Fernanda Bocalini

Biogeografia e filogeografia comparada das aves do Centro de Endemismo Pernambuco utilizando Elementos Ultra Conservados (UCEs)

Biogeography and comparative phylogeography of the birds of Pernambuco Centre of Endemism using Ultraconserved Elements (UCEs)

São Paulo
2019

Fernanda Bocalini

Biogeografia e filogeografia comparada das aves do Centro de Endemismo Pernambuco utilizando Elementos Ultra Conservados (UCEs)

Biogeography and comparative phylogeography of the birds of Pernambuco Centre of Endemism using Ultraconserved Elements (UCEs)

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Doutor em Ciências Biológicas, na Área de Zoologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Luís Fábio Silveira

São Paulo

2019

Resumo

O Centro de Endemismo Pernambuco (CEP) é a região da Mata Atlântica (MA) que mais sofreu com o desmatamento e fragmentação. As relações biogeográficas entre o CEP, a MA do Sul e a Amazônia (AM) não ainda foram abordadas de forma abrangente em estudos recentes. Processos que contribuem para a origem da biodiversidade Neotropical podem ocorrer por meio de diferentes modelos de diversificação como os refúgios florestais e a hipótese dos rios como barreira e ambos podem ser testados com as espécies do CEP. Além disso, conexões entre a AM e a MA poderiam ter um papel importante no processo de diversificação do CEP, sendo proposta uma possível relação entre a distribuição atitudinal e a origem de uma linhagem. Foi realizado um estudo filogenômico comparado de 7 táxons de aves endêmicas do CEP para esclarecer sua história biogeográfica e detalhar o histórico de conexões entre a AM e o CEP utilizando o sequenciamento de elementos ultraconservados (UCEs) e um gene mitocondrial. Foi sequenciado o gene ND2 e extraído SNPs de aproximadamente 5000 UCEs que foram utilizados para reconstruir as relações filogenéticas entre as populações, descrever a estrutura populacional e testar cenários demográficos alternativos. Análises de DNA mitocondrial e SNPs das UCEs apresentaram, em geral, um padrão congruente, em que as populações do CEP são mais próximas das populações da MA do Sul sem relação com a distribuição altitudinal, em alguns táxons o CEP não é identificado como uma linhagem evolutiva independente. Análises de demografia histórica recuperaram um padrão de divergência com fluxo gênico, a população do CEP se originou de uma população amazônica por meio de múltiplas conexões durante o Plioceno e Pleistoceno, posteriormente esta população expandiu para o sul colonizando regiões ao sul do rio São Francisco, processos de migração posterior a divergência foram identificados em todos os táxons e entre todas as regiões resultando em contato secundário. As mudanças climáticas do Pleistoceno foram as grandes responsáveis pela geração de biodiversidade na MA e por promover conexões entre a AM e a MA, no entanto, os padrões de divergência e migração recuperados são, em geral, idiossincráticos, indicando que diferenças nos atributos ecológicos de cada espécie podem ser decisivas em sua história evolutiva. A origem da comunidade de aves do CEP é caracterizada como um processo prolongado e não simultâneo em que múltiplas conexões com a Amazônia conjuntamente com as diversas variações climáticas do Pleistoceno contribuíram para a formação da sua diversidade atual.

Abstract

The Pernambuco Centre of Endemism (PCE) is the Atlantic Forest (AF) region most affected by deforestation and fragmentation. The biogeographical relationships among the PCE, the Southern AF and Amazonia (AM) have not been addressed comprehensively in recent studies. Processes that contribute to the origin of the Neotropical biodiversity can occur through different models of diversification such as the forest refugia and riverine barriers and both can be tested with the PCE birds. Furthermore, connections between Amazonia and AF would have been hypothesized to have affected the composition of the PCE based on the species' elevational distribution. Furthermore, connections between AM and AF could have an important role on the PCE diversification process with a putatively altitudinal related origin. Here, we conducted a comparative phylogenomic study of 7 bird taxa endemic to the PCE to clarify its biogeographic history and to detail the historical connections between AM and PCE using the sequencing of ultraconserved elements (UCEs) and one mitochondrial gene. We sequenced ND2 gene and extracted SNPs from approximately 5,000 UCEs and used it to reconstruct phylogenetic relationship among populations, describe population structure and to test alternative demographic scenarios. Mitochondrial DNA and UCEs SNPs analyses presented a congruent pattern in general, in which PCE populations are closely related to Southern AF, an origin not related to elevational range, in some taxa the PCE population is not even an independent evolutionary lineage. Demographic history demonstrated that all taxa presented a pattern of divergence with gene flow, the PCE population likely originated from Amazonia throughout multiple connections within Pliocene and Pleistocene, afterwards this population expanded southwards and colonized the region on the South of Rio São Francisco, subsequent migrations after divergence were present in all taxa and among all regions resulting on secondary contact. Pleistocene climatic changes were the major responsible for the generation of the AF biodiversity and for promoting connections between AM and AF, nevertheless, the divergence and migration patterns we recovered are generally idiosyncratic, demonstrating that differences in the ecological traits of each species may be a decisive factor in their evolutionary history. The origin of PCE bird community has been a prolonged process instead of simultaneous event and multiple connections with Amazonia together with the various Pleistocene climatic oscillations contributed to the formation of its present-day diversity.

Introdução Geral

A Mata Atlântica e o Centro de Endemismo Pernambuco

As florestas da região Neotropical são amplamente conhecidas pela sua diversidade de espécies extremamente elevada e a compreensão dos padrões e processos geradores dessa diversidade ainda permanecem pouco explorados e se tornaram um dos principais objetivos dos biólogos evolutivos deste século (Haffer, 1969; Hoorn et al., 2010; Ribas et al., 2012; Smith et al., 2014b). Uma das áreas mais diversas da região Neotropical que ainda permanece pouco estudada é a Mata Atlântica; a Mata Atlântica está entre as regiões que apresentam a maior riqueza de espécies do planeta, abrigando mais de 60% das espécies terrestres (Myers et al., 2000; Galindo-Leal & Câmara, 2003; Mittermeier et al., 2005). Estende-se por todo o leste do Brasil, leste do Paraguai e nordeste da Argentina (Rizzini, 1997), já chegou a cobrir uma área de cerca de 1.500.000 km², no entanto, atualmente restam entre 11.4-16% de sua cobertura vegetal original (Galindo-Leal & Câmara, 2003; Ribeiro et al., 2009); tais fragmentos, hoje em dia, abrigam uma das maiores porcentagens de espécies endêmicas do mundo, o que caracteriza a Mata Atlântica como umas das unidades biogeográficas mais distintas de toda a região Neotropical (Rizzini, 1997; Moreira-Lima, 2013).

Entretanto, sabe-se que a Mata Atlântica não é formada por um fragmento contínuo e homogêneo de espécies animais e vegetais (Silva et al., 2004). Ao contrário da floresta Amazônica, a Mata Atlântica ocorre ao longo de um gradiente latitudinal de aproximadamente 25°, o que inclui diferentes regimes climáticos (Silva et al., 2004; Ribeiro et al., 2009); outro fator está na variação altitudinal, áreas florestadas são encontradas desde o nível do mar até 1700 m de altitude (Rizzini, 1997), montanhas originadas por meio das intensas atividades tectônicas do Cenozóico (Petri & Fúlfaro, 1983). Considerando-se variações latitudinais e altitudinais, diferentes tipos de vegetação

desenvolvem-se, influenciando a distribuição das espécies (Brown & Lomolino, 1998). Por isso, algumas áreas de endemismo já foram propostas para a Mata Atlântica e atualmente são reconhecidas quatro áreas de endemismo distintas (Silva & Casteleti, 2003; Silva et al., 2004, Figura 1): Serra do Mar, Central Bahia, Costa da Bahia e o Centro Pernambuco.

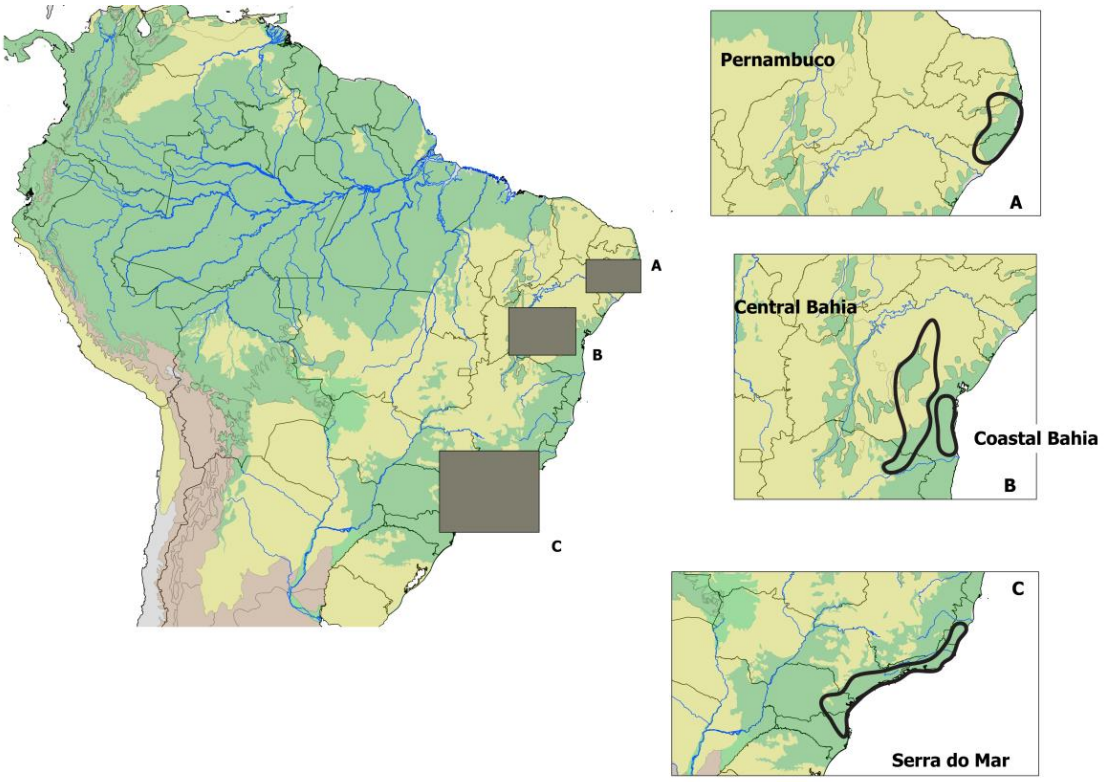

Figura 1: Mapa mostrando a localização das quatro áreas de endemismo da Mata Atlântica de acordo com Silva et al. (2004). Modificado de Silva et al. (2004).

O Centro de Endemismo Pernambuco (CEP) é a área mais ameaçada da Mata Atlântica e certamente a mais ameaçada das Américas; já chegou a compreender um bloco contínuo de floresta (56.000 km²) ao longo da costa dos estados da Paraíba, Pernambuco e Alagoas, desde nível do mar até as escarpas do planalto da Borborema, ao norte do rio São Francisco (Silva et al., 2004, Figura 1). O CEP apresenta cinco tipos de vegetação: floresta ombrófila aberta, floresta ombrófila densa, zona de tensão ecológica, floresta estacional semidecídua e formação pioneira (IBGE, 2004). Estima-se que as florestas

maduras do CEP são principalmente do tipo ombrófila aberta, seguida pela floresta estacional semidecídua e ombrófila densa (Ranta & Blom, 1998; Silva & Tabarelli, 2001; Silveira et al., 2003).

O nordeste do Brasil foi a primeira região a ser colonizada pelos europeus, e toda a área que era extensivamente coberta por florestas rapidamente deu lugar a plantações de cana-de-açúcar, o desmatamento e a modificação do habitat já ocorre há mais de cinco séculos, caracterizando uma das mais antigas e de maior escala modificações de habitat produzidas pelas colônias europeias na América do Sul (Silveira et al., 2003; Tabarelli et al., 2006; Roda et al., 2011; Barnett & Buzzetti, 2014). O desmatamento foi acelerado durante as décadas de 1970 e 1980 devido ao plano do governo brasileiro que visava impulsionar a produção de etanol, o PROALCOOL (Teixeira et al., 1986; Cavalcanti, 1992; Silveira et al., 2003; Martinelli & Filoso, 2008). A busca por uma alternativa à gasolina teve como custo as florestas remanescentes do nordeste brasileiro, que deram lugar novamente a culturas de cana-de-açúcar, o que auxiliou o Brasil a diminuir a sua dependência da gasolina durante a crise global do petróleo do início da década de 1970 (Silveira et al., 2003; Tabarelli et al., 2010).

De sua extensão original de 39567 km², estima-se que restam apenas 2% (1907 km^2) de florestas maduras na região e grande parte dessas florestas remanescentes são compostas de pequenos fragmentos, muitos deles constituídos de florestas secundárias e/ou que sofreram extração seletiva de madeira. Os fragmentos são majoritariamente encontrados em cadeias de montanhas do interior, como na Chapada da Borborema, 48% dos fragmentos restantes são menores que 10 ha e pouquíssimos ultrapassam 1000 ha (Ranta & Blom, 1998; Silva & Tabarelli, 2000; Silva et al., 2002; Silveira et al., 2003; Ribeiro et al., 2009; Pereira et al., 2014). Atualmente, há apenas 157 áreas protegidas na região e grande parte (78%) são menores que 5 km^2, além disso, todos os fragmentos

estão inseridos em meio a plantações de cana-de-açúcar e muitos dessas áreas não seriam funcionais para a conservação de espécies endêmica e/ou ameaçadas, e existem alguns fragmentos com um grande número de espécies endêmicas e/ou ameaçadas que não estão protegidos (Pereira et al., 2014, 2016).

Apesar de sua elevada exploração econômica desde o início da colonização do Brasil, o nordeste brasileiro é uma das regiões mais negligenciadas cientificamente. No âmbito da ornitologia, pouca atenção foi dada a essa região ao longo dos séculos, principalmente para as regiões montanhosas, as primeiras expedições científicas para essas áreas ocorreram, talvez tarde demais. Somente nas décadas de 1970 e 1980 expedições do Museu Nacional do Rio de Janeiro (MNRJ) foram realizadas e resultaram na descrição de quatro novas espécies (*Philydor novaesi*, *Myrmoterula snowi*, *Terenura sicki* e *Phyloscartes ceciliae*) endêmicas ao estado de Alagoas, na Fazenda Serra Branca, local que atualmente abriga a Estação Ecológica de Murici, o que tornou esta localidade a área mais emblemática e importante para a conservação dos Neotrópicos (Wege & Long, 1995). Já nessa época, a cobertura vegetal da região encontrava-se bastante reduzida, e por isso, essas espécies foram encontradas principalmente em áreas florestadas remanescentes do alto de montanhas (Teixeira & Gonzaga, 1983b, 1983a; Teixeira et al., 1987; Barnett & Buzzetti, 2014). Outras espécies foram descritas ainda mais recentemente, como *Glaucidium mooreorum* (Silva et al., 2002) e *Cichlocolaptes mazarbarnetti* (Barnett & Buzzetti, 2014), quando já estavam à beira da extinção, e muitas espécies provavelmente foram extintas antes mesmo de serem descritas (Lees et al., 2015).

O CEP é identificado como uma importante área de endemismo tanto para plantas (Prance, 1982), borboletas (Brown, 1979; Tyler et al., 1994) e aves (Silva et al., 2004). Das 435 espécies de aves registradas no CEP (incluindo brejos de altitude), 18 espécies e

21 subespécies são endêmicas, totalizando 39 táxons endêmicos (Silveira et al., 2003, 2004; Roda et al., 2011; Batalha-Filho et al., 2013b; Barnett & Buzzetti, 2014; Pereira et al., 2014; Rêgo et al., 2014). Do total de espécies 65% está associada a ambientes florestais (Roda et al., 2011), 15 estão atualmente listadas como ameaçadas na lista vermelha da IUCN (IUCN, 2014) e 26 estão listados em alguma categoria de ameaça na lista vermelha de animais ameaçados de extinção do Brasil (ICMBio, 2016).

Recentemente, Pereira et al. (2014) fizeram uma revisão do *status* de conservação das aves ameaçadas do CEP e concluíram que, além de *Pauxi mitu* (Silveira et al., 2004), outras três espécies endêmicas foram declaradas extintas (*Glaucidium mooreorum*, *Cichlocolaptes mazarbarnetti* e *Philydor novaesi*), com base em investigações realizadas nos últimos 11 anos em 14 fragmentos que variavam desde 6 até 1200 ha. Tais dados tornam o CEP a região Neotropical com o maior número relativo de espécies ameaçadas e extintas (Silveira et al., 2003; Olmos, 2005; Pereira et al., 2014). Além disso, pelo menos três novos táxons endêmicos ao CEP estão sendo descritos neste momento, indicando que o conhecimento sobre a biodiversidade da região ainda não se esgotou (Silveira, *com. pess.*). Apesar da grande importância biológica associada à presença de muitas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção, as relações biogeográficas do CEP com as demais regiões da Mata Atlântica e da Amazônia ainda são pouco compreendidas. O esclarecimento detalhado dessas relações é chave para a compreensão da evolução das biotas Amazônica e Atlântica, já que é bastante conhecida a origem mista de sua avifauna endêmica (Teixeira et al., 1986; Roda, 2003).

A identificação dos mecanismos ecológicos e evolutivos que podem contribuir para as elevadas taxas de diversidade de espécies em florestas tropicais é um dos temas centrais da biologia evolutiva e seus resultados podem fornecer subsídios para a biologia da conservação (Whittaker et al., 2005; Maldonado-Coelho, 2012). Tais estudos são

especialmente relevantes na região Neotropical, que possui a maior diversidade biológica do mundo e que apesar disso, poucos estudos com o objetivo de testar os fatores que causaram a diferenciação populacional, especiação e as afinidades biogeográficas entre espécies foram realizados. No caso nas espécies do CEP, que possuem uma distribuição extremamente restrita e ameaçada, a determinação dos padrões e processos que delimitam suas relações biogeográficas permite que decisões mais acuradas sejam tomadas no planejamento de áreas de conservação, restauração, manejo de espécies invasoras e também na escolha de áreas para reintrodução de espécies, quando necessário (Richardson & Whittaker, 2010).

A origem da fauna do CEP, assim como as relações biogeográficas entre o CEP, a Amazônia e a Mata Atlântica Meridional (ao sul do rio São Francisco) ainda permanecem pouco estudas e dificilmente são alvo de estudos biogeográficos e filogeográficos modernos (Silveira et al., 2003; Santos et al., 2007). Para compreender a origem biogeográfica do CEP é necessário testar as hipóteses biogeográficas que envolvem a Mata Atlântica como um todo, focando-se nas predições específicas para a região do CEP, além disso, devido a conhecida origem mista de sua avifauna, é necessário testar as hipóteses que envolvem as possíveis conexões entre a Amazônia e a Mata Atlântica, e a decisão de quais hipóteses serão testadas dependerá de onde são seus táxons irmãos (Amazônia e a Mata Atlântica).

As hipóteses de diversificação na Mata Atlântica

Uma das principais e mais discutidas hipóteses para explicar a origem da biodiversidade Neotropical é a teoria dos refúgios florestais pleistocênicos (Haffer, 1969, 1997). A teoria clássica dos refúgios hipotetiza que organismos florestais ficariam isolados em manchas de floretas separadas por savanas durante os períodos das grandes mudanças climáticas que afetaram a vida na Terra desde o Quaternário (Haffer, 1969;

Vanzolini & Williams, 1970) e os ciclos de fragmentação e reconexão da floresta resultariam em altos níveis de riqueza de espécies, já que o isolamento em fragmentos florestais cercados por habitats inóspitos resultariam em diferenciação e, em alguns casos, em especiação.

Derivado da hipótese clássica dos refúgios, o modelo de estabilidade e extinção (Carnaval & Moritz, 2008; Carnaval et al., 2009), utiliza modelos de distribuição de espécies da Mata Atlântica do passado e do presente para sugerir que os padrões atuais de variação genética intraespecífica são resultados do isolamento periódico em áreas de estabilidade florestal (refúgios) e da extinção em áreas fora dos refúgios, durante o Último Máximo Glacial (LGM), há cerca de 21000 anos. Este modelo é caracteriza-se pela hipótese de que a maioria das regiões florestadas ao sul do rio Doce foram substituídas por regiões de savana no decorrer do último período glacial e seriam ambientalmente menos estáveis, e dois refúgios florestais persistiram ao norte do rio Doce: o primeiro deles chamado de refúgio da Bahia, foi uma grande área florestada que se estendia desde a margem norte do rio Doce até a margem sul do rio São Francisco; o segundo chamado de refúgio de Pernambuco caracterizava-se por uma menor região florestada localizada ao norte do rio São Francisco (Carnaval & Moritz, 2008).

Portanto, considerando-se as predições do modelo de estabilidade e extinção, organismos que possuem uma distribuição ao longo de toda a Mata Atlântica deveriam ter uma maior diversidade genética, uma maior estruturação populacional e as populações distribuídas ao norte do Rio Doce teriam uma história demográfica mais estável. Sendo assim, as populações das espécies endêmicas do CEP, quando comparadas com seu táxon-irmão da Mata Atlântica do Sul, apresentariam maior estabilidade demográfica, seriam mais diferenciadas e estruturadas, seu táxon irmão apresentaria traços de eventos de recolonização recente provenientes das populações do norte, enquanto que elas

apresentariam níveis baixíssimo de migração devido ao seu isolamento em áreas refugias (Carnaval & Moritz, 2008; Carnaval et al., 2009).

Este modelo impulsionou a realização de uma grande variedade de novos estudos envolvendo táxons endêmicos da Mata Atlântica e os resultados foram variados, alguns deles encontraram padrões condizentes com a hipótese dos refúgios e que davam suporte a este modelo (Carnaval et al., 2009; Fitzpatrick et al., 2009; Mata et al., 2009; Brunes et al., 2010; Dhorta et al., 2011; Amaral et al., 2013; Batalha-Filho & Miyaki, 2016), enquanto outros estudos filogeográficos questionam sua validade, visto que foram capazes de recuperar linhagens endêmicas do refúgio da Bahia mais antigas do que o Último Máximo Glacial, ou porque suportavam a persistência de populações estáveis fora das supostas regiões refugiais, com na região central e sul da Mata Atlântica (Cabanne et al., 2008; Fitzpatrick et al., 2009; Thomé et al., 2010; Amaral et al., 2013; Alvarez-Presas et al., 2014). No entanto, estudos delineados com o objetivo de corroborar este modelo e utilizá-lo como uma ferramenta para estudos biogeográficos ainda são escassos (Carnaval et al., 2009; Maldonado-Coelho, 2012; Amaral et al., 2013).

Com o objetivo de testar explicitamente os efeitos das mudanças climáticas do Pleistoceno na distribuição das espécies e nos processos evolutivos das aves endêmicas da Mata Atlântica Cabanne et al., (2016), utilizaram 15 espécies endêmicas da Mata Atlântica para avaliar a relação os parâmetros de genética de populações com as métricas das mudanças de distribuição das espécies que ocorreram entre o presente e o LGM. Identificou-se que as mudanças de distribuição do Pleistoceno de fato afetaram a diversificação dos organismos florestais, mas com um efeito menor do que o esperado. Verificou-se que as respostas evolutivas às mudanças na distribuição variam muito entre as espécies de aves da Mata Atlântica, podendo variar de acordo com seus requerimentos ecológicos, capacidade de dispersão, idade da população, etc., o que explicaria as grandes

divergências nos resultados de estudos biogeográficos com aves da Mata Atlântica. É proposto um novo modelo de como seriam as distribuições das espécies da Mata Atlântica durante o LGM, elas seriam maiores, igualmente fragmentadas e geograficamente deslocadas das suas distribuições durante os períodos interglaciais. Este estudo demonstra que a resposta de uma espécie a mudanças ambientais pode variar de acordo com seus atributos ecológicos, como já demonstrado por Smith et al. (2014) com aves amazônicas, gerando diferentes padrões de diversidade e estruturação genética, evidenciando a importância de se analisar dados diferentes espécies de forma comparativa em análises biogeográficas.

Dois estudos publicados recentemente (Arruda et al., 2018; Costa et al., 2018) utilizando padrões de vegetação a longo prazo e modelagem de habitat, revelaram padrões de estabilidade na Mata Atlântica que diferem dos padrões descritos anteriormente. Apesar de Costa et al. (2017) ter verificado áreas de estabilidades nas regiões do refúgio de Pernambuco e Bahia, também foram identificadas áreas estáveis na porção sul da Mata Atlântica, por ser uma região climaticamente distinta (Carnaval et al., 2014), além disso, seus dados quando projetados para o LGM resultam o oposto do esperado, ou seja, expansão das florestas tropicais e contração das regiões de áreas abertas (savanas) e é proposto para a Mata Atlântica que a contração e expansão de florestas ocorreu em diversos períodos nos últimos 30 mil anos, sendo a recuperação florestal bastante rápida, sugerindo a existência múltiplos refúgios ao logo de todo bioma em diferentes períodos. Já os modelos de Arruda et al. (2018), predizem que o clima no passado era mais frio e mais úmido em quase toda a América do Sul, sendo que a Amazônia e as regiões ecotonais foram as mais afetada pelas mudanças climáticas dos últimos 21000 anos.

Outra hipótese de diversificação é a teoria dos rios como barreira ao fluxo gênico de animais terrestres (Wallace, 1852; Sick, 1967), especificamente para a Mata Atlântica,

tem se sugerido que o desenvolvimento dos rios e de outras barreiras fisiográficas seriam fatores importantes que moldam a diversidade da Mata Atlântica (Thomé et al., 2010, 2014). Os rios e as variações atitudinais geralmente estão associados aos limites de distribuição de muitos táxons de aves da Mata Atlântica, o rio Doce e o rio São Francisco são vistos como as barreiras mais importantes que modelam a diversidade, sendo que eles que delimitam as principais áreas de endemismo do bioma (Silva et al., 2004). A hipótese dos rios como barreira na diversificação da Mata Atlântica diverge drasticamente da hipótese dos refúgios em suas predições, espacialmente, as principais quebras entre as populações coincidiriam com os rios e não com os supostos refúgios, temporalmente, quando um rio é o principal agente promotor de especiação, as divergências entre as populações devem coincidir com a formação dos rios e, por isso, o tempo de divergência seria muito mais antigo do que aquele previsto pela hipótese dos refúgios, e principalmente, sob a hipótese dos rios como barreira, as flutuações demográficas das populações ao longo do tempo não deveriam ocorrer, já que ciclos de extinção e expansão não são esperados (Maldonado-Coelho, 2012; Amaral et al., 2013).

Diversos estudos biogeográficos realizados com organismos endêmicos da Mata Atlântica revelaram que, muitas vezes, as quebras genéticas coincidem com os seus principais rios (Pellegrino et al., 2005; Cabanne et al., 2007; Lara-Ruiz et al., 2008; Brunes et al., 2010; Resende et al., 2010), entretanto, o tempo de divergência entre as populações varia muitos nos diversos táxons, o que chama atenção para qual seria o real papel dos rios como uma barreira geográfica para especiação (Cabanne et al., 2008; Colombi et al., 2010). Estudos demonstraram que os rios tem um papel importante na diversificação da Amazônia (Cracraft, 1985; Haffer, 1997; Gascon et al., 1998; Ribas et al., 2012), mas o seu papel na Mata Atlântica permanece bastante questionado e pouco conclusivo no caso das aves (Maldonado-Coelho, 2012). Recentemente, novas

ferramentas computacionais tornaram-se disponíveis para testar hipóteses biogeográficas, métodos baseados em modelos vem sendo cada vez mais utilizados (Carnaval et al., 2009; Amaral et al., 2013; Alvarez-Presas et al., 2014; Prates et al., 2016; Thomé et al., 2016) proporcionando formas mais rigorosas de se testar modelos biogeográficas, e a utilização desses recursos torna-se especialmente importante quando os limites entre as supostas barreiras e refúgios coincidem, como é o caso do refúgio da Bahia, que fica localizado entre duas possíveis barreiras, o rio Doce e rio São Francisco (Carnaval & Moritz, 2008).

As conexões entre Amazônia e Mata Atlântica

A floresta Amazônica e a Mata Atlântica são consideradas as florestas tropicais mais diversas do planeta (Morley, 2000), entre esses dois biomas encontra-se um cinturão de vegetação aberta e matas secas que inclui o chaco argentino e paraguaio, o cerrado e a caatinga brasileira (Ab'Saber, 1977), e é esta diagonal seca que sempre foi apontada como uma importante restrição à migração de espécies entre esses dois grandes biomas de floresta tropical (Mori, 1981; Rizzini, 1997). Mudanças na distribuição geográfica dos habitats no decorrer do tempo geológico podem resultar em dispersão e vicariância e, portanto, influenciar padrões biogeográficos, por exemplo, barreiras topográficas (rios e montanhas) e barreiras ambientais (corredores secos separando ambientes úmidos) favorecem a divergência entre táxons disjuntos proximamente relacionados (Graham et al., 2004; Ribas et al., 2012; Thomé et al., 2014; Prates et al., 2016). Assim, sempre que ecossistemas similares são conectados novamente, os organismos tem a oportunidade de colonizar áreas adjacentes e interagir com novas espécies (Petren et al., 2005), este tipo de conexão entre habitas sempre esteve relacionado com mudanças climáticas (Prates et al., 2016), sendo assim, presume-se que a dispersão mediada por mudanças climáticas teria desempenhado um papel fundamental na formação dos biomas Amazônia e Mata Atlântica.

No passado, a Amazônia e a Mata Atlântica provavelmente formavam um único contínuo de floresta tropical, tornando-se separadas devido ao soerguimento dos Andes e as drásticas mudanças climáticas que ocorreram durante o Eoceno/Mioceno que resultaram no crescimento da aridez e a formação da diagonal seca entre elas (Bigarella et al., 1975). Dados paleoambientais auxiliaram a desvendar as recentes conexões entre as duas florestas tropicais, registros como de isótopos de oxigênio (Cheng et al., 2013), espeleotemas (Auler et al., 2004) e de simulações paleoclimáticas (Sobral-Souza et al., 2015) indicam que realmente ocorreram variações climáticas ao longo do tempo favorecendo a expansão de florestas tropicais conectando ambos os biomas. Foi demonstrado que a região central do Brasil era mais úmida durante o Quaternário (Ledru, 1993), o que poderia ter favorecido a formação de corredores de floresta tropical entre o leste da Amazônia e o norte da Mata Atlântica e também entre o sul da Mata Atlântica e o sudoeste da Amazônia, padrões consistentes com a distribuição de diversos táxons de aves com distribuição disjunta (Cheng et al., 2013; Batalha-Filho et al., 2013a).

No entanto, os dados detalhados sobre as possíveis conexões entre a Amazônia e a Mata Atlântica ainda são escassos, pouco se sabe sobre o tempo, a frequência e a magnitude dessas conexões. Batalha-Filho et al. (2013a) utilizaram a filogenia molecular de aves combinada com dados de distribuição para obter uma perspectiva do tempo evolutivo sobre a dinâmica das relações históricas entre Amazônia e Mata Atlântica. São propostas ao menos duas supostas conexões biogeográficas entre Amazônia e Mata Atlântica, a primeira delas, mais antiga, durante o Mioceno tardio, através da porção sul do Cerrado e Mato Grosso para o Chaco e as savanas da Bolívia e Paraguai; a segunda, mais recente, datada do Plioceno ao Pleistoceno, provavelmente ocorreu entre o Cerrado e a Caatinga no nordeste do Brasil, padrão que poderia explicar colonização do CEP por populações de origem Amazônica. Este padrão biogeográfico já havia sido proposto por

Andrade-Lima (1964) e Bigarella et al. (1975) que hipotetizaram a ocorrência de duas conexões entre o CEP e a Amazônia, uma delas pela região costeira que segue as planícies sedimentárias do Terceário pela costa do Atlântico e outra rota pela região que hoje compreende a Caatinga, o que também é suportado por dados palinológicos e geológicos (Oliveira et al., 1999; Auler & Smart, 2001; Auler et al., 2004). No entanto, estudos envolvendo diferentes táxons de lagartos sugerem que a rota pelo nordeste da Mata Atlântica pode ser bem mais antiga, datada para o Mioceno (Pellegrino et al., 2011; Rodrigues et al., 2014; Prates et al., 2017; Sá et al., 2019).

Prates et al. (2016) utilizaram dados de filogenias de três espécies de lagartos arborícolas co-distribuídos tanto na Amazônia quanto na Mata Atlântica para testar cenários demográficos alternativos de colonização e vicariância, seus resultados deram suporte a colonização da Mata Atlântica pelo leste da Amazônia, revelando que as flutuações climáticas do Quaternário foram oportunidades chave de dispersão e colonização. Thomé et al., (2016) também utilizaram simulações de modelos biogeográficos para testar como as conexões passadas entre Amazônia e Mata Atlântica influenciaram a diversidade da Caatinga, usando dados de genes mitocondriais e de microsatélites dos sapos do gênero *Pleurodema*, concluindo que a estrutura genética deste gênero endêmico da caatinga, está de acordo com as invasões florestais em meio a caatinga conectando a Amazônia e a Mata Atlântica.

Em uma recente revisão sobre as conexões históricas entre Amazônia e Mata Atlântica (Ledo & Colli, 2017), foram utilizados dados de modelagem de nicho ecológico, paleobiológiocos e moleculares para testar a rota sudeste-noroeste como a mais importante em termos de frequência e duração. Foram identificados dois grupos climáticos principais que compartilhavam o espaço ambiental, um adaptado ao clima frio e outro adaptado ao clima quente e seus resultados demonstram que o papel das conexões

dependia do grupo o qual um organismo pertencia, sendo que elas poderiam ter efeitos opostos dependendo do tipo organismo e do clima. Durante períodos de clima mais frio como o LGM haveria a expansão de espécies adaptadas ao frio por meio corredores florestais formados por comunidades de plantas também adaptadas ao frio, durante os períodos interglaciais (mais quentes) essas conexões também ocorreram, mas elas eram relacionadas à comunidade de plantas e animais adaptados ao calor. Essas conclusões suportam a ideia de Por (1992) de que rota sudeste-noroeste ocorreu várias vezes no passado e provavelmente foi estabelecida após o soerguimento do Andes, padrão também recuperado recentemente por Costa et al. (2017).

Com relação ao CEP, poucos estudos avaliaram especificamente as possíveis relações entre suas espécies endêmicas e a Amazônia. Santos et al. (2007) utilizaram dados de vegetação para realizar análises cladísticas de parcimônia das distribuições e dos endemismos do CEP, da Mata Atlântica Meridional, dos enclaves florestais da Caatinga (os brejos de altitude) e da Amazônia. Os resultados obtidos sugerem que o CEP é mais proximamente relacionado com a Amazônia do que com a Mata Atlântica Meridional, esta relação corrobora a hipótese que provavelmente ocorreram conexões entre Amazônia e a Mata Atlântica através da Caatinga durante o Pleistoceno.

Este padrão em que populações do CEP são mais relacionadas com populações Amazônicas (Santos et al., 2007) ou de outras áreas que não pertencem a Mata Atlântica já fora observado em alguns estudos filogeográficos recentes envolvendo táxons de passeriformes endêmicos do CEP (Maldonado-Coelho, 2012; Batalha-Filho et al., 2013b; Maldonado-Coelho et al., 2013; Tello et al., 2014; Thom & Aleixo, 2015), táxons restritos ao CEP como *Synallaxis infuscata*, *Pyriglena leuconota pernambucensis*, *Thamnophilus aethiops distans* e *Cercomacra laeta sabinoi* tem sua população mais proximamente

relacionada na Amazônia e os mecanismos responsáveis por esses padrões ainda não puderam ser compreendidos de forma detalhada.

A relação com a altitude

Teixeira & Gonzaga (1983a, 1983b), ao descreverem espécies típicas de florestas de altitude: *Terenura sickii*, *Philydor novaesi* e *Myrmotherula snowi* identificaram que a distribuição da avifauna das florestas do CEP não é homogênea e que possivelmente seria formada por dois grupos, um deles de florestas de altitude (em torno de 550m) e outro de florestas de baixada da região costeira. Seus dados indicam que a avifauna das florestas de baixada são possivelmente mais relacionados com espécies amazônicas, enquanto que as aves de florestas seriam predominantemente mais próximas de espécies da Mata Atlântica Meridional.

As espécies descritas por Teixeira & Gonzaga (1983a, 1983b) que ocorrem em altitudes mais elevadas, são encontradas, na maioria das vezes, nos chamados "brejos de altitude". Os brejos de altitude são enclaves de floresta, caracterizados por habitats extremamente úmidos, localizados acima de 500 m de altitude nas encostas e topos de montanhas, como ilhas florestadas em meio a Caatinga, chuvas localizadas e a condensação de neblina permitem a persistência desses enclaves úmidos, que apresentam níveis de precipitação maiores quando comparados com regiões adjacentes (Vanzolini, 1981; Andrade-Lima, 1982). Sob o ponto de vista florístico, os brejos de altitude são classificados como uma porção disjunta da Mata Atlântica (Rodal et al., 1998). Vanzolini (1981) e Andrade-Lima (1982) chegaram a afirmar que a existência desses enclaves florestados seria uma evidência da existência de refúgios florestais atuais no nordeste do Brasil.

A origem biogeográfica dos brejos de altitude tem sido atribuída às expansões florestais que ocorreram durante os períodos úmidos do Pleistoceno e Holoceno, seguido

pela contração das florestas de baixada em resposta ao crescimento da aridez, estas florestas de montanha sobreviveram em áreas com o microclima favorável (Andrade-Lima, 1982; Prado & Gibbs, 1993). Carnaval & Bates (2007), utilizando dados genéticos de anuros, encontraram que as populações dos brejos apresentam menos variação genética do que em outros fragmentos da Mata Atlântica, entretanto eles abrigam populações geneticamente únicas, o que evidencia seu isolamento em refúgios durante o LGM. Poucos estudos avaliaram se os táxons de montanha da Mata Atlântica compartilharam mudanças demográficas similares aos táxons de baixada durante o LGM (Amaral et al., 2018a; Pie et al., 2018) e nenhum estudo de filogeografia comparou espécies de baixada e de altitude da Mata Atlântica do nordeste do Brasil, uma região que pertence a um nicho climático distinto da Mata Atlântica localizada ao sul do rio Doce de espécies adaptadas ao calor (Cheng et al., 2013; Carnaval et al., 2014; Ledo & Colli, 2017)

A filogeografia comparada e o sequenciamento de próxima geração (NGS)

A grande quantidade de hipóteses biogeográficas envolvendo o CEP evidencia a necessidade iminente de estudos e biogeográficos e filogeográficos mais aprofundados que se foquem especificamente em seus táxons endêmicos. Os avanços recentes das técnicas e análises de filogenia e filogeografia permitem que hipóteses sobre a história evolutiva de populações e a biogeografia de táxons sejam levantadas e aprofundadas (e.g., Hickerson et al., 2007; Ronquist & Sanmartín, 2011). A filogeografia se foca nas relações entre a geografia e as filogenias moleculares, ao nível de espécie ou abaixo, incorporando a perspectiva filogenética e da genética de populações na biogeografia (Avise et al., 1987). O papel de processos históricos, como dispersão e vicariância, em padrões geográficos sob um nível populacional podem ser interpretados com as ferramentas estatísticas apropriadas (Avise, 2000; Antonelli et al., 2009). A filogeografia comparada utiliza o estudo biogeográfico de múltiplas espécies co-distribuídas em uma determinada

região geográfica, como um método para elucidar eventos vicariantes compartilhados entre táxons para que hipóteses biogeográficas possam ser desenvolvidas e testadas (Avise & Walker, 1998; Edwards & Beerli, 2000).

A maioria dos estudos filogeográficos primeiramente focou-se em um tipo de genoma, o DNA mitocondrial (mtDNA), o mtDNA é o mais abundante nas células animais e foi o primeiro a ser isolado e sequenciado com sucesso, por isso, seu uso em estudos filogeográficos tornou-se generalizado a princípio, e devido aos seus bons resultados, o mtDNA foi mantido como o primeiro recurso a ser sequenciado neste tipo de estudo (Edwards & Beerli, 2000; Brito & Edwards, 2009). O mtDNA possui a vantagem de apresentar taxas relativamente rápidas de evolução, fornecendo resolução para eventos de especiação recentes (Brown et al., 1979; Moore, 1995; Zink & Barrowclough, 2008). Mais recentemente, foram incorporados marcadores nucleares, mas o uso de marcadores mitocondriais predominou, já que poucos marcadores nucleares apresentam taxas de evolução suficientemente rápidas para estudos intraespecíficos (Hare, 2001; Crawford, 2003). A incorporação de outros marcadores e de uma maior quantidade deles ocorre devido às incongruências observadas quando são comparadas genealogias originadas de diferentes tipos de marcadores, por isso, a abordagem filogeográfica multilocus tornou-se cada vez mais importante, o crescimento do tamanho dos dados de sequências proporciona estimativas mais robustas das histórias filogenéticas, fornecendo resolução até mesmo para os mais difíceis problemas de reconstrução filogenética (Brito & Edwards, 2009; Edwards, 2009).

Apesar da tecnologia do sequenciamento de primeira geração (Sanger et al. 1977) ter proporcionado um grande avanço nos estudos filogeográficos e biogeográficos, o desenvolvimento e sequenciamento de marcadores de DNA sob esta tecnologia é intensamente trabalhosa e de custo bastante elevado, pois cada marcador adicional

aumenta o custo final do projeto, o que fez com que a maioria dos estudos filogeográficos fosse baseada em um pequeno número de loci (Shendure & Ji, 2008). A utilização deste tipo de tecnologia contribuiu significativamente na compreensão de processos evolutivos e biogeográficos em diversos grupos, no entanto, para o preenchimento de lacunas e a solução de filogenias problemáticas tornou-se necessário um conjunto de dados que tivesse um grande número de loci e uma maior cobertura taxonômica (Rocha et al. 2013).

Atualmente, com o advento do sequenciamento paralelo em massa (*massive parallel sequencing* – MPS) é possível adquirir conjuntos de dados provenientes de milhares de loci desvinculados, utilizando centenas de indivíduos simultaneamente, mesmo sem o conhecimento prévio da sequência do genoma de base (Glenn, 2011; McCormack et al., 2013b; Smith et al., 2014a). Diversas técnicas foram desenvolvidas para utilizar a representação reduzida de bibliotecas de DNA para o MPS, como a geração de aplicon (e.g., Morin et al., 2008; O'Neill et al., 2013), métodos baseados na digestão por enzimas de restrição (RADseq, e.g., Baird et al., 2008), transcriptomas (e.g., Geraldes et al., 2011) e a captura de sequência (*sequence capture* – Seq-cap, e.g., Briggs et al., 2009). Métodos como o RADseq e a captura de sequência (Sec-cap) são o que teriam uma maior utilidade para estudos sistemáticos e filogeográficos, já que esses métodos permitem que sejam utilizados extratos de DNA de tecidos de qualidade baixa a moderada; amostras de museus que não contém DNA de alta qualidade podem ser utilizadas sem problemas. Uma grande quantidade de dados (i.e., milhares de loci) de muitos indivíduos (i.e., >100) com um esforço relativamente baixo pode ser coletada, além de não serem necessários muitos equipamentos especializados (Harvey et al., 2013).

O método de captura de sequência (Seq-cap) envolve a preparação de bibliotecas de DNA a partir de moldes de DNA fragmentados aleatoriamente e a hibridização dessas bibliotecas à sondas sintéticas de oligonucleotídeos (60-120 mer) que possuem centenas

ou milhares regiões genômicas de interesse (Harvey et al., 2013). Recentemente, o Seq-cap tem sido utilizado para sequenciar muitos loci em organismos modelos em que os genomas já estão disponíveis (e.g., Choi et al., 2009). Quando se deseja estudar organismos que não possuem o genoma disponível, pode ser utilizada a captura de regiões genômicas específicas utilizando sondas desenhadas para ter como alvo sequências conservadas do genoma que são compartilhadas entre muitos táxons divergentes (Faircloth et al., 2012; Lemmon et al., 2012; Hedtke et al., 2013; Li, 2013). Foi dessa forma que Faircloth et al. (2012) utilizaram o Seq-cap para direcionar o sequenciamento de milhares de elementos ultraconservados (UCEs).

UCEs são uma nova classe de marcadores genéticos recentemente descobertos que correspondem a uma região específica do genoma, foram primeiramente observados em humanos (Bejerano et al., 2007) e rapidamente identificados em outros animais (Stephen et al., 2008; Faircloth et al., 2012), suas funções permanecem pouco compreendias, provavelmente estão relacionados com regulação e desenvolvimento (Sandelin et al., 2004; Woolfe et al., 2005). Atualmente, sabe-se que os UCEs são regiões do genoma compartilhadas entre táxons muito distantes evolutivamente, e por isso já foram utilizados para resolver as relações filogenéticas entre aves basais (McCormack et al., 2013a; Hosner et al., 2016), mamíferos (McCormack et al., 2012) e peixes (Faircloth et al., 2013; Chakrabarty et al., 2017; Alda et al., 2018), para determinar a posição filogenética das tartarugas entre os répteis (Crawford et al., 2012), e recentemente também apresentou bons resultados para resolver a filogenia de grupos de invertebrados (Branstetter et al., 2017; Campillo et al., 2018; Kieran et al., 2019). Apesar dos UCEs serem altamente conservados entre táxons distantemente relacionados, suas regiões adjacentes abrigam uma grande fonte de variação (Faircloth et al., 2012; Harvey et al., 2017), o que aumenta o sinal filogenético em diferentes níveis temporais, aumentando a

resolução dos nós das árvores obtidas (Crawford et al., 2012; McCormack et al., 2012; Hosner et al., 2015). Os UCEs podem ser obtidos de uma grande variedade de táxons, são polimórficos em uma escala de tempo evolutivo recente, são rapidamente gerados com um baixo custo, tornando-se um marcador genético efetivo para estudos de histórias demográficas e padrões populacionais (McCormack et al., 2013b; Rocha et al., 2013; Smith et al., 2014a; Zarza et al., 2016; Palacios et al., 2018; Thom et al., 2018).

A utilização de UCEs como um marcador para resolver relações filogeográficas tem se demostrado bastante vantajosa, provando que seu emprego sob nível populacional também produz resultados satisfatórios (Smith et al., 2014a; Harvey & Brumfield, 2015; Zarza et al., 2016; Palacios et al., 2018; Thom et al., 2018). Smith et al. (2014) foram pioneiros na utilização de dados provenientes de UCEs na filogeografia, testando seu uso na resolução das relações filogeográficas entre aves amazônicas; seus resultados corroboraram a utilidade das UCEs para o entendimento dos parâmetros demográficos que descrevem a história populacional ao longo da América do Sul, são capazes de diferenciar populações e resolver as relações entre essas populações com alto grau de confiabilidade. Quando dados de UCEs são comparados com dados de mtDNA os resultados obtidos são similares aos fornecidos pelas UCEs, mas os dados de UCEs diminuem consideravelmente a variância na estimativa do tempo de divergência (Smith et al., 2014).

A utilização de dados de UCEs em estudos sistemáticos e filogeográficos tornou-se cada vez mais comum nos últimos anos, e sua eficácia tem sido corroborada em uma grande diversidade de estudos. Zarza et al. (2016) utilizaram dados de UCEs para testar existência de fluxo gênico entre diferentes espécies de gralhas do México; Manthey et al. (2016) realizaram um estudo comparativo entre dados de UCES e RADseq para inferir a filogenia do gênero *Piranga*, obtendo um árvore de espécies idêntica em ambas as

metodologias, mas com tamanhos de ramos divergentes, resultado similar a outros estudos com esse viés comparativo de metodologias (Harvey et al., 2013; Leache et al., 2015). McCormack et al. (2016) utilizaram UCEs para coletar dados de espécimes de aves de museus (peles) de até 120 anos, apesar das amostras dos espécimes mais velhos terem produzido menos loci e mais curtos, em geral, foram coletados milhares de marcadores até mesmo do espécime mais antigo, evidenciando a importância das coleções científicas em museus de história natural, onde milhões de espécimes antigos agora podem ser considerados como potenciais fontes de recursos genômicos, permitindo inclusive a utilização de espécimes ameaçados de extinção ou até mesmo extintos na natureza, sem a necessidade de coleta de novos indivíduos na natureza.

Com relação a análise de dados filogeográficos, este campo tem progredido em vários estágios desde Avise et al. (1987) e diferentes abordagens já foram utilizadas. Primeiramente, os estudos eram focados em informações que poderiam ser geradas a partir dos dados genéticos sob poucas premissas, como o cálculo do resumo da estatística de genética de populações ou estimativa de árvores dos genes, as inferências biogeográficas eram feitas então de maneira qualitativa, avaliando as informações implícitas naqueles resultados (e.g., Bernatchez & Wilson, 1998). Esse tipo de abordagem recebeu muitas críticas, além de gerar certa subjetividade, os pesquisadores tem a tendência de propor cenários históricos mais complexos e detalhados do que aquilo que os dados realmente suportam (Knowles & Maddison, 2002). Como resposta a esse tipo de crítica, os estudos filogeográficos passaram a adotar outro tipo de abordagem para análise, os métodos baseados em modelos, em particular, aqueles que incorporam a teoria coalescente (Kingman, 1982). Apesar desse tipo de abordagem representar um grande avanço, ainda assim certa subjetividade permanecia, pois a influência de processos evolutivos é derivada da magnitude dos valores numéricos dos parâmetros que medem

aquilo que os pesquisadores consideram importantes processos evolutivos (Thomé & Carstens, 2016).

Com o objetivo de diminuir ao máximo o nível de subjetividade das análises filogeográficas, uma estratégia ainda mais promissora está sendo cada vez mais adotada nos estudos recentes (e.g., Amaral et al. 2013;Thomé et al. 2016; Prates et al. 2016; Amaral et al., 2018a), que é identificar qual modelo, entre muitos modelos de história demográfica possíveis, é aquele que estatisticamente mais se adequa aos dados observados, ao invés de testar uma hipótese nula, em que sua rejeição representaria apenas que esta hipótese não se adequa aos dados obtidos. A seleção de modelos torna-se então uma ferramenta extremamente útil para a inferência filogeográfica, já que representa um tipo de abordagem que leva em consideração a incerteza presente nos modelos utilizados para analisar os dados e estudos recentes utilizando este tipo de abordagem aumentaram o poder de caracterização e detalhamento dos processos históricos envolvidos em cada estudo filogeográfico (Prates et al., 2016; Thomé & Carstens, 2016; Amaral et al., 2018a, 2018b; Thom et al., 2018).

Discussão Geral e Conclusões

Os capítulos que compõem essa tese tiveram como objetivo principal desvendar a origem e os mecanismos de diversificação da avifauna endêmica do Centro de Endemismo Pernambuco (CEP), a região mais ameaçada e fragmentada das Américas. Para isso, adotou-se uma abordagem nunca antes utilizada em estudos na Mata Atlântica, foi empregada uma combinação de análises filogenômicas sob o nível populacional e seleção de modelos demográficos por métodos coalescentes utilizando 7 táxons endêmicos do CEP, sendo este o estudo mais abrangente já realizado para a Mata Atlântica tanto com relação ao número de táxons quanto ao número de loci. Os resultados evidenciaram o poder da utilização de uma base de dados sub-genômica de forma comparativa em 7 táxons não relacionados para descrever a história biogeográfica de uma região detalhadamente e testar cenários demográficos alternativos na busca por padrões congruentes.

Análises de DNA mitocondrial e SNPs das UCEs revelaram um padrão oposto do esperado considerando estudos anteriores e a hipótese da relação com a altitude, em que a população do CEP é extremamente relacionada com as populações da MA que ocorre ao sul do Rio São Francisco, em alguns táxons o CEP não é nem mesmo identificado como uma linhagem evolutiva independente. As espécies utilizadas nesse estudo eram, em geral, adaptadas a regiões de baixa altitude e seria esperado que, ao menos para àquelas estritamente de baixada, elas fossem mais relacionadas com populações Amazônicas, considerando as predições da hipótese de Teixeira e Gonzaga (1983a, 1983b). Esse resultado demonstra que a estabilidade climática do CEP durante o LGM não permitiu a extinção de espécies de baixada e o papel da AM na origem da avifauna do CEP seria bem mais antigo durante eventos de conexão entre a AM e a MA que modelaram a diversidade genética da região, sendo que a sua relação íntima com a MA

do Sul seria explicada por eventos de dispersão ou vicariância da população ancestral da MA.

A utilização da modelagem demográfica foi uma ferramenta poderosa para testar hipóteses divergentes com relação a origem e a diversificação da avifauna endêmica do CEP, esse tipo de abordagem permitiu que fossem testados até 40 modelos demográficos alternativos, levando em consideração todos os cenários plausíveis como a presença de expansão ou gargalos populacionais e migração diferencial posterior à divergência entre populações divergentes, proporcionando uma imagem detalhada do cenário de diversificação mais provável. Os resultados encontrados sugerem uma forte evidência de que os refúgios florestais Pleistocênicos teriam um papel fundamental na diversificação da MA, entretanto, não foi possível identificar padrões simultâneos entre as espécies, o tempo de divergência entre o CEP e a MA do Sul variou consideravelmente, revelando que não foi um único evento climático (como o LGM) responsável pela origem da diversidade do CEP, e sim as diversas variações climáticas que ocorreram durante o Pleistoceno que agiram de forma a moldar sua diversidade contemporânea, num processo constante de expansão e contração das regiões de floresta tropical úmida. O padrão idiossincrático de divergência dentro da MA sugere que cada espécie respondeu de maneira diferenciada aos ciclos glacias do Pleistoceno, demonstrando que o papel desempenhado pelas características ecológicas específicas de cada espécie é decisivo na história evolutiva de uma linhagem, já que podem determinar a maneira com que ela respondeu às mudanças climáticas do passado.

Adicionalmente a influência das mudanças climáticas do Pleistoceno na diversificação do CEP, as conexões com a Amazônia também desempenharam um papel fundamental na formação das espécies do CEP e o presente estudo conseguiu de detalhar o tempo, a frequência e a magnitude dessas conexões de forma que nenhum estudo

anterior alcançou, caracterizando como as mudanças ambientais do passado foram capazes de moldar a diversidade genética dos dois maiores biomas florestais da América do Sul. Das 7 espécies aqui amostradas foram selecionadas 4 que apresentavam distribuição disjunta na AM, CEP e MA do Sul, as análises filogenéticas, de estrutura populacional e de demografia histórica suportaram a ocorrência de corredores florestais em meio a atual Caatinga conectando a AM e o nordeste da MA, quando comparamos os resultados dos 4 táxons percebe-se que essas conexões ocorreram múltiplas vezes desde o final do Plioceno até o Pleistoceno tardio como consequência das oscilações climáticas através do tempo. As variações climáticas do Pleistoceno promoveram o aumento da umidade e da pluviosidade ciclicamente e serviram como oportunidades chaves para a dispersão entre a AM e a MA. Nossos dados demonstraram que possíveis eventos de colonização ou migração ocorreram sempre da AM para a MA, sendo que a AM pode ser caracterizada como fonte de diversidade do CEP. A modelagem demográfica auxiliou na identificação de eventos de migração posterior a divergência das populações da AM e da MA resultando em contato secundário em todos os táxons, um padrão ainda não encontrado em outros organismos com distribuição disjunta na AM e MA.

Considerando tanto os tempos de divergência quanto os tempos de migração estimados por meio dos modelos de demografia histórica, foi possível inferir cinco ou seis períodos de conexão entre a MA do Nordeste e a AM, sendo um evento no final do Plioceno, um no início do Pleistoceno, duas conexões no Pleistoceno médio e outras duas que poderiam se sobrepor durante o Pleistoceno tardio. A partir desses dados é possível generalizar um padrão em que as conexões envolvendo o nordeste do Brasil seriam mais recentes, e o fato de que alguns tempos de conexão inferidos nesse estudo eram parcialmente simultâneos com o tempo estimado em estudos anteriores com outros organismos relacionados com a conexão do sudeste da MA sugere que as conexões pelo

Nordeste e pelo Sudeste poderiam ter sido estabelecidas ao mesmo tempo e não seriam restritas a distintos períodos geológicos.

O padrão idiossincrático observado entre as espécies deste estudo tanto com relação aos tempos de divergência das espécies do CEP quanto relacionado aos tempos de conexão entre AM e CEP demonstram que a busca por um padrão que possa ser generalizado e aplicável à organismos distantemente relacionados é sem sentido, a maneira com que um organismo irá responder às mudanças ambientais do passado irá depender de suas características ecológicas e a falta de congruência deve ser uma regra. Seria muito simples imaginar que a origem da avifauna do CEP seria explicada por um único mecanismo congruente em espécies não relacionadas, a origem da comunidade de aves do CEP deve ser caracterizada como um processo prolongado e não simultâneo em que múltiplas conexões com a Amazônia conjuntamente com as diversas variações climáticas do Pleistoceno contribuíram para a formação da sua grande diversidade atual. Estudos futuros, com viés comparativo utilizando organismos endêmicos do CEP distantemente relacionados e com diferentes atributos ecológicos são necessários para aprimorar a caracterização dos processos relacionados à diversificação de CEP e para compreender a generalidade de todos os padrões observados.

Referências

Ab'Saber, A.N. (1977) Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. *Geomorfologia*, **52**, 1–22.

Alda, F., Tagliacollo, V.A., Bernt, M.J., Waltz, B.T., Ludt, W.B., Faircloth, B.C., Alfaro, M.E., Albert, J.S., & Chakrabarty, P. (2018) Resolving Deep Nodes in an Ancient Radiation of Neotropical Fishes in the Presence of Conflicting Signals from Incomplete Lineage Sorting. *Systematic Biology*, **68**, 573–593.

Alvarez-Presas, M., Sánchez-Garcia, A., Carbayo, F., Rozas, J., & Riutort, M. (2014) Insights into the origin and distribution of biodiversity in the Brazilian Atlantic forest hot spot: a statistical phylogeographic study using a low-dispersal organism. *Heredity*, **112**, 656–665.

Amaral, F.R., Alvarado-Serrano, D.F., Maldonado-Coelho, M., Pellegrino, K.C.M., Miyaki, C.Y., Montesanti, J.A.C., Lima-Ribeiro, M.S., Hickerson, M.J., & Thom, G. (2018a) Climate explains recent population divergence, introgression and persistence in tropical mountains: phylogenomic evidence from Atlantic Forest warbling finches. *bioarXiv*, 1–36.

Amaral, F.R., Maldonado-Coelho, M., Aleixo, A., Luna, L.W., Rêgo, P.S. do, Araripe, J., Souza, T.O., Silva, W.A.G., & Thom, G. (2018b) Recent chapters of Neotropical history overlooked in phylogeography: Shallow divergence explains phenotype and genotype uncoupling in *Antilophia* manakins. *Molecular Ecology*, **27**, 4108–4120.

Amaral, F.S.R. Do, Albers, P.K., Edwards, S. V., & Miyaki, C.Y. (2013) Multilocus tests of Pleistocene refugia and ancient divergence in a pair of Atlantic Forest antbirds (*Myrmeciza*). *Molecular Ecology*, **22**, 3996–4013.

Andrade-Lima, D. (1964) Contribuição a dinâmica da flora do Brasil. *Arquivo Instituto Ciência da Terra*, **2**, 15–20.

Andrade-Lima, D. (1982) Present-day forest refuges in northeastern Brazil. *Biological diversification in the tropics* pp. 245–251.

Antonelli, A., Quijada-mascareñas, A., Crawford, A.J., John, M., Velazco, P.M., & Wüster, W. (2009) Molecular studies and phylogeography of Amazonian tetrapods and their relation to geological and climatic models. *Amazonia: landscape and species evolution: A look into the past.* (ed. by C. Hoorn and F.P. Wesselingh), pp. 386–404. Wiley-Blackwell, London, UK.

Arruda, D.M., Schaefer, C.E.G.R., Fonseca, R.S., Solar, R.R.C., & Fernandes-Filho, E.I.

(2018) Vegetation cover of Brazil in the last 21 ka: New insights into the Amazonian refugia and Pleistocenic arc hypotheses. *Global Ecology and Biogeography*, **27**, 47–56.

Auler, A.S. & Smart, P.L. (2001) Late quaternary paleoclimate in semiarid northeastern Brazil from U-series dating of travertine and water-table speleothems. *Quaternary Research*, **55**, 159–167.

Auler, A.S., Wang, X., Edwards, R.L., Cheng, H., Cristalli, P.S., Smart, P.L., & Richards, D.A. (2004) Quarternary ecological and geomorphic changes associated with rainfall events in presently semi-arid northeastern Brazil. *Journal of Quaternary Science*, **19**, 693–701.

Avise, J.C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species.* Harvard university press, Cambridge.

Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Neigel, J.E., Reeb, C.A., & Saunders, N.C. (1987) Intraspecific Phylogeography : The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 489–522.

Avise, J.C. & Walker, D. (1998) Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **265**, 457–63.

Baird, N.A., Etter, P.D., Atwood, T.S., Currey, M.C., Shiver, A.L., Lewis, Z.A., Selker, E.U., Cresko, W.A., & Johnson, E.A. (2008) Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS ONE*, **3**, 1–7.

Barnett, J.M. & Buzzetti, D.R.C. (2014) A new species of *Cichlocolaptes* Reichenbach 1853 trace of the fading bird life of northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Ornitologia*, **22**, 75–94.

Batalha-Filho, H., Fjeldså, J., Fabre, P.-H., & Miyaki, C.Y. (2013a) Connections between the Atlantic and the Amazonian forest avifaunas represent distinct historical events. *Journal of Ornithology*, **154**, 41–50.

Batalha-Filho, H., Irestedt, M., Fjeldså, J., Ericson, P.G.P., Silveira, L.F., & Miyaki, C.Y. (2013b) Molecular systematics and evolution of the *Synallaxis ruficapilla* complex (Aves: Furnariidae) in the Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **67**, 86–94.

Batalha-Filho, H. & Miyaki, C.Y. (2016) Late Pleistocene divergence and postglacial expansion in the Brazilian Atlantic Forest: multilocus phylogeography of *Rhopias*

gularis (Aves: Passeriformes). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **54**, 137–147.

Bejerano, G., Bejerano, G., Pheasant, M., Makunin, I., Stephen, S., Kent, W.J., Mattick, J.S., & Haussler, D. (2007) Ultraconserved Elements in the Human Genome. *Science*, **1321**, 1321–1326.

Bernatchez, L. & Wilson, C.C. (1998) Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Molecular Ecology*, **7**, 431–452.

Bigarella, J.J., Andrade-Lima, D., & Riels, P.J. (1975) Considerações a respeito das mudanças paleoambientais na distribuição de algumas espécies vegetais e Animais no Brasil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **47**, 411–464.

Branstetter, M.G., Danforth, B.N., Pitts, J.P., Faircloth, B.C., Ward, P.S., Buffington, M.L., Gates, M.W., Kula, R.R., & Brady, S.G. (2017) Phylogenomic Insights into the Evolution of Stinging Wasps and the Origins of Ants and Bees. *Current Biology*, **27**, 1019–1025.

Briggs, A.W., Good, j. M., Green, R.E., Krause, J., Maricic, T., Stenzel, U., Lalueza-Fox, C., Rudan, P., Brajkovi, D., & Ku, A. (2009) Targeted Retrieval and Analysis of Five Neandertal mtDNA Genomes. *Science*, **325**, 318–321.

Brito, P.H. & Edwards, S. V. (2009) Multilocus phylogeography and phylogenetics using sequence-based markers. *Genetica*, **135**, 439–455.

Brown, J.H. & Lomolino, M. V. (1998) *Biogeography.* Sinauer Associates, Sunderland.

Brown, K.S. (1979) *Ecologia geográfica e evolução nas florestas neotropicais.* Universidade Estadual de Campinas,

Brown, W.M., George, M., & Wilson, A.C. (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **76**, 1967–1971.

Brunes, T.O., Sequeira, F., Haddad, C.F.B., & Alexandrino, J. (2010) Gene and species trees of a Neotropical group of treefrogs: Genetic diversification in the Brazilian Atlantic Forest and the origin of a polyploid species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **57**, 1120–1133.

Cabanne, G.S., Calderón, L., Trujillo-Arias, N., Flores, P., Pessoa, R.O., D'Horta, F., & Miyaki, C.Y. (2016) Pleistocene climate changes affected species ranges and evolutionary processes in the Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **119**, 856–872.

Cabanne, G.S., d'Horta, F.M., Sari, E.H.R., Santos, F.R., & Miyaki, C.Y. (2008) Nuclear

and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): Biogeography and systematics implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 760–773.

Cabanne, G.S., Santos, F.R., & Miyaki, C.Y. (2007) Phylogeography of X*iphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): Vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **91**, 73–84.

Campillo, L.C., Oliveros, C.H., Sheldon, F.H., & Moyle, R.G. (2018) Genomic data resolve gene tree discordance in spiderhunters (Nectariniidae, Arachnothera). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **120**, 151–157.

Carnaval, A.C. & Bates, J.M. (2007) Amphibian Dna Shows Marked Genetic Structure and Tracks Pleistocene Climate Change in Northeastern Brazil. *Evolution*, **61**, 2942–2957.

Carnaval, A.C., Hickerson, M.J., & Haddad, C.F.B. (2009) Stability Predicts Genetic Diversity in the Brazilian Atlantic Forest Hotspot. *Science*, **323**, 785–789.

Carnaval, A.C. & Moritz, C. (2008) Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, **35**, 1187–1201.

Carnaval, A.C., Waltari, E., Rodrigues, M.T., Rosauer, D., Vanderwal, J., Damasceno, R., Prates, I., Strangas, M., Spanos, Z., Rivera, D., Pie, M.R., Firkowski, C.R., Bornschein, M.R., Ribeiro, L.F., Moritz, C., & B, P.R.S. (2014) Prediction of phylogeographic endemism in an environmentally complex biome. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **281**, 20141461.

Cavalcanti, G.A. (1992) A dinâmica Econômica do PROÁLCOOL: acumulação e crise, 1975 - 1989. *Revista Brasileira de Energia*, **2**, 1–9.

Chakrabarty, P., Faircloth, B.C., Alda, F., Ludt, W.B., McMahan, C.D., Near, T.J., Dornburg, A., Albert, J.S., Arroyave, J., Stiassny, M.L.J., Sorenson, L., & Alfaro, M.E. (2017) Phylogenomic Systematics of Ostariophysan Fishes: Ultraconserved Elements Support the Surprising Non-Monophyly of Characiformes. *Systematic Biology*, **66**, 881–895.

Cheng, H., Sinha, A., Cruz, F.W., Wang, X., Edwards, R.L., d'Horta, F.M., Ribas, C.C., Vuille, M., Stott, L.D., & Auler, A.S. (2013) Climate change patterns in Amazonia and biodiversity. *Nature communications*, **4**, 1411.

Choi, M., Scholl, U.I., Ji, W., Liu, T., Tikhonova, I.R., Zumbo, P., Nayir, A., Bakkaloğlu,

A., Ozen, S., Sanjad, S., Nelson-Williams, C., Farhi, A., Mane, S., & Lifton, R.P. (2009) Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 19096–19101.

Colombi, V.H., Lopes, S.R., & Fagundes, V. (2010) Testing the Rio Doce as a riverine barrier in shaping the atlantic rainforest population divergence in the rodent *Akodon cursor*. *Genetics and Molecular Biology*, **33**, 785–789.

Costa, G.C., Hampe, A., Ledru, M.-P., Martinez, P.A., Mazzochini, G.G., Shepard, D.B., Werneck, F.P., Moritz, C., & Carnaval, A.C. (2018) Biome stability in South America over the last 30 kyr: Inferences from long-term vegetation dynamics and habitat modelling. *Global Ecology and Biogeography*, **27**, 285–297.

Cracraft, J. (1985) Historical Biogeography and Patterns of Differentiation within the South American Avifauna : Areas of Endemism. *Ornithological Monographs*, **36**, 49–84.

Crawford, A.J. (2003) Huge populations and old species of Costa Rican and Panamanian dirt frogs inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Ecology*, **12**, 2525–2540.

Crawford, N.G., Faircloth, B.C., McCormack, J.E., Brumfield, R.T., Winker, K., & Glenn, T.C. (2012) More than 1000 ultraconserved elements provide evidence that turtles are the sister group of archosaurs. *Biology Letters*, **8**, 783–786.

Dhorta, F.M., Cabanne, G.S., Meyer, D., & Miyaki, C.Y. (2011) The genetic effects of Late Quaternary climatic changes over a tropical latitudinal gradient: Diversification of an Atlantic Forest passerine. *Molecular Ecology*, **20**, 1923–1935.

Edwards, S. V. (2009) Is a new and general theory of molecular systematics emerging? *Evolution*, **63**, 1–19.

Edwards, S. V & Beerli, P. (2000) Perspective: gene divergence, population divergence, and the variance in coalescence time in phylogeographic studies. *Evolution; international journal of organic evolution*, **54**, 1839–1854.

Faircloth, B.C., McCormack, J.E., Crawford, N.G., Harvey, M.G., Brumfield, R.T., & Glenn, T.C. (2012) Ultraconserved elements anchor thousands of genetic markers spanning multiple evolutionary timescales. *Systematic Biology*, **61**, 717–726.

Faircloth, B.C., Sorenson, L., Santini, F., & Alfaro, M.E. (2013) A Phylogenomic Perspective on the Radiation of Ray-Finned Fishes Based upon Targeted Sequencing of Ultraconserved Elements (UCEs). *PLoS ONE*, **8**, e65923.

Fitzpatrick, S., Brasileiro, C., Haddad, C.F.B., & Zamudio, K.R. (2009) Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. *Molecular Ecology*, **18**, 2877–2896.

Galindo-Leal, C. & Câmara, I.G. (2003) Status do hotspot Mata Atlântica: uma síntese. *The Atlantic Forest of South America: Biodiversity Status, Threats, and Outlook* (ed. by C. Galindo-Leal and I.G. Câmara), pp. 3–11. Belo Horizonte.

Gascon, C., Lougheed, S.C., & Bogart, J.P. (1998) Patterns of Genetic Population Differentiation in Four Species of Amazonian Frogs : A Test of the Riverine Barrier Hypothesis. *Biotropica*, **30**, 104–119.

Geraldes, A., Pang, J., Thiessen, N., Cezard, T., Moore, R., Zhao, Y., Tam, A., Wang, S., Friedmann, M., Birol, I., Jones, S.J.M., Cronk, Q.C.B., & Douglas, C.J. (2011) SNP discovery in black cottonwood (*Populus trichocarpa*) by population transcriptome resequencing. *Molecular Ecology Resources*, **11**, 81–92.

Glenn, T.C. (2011) Field guide to next-generation DNA sequencers. *Molecular Ecology Resources*, **11**, 759–769.

Graham, C.H., Ron, S.R., Santos, J.C., Schneider, C.J., & Moritz, C. (2004) Integrating Phylogenetics and Environmental Niche Models To Explore Speciation Mechanisms in Dendrobatid Frogs. *Evolution*, **58**, 1781–1793.

Haffer, J. (1969) Speciation in Amazonian Forest Birds. *Science*, **165**, 131–137.

Haffer, J. (1997) Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: An overview. *Biodiversity and Conservation*, **6**, 451–476.

Hare, M.P. (2001) Prospects for nuclear gene phylogeography. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**, 700–706.

Harvey, M.G., Aleixo, A., Ribas, C.C., & Brumfield, R.T. (2017) Habitat Association Predicts Genetic Diversity and Population Divergence in Amazonian Birds. *The American Naturalist*, **190**, 631–648.

Harvey, M.G. & Brumfield, R.T. (2015) Genomic variation in a widespread Neotropical bird (*Xenops minutus*) reveals divergence, population expansion, and gene flow. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **83**, 305–316.

Harvey, M.G., Smith, B.T., Glenn, T.C., Faircloth, B.C., & Brumfield, R.T. (2013) Sequence Capture Versus Restriction Site Associated DNA Sequencing for Phylogeography. *arXiv preprint arXiv*, **1312.6439**, 1–53.

Hedtke, S.M., Morgan, M.J., Cannatella, D.C., & Hillis, D.M. (2013) Targeted Enrichment: Maximizing Orthologous Gene Comparisons across Deep Evolutionary

Time. *PLoS ONE*, **8**, 1–10.

Hickerson, M.J., Stahl, E., & Takebayashi, N. (2007) msBayes: pipeline for testing comparative phylogeographic histories using hierarchical approximate Bayesian computation. *BMC bioinformatics*, **8**, 268.

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 (New York, N.Y.)*, **330**, 927–31.

Hosner, P.A., Braun, E.L., & Kimball, R.T. (2016) Rapid and recent diversification of curassows, guans, and chachalacas (Galliformes: Cracidae) out of Mesoamerica: Phylogeny inferred from mitochondrial, intron, and ultraconserved element sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **102**, 320–330.

Hosner, P.A., Faircloth, B.C., Glenn, T.C., Braun, E.L., & Kimball, R.T. (2015) Avoiding missing data biases in phylogenomic inference: an empirical study in the landfowl (Aves: Galliformes). *Molecular Biology and Evolution*, **33**, 1110–1125.

IBGE (2004) Available at: https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/vegetacao/10872-vegetacao.html?=&t=acesso-ao-produto.

ICMBio (2016) *Sumário Executivo do Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção.* Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio, Brasília.

IUCN (2014) Available at: www.iucnredlist.org.

Kieran, T.J., Gordon, E.R.L., Forthman, M., Hoey-Chamberlain, R., Kimball, R.T., Faircloth, B.C., Weirauch, C., & Glenn, T.C. (2019) Insight from an ultraconserved element bait set designed for hemipteran phylogenetics integrated with genomic resources. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **130**, 297–303.

Kingman, J.F.C. (1982) The coalescent. *Stochastic Processes and their Applications*, **13**, 235–248.

Knowles, L.L. & Maddison, W.P. (2002) Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, **11**, 2623–2635.

Lara-Ruiz, P., Chiarello, A.G., & Santos, F.R. (2008) Extreme population divergence and conservation implications for the rare endangered Atlantic Forest sloth, *Bradypus torquatus* (Pilosa: Bradypodidae). *Biological Conservation*, **141**, 1332–1342.

Leache, Adam D., Chavez, A.S., Jones, L.N., Grummer, J.A., Gottscho, A.D., & Linkem,

C.W. (2015) Phylogenomics of phrynosomatid lizards: Conflicting signals from sequence capture versus restriction site associated DNA sequencing. *Genome Biology and Evolution*, **7**, 706–719.

Ledo, R.M.D. & Colli, G.R. (2017) The historical connections between the Amazon and the Atlantic Forest revisited. *Journal of Biogeography*, **44**, 2551–2563.

Ledru, M.P. (1993) Late quaternary environmental and climatic changes in central Brazil. *Quaternary*, **39**, 90–98.

Lees, A.C., Pimm, S.L., & Forest, A. (2015) Species, extinct before we know them? *Current biology*, **25**, R177–R180.

Lemmon, A.R., Emme, S.A., & Lemmon, E.M. (2012) Anchored hybrid enrichment for massively high-throughput phylogenomics. *Systematic Biology*, **61**, 727–744.

Li, H. (2013) Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv preprint arXiv*, **1303.3997**, 1–3.

Maldonado-Coelho, M. (2012) Climatic oscillations shape the phylogeographical structure of Atlantic Forest fire-eye antbirds (Aves: Thamnophilidae). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **105**, 900–924.

Maldonado-Coelho, M., Blake, J.G., Silveira, L.F., Batalha-Filho, H., & Ricklefs, R.E. (2013) Rivers, refuges and population divergence of fire-eye antbirds (*Pyriglena*) in the Amazon Basin. *Journal of evolutionary biology*, **26**, 1090–107.

Manthey, J.D., Campillo, L.C., Burns, K.J., & Moyle, R.G. (2016) Comparison of target-capture and restriction-site associated DNA sequencing for phylogenomics: a test in cardinalid tanagers (Aves, genus: *Piranga*). *Systematic Biology*, **65**, 640–650.

Martinelli, L.A. & Filoso, S. (2008) Expansion of Sugarcane Ethanol Production in Brazil : Environmental and Social Challenges. *Ecological Applications*, **18**, 885–898.

Mata, H., Suertegaray, C., Nachtigall, G., Ricardo, M., Ferreira, M., Vasconcelos, D., & Bonatto, S.L. (2009) Molecular phylogeny and biogeography of the eastern Tapaculos (Aves: Rhinocryptidae: *Scytalopus*, *Eleoscytalopus*): Cryptic diversification in Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **53**, 450–462.

McCormack, J.E., Harvey, M.G., Faircloth, B.C., Crawford, N.G., Glenn, T.C., & Brumfield, R.T. (2013a) A Phylogeny of Birds Based on Over 1,500 Loci Collected by Target Enrichment and High-Throughput Sequencing. *PLoS ONE*, **8**, e54848.

McCormack, J.E., Hird, S.M., Zellmer, A.J., Carstens, B.C., & Brumfield, R.T. (2013b)

Applications of next-generation sequencing to phylogeography and phylogenetics. *Molecular phylogenetics and evolution*, **66**, 526–538.

McCormack, J.E., Maley, J.M., Hird, S.M., Derryberry, E.P., Graves, G.R., & Brumfield, R.T. (2012) Next-generation sequencing reveals phylogeographic structure and a species tree for recent bird divergences. *Molecular phylogenetics and evolution*, **62**, 397–406.

McCormack, J.E., Tsai, & Faircloth, B.C. (2016) Sequence capture of ultraconserved elements from bird museum specimens. *Molecular Ecology Resources*, **16**, 1189–1203.

Mittermeier, R.A., Gil, P.R., Hoffmann, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C. G., Lamoreux, J., & Fonseca, G.A.B. (2005) *Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions.* CEMEX, Mexico.

Moore, W.S. (1995) Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees. *Evolution*, 718–726.

Moreira-Lima, L. (2013) *Aves da Mata Atlântica: riqueza, composição, status, endemismos e conservação.* Master Dissertation. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

Mori, S.A. (1981) *Eastern, Extra-Amazonian Brazil. Floristic inventory of tropical countries: the status of plant systematics, collections, and vegetation, plus recommendations for the future.* New York Botanical Garden, Bronx, NY, USA.

Morin, P. a, Archer, F.I., Foote, A.D., Vilstrup, J., Allen, E.E., Wade, P., Durban, J., Parsons, K., Pitman, R., Li, L., Bouffard, P., Nielsen, S.C.A., Rasmussen, M., Willerslev, E., Gilbert, M.T.P., & Harkins, T. (2008) Complete mitochondrial genome phylogeographic analysis of killer whales (*Orcinus orca*) indicates multiple species. *Genome Research*, **20**, 908–916.

Morley, R.J. (2000) *Origin and evolution of tropical rain forests.* John Wiley & Sons Ltd.,

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., & Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.

O'Neill, E.M., Schwartz, R., Bullock, C.T., Williams, J.S., Shaffer, H.B., Aguilar-Miguel, X., Parra-Olea, G., & Weisrock, D.W. (2013) Parallel tagged amplicon sequencing reveals major lineages and phylogenetic structure in the North American tiger salamander (*Ambystoma tigrinum*) species complex. *Molecular Ecology*, **22**, 111–129.

Oliveira, P.E., Barreto, a M.F., & Suguio, K. (1999) Late Pleistocene/Holocene climatic and vegetacional history of the brazilian Caatinga: the fossil dunes of the midle São Francisco River. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **152**, 319–337.

Olmos, F. (2005) Aves ameaçadas, prioridades e políticas de conservação no Brasil. *Natureza & Conservação*, **3**, 21–42.

Palacios, C., García-R, S., Parra, J.L., Cuervo, A.M., Stiles, F.G., McCormack, J.E., & Cadena, C.D. (2018) Shallow evolutionary divergence between two Andean hummingbirds: Speciation with gene flow? *bioRxiv*, 1–32.

Pellegrino, K.C.M., Rodrigues, M.T., James Harris, D., Yonenaga-Yassuda, Y., & Sites, J.W. (2011) Molecular phylogeny, biogeography and insights into the origin of parthenogenesis in the Neotropical genus *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae): Ancient links between the Atlantic Forest and Amazonia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **61**, 446–459.

Pellegrino, K.C.M., Rodrigues, M.T., Waite, A.N., Morando, M., Yassuda, Y.Y., & Sites, J.W. (2005) Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): Genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **85**, 13–26.

Pereira, G.A., Araújo, H.F.P., & Azevedo-Júnior, S.M. (2016) Distribution and conservation of three important bird groups of the Atlantic Forest in north-east Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, **76**, 1004–1020.

Pereira, G.A., Dantas, S.D.M., Silveira, L.F., Roda, S.A., Albano, C., Sonntag, F.A., Leal, S., Periquito, M.C., Malacco, G.B., & Lees, A.C. (2014) Status of the globally threatened forest birds of northeast Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)*, **54**, 177–194.

Petren, K., Grant, P.R., Grant, B.R., & Keller, L.F. (2005) Comparative landscape genetics and the adaptive radiation of Darwin's finches: The role of peripheral isolation. *Molecular Ecology*, **14**, 2943–2957.

Petri, S. & Fúlfaro, V.J. (1983) *Geologia do Brasil (Fanerozóico).* Universidade de São Paulo, São Paulo.

Pie, M.R., Faircloth, B.C., Ribeiro, L.F., Bornschein, M.R., & Mccormack, J.E. (2018) Phylogenomics of montane frogs of the Brazilian Atlantic Forest is consistent with isolation in sky islands followed by climatic stability. *Biological Journal of the Linnean Society*, **125**, 72–82.

Por, F.D. (1992) *Sooretama: The Atlantic Rain Forest of Brazil*. The Hague: SPB Academic Publishing.,

Prado, D.E. & Gibbs, P.E. (1993) Patterns of Species Distributions in the Dry Seasonal Forests of South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **80**, 902–927.

Prates, I., Melo-sampaio, P.R., Oliveira, L. De, Teixeira, M., Trefaut, M., & Carnaval, A.C. (2017) Biogeographic links between southern Atlantic Forest and western South America: Rediscovery, re-description, and phylogenetic relationships of two rare montane anole lizards from Brazil. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **113**, 49–58.

Prates, I., Riviera, D., Rodrigues, M.T., & Carnaval, A.C. (2016) A mid-Pleistocene rainforest corridor enabled synchronous invasions of the Atlantic Forest by Amazonian anole lizards. *Molecular ecology*, **25**, 5174–5186.

Ranta, P. & Blom, T.O.M. (1998) The fragmented Atlantic rain forest of Brazil : size , shape and distribution of forest fragments. *Biodiversity & Conservation*, **7**, 385–403.

Rêgo, M.A., Del-Rio, G., & Silveira, L.F. (2014) A taxonomic review of *Picumnus exilis* (Aves: Picidae) reveals an underestimation of Piculet species diversity in South America. *Journal of Ornithology*, **155**, 853–857.

Resende, H.C., Yotoko, K.S.C., Delabie, J.H.C., Costa, M.A., Campiolo, S., Tavares, M.G., Campos, L.A.O., & Fernandes-Salomão, T.M. (2010) Pliocene and Pleistocene events shaping the genetic diversity within the central corridor of the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **101**, 949–960.

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.

Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., Martensen, A.C., Ponzoni, F.J., & Hirota, M.M. (2009) The Brazilian Atlantic Forest : How much is left , and how is the remaining forest distributed ? Implications for conservation. *Biological Conservation*, **142**, 1141–1153.

Richardson, D.M. & Whittaker, R. (2010) Conservation biogeography – foundations, concepts and challenges. *Diversity and Distributions*, **16**, 313–320.

Rizzini, C.T. (1997) *Tratado de Fitogeografia do Brasil*. Ed. Âmbito Cultural, Rio de Janeiro.

Rocha, A.L., Bernal, A.M., Gaither, R.M., & Alfaro, M. (2013) Massively parallel DNA

sequencing: the new frontier in biogeography. *Frontiers of Biogeography*, **5**, 67–77.

Roda, S.A. (2003) *Aves do Centro de Endemismo Pernambuco: composição, biogeografia e conservação.* Universidade Federal do Pará,

Roda, S.A., Pereira, G.A., & Albano, C. (2011) *Conservação de aves endêmicas e ameaçadas do centro de endemismo Pernambuco.* Ed. Universitária da UFPE, Recife.

Rodal, M.J.N., Sales, M.F., & Mayo, S.J. (1998) *Florestas serranas de Pernambuco: localização e conservação dos remanescentes dos brejos de altitude, Pernambuco, Brasil.* Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Rodrigues, M.T., Bertolotto, C.E.V., Amaro, R.C., Yonenaga-Yassuda, Y., Freire, E.M.X., & Pellegrino, K.C.M. (2014) Molecular phylogeny, species limits, and biogeography of the Brazilian endemic lizard genus *Enyalius* (Squamata: Leiosauridae): An example of the historical relationship between Atlantic Forests and Amazonia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **81**, 137–146.

Ronquist, F. & Sanmartín, I. (2011) Phylogenetic Methods in Biogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **42**, 441–464.

Sá, R.O. De, Filipe, J., Tonini, R., Huss, H. Van, Long, A., Cuddy, T., Forlani, M.C., Peloso, P.L. V, Zaher, H., & Haddad, C.F.B. (2019) Multiple connections between Amazonia and Atlantic Forest shaped the phylogenetic and morphological diversity of *Chiasmocleis mehely*, 1904 (Anura: Microhylidae: Gastrophryninae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **130**, 198–210.

Sandelin, A., Bailey, P., Bruce, S., et al. (2004) Arrays of ultraconserved non-coding regions span the loci of key developmental genes in vertebrate genomes. *BMC Genomics*, **5**, 99.

Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A.R. (1977) DNA sequencing with chain-terminating. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **74**, 5463–5467.

Santos, A.M.M., Cavalcanti, D.R., Da Silva, J.M.C., & Tabarelli, M. (2007) Biogeographical relationships among tropical forests in north-eastern Brazil. *Journal of Biogeography*, **34**, 437–446.

Shendure, J. & Ji, H. (2008) Next-generation DNA sequencing. **26**, 1135–1145.

Sick, H. (1967) Rios e enchentes como obstáculo para a avifauna. *Atas do simpósio sobre a biota amazônica* (ed. by H. Lent), pp. 495–520. Conselho de Pesquisas, Rio de Janeiro.

Silva, J.M.C. & Casteleti, C.H.M. (2003) Status of the biodiversity of the Atlantic Forest

of Brazil. *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, trends, and outlook*. (ed. by C. Galindo-Leal and I.G. Câmara), Center for Applied, Washington.

Silva, J.M.C., Coelho, G., & Gonzaga, L.P. (2002) Discovered on the brink of extinction: A new species of Pygmy-Owl (Strigidae: *Glaucidium*) from Atlantic Forest of northeastern Brazil. *Ararajuba*, **10**, 123–130.

Silva, J.M.C., Sousa, M.C., & Castelletti, C.H.M. (2004) Areas of endemism for passerine birds in the Atlantic forest , South America. *Global Ecology and Biogeography*, **13**, 85–92.

Silva, J.M.C. & Tabarelli, M. (2000) Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. *Nature*, **404**, 72–74.

Silva, J.M.C. & Tabarelli, M. (2001) The Future of the Atlantic Forest in Northeastern Brazil. *Conservation Biology*, **15**, 819–820.

Silveira, L.F., Olmos, F., & Long, A.J. (2003) Birds in Atlantic Forest fragments in north-east Brazil. *Cotinga*, **20**, 32–46.

Silveira, L.F., Olmos, F., & Long, A.J. (2004) Taxonomy, history, and status of Alagoas Curassow *Mitu mitu* (Linnaeus, 1766), the world's most threatened cracid. *Ararajuba*, **12**, 125–132.

Smith, B.T., Harvey, M.G., Faircloth, B.C., Glenn, T.C., & Brumfield, R.T. (2014a) Target capture and massively parallel sequencing of ultraconserved elements for comparative studies at shallow evolutionary time scales. *Systematic Biology*, **63**, 83–95.

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. (2014b) The drivers of tropical speciation. *Nature*, **515**, 406–409.

Sobral-Souza, T., Lima-Ribeiro, M.S., & Solferini, V.N. (2015) Biogeography of Neotropical Rainforests: past connections between Amazon and Atlantic Forest detected by ecological niche modeling. *Evolutionary Ecology*, **29**, 643–655.

Stephen, S., Pheasant, M., Makunin, I. V., & Mattick, J.S. (2008) Large-scale appearance of ultraconserved elements in tetrapod genomes and slowdown of the molecular clock. *Molecular Biology and Evolution*, **25**, 402–408.

Tabarelli, M., Aguiar, A.V., Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., & Peres, C.A. (2010) Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest: Lessons from aging human-modified landscapes. *Biological Conservation*, **143**, 2328–2340.

Tabarelli, M., Siqueira-Filho, J.A., & Santos, A.M.M. (2006) Conservação da Floresta Atlântica ao Norte do Rio São Francisco. *Biodiversidade Biológica e Conservação da Floresta Atlântica ao Norte do Rio São Francisco* pp. 41–48.

Teixeira, D. & Gonzaga, L.P. (1983a) Um novo Furnariidae do nordeste do Brasil: *Philydor novaesi* sp. nov. (Aves, Passeriformes). *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia*, **124**, 1–22.

Teixeira, D.M. & Gonzaga, L.P. (1983b) A new antwren from northeastern Brazil. *Bulletin of the British Ornithologists' Club*, **103**, 133–135.

Teixeira, D.M., Nacinovic, J.B., & Tavares, M.S. (1986) Notes on some birds of northeastern Brazil. *British Ornithologists' Club*, **106**, 70–74.

Teixeira, D.M., Nacinovic, J.B., & Tavares, M.S. (1987) Notes on some birds of northeastern Brazil (2). *Bulletin of the British Ornithologists' Club*, **107**, 151–157.

Tello, J.G., Raposo, M., Bates, J.M., Bravo, G.A., Cadena, C.D., & Maldonado-Coelho, M. (2014) Reassessment of the systematics of the widespread Neotropical genus *Cercomacra* (Aves: Thamnophilidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **170**, 546–565.

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.

Thom, G., Amaral, F.R. Do, Hickerson, M.J., Aleixo, A., Araujo-Silva, L.E., Ribas, C.C., Choueri, E., & Miyaki, C.Y. (2018) Phenotypic and Genetic Structure Support Gene Flow Generating Gene Tree Discordances in an Amazonian Floodplain Endemic Species. *Systematic Biology*, **67**, 700–718.

Thomé, M.T.C. & Carstens, B.C. (2016) Phylogeographic model selection leads to insight into the evolutionary history of four-eyed frogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **113**, 8010–8017.

Thomé, M.T.C., Sequeira, F., Brusquetti, F., Carstens, B., Haddad, C.F.B., Rodrigues, M.T., & Alexandrino, J. (2016) Recurrent connections between Amazon and Atlantic forests shaped diversity in Caatinga four-eyed frogs. *Journal of Biogeography*, **43**, 1045–1056.

Thomé, M.T.C., Zamudio, K.R., Giovanelli, J.G.R., Haddad, C.F.B., Baldissera, F.A., & Alexandrino, J. (2010) Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*,

55, 1018–1031.

Thomé, M.T.C., Zamudio, K.R., Haddad, C.F.B., & Alexandrino, J. (2014) Barriers, rather than refugia, underlie the origin of diversity in toads endemic to the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular ecology*, **23**, 6152–6164.

Tyler, H., Brown, K.S.J., & Wilson, K. (1994) *Swallowtail butterflies of the Americas. A study in biological dynamics, ecological diversity, biosystematics and conservation.* Scientific Publishers, Gainesville.

Vanzolini, P.E. (1981) A quasi-historical approach to the natural history of the differentiation of reptiles in tropical geographic isolates. *Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)*, **39**, 189–204.

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**, 1–124.

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

Wege, D.C. & Long, A.J. (1995) *Key areas for threatened birds in the Neotropics.* BirdLife International, Cambridge:

Whittaker, R.J., Araujo, M.B., Jepson, P., Ladle, R.J., Watson, J.E.M., & Willis, K.J. (2005) Conservation biogeography: asessment and prospect. *Diversity and Distributions*, **11**, 3–23.

Woolfe, A., Goodson, M., Goode, D.K., Snell, P., McEwen, G.K., Vavouri, T., Smith, S.F., North, P., Callaway, H., Kelly, K., Walter, K., Abnizova, I., Gilks, W., Edwards, Y.J.K., Cooke, J.E., & Elgar, G. (2005) Highly conserved non-coding sequences are associated with vertebrate development. *PLoS Biology*, **3**, e7.

Zarza, E., Faircloth, B.C., Tsai, W.L.E., Bryson Jr, R.W., Klicka, J., & Mccormack, J.E. (2016) Hidden histories of gene flow in highland birds revealed with genomic markers. *Molecular Ecology*, **25**, 5144–5157.

Zink, R.M. & Barrowclough, G.F. (2008) Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Molecular Ecology*, **17**, 2107–2121.