal likelihood	Bayes factor
One species* (*mystax*+sp.+*pileatus*+*pluto*)	−313,201.0512676738	278.979
Two species¤ (*mystax*, sp.+*pileatus*+*pluto*)	−313,099.0317716367	65.801
Three species§ (*mystax*, sp., *pileatus*+*pluto*)	−313,061.5617465277	–
Three species‡ (*mystax*+sp., *pileatus*, *pluto*)	−313,119.88354474324	116.6436
Four species† (*mystax*, sp., *pileatus*, *pluto*)	−313,112.0196339431	100.9158

Notes:
Differences in marginal likelihoods were evaluated using Bayes Factors. The three species (mystax, sp, pileatus+pluto) taxonomic hypothesis has the highest marginal likelihood and all other taxonomic hypotheses are decisively less likely.
* Current species hypothesis—*Saguinus mystax*.
¤ Conservative taxonomic hypothesis suggested two main clades of *Saguinus mystax*.
§ Taxonomic hypothesis suggested by ASTRAL and SVDquartet analyses.
‡ Current taxonomic hypothesis—one species with three subspecies.
† Taxonomic hypothesis suggested by coat color and color pattern characters—four taxa.

withish, and upper surface of hands and feet black. Underparts from middle of lower lip to belly and inner sides of limbs black to blackish brown. The tail is black, except the base that is like the rump. External genitalia mostly or entirely unpigmented and sparsely covered white hairs. We observed tonal variation in saddle, rump and hindlimbs in some individuals of *S. mystax*. This variation was attributed to individual variation.

Type locality: Near São Paulo de Olivença, south bank of the Solimões/Amazonas River, Amazonas, Brazil.

Synonyms

Midas mystax Spix, J.B. von. 1823. Sim. Vespert. Brasil., p. 29. pl. 22.
Jacchus labiatus Poeppig, E.F. 1831. Froriep Not. 32: 148.
H[*apale*] *mystax* Wagner, J.A. 1855. Schreber's Säugth. Suppl. 5: 129.
Jacchus mystax Gerrard, 1862. Cat. Bones Brit. Mus., p. 29.
M[*idas*] *labiatus* Reichenbach, H.G.L. 1862. Vollst. Naturg. Affen, p.11, pl. 3.
L[*eontocebus*] *mystax* Cabrera, A. 1912. Trab. Mus. Cienc. Nat., Madrid (11): 29.
Hapale (*Leontocebus*) *mystax* Lampert, H. 1926. Morph Jahrb., 55: 611.
[*Mystax*] *mystax* Pocock, R.I. 1917. Ann. Mag. Nat. Hist., ser. 8, 20: 117.
Mystax mystax Thomas, O. 1928. Ann. Mag. Nat. Hist., ser. 10, 2: 255.
Tamarin mystax Cruz Lima, E. 1945. Mamíferos da Amazônia. 1. Primates, p. 220, pl. 37.
Marikina mystax Hershkovitz, P. 1949. Proc. U. S. Nat. Mus. 98: 412.
Tamarinus mystax Hill, W.C.O. 1957. Primates. Comp. Anat. Taxon. III. Pithecoidea Platyrrhini (Fam. Hapalidae and Callimiconidae). Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, p. 164.
L[*eontocebus*] *mystax*. Hill, W.C.O. 1961. Proc. Zool. Soc. Lond. 137(2): 321.
Saguinus mystax Anderson, E.T., Lewis, J.P., Passovoy, M. & Trobaugh, F.E. 1967. Lab. Anim. Care. 17(1): 37.
Saguinus mystax mystax Hershkovitz, P. 1968. Evolution 22(3): 563.
Saguinus (*Tamarinus*) *mystax mystax* Garbino, G.S.T. & Martins-Junior, A.M.G. 2018. Mol. Phylogenet. Evol. 118: 169.

Distribution. *Saguinus mystax* occurs in Peru and Brazil (Fig. 2).

The distribution of this species is south of the Solimões/Amazonas River, from the left bank of the Juruá River (*Hershkovitz, 1977*; *Johns, 1985*; *Rylands, Coimbra-Filho & Mittermeier, 1993*; *Heymann et al., 2021*), the western boundary is the Ucayali River. To the south the limit is the Blanco River in Peru (*Hershkovitz, 1977*; *Heymann et al., 2021*).

Specimens Examined (*N* = 13): Brazil: JT021 (IDSM00039), JT025 (IDSM00004), JT027 (IDSM00045), JT052 (IDSM00067), JT055 (IDSM00067), JT084 (IDSM00776), JT094 (IDSM00778), MNFS1027 (INPA), MNFS1532 (INPA), FES98 (IDSM03681), FR210 (INPA), JLP15902 (INPA).

***Saguinus pileatus pileatus* (I. Geoffroy Saint-Hilaire & Deville, 1848) comb. nov.**

Common name: Red-capped Mustached Tamarin

Description. Forehead and crown with broad posteriorly bifurcated reddish orange cap, the color extending forward as a thin line between orbits. Superciliary region, cheeks, temples, and interorbital space black. Hairs of midline of muzzle forming a low crest, black anteriorly, light red posteriorly, the color continuous with that of mid-frontal region. Skin of circumnarial and circumbucal areas except at symphysis unpigmented and covered with comparatively long white hairs forming whiskers, remainder of facial skin more or less pigmented and covered with black hair. Mantle blackish brown with fine light brownish yellow or orange, the basal one-fourth to one-half of the hairs drab to brownish black along midline. Saddle and rump light brownish yellow subterminal band. Dark brown hairs of lateral fringe faintly or not at all banded subterminally, pale brown, drab, or white basally. Outer sides of hindlimbs brown, upper surface of hands and feet is light black. Ventral surface from middle of lower lip to be belly and inner sides of limbs, blackish brown. The tail is black, except the base that is like the rump.

Type locality: Lago de Tefé, near its mouth at Solimões/Amazonas River, Amazonas Brazil (*Hershkovitz, 1977*, p. 699).

Synonyms

Midas pileatus Geoffroy Saint-Hilaire, I. & Deville, É., 1848. Compt. Rend. Acad. Sci., Paris 27: 499.
Hapale pileata Gervais, F. L. P. 1854. Hist. Nat. Mamm. 1: 152.
Midas pileatus juruanus Ihering, H. von. 1904. Rev. Mus. Paulista, São Paulo 6: 416. Type locality: João Pessoa, upper Juruá River, Amazonas, Brazil.
Leontocebus pileatus Elliot, D.G. 1913. A Review of the Primates 1: 197.
Tamarin pileatus Cruz Lima, E. 1945. Mamíferos da Amazônia. 1. Primates, p. 228.
Marikina pileata juruana Hershkovitz, P. 1949. Proc. U. S. Nat. Mus. 98: 413.
Marikina pileata pileata Hershkovitz, P. 1949. Proc. U. S. Nat. Mus. 98: 413.

Tamarinus pileatus Hill, W.C.O. 1957. Primates. Comp. Anat. Taxon. III. Pithecoidea Platyrrhini (Fam. Hapalidae and Callimiconidae). Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, p. 218.
T[*amarinus*] *p*[*ileatus*] *juruanus* Hill, W.C.O. 1957. Primates. Comp. Anat. Taxon. III. Pithecoidea Platyrrhini (Fam. Hapalidae and Callimiconidae). Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, p. 235.
Saguinus mystax pileatus Hill, W.C.O 1957. Primates. Comp. Anat. Taxon. III. Pithecoidea Platyrrhini (Fam. Hapalidae and Callimiconidae). Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, p. 235.
Saguinus mystax pileatus Hershkovitz, P. 1968. Evolution 22(3): 563.
Saguinus pileatus Groves, C.P. 2001. Primate Taxonomy. Smithson. Inst. Press, Washington, DC, p.143.
Saguinus (*Tamarinus*) *mystax pileatus*. Garbino, G.S.T. & Martins-Junior, A.M.G. 2018. *Mol. Phylogenet. Evol.* 118: 169.

Distribution. *Saguinus pileatus pileatus* is endemic to Brazil. Its distribution occurs south of the Solimões/Amazonas River. The northern portion of its distribution is limited by the Tefé River to the west and the Coari River to the east (*Hershkovitz, 1977*; *Johns, 1985*; *Rylands, Coimbra-Filho & Mittermeier, 1993*; *Ravetta & Rohe, 2020a*, Fig. 2). The rest of the distribution, above the headwaters of the Coari River, extends to the left bank of the Purus River. Above the headwaters of the Tefé River, the western limit of the distribution is the right bank of the Juruá River (*Rylands, Coimbra-Filho & Mittermeier, 1993*). *Saguinus pileatus pileatus* also occurs on the left bank of the Tefé River, in the region of the headwaters of this river (*Hershkovitz, 1977*). To the south, its distribution extends beyond the right bank of the Pauini River (*Sampaio, Rohe & Rylands, 2018*). In this portion, its distribution seems to be limited by the occurrence of *S. i. subgrisescens*.

Specimens Examined (*N* = 11): Brazil: AAM9 (INPA), FR55 (INPA5684), FR68 (INPA5687), FR204 (INPA), MTEFE02 (IDSM03511), MTEFE05 (IDSM03680), TFM01 (IDSM03384), TFM03 (IDSM02229), TFM06 (IDSM03384), TFM09 (IDSM03654), TFM13 (IDSM03657).

***Saguinus pileatus pluto* (Lönnberg, 1926) comb. nov.**

Common name: White-rumped Mustached Tamarin

Description. Head black, skin of circumnarial and circumbucal area except at symphysis unpigmented and covered with hair forming proeminent whiskers, remainder of face covered with black hairs. Mantle black with light brownish yellow, basal portions of hairs drab. Arms black, rump and outer sides of thighs like mantle but with a more even mixture or vermiculation of light black and light brownish yellow. Lateral fringe like back, but hairs drab to grayish basally. Upper surface of the hands and feet black. Underparts from midline of lower lips to anterior part of belly and inner sides of limbs black to blackish brown, lower belly, hairs of inguinal, genital and circumanal region and contiguous

portions of the ventral base of the tail is white. Tail is black, except the dorsal portion of the base that is like the rump.

Type locality: Brazil: Lago Ayapuá, Purus River, Amazonas (*Hershkovitz, 1977*; *Rylands, Coimbra-Filho & Mittermeier, 1993*).

Synonyms
Mystax pluto Lönnberg, E. 1926. Ark. Zool., Stockholm 18 B(9): 1.
Tamarin pluto Elliot, D.G. 1913. A Review of the Primates 1: 230.
Marikina pluto Hershkovitz, P. 1949. Proc. U. S. Nat. Mus. 98: 413.
Marikina (*Tamarin*) *pluto* Vieira, C.O.C. 1955. Arq. Zool. São Paulo 8: 396.
Tamarinus pluto Hill, W.C.O. 1957. Primates. Comp. Anat. Taxon. III. Pithecoidea Platyrrhini (Fam. Hapalidae and Callimiconidae). Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, p. 218.
Leontocebus (*Leontocebus*) *pluto* Cabrera, A. 1958. Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat. "Bernardino Rivadavia" 4(1): 197.
Saguinus mystax pluto Hershkovitz, P. 1968. Evolution 22(3): 563. Also, Groves, C. P. 2001. Primate Taxonomy. Smithson. Inst. Press, Washington, DC, p.143.
Saguinus (*Tamarinus*) *mystax pluto* Garbino, G.S.T. & Martins-Junior, A.M.G. 2018. Mol. Phylogenet. Evol. 118: 169.

Distribution. *Saguinus pileatus pluto* is endemic to Brazil. It occurs south of the Solimões/Amazonas River, from the right bank of the Coari River to the left bank of the Purus River. The southern limit is the Tapauá River (*Hershkovitz, 1977*; *Rylands, Coimbra-Filho & Mittermeier, 1993*; *Ravetta & Rohe, 2020b*, Fig. 2).

Specimens examined (*N* = 3): Brazil: CTGA-M163 (UFAM), FR226 (INPA), FR228 (INPA).

***Saguinus kulina* sp. n.** Lopes, Rohe, Bertuol, Polo, Lima, Valsecchi, Santos, Nash, Silva, Boubli, Farias & Hrbek, 2022.
urn:lsid:zoobank.org:act:41E33066-C337-4EA2-AF60-AF75F032E5C.

Common name: Kulinas' tamarin (English), sauim-dos-kulinas (Portuguese), pishi (Kulina).

Holotype. IDSM03594, field number BJ015, adult male, skin, skull, skeleton. Specimen collected on July 18th, 2018, in terra firme forest, on the right bank of Andirá River, right bank affluent of the Juruá River, Juruá Municipality, Amazonas State, Brazil.

Paratopotype. IDSM03595, field number BJ016, adult female, skin, skull, skeleton. Specimen collected on July 18th, 2018, in terra firme forest, on the right bank of Andirá River, right bank affluent of the Juruá River, Juruá Municipality, Amazonas State, Brazil.

Paratypes. IDSM03602, field number BJ023, adult female, skin, skull, skeleton. Specimen collected on July 27th, 2018, in terra firme forest, at Cumaru community, on the left bank

of Andirá River, right bank affluent of the Juruá River, Juruá Municipality, Amazonas State, Brazil. IDSM03652, field number TFM07, adult female, skin, skull, skeleton. Specimen collected on August 15th, 2018, in terra firme forest, at Nogueira community, on the left bank of Tefé River, Alvarães Municipality, Amazonas State, Brazil. IDSM03659, field number TFM15, adult female, skin, skull, skeleton. Specimen collected on July 30th, 2019, in terra firme forest, at Nogueira community, on the left bank of Tefé River, Alvarães Municipality, Amazonas State, Brazil.

Type locality. Reserva Extrativista do Baixo Juruá (−3.82633S; −66.07572), right bank of Andirá River, Amazonas, Brazil.

Diagnostic characters (Fig. 3). The new species is diagnosable from all other species of *Saguinus* by mantle and forelimbs light black brown subterminal band yellow, saddle, rump and hindlimbs light black with brown (Table 1; Figs. 3 and 4).

Description. Forehead light black and crown blackish brown, skin of circumbucal and circumnarial area except at symphysis unpigmented and covered with comparatively long white hairs, whiskers well-developed, remainder of face pigmented or unpigmented and covered with black hairs. Mantle light black with yellow subterminal band, terminal band black, the basal one-fourth to one-half of the hairs white and showing through irregularly at surface, the forelimbs are like the mantle up to the elbow. Saddle, rump, and outer side of thighs light black with brown subterminal band, terminal band black. Lateral fringe same as saddle, but basal portion of hairs whitish, and upper surface of hands and feet black. Underparts from middle of lower lip to belly and inner sides of limbs black to light black brown. The tail black, except base which is the same as rump. External genitalia mostly or entirely unpigmented and sparsely covered white hairs.

Comparisons with closely related species. In *Saguinus kulina* sp. n. mantle light black with subterminal hairs band yellow, terminal band is black, saddle, rump, hindlimbs are light black with brow, lateral fringe like saddle. In *S. mystax* mantle is light black with orange or ochraceus orange subterminal band, and terminal band is black, forelimbs are black, saddle, rump and hindlimbs are light black with orange. In *S. p. pileatus* forehead and crown with broad posteriorly bifurcated reddish orange cap, the color extending forward as a thin line between orbits, hairs of midline of muzzle forming a low crest, black anteriorly, light red posteriorly, the color continuous with that of mid-frontal region, mantle blackish brown with fine light brownish yellow or orange ticking. In *S. p. pluto* mantle is black and light brownish yellow, basal portions of hairs drab, rump and outer sides of thighs like mantle but with a more even mixture or vermiculation of light black and light brownish yellow, and circumanal region whitish.

Etymology. The specific name is a noun in apposition and honors the Kulina indigenous peoples of the Kumaru Indigenous Territory, the largest indigenous territory within Juruá–Tefé interfluve.

Geographic Distribution. *Saguinus kulina* sp. n. is endemic to the western Amazonia, occurring between the right bank of the Juruá River and the left bank of the Tefé River (Fig. 2).

Synonyms

Midas mystax Spix, J.B. von. 1823. Sim. Vespert. Brasil., p. 29. pl. 22.
Jacchus labiatus Poeppig, E.F. 1831. Froriep Not. 32: 148.
H[*apale*] *mystax* Wagner, J.A. 1855. Schreber's Säugth. Suppl. 5: 129.
Jacchus mystax Gerrard, 1862. Cat. Bones Brit. Mus., p. 29.
M[*idas*] *labiatus* Reichenbach, H.G.L. 1862. Vollst. Naturg. Affen, p.11, pl. 3.
L[*eontocebus*] *mystax* Cabrera, A. 1912. Trab. Mus. Cienc. Nat., Madrid (11): 29.
Hapale (*Leontocebus*) *mystax* Lampert, H. 1926. *Morph Jahrb*., 55: 611.
[*Mystax*] *mystax* Pocock, R. I. 1917. Ann. Mag. Nat. Hist., ser. 8, 20: 117.
Mystax mystax Thomas, O. 1928. Ann. Mag. Nat. Hist., ser. 10, 2: 255.
Tamarin mystax Cruz Lima, E. 1945. Mamíferos da Amazônia. 1. Primates, p. 220, pl. 37.
Marikina mystax Hershkovitz, P. 1949. Proc. U. S. Nat. Mus. 98: 412.
Tamarinus mystax Hill, W.C.O. 1957. Primates. Comp. Anat. Taxon. III. Pithecoidea Platyrrhini (Fam. Hapalidae and Callimiconidae). Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, p. 164.
L[*eontocebus*] *mystax*. Hill, W.C.O. 1961. Proc. Zool. Soc. Lond. 137(2): 321.
Saguinus mystax Anderson, E.T., Lewis, J.P., Passovoy, M. & Trobaugh, F.E. 1967. Lab. Anim. Care. 17(1): 37.
Saguinus mystax mystax Hershkovitz, P. 1968. Evolution 22(3): 563.
Saguinus (*Tamarinus*) *mystax mystax* Garbino, G.S.T. & Martins-Junior, A.M.G. 2018. Mol. Phylogenet. Evol. 118: 169.

Specimens examined (*N* = 9): Brazil: BJ015 (IDSM03594), BJ016 (IDSM03595), BJ023 (IDSM03602), FR229 (INPA), FR233 (INPA), FR234 (INPA), FR237 (INPA), TFM07 (IDSM03652), TFM15 (IDSM03659).

The electronic version of this article in portable document format will represent a published work according to the International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN), and hence the new name contained in the electronic version is effectively published under that Code from the electronic edition alone. This published work and the nomenclatural acts it contains have been registered in ZooBank, the online registration system for the ICZN. The ZooBank Life Science Identifiers (LSIDs) can be resolved, and the associated information viewed through any standard web browser by appending the LSID to the prefix http://zoobank.org/. The LSID for this publication is: urn:lsid:zoobank.org:pub:64332121-FA59-4102-9487-C586912500FD. The online version of this work is archived and available from the following digital repositories: PeerJ, PubMed Central, and CLOCKSS.

DISCUSSION

Recent advances in the collection of genomic data and in the analyses of these data have resulted in renewed interest in taxonomically challenging groups. These advances have

resulted in the discovery of new species within not just taxonomically neglected groups, but also of large charismatic mammals such as giraffes (*Coimbra et al., 2021*) and orangutans (*Nater et al., 2017*). The application of phylogenetic methods in species description has been criticized as taxonomic inflation by some authors (*e.g.*, *Isaac, Mallet & Mace, 2004*; *Mallet, Isaac & Mace, 2005*)—much of which can be attributed to the apparent arbitrariness with which clades at different hierarchical levels are delimited as species—however, with the introduction of statistically rigorous coalescent-theory-based methods that permit differentiating between intra- and interspecific patterns of evolution (*Fujita et al., 2012*; *Grummer, Bryson & Reeder, 2014*; *Leaché et al., 2014*) this no longer needs to be an issue. These methods lend themselves to rigorous taxonomic hypothesis testing *via* comparisons on the marginal likelihoods of different taxonomic hypotheses. We can ask, for example, what is the likelihood of an observed pattern of evolution—utilizing our knowledge of patterns of intra- and interspecific coalescence embodied in the coalescent theory—given the existence of one taxon *vs* two taxa. The likelihoods of these two alternate hypotheses can then be compared using the Bayes Factor framework, and the most likely taxonomic hypothesis can be chosen in a non-arbitrary statistically rigorous framework.

Using this conceptual framework, we revised the taxonomy of the *Saguinus mystax* species. Our analyses overwhelmingly support the existence of three species: *Saguinus mystax*, *Saguinus pileatus*, and a third species new to science (*Saguinus kulina* sp. n.). This taxonomic hypothesis is congruent with phenotypic, phylogenetic and distributional data. In recognition of phenotypic differences and for the purpose of nomenclatorial stability, we also maintain the two subspecies *S. p. pileatus* and *S. p. pluto*.

These results in part confirm but also contradict the seminal study of *Hershkovitz (1977)*. *Hershkovitz (1977)* recognized that *Saguinus mystax* was a taxonomic complex with one of the largest distributions of any callitrichid primate, designating subspecies to accommodate this taxonomic diversity, and proposing distributional limits of these taxa. Although *Hershkovitz (1977)* examined a large series of *S. mystax*, he did not examine any specimens from the Juruá–Tefé interfluve; this is evidenced by his proposal of occurrence of *S. p. pileatus* in this area. This is not surprising given that specimens of the *Saguinus mystax* species were never collected in the Juruá–Tefé interfluve until this study, and therefore could never have been analyzed. Once collected, the inclusion of these specimens resulted in the discovery of a species previously unknown to science.

Our results also differ in important aspects from *Hershkovitz's (1977)* taxonomic proposal. We demonstrated that the taxa *S. p. pileatus* and *S. p. pluto* are not subspecies of *S. mystax*, but rather a separate species, a result that is partially in agreement with *Groves (2001)* who postulated that the subspecies *S. p. pileatus* should be elevated to a species level since it is phenotypically divergent from *S. mystax*. Our analyses rejected species-level divergence of the taxa *S. p. pileatus* and *S. p. pluto* in favor of one species-level taxon *Saguinus pileatus*. This taxonomic conclusion is supported by the SVDquartet phylogeny (Fig. 5B), it is not contradicted by the ASTRAL phylogeny (Fig. 5A), however it is not supported by phenotypic characters and distribution. The taxa *S. p. pileatus* and *S. p. pluto* are distributed allopatrically and separated by the Coari River, and also differ in pelage

color and patterns. These taxa may be at an early stage of speciation, and therefore we recognized this divergence by maintaining these taxa as subspecies of *Saguinus pileatus*. A better understanding of the evolutionary dynamics and the potential incipient speciation within *Saguinus pileatus* will require additional sampling and field observations, particularly at the southern end of the geographic distribution of *S. p. pluto* where, at the headwaters of the Coari River, *S. p. pileatus* and *S. p. pluto* are hypothesized to come into geographic contact.

The *Saguinus mystax* species group is not the only one in need of taxonomic revision. Much of the taxonomy of Amazonian primates is based on the seminal work of *Hershkovitz (1977)* and has not changed much in the last 45 years. As genomic data becomes more accessible, including data from centuries-old type specimens (*Boubli et al., 2021*), and as new biodiversity surveys and scientific collections provide new material for rigorous and biologically realistic analyses, our understanding of the taxonomic diversity of Amazonian primates will change (*e.g.*, *Boubli et al., 2018*, *2019*; *Costa-Araújo et al., 2019*, *2021*). These taxonomic changes will not be the consequence of taxonomic inflation, but rather will reflect the underlying evolutionary and speciation processes that have generated and are generating the immense Amazonian biodiversity. Perhaps most importantly these taxonomic revisions will lay the foundation not only for effective science driven conservation but also for understanding the very processes that drove the evolution of Amazonian biodiversity.

CONCLUSIONS

We describe a new species of *Saguinus* from the Juruá–Tefé interfluve based on robust genomic evidence, pelage characters and geographic distribution. We also elevate *Saguinus mystax* to the species level, but we find no conclusive evidence for species level differentiation of *Saguinus p. pileatus* and *Saguinus p. pluto*. Finally, we emphasize that field surveys and scientific collection of specimens are essential for the continued advancement of knowledge of primate diversity specifically, and all Amazon biodiversity in general.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the many institutions that provided tissue loans for this research: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia and Universidade Federal do Amazonas. We thank Felipe Ennes for providing a sample of *S. mystax* (FES98). We are also grateful to the coordinators of the projects that allowed samples collection for the success of this study (GEOMA/Madeira-Purus – Mario Cohn-Haft), to the Secretaria de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável do Estado do Amazonas, Programa de Monitoramento da Biodiversidade e do Uso de Recursos Naturais em Unidades de Conservação Estaduais do Amazonas (ProBUC), and to the Wildlife Conservation Society (WCS/Brasil). Part of this study was a partnership between the local office of the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio) based in Tefé and the Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. We thank all the people

from the interior of Amazonia who helped in the field expeditions. We thank Dr. Anthony Rylands for valuable comments on an early version of this manuscript.

ADDITIONAL INFORMATION AND DECLARATIONS

Funding

This project was funded by the Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (financial support to Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá). Gerson Paulino Lopes was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM No. 062.00121/2019). Fábio Rohe was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq No. 141555/2017-3). Molecular analyses and field expeditions were funded by CNPq/FAPEAM SISBIOTA Program (No. 563348/2010-0), (CAPES/PRO-AMAZÔNIA – Espécies de Primatas Filogeograficamente Negligenciadas – No. 3261/2013), Gordon and Betty Moore Foundation (Grant Agreement to the Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá No. #5344), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Grant to the Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá – FAPEAM PPP No. 016/2014). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Grant Disclosures

The following grant information was disclosed by the authors:
Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações.
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas: 062.00121/2019.
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico: 141555/2017-3.
CNPq/FAPEAM SISBIOTA Program: 563348/2010-0.
CAPES/PRO-AMAZÔNIA – Espécies de Primatas Filogeograficamente Negligenciadas: No. 3261/2013.
Gordon and Betty Moore Foundation: #5344.
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas: 016/2014.

Competing Interests

Tomas Hrbek is an Academic Editor for PeerJ.

Author Contributions

- Gerson Paulino Lopes conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Fábio Rohe conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Fabrício Bertuol conceived and designed the experiments, performed the experiments, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Erico Polo conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.

- Ivan Junqueira Lima performed the experiments, analyzed the data, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- João Valsecchi performed the experiments, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Tamily Carvalho Melo Santos performed the experiments, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Stephen D. Nash performed the experiments, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Maria Nazareth Ferreira da Silva performed the experiments, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Jean P. Boubli performed the experiments, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Izeni Pires Farias conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Tomas Hrbek conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.

Field Study Permissions

The following information was supplied relating to field study approvals (*i.e.*, approving body and any reference numbers):

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio).

DNA Deposition

The following information was supplied regarding the deposition of DNA sequences:

The raw sequence reads are available at Genbank: PRJNA552061.

Data Availability

The following information was supplied regarding data availability:

The raw data is available at: Gerson Paulino Lopes. (2022). Taxonomic review of *Saguinus mystax* (Spix, 1823) (Primates, Callitrichidae), and description of a new species (In review) [Data set]. Zenodo. https://doi.org/10.5281/zenodo.7093175.

New Species Registration

The following information was supplied regarding the registration of a newly described species:

Saguinus kulina species LSID: urn:lsid:zoobank.org:act:41E33066-C337-4EA2-AF60-AF75F032E5CD.

Publication LSID: urn:lsid:zoobank.org:pub:64332121-FA59-4102-9487-C586912500FD.

Supplemental Information

Supplemental information for this article can be found online at http://dx.doi.org/10.7717/peerj.14526#supplemental-information.

REFERENCES

Boubli JP, Byrne H, Silva MNF, Silva-Júnior J, Araújo RC, Bertuol F, Gonçalves J, Melo FR, Rylands AB, Mittermeier RA, Silva FE, Nash SD, Canale G, Alencar RM, Rossi RV, Carneiro J, Sampaio I, Farias IP, Schneider H, Hrbek T. 2019. On a new species of titi monkey (Primates: *Plecturocebus* Byrne et al., 2016) from Alta Floresta, southern Amazon. *Brazil Molecular Phylogenetics and Evolution* **132**:117–137 DOI 10.1016/j.ympev.2018.11.012.

Boubli JP, Janiak MC, Porter LM, de la Torre S, Cortés-Ortiz L, Silva MNF, Rylands AB, Nash S, Bertuol F, Byrne H, Silva FE, Rohe F, Vries D, Beck RMD, Ruiz-Gartzia I, Kuderna LFK, Marques-Bonet T, Hrbek T, Farias IP, van Heteren AH, Roos C. 2021. Ancient DNA of the pygmy marmoset type specimen *Cebuella pygmaea* (Spix, 1823) resolves a taxonomic conundrum. *Zoological Research* **42**:761–771 DOI 10.24272/j.issn.2095-8137.2021.143.

Boubli JP, Silva MNF, Rylands AB, Nash SD, Bertuol F, Nunes M, Mittermeier RA, Byrne H, Silva FE, Rohe F, Sampaio I, Schneider H, Farias IP, Hrbek T. 2018. How many pygmy marmoset (*Cebuella* Gray, 1870) species are there? A taxonomic re-appraisal based on new molecular evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **120**:170–182 DOI 10.1016/j.ympev.2017.11.010.

Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, Suchard MA, Rambaut A, Drummond AJ. 2014. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLOS Computational Biology* **10**:e1003537 DOI 10.1371/journal.pcbi.1003537.

Buckner JC, Lynch Alfaro JW, Rylands AB, Alfaro ME. 2015. Biogeography of the marmosets and tamarins (Callitrichidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **82(Part b)**:413–425 DOI 10.1016/j.ympev.2014.04.031.

Chifman J, Kubatko L. 2014. Quartet inference from SNP data under the coalescent model. *Bioinformatics* **30(23)**:3317–3324 DOI 10.1093/bioinformatics/btu530.

Coimbra RTF, Winter S, Kumar V, Koepfli K-P, Gooley RM, Dobrynin P, Fennessy J, Janke A. 2021. Whole-genome analysis of giraffe supports four distinct species. *Current Biology* **31(13)**:1–10 DOI 10.1016/j.cub.2021.04.033.

Costa-Araújo R, Melo FR, Canale GR, Hernández-Rangel SM, Messias MR, Rossi RV, Silva FE, Silva MNF, Nash SD, Boubli JP, Farias IP, Hrbek T. 2019. The Munduruku marmoset: a new monkey species from southern Amazonia. *PeerJ* **7(10)**:e7019 DOI 10.7717/peerj.7019.

Costa-Araújo R, Silva JS Jr, Boubli JP, Rossi RV, Canale GR, Melo FR, Bertuol F, Silva FE, Silva DA, Nash SD, Sampaio I, Farias IP, Hrbek T. 2021. An integrative analysis uncovers a new, pseudo-cryptic species of Amazonian marmoset (Primates: Callitrichidae: *Mico*) from the arc of deforestation. *Scientific Reports* **11(1)**:15665 DOI 10.1038/s41598-021-93943-w.

de Queiroz K. 1999. The General Lineage Concept of species and the defining properties of the species category. In: Wilson RA, ed. *Species: New Interdisciplinary Essays*. Cambridge: MIT Press, 57–75.

de Queiroz K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology* **56(6)**:879–886 DOI 10.1080/10635150701701083.

Eaton DAR. 2014. PyRAD: assembly of de novo RADseq loci for phylogenetic analyses. *Bioinformatics* **30(13)**:1844–1849 DOI 10.1093/bioinformatics/btu121.

Fujita MK, Leaché AD, Burbrink FT, McGuire JA, Moritz CC. 2012. Coalescent-based species delimitation in an integrative taxonomy. *Trends in Ecology & Evolution* **27(9)**:480–488 DOI 10.1016/j.tree.2012.04.012.

Garbino GST. 2015. How many marmoset (Primates: Cebidae: Callitrichinae) genera are there? A phylogenetic analysis based on multiple morphological systems. *Cladistics* **31(6)**:652–678 DOI 10.1111/cla.12106.

Garbino GST, Martins-Junior AMG. 2018. Phenotypic evolution in marmoset and tamarin monkeys (Cebidae, Callitrichinae) and a revised genus-level classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **118(1)**:156–171 DOI 10.1016/j.ympev.2017.10.002.

Gauthier J, Mouden C, Suchan T, Alvarez N, Arrigo N, Riou C, Lemaitre C, Peterlongo P. 2020. DiscoSnp-RAD: de novo detection of small variants for RAD-Seq population genomics. *PeerJ* **8(2)**:e9291 DOI 10.7717/peerj.9291.

Gregorin R, Vivo M. 2013. Revalidation of *Saguinus ursula* Hoffmannsegg (Primates: Cebidae: Callitrichinae). *Zootaxa* **3721(2)**:172–182 DOI 10.11646/zootaxa.3721.2.4.

Groves CP. 2001. *Primate taxonomy*. Washington: Smithsonian Institution Press.

Grummer JA, Bryson RW, Reeder TW. 2014. Species delimitation using Bayes Factors: simulations and application to the *Sceloporus scalaris* species group (Squamata: Phrynosomatidae). *Systematic Biology* **63(2)**:119–133 DOI 10.1093/sysbio/syt069.

Hanihara T, Natori M. 1987. Preliminary analysis of numerical taxonomy of the genus *Saguinus* based on dental measurements. *Primates* **28(4)**:517–523 DOI 10.1007/BF02380865.

Hershkovitz P. 1968. Metachromism or the principle of evolutionary change in mammalian tegumentary colors. *Evolution* **22(3)**:556–575 DOI 10.1111/j.1558-5646.1968.tb03992.x.

Hershkovitz P. 1977. *Living new world monkeys (Platyrrhini)*. Vol. 1. Chicago: The University of Chicago Press.

Heymann EW, Ravetta AL, Rohe F, Mittermeier RA. 2021. *Saguinus mystax* ssp. *mystax*. The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T43956A192553025 DOI 10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T43956A192553025.en.

Hillis DM, Bull JJ. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* **42(2)**:182–192 DOI 10.1093/sysbio/42.2.182.

International Commission on Zoological Nomenclature. 1999. *International code of zoological nomenclature*. London: International Trust for Zoological Nomenclature.

Isaac NJ, Mallet J, Mace GM. 2004. Taxonomic inflation: its influence on macroecology and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* **19(9)**:464–469 DOI 10.1016/j.tree.2004.06.004.

Johns AD. 1985. Primate and forest exploitation at Tefé, Brazilian Amazonia. *Primate Conservation* **6**:27–29.

Junier T, Zdobnov EM. 2010. The Newick utilities: high-throughput phylogenetic tree processing in the UNIX shell. *Bioinformatics* **26(13)**:669–1670 DOI 10.1093/bioinformatics/btq243.

Kanazawa E, Rosenberger AL. 1988. Reduction index of the upper M2 in marmosets. *Primates* **29(4)**:525–533 DOI 10.1007/BF02381139.

Kass RE, Raftery AE. 1995. Bayes factors. *Journal of the American Statistical Association* **90(430)**:773–795 DOI 10.1080/01621459.1995.10476572.

Lanfear R, Frandsen PB, Wright AM, Senfeld T, Calcott B. 2017. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution* **34**:772–773 DOI 10.1093/molbev/msw260.

Leaché AD, Fujita MK, Minin VN, Bouckaert RR. 2014. Species delimitation using genome-wide SNP data. *Systematic Biology* **63(4)**:534–542 DOI 10.1093/sysbio/syu018.

Malinsky M, Trucchi E, Lawson DJ, Falush D. 2018. RADpainter and fineRADstructure: population inference from RADseq data. *Molecular Biology and Evolution* **35(5)**:1284–1290 DOI 10.1093/molbev/msy023.

Mallet J, Isaac NJB, Mace GM. 2005. Response to Harris and Froufe, and Knapp et al.: taxonomic inflation. *Trends in Ecology and Evolution* **20(1)**:8–9 DOI 10.1016/j.tree.2004.11.002.

Mirarab S. 2019. Species tree estimation using ASTRAL: practical considerations. *arXiv preprint* DOI 10.48550/arXiv.1904.03826.

Mittermeier RA, Schwarz M, Ayres JM. 1992. A new species of marmoset, genus *Callithrix* Erxleben 1777 (Callitrichidae, Primates), from the Rio Maués region, state of Amazonas, Central Brazilian Amazonia. *Goeldiana Zoologia* **14**:1–17.

Moore AJ, Cheverud JM. 1992. Systematics of the *Saguinus oedipus* group of the bare-face tamarins: evidence from facial morphology. *American Journal of Physical Anthropology* **89(1)**:73–84 DOI 10.1002/ajpa.1330890107.

Munsell Color. 2000. *Munsell soil color charts*. New York: Gretag Macbeth.

Nater A, Mattle-Greminger MP, Nurcahyo A, Nowak MG, Manuel M, Desai T, Groves C, Pybus M, Sonay TB, Roos C, Lameira AR, Wich SA, Askew J, Davila-Ross M, Fredriksson G, Valles G, Casals F, Prado-Martinez J, Goossens B, Verschoor EJ, Warren KS, Singleton I, Marques DA, Pamungkas J, Perwitasari-Farajallah D, Rianti P, Tuuga A, Gut IG, Gut M, Orozco-terWengel P, van Schaik CP, Bertranpetit J, Anisimova M, Scally A, Marques-Bonet T, Meijaard E, Krützen M. 2017. Morphometric, behavioral, and genomic evidence for a new orangutan species. *Current Biology* **27(22)**:3487–3498 DOI 10.1016/j.cub.2017.09.047.

Natori M, Hanihara T. 1992. Variations in dental measurements between *Saguinus* species and their systematic relationships. *Folia Primatologica* **58(2)**:84–92 DOI 10.1159/000156612.

Nute M, Chou J, Molloy EK, Warnow T. 2018. The performance of coalescent-based species tree estimation methods under models of missing data. *BMC Genomics* **19(S5)**:1–22 DOI 10.1186/s12864-018-4619-8.

Peterson BK, Weber JN, Kay EH, Fisher HS, Hoekstra HE. 2012. Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLOS ONE* **7(5)**:e37135 DOI 10.1371/journal.pone.0037135.

Ravetta A, Rohe F. 2020a. *Saguinus mystax* ssp. *pileatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T43957A17981034 DOI 10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T43957A17981034.en.

Ravetta A, Rohe F. 2020b. *Saguinus mystax* ssp. *pluto*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T43958A17981080 DOI 10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T43958A17981080.en.

Rohe F, Silva JS Jr, Sampaio R, Rylands AB. 2009. A new subspecies of *Saguinus fuscicollis* (Primates, Callitrichidae). *International Journal of Primatology* **30(4)**:533–551 DOI 10.1007/s10764-009-9358-x.

Rylands AB. 1993. The bare-face tamarins *Saguinus oedipus oedipus* and *Saguinus oedipus geoffroyi*: subspecies or species? *Neotropical Primates* **1**:4–5.

Rylands AB, Coimbra-Filho AF, Mittermeier RA. 1993. Systematics, geographic distributions, and some notes on the conservation status of the Callitrichidae. In: Rylands AB, ed. *Marmosets and Tamarins: Systematics, Behaviour and Ecology*. Oxford: Oxford University Press, 11–77.

Rylands AB, Heymann EW, Lynch Alfaro JW, Buckner JC, Roos C, Matauschek C, Boubli JP, Sampaio R, Mittermeier RA. 2016. Taxonomic review of the New World tamarins (Primates: Callitrichidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* **177(4)**:1003–1028 DOI 10.1111/zoj.12386.

Rylands AB, Mittermeier RA. 2009. The diversity of the New World primates: an annotated taxonomy. In: Garber PA, Estrada A, Bicca-Marques JC, Heymann EW, Strier KB, eds. *South American Primates: Comparative Perspectives in the Study of Behavior, Ecology, and Conservation*. New York: Springer, 23–54.

Rylands AB, Schneider H, Langguth A, Mittermeier RA, Groves CP, Rodríguez-Luna E. 2000. An assessment of the diversity of New World primates. *Neotropical Primates* **8**:61–93.

Sambrook J, Russell RW. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Third Edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sampaio R, Rohe F, Pinho GM, Silva JS Jr, Farias IP, Rylands AB. 2015. Re-description and assessment of the taxonomic status of *Saguinus fuscicollis cruzlimai* Hershkovitz, 1966 (Primates, Callitrichinae). *Primates* **1966**:1–13 DOI 10.1007/s10329-0.

Sampaio R, Rohe F, Rylands AB. 2018. Diversity of primates and other mammals in the middle Purus basin in the Brazilian Amazon. *Mammalia* **82(6)**:565–579 DOI 10.1515/mammalia-2016-0136.

Silva FE, Costa-Araújo R, Boubli JP, Santana MI, Franco CLB, Bertuol F, Nunes H, Silva-Júnior JS, Farias I, Hrbek T. 2018. In search of a meaningful classification for Amazonian marmosets: should dwarf marmosets be considered *Mico* congenerics? *Zoologica Scripta* **47**:133–143 DOI 10.1111/zsc.12278.

Silva JS Jr, Noronha MA. 1998. On a new species of bare-eared marmoset, genus *Callithrix* Erxleben, 1777, from central Amazonia, Brazil (Primates: Callitrichidae). *Goeldiana Zoologia* **21**:1–28.

Skinner C. 1991. Justification for reclassifying Geoffroy's tamarin from *Saguinus oedipus geoffroyi* to *Saguinus geoffroyi*. *Primate Report* **31**:77–83.

Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* **30(9)**:1312–1313 DOI 10.1093/bioinformatics/btu033.

Swofford DL. 2002. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and Other Methods). Version 4. *Available at http://paup.phylosolutions.com/*.

Vallinoto M, Araripe J, Rego PS, Tagliaro CH, Sampaio I, Schneider H. 2006. Tocantins River as an effective barrier to gene flow in *Saguinus niger* populations. *Genetics and Molecular Biology* **29(2)**:215–219 DOI 10.1590/S1415-47572006000200005.

van Roosmalen MGM, van Roosmalen T. 2003. The description of a new marmoset genus, *Callibella* (Callitrichinae, Primates), including its molecular phylogenetic status. *Neotropical Primates* **11**:1–10.

Vivo MD. 1991. *Taxonomia de Callithrix Erxleben, 1777 (Callitrichidae, Primates)*. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas.

Zhang C, Rabiee M, Sayyari E, Mirarab S. 2018. ASTRAL-III: polynomial time species tree reconstruction from partially resolved gene trees. *BMC Bioinformatics* **19(S6)**:153 DOI 10.1186/s12859-018-2129-y.

Zhang C, Sayyari E, Mirarab S. 2017. ASTRAL-III: increased scalability and impacts of contracting low support branches. In: Meidanis J, Nakhleh L, eds. *Lecture Notes in Computer Science*. New York: Springer, 53–75.

Capítulo 2

Manuscript submitted to Zoologica Scripta Journal

Molecular systematics of tamarins with emphasis on genus *Tamarinus* (Primates, Callitrichidae)

Gerson Paulino Lopes[1,2,3,4†*], Fábio Rohe[2,5†], Fabrício Bertuol[2], Érico Macedo Polo[2], João Valsechi[3,4,6,7], Tamily Carvalho Melo Santos[4], Felipe Ennes Silva[3,4,9], Ivan Junqueira Lima[4,10], Ricardo Sampaio[11], Maria Nazareth Ferreira da Silva[12], Claudia Regina Silva[13], Jean P. Boubli[8,12], Rodrigo Costa-Araújo[2,14], Benoît de Thoisy[15], Manuel Ruiz-García[16], Marcelo Gordo[1], Iracilda Sampaio[17], Izeni Pires Farias[1,2], Tomas Hrbek[1,2,18]

[1]Programa em Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil
[2]Laboratório de Evolução e Genética Animal, Departamento de Genética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brazil
[3]Grupo de Pesquisa em Ecologia e Conservação de Primatas, Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé, Amazonas, Brazil
[4]Grupo de Pesquisa em Ecologia de Vertebrados Terrestres, Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé, Amazonas, Brazil
[5]Programa em Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil
[6]Rede de Pesquisa em Diversidade, Conservação e Uso da Fauna da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil
[7]Comunidad de Manejo de Fauna Silvestre en América Latina, Iquitos, Peru
[8]School of Science, Engineering and the Environment, University of Salford, Salford, United Kingdom
[9]Department of Evolutionary Biology and Ecology, Université Libre de Bruxelles, Belgium
[10]Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil
[11]Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Brasília, Distrito Federal, Brazil
[12]Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brazil
[13]Laboratório de Mastozoologia, Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá, Macapá, Amapá, Brazil
[14]Primate Genetics Laboratory, German Primate Center, Leibniz Institute for Primate Research, Göttingen, Germany
[15]Kwata NGO, Cayenne, French Guiana & Institut Pasteur de la Guyane, Cayenne, French Guiana
[16]Laboratory of Molecular Population Genetics-Evolutionary Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia
[17]Laboratório de Evolução, Universidade Federal do Pará, Bragança, Pará, Brazil
[18]Department of Biology, Trinity University, San Antonio, Texas, United States of America

[†]First two authors should be regarded as Joint First Authors
Running Title: Molecular systematics of tamarins

*Correspondence: gersonlps@hotmail.com; hrbek@evoamazon.net

ABSTRACT

The genus *Saguinus* comprises three principal clades that diverged in the Middle to Late Miocene. Their members are ecologically differentiated and allopatrically distributed. The clades were recently elevated to the status of genera, *Saguinus*, *Tamarinus* and *Oedipomidas*. In this study we present a comprehensive dated genomic phylogeny of all known species and subspecies of this group. We address and resolve pending taxonomic uncertainties, elevating the taxa *Tamarinus imperator* and *Tamarinus subgrisescens* to species level. Finally, we also address and discuss the changes in classification of this group, supporting the proposed elevation of the three major clades to the genera *Saguinus*, *Tamarinus* and *Oedipomidas*.

1. Introduction

The Neotropical primate family Callitrichidae (Hershkovitz, 1977; Rylands et al., 2000) includes marmosets, callimicos, and tamarins, the smallest and morphologically most distinct primates (Hershkovitz, 1977; Rylands & Mittermeier, 2013). The challitrichids range from Panama to southern Brazil (Hershkovitz, 1977), and currently are classified in 10 genera: the marmosets: *Callithrix* Erxleben, 1777, *Mico* Lesson, 1840, *Cebuella* Gray, 1866, and *Callibella* van Roosmalen and van Roosmalen, 2003; callimicos: *Callimico* Miranda-Ribeiro, 1911; the lion tamarins: *Leontopithecus* Lesson, 1840; and the tamarins: *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807, *Leontocebus* Wagner, 1839 (Rylands et al., 2000; van Roosmalen and van Roosmalen, 2003; Rylands et al., 2016).

However, historically, for tamarins of the genus *Saguinus*, was proposed an intra-generic classification based on morphology, coat color and geographic distribution (Hershkovitz, 1977), and thus, the genus *Saguinus* was divided into three sections and six species groups:

Section: Hairy-faced tamarins:

The White-mouthed tamarins or *Saguinus nigricollis* group – *S. nigricollis* and *S. fuscicollis* species and subspecies.

The Moustached tamarins or *Saguinus mystax* group – *Saguinus mystax mystax* (Spix, 1823), *Saguinus mystax pileatus* (I. Geoffroy Saint-Hilaire & Deville, 1848), *Saguinus mystax pluto* (Lönnberg, 1926), *Saguinus labiatus labiatus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812), *Saguinus labiatus thomasi* (Goeldi, 1907), *Saguinus imperator imperator* (Goeldi, 1907).

The Midas tamarins or *Saguinus midas* group – *Saguinus midas midas* (Linnaeus, 1758), *Saguinus midas niger* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803).

Section: Mottle-faced section:

The *Saguinus inustus* group – *Saguinus inustus* (Schwarz, 1951).

Section: Bare-faced tamarins:

The Brazilian bare-face tamarins or *Saguinus bicolor* group – *Saguinus bicolor bicolor* (Spix, 1823), *Saguinus bicolor martinsi* (Thomas, 1912), *Saguinus bicolor ochraceus* Hershkovitz, 1966

The Colombian and Panamanian bare-face tamarins or *Saguinus oedipus* group – *Saguinus oedipus oedipus* (Linnaeus, 1758), *Saguinus oedipus geoffroyi* (Pucheran, 1845), *Saguinus leucopus* (Gunther, 1877).

The first molecular studies (Jacobs et al., 1995; Meireles et al., 1997; Canavez et al., 1999; Cropp et al., 1999) identified two major clades corresponding to the *Saguinus nigricollis* group (small-bodied tamarins) and all other *Saguinus* groups (large-bodied tamarins). These findings were reaffirmed by later studies (Araripe et al., 2008; Matauschek et al., 2011; Buckner et al., 2015), with Buckner et al. (2015) recommending the use of the genus name *Leontocebus* Wagner, 1839 for the *Saguinus nigricollis* group, which was subsequently formalized by Rylands et al. (2016). The divergence of *Leontocebus* and *Saguinus* was estimated at 9.1 ma (95% HDP 7.1-11.6 ma) (Buckner et al., 2015). Species of *Leontocebus* and *Saguinus* differ in body size (Jacobs et al., 1995), hand (Bicca-Marques, 1999) and cranial shape (Ackermann and Cheverud, 2002), and in their ecology (Yoneda, 1981; Terborgh, 1983; Yoneda, 1984; Garber, 1991, 1992; Peres, 1993a, Smith, 2000; Heymann and Buchanan-Smith, 2000; Nadjafzadeh and Heymann, 2008; Nyakatura and Heymann, 2010).

Many of these studies also consistently recovered the *Saguinus bicolor+midas*, *Saguinus mystax+inustus* and *Saguinus oedipus* groups. However, it was only Brcko et al. (2022) who proposed to classify the *Saguinus bicolor* + *S. midas*, *Saguinus mystax* + *S. inustus* and *Saguinus oedipus* groups as the genera *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807, *Tamarinus* Trouessart, 1904 and *Oedipomidas* Reichenbach, 1862, respectively. Brcko et al. (2022) based their proposal on the robustly supported monophyly of these groups, and the morphological and ecological divergence and geographic distribution of these groups (Figure 1).

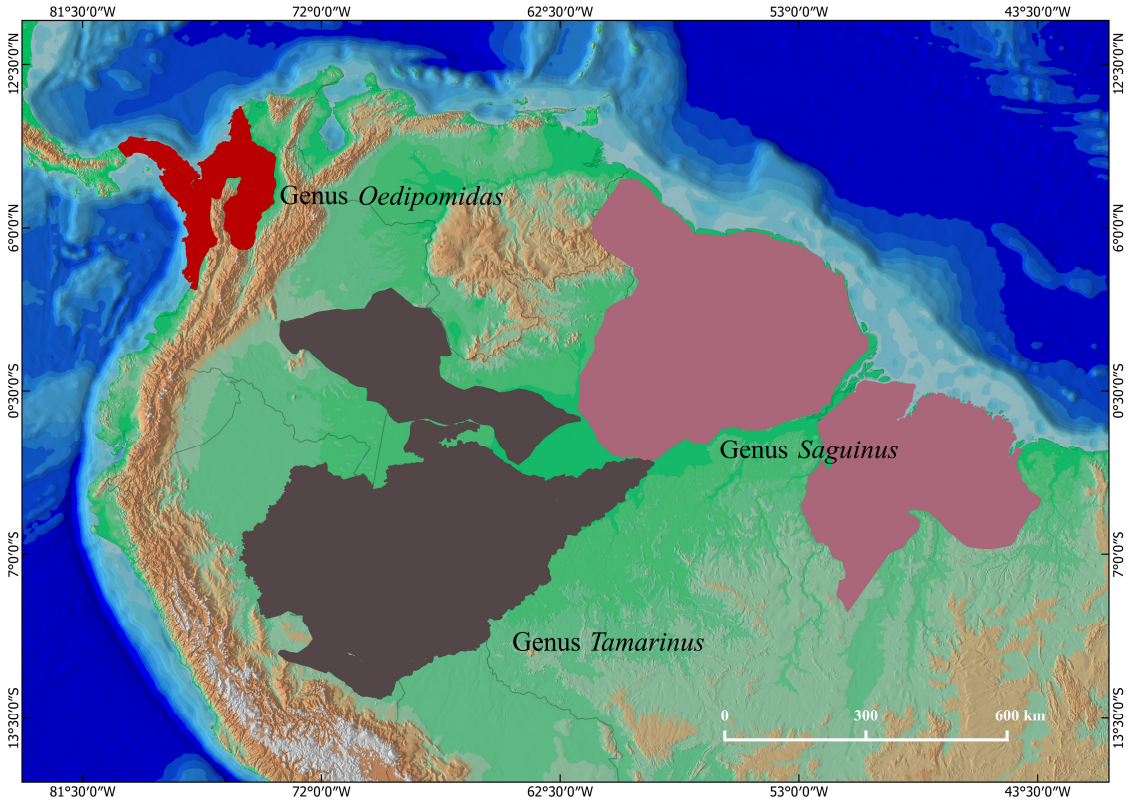


Figure 1. The geographical distributions of tamarins of genus *Tamarinus* (brown), *Oedipomidas* (red), and *Saguinus* (wine).

Molecular data has also contributed to taxonomic revisions of the callitrichids. Within the genus *Saguinus*, *S. midas niger* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803) was elevated to full species, *S. niger* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803), based on analyses of morphological and molecular data (Natori and Hanihara, 1992; Rylands et al., 1993; Vallinoto et al., 2006; Rylands and Mittermeier, 2009). Molecular phylogenies also indicated that the *S. niger* population on the right bank of the Tocantins River were a distinct taxon (Tagliaro et al., 2005; Vallinoto et al., 2006). Thus, based on these studies and on craniometric and phenetic data, this population was revalidated as a full species, *Saguinus ursulus* Hoffmannsegg, 1807, previously considered a synonym of *S. niger* by Hershkovitz (1977) (Gregorin and Vivo, 2013). Unlike Hershkovitz (1977), Groves (2001) considered *S. bicolor* (Spix, 1823) a full species and reclassified *S. bicolor ochraceus* and *S. bicolor martinsi* as *S. martinsi* (Thomas, 1912), with two subspecies, *S. m. martinsi* (Thomas, 1912) and *S. m. ochraceus* Hershkovitz, 1966.

Comparative morphological studies also resulted in the recognition of *O. oedipus* (Linnaeus, 1758) and *O. geoffroyi* (Pucheran, 1845) as a separate species (Hanihara and Natori, 1987; Kanazawa and Rosenberger, 1988; Skinner, 1991; Moore and Cheverud,

1992; Rylands, 1993). These findings were confirmed by subsequent molecular phylogenies (Araripe et al., 2008; Perelman et al., 2011; Ruiz-García et al., 2014; Buckner et al., 2015; Brcko et al., 2022).

The genus *Tamarinus* has also been subject to taxonomic revisions. Lopes et al. (2023) revised the *Tamarinus mystax* species and described a new species from the Juruá-Tefé interfluvia, while Hrbek et al. (2022 in preparation) revised the taxonomy of the *Tamarinus labiatus* species, finding support for *Tamarinus thomasi* (Goeldi, 1907), but no support for a species-level divergence of *T. labiatus labiatus* and *T. labiatus rufiventer*. This supports the taxonomy of Hershkovitz (1977) who recognized only *Tamarinus labiatus* albeit showing clinal phenotypic variation across a north-south gradient, while Groves (2001) revalidated the subspecies *Tamarinus labiatus rufiventer* (Gray, 1843) for individuals in the northern portion of the distribution of *Tamarinus labiatus*. The last unrevised group is the *Tamarinus imperator* species group.

Currently seven species of the genus *Tamarinus* are recognized. *Tamarinus thomasi* and *T. inustus* occur west of the Negro and north of the Solimões/Amazonas rivers, while the remaining species occur west of the Madeira and south of the Solimões/Amazonas rivers (Figure 2). Rivers delimit the ranges of all the taxa. The phylogenetic relationships of tamarins, however, are not well resolved. Additionally, no study has a complete taxonomic sampling of all recognized species and subspecies. In this study, we reconstruct time-calibrated species tree hypothesis of all extant species and subspecies of the genera *Saguinus*, *Tamarinus* and *Oedipomidas* using ddRAD sequence data. We also address the taxonomic status of *Tamarinus imperator imperator* (Goeldi, 1907), and *Tamarinus imperator subgrisescens* (Lönnberg, 1940), and we discussed the recent proposal of Brcko et al. (2022) to classify the *Saguinus bicolor+midas*, *Saguinus mystax+inustus* and *Saguinus oedipus* groups as the genera *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807, *Tamarinus* Trouessart 1904 and *Oedipomidas* Reichenbach, 1862, respectively.

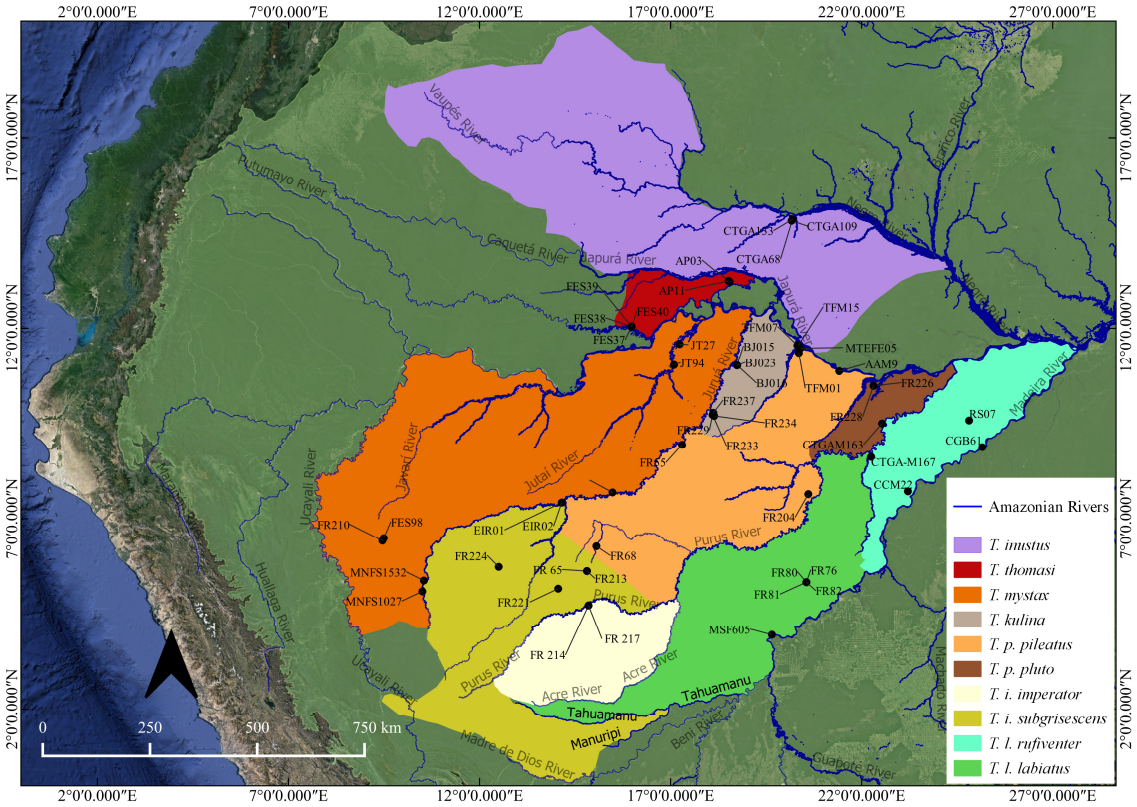


Figure 2. Distribution of species/subspecies of the genus *Tamarinus*. Black circles represent localities of the genetic samples. Polygons modified from IUCN and Sampaio et al. (2018).

2. Materials and Methods

2.1. Collection of ddRAD data

We extracted DNA from tissues deposited at Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá (IDSM), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado de Amapá (IEPA), Association KWATA and The Field Museum of Natural History (FMNH), and Pontificia Universidad Javeriana. We obtained tissue samples from 46 specimens of the genus *Tamarinus*, 26 specimens of genus *Saguinus*, 6 specimens of genus *Oedipomidas*, and 10 specimens of *Leontocebus* (outgroup) (Supplementary Table 1).

We performed a partial representational genome sequencing using the SdaI and Csp6I restriction enzymes (ThermoFisher), through the double digest RAD sequencing protocol (ddRAD) (Peterson et al., 2012), modified and optimized for the IonTorrent PGM (Boubli et al. 2018; see: https://github.com/legalLab/protocols-scripts), and selected fragments in the range of 320–400 bp using PippinPrep (Sage Science) Samples were sequenced on the IonTorrent PGM using the manufacturer's recommended protocol. We generated data

for the 88 specimens of tamarins (Supplementary Table 1). These specimens represented all known species and subspecies of the ingroup. These specimens were also sampled across the known geographic distribution of the taxa.

Sequencing reads were processed using the pyRAD pipeline (Eaton, 2014). During de novo assembly, we used a minimum coverage of 6x per locus, assembling all fragments in the 300–400 bp range. Nucleotides with PHRED scores <30 were excluded, and loci with more than six low-quality nucleotides were excluded. Following demultiplexing and extraction of loci using the above criteria, we proceeded with the clustering of alleles within loci, and of loci across individuals, and the generation of the dataset for analyses. The minimum similarity to allow the union of reads in the same cluster was 88%, and the minimum individual coverage for a cluster to be accepted as valid was 26 reads. We subsequently filtered the clusters, excluding all loci with more than 50% heterozygotes - likely paralogs. The resulting dataset contained 512 loci and 180,043 nucleotides.

We also processed our raw reads using DiscoSnp-RAD (Gauthier et al., 2020), which uses De Bruijn graphs to circumvent the need for clustering of reads, reducing data loss due to low coverage within individuals. We extracted single nucleotide polymorphisms (SNPs) from our reads using a minimum read depth of 5. Furthermore, we filtered these loci on rank (Gauthier et al., 2020), retaining those SNPs with rank > 0.9—a statistic incorporating the discriminant power as function of read coverage of each SNP—and those that were present in at least 90% of the samples, i.e., no more than 9 individuals had missing data at any particular SNP locus. The resulting variant call file (VCF) was filtered to retain one SNP per RAD locus resulting in a 95.87% complete matrix comprising 13,242 loci. Using the same filtering procedure, we also generated a VCF file containing individuals of *Tamarinus imperator imperator*, *Tamarinus imperator subgrisescens* and *Tamarinus inustus*. The resulting VCF contained 6,522 loci and was 100% complete.

2.2. Species hypotheses tests

Tests of taxonomic hypotheses for *Tamarinus imperator*

We carried out a path sampling analysis in BEAST2 (Bouckaert et al. 2014) testing competing taxonomic hypotheses derived from current taxonomy. The potential taxa whose taxonomic status was tested were *Tamarinus imperator imperator* and *Tamarinus*

imperator subgrisescens. The taxonomic hypotheses were: 1) one species - (*T. i. imperator* + *T. i. subgrisescens*); 2) two species - (*T. i. imperator* and *T. i. subgrisescens*). Marginal probabilities of the competing taxonomic hypotheses were then compared by Bayes factors (Kass & Raftery, 1995).

2.3. Phylogenetic analyses

We estimated a species tree phylogeny using SVDquartets (Chifman and Kubatko, 2014) implemented in PAUP (Swofford, 2002) and the STARBEAST2 package of BEAST v2.6 (Bouckaert et al., 2014). We opted to use both methods since although both are fully coalescent methods of species tree phylogenetic reconstruction, they have slightly different premises and use data in a different form (SNPs vs. sequences). For both analyses, we inferred phylogenetic relationships of all valid species and subspecies.

The SVDquartets method infers quartets based on summaries of SNPs in a concatenated sequence matrix using a full coalescent model (Chifman and Kubatko, 2014). We assessed the robustness of the species tree topology using 1000 bootstrap replicates. For species tree analyses in STARBEAST2, we first ran PartitionFinder2 (Lanfear et al., 2017) on our genomic alignment to select an optimal number of partitions and their respective models of molecular evolution, grouping the 512 ddRAD loci into 140 partitions. We analyzed these data in BEAST v2.6 (Bouckaert et al., 2014), implementing the Yule tree prior, generating 10^8 topologies, sampling every 10^4th topology and discarding the first 15% topologies as burn-in after verifying stationarity in Tracer v1.7 (Rambaut et al., 2018). Topologies were visualized in DensiTree (Bouckaert, 2010), and a final maximum clade credibility tree was generated using TreeAnnotator v1.6.2 (Rambaut and Drummond, 2015) after discarding 15% burn-in. The maximum clade credibility tree and divergence times were calibrated using the log-normal divergence prior (mean = 5.8207 ± 0.15 My; (Perelman et al., 2011)) was then visualized in FigTree v1.3 (Rambaut, 2010).

3. Results

3.1. Test of phylogenetic hypotheses for *Tamarinus imperator*

We tested two alternative taxonomic hypotheses: 1) *Tamarinus imperator*; 2) *Tamarinus imperator* and *Tamarinus subgrisescens*. The marginal likelihood of the one-species hypothesis was -82298.756 while that of the two-species hypothesis was -81374.587,

resulting in a Bayes Factor of 1848.338. Bayes Factors > 10 are considered decisive (Kass & Raftery, 1995), and therefore there is decisive support for the existence of two species: *Tamarinus imperator* and *Tamarinus subgrisescens*. This inference is supported by diagnostic phenotypic differences between the two species (Figures 3 and 4) and disjunct distribution (Figure 2). Therefore, we raised these two taxa to the species level, we started to designating them as *Tamarinus imperator* and *Tamarinus subgrisescens*.

Taxonomy

Order Primates Linnaeus, 1758

Family Callitrichidae Thomas, 1903

Genus *Tamarinus* Trouessart, 1904

***Tamarinus imperator* (Goeldi, 1907)**

Common name: Black-chinned Emperor Tamarin



Figure 3. Coat color pattern of *Tamarinus imperator*. Illustration by Stephen D. Nash.

Synonyms

Midas imperator Goeldi, E.A. 1907. Proc. Zool. Soc. Lond. 1907: 93.

Leontocebus imperator Elliot, D.G. 1913. A Review of the Primates 1: 209.

Tamarin imperator imperator Cruz Lima, E. 1945. Mamíferos da Amazônia. 1. Primates, p. 222.

Marikina imperator imperator Hershkovitz, P. 1949. Proc. U. S. Nat. Mus. 98: 412.

Mirikina [sic] (*Tamarin*) *imperator imperator.* Vieira, C.O.C. 1955. Arq. Zool. São Paulo 8: 396.

Leontocebus (*Tamarinus*) *imperator* Harms, J.W. 1956. Primatologia. 1: 563.

Tamarinus i[*mperator*] *imperator* Hill, W.C.O 1957. Primates. Comp. Anat. Taxon. III. Pithecoidea Platyrrhini (Fam. Hapalidae and Callimiconidae). Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, p. 239.

Leontocebus [*Leontocebus*] *imperator imperator* Cabrera, A. 1958. Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat. "Bernardino Rivadavia" 4(1): 192.

Leontocebus imperator imperator Carvalho, C. T. 1959. Rev. Brasil. Biol. 19(4): 459.

Saguinus imperator Hershkovitz, P. 1968. Evolution 22(3): 563.

Saguinus imperator imperator Napier, P.H. 1976. Cat. Primates Brit. Mus. (Nat. Hist.). Part 1. Callitrichidae and Cebidae. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Lond., p. 12.

Saguinus imperator imperator Hershkovitz, P. 1979. Primates 20(2): 277.

Saguinus (*Tamarinus*) *imperator imperator.* Garbino, G.S.T. & Martins-Junior, A.M.G. 2018. Mol. Phylogenet. Evol. 118: 169.

Diagnostic characters: Light black triangular chin patch, white chin hairs short, except over the mouth which becomes progressively long towards the side forming the mustache. Back and lateral fringe buffy or grayish agouti, hairs usually dark brown basally. Underside and inner side of arms orange with white hairs (Hershkovitz, 1977, 1979; Groves, 2001).

Specimens examined (N=3): Brazil: (INPA FR214), (INPA FR215), (INPA FR217).

Type locality: Upper Rio Purus and Rio Acre region. Cabrera (1958, p. 193) restricted the type locality to the Rio Acre. Carvalho (1959) indicated Bom Lugar or Monte Verde on the upper Rio Purus, near the mouth of the Rio Acre, but they are outside the range. Hershkovitz (1979) suggested that the specimens were collected on the left bank of the

Rio Acre opposite Monte Verde. The locations of Bom Lugar and Monte Verde are plotted in Snethlage (1909, map opposite page 76) (see Hershkovitz, 1979).

Distribution: *Tamarinus imperator* occurs in Bolivia, Brazil and Peru, in the southwestern Amazon, east of the upper Rio Purus, between the Purus and the Rio Acre (Hershkovitz, 1979; Figure 2). There is a record of this species on the right bank of the Acre River, in Peru (Encarnación & Castro, 1990). This record in Peru shows that the distribution of this species in this country seems to be restricted, since no other records were found (Castro et al., 1990).

***Tamarinus subgrisescens* (Lönnberg, 1940)**
Common name: Bearded Emperor Tamarin



Figure 4. Coat color pattern of *Tamarinus subgrisescens*. Illustration by Stephen D. Nash.

Synonyms

Mystax imperator subgrisescens Lönnberg, E. 1940. Ark. Zool., Stockholm 32A (19): 9.

Tamarin imperator subgrisescens Cruz Lima, E. 1945. Mamíferos da Amazônia. 1. Primates, p. 224.

Marikina imperator subgrisescens Hershkovitz, P. 1949. Proc. U. S. Nat. Mus. 98: 412.

Mystax imperator Crandall, L.S. 1951. Anim. Kingdom 54(6): 179.

Leontocebus imperator subgrisescens Carvalho C.T. 1957. Bol. Mus. Paraense Emílio Goeldi., n.s. Zool. (6): 6.

T[*amarinuus*] *i*[*mperator*] *subgrisescens.* Hill, W.C.O. 1957. Primates. Comp. Anat. Taxon. III. Pithecoidea Platyrrhini (Fam. Hapalidae and Callimiconidae). Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, p. 222.

Leontocebus [*Leontocebus*] *imperator subgrisescens* Cabrera, A. 1958. Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat. "Bernardino Rivadavia" 4(1): 193.

Saguinus imperator Hershkovitz, P. 1966. Evolution 22(3): 563.

Saguinus imperator subgrisescens Hershkovitz, P. 1979. Primates 20(2): 277.

Saguinus (*Tamarinus*) *imperator subgrisescens.* Garbino, G.S.T. & Martins-Junior, A.M.G. 2018. Mol. Phylogenet. Evol. 118: 169.

Specimens examined (N=6): Brazil: IDSM03385, IDSM03386, INPAFR213, INPA FR221, INPA FR224, INPAMNSF993.

Diagnostic characters: Chin whiskers elongated into conspicuous tufts. Light black, triangular chin patch more or less concealed by long chin whiskers. Chest and belly with a mixture of mainly gray brown and white hairs. Back and lateral fringe brownish agouti, hairs at roots brown, drab or white. Inner side of forelimbs dominantly silvery brown (Hershkovitz, 1979).

Type locality: Santo Antônio, west bank Rio Eiru, near confluence with Rio Juruá, state of Amazonas, Brazil (Hershkovitz, 1977).

Distribution: *Tamarinus subgrisescens* occur in Bolivia, Brazil and Peru (Hershkovitz, 1977; Rylands et al., 1993). In Brazil its distribution is east of the upper Juruá River to the left bank of the upper Purus River (Figure 3; Sampaio et al., 2018). The distribution extends to the south of the Pauini River and seems to be limited by the occurrence of Tamarinus pileatus (Sampaio et al., 2018). The distribution in Peru extends to the

headwaters of the Juruá River, to the east bank of the upper Ucayali River, east of the mouth of the Apurimac River and south of the Urubamba and Inuya Rivers, to the foothills of the Andes (Heymann et al., 2021). It occurs in eastern Bolivia, on both banks of the Madre de Dios River (Izawa, 1979), and its southern limit is probably the Tahuamanú River (Heymann et al., 2021).

3.2. Phylogenetics inferences

Our analysis resulted in robustly supported phylogenetic hypotheses. The topologies of the SVDQ and STARBEAST2 species tree analyses are identical except for the phylogenetic position of *Tamarinus thomasi* (Figures 5, 6, and 7). In the SVDQ phylogeny *Tamarinus thomasi* is sister to *Tamarinus labiatus* (Figure 5), while in the STARBEAST2 phylogeny it is sister to *Tamarinus inustus* (Figures 6 and 7). In both analyses we recovered strong support for the monophyly of the genera *Leontocebus*, *Oedipomidas*, *Saguinus* and *Tamarinus*.

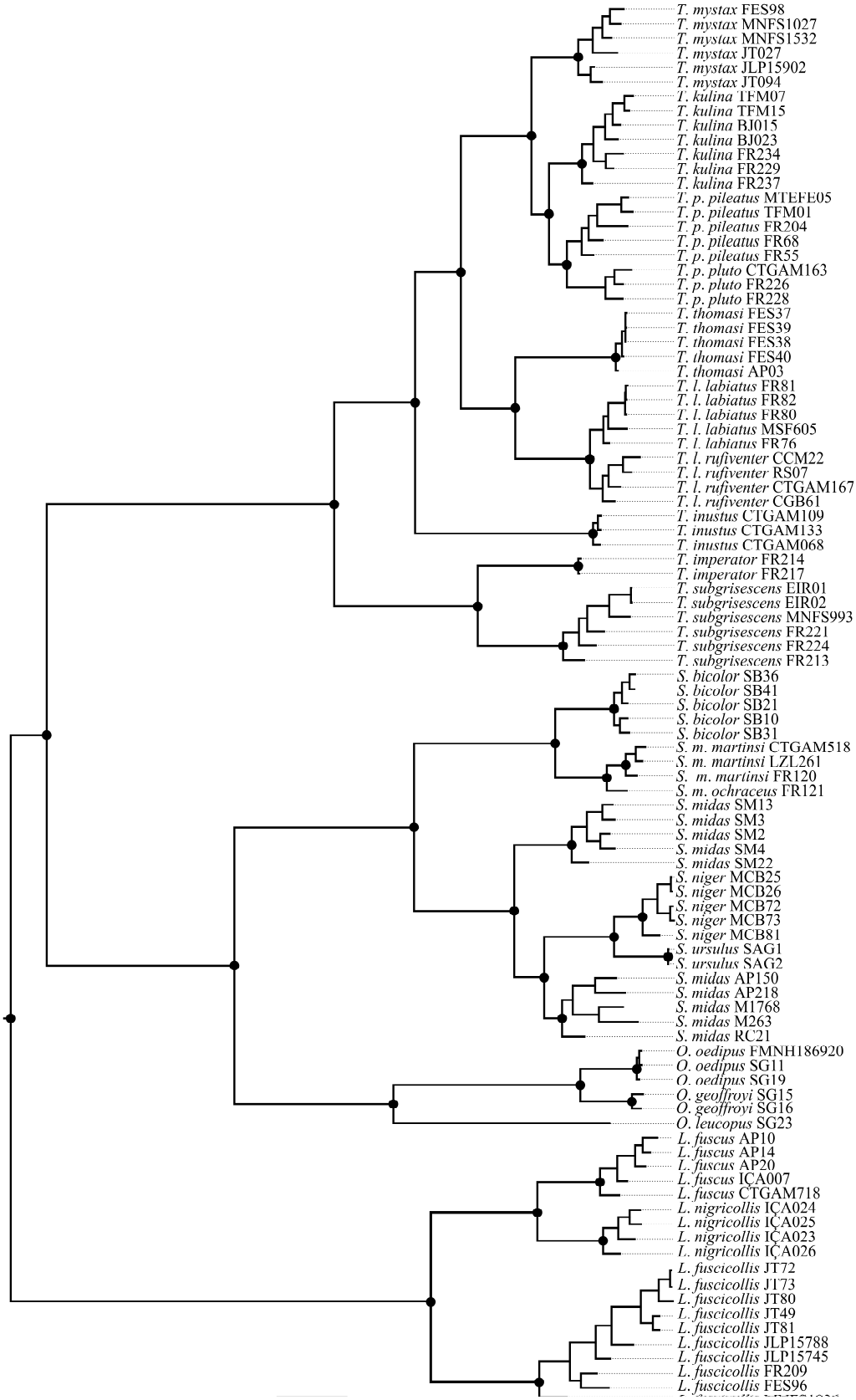


Figure 5. SVDQuartet phylogeny of genus *Oedipomidas*, *Saguinus* and *Tamarinus*. Black dots on major clades indicate supported clades by a 100% bootstrap value, sensu Hillis & Bull (1993).

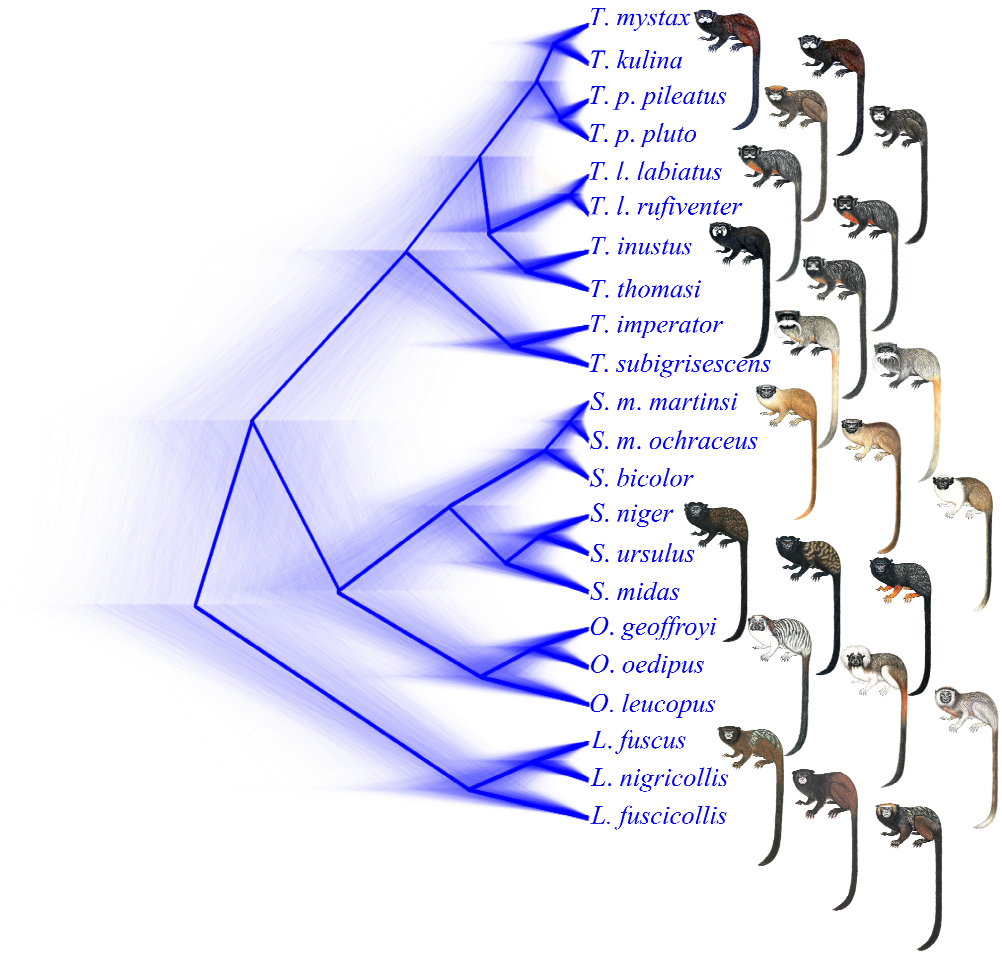


Figure 6. DensiTree and coat color of three species of genus *Leontocebus* (outgroup), and all species/subspecies of genera *Oedipomidas*, *Saguinus* and *Tamarinus*.

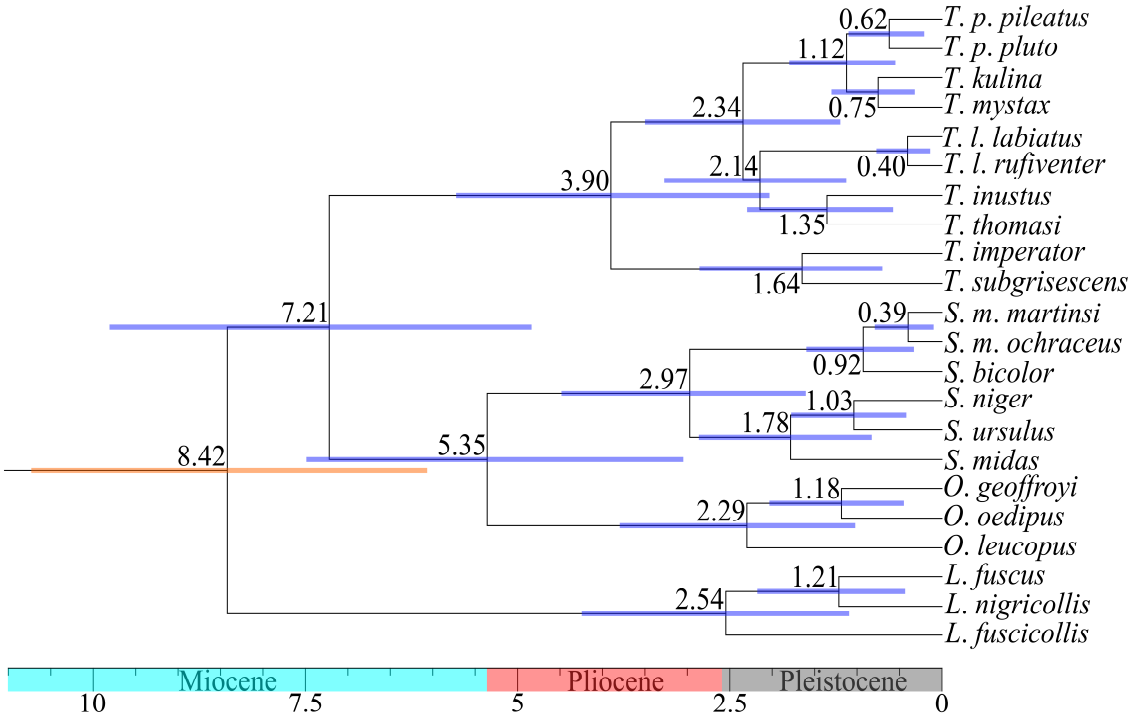


Figure 7. Bayesian phylogenetic time species tree of tamarins of the genera *Leontocebus* (outgroup) *Tamarinus*, *Oedipomidas* and *Saguinus*. Numbers in nodes correspond to time in millions of years and error bars represent 95% HPD intervals. Divergences represented by orange error bars were used as calibration points. Bayesian posterior probabilities are all equal to 1. See Supplementary Material 1 for all specimens used in this phylogenetic analysis.

Using the 8.42 ma (HPD = 5.72–11.38 ma) divergence of *Leontocebus* and all other tamarins reported in Perelman et al. (2011), we estimated the divergence of *Tamarinus* and *Oedipomidas*/*Saguinus* at 7.19 ma (HPD = 4.88–9.85 ma; Figure 7), and of *Oedipomidas* and *Saguinus* at 5.33 ma (HPD = 2.99–7.41 ma; Fig. 7).

In addition to the divergence found here in relation to the genera *Saguinus* and *Oedipomidas*, the genus *Tamarinus* is also differentiated by phenotypic distinctiveness, morphology and behavioral characters (Hershkovitz, 1977; Natori, 1988; Garbino and Martins-Junior, 2018; Brcko et al., 2022). The morphology and behavioral characters exhibited phylogenetic signs to separate the *genus Tamarinus* from genera *Saguinus* and *Oedipomidas* (Natori, 1988; Garbino and Martins-Junior 2018). This shows the consistency of these data in reflecting the molecular phylogeny of the three genera. Furthermore, the patterns found in cranial and dental morphology suggest a reorganization during the diversification of three genera (Ackermann and Cheverud, 2000; 2002). Thus, we support the proposition of Brcko et al. (2022) for the genera *Tamarinus*, *Oedipomidas* and *Saguinus*. In this sense, we reinforce the division of *Saguinus* into three genera which are *Tamarinus*, *Oedipomidas* and *Saguinus*.

Genus *Tamarinus* Trouessart, 1904

Contents: *Tamarinus imperator*, *Tamarinus subgrisescens*, *Tamarinus thomasi*, *Tamarinus inustus*, *Tamarinus labiatus labiatus*, *Tamarinus labiatus rufiventer*, *Tamarinus mystax*, *Tamarinus kulina*, *Tamarinus pileatus pileatus*, and *Tamarinus pileatus pluto*.

Diagnostic characters: Dorsal pelage unpatterned or weakly mottled, depigmentation in perineum and face, in this last one leading to a white circumbuccal chromatogenetic field that, in all but *S. inustus*, includes a mustache, and this is the most evident feature of this genus (Hershkovitz, 1977). Ears of species/subspecies of *Tamarinus* are hairy (Hershkovitz, 1977). Cranial length varies from 49.6 to 52.1 mm, the i1 is as wide as it is long, and the M2 reduction index is 49.2 to 64.5% (Natori 1988; Garbino and Martins-Júnior 2018). Enamel of the lower incisor is moderate-thick on the labial side and thin on the lingual side (Nogami & Natori, 1986). Lower maxillary zygomatic suture is at a more distant position in the median plane of the skull (Nogami & Natori, 1986; Athaydes et al., 2021). Alveolar process plus piriform aperture larger than in other genera (Hanihara & Natori, 1989). Long calls have 10–19 syllables (Snowdon & Hodun, 1985; Snowdon, 1993; Windfelder, 2001) with frequency between 8 and 12 kHz (Snowdon & Hodun, 1985; Masataka, 1988; Windfelder, 2001).

Genus *Oedipomidas* Reichenbach, 1862

Contents: *Oedipomidas geoffroyi*, *Oedipomidas leucopus*, and *Oedipomidas oedipus*.

Diagnostic characters: Dorsal pelage mottled unpatterned, absence of hair on face, short or long silver hair on forehead, posterior portion of cheeks and crown, ears are small and square except in *O. leucopus* (Pocock, 1917; Hershkovitz, 1968, 1977). Cranial length varies from 46.5 to 56.4 mm (Hershkovitz, 1977; Garbino and Martins-Júnior 2018). Maxilla narrower than in other genera (Natori & Hanihara, 1988), superior zygomaxillary closer to the median plane of skull than in other genera, and posterior portion of the zygomaticomaxillary suture runs posteriorly along the zygomatic arch (vs. running inferiorly) (Natori, 1988). The M2 reduction index is 36.1 to 55.0% (Kanazawa & Rosenberger 1988; Garbino and Martins-Júnior 2018). Modified nonserial pattern of dental enamel; moderately thin on lower incisors on the labial side and very thin on the lingual side

(Nogami & Natori, 1986). Hypocone on upper molar reduced, except in *O. leucopus* (Natori, 1988). Upper canine and upper premolars with larger and buccolingual crown diameters (Hanihara & Natori, 1987; Natori & Hanihara, 1988). The long calls have 1–4 syllables with emission frequency between 1–3 kHz (Snowdon and Hodun, 1985; Savage et al., 1993; Windfelder, 2001).

Genus *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807

Contents: *Saguinus bicolor*, *Saguinus martinsi* (*Saguinus martinsi martinsi*, *Saguinus martinsi ochraceus*) *Saguinus midas*, *Saguinus niger*, and *Saguinus ursulus*.

Diagnostic characters: Dorsal pelage unpatterned with pronounced depigmentation in circumbuccal, head, back, chest and belly regions (Hershkovitz, 1977). Cranial length varies from 46.5 to 55.7 mm (Hershkovitz, 1977), M2 reduction index <50% (Garbino & Martins-Junior, 2018). Nasal bones (rhinion and prosthetic) in different positions from that found in the genera *Tamarinus* and *Oedipomidas* (Natori & Hanihara, 1988). Dental enamel varies from nonserial modified (*S. midas*) to highly modified (*S. bicolor*/*S. martinsi*), enamel of lower incisor on labial side from thin (*S. midas*) to moderate (*S. bicolor*/*S. martinsi*), and thin (*S. midas*) or very thin (*S. bicolor*/*S. martinsi*) on lingual side (Nogami & Natori, 1986). Premetacristid runs distally from mesial corner sharply downward to lower premolar (Natori, 1988); upper premolars (P3 and P4) with larger mesiodistal crown diameters; smallest height of alveolar process with a pyriform aperture and wider inner orbital breadth (Hanihara & Natori, 1989). Long calls with 4–6 syllables, with emission frequency between 5–9 kHz (Wittiger, 2002; Sobroza et al., 2021).

4. Discussion

Here, we use the ddRAD data set to generate the most complete phylogeny of the genus *Tamarinus*, with all subspecies, including the new species. Çikely it is also the first study to assess the evolutionary history of the *Tamarinus*. Furthermore, this is the first study to include all species of the genera *Oedipomidas* and *Saguinus*. Although the taxonomy and systematics of the genera *Tamarinus*, *Oedipomidas* and *Saguinus* have been the subject of discussion since Hershkovitz's (1977) seminal study, the taxonomy of *Tamarinus* remained virtually unchanged, thus, we provide the first comprehensive phylogeny for three genera of Neotropical primates throughout an extensive molecular analysis.

Tamarinus imperator and Tamarinus subgrisescens

Our analyses confirm the existence of two species of *Tamarinus* previously subsumed under the specific epithet of *Tamarinus imperator*. Not only is there decisive support for the two species *T. imperator* and *T. subgrisescens*, but these species are also estimated to have diverged 1.63 ma. The time of this divergence is greater than all other sister species divergences observed in the genera *Tamarinus*, *Saguinus* and *Oedipomidas*. *Tamarinus imperator* and *T. subgrisescens* also exhibit markedly different phenotypes and have non-overlapping geographic distributions. Despite the distinct phenotypes of the two species, *T. imperator* was considered a single species with great individual and ontogenetic variation (Hershkovitz, 1977). Hershkovitz (1977) based his taxonomy mostly on specimens of *T. subgrisescens*. Thus, after analyzing other specimens of *T. imperator*, Hershkovitz (1979) realized that the phenotypes were different and that they were two subspecies. Recent studies could not clarify the taxonomy of these species as only *T. subgrisescens* were analyzed (Athaydes et al., 2021; Brcko et al., 2022). Only Araripe et al. (2008) enclosed both species in their study, and two significant lineages were found, suggesting the existence of two species. Furthermore, the most recent studies could not clarify the taxonomy of these species (Athaydes et al., 2021; Brcko et al., 2022).

Tamarinus inustus

We confirmed that *T. inustus* is a member of the genus *Tamarinus*. While Hershkovitz (1977) considered *T. inustus* an enigma due to its unclear relationship to other tamarins and proposed a separate species group to accommodate it, molecular and morphological phylogenies as well as dental morphology have supported its close, although often unresolved phylogenetic relationship to another member of the genus *Tamarinus* (Natori and Hanihara 1992; Cropp et al., 1999; Boubli et al., 2015; Buckner et al., 2015; Athaydes et al., 2021; Brcko et al., 2022). In our analyses we find two alternates, albeit strongly supported phylogenetic relationships. In the STARBEAST2 analysis *T. inustus* is sister to *T. thomasi* (Fig. 6, 7). In the SVDquartets analysis *T. inustus* is sister to the clade formed by *T. thomasi* and *T. labiatus* (Figure 5).

Both phylogenetic relationships are plausible, and potentially reflect a complex history of divergence of *T. thomasi*. Since *T. thomasi* is phenetically similar to *T. labiatus*, the sister taxon relationship of *T. inustus* and *T. thomasi* + *T. labiatus* as inferred in SVDquartets would appear non-controversial. *Tamarinus thomasi* is, however, separated by over 300 km and the Amazon River from *T. labiatus*, but it's distribution is parapatric

to that of *T. inustus*. This parapatry might have permitted hybridization between *T. thomasi* and *T. inustus* indicated at sister taxon relationship recovered in the STARBEAST2 analysis. While the raw genomic data for both analyses is identical, extraction of SNPs in DiscoSnp-RAD (Gauthier et al., 2020) and sequences in pyRAD (Eaton 2014) results in slightly different final datasets. Similarly, while both SVDquartets and STARBEAST2 analyses are both fully coalescent analyses, they may recover alternate evolutionary histories (Collins and Hrbek, 2018).

Phylogeny of tamarins

Our phylogenetic analyses recover high clade support for all species, and for relationships between species. The divergence of *Tamarinus*, *Oedipomidas*, *Saguinus*, and *Leontocebus* occurred in the Middle to Late Miocene. The timing of this diversification coincides with the diversification of other primate groups (Lynch Alfaro et al., 2012a; Byrne et al., 2016; Ruiz-García et al., 2016, 2018 Lima et al., 2018), which may indicate geological or climatic events that may have similarly affected different groups.

One genus or three? Assessing whether large-bodied tamarins should be divided into three genera

Although there are taxonomic proposals for defining supraspecific categories (Schaefer, 1976; Dubois, 1988; Avise and Johns, 1999), genera generally represent a consensual classification among taxonomists, as the use of these categories is relevant not only because it reflects phylogenetic relationships (de Queiroz, 1988, 1997; Dubois, 1988), but are also relevant in communicating, estimating, evaluating, investigating patterns and processes, and retrieving information on biodiversity (Simpson, 1961; Clayton, 1972; Dubois, 1988ab; Nee et al., 1994; Barraclough, 2010). Within a zoological concept, a genus would be a well-defined and well-supported monophyletic group of closely related species that share several characters, with morphological, behavioral and ecological diagnoses (Dubois 1988; Dubois and Raffaëlli, 2009).

Some authors have even discussed what a genus means and have proposed some criteria to recognize and delimit genera (Mayr, 1943; Simpson 1945; Mayr, 1950; Cain, 1956; Michener, 1957; Cain 1958; Inger, 1958; Simpson, 1961; Hennig, 1966; Mayr, 1969; Dubois, 1982; Clayton, 1983; Dubois 1988ab, Allmon, 1992; Goodman et al., 1998; Groves, 2001, 2004; Isler et al., 2013; Vences et al., 2013 ; Garbino 2015ab; Garbino et

al. 2019). One of the few widely accepted criteria for delimiting a genus is that the genus in question be monophyletic (Hennig, 1966; Mayr, 1969; Dubois, 1982; Groves, 2001, 2004; Isler et al., 2013; Vences et al., 2013; Garbino 2015a), the other criteria would be divergence time, phylogenetic gaps, and adaptive zone (Simpson, 1944; Mayr, 1950; Simpson, 1953; Hennig, 1966, 1969; Mayr, 1969; de Queiroz, 1994; Avise and Johns, 1999; Wood and Collard, 1999; Groves, 2001, 2004; Groves and Grubb, 2011; Vences et al., 2013). The adoption of these criteria was to make the delimitation of genres objective (Groves, 2001, 2004; Groves and Grubb, 2011). However, there are several criticisms of applying these criteria in isolation, as some of them are not comparable across animal genera (van Valen, 1973; Avise and Mitchell, 2007 Talavera et al., 2013; Garbino, 2015a). Thus, using multiple lines of evidence makes genus delimitation more robust (Lynch Alfaro et al., 2012b; Garbino, 2015a).

There are several arguments against changes in the number of Neotropical genera (Rosenberger, 2012; Ruiz-García et al., 2012; Garbino 2015a; Ruiz-García et al., 2016; Rosenberger, 2020), and to the tamarin species groups in particular (Garbino, 2015b; Garbino and Martins-Júnior, 2018; Garbino et al., 2019). The arguments are largely based on the convenience of taxonomic stability (Garbino and Martins-Júnior, 2018). Garbino (2015a) and Garbino and Martins-Junior (2018) proposed the use of subgenera to avoid change and maximize taxonomic stability. However, stable classifications are not the goal of phylogenetic systematics (Mickevich, 1978; Gaffney, 1979; Kluge, 1989; Dominguez and Wheeler 1997; Grant and Kluge 2005; Padial and De La Riva 2006) and taxonomy must be constantly updated in the face of new data (Dominguez and Wheeler, 1997; Padial and De La Riva, 2006; Baker et al., 2021).

Although the divergence times in primates have been used as a criterion for determining divisions into separate genera (Goodman et al., 1998; Groves, 2001), divergence time alone is insufficient and a phylogenetic approach, associated with morphological, behavioral and ecological characteristics is essential for the reclassification of any group (Dubois 1982; Matauschek, 2010; Lynch Alfaro et al., 2012b; Isler et al., 2013; Garbino, 2015a; Byrne et al., 2016; Rylands et al., 2016). In this sense, we support the division of the genus *Saguinus* into three genera as proposed by Brcko et al. (2022). The phylogenetic relationships found here for *Tamarinus*, *Oedipomidas* and *Saguinus* are also supported by phylogenetic signal based on morphology and behavioral characters (Snowdon, 1993;

Wittiger, 2002; Garbino and Martins-Junior, 2018); this reinforces the synapomorphies of each of these genera. These genera are also geographically disjoint, which reinforces their distinct radiations and ecological differences (Simpson, 1944, 1953; Dubois 1982, 1988ab; Lemen and Freeman 1984; Garber, 1993; Wood and Collard 1999).

Genus *Tamarinus*

The geographic distribution of *Tamarinus* is in the western Amazon, from the left bank of the Madeira River, on the south bank of the Solimões/Amazonas River, except *T. inustus* and *T. labiatus* which occurs on the northern bank of the Solimões/Amazonas River, from the right bank of the Negro River, with *T. inustus* extending west into Colombia (Hershkovitz, 1977; Rylands et al., 1993; Figure 1). The species of genus *Tamarinus* are otherwise largely sympatric with the members of genus *Leontocebus* (Hershkovitz, 1977). The species/subspecies of genus *Tamarinus* show foraging behavior that involves searching for exposed prey (second pattern of Garber 1993). They exploit insects on leaves and branches in the lower and middles levels of the forest canopy (> 6 m), and use quadrupedal walking and leaping, use visual search with fast foraging movements such as lunges and pounces (Mittermeier & van Roosmalen, 1981; Yoneda, 1981; Terborgh, 1983; Yoneda, 1984; Garber, 1988; Norconk, 1990; Garber, 1993; Peres, 1993b; Yoneda, 1984; Buchanan-Smith, 1999; Heymann & Buchanan-Smith, 2000; Nadjafzadeh & Heymann, 2008). The ecological distinctiveness between species/subspecies of genera *Leontocebus* and *Tamarinus* permit sympatry between them, and there is no niche overlap (Garber, 1993; Heymann, 1997).

Genus *Oedipomidas*

Species of the genus *Oedipomidas* have a geographical distribution in Colombia and Panama and have disjunct distributions in relation to the genera *Tamarinus* and *Saguinus* (Hershkovitz, 1977; Rylands et al., 1993; Figure 1). The species of this genus present the first pattern of foraging behavior (Garber, 1993). Insects are hunted on thin flexible branches (5–10 cm in circumference) in the low shrub layer of the forest understory, some 1-5 m above the ground, using a series of energetically costly locomotor and postural activities, including climbing, grasping, and jumping (Moynihan, 1970; Garber, 1980, 1984, 1993). Foraging success is related to ability to move cryptically with minimal disturbance, and prey are gleaned strikingly rapidly with the forelimbs while the hindlimbs maintain a firm grasp on the supporting vegetation (Garber, 1980, 1984, 1993).

Genus *Saguinus*

The distribution of the species of the genus *Saguinus* occurs in the Guiana Shield, from the left bank of the Negro River, on the north bank of the Amazon River, and the Brazilian Shield, from the left bank of Xingu River, on the south bank of the Amazon River (Hershkovitz, 1977; Rylands et al., 1993; Figure 1). Species/subspecies of this genus can be found in continuous primary and secondary forests, campinarana (forest on white sand) and in disturbed habitats, they use upper, middle and lower forest strata (Thorington, 1968; Fleagle and Mittermeier, 1980; Mittermeier & van Roosmalen, 1981; Egler, 1992; Kessler, 1995; Ferrari & Lopes 1996; Day & Elwood, 1999; Oliveira & Ferrari, 2000; Oliveira et al., 2004; Gordo, 2012; Sobroza et al., 2021). During foraging behavior species can move rapidly on horizontal and vertical substrates, and use quadrupedal walking, running, bounding and leaping, preys are hunted in tree trunks, branches, and leaves (Bates, 1864; Thorington, 1968; Fleagle and Mittermeier, 1980; Egler, 1992).

The taxonomic proposal of three genera reflects the relatively old divergence comparable to the divergence of other genera of Neotropical primates, and the phenotypic, morphological, and behavioral discontinuities among the species of the different genera. This taxonomic proposal clearly conveys this information. Other taxonomic scenarios such as species groups are informal and non-standard classification schemes, while subgenera are even more polemic and arbitrary taxonomic categories, and do not appear in the species name (Dubois, 1988ab; Garbino, 2015b; Garbino and Martins-Junior, 2018). Finally, the current taxonomic proposal requires no nomenclatural novelty, since the genus names *Tamarinus* and *Oedipomidas* are available, were used on previous occasions and are non-controversial with respect to species membership (Reichenbach, 1862; Trouessart, 1904; Elliot 1913; Pocock, 1917; Thomas, 1922; Hershkovitz, 1949; Cabrera, 1957; Hill, 1957; Rylands et al., 2016; Garbino and Martins-Junior, 2018).

Conclusion

The taxonomy of the *Tamarinus* has remained practically the same since the seminal review of Hershkovitz (1977, 1979). Here, we provide the first complete phylogeny for the genus *Tamarinus*, with clarification of the phylogenetic relationships of all species in this genus. In addition, we also upgraded *Tamarinus imperator* and *Tamarinus subgrisescens* to species level based on robust genomic evidence. Here, we use all species and subspecies of the genera *Saguinus*, *Oedipomidas* and *Tamarinus* to generate the first

complete phylogeny using ddRAD for these three callitrichid genera, with clarification of the phylogenetic relationships of all species and subspecies in these genera. Therefore, we reiterate and ratify the division of *Saguinus* into three genera, which supports the taxonomic proposal for these three genera.

Acknowledgements

We thank the many institutions that provided tissue loans for this research: the Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá; the Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, and the Universidade Federal do Amazonas; the Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado de Amapá (IEPA); the Association KWATA and The Field Museum of Natural History (FMNH), and the Pontificia Universidad Javeriana. GPL, IVL, JV, TCMS and FE thank the Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (financial support to Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá); the Gordon and Betty Moore Foundation (Grant Agreement to the Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá #5344); the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Grant to the Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá – FAPEAM PPP 016/2014). GPL thanks FAPEAM for a PhD fellowship (Grant 062.00121/2019); FR thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico for a PhD fellowship (CNPq Grant 141555/2017-3). We are also grateful to the coordinators of the projects that provided samples importante for the success of this study (GEOMA/Madeira-Purus – Mario Cohn-Haft); to the Secretaria de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável do Estado do Amazonas, Programa de Monitoramento da Biodiversidade e do Uso de Recursos Naturais em Unidades de Conservação Estaduais do Amazonas (ProBUC); and to the Wildlife Conservation Society (WCS/Brasil). Part of this study was a partnership between the local office of the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio) based in Tefé and the Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. We thank all the people from the interior of Amazonia who helped in the field expeditions. Molecular analyses and field expeditions were in part funded by CNPq/FAPEAM SISBIOTA Program (No. 563348/2010-0) and CAPES (Projeto Pró-Amazonia – "Espécies de Primatas Filogeograficamente Negligenciadas" – Grant 3261/2013) to IPF. Data collection was conducted under permits 42111-1, 42111-2, 42111-4, 42111-5, 59325-1, 59325-2, issued by the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio/Brazil).

References

Ackermann, R. G., & Cheverud, J. M. (2000). Phenotypic covariance structure in tamarins (Genus *Saguinus*): A comparison of variation patterns using matrix correlation and common principal component analysis. *American Journal of Physical Anthropology*, 111, 489–501. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(200004)111:4<489::AID-AJPA5>3.0.CO;2-U

Ackermann, R. R., & Cheverud, J. M. (2002). Discerning evolutionary processes in patterns of tamarin (genus *Saguinus*) craniofacial variation. *American Journal of Physical Anthropology*, 117, 260–271. https://doi.org/10.1002/ajpa.10038

Allmon, W. D. (1992). Genera in paleontology: Definition and significance. *Historical Biology*, 6, 149–158. https://doi.org/10.1080/10292389209380424

Araripe, J., Tagliaro, C. H., Rego, P. S., Sampaio, I., Ferrari, S.F., & Schneider, H. (2008). Molecular phylogenetics of large-bodied tamarins, *Saguinus* spp. (Primates, Platyrrhini). *Zoologica Scripta*, 237, 461–467. https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2008.00343.x

Athaydes, D., Dias, C. A. R., Gregorin, R., Perini, F. A. (2021). Evolution and biogeographic history of the *Saguinus mystax* group (Primates, Callithrichidae). *American Journal of Primatology*, 83, e23226. https://doi.org/10.1002/ajp.23226

Avise, J. C. & Mitchell, D. (2007). Time to standardize taxonomies. *Systematic Biology*, 56, 130–133. https://doi.org/10.1080/10635150601145365

Ayres, J. M., & Clutton-Brock, T. H. (1992). River boundaries and species range size in Amazonian primates. *The American Naturalist*, 140, 531–537.

Barraclough, T. (2010). Evolving entities: towards a unified framework for understanding diversity at the species and higher levels. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 1801–1813. https://doi-org/10.1098/rstb.2009.0276

Bates, H. W. (1864). The Naturalist on the River Amazonas. Jhon Murray.

Bicca-Marques, J. C. (1999). Hand specialization, sympatry, and mixed-species associations in callitrichines. *Journal of Human Evolution*, 36, 349–378. https://doi.org/10.1006/jhev.1998.0272

Boubli, J. P., Ribas, C., Lynch Alfaro, J. W., Alfaro, M. E., Silva, M. N., Pinho, G. M., & Farias, I. P. (2015). Spatial and temporal patterns of diversification on the Amazon: a test of the Riverine Hypothesis for all diurnal primates of Rio Negro and Rio Branco in Brazil. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82 (Part b), 400–412. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.09.005

Boubli, J. P., Silva, M. N. F., Rylands, A. B., Nash, S. D., Bertuol, F., Nunes, M., Mittermeier, R. A., Byrne, H., Silva, F. E., Rohe, F., Sampaio, I., Schneider, H., & Farias, I. P. (2018). How many pygmy marmoset (*Cebuella* Gray, 1870) species are there? A taxonomic re-appraisal based on new molecular evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 120, 170–182. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.11.010

Brcko, I. C., Carneiro, J., Ruiz-García, M., Boubli, J. P., Silva-Júnior, J. S., Farias, I, Hrbek, T. Schneider, H., & Sampaio, I. 2022. Phylogenetics and an updated taxonomic status of the Tamarins (Callitrichinae, Cebidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 173, 107504. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107504

Bouckaert, R., Heled, J., Kühnert, D., Vaughan, T., Wu, C. H., Xie, D., Suchard, M. A., Rambaut, A. & Drummond, A. J. (2014). BEAST 2: A software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Computational Biology*, 10, e1003537. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003537

Buchanan-Smith, H. M. (1999). Tamarin polyspecific associations: Forest utilization and stability of mixed-species groups. *Primates*, 40, 233–247. https://doi.org/10.1007/BF02557713

Buckner, J. C., Lynch Alfaro, J. W., Rylands, A. B., Alfaro, M. E. (2015). Biogeography of the marmosets and tamarins (Callitrichidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82 (Part b), 413–425. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.04.031

Byrne, H., Rylands, A. B., Carneiro, J. C., Alfaro, J. W. L., Bertuol, F., Silva, M. N. F., Messias, M., Groves, C. P., Mittermeier, R. A., Farias, I., Hrbek, T., Schneider, H., Sampaio, I., & Boubli, J. P. (2016). Phylogenetic relationships of the New World titi monkeys (*Callicebus*): First appraisal of taxonomy based on molecular evidence. *Frontiers in Zoology*, 13, 1–25. https://doi.org/10.1186/s12983-016-0142-4.

Cabrera, A. (1957). Catalogo de los mamiferos de America del Sur. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"*, 4, 1–307.

Canavez, F. C., Moreira, M. A. M., Simon, F., Parham, P., & Seuánez. H. N. (1999). Phylogenetic relationships of the Callitrichinae (Platyrrhini, Primates) based on ß2-microglobulin DNA sequences. *American Journal of Primatology*, 48, 225–236. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(1999)48:3<225::AID-AJP4>3.0.CO;2-4

Carvalho, C. T. (1959.) Lectótipos e localidade das espécies de Goeldi (Primates, Carnivora e Rodentia). *Revista Brasileira de Biologia*, 4: 459–461.

Castro, N., Encarnación, F., Valverde, L., Ugamoto, M. & Maruyama, E. 1990. Censo de primates no humanos en el sur oriente peruano: Iberia e Iñapari (Departamento de Madre de Dios). In: M. M. Sommo (Ed.), *La Primatologia en el Perú. Proyecto Peruano de Primatología* (pp. 73–78).

Chifman, J., & Kubatko, L. S. (2014). Quartet inference from SNP data under the coalescent model. *Bioinformatics*, 30, 23, 3317–3324. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu530

Clayton, W. D. (1972). Some aspects of the genus concept. *Kew Bulletin*. 27, 281–287.

Coyne, K. J., Burkholder, J. M., Feldman, R. A., Hutchins, D. A., & Cary, S. C. (2004). Modified serial analysis of gene expression method for construction of gene expression profiles of microbial eukaryotic species. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 5298–5304. https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5298-5304.2004

Cropp, S. J., Larson, A., Cheverud, J. M. (1999). Historical biogeography of tamarins, genus *Saguinus*: the molecular phylogenetic evidence. *American Journal of Physical Anthropology*, 108, 65–89. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199901)108:1<65::AID-AJPA4>3.0.CO;2-4

Cunha, D. B., Monteiro, E., Vallinoto. M., Sampaio, I., Ferrari, S. F., & Schneider, H. (2011). A molecular phylogeny of the tamarins (genus *Saguinus*) based on five nuclear sequence data from regions contain Alu insertions. *American Journal of Physical Anthropology*, 146, 385–391. https://doi.org/10.1002/ajpa.21587

Day, R., & Elwood, R. (1999). Sleeping site selection by the golden handed tamarin *Saguinus midas midas*: the role of predation risk, proximity to feeding sites, and territorial defense. *Ethology*, 105, 1035–1051.

Dubois, A. (1982). Les notions de genre, sous-genre et groupe d'espèces en zoologie à la lumière de la systématique évolutive. *Monitore Zoologico Italiano*, 16, 9–65.

Dubois, A. (1988a). Some comments on the genus concept in zoology. *Monitore Zoologico Italiano*, 22, 27–44.

Dubois, A. (1988b). The genus in zoology: a contribution to the theory of evolutionary systematics. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 140, 1–123.

Dubois, A. (2005). Proposed Rules for the incorporation of nomina of higher-ranked zoological taxa in the International Code of Zoological Nomenclature. 1. Some general questions, concepts and terms of biological nomenclature. *Zoosystema*, 27, 365–426.

Eaton, D. A. (2014). PyRAD: assembly of de novo RADseq loci for phylogenetic analyses. *Bioinformatics*, 30, 1844–1849. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu121

Egler, S. G. (1992). Feeding Ecology of *Saguinus bicolor bicolor* (Callitrichidae: Primates) in a Relict Forest in Manaus, Brazilian Amazonia. *Folia Primatologica*, 59, 61–76. https://doi.org/10.1159/000156644

Elliot, D. G. (1913). *A review of primates, Vol. 1*. American Museum of Natural History Press.

Encarnación, F. & Castro, N. (1990). Informe preliminar sobre censo de primates no humanos en el sur oriente peruano: Iberia e Iñapari (Departamento de Madre de Dios). In: M. M. Sommo (Ed.), *La Primatologia en el Perú. Proyecto Peruano de Primatología* (pp. 57–67).

Fleagle, J. G., & Mittermeier, R. A. (1980). Locomotor behavior, body size, and comparative ecology of seven Surinam monkeys. *American Journal of Physical Anthropology*, 52, 301–14. https://doi.org/10.1002/ajpa.1330520302

Garber, P. A. (1980). Locomotor behavior and feeding ecology of the Panamanian Tamarin (*Saguinus oedipus geoffroyi*, Callitrichidae, Primates). *International Journal of Primatology*, 1, 185–201.

Garber, P. A. (1984). Use of habitat and positional behavior in a neotropical primate, *Saguinus oedipus*. In P. Rodman, & J. Cant (Eds.), *Adaptations for foraging in nonhuman primates* (pp. 112–133). Columbia University Press.

Garber, P. A. (1988). Foraging decisions during nectar deeding by tamarin monkeys (*Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*, Callitrichidae, Primates) in Amazonian Peru. *Biotropica*, 20, 100–106, https://doi.org/10.2307/2388181

Garber, P. A. (1991). A comparative study of positional behavior in three species of tamarin monkeys. *Primates*, 32, 219–230. https://doi.org/10.1007/BF02381179

Garber, P. A. (1992). Vertical clinging, small body size and the evolution of feeding adaptions in Callitrichinae. *American Journal of Physical Anthropology*, 88, 469–482. https://doi.org/10.1002/ajpa.1330880404

Garber, P. A. (1993). Feeding ecology and behaviour of the genus *Saguinus*. In A. B. Rylands (Ed.), *Marmosets and tamarins: systematics, behaviour, and ecology* (pp. 273–295). Oxford University Press.

Garbino, G.S.T., 2015.a Defining genera of New World monkeys: The need for a critical view in a necessarily arbitrary task. Int. J. Primatol. 36, 1049–1064. http://dx.doi.org/10.1007/s10764-015-9882-9.

Garbino, G.S.T., 2015b. How many marmoset (Primates: Cebidae: Callitrichinae) genera are there? A phylogenetic analysis based on multiple morphological systems. *Cladistics*, 31, 652–678. http://dx.doi.org/10.1111/cla.12106.

Garbino, G. S. T., & Martins-Junior, A. M. G. (2018). Phenotypic evolution in marmoset and tamarin monkeys (Cebidae, Callitrichinae) and a revised genus-level classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 118, 156–171. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.10.002

Garbino, G.S.T., Serrano-Villavicencio, J.E., Gutiérrez, E.E., 2019. What is in a genus name? Conceptual and empirical issues preclude the proposed recognition of *Callibella* (Callitrichinae) as a genus. *Primates*, 60, 155-162. https://doi.org/10.1007/s10329-019-00714-3.

Gauthier, J., Mouden, C., Suchan, T., Alvarez, N., Arrigo, N., Riou, C., Lemaitre, C., & Peterlongo, P. (2020). DiscoSnp-RAD: de novo detection of small variants for RAD-Seq population genomics. PeerJ, 8, e9291. https://doi.org/10.7717/peerj.9291

Goodman, M., Porter, C. A., Czelusniak, J., Page, S. L., Schneider, H., Shoshani, J., Gunnell, G., & Groves, C. P. (1998). Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9, 585–598. https://doi.org/10.1006/mpev.1998.0495

Gordo, M. (2012). Ecologia e Conservação do Sauim-de-coleira, *Saguinus bicolor* (Primates; Callitrichidae). PhD Thesis. Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará, Belém, Brazil.

Gregorin, R., & Vivo, M. (2013). Revalidation of *Saguinus ursula* Hoffmannsegg (Primates: Cebidae: Callitrichinae). *Zootaxa*, 3721, 172–182. http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3721.2.4

Groves, C. P. (2001). *Primate taxonomy*. Smithsonian Institution Press.

Groves, C. P. (2005). Order Primates. In D. E. Wilson, & D. M. Reeder (Eds.), *Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference* (pp. 111–184). Johns Hopkins University Press.

Hanihara, T., & Natori, M. (1987). Preliminary analysis of numerical taxonomy of the genus *Saguinus* based on dental measurements. *Primates*, 28, 517–523. https://doi.org/10.1007/BF02380865

Hershkovitz, P. (1968). Metachromism or the principle of evolutionary change in mammalian tegumentary colors. *Evolution*, 22, 556–575. https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1968.tb03992.x

Hershkovitz, P. (1977). *Living New World monkeys, part 1 (Platyrrhini), with an introduction to primates, Vol. 1*. Chicago University Press.

Hershkovitz, P. (1979). Races of the emperor tamarin, *Saguinus imperator* Goeldi (Callitrichidae, Primates). Primates 20, 277–287. https://doi.org/10.1007/BF02373379

Heymann, E. W. (1997). The relationship between body size and mixed-species troops of tamarins. *Folia Primatologica*, 68: 287–295.

Heymann, E. W. & Buchanan-Smith, H. M. (2000). The behavioural ecology of mixed-species troops of callitrichine primates. *Biological Review*, 75, 169–190. https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1999.tb00044.x

Hill, W. C. O. (1957). *Primates. Comparative anatomy and taxonomy. III. Pithecoidea Platyrrhini (Families Hapalidae and Callimiconidae)*. Edinburgh University Press.

Hobolth, A., Dutheil, J. Y., Hawks, J., Schierup, M. H., & Mailund, T. (2011). Incomplete lineage sorting patterns among human, chimpanzee, and orangutan suggest recent orangutan speciation and widespread selection. *Genome Research*, 21, 349–356. https://doi.org/10.1101/gr.114751.110

Isler, M. L., Bravo, G. A., & Brumfield, R. T. (2013). Taxonomic revision of *Myrmeciza* (Aves: Passeriformes: Thamnophilidae) into 12 genera based on phylogenetic, morphological, behavioral, and ecological data. *Zootaxa*, 3717, 469–497. https://doi.org/10.11646/zootaxa.3717.4.3

Jacobs, S. C., Larson, A., & Cheverud, J. M. (1995). Phylogenetic relationships and orthogenetic evolution of coat color among tamarins (genus *Saguinus*). *Systematic Biology*, 44, 515–532. https://doi.org/10.1093/sysbio/44.4.515

Junier, T. & Zdobnov, E. M. (2010). The Newick utilities: High-throughput phylogenetic tree processing in the UNIX shell. *Bioinformatics*, 26, 669–1670. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq243

Kass, R. E., & Raftery, A. E. (1995). Bayes factors. *Journal of the American Statistical Association*, 90: 773–795. https:/10.1080/01621459.1995.10476572

Kanazawa, E., & Rosenberger, A. L. (1988). Reduction index of the upper M2 in marmosets. *Primates*, 29, 525–533. https://doi.org/10.1007/BF02381139

Kessler, P. (1995). Preliminary filed study of the red-handed tamarin, *Saguinus midas*, in French Guiana. *Neotropical Primates*, 3, 184.

Lanfear, R., Frandsen, P. B., Wright, A.M., Senfeld, T., & Calcott, B. (2017). PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 34:772–773. https://10.1093/molbev/msw260

Lemen, C. A., & Freeman, P. W. (1984). The genus: a macroevolutionary problem. *Evolution*, 38, 1219–1237. https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1984.tb05645.x

Lima, M. G. M., Silva-Júnior, J. S., Černý, D., Buckner, J. C., Aleixo, A., Chang, J, Zheng, J., Alfaro, M. E., Martins, A., Di Fiore, A., Boubli, J. P., & Lynch Alfaro, J. W. (2018). A phylogenomic perspective on the robust capuchin monkey (*Sapajus*) radiation: First evidence for extensive population admixture across South America. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 124, 137–150. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.02.023

Lopes, G. P., Rohe, F., Bertuol, F., Polo, E. M., Lima, I. J., Valsecchi, J., Santos, T. C. M., Nash, S., Silva, M. N. F., Boubli, J. P., Farias, I. P., Hrbek, T. (In review). Taxonomic review of *Tamarinus mystax* (Spix, 1823) (Primates, Callitrichinae), and description of a new species. PeerJ.

Lönnberg E. 1940. Notes on marmosets. Arkiv för Zoologi, 32, 1–22.

Lynch Alfaro, J. W., Boubli, J. P., Olson, L. E., Di Fiore, A., Wilson, B., Gutierrez-Espeleta, G. A., Chiou, K. L., Schulte, M., Neitzel, S., Ross, V., Schwochow, D., Nguyen, M., Farias, I., Janson, C., & Alfaro, M. E. (2012a). Explosive Pleistocene range expansion leads to widespread Amazonian sympatry between robust and gracile capuchin monkeys. *Journal of Biogeography*, 39, 272–288. https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02609.x

Lynch Alfaro, J. W., Silva-Júnior, J. S., & Rylands, A. B. (2012b). How different are robust and gracile capuchin monkeys? An argument for the use of *Sapajus* and *Cebus*. *American Journal of Primatology*, 74, 273–286.

Lynch Alfaro, J. W., Boubli, J. P., Paim, F. P., Ribas, C. C., Silva, M. N. F., Messias, M., Röhe, F., Mercês, M. P., Silva Júnior, J. S., Silva, C. R., Pinho, G. M., Koshkarian, G., Nguyen, M. T. T., Harada, M. L., Rabelo, R. M., Queiroz, H. L., Alfaro, M. E., & Farias, I. P. (2015). Biogeography of squirrel monkeys (genus *Saimiri*): south-central Amazon origin and rapid pan-Amazonian diversification of a lowland primate. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82 (Part B), 436–454. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.09.004

Malinsky, M., Trucchi, E., Lawson, D. J., & Falush, D. (2018). RADpainter and fineRADstructure: population inference from RADseq data. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1284–1290. https://doi.org/10.1093/molbev/msy023

McKay, B. D., & Zink, R. M. (2010). The causes of mitochondrial DNA gene tree paraphyly in birds. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54, 647–650. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.08.024

Masataka, N. (1988). The response of red-chested moustached tamarins to long calls from their natal and alien populations. *Animal Behaviour*, 36, 55–61. http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472(88)80249-5

Matauschek, C. (2010). Taxonomy, phylogeny and distribution of tamarins (genus Saguinus Hoffmannsegg, 1807). PhD Thesis. Georg-August Universität, Göttingen.

Matauschek, C., Roos, C., & Heymann, E. W., (2011). Mitochondrial phylogeny of tamarins (*Saguinus*, Hoffmannsegg 1807) with taxonomic and biogeographic implications for the *S. nigricollis* species group. *American Journal of Physical Anthropology*, 144, 564–574. https://doi.org/10.1002/ajpa.21445

Meireles, A. C. O., Sampaio, I., Schneider, H., Ferrari, S. F., Coimbra-Filho, A. F., Pissinatti, A., & Schneider, M. P. C. (1997). A comparative study of eleven protein systems in tamarins, genus *Saguinus* (Platyrrhini, Callitrichinae). *Brazilian Journal of Genetics*, 20, 13–19. https://doi.org/10.1590/S0100-84551997000100003

Meleshko, O., Martin, M. D., Korneliussen, T. S., Schröck, C., Lamkowski, P., Schmutz, J., Healey, A., Piatkowski, B. T., Shaw, A. J., Weston, D. J., Flatberg, K. I., Szövényi, P., Hassel, K., & Stenøien, H. K. 2021. Extensive genome-wide phylogenetic discordance is due to incomplete lineage sorting and not ongoing introgression in a rapidly radiated bryophyte genus. Molecular Biology and Evolution, 38, 2750–2766.

Mittermeier, R. A., & van Roosmalen, M. G. M. (1981). Preliminary observations on habitat utilization and diet in eight Surinam monkeys. *Folia Primatologica*, 36, 1–9. https://doi.org/10.1159/000156007

Mirarab, S., 2019. Species tree estimation using ASTRAL: practical considerations. arXiv preprint arXiv:1904.03826.

Moore, A. J., & Cheverud, J. M. (1992). Systematics of the *Saguinus oedipus* group of the bare-face tamarins: Evidence from facial morphology. *American Journal of Physical Anthropology*, 89, 73–84. https://doi.org/10.1002/ajpa.1330890107

Moynihan, M. (1970). Some behavior patterns of Platyrrhine monkeys: II. *Saguinus geoffroyi* and some other Tamarins. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 28, pp. 1-77

Nadjafzadeh, M. N., & Heymann, E. W. (2008). Prey foraging of red titi monkeys, *Callicebus cupreus*, in comparison to sympatric tamarins, *Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*. *American Journal of Physical Anthropology*, 135, 56–63. https://doi.org/10.1002/ajpa.20704

Natori, M., 1988. A cladistic analysis of interspecific relationships of *Saguinus*. *Primates*, 29, 263–276. http://dx.doi.org/10.1007/BF02381128

Natori, M., & Hanihara, T. (1992). Variations in dental measurements between *Saguinus* species and their systematic relationships. *Folia Primatologica*, 58, 84–92. https://doi.org/10.1159/000156612

Nee, S., May, R. M. & Harvey, P. H. (1994). The reconstructed evolutionary process. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 344, 305–311. https://doi.org/10.1098/rstb.1994.0068

Nogami, Y., & Natori, M. (1986). Fine structure of the dental enamel in the family Callitrichidae (Ceboidea, Primates). *Primates*, 27, 245–258. https://doi.org/10.1007/BF02382603

Norconk, M. A. (1990). Introductory remarks: Ecological and behavioral correlates of polyspecific primate troops. *American Journal of Primatology*, 21, 81–85. https://doi.org/10.1002/ajp.1350210202

Nute, M., Chou, J., Molloy, E. K., & Warnow, T. (2018). The performance of coalescent-based species tree estimation methods under models of missing data. *BMC Genomics*, 19, 1–22. https://doi.org/10.1186/s12864-018-4619-8

Nyakatura, J. A., & Heymann, E. W. (2010). Effects of support size and orientation on symmetric gaits in free-ranging tamarins of Amazonian Peru: Implications for the functional significance of primate gait sequence patterns. *Journal of Human Evolution*, 58, 242–251. https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2009.11.010

Oliveira, A. C. M., & Ferrari, S. F. (2000). Seed dispersal by black-handed tamarins, *Saguinus midas niger* (Callitrichinae, Primates): Implications for the regeneration of degraded forest habitats in eastern Amazonia. *Journal of Tropical Ecology*, 16, 709–716. https://doi.org/10.1017/S0266467400001668

Oliveira, L. C., Mendel, S. M., Silva-Júnior, J. S. & Fernandez, G. W. (2004). New records of Martins' bare-face tamarin, *Saguinus martinsi* (Primates, Callithrichidae). *Neotropical Primates*, 12, 1, 9–12.

Ogilvie, H. A., Bouckaert, R. R., Drummond, A. J. (2017). StarBEAST2 brings faster species tree inference and accurate estimates of substitution rates. *Molecular Biology and Evolution*, 34, 2101–2114. https://doi.org/10.1093/molbev/msx126

Perelman, P., Johnson, W. E., Roos, C., Seuánez, H. N., Horvath, J. E., Moreira, M. A. M., Kessing, B., Pontius, J., Roelke, M., Rumpler, Y., Schneider, M. P. C., Silva, A., O'Brien, S. J., & Pecon-Slattery, J. (2011). A molecular phylogeny of living primates. *PLoS Genetics*, 7, 1–17 https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001342

Peres, C. A. (1993a). Notes on the primates of the Juruá River, western Brazilian Amazonia. *Folia Primatologica*, 61, 97–103. https://doi.org/10.1159/000156735

Peres, C. A. (1993b). Diet and feeding ecology of saddle-back **(***Saguinus fuscicollis***)** and moustached (*S. mystax*) tamarins in an Amazonian terra firme forest. Journal of Zoology, 230, 567–592. https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1993.tb02707.x

Pocock, R. I. (1917). The genera of Hapalidæ (Marmozets*). Annals and Magazine of Natural History*, 8, 20, 247–258.

Rambaut, A. (2010) FigTree v1.3.1. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh.

Rambaut, A., & Drummond A. J. (2015). TreeAnnotator v1.8.2: MCMC Output analysis.

Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M. A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7 *Systematic Biology*, 67, 901–904. https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032

Reichenbach, H. G. L. (1862). Die vollständigste Naturgeschichte der Affen. Dresden & Leipzig: Expedition der vollständigsten Naturgeschichte.

Rohe et al., (in press). Molecular systematics and taxonomy of the genus *Leontocebus* (Platyrrhini, Primates), the small-bodied tamarins from the western Amazon. *Molecular Phylogenetics and Evolution*.

Rohe, F. (2021). Sistemática molecular e biogeografia do gênero *Leontocebus* Wagner, 1839 (Callithrichidae-Primates). PhD Thesis. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

Ruiz-García, M., Escobar-Armel, P., Leguizamon, N., Manzur, P., Pinedo-Castro, M., & Shostell, J. M. (2014). Genetic characterization and structure of the endemic Colombian silvery brown bare-face tamarin, *Saguinus leocopus* (Callitrichinae, Cebidae, Primates). *Primates*, 55: 415–435. https://doi.org/10.1007/s10329-014-0418-2

Ruiz-García, M., Castillo, M.I., & Luengas, K. (2016). It is misleading to use *Sapajus* (robust capuchins) as a genus? A review of the evolution of the capuchins and suggestions on their systematics. In M. Ruiz-García, & J. Shostell (Eds). *Molecular Population Genetics, Evolutionary Biology and Biological Conservation of the Neotropical Primates* (pp. 209–268). Nova Science Publishers Inc.

Ruiz-García, M., Sánchez-Castillo, S., Castillo, M. I., Luengas, K., Ortega, J. M., Moreno, P., Albuja, L., Pinto, C. M., & Shostell, J. M. (2018). How many species, taxa, or lineages of *Cebus albifrons* (Platyrrhini, Primates) inhabit Ecuador? Insight from mitogenomics. *International Journal of Primatology*, 39:1068–1104. https://doi.org/10.1007/s10764-018-0062-6

Rylands, A. B. (1993). The bare-face tamarins *Saguinus oedipus oedipus* and *Saguinus oedipus geoffroyi*: subspecies or species? *Neotropical Primates*, 1: 4–5.

Rylands, A. B., Coimbra-Filho, A. F., & Mittermeier, R. A. (1993). Systematics, geographic distribution, and some notes on the conservation status of the Callitrichidae. In A. B. Rylands (Ed.), *Marmosets and tamarins: Systematics, behaviour and ecology* (pp. 11–77). Oxford University Press.

Rylands, A. B., Schneider, H., Langguth, A., Mittermeier, R. A., Groves, C. P., Rodríguez-Luna, E. (2000). An assessment of the diversity of New World primates. *Neotropical Primates*, 8, 61–93.

Rylands, A. B., & Mittermeier, R. A. (2009). The diversity of the New World primates: An annotated taxonomy. In P. A. Garber, A. Estrada, J. C. Bicca-Marques, E. W. Heymann, & K. B. Strier (Eds.), *South American Primates: Comparative Perspectives in the Study of Behavior, Ecology, and Conservation* (pp. 23–54). Springer.

Rylands A. B., & Mittermeier, R. A. (2013). Family Callitrichidae (Marmosets and Tamarins). In R. A.Mittermeier, A. B. Rylands, & D. E. Wilson (Eds.), *Handbook of the mammals of the world, Volume 3: Primates* (pp. 262–346). Lynx Edicions.

Rylands, A. B., Heymann, E. W., Lynch Alfaro, J. W., Buckner, J. C., Roos, C., Matauschek, C., Boubli, J. P., Sampaio, R., & Mittermeier, R. A. (2016). Taxonomic review of the New World tamarins (Primates: Callitrichidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 177, 1003–1028. https://doi.org/10.1111/zoj.12386

Sampaio, R., Rohe, F., Pinho, G. M., Silva-Júnior, J. S., Farias, I. P., & Rylands, A. B., 2015. Re-description and assessment of the taxonomic status of *Saguinus fuscicollis cruzlimai* Hershkovitz, 1966 (Primates, Callitrichinae). Primates, 1966, 1–13. https://doi.org/10.1007/s10329-0

Sampaio, Ricardo, Rohe, F., Rylands, A. B. 2018. Diversity of primates and other mammals in the middle Purus basin in the Brazilian Amazon. Mammalia, 82, 1–15. https://doi.org/10.1515/mammalia-2016-0136

Silva, F. E., Costa-Araújo, R., Boubli, J. P., Santana, M. I., Franco, C. L. B., Bertuol, F., Nunes, H., Silva-Júnior, J. S., Farias, I., & Hrbek, T. (2018). In Search of a meaningful classification for Amazonian marmosets: should dwarf marmosets be considered *Mico* congenerics? *Zoologica Scripta*, 47, 133–143. https://doi.org/10.1111/zsc.12278

Simpson, G. G. (1944). *Tempo and mode in evolution*. Columbia University Press.

Simpson, G. G. (1953). *The major features of evolution*. Columbia University Press. https://doi.org/10.7312/simp93764

Simpson, G. G. 1961. *Principles of animal taxonomy*. Columbia University Press.

Skinner, C. (1991). Justification for reclassifying Geoffroy's tamarin from *Saguinus oedipus geoffroyi* to *Saguinus geoffroyi*. *Primate Report*, 31, 77–83.

Snethlage, E. (1909). Sobre uma colleção de aves no Rio Purus. Bolletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, 5, 43–76.

Snowdon, C. T., & Hodun, A. (1985). Troop-specific responses to long calls of isolated tamarins (*Saguinus mystax*). *American Journal of Primatology*, 8, 205–213. https://doi.org/10.1002/ajp.1350080303

Snowdon, C. T. (1993). A vocal taxonomy of the callitrichids. In A.B. Rylands (Ed.), *Marmosets and tamarins: Systematics, behavior and ecology* (pp. 78–94). Oxford University Press.

Smith, A. C. (2000). Interspecific differences in prey captured by associating saddleback (*Saguinus fuscicollis*) and moustached (*Saguinus mystax*) tamarins. *Journal of Zoology*, 251, 315–324. https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2000.tb01082.x

Sobroza, T. V., Gordo, M., Barnett, A. P. A., Boubli, J. P., & Spironello, W. R. (2021). Parapatric pied and red-handed tamarin responses to congeneric and conspecific calls. *Acta Oecologica*, 110, 103688. https://doi.org/10.1016/j.actao.2020.103688

Springer, M. S., Meredith, R. W., Gatesy, J., Emerling, C. A., Park, J., Rabosky, D. L., Stadler, T., Steiner, C., Ryder, O. A., Janecka, J. E., Fisher, C. A., & Murphy, W. J. (2012). Macroevolutionary Dynamics and Historical Biogeography of Primate Diversification Inferred from a Species Supermatrix. *PLoS One*, 11, e49521. https://doi:10.1371/journal.pone.0049521

Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30, 1312–1313. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033

Swofford, D. L. (2002). PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony (and Other Methods). Version 4.

Tagliaro, C. H., Schneider, H., Sampaio, I., Schneider, M. P. C., Vallinoto, M., & Stanhope, M. (2005). Molecular phylogeny of the genus *Saguinus* (Platyrrhini, Primates) based on the ND1 mitochondrial gene and implications for conservation. *Genetics and Molecular Biology*, 28, 46–53. https://doi.org/10.1590/S1415-47572005000100009

Talavera, G., Lukhtanov, V. A., Pierce, N. E., & Vila, R. (2013). Establishing criteria for higher-level classification using molecular data: The systematics of *Polyommatus* blue butterflies (Lepidoptera, Lycaenidae). *Cladistics*, 29, 166–192. https://doi-org/10.1111/j.1096-0031.2012.00421.x

Thomas, O. (1922). On the systematic arrangement of the marmosets. *Annals of Natural History*, 9, 196–199.

Thorington, R. W., Jr. (1968). Observations of the Tamarin *Saguinus midas*. *Folia Primatologica*, 9, 95–98.

Terborgh, J. (1983). *Five New World primates. A study in comparative ecology*. Princeton University Press.

Trouessart, E-L. (1904). *Catalogus Mammalium. Quinquennale Supplementum*. R. Friedlander & Sohn.

Vallinoto, M., Araripe, J., Rego, P. S., Tagliaro, C. H., Sampaio, I., & Schneider, H. (2006). Tocantins River as an effective barrier to gene flow in *Saguinus niger* populations. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 215–219. https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000200005

van Roosmalen, M. G. M., van Roosmalen, T. (2003). The description of a new marmoset genus, Callibella (Callitrichinae, Primates), including its molecular phylogenetic status. *Neotropical Primates*, 11, 1–10.

van Valen, L. (1973). Are categories in different phyla equivalent? *Taxon,* 22, 333–373.

Wallace, A. R. (1852). On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 20, 107–110. Windfelder, T. L. (2001). Interspecific communication in mixed-species groups of tamarins: evidence from playback experiments. *Animal Behaviour*, 61, 1193–1201. http://dx.doi.org/10.1006/anbe.2000.1701

Wittiger, L. (2002). Die long calls der Callitrichidae: Ein Beitrag zu ihrer Phylogenie. PhD Thesis. Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg, Staatsarbeit.

Wood, B. & Collard, M. (1999). The human genus. *Science*, 284, 65–71. http://dx.doi.org/10.1126/science.284.5411.65

Yoneda, M. (1981). Ecological studies of *Saguinus fuscicollis* and *Saguinus labiatus* with reference to habitat segregation and height preference. *Kyoto University Overseas Research Reports of New World Monkeys*, 2, 43–50.

Yoneda, M. (1984). Comparative studies on vertical separation, foraging behavior and traveling mode of saddle-backed tamarins (*Saguinus fuscicollis*) and red-chested moustached tamarins (*Saguinus labiatus*) in northern Bolivia. *Primates*, 25, 414–422. https://doi.org/10.1007/BF02381664

Capítulo 3

Biogeografia do gênero *Tamarinus* (Primates, Callitrichidae)

Resumo

Neste capítulo fornecemos um teste filogenético biogeográfico estatístico para o gênero *Tamarinus*, a fim de inferir a história biogeográfica e sua relação com a evolução da paisagem amazônica. Assim, testamos a hipótese de os rios amazônicos como promotores da diversificação das espécies do gênero *Tamarinus*. Nossa reconstrução mostrou maior probabilidade de a origem do ancestral de *Tamarinus* ser a porção sul do interflúvio Japurá-Negro, com a separação inicial do ancestral de *Oedipomdias*/*Saguinus* há 7,21 ma. A dispersão a oeste era limitada pelo grande lago, já a dispersão do ancestral *Tamarinus* para Inambari pode ser associada ao estabelecimento das florestas, à medida que os ambientes mudaram de habitats inundados para terrestres. Nossa reconstrução biogeográfica associa o papel dos rios amazônicos como agentes vicariantes para a maioria das espécies, porém ressaltamos que para algumas espécies houve uma possível dispersão através de uma barreira. Nossos resultados mostram que os rios amazônicos atuaram como agentes vicariantes primários para a diversificação de *Tamarinus*.

Introdução

A Amazonia é a floresta tropical mais diversa do mundo (von Humboldt 1808; Wallace 1852; Bates 1860; Sioli, 1984; Laurance et al., 2001; Eva et al., 2005; Silva et al., 2005; Junk, 2011; van der Sleen & Albert 2017), porém os processos que moldaram a diversificação da biota amazônica é uma das grandes questões que vem intrigando cientistas (Wallace, 1852; Bates 1863; Wallace 1876; Haffer, 1969; Vanzolini & Williams, 1970; Hershkovitz, 1977; Endler, 1982; Cracaft, 1985; Salo et al., 1986; Whitmore & Prance, 1987; Ayres & Clutton-Brock, 1992; Colinvaux, 1993; Marroig & Cerqueira, 1997; Nores, 1999; Gascon et al., 2000; Bates, 2001). As mudanças que ocorreram na Amazônia, associadas à elevação dos Andes e efeitos climáticos associados e, transgressões marinhas, causaram impactos diretos na drenagem e sedimentação da Amazônia (Wesselingh et al., 2002; Insel et al., 2009; Figueiredo et al., 2009; Jaramillo et al., 2017), que afetaram os padrões de diversificação e distribuição de uma ampla gama de organismos (Hoorn et al., 2010; Antonelli & Sanmartín, 2011). Isso mostra que a história geomorfológica da Amazônia e sua biodiversidade estão diretamente ligadas às configurações da drenagem (Albert et al., 2018; 2021).

Alguns estudos mostraram que a evolução da paisagem hidrológica amazônica é complexa e dinâmica (Bush, 1994; Smith et al., 2014; Silva et al., 2019) e, há um debate em andamento em torno da datação dos principais eventos geológicos da Amazônia (Campbell et al., 2006; Figueiredo et al., 2009; Hoorn et al., 2010, Latrubesse et al., 2010; Heinrich & Zonneveld, 2013; Jaramillo et al., 2017). Duas hipóteses paleogeográficas tentam explicar a evolução da drenagem amazônica (Campbell et al., 2006; Figueiredo et al., 2009; Hoorn, et al., 2010; Latrubesse et al., 2010; Ribas et al., 2012). A primeira hipótese ("Old Amazon") sugeriu que o soerguimento dos Andes, convecções do manto e incursões marinhas (Räsänen et al., 1995; Vonhof et al., 1998; Hoorn et al., 2010; Shephard et al., 2010; Eakin et al., 2014) levaram ao estabelecimento do Pebas Mega-Wetland System na Amazônia Ocidental no início do Mioceno (Nuttal, 1990; Räsänen, 1995; Wesselingh et al., 2002; Wesselingh & Salo, 2006), com o estabelecimento do sistema de drenagem da Amazônia como é hoje a partir de 11 Ma (Damuth & Kumar, 1975; Milliman, 1979; Hoorn et al., 1995; Dobson et al., 2001; Pasley et al., 2005; Wesselingh & Salo, 2006; Figueiredo et al., 2009; 2010; Hoorn et al., 2010; Shephard et al., 2010; Gorini et al., 2013; Hoorn et al., 2017).

Na segunda hipótese ("Young Amazon"), um grande lago Amazônico foi estabelecido mais recentemente no oeste da Amazônia (a partir de 6 Ma) (Klammer, 1984; Marroig & Cerqueira, 1997; Campbell et al., 2006) e, o atual sistema de drenagem foi estabelecido durante

o Plio-Pleistoceno (2-3 Ma) (Rossetti et al., 2005, Campbell et al., 2001; 2006; Campbell, 2010; Latrubesse et al., 2010; Ribas et al., 2012, Nogueira et al., 2013; Horbe et al., 2013; Rossetti et al., 2015).

Os rios podem ser barreiras eficazes à dispersão e ao fluxo gênico, o que pode ocasionar a diferenciação geográfica e especiação (Colwell, 2000; Dias et al., 2013; Thomaz et al., 2016). Deste modo, muitos estudos têm ligado a formação dos rios amazônicos como impulsionador da diversificação da biota (Haffer, 1974; Cracraft 1985; Aleixo, 2004; 2006; Aleixo & Rossetti, 2007; Antonelli et al., 2010a; Ribas et al., 2012; d'Horta et al., 2013; Fernandes et al., 2012; 2013; Sousa-Neves et al., 2013; Fernandes et al., 2014; Weir et al., 2015; Carneiro et al., 2018; Naka & Brumfield 2018). Nos últimos 2,5 milhões houve intensa diversificação em vários táxons amazônicos (Ribas et al., 2005; Patel et al., 2011; d'Horta et al., 2013; Ribas et al., 2012; Fernandes et al., 2012; Boubli et al., 2012; Sousa-Neves et al., 2013; Fernandes et al., 2014; Lynch Alfaro et al., 2015; Boubli et al., 2015; Thom & Aleixo, 2015; Schultz et al., 2017; Carneiro et al., 2018; Berv et al., 2021), isso sugere que o estabelecimento dos principais rios da Amazônia pode ter tido um papel importante na origem das espécies, o que está de acordo com a hipótese a hipótese "Young Amazon".

Os primatas neotropicais apresentam uma diversidade alta na Amazônia (Hershkovitz, 1977; Rylands & Mittermeier, 2013; Rossato et al., ,2017), o que faz deles um modelo ideal para testar hipóteses biogeográficas (Buckner et al., 2015; Boubli, et al., 2015; Lynch Alfaro et al., 2015; Lima et al., 2017;), já que espécies diferentes ocorrem em lados opostos dos rios Amazônicos (Wallace, 1852; Hershkovitz, 1977; Ayres & Clutton-Brock, 1992; Silva & Oren 1996). Isso foi observado pela primeira pelo naturalista inglês Alfred Russel Wallace, que foi um dos primeiros a propor uma explicação para explicar a alta diversidade de espécies de primatas na Amazônia, bem como o porquê de espécies diferentes ocorrerem em margem opostas dos rios (Wallace, 1852). A partir dessas observações, ele postulou que os rios funcionavam como barreiras para a dispersão das espécies de primatas. Esse padrão também foi observado para outros organismos (Haffer, 1974; Brown, 1979; Cracraft, 1985).

Essa hipótese, que ficou conhecida hipótese da barreira ribeirinha, postula que os principais rios amazônicos reduzem ou impedem o fluxo gênico entre as populações que habitam as margens opostas dos rios, o que causaria a especiação (Wallace, 1852; Ayres & Clutton-Brock 1992; Peres et al., 1996; Aleixo, 2004). Sob este modelo, as populações de margens opostas de rios formam linhagens irmãs que compartilham um ancestral comum mais recente. Além disso, a divergência genética entre as populações irmãs ao longo das margens é

reduzida em direção às cabeceiras, conforme a largura e a vazão de um rio diminuem, o que permite o fluxo gênico e, hibridização (Ayres & Clutton-Brock 1992), porém isso não parece perturbar o padrão geral de grandes rios como as principais barreiras que delimitam as distribuições atuais de muitos vertebrados na Amazônia (Ayres & Clutton-Broock 1992). Como os rios têm sido propostos como barreiras significativas para os dispersão dos primatas (ex. Wallace, 1852; Hershkovitz, 1977; Ayres & Clutton-Broock 1992), provavelmente as mudanças na configuração hidrológica pode ter tido influência na determinação das distribuições geográficas das espécies atuais.

Os saguis de bigode do gênero *Tamarinus* (Brcko et al., 2022; Lopes et al., 2022 em revisão), são uma radiação de primatas que pode ser modelo para avaliar a dinâmica da diversificação da Amazônia. A taxonomia e filogenia deste gênero foi esclarecida recentemente (Lopes et al., 2022 em revisão). As espécies/subespécies de *Tamarinus* incluem: *Tamarinus imperator* (Goeldi, 1907), *Tamarinus subgrisescens* Lönnberg, 1940, *Tamarinus inustus* (Schwarz, 1951), *Tamarinus labiatus labiatus* (É. Geoffroy, 1812), *Tamarinus labiatus rufiventer* (Gray, 1843), *Tamarinus thomasi* (Goeldi, 1907), *Tamarinus mystax* (Spix, 1823), *Tamarinus pileatus pluto* (Lönnberg, 1926), *Tamarinus pileatus pileatus* (I. Geoffroy Saint-Hilaire & Deville, 1848) e, *Tamarinus kulina* (Lopes et al., 2022 em revisão; Lopes et al., 2023).

A maioria dos representantes do gênero *Tamarinus* está distribuída ao sul do Solimões/Rio Amazonas (Figura 1), na Amazônia ocidental. *T. thomasi* e *T. inustus* distribuem-se ao norte do rio Solimões/Amazonas, todos os táxons têm sua distribuição limitada por rios (Lopes et al., 2022 em revisão). As espécies de *Tamarinus* são encontradas principalmente em florestas de terra firme (Peres 1997) e, são altamente propensas à divisão por barreiras geográficas (Rylands et al., 1993).

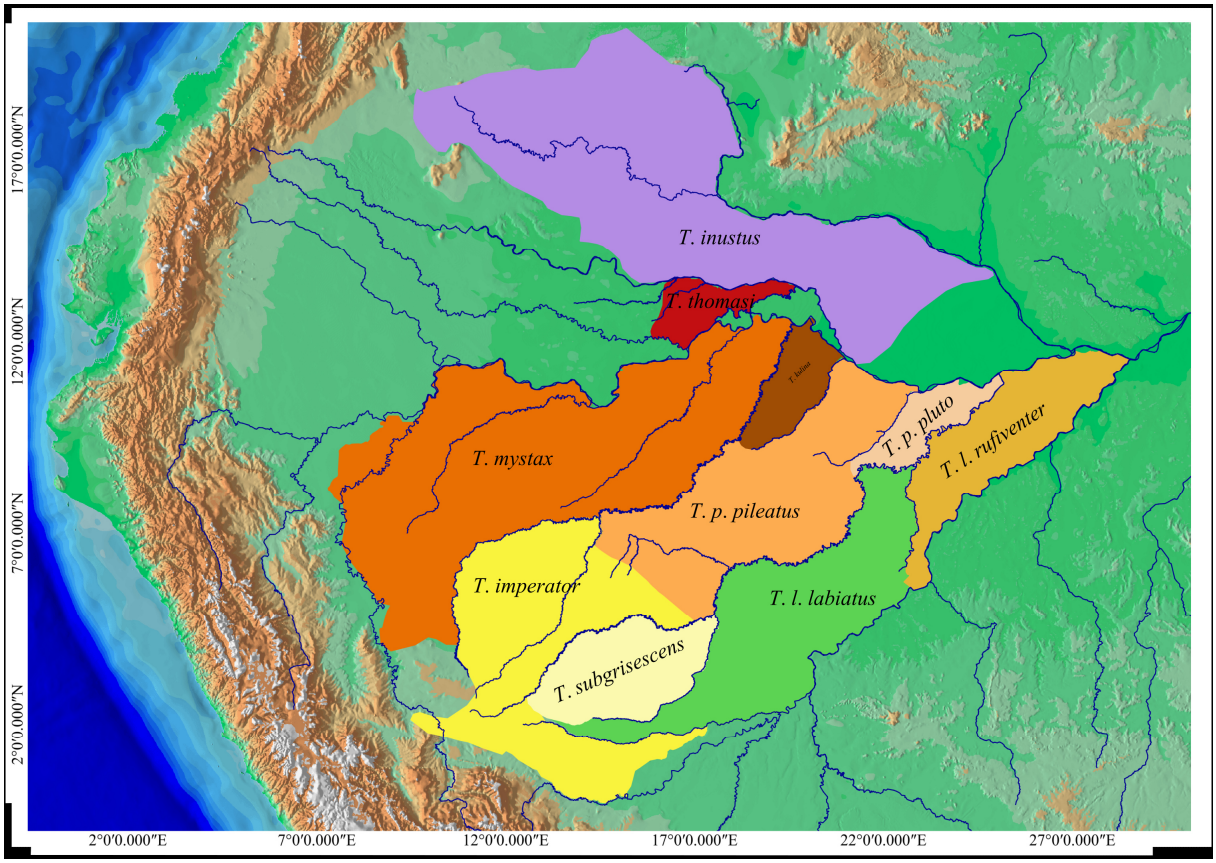


Figura 1. Distribuição das espécies do gênero *Tamarinus* na Amazônia. Polígonos modificados da IUCN e Sampaio et al. (2018).

O mais recente estudo molecular mostrou que o gênero *Tamarinus* apresenta divergência de 7,21 ma em relação aos gêneros irmãos *Saguinus* e *Oedipomidas* (Lopes et al., 2022 em revisão). Entretanto, a diversificação das espécies de *Tamarinus* só começou a partir de 3,9 ma. Esta diversificação é congruente com a hipótese do modelo geológico da ““Young Amazon”, portanto, esperamos que a história evolutiva das espécies do gênero *Tamarinus* seja congruente com as mudanças na configuração da hidrologia, o que poderá contribuir para a compreensão das relações entre a mudança da paisagem Amazônia e a diversificação de organismos na Amazônia.

A primeira hipótese sobre a biogeografia de *Tamarinus* foi proposta por Hershkovitz (1977). Sua hipótese foi baseada nas distribuições geográficas e no princípio do metacromatismo (a evolução da coloração da pelagem por vias unidirecionais específicas) (Hershkovitz, 1977). Esta hipótese postulava um ancestral de *Tamarinus* ao sul do rio Amazonas e a oeste do rio Madeira (Amazônia ocidental), onde está a distribuição da maioria das espécies do gênero *Tamarinus*. Este ancestral teria dispersado da Amazônia oriental para a Amazônia ocidental através da barreira formada pelo rio Madeira. A partir da Amazônia Ocidental, o ancestral de *Tamarinus* se dispersou para o Escudo das Guianas e deu origem aos

grupos *S. midas* e S. *bicolor*. Outra onda de dispersão para o norte resultou nas espécies existentes no Norte, *Tamarinus inustus*, além das espécies de *Saguinus* da Colômbia e Panamá (Hershkovitz, 1977). Entretanto, o princípio do metacromatismo que não foi corroborado por análises filogenéticas moleculares e morfológicas (Jacobs e tal. 1995; Athaydes et al., 2021), nem por uma avaliação da coloração facial em primatas neotropicais (Santana et al., 2012).
Ferrari (1993) elaborou a segunda hipótese geográfica para *Tamarinus*/*Saguinus*/*Oedipomidas*. Sua hipótese foi baseada a partir conceito de nanismo filético. Este conceito explica a redução do tamanho corporal ao longo da evolução do calitriquídeos (Ferrari, 1993). O tamanho maior dos espécimes de *S. midas* indicaria que este clado seriam o primeiro a divergir dentro do gênero *Tamarinus*/*Saguinus*/*Oedipomidas* e, que o ancestral teria origem perto da área de distribuição de *S. midas* (Ferrari, 1993). Uma dispersão posterior para o norte e para oeste deu origem aos grupos *S. oedipus* e *T. inustus*, respectivamente. Outra dispersão para sudoeste deu origem ao grupo *T. mystax* (Ferrari, 1993).

O estudo de Cropp et al., (1999) foi o primeiro a apresentar um padrão biogeográfico baseado em filogenia molecular e teve congruência com a proposição de Ferrari (1993). A exceção foi o ancestral de *Tamarinus*/*Saguinus* que dispersou a partir da margem sul do rio Amazonas, a oeste do rio Madeira, como sugerido por Hershkovitz (1977). O grupo *T. mystax* teve sua diversificação na área de origem do ancestral de *Tamarinus*/*Saguinus*. Duas ondas de dispersão aconteceram, uma para o norte do rio Solimões/Amazonas que deu origem a *T. inustus*, a outra foi para o nordeste, no Escudo das Guianas, com outra dispersão depois para a Colômbia e o Panamá, que resultou no grupo *S. oedipus*.

No modelo biogeográfico de Buckner et al., (2015) foi proposto um ancestral *Leontocebus*/*Tamarinus*/*Saguinus* amplamente distribuído na região oeste do grande lago até 11 ma, com divergência gradual ao norte e ao sul. A retração do lago Pebas e o florestamento da Amazônia central permitiu que eles se expandissem e se diversificassem, pois os rios da bacia Amazônica não haviam se formado para impedir a dispersão. A rota de dispersão seria ao sul e leste do lago para *Leontocebus* e, *Tamarinus*/*Saguinus* ao norte e leste do lago (Buckner et al., 2015). Antes de 6 ma o ancestral *Tamarinus*/*Saguinus* foi dividido em um clado (*Tamarinus*) no Sudoeste (Inambari) e outro (*Saguinus*) isolado ao norte. O ancestral de *Saguinus* se dispersou para Guianas, Chocó e sudeste da Amazônia, dando origem às espécies atuais. O ancestral de *Tamarinus* se diversificou em Inambari, com uma dispersão de *T. mystax* ao norte do Solimões/Amazonas há mais de 1 ma, que deu origem a *T. inustus*. Neste estudo, a diversificação dos táxons de *Tamarinus*/*Saguinus* não se inicia antes de 5 Ma, o que é

consistente com o estabelecimento de um sistema de drenagem mais recentemente para a Amazônia (Buckner et al., 2015).

A hipótese biogeográfica mais recente postulou uma área ampla, incluindo o norte do rio Solimões/Amazonas e Guianas, mas também em Inambari, para a origem do ancestral *Leontocebus*/*Tamarinus*/*Saguinus* (Athaydes et al., 2021). O oeste de Inambari seria a região mais provável para o surgimento do ancestral, que seria limitado pelo lago Pebas até 8 ma, quando a recessão terminou, há 7 ma a atual configuração hidrológica amazônica teria se estabelecido, o que está de acordo com a hipótese "Old Amazon".

Com a retração do lago Pebas houve expansão a leste, com *Leontoncebus*/*Tamarinus* se diversificando em Inambari e, o ancestral *Saguinus* se dispersou para o norte da Amazônia e para as Guianas (Athaydes et al., 2021). Como a configuração hidrológica já havia se estabelecido e, os rios já atuavam como barreiras para a dispersão, a explicação para a ocorrência de *Saguinus* ao norte, bem como a diversificação em *Tamarinus* seria dispersão em saltos, o que explicaria a atual distribuição de *T. inustus* e *T. thomasi*, além das espécies de *Saguinus* (Athaydes et al., 2021).

Houve uma discordância entre as hipóteses em relação aos períodos de expansão de *Tamarinus*, 5 ma (Buckner et al., 2015) e 7 ma (Athaydes et al., 2021). Entretanto, ambas invocaram o estabelecimento da drenagem amazônica como tendo influência na diversificação de *Tamarinus*/*Saguinus*, embora de maneiras diferentes.

Embora esses últimos estudos tenham utilizado uma abordagem molecular e estatística para testar a biogeografia de *Tamarinus*/*Saguinus*, eles foram limitados pela ausência de alguns táxons de *Tamarinus*, uma vez que este gênero comporta nove espécies atualmente (Lopes et al., 2021), isso pode ter enviesado as hipóteses filogenéticas e biogeográficas propostas. Isso fica claro no estudo de Buckner et al., (2015), pois as relações filogenéticas de *Tamarinus* foram diferentes de outros estudos (Boubli et al., 2015; Athaydes et al., 2021; Brcko et al., 2022), assim como no estudo de Athaydes et al., (2021), onde as hipóteses biogeográficas testadas não esclareceram a história biogeográfica de *Tamarinus*, pois o estudo foi limitado pelo uso de somente alguns táxons.

Aqui fornecemos um teste filogenético biogeográfico estatístico para esses primatas, utilizando todos os táxons do gênero *Tamarinus* (Lopes et al., 2022 em revisão) para inferir a história biogeográfica e sua relação com a evolução da paisagem amazônica. Utilizamos os dados publicados anteriormente (Lopes et al., 2022 em revisão) e, produzimos uma hipótese

para avaliar o papel dos rios amazônicos como promotores da diversificação das espécies do gênero *Tamarinus*.

Material e Métodos

Nós utilizamos a representação reduzida do genoma (ddRAD) e as mesmas sequências genéticas de Lopes et al., (2023, em revisão) para os gêneros *Tamarinus Oedipomidas* e *Saguinus*.

Reconstrução filogenética

Construímos a arvore de espécies utilizando inferência bayesiana através do pacote STARBEAST2 do programa BEAST v2.6 (Bouckaert et al., 2014). Primeiro, executamos o PartitionFinder2 (Lanfear et al., 2017) em nosso alinhamento genômico para selecionar um número ideal de partições e seus respectivos modelos de evolução molecular, agrupando os 512 loci ddRAD em 140 partições. Usamos o modelo Yule de especiação, gerando 10^8 topologias, amostrando a cada 10^4 topologia e descartando as primeiras 15% topologias como burni-in após verificar a estacionaridade no Tracer v1 .7 (Rambaut et al., 2018). Uma árvore final de credibilidade máxima do clado foi gerada usando TreeAnnotator v1.6.2 (Rambaut & Drummond, 2015) após descartar 15% de burn-in. A árvore de credibilidade máxima do clado e os tempos de divergência foram calibrados usando a divergência média = 5,8207 (± 0,15 milhões de anos) entre *Leontocebus* e *Tamarinus*/*Oedipomidas*/*Saguinus* de Perelman et al., (2011) e, visualizada e editada no FigTree v1.3 (Rambaut, 2010) .

Reconstrução biogeográfica

A história biogeográfica de *Tamarinus* ao longo do tempo no espaço contínuo foi feita usando a abordagem Relaxed Random Walk (RRW) (Lemey et al., 2010). Este modelo utiliza estrutura bayesiana para reconstruir a história filogeográfica em uma paisagem contínua através de um processo de difusão Browniano padrão usando coordenadas geográficas, genealogia filogenética e traço contínuo (Lemey et al., 2010). Utilizamos o software SPREAD (Bielejec et al., 2011), que gerou um arquivo Keyhole Markup Language (KML), em seguida plotamos e visualizamos no Google Earth (http://earth.google.com).

Resultados

Todos as relações foram altamente suportadas. Nossas estimativas de divergência mostraram que a divergência entre *Tamarinus* e *Oedipomidas*/*Saguinus* foi no Mioceno (7,21 ma) (Figura 2). Porém a diversificação de *Tamarinus* só começou no Plioceno, a partir de 3,9 ma. Em *Tamarinus* recuperamos três clados, o primeiro clado chamamos de clado 'imperator', que é formado pelas espécies *T. imperator* and *T. subgrisescens*, este clado é o irmão dos outros dois clados. O segundo é o clado 'labiatus', que é formado pelas espécies *T. inustus*, *T. thomasi* e *T. labiatus*. O terceiro clado chamamos de clado 'mysxtax' é composto pelas espécies *T. mystax*, *T. kulina* e *T. pileatus*.

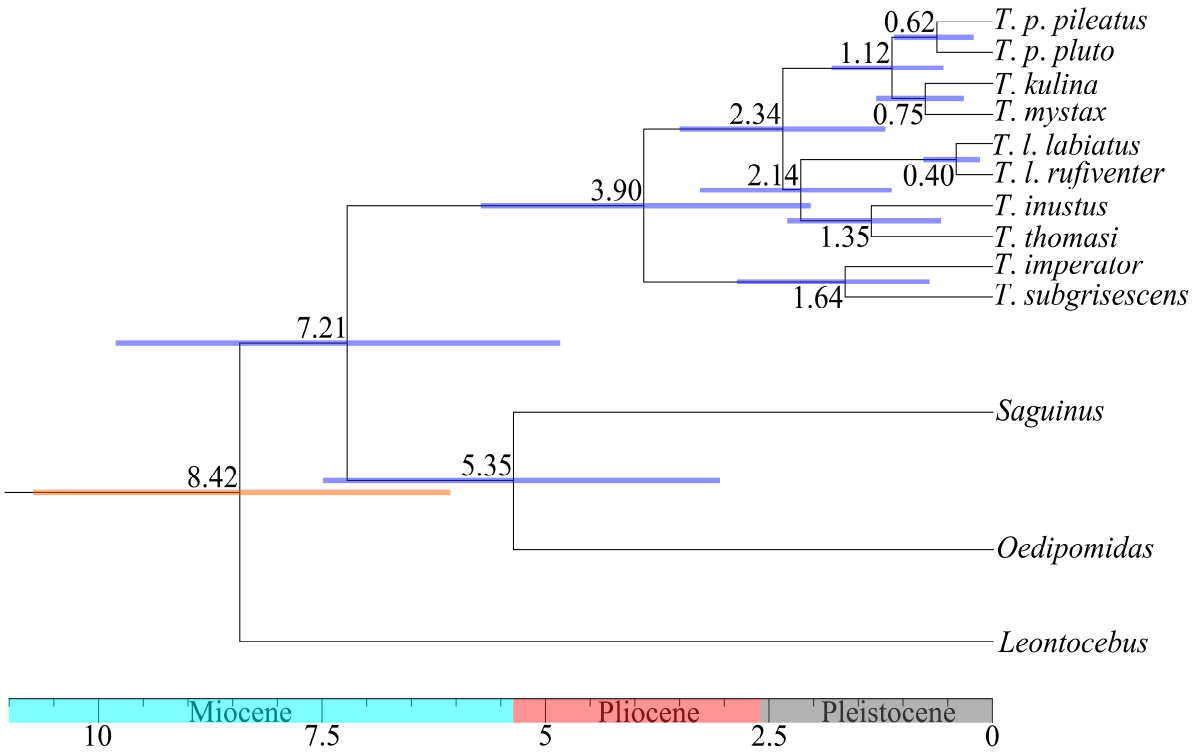


Figura 2. Árvore de espécies com tempos de divergência de *Tamarinus*. Número acima dos nós correspondem ao tempo em milhões de anos e, as barras representam intervalos de probabilidade. A barra laranja representa o ponto de calibração.

Reconstrução biogeográfica

A reconstrução biogeográfica sugeriu que o ancestral de *Tamarinus* e *Oedipodmidas*/*Saguinus* provavelmente se originou onde hoje é o interflúvio Japurá- Negro, próximo onde hoje é o Rio Unini, divisa entre a área de endemismo do Jaú e Imeri (Figure 3a), com uma diversificação dando origem ao ancestral de *Tamarinus* e ao ancestral de *Oedipodmidas*/*Saguinus* (Figure 3b). Houve uma difusão espacial ao sul, para a área onde hoje

é a margem leste do baixo rio Juruá, interflúvio Juruá-Tefé (Figura 3c), com o estabelecimento do ancestral nessa área, pois uma barreira formada pelo grande lago impedia à dispersão ao sul (Figura 3d).

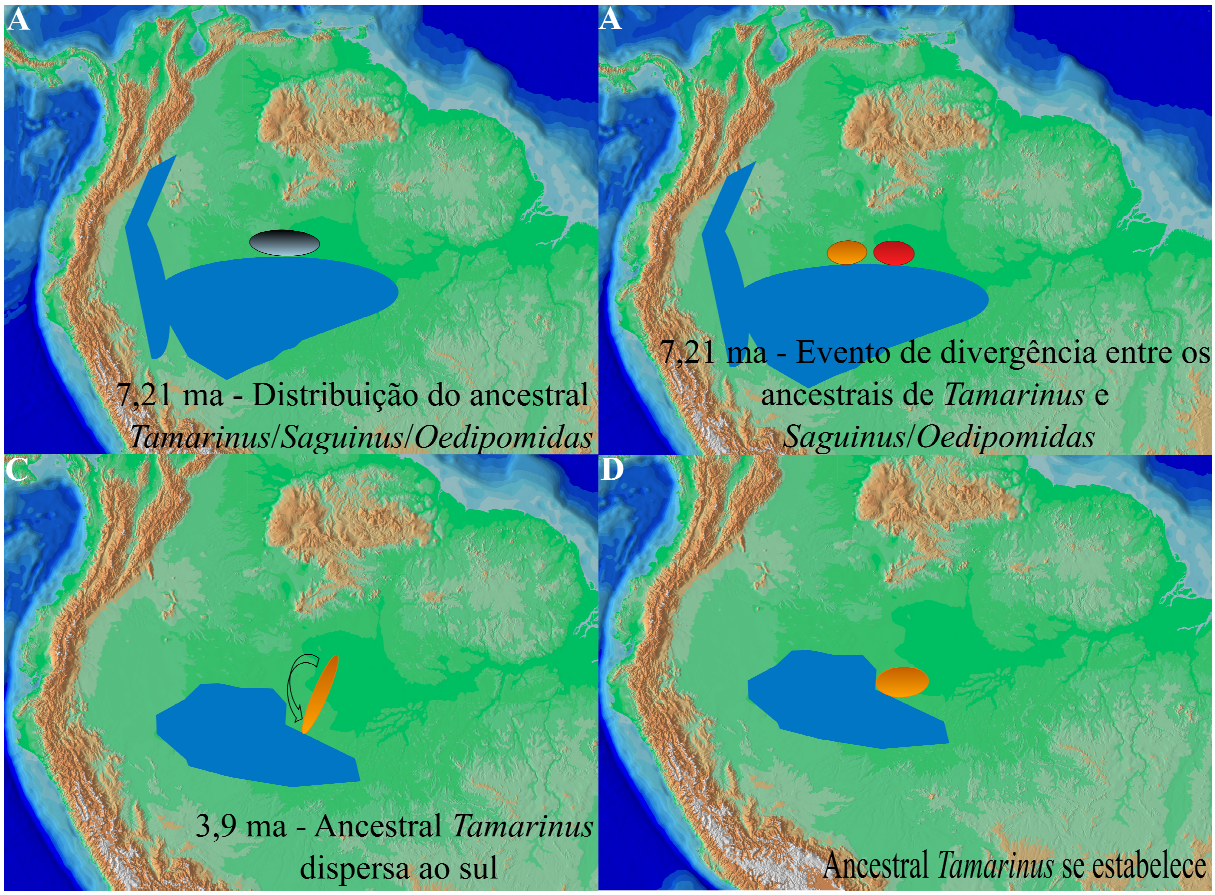


Figura 3. Reconstrução espaço-temporal do gênero *Tamarinus*. A. Ancestral *Tamarinus Oedipomidas*/*Saguinus* ocupa a região onde hoje é o sul do interflúvio Japurá-Negro. B) Separação dos ancestrais de *Tamarinus* e *Saguinus*/*Oedipomidas*. C. O ancestral de *Tamarinus* dispersa ao sul onde hoje é o interflúvio Juruá–Tefé. D. A ancestral permanece nessa área devido à limitação imposta pelo grande lago.

Com a regressão da barreira, houve uma extensa difusão espacial para o sul (Figura 4a), seguida da diversificação há 3,9 ma que separou o ancestral do clado 'imperator' do ancestral do restante das espécies (Figura 4b), a diversificação pode ter sido causada por oscilações no nível da água do grande lago, gerando isolamento da população em duas porções. O ancestral do clado 'imperator' ocupou a área no Sul onde hoje é o interflúvio Juruá-Purus, na atual margem direita do alto rio Juruá (Figura 4c).

Uma divergência há 2,34 ma separou o ancestral do clado 'labiatus' do ancestral do 'mystax' (Figura 4d). Dentro do clado 'labiatus' outra diversificação ocorreu há 2,14 ma separou o ancestral de *T. inustus*/*T. thomasi* do ancestral de *T. l. labiatus*/ *T. l. rufiventer*.

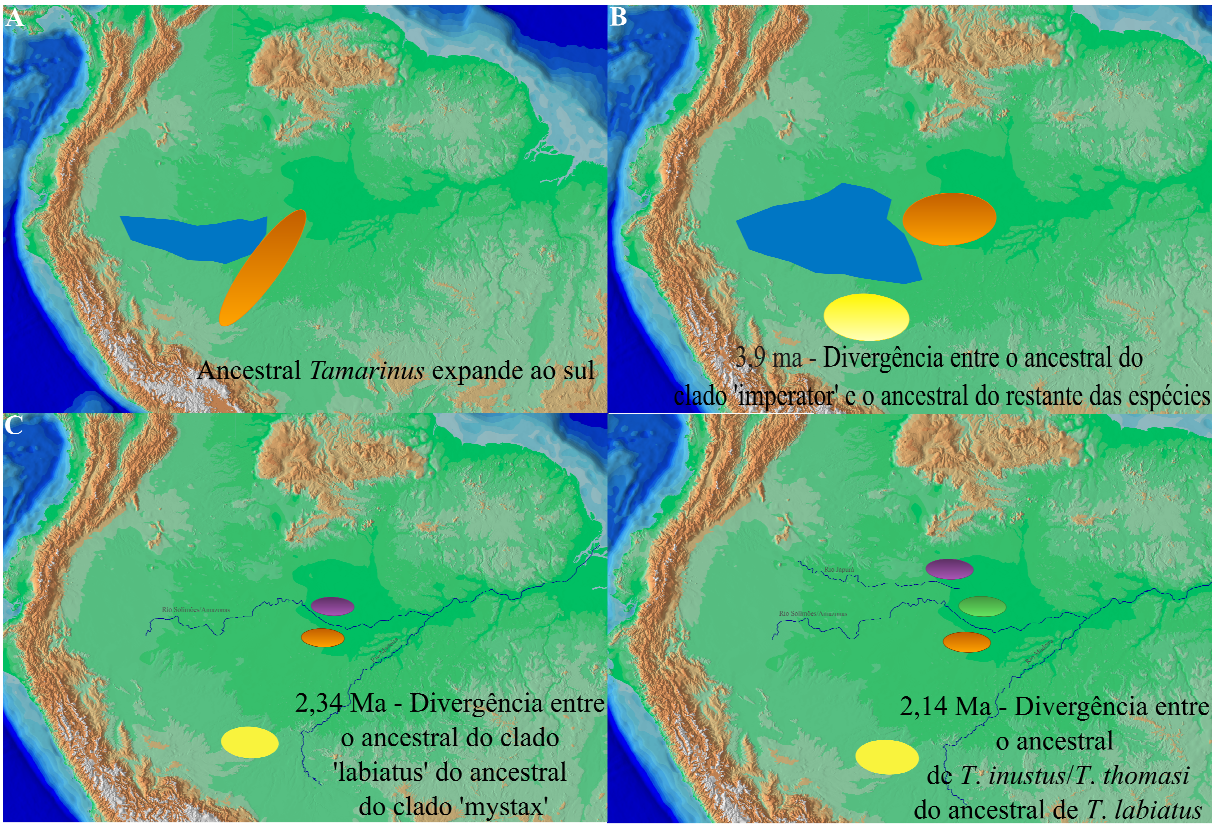


Figura 4. Reconstrução espaço-temporal do gênero *Tamarinus*. A. Expansão ao sul do ancestral *Tamarinus*. B. Uma diversificação há 3,9 ma separou o ancestral do clado 'imperator' do ancestral do restante das espécies. C. Uma diversificação ocorreu há 2,34 ma dando origem aos ancestrais dos clados 'labiatus' e 'mystax'. D. Uma divergência há 2,14 ma separou os ancestrais de *T. inustus*/*T. thomasi* e *T. l. labiatus*/*T. l. rufiventer*.

Uma divergência há 1,64 ma separou os ancestrais das espécies *T. imperator* e *T. subgrisescens* (Figura 5a), esta última se dispersou a leste e depois teve uma ampla expansão, enquanto *T. imperator* dispersou a sudeste e ficou restrita onde hoje é o interflúvio Acre–Purus (Figura 5b). A próxima divergência foi há 1,35 ma e separou os ancestrais de *T. thomasi* e *T. inustus* (Figura 5b). Já o ancestral de *T. l. labiatus*/*T. l. rufiventer* dispersou para o interflúvio Purus-Madeira (Figura 5a) e se estabeleceu na sua atual área de distribuição alcançou sua área (Figura 5bc).

O ancestral do clado 'mystax' permaneceu na área de origem e, há 1,12 ma houve um evento de diversificação que separou os ancestrais de *T. mystax*/*T. kulina* do ancestral de *T. p. pileatus*/*T. p. pluto* (Figura 5c), seguida das respectivas dispersões, uma a oeste e outra a leste. A oeste houve uma diversificação há 0,75 ma que deu origem às linhagens *T. mystax* e *T. kulina* (Figura 5d). A dispersão a leste, seguida da diversificação há 0,62 resultou em *T. p. pileatus* e *T. p. pluto* (Figura 5e). Uma divergência mais recente há 0,4 deu origem a *T. l. labiatus* e *T. l. rufiventer* (Figura 5f).

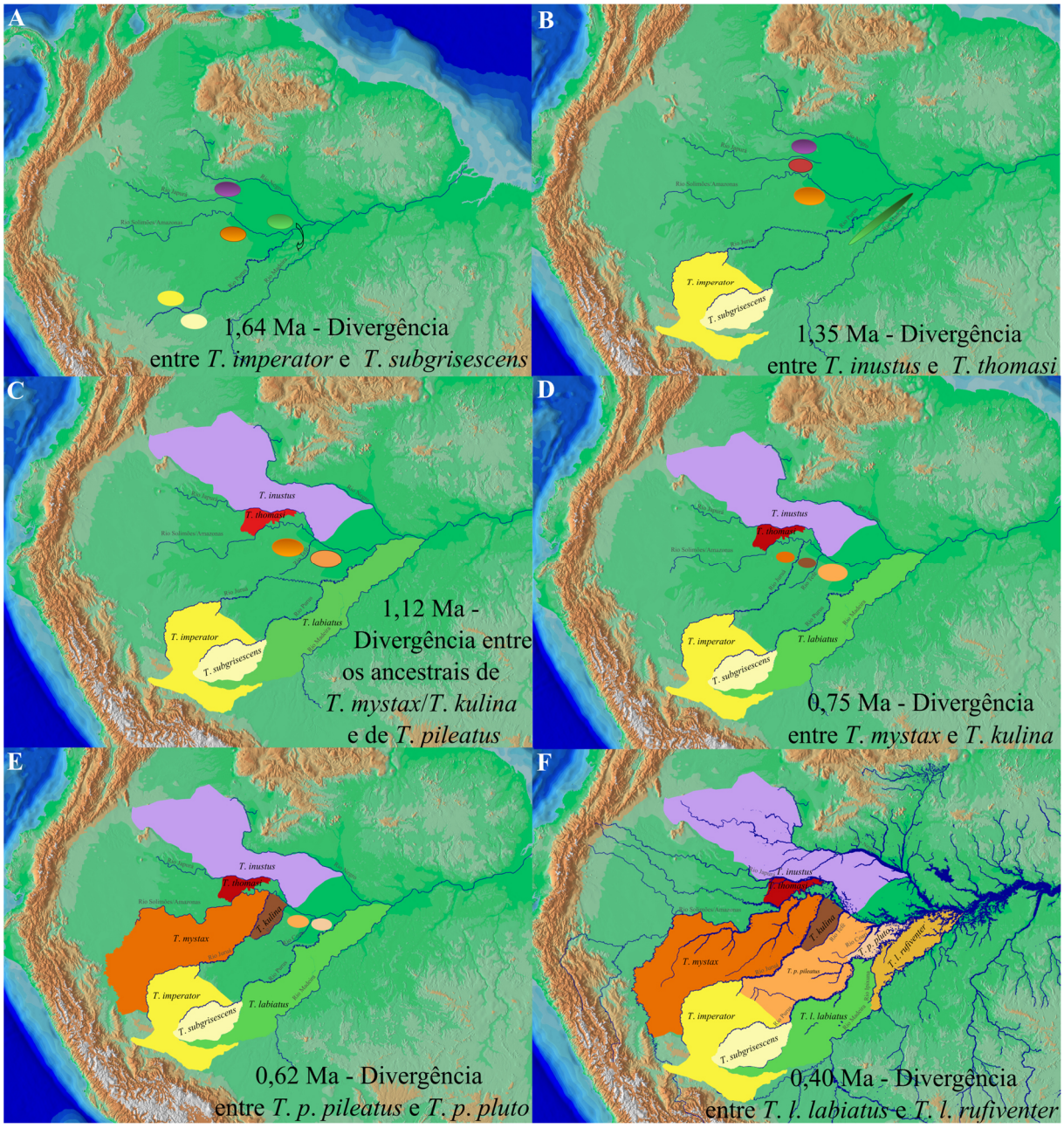


Figura 5. Reconstrução espaço-temporal do gênero *Tamarinus*. A. Diversificação das linhagens *T. imperator* e *T. subgrisescens*. B. Diversificação do ancestral de *T. inustus*/*T. thomasi* e do ancestral das linhagens *T. labiatus*/*T. rufiventer*. C. Diversificação dos ancestrais das linhagens *T. mystax*/*T. kulina* do ancestral das linhagens *T. p. pileatus*/*T. p. pluto* D. diversificação das linhagens *T. mystax* e *Tamarinus* sp. e, das linhagens *T. pluto* e *T. pileatus*. E. Diversificação das linhagens *T. labiatus* e *T. rufiventer*.

Discussão

Nossa reconstrução mostrou maior probabilidade de a origem do ancestral de *Tamarinus* ser a porção sul do interflúvio Japurá-Negro, com a separação inicial do ancestral de *Oedipomdias*/*Saguinus* há 7,21 ma, embora a área ancestral seja ampla, abrangendo também uma parte do atual sul do rio Solimões/Amazonas. A dispersão a oeste era limitada pelo lago

Pebas, já a dispersão do ancestral *Tamarinus* para Inambari pode ser associada ao estabelecimento das florestas, à medida que os ambientes mudaram de habitats inundados para terrestres (Latrubesse et al., 2010; Nogueira et al., 2013).

Nossos resultados apoiam a reconstrução biogeográfica de Rohe (2021), que propôs uma área de origem mais próxima da área aqui proposta para o ancestral de *Leontocebus*/*Tamarinus*/*Saguinus*, com uma intensa diversificação nos últimos 2 ma. Nosso modelo é parcialmente congruente com Buckner et al., (2015) e, Athaydes et al., (2020) que postularam Inambari como o centro de diversificação de *Tamarinus*.

Na proposição de Athaydes et al., (2020), apesar de os modelos terem fornecidos hipóteses inconclusivas para a área de origem do ancestral de *Tamarinus*, foi colocado o extremo oeste de Inambari seria a área mais provável para a origem do ancestral. Essa área ancestral e o padrão de dispersão a leste é exatamente o oposto do encontrado aqui, assim como dos outros (Buckner et al., 2015; Rohe, 2021), porém é similar a área ancestral proposta por Hershkovitz (1977). A área ancestral no modelo apresentado parece ter sido baseada no fato de que *T. imperator* é a primeira espécie que se diversificou, então a área mais provável seria próxima à distribuição desta espécie. Além disso, a dispersão foi invocada como o principal fator de diversificação das espécies. Entretanto, apesar de os rios amazônicos serem barreiras permeáveis para alguns primatas (Boubli et al., 2015), para as espécies de *Tamarinus* é uma barreira à dispersão (Ayres & Clutton-Brook 1992; Peres et al., 1996). Nesse caso, o ancestral teria que ter dispersado através das barreiras à dispersão várias vezes, já que os rios da Amazônia já teriam se formado, considerando que foi invocado a hipótese "Old Amazon" (Hoorn et al., 2010). Além disso, a expansão das espécies de seus centros de origem pode ser interrompida pela presença de grandes cursos de água, portanto, eles podem ficar restritos à uma margem (Hershkovitz, 1977).

Ressaltamos que as hipóteses biogeográficas propostas por Athaydes et al., (2020) podem ter sido enviesadas devido à ausência de algumas espécies de *Tamarinus*, bem como foi limitado pela ausência de uma filogenia em nível de espécie com todos os táxons de *Tamarinus*, uma vez que hipóteses filogenéticas robustas são fundamentais para a compreensão dos padrões de diversificação e dos processos que conduzem as distribuições atuais e históricas. Além disso, uma amostragem extensa ao longo das distribuições das unidades taxonômicas é essencial em estudos biogeográficos e filogeográficos (Hawkins, 2006; Buckley, 2009).

Embora nossa reconstrução mostre que o ancestral tenha se originado na porção sul do interflúvio Japurá-Negro, é importante observar que não há nenhuma espécie de calitriquídeo

nesta área atualmente. Este fato pode estar associado à intensa instabilidade e dinâmica fluvial nessa região (Rossetti et al., 2005; Rossetti et al., 2014; Pupim et al., 2019), o que pode ter causado extinções/dispersões, uma vez que as espécies de *Tamarinus* e *Saguinus* geralmente são restritas às florestas de terra firme (Ayres & Clutton-Brock 1992; Peres, 1993).

A diversificação dentro de *Tamarinus* só começou mais recentemente, há 3,9 ma, em Inambari. Isso apoia a hipótese de que provavelmente um grande lago impedia a dispersão a oeste e, a intensa diversificação mais recente apoia a hipótese "*Young Amazon*", com o estabelecimento do sistema de drenagem mais recentemente (Ribas et al., 2012; Lynch Alfaro et al., 2015; Byrne et al 2018; Rohe 2021). Além disso, assim como proposto aqui, outros estudos anteriores também propuseram que a diversificação de *Tamarinus* foi em Inambari (Cropp et al., 1999; Buckner et al., 2015; Rohe, 2021; Athaydes et al., 2021).

A dispersão da linhagem ancestral de *T. imperator*/*T. subgrisescens* para o sul provavelmente foi possível pela retração do lago e pela formação gradual das florestas de terra firme da Amazônia central (Bates, 2001; Latrubesse et al., 2010; Nogueira et al., 2013; Pupim et al., 2019). A divisão das linhagens *T. imperator* e *T. subgrisescens* pode estar associada a formação do rio Purus, uma vez que a formação desse rio (Ribas et al., 2012) está dentro do intervalo da divergência destas linhagens, bem como outras espécies de primatas e outros vertebrados têm suas diversificações associadas a formação deste rio (Lynch Alfaro et al., 2015; Rohe, 2021).

Nossos dados indicam que a divergência entre o ancestral do clado 'labiatus' e do clado 'mystax' pode ter sido causada pela formação do rio Solimões/Amazonas, pois o tempo da divergência entre eles é congruente com o estabelecimento do rio Solimões/Amazonas transcontinental (Campbell et al., 2006; Latrubesse et al., 2010; Ribas et al., 2012). Porém Athaydes et al., (2021) propôs que *T. inustus* teria chegado à sua atual área de distribuição através da dispersão por saltos, pois o rio Solimões/Amazonas já estaria no lugar. Já Buckner et al. (2015) propôs que *T. mystax* teria dispersado para o norte e esse isolamento teria resultado em *T. inustus*, um cenário inviável, pois na filogenia *T. mystax* é irmão de *T. inustus*, não o ancestral (Buckner et al., 2015).

A divergência do ancestral de *T. inustus*/*T. thomasi* do ancestral de *T. l. labiatus*/*T. l. rufiventer* pode ser associada ao estabelecimento do baixo curso do rio Japurá, isso provavelmente pode ter sido responsável pelo isolamento e diversificação inicial do clado 'labiatus'. Já a divergência entre os ancestrais de *T. thomasi* e *T. inustus* pode ter sido causada pela dispersão através de uma barreira, no caso o rio Japurá. O ancestral de *T. thomasi*

provavelmente dispersou através deste rio, uma vez que há uma intensa dinâmica de mudança espacial e temporal de canais do baixo curso deste rio (Peixoto et al., 2009), com erosão e deposição de sedimentos em lagos de meandros com transferência passiva da biota de uma margem à outra (Sioli, 1984; Ayres & Clutton-Brock 1992). Além disso, a diversificação em outras espécies de primatas é coincidente com a pois a reorganização do curso deste rio (Rohe, 2021).

Já o ancestral de *T. l. labiatus*/*T. l. rufiventer* pode ter sido cada vez mais isolado ao leste, uma vez que região que ele ocupava é aquela que apresentou intensa instabilidade e dinâmica fluvial (Rossetti et al., 2005; Pupim et al., 2019). Esses fatores podem ter contribuído para que o ancestral fosse sendo isolado a leste e acabou se dispersando de volta ao sul do rio Solimões, chegando ao interflúvio Purus-Madeira e, se expandindo ao longo desse interflúvio. As mudanças do curso do rio Ipixuna (Hayakawa et al., 2010) podem ser associadas à diversificação recente entre *T. l. labiatus* e *T. l. rufiventer*.

A dispersão, associada às mudanças na paisagem, bem como a formação e reorganização das drenagens provavelmente atuaram na separação dos ancestrais de *T. mystax*/*T. kulina* e *T. p. pileatus*/*T. p. pluto*, uma vez que passaram a ocupar uma área ampla, à medida que houve a disponibilidade de áreas quando o grande lago regrediu e, houve a mudança nas paisagens de lacustre para fluvial. Esse evento de diversificação pode ter sido promovido pela formação do rio Tefé, que separou os ancestrais dessas linhagens. Com a formação do rio Tefé, este passou a ser uma barreira a oeste para o ancestral de *T. p. pileatus*/*T. p. pluto*. Já a diversificação entre os ancestrais de *T. p. pileatus* e *T. p. pluto* pode ter sido causada pela formação do rio Coari. *Tamarinus p. pileatus* teve uma ampla expansão e, ocupa a maior parte do interflúvio Purus-Juruá, ao sul, sua distribuição parece ser limitada pela ocorrência de *T. subgrisescens*, já que nenhuma barreira física separa a distribuição das duas espécies.

A divergência de *T. mystax* e *T. kulina* provavelmente foi um evento vicariante, causada pela mudança de curso do rio Juruá, um dos rios mais instáveis da Amazônia Central (Rossetti et al., 2021). O baixo rio Juruá era um afluente do rio Purus (Ruokolainen et al., 2019; Rossetti et al., 2021), a mudança de curso do baixo rio Juruá para o atual curso causou a separação do ancestral de *T. mystax*/*T. kulina*, seguida da diversificação das espécies. Este evento também influenciou a diversificação de *Leontocebus avilapiresi* e *Leontocebus* sp. 1 (Rohe, 2021), pois a diversificação destas linhagens é congruente com a diversificação *T. mystax* e *T. kulina*.

Quando *T. mystax* ficou isolado na margem esquerda do rio Juruá, houve uma grande expansão desta espécie. Essa expansão provavelmente foi facilitada pela ausência de outra

espécie de *Tamarinus*, já que as espécies desse gênero possuem ecologia similar, o que provavelmente limitar a ocorrência em simpatria (Rylands et al., 1993).

Embora os rios sinuosos da Amazônia como o Purus e Juruá não atuem como barreiras para alguns grupos de organismos (Gascon et al., 2000; Aleixo, 2004; Antonelli et al., 2010; Ribas et al., 2012), eles desempenham um papel importante para primatas (Ayres & Clutton-Brock, 1992; Lynch Alfaro et al., 2015; Byrne et al., 2018; Rohe, 2021), incluindo as espécies do gênero *Tamarinus*. Além disso, os rios da bacia Amazônica apresentam diferenças em sua história, volume, velocidade de fluxo e química entre outros fatores e, essas diferenças podem afetar significativamente a maneira como os rios afetam a distribuição das espécies, bem como constituem uma barreira física à dispersão (Ayres & Clutton-Brock, 1992).

Outro fator importante associado ao rio Juruá é que diferentes porções deste rio atuaram em tempos diferentes como eventos vicariantes. Por exemplo, a formação do curso do médio e alto Juruá foi o evento vicariante associado à diversificação de algumas espécies de *Leontocebus* (Rohe, 2021). Porém para *Tamarinus* esta porção foi uma barreira à dispersão, assim como parece ser atualmente em todo o curso. Embora haja registros de *T. subgrisescens* na margem esquerda do alto rio Juruá no Brasil, dentro dos limites da distribuição de *T. mystax*, sempre foram encontrados como grupos dispersos (Peres, 1993), pois as espécies de *Tamarinus* geralmente são associadas às florestas de terra firme e, ocasionalmente são encontrados em florestas sazonalmente alagadas, nos períodos da cheia na Amazônia (Peres, 1993; 1997). Apesar da presença de *T. subgrisescens* dentro da distribuição de *T. mystax*, não encontramos evidências de hibridização entre as duas espécies. Já a mudança de curso do baixo rio Juruá atuou como evento vicariante que separou as espécies *T. mystax* e *T. kulina*.

Nossa reconstrução biogeográfica associa o papel dos rios amazônicos como agentes vicariantes, assim como para outros primatas (Lynch Alfaro et al., 2015; Hoyos et al., 2016; Boubli et al., 2018; Byrne et al., 2018; Carneiro et al., 2020; Rohe, 2021). Também ressaltamos uma possível dispersão através de uma barreira para o ancestral do clado *T. thomasi*/*T. inustus* e do ancestral de *T. l. labiatus*/*T. l. rufiventer*, assim como outros organismos (Ferrari & Martins, 1992; Collins & Dubach, 2000; Hayes & Sewlal, 2004; Rabelo et al., 2014; Lynch Alfaro et al., 2015; Byrne et al., 2018; Pirani et al., 2019; 2020). Nossos resultados mostram que os rios amazônicos atuaram como agentes vicariantes primários para a diversificação de *Tamarinus*, porém eles também atuam como barreira secundária ao impedir ou limitar o fluxo gênico (Ayres & Clutton-Brock, 1992).

Nossos resultados, bem como outros estudos com primatas têm demonstrado diversificação intensa na Amazônia nos últimos 2,5 ma (Lynch Alfaro et al., 2015; Hoyos et al., 2016; Boubli et al., 2018; Byrne et al., 2018; Carneiro et al., 2020; Rohe, 2021), assim como outros vertebrados (Aleixo, 2004; Ribas et al., 2005; Funk et al., 2007; Patel et al., 2011; d'Horta et al., 2013, Ribas et al., 2012, Fernandes et al., 2012; Boubli et al., 2012; Sousa-Neves et al., 2013, Fernandes et al., 2014, Lynch Alfaro et al., 2015, Boubli et al., 2015; Thom & Aleixo, 2015; Schultz et al., 2017; Carneiro et al., 2018; Berv et al., 2021). Embora muitos eventos de diversificação sejam coincidentes com a formação dos rios amazônicos (Aleixo, 2004; Funk et al., 2007; Ribas et al., 2012; Boubli et al., 2015; Rohe, 2021), a diversificação da biota amazônica pode também ser influenciada por diferentes processos atuando sobre diferentes organismos (Moritz et al., 2000; Solomon et al., 2008; Antonelli et al., 2010b; Smith et al., 2014; Fouquet et al., 2015; Häggi et al., 2017; Hernádez-Rangel et al., 2018; Pupim et al., 2019; Ruokolainen et al., 2019; Silva et al., 2019; Rossetti et al., 2021). A consideração desses fatores podem ser a solução para melhorar nossa compreensão dos diferentes processos sobre a diversificação dos táxons amazônicos.

Referências

Aleixo, A. 2004. Historical diversification of a ‘‘terra-firme’’ forest bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. Evolution 58: 1303–1317

Aleixo, A. 2006. Historical diversification of floodplain forest specialist species in the Amazon: a case study with two species of the avian genus Xiphorhynchus (Aves: Dendrocolaptidae). Biological Journal of the Linnean Society 89: 383–395.

Aleixo, A., Rossetti, D.F. 2007. Avian gene trees, landscape evolution, and geology: towards a modern synthesis of Amazonian historical biogeography? Journal of Ornithology 148: 443–453.

Albert, J. S., Val, P., Hoorn, C. 2018. The changing course of the Amazon River in the Neogene: center stage for Neotropical diversification. Neotropical Ichthyology 16: e180033

Albert, J.S., Bernt, M.J., Fronk, A.H., Fontenelle, J.P., Kuznar, S.L., Lovejoy, N.R. 2021. Late Neogene megariver captures and the Great Amazonian Biotic Interchange. Global and Planetary Change 205: 103554.

Antonelli, A., Quijada-Mascareñas, A., Crawford, A.J., Bates, J.M., Velazco, P.M., Wüster, W. 2010a. Molecular studies and phylogeography of Amazonian tetrapods and their relation to geological and climatic models. Pp. 386–404. In: Hoorn, C., Wesselingh, E. P. (Eds). Amazonia, landscape and species evolution: a look into the past. Wiley-Blackwell, London.

Antonelli, A., Verola, C.F., Parisod, C., Gustafsson, A.L.S., 2010b. Climate cooling promoted the expansion and radiation of a threatened group of South American orchids (Epidendroideae: Laeliinae). Biological Journal of the Linnean Society 100: 597–607.

Antonelli, A., Sanmartín, I. 2011. Why are there so many plant species in the Neotropics? Taxon 60: 403–414.

Albert, J.S., Val, P., Hoorn, C. 2018. The changing course of the Amazon River in the Neogene: center stage for Neotropical diversification. Neotropical Ichthyology 16: e180033.

Albert, J.S., Bernt, M.J., Fronk, A.H., Fontenelle, J.P., Kuznar, S.L., Lovejoy, N.R. 2021. Late neogene megariver captures and the great Amazonian biotic interchange. Global and Planetary Change 205: 103554.

Athaydes, D., Dias, C.A.R., Gregorin, R., Perini, F.A. 2021. Evolution and biogeographic history of the *Saguinus mystax* group (Primates, Callithrichidae). American Journal of Primatology 83: e23226.

Ayres, J.M., Clutton-Brock, T.H. 1992. River boundaries and species range size in Amazonian primates. The American Naturalist 140: 531–537.

Bates, H.W. 1860. Contributions to an insect fauna of the Amazon Valley: Part I – Diurnal – Lepidoptera. Transactions of the Entomological Society of London 2: 223 – 228.

Bates, H.W. 1863. The naturalist on the river Amazons. John Murray, London.

Bates, J.M. 2001. Avian diversification in Amazonia: evidence for historical complexity and a vicariance model for a basic diversification pattern. Pp. 119–138. In: Viera, I., D'Incao, M.A., Cardoso da Silva, J.M., Oren, D. (Eds.). Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém.

Berv, J., Campagna, L., Feo, T., Castro-Astor, I., Ribas, C.C., Prum, R.O., Lovette, I. 2021. Genomic phylogeography of the White-crowned Manakin *Pseudopipra pipra* (Aves: Pipridae) illuminates a continental-scale radiation out of the Andes. Molecular Phylogenetics and Evolution 164: 107205.

Bielejec, F., Rambaut, A., Suchard, M.A. Lemey, P. 2011. SPREAD: spatial phylogenetic reconstruction of evolutionary dynamics. Bioinformatics 27, 2910–2912.

Boubli, J.P., Rylands, A.B., Farias, I.P., Alfaro, M., Lynch Alfaro, J. 2012. *Cebus* phylogenetic relationships: a preliminary reassessment of the diversity of the untufted Capuchin monkeys. American Journal of Primatology 74: 381–393.

Boubli, J.P., Ribas, C., Lynch Alfaro, J., Silva, M.N.F., Pinho, G.M., Farias, I.P. 2015. Spatial and temporal patterns of diversification in the Amazon: a test of the riverine hypothesis for all diurnal primates of Rio Negro and Rio Branco in Brazil. Molecular Phylogenetics and Evolution 82(B): 400–412.

Boubli, J. P., Silva, M., Rylands, A. B., Nash, S. D., Bertuol, F., Nunes, M., Mittermeier, R. A., Byrne, H., Silva, F. E., Rohe, F., Sampaio, I., Schneider, H., Farias, I. P., & Hrbek, T. 2018. How many pygmy marmoset (*Cebuella* Gray, 1870) species are there? A taxonomic reappraisal based on new molecular evidence. Molecular Phylogenetics and Evolution 120, 170–182.

Bouckaert, R., Heled, J., Kühnert, D., Vaughan, T., Wu, C.H., Xie, D., Suchard, M.A., Rambaut, A., Drummond, A.J. 2014. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. PLOS Computational Biology 10: e1003537.

Brcko, I.C., Carneiro, J., Ruiz-García, M., Boubli, J.P., Silva-Júnior, J.S., Farias, I, Hrbek, T. Schneider, H., Sampaio, I. 2022. Phylogenetics and an updated taxonomic status of the Tamarins (Callitrichinae, Cebidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 173: 107504.

Buckley, D. 2009. Toward an organismal, integrative, and iterative Phylogeography. BioEssays 31: 784–793.

Buckner, J.C., Lynch Alfaro, J.W., Rylands, A.B., Alfaro, M.E. 2015. Biogeography of the marmosets and tamarins (Callitrichidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 82 (Part b): 413–425.

Bush, M.B. 1994. Amazonian speciation: a necessarily complex model. Journal of Biogeography 21: 5–17.

Brown, Jr., K.S. 1979. Ecologia Geográfica e Evolução nas Florestas Neotropicais. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

Byrne, H., Lynch Alfaro, J.W., Sampaio, I., Farias, I., Schneider, H., Hrbek, T., Boubli, J.P., 2018. Titi monkey biogeography: parallel Pleistocene spread by *Plecturocebus* and *Cheracebus* into a post-Pebas Western Amazon. Zool. Scr. 47 (5), 499–517.

Carneiro, L., Bravo, G.A., Aristizábal, N., Cuervo, A.M., Aleixo, A. 2018. Molecular systematics and biogeography of lowland antpittas (Aves Grallariidae): The role of vicariance and dispersal in the diversification of a widespread Neotropical lineage. Molecular Phylogenetics and Evolution 120: 375–89.

Carneiro, J., Sampaio, I., Lima, T., Silva-Júnior, J. S., Farias, I., Hrbek, T., Valsecchi, J., Boubli, J., Schneider, H. 2020. Phylogenetic relationships in the genus *Cheracebus* (Callicebinae, Pitheciidae). American Journal of Primatology 82: e23167.

Cheviron, Z.A., Hackett, S.J. & Capparella, A.P. (2005) Complex evolutionary history of a Neotropical lowland forest bird (*Lepidothrix coronata*) and its implications for historical hypotheses of the origin of Neotropical avian diversity. Molecular Phylogenetics and Evolution, 36, 338–357.

Colwell, R.K. 2000. A barrier runs through it… or maybe just a river. Proceedings of the National Academy of Sciences 97: 13470–13472.

Campbell, Jr., K.E., Heizler, M., Romero-Pittman, L., Prothero, D.R. 2001. Upper Cenozoic chronostratigraphy on the southwestern Amazon basin. Geology 29: 595–598.

Campbell, Jr., K.E., Frailey, C.D., Romero-Pittman, L. 2006. The Pan-Amazonian Ucayali Peneplain, late Neogene sedimentation in Amazonia and the birth of modern Amazon River system. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 239: 166–219.

Campbell, Jr., K.E. 2010. Late Miocene onset of the Amazon River and the Amazon deep-sea fan: evidence from the Foz do Amazonas Basin: comment. Geology 38: e212.

Collins, A.C., Dubach, J.M. 2000. Biogeographic and Ecological Forces Responsible for Speciation in *Ateles*. International Journal of Primatology 21: 421–444.

Colinvaux, P. A. 1993. Pleistocene biogeography and diversity in tropical forests of South America. Pp. 473–499. In: Goldblatt, P. (Ed.). Biological relationships between Africa and South America. Yale University Press, New Haven.

Cracraft, J. 1985. Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American avifauna: areas of endemism. Ornithological Monographs 36: 49–84.

Cropp, S.J., Larson, A., Cheverud, J.M. 1999. Historical biogeography of tamarins, genus *Saguinus*: the molecular phylogenetic evidence. American Journal of Physical Anthropology 108: 65–89.

Damuth, J., Kumar, N. 1975. Amazon cone: morphology, sediments, age, and growth pattern. Geological Society of America Bulletin 6: 863–878.

d'Horta, F.M., Cuervo, A.M., Ribas, C.C., Brumfield, R.T., Miyaki, C.Y. 2013. Phylogeny and comparative phylogeography of *Sclerurus* (Aves: Furnariidae) reveal constant and cryptic diversification in an old radiation of rain forest understorey specialists. Journal of Biogeography 40: 37–49.

Dias, M.S., Cornu, J.F., Oberdorff, T., Lasso, C.A., Tedesco, P.A. 2013. Natural fragmentation in river networks as a driver of speciation for freshwater fishes. Ecography 36: 683–689.

Dobson, D.M., Dickens, G.R., Rea, D.K. 2001. Terrigenous sediment on Ceara Rise: a Cenozoic record of South American orogeny and erosion. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 165: 215–229.

Eakin, C.M., Lithgow-Bertelloni, C., Dávila, F.M. 2014. Influence of Peruvian flat-subduction dynamics on the evolution of Western Amazonia. Earth and Planetary Science Letters 404: 250–260.

Endler, J.A. 1982. Pleistocene forest refuges: fact or fancy? In Biological diversification in tire tropics. In: Prance, G.T. (Ed.). Columbia University Press, New York, pp. 641–657.

Eva, H., Huber, O., Achard, F., Balslev, H., Beck, S., Behling, H., Belward, A., Beuchle, R., Cleef, A., Colchester, M., Duivenvoorden, J., Hoogmoed, M., Junk, W., Kabat, P., Kruijt, B., Malhi, Y., Müller, J. M., Pereira, J. M., Peres, C., Prance, G. T., Roberts, J., Salo, J. 2005. A Proposal for Defining the Geographical Boundaries of Amazonia. Publications Office of the European Union, Luxembourg.

Fernandes, A.M., Wink, M., Aleixo, A. 2012. Phylogeography of the chestnut-tailed antbird (*Myrmeciza hemimelaena*) clarifies the role of rivers in Amazonian biogeography. Journal of Biogeography 39: 1524–1535.

Fernandes, A.M., Gonzalez, J., Wink, M., Aleixo, A. 2013. Multilocus phylogeography of the Wedge-billed Woodcreeper *Glyphorynchus spirurus* (Aves, Furnariidae) in lowland Amazonia: widespread cryptic diversity and paraphyly reveal a complex diversification pattern. Molecular Phylogenetics and Evolution 66: 270–282.

Fernandes, A. M., Wink, M., Sardelli, C., Aleixo, A. 2014. Multiple speciation across the Andes and throughout Amazonia: the case of the spot-backed antbird species complex (*Hylophylax naevius* / *Hylophylax naevioides*). Journal of Biogeography 41: 1094–1104.

Ferrari, S.F. 1993. The adaptive radiation of Amazonian callitrichids (Primates, Platyrrhini). Evolutionary Biology, 7, 81-103.

Ferrari, S.F., Martins, E.S. 1992. Gummivory and gut morphology in two sympatric callitrichids (*Callithrix emiliae* and *Saguinus fuscicollis weddelli*) from Western Brazilian Amazonia. American Journal of Physical Anthropology 88: 97–103.

Figueiredo, J., Hoorn, C., van der Ven, P., Soares, E. 2009. Late Miocene onset of the Amazon River and the Amazon deep-sea fan: evidence from the Foz do Amazonas basin. Geology 37: 619–622.

Figueiredo, J., Hoorn, C., van der Ven, P., Soares, E., 2010. Late Miocene onset of the Amazon River and the Amazon deep-sea fan: evidence from the Foz do Amazonas basin: Reply Geology Forum 38: 213.

Fouquet, A., Courtois, E.A., Baudain, D., Lima J.D., Souza, S.M., Noonan, B.P., Rodrigues, M.T. 2015. The trans-riverine genetic structure of 28 Amazonian frog species is dependent on life history. Journal of Tropical Ecology 31: 361–373.

Funk, W.C., Caldwell, J.P., Peden, C.E., Padial, J.M., de la Riva, I., Cannatella, D. C. 2007. Tests of biogeographic hypotheses for diversification in the Amazonian Forest frog, *Physalaemus petersi*. Molecular Phylogenetics and Evolution 44: 825–837.

Gascon, C., Malcolm, J.R., Patton, J.L., Silva, M.N.F., Bogart J.P., Lougheed, S.C., Peres, C.A., Neckel, S., Boag, P.T. 2000. Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. Proceedings of the National Academy of Sciences 97: 13672–13677.

Gorini, C., Haq, B.U., Reis, A.T., Silva, C.G., Cruz, A., Soares, E., Grangeon, D. 2013. Late Neogene sequence stratigraphic evolution of the Foz do Amazonas Basin, Brazil. Terra Nova 26: 179–185.

Haffer, J. 1969. Speciation in Amazonian Forest birds. Science 165: 131–137.

Haffer, J. 1974. Avian speciation in tropical America. Nuttall Ornithological Club, Cambridge

Hayakawa, E.H., Rossetti, D.F., Valeriano. M.M. 2010. Applying DEM-SRTM for reconstructing a late Quaternary paleodrainage in Amazonia. Earth and Planetary Science Letters 297: 262–270.

Hayes, F.E., Sewlal. J. 2004. The Amazon River as a dispersal barrier to passerine birds: Effects of river width, habitat and taxonomy. Journal of Biogeography 31: 1809–1818.

Hawkins, J.A. 2006. Using phylogeny to investigate the origins of the Cape flora: the importance of taxonomic, gene and genome sampling strategies Diversity and Distribution 2: 27–33.

Häggi, C., Chiessi, C.M., Merkel, U., Mulitza, S., Prange, M., Schulz, M., Schefuß, E., 2017. Response of the Amazon rainforest to late Pleistocene climate variability. Earth and Planetary Science Letters 479, 50–59.

Hernández-Rangel, S.M., Martínez, J.G., Farias, I.P. 2018. A genomic toolbox for population assignment and monitoring of a conservation dependent Amazonian crocodylian (*Melanosuchus niger*: Alligatoridae: Crocodylia). Pan-American Journal of Aquatic Sciences 13:179–187

Hershkovitz, P. 1977. Living New World monkeys, part 1 (Platyrrhini), with an introduction to primates, Vol. 1. Chicago University Press, Chicago.

Heinrich, S., Zonneveld., K.A.F. 2013. Influence of the Amazon River development and construction of the Central American Seaway on Middle/Late Miocene oceanic conditions at the Ceara Rise. Palaeoclimatology, Palaeoecology, Palaeoceanography 386: 599-606.

Hoyos, M., Bloor, P., Defler, T., Vermeer, J., Rohe, F., Farias, I. 2016. Phylogenetic relationships within the Callicebus cupreus species group (Pitheciidae: Primates): Biogeographic and taxonomic implications. Molecular Phylogenetics and Evolution 102: 208–219

Horbe, A.M.C., Motta, M.B., Almeida, C.M., Dantas, E.L., Vieira, L.C. 2013. Provenance of Pliocene and recent sedimentary deposits in western Amazônia, Brazil: consequences for the paleodrainage of the Solimões-Amazonas River. Sedimentary Geology 296: 9–20.

Hoorn, C., Guerrero, J., Sarmiento, G.A., Lorente, M.A. 1995. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. Geology 23: 237–240.

Hoorn, C., Wesselingh, F.P., ter Steege, H., Bermudez, M.A., Mora, A., Sevink, J., SanMartín, I., Sanchez-Meseguer, A., Anderson, C.L., Figueiredo, J.P., Jaramillo, C., Riff, D., Negri, F.R., Hooghiemstra, H., Lundberg, J., Stadler, T., Särkinen, T., Antonelli, A. 2010. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. Science 330 927–931.

Hoorn, C. M., Bogotá-A, G. R., Romero-Baez, M., Lammertsma, E. I., Flantua, S. G. A., Dantas, E. L., Dino, R., Carmo, D. A., Chemale, F., Jr. 2017. The Amazon at sea: Onset and stages of the Amazon River from a marine record, with special reference to Neogene plant turnover in the drainage basin. Global and Planetary Change 153: 51–65.

Insel, N., Poulsen, C.J., Ehlers, T.A. 2009. Influence of the Andes Mountains on South American moisture transport, convection, and precipitation. Climate Dynamics 35: 1477–1492.

Jacobs, C.S., Larson, A., Cheverud, J.M. 1995. Phylogenetic relationships and orthogenetic evolution of coat color among tamarins (genus *Saguinus*). Systematic Biology 44: 519–532.
Jaramillo, C., Romero, I., D'Apolito, C., Bayona, G., Duarte, E., Louwye, S., Escobar, J., Luque, J., Carrillo-Briceño, J.D., Zapata, V., Mora, A., Schouten, S., Zavada, M., Harrington, G., Ortiz, J., Wesselingh, F.P. 2017. Miocene flooding events of western Amazonia. Science Advances 3: e1601693.

Junk, W.J., Piedade, M.T.F., Schöngart, J., Cohn-Haft, M., Adeney, J. M., Wittmann F. 2011. A classification of major naturally-occurring Amazonian lowland wetlands. Wetlands 31: 623–640.

Klammer, G. 1984. The relief of the extra-Andean Amazon basin. Pp. 47–83. In: Sioli, H. (Ed.). The Amazon: limnology and landscape ecology. W. Junk Publishers, Dordrecht.

Lanfear, R., Frandsen, P.B., Wright, A.M., Senfeld, T., Calcott, B. 2017. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. Molecular Biology and Evolution 34:772–773.
Laurance, W. F., Cochrane, M. A., Bergen, S., Fearnside, P. M., Delamonica, P., Barber, C., D'Angelo, S., Fernandes, T. 2001. The future of the Brazilian Amazon. Science 291:438–439.

Latrubesse, E., Cozzuol, M., Silva-Caminha, S., Rigsby, C., Absy, M., Jaramillo, C., 2010. The Late Miocene paleogeography of the Amazon Basin and the evolution of the Amazon River system. Earth-Science Reviews 99: 99–124.

Lemey, P., Rambaut, A., Welch, J. J. & Suchard, M. A. 2010. Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. Molecular Biology and Evolution 27: 1877–1885.

Lima, M.G.M., Buckner, J.C., Silva-Júnior, J.S., Aleixo, A., Martins, A., Boubli, J.P., Link, A., Farias, I.P., Silva, M.N., Rohe, F., Queiroz, H., Chiou, K.L., Di Fiore, A., Alfaro, M.E., Lynch Alfaro, J.W. 2017. Capuchin monkey biogeography: Understanding Sapajus Pleistocene range expansion and the current sympatry between Cebus and Sapajus. Journal of Biogeography 44: 810–820.

Lynch Alfaro, J.W., Boubli, J.P., Paim, F.P., Ribas, C.C., Silva, M.N.F., Messias, M.R., Rohe, F., Mercês, M.P., Silva, Jr., J.S, Silva, C.R., Pinho, G.M., Koshkarian, G., Nguyen, M.T.T., Harada, M.L., Rabelo, R.M., Queiroz, H.L., Alfaro, M.E., Farias, I.P. 2015. Biogeography of squirrel monkeys (genus *Saimiri*): South-central Amazon origin and rapid pan-Amazonian diversification of a lowland primate. Molecular Phylogenetics and Evolution 82 (Part B): 436–454.

Marroig, G., Cerqueira, R. 1997. Plio-Pleistocene South American history and the Amazon Lagoon Hypothesis: a piece in the puzzle of Amazonian diversification. Journal of Comparative Biology 2: 103–119.

Milliman, J. D. 1979. Morphology and structure of Amazon Upper Continental Margin. AAPG Bulletin 63: 934–950.

Moritz, C., Patton, J.L., Schneider, C.J., Smith, T.B. 2000. Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 31:533–563

Naka, L.N., Brumfield, R.T. 2018. The dual role of Amazonian rivers in the generation and maintenance of avian diversity. Science Advances 4: eaar8575.

Nogueira, A.C.R., Silveira, R., Guimarães, J.T.F. 2013. Neogene-Quaternary sedimentary and paleovegetation history of the eastern Solimões Basin, central Amazon region. Journal of South American Earth Sciences 46: 89–99.

Nores, M. 1999. An alternative hypothesis for the origin of Amazonian bird diversity. Journal of Biogeography 26: 475–485.

Nuttall, C.P. 1990. A review of the Tertiary non-marine molluscan faunas of the Pebasian and other inland basins of north-western South America. Bulletin of the British Museum (Natural History) Geology 45: 165–371.

Lopes, G.P., Rohe, F., Bertuol, F., Polo, E., Lima, I.J., Valsecchi, J., Santos, T.C.M., Nash, S.D., Silva, M.N.F., Boubli, J.P., Farias, I.P., Hrbek, T. 2023. Taxonomic review of *Saguinus mystax* (Spix, 1823) (Primates, Callitrichidae), and description of a new species. PeerJ 10: e14526.

Patel, S., Weckstein, J.D., Patané, J.S.L., Bates, J.M., Aleixo, A. 2011. Temporal and spatial diversification of *Pteroglossus* aracaris (Aves: Ramphastidae) in the Neotropics: constant rate of diversification does not support an increase in radiation during the Pleistocene. Molecular Phylogenetics and Evolution 58: 105–115.

Pasley, M.A., Shepherd, D.B., Pocknall, D.T., Boyd, K.P., Andrade, V., Figueiredo, J.J.P. 2005. Sequence Stratigraphy and Basin Evolution of the Foz do Amazonas Basin, Brazil. Search and Discovery Article 10082.

Perelman, P., Johnson, W.E., Roos, C., Seuánez, H.N., Horvath, J.E., Moreira, M.A.M., Kessing, B., Pontius, J., Roelke, M., Rumpler, Y., Schneider, M.P.C., Silva, A., O'Brien, S.J., Pecon-Slattery, J. 2011. A molecular phylogeny of living primates. PLOS Genetics 7: 1001342.

Peres, C.A. 1993. Notes on the primates of the Juruá River, western Brazilian Amazonia. Folia Primatologica 61: 97–103.

Peres, C.A., Patton, J.L., Silva, M.N. 1996. Riverine barriers and gene flow in Amazonian saddle-back tamarins. Folia Primatologica 67: 113–124.

Peres, C.A. 1997. Primate community structure at twenty western Amazonian flooded and unflooded forests. Journal of Tropical Ecology 13: 381–405.

Pupim, F.N., Sawakuchi, A.O., Almeida, R.P. Ribas, C.C., Kern, A.K., Hartmann, G.A., Chiessi, C.M., Tamura, L.N., Minelo, T.D., Savian, J.F., Grohmann, C.H., Bertassoli Jr., D.J., Stern, A.G., Cruz, F.W., Cracraft, J. 2019. Chronology of Terra Firme formation in Amazonian lowlands reveals a dynamic Quaternary landscape. Quaternary Science Reviews 210: 154–163.

Rabelo, R.M., Silva, F.E., Vieira, T., Ferreira-Ferreira, J., Paim, F.P., Dutra, W., Silva Júnior, J.S., Valsecchi, J. 2014. Extension of the geographic range of *Ateles chamek* (Primates, Atelidae): evidence of river-barrier crossing by an Amazonian primate. Primates 55: 167–171.
Pirani, R.M., Werneck, F.P., Thomaz, A., Kenney, M.L., Sturaro, M.J., Avila-Pires, T.C., Peloso, P.L.V., Rodrigues, M.T., Knowles, L.L. 2019. Testing main Amazonian rivers as barriers across time and space within widespread taxa. Journal of Biogeography 46: 2444–2456.

Pirani, R.M., Peloso, P.L.V., Prado, J.R., Polo, É.M., Knowles, L.L., Ron, S.R. Rodrigues, M.T., Sturaro, M.J., Werneck, FP. 2020. Diversification history of clown tree frogs in Neotropical rainforests (Anura, Hylidae, *Dendropsophus leucophyllatus* group). Molecular Phylogenetics and Evolution 150: 106877.

Rambaut, A. 2010. FigTree v1.3.1. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh.

Rambaut, A., Drummond A. J. 2015. TreeAnnotator v1.8.2: MCMC Output analysis.

Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. Systematic Biology 67: 901–904.

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: 386e390.

Ribas, C.C., Gaban-Lima, R., Miyaki, C.Y., Cracraft, J. 2005. Historical biogeography and diversification within the Neotropical Parrot genus Pionopsitta (Aves: Psittacidae). Journal of Biogeography 32: 1409– 1427.

Ribas CC, Joseph L, Miyaki CY (2006) Molecular systematics and patterns of diversification in Pyrrhura (Psittacidae), with special reference to the picta–leucotis complex. Auk 123:660–680.

Ribas, C.C., Aleixo, A., Nogueira, A.C.R., Miyaki, C.Y., Cracraft, J. 2012. A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 279: 681–689.

Rohe. F. 2021. Sistemática molecular e biogeografia do gênero *Leontocebus* (Wagner, 1839) (Callithrichidae, Primates). Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 142p.

Rossato, R.S., Azevedo, R.B., Fialho, M.S., Vidal, M.D., Lopes, G.P. 2017. Primatas da Floresta Nacional de Tefé, Amazônia Central. Biodiversidade Brasileira 7: 1–6.

Rossetti, D.F., Toledo, P.M., Góes, A.M. 2005. New geological framework for Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. Quaternary Research 63: 78–89.

Rossetti, D.F., Cohen, M.C.L., Tatumi, S.H., Sawakuchi, A.O., Cremon, É.H., Mittani, J.C.R., Bertani, T.C., Munita, C.J.A.S., Tudela, D.R.G., Yee, M., Moya, G. 2015. Mid-Late Pleistocene OSL chronology in western Amazonia and implications for the transcontinental Amazon pathway. Sedimentary Geology 330: 1–15.

Rossetti, D.F., Vasconcelos, D.L., Valeriano, M.M., Bezerra, F.H.R. 2021.Tectonics and drainage development in central Amazonia: The Juruá River. Catena 206: 105560.

Ruokolainen, K., Moulatlet, G.M., Zuquim, G., Hoorn, C., Tuomisto, H. 2019. Geologically recent rearrangements in central Amazonian river network and their importance for the riverine barrier hypothesis. Frontiers of Biogeography 11.3: e45046

Rylands A.B., Mittermeier, R.A. 2013. Family Callitrichidae (Marmosets and Tamarins). Pp. 262–346: In: Mittermeier, R.A., Rylands A.B., Wilson, D.E. (Eds.), Handbook of the mammals of the world, Volume 3: Primates. Lynx Edicions, Barcelona.

Rylands, A.B., Coimbra-Filho, A.F., Mittermeier, R.A. 1993. Systematics, geographic distribution, and some notes on the conservation status of the Callitrichidae. Pp. 11–77. In:

Rylands, A.B. (Ed.), Marmosets and tamarins: Systematics, behaviour and ecology. Oxford University Press, Oxford.

Sampaio, R., Rohe, F., Pinho, G. M., Silva-Júnior, J. S., Farias, I. P., Rylands, A. B., 2015. Re-description and assessment of the taxonomic status of *Saguinus fuscicollis cruzlimai* Hershkovitz, 1966 (Primates, Callitrichinae). Primates, 1966, 1–13.

Sampaio, R., Rohe, F., Rylands, A.B. 2018. Diversity of primates and other mammals in the middle Purus basin in the Brazilian Amazon. Mammalia 82: 565–579.

Santana, S.E., Lynch Alfaro, J., Alfaro, M.E. 2012. Adaptive evolution of facial colour patterns in Neotropical primates. Proceedings of the Royal Society B: Biological Science 279: 2204–2211.

Shephard, G.E., Müller, R.D., Liu, L., Gurnis, M. 2010, Miocene drainage reversal of the Amazon River driven by plate-mantle interaction: Nature Geoscience 3: 870–875.

Sioli, H. 1984. The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. Pp. 127–165. In: Sioli, H. (Ed.), The Amazon: limnology and landscape ecology. W. Junk Publishers, Boston.

Silva, J. M. C., Rylands, A. B., Fonseca, G. A. B. 2005. The fate of Amazonian areas of endemism. Conservation Biology 19: 689–694.

Silva, S. M., Peterson, A. T., Carneiro, L., Burlamaqui, T. C. T., Ribas, C. C., Sousa-Neves, T., Miranda, L. S., Fernandes, A. M., d'Horta, F. M., Araújo-Silva, L. E., Batista, R, Bandeira, C. H. M. M., Dantas, S. M., Ferreira, M., Martins, D. M., Oliveira J., Rocha, T. C., Sardelli, C. H., Thom, G., Rêgo, P. S., Santos, M. P., Sequeira, F., Vallinoto, M., Aleixo, A. 2019. A dynamic continental moisture gradient drove Amazonian bird diversification. Science Advances 5: eaat5752.

Smith, B.T., McCormack, J.E., Cuervo, A.M., Hickerson, M.J., Aleixo, A., Cadena, C.D., Pérez-Emán, J., Burney, C.W., Xie, X., Harvey, M.G., Faircloth, B.C., Glenn, T.C., Derryberry,

E.P., Prejean, J., Fields, S., Brumfield, R.T. 2014. The drivers of tropical speciation. Nature 515: 406–409.

Solomon, S.E., Bacci, M.Jr., Martins, J.Jr., Vinha, G.G., Mueller, U.G. 2008. Paleodistributions and comparative molecular phylogeography of leafcutter ants (*Atta* spp.) provide new insight into the origins of Amazonian diversity. PLOS One 3: e2738.

Sousa-Neves, T., Aleixo, A., Sequeira, F. 2013. Cryptic patterns of diversification of a widespread Amazonian woodcreeper species complex (Aves: Dendrocolaptidae) inferred from multilocus phylogenetic analysis: implications for historical biogeography and taxonomy. Molecular Phylogenetics and Evolution 68: 410–424

Salo, J., Kalliola, R., Häkkinen, I., Mäkinen, Y., Niemelä, P., Puhakka, M., Coley, P. D. 1986. River dynamics and the diversity of Amazon lowland forest. Nature 322: 254–258.

Silva, J.C.M, Oren, D.C. 1996. Application of parsimony analysis of endemicity in Amazonian biogeography: an example with primates. Biological Journal of the Linnean Society 59: 427–437.

Silva J.M.D., Rylands, A.B., Fonseca, G.A.B. 2005. The fate of the Amazonian areas of endemism. Conservation Biology 19: 689–94.

Silva, S.M., Peterson, A.T., Carneiro, L., Burlamaqui, T.C.T., Ribas, C.C., Sousa-Neves, T., Miranda, L., Fernandes, A.M., D'horta, F.M., Araújo-Silva, Lucas, E., Batista, R., Bandeira, C.H.M.M., Dantas, S., Ferreira, M., Martins, D.M., Oliveira, J., Rocha, T.C., Sardelli, C.H., Thom, G., Rego, P.S., Santos, M.P.D., Sequeira, F., Vallinoto, M.N., Aleixo, A.L.P. 2019. A dynamic continental moisture gradient drove Amazonian bird diversification. Science Advances 5: eaat5752.

Schultz, E.D., Perez-Eman, J.L., Aleixo, A.P., Miyaki, C.Y., Brumfield, R.T., Cracraft, J., Ribas, C.C. 2019. Diversification history in the *Dendrocincla fuliginosa* complex (Aves: Dendrocolaptidae): Insights from broad geographic sampling. Molecular Phylogenetics and Evolution 140: 106581.

Thom, G., Aleixo, A. 2015. Cryptic speciation in the white-shouldered antshrike (*Thamnophilus aethiops*, Aves - Thamnophilidae): The tale of a transcontinental radiation across rivers in lowland Amazonia and the northeastern Atlantic Forest. Molecular Phylogenetics and Evolution 82: 95–110.

Thomaz, A.T., Christie, M.R., Knowles, L.L. 2016. The architecture of river networks can drive the evolutionary dynamics of aquatic populations. Evolution 70: 731–739.

Vanzolini, P.E., Williams, E.E. 1970. South American anoles, the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). Arquivos de Zoologia 19: 291–298.

van der Sleen, P., Albert, J.S. 2017. Field Guide to the Fishes of the Amazon, Orinoco, and Guianas, Princeton University Press, Princeton.

Vonhof, H.B., Wesselingh, F.P, Ganssen, G.M. 1998. Reconstruction of the Miocene western Amazonian aquatic system using molluscan isotopic signatures. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 141: 85–93.

von Humboldt, A. 1808. Ansichten der Natur. Tübingen, Berlin.

Wallace, A. R. 1852. On the monkeys of the Amazon. Proceedings of the Zoological Society of London 20: 107 – 110.

Wallace, A. R. 1876. The Geographical Distribution of Animals. Macmillan.

Weir, J.T., Faccio, M.S., Pulido-Santacruz, P., Barrera-Guzmán, A.O., Aleixo, A. 2015. Hybridization in headwater regions, and the role of rivers as drivers of speciation in Amazonian birds. Evolution 69: 1823–1834.

Wesselingh, F.P., Räsänen, M.E., Irion, G., Vonhof, H.B., Kaandorp, R., Renema, W., Romero-Pittman, L., Gingras, M. 2002. Lake Pebas: a palaeoecological reconstruction of a Miocene long-lived lake complex in western Amazonia. Cainozoic Research 1: 35–81.

Wesselingh, F.P., Salo, J.A. 2006. A Miocene perspective on the evolution of the Amazonian biota. Scripta Geologica 133: 439–458.

Whitmore, T. C., Prance, G. T. 1987. Biogeography and Quaternary history in tropical America. Clarendon Press, Oxford.

Conclusão geral

Nesta tese, investiguei a filogenia, a taxonomia e biogeografia das espécies que compõem o gênero *Tamarinus*. Nossas hipóteses testadas suportam a descrição de uma nova espécie, *Tamarinus kulina*, bem como a mudança de status taxonômico para o nível de espécies para *Tamarinus mystax*, *Tamarinus pileatus*, *Tamarinus imperator* e *Tamarinus subgrisescens*. Nossas hipóteses filogenéticas recuperadas esclareceram as relações filogenéticas para as espécies e subespécies do gênero *Tamarinus*. Além disso, geramos a primeira filogenia completa calibrada no tempo de todas as espécies e subespécies dos gêneros *Saguinus*, *Oedipomidas* e *Tamarinus*, com esclarecimento das relações filogenéticas entre elas. Além disso, essas as filogenias dão suporte e apoiam a divisão de *Saguinus* em três gêneros, o que dá suporte à proposta taxonômica anterior para esses três gêneros. Nosso modelo biogeográfico associou a formação dos rios amazônicos como agentes vicariantes primários para a diversificação das espécies do gênero *Tamarinus*.

Perspectivas futuras

No primeiro capítulo as hipóteses taxonômicas testadas deram suporte à descrição de uma nova espécie, bem como à mudança do status de espécies para outras duas. Entretanto, para *Tamarinus pileatus pluto* ainda há necessidade de se realizar uma ampla amostragem dentro de sua distribuição, a fim de se testar hipóteses taxonômicas baseadas na taxonomia proposta aqui. Além disso, identificamos potenciais áreas de contados entre *Tamarinus kulina* e *Tamarinus pileatus pileatus* e entre esta última e *Tamarinus pileatus pluto*, o que pode indicar potenciais eventos de hibridização entres elas. Investigações adicionais podem ajudar a esclarecer essas questões.