Francisco Humberto Dal Vechio Filho

Filogenia e revisão sistemática das espécies de *Bothrops*
do grupo *jararacussu* (Serpentes, Crotalinae), com teste
de hipóteses biogeográficas para a existência de contato
florestal pretérito Amazônia-Mata Atlântica

Phylogeny and systematics of *jararacussu* species group
of *Bothrops* (Serpentes, Crotalinae), with test of
biogeographic hypothesis to the past connection
Amazonia-Atlantic Forest

São Paulo

2019

Francisco Humberto Dal Vechio Filho

Filogenia e revisão sistemática das espécies de *Bothrops*
do grupo *jararacussu* (Serpentes, Crotalinae), com teste
de hipóteses biogeográficas para a existência de contato
florestal pretérito Amazônia-Mata Atlântica

Phylogeny and systematics of *jararacussu* species group
of *Bothrops* (Serpentes, Crotalinae), with test of
biogeographic hypothesis to the past connection
Amazonia-Atlantic Forest

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

Orientador: Miguel Trefaut Rodrigues

São Paulo

2019

Ficha Catalográfica

Dal Vechio Filho, Francisco Humberto
Filogenia e revisão sistemática das espécies de
Bothrops do grupo *jararacussu* (Serpentes,
Crotalinae), com teste de hipóteses
biogeográficas para a existência de contato
florestal pretérito Amazônia-Mata Atlântica
179 páginas

Tese (Doutorado) - Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Zoologia.

1. Biogeografia, 2. Filogeografia, 3.
Taxonomia. I. Universidade de São Paulo.
Instituto de Biociências. Departamento de
Zoologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a)

Prof. Dr. Orientador: Miguel Trefaut Rodrigues

Dedicatória

Dedico todo meu empenho e comprometimento
à minha amada esposa
ao meu precioso pai
e à minha fenomenal irmã.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a minha família pelo suporte e pelo amor que sempre recebi. Agradeço todos os dias pela minha esposa maravilhosa que tanto amo. Thay sem você não teria chegado até aqui, obrigado por trilhar o caminho ao meu lado e pelo amor, carinho e respeito que cultivamos. Agradeço ao meu pai e à minha irmã que se dedicam em me fazer feliz e estão ao meu lado em todos os momentos. Vocês são os meus exemplos de vida, amo muito vocês. Agradeço à minha nova família: minha sogra, vovó-sogra e meu sogro que me dão muito apoio e amor.

Agradeço ao Miguel por me receber no Lab, lá em 2010, e por ter confiado no meu trabalho. Obrigado pelos ensinamentos e pela oportunidade única de trabalhar com o grupo de espécies que amo. Gostaria de agradecer o companheirismo de todos os amigos e do pessoal do Lab que sempre me ajudaram, em especial tenho um carinho e uma gratidão enorme ao Recoder, Ivan e Marcão por me estimularem na pesquisa com discussões críticas de como fazer um bom trabalho. Ivan, te agradeço demais pela ajuda e co-autoria durante o período de Doutorado.

Agradeço a todas as instituições, pesquisadores e curadores que me ajudaram com material para as análises moleculares e morfológicas, e por terem me recebido com excelência durante as visitas às coleções biológicas.

Não poderia deixar de agradecer ao auxílio financeiro da FAPESP, que desde o início da minha carreira acadêmica tem apoiado a minha pesquisa. Agradeço também a FAPESP, Capes e o CNPq pelo auxílio financeiro que tem possibilitado coletar material biológico em campo e aquisição de itens laboratoriais para a realização de diversas pesquisas com répteis e anfíbios em nosso laboratório.

Índice

Introdução Geral	07
Capítulo 1. Estudo da diversificação das espécies do grupo <i>jararacussu</i>	16
Capítulo 2. Nova espécie de <i>Bothrops</i> do grupo <i>jararacussu</i>	52
Capítulo 3. Demografia histórica de <i>Bothrops bilineatus</i>	85
Capítulo 4. Filogeografia de <i>Bothrops</i> do grupo <i>atrox</i> e <i>Crotalus durissus</i> : estudo sobre o dinamismo histórico das paisagens do Neotrópico	120
Discussão Geral e Conclusões	150
Resumo	159
Abstract	161
Biografia	163
Anexos	167

Introdução Geral

A família Viperidae é representada por três sub-famílias: Viperinae possuindo 102 espécies; Azemiopinae duas, e Crotalinae, a mais diversa, 243 espécies (Uetz, 2019). *Bothrops* é um dos 12 gêneros de crotalíneos com ocorrência no novo mundo, distribuindo-se por diversos ambientes da América Central e do Sul, inclusive em ilhas oceânicas (Campbell & Lamar 2004). Quarenta e cinco espécies estão alocadas em seis grupos distintos: *alternatus*, *jararaca*, *neuwiedi*, *atrox*, *taeniatus* e *jararacussu* (*sensu* Wuster *et al.*, 2002; Fenwick *et al.*, 2009; Dal Vechio *et al.*, 2018).

A literatura de *Bothrops* tem se mantido aquecida nos últimos anos, com hipóteses filogenéticas (Fenwick *et al.*, 2009; Carrasco *et al.*, 2012; Alencar *et al.*, 2016), descrições de novas espécies (Da Silva & Rodrigues, 2008; Folleco-Fernandez, 2010; Barbo *et al.*, 2012, 2016; Dal Vechio *et al.*, em preparação) e estudos filogenéticos e biogeográficos (Machado *et al.*, 2012; Dal Vechio *et al.*, 2018; Dal Vechio *et al.*, aceito). Contudo, os trabalhos genéticos têm, recorrentemente, recuperado diversidade críptica e dificuldades na delimitação de espécies para os grupos: *jararaca*, *neuwiedi*, *taeniatus* e *jararacussu* (Grazziotin *et al.*, 2006; Machado *et al.*, 2012; Dal Vechio *et al.*, 2018; Dal Vechio *et al.*, aceito), realçando a necessidade de um aprofundamento sistemático e estudos que investiguem sua diversificação.

Dentre as espécies em *Bothrops* cuja taxonomia e relações filogenéticas são ainda pouco conhecidas estão os membros do grupo *jararacussu*. Nesse grupo, o status taxonômico de populações isoladas na mata atlântica e populações com variação fenotípica pela Amazônia é incerto (Cunha & Nascimento, 1975, 1978, 1993; Campbell & Lamar, 2004). Além disso, permanece como não testado o posicionamento

filogenético de *B. pirajai*, *B. muriciensis* e *B. sanctaecrucis*, espécies alocadas no grupo com base em caracteres morfológicos (Amaral, 1923; Hoge, 1953; Ferrarezzi & Freire, 2001), enquanto que os dados genéticos confirmam a relação de irmandade entre *B. brazili* e *B. jararacussu* (Fenwick *et al.*, 2009, Carrasco *et al.*, 2012, Alencar *et al.*, 2016; Dal Vechio *et al.*, 2018).

As espécies do grupo *jararacussu* são caracterizadas por possuírem hábitos terrestres e serem exclusivas de áreas florestadas de baixas altitudes, até 700m (Campbell & Lamar, 2004). *Bothrops brazili* é amplamente distribuída pelas terras baixas da Amazônia cis-Andina, em ambientes de mata primária não alagada, apresentando marcada variação fenotípica entre populações ao norte e ao sul do Rio Amazonas (Cunha & Nascimento, 1975, 1978, 1993).

Já *Bothrops jararacussu*, *B. pirajai* e *B. muriciensis* ocorrem na Mata Atlântica brasileira, sendo as duas últimas com distribuição restrita ao corredor central na Bahia (sul de Elísio Medrado até Ilhéus) e à Estação Ecológica de Murici, Alagoas, no corredor norte, respectivamente. *Bothrops jararacussu* distribui-se do extremo sul da Bahia (em áreas de planalto) até o norte do Rio Grande do Sul, ocorrendo nas florestas interioranas semidecíduais de São Paulo, Paraná e Santa Catarina, adentrando continentalmente pelo nordeste da Argentina, em Misiones, leste do Paraguai e sul/oeste do Mato Grosso do Sul, com registro impreciso para o sul da Bolívia, ocorrendo também em algumas ilhas da plataforma continental de São Paulo. Por último, *Bothrops sanctaecrucis* é endêmica da Bolívia, das florestas úmidas de montanha de baixas altitudes (Ferrarezzi & Freire, 2001; Campbell & Lamar, 1989, 2004; Argôlo, 2004; Harvey *et al.*, 2005, Freitas, 2008).

O grupo *jararacussu* ganha interesse biogeográfico a nível continental, por ter suas espécies distribuídas de forma disjunta Amazônia – Mata Atlântica. Conexão

florestal pretérita entre esses dois domínios é citada para diferentes grupos da fauna e flora (Aves: Cabanne *et al.*, 2008, Batalha-Filho *et al.*, 2013; Mamíferos: Vivo, 1997; Costa, 2003; Lagartos: Pellegrino *et al.*, 2011, Prates *et al.*, 2016a,b, 2017; Anuros: Fouquet *et al.*, 2012; Serpentes: Zamudio & Green, 1997; Dal Vechio *et al.*, 2018; Plantas: Martini *et al.*, 2007) e que para alguns casos pode ser explicada no contexto da teoria de refúgios florestais (Haffer, 1969), associada com as mudanças climáticas do Quaternário. Essa teoria sugere que durante períodos frios e secos, as florestas Neotropicais se retraíam, ao passo que nos períodos quentes e úmidos elas se expandiriam, possibilitando o contato físico entre Amazônia e a Mata Atlântica, favorecendo o intercâmbio faunístico entre elas (Haffer, 1969).

Entre os possíveis contatos florestais que poderiam ter ocorrido por diferentes rotas geográficas e períodos temporais é sugerido um contato mais antigo, durante o Mioceno (entre 23 – 5 milhões de anos atrás), pela parte sudoeste da Amazônia (Rondônia, norte do atual Chaco no estado do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, leste da Bolívia e norte-leste do Paraguai) com a região oeste da Mata Atlântica da Bacia do Paraná (Batalha-Filho *et al.*, 2013, Ledo & Colli, 2017; Prates *et al.*, 2017). Outro, mais recente (Plio/Pleistoceno – últimos 5 milhões de anos), teria ocorrido através da expansão de áreas florestadas pela Caatinga e pelo Cerrado norte, ou mesmo pela costa nordeste do Brasil (Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco) (Costa 2003, Batalha-Filho *et al.*, 2013; Prates *et al.*, 2016a,b; Dal Vechio *et al.*, 2018). Ambas as vias de contato são plausíveis de terem ocorrido no caso do grupo jararacussu: (1) pelo nordeste brasileiro, uma vez que *Bothrops muriciensis* assemelha-se morfológicamente *B. brazili* e (2) pelo sudoeste amazônico devido às semelhanças encontradas entre *B. sactaecrucis* e *B. brazili*. *Bothrops jararacussu* e *B. pirajai* se

assemelham morfológicamente entre si e poderiam ter origem em qualquer uma das áreas geográficas ocupadas atualmente por essas duas linhagens.

Desse modo, para se investigar o dinamismo das paisagens Neotropicais ao longo do tempo, com teste de hipótese biogeográfica para conexão e fragmentação florestal pretérita entre Amazônia e Mata Atlântica, torna-se crucial o estudo da demografia populacional histórica das espécies do grupo *jararacussu*. Além disso, uma análise comparativa com a história evolutiva de *Bothrops bilineatus* e *B. atrox-B.leucurus*, que ocorrem em simpatria com as espécies do grupo *jararacussu*, num padrão de distribuição geográfica semelhante, apresentando similar preferência ecológica por ambientes florestados (Campbell & Lamar, 2004), pode fornecer evidências acerca do tempo histórico, rotas geográficas e direcionalidade para o intercâmbio faunístico entre esses blocos florestados. Adicionalmente, o teste complementar, que considera a perda de conectividade florestal Amazônia-Mata Atlântica e estabilização da diagonal sul-americana de áreas abertas, dar-se-ia a partir da análise da assinatura genética da dinâmica populacional de *Crotalus durissus*, espécie exclusiva de ambientes abertos e amplamente distribuída no Cerrado e Caatinga.

Assim os objetivos gerais dessa tese são:

1. Testar a validade das espécies do grupo *jararacussu*, assim como a relação de parentesco entre elas, apresentando uma hipótese filogenética para o grupo, estimando a data de divergência entre as linhagens e elucidando seu padrão de diversificação;
2. Testar os efeitos da fragmentação de um suposto corredor florestal pretérito para a diversificação de linhagens que atualmente ocorram em distribuição relictual Amazônia e Mata Atlântica, utilizando-se de datação molecular e dados filogeográficos para as espécies de crotalíneos exclusivos de ambientes

florestados: *Bothrops bilineatus*, *Bothrops* do grupo *jararacussu*, *Bothrops* do grupo *atrox* (*B. atrox* e *B. leucurus*);

3. Testar complementarmente os efeitos da aridificação pretérita no clima regional para a expansão recente de *Crotalus durissus* pelas áreas abertas do Cerrado e da Caatinga, utilizando dados filogeográficos, parâmetros demográficos e datação molecular.

Referências Bibliográficas

- Alencar, L. R. V., T. Quental, F. Grazziotin, M. Alfaro, M. Martins, M. Venzon, and H. Zaher. (2016). Diversification in vipers: phylogenetic relationships, time of divergence, and shifts in speciation rates. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 105, 50–62.
- Amaral, A. (1923). New genera and species of snakes. *Proc. New England Zool. Club*, 8, 85–105.
- Argôlo, A. J. S. (2004). As serpentes dos cacauais do sudeste da Bahia. Ilhéus, Bahia, Brasil: Editora da UESC. p.259.
- Barbo, F. E., Gasparini, J. L., Almeida, A. P., Zaher, H., Grazziotin, F. G., Gusmão, R. B., Ferrarini, J. M. G. & Sawaya, R. J. (2016). Another new and threatened species of lancehead genus *Bothrops* (Serpentes, Viperidae) from Ilha dos Franceses, Southeastern Brazil. *Zootaxa*, 4097 (4), 511–529.
- Barbo, F. E., Grazziotin, F. G., Sazima, I., Martins, M. & Sawaya, R. J. (2012). A new and threatened insular species of lancehead from southeastern Brazil. *Herpetologica*, 68, 418–429.
- Batalha-Filho, H., Fjeldsa, J., Fabre, P. H. & Miyaki, C. Y. (2013). Connections between the Atlantic and the Amazonian forest avifaunas represent distinct historical events. *Journal of Ornithology*, 154, 41–50.

- 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 systematic implications. *Molecular Phylogeny and Evolution*, 49, 760–773.
- Campbell, J. A. & Lamar, W. W. (2004). The venomous reptiles of the western hemisphere. Ithaca: Cornell University Press, New York. 870p.
- Carrasco, P. A., Manttoni, C. I., Leynaud, G. C. & Scrocchi, G. J. (2012). Morphology, phylogeny and taxonomy of South American bothropoid pitvipers (Serpentes, Viperidae). *Zoologica Scripta*, 41, 109–124.
- Costa, L. P. (2003). The historical bridge between the Amazon and the Atlantic forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography*, 30, 71–86.
- Cunha, O. R. & Nascimento F. P. (1978). Ofídios da Amazônia. X. As cobras da região leste do Pará. *Publicações Avulsas do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém*, 31, 1–218.
- Cunha, O. R. & Nascimento, F. P. (1975). Ofídios da Amazônia. VII. As serpentes do gênero *Bothrops* (jararaca) e *Lachesis* (surucucu) da região leste do Pará. (Ophidia, Viperidae). *Boletins do Museu Paraense Emílio Goeldi*, 83, 1–42.
- Cunha, O. R. & Nascimento, F. P. (1993). Ofídios da Amazônia. 10. As cobras da região leste do Pará. *Boletins do Museu Paraense Emílio Goeldi*, 9 (I), 1–191.
- Da Silva, V. X. & Rodrigues, M. T. (2008). Taxonomic revision of the *Bothrops neuwiedicomplex* (Serpentes, Viperidae) with description of a new species. *Phyllomedusa*, 7, 45–90.
- Dal Vechio, F., Prates, I., Graziotin, F. G., Zaher, H. & Rodrigues, M. T. (2018). Phylogeography and historical demography of the arboreal pit viper *Bothrops*

bilineatus (Serpentes, Crotalinae) reveal multiple connections between Amazonian and Atlantic rain forests. *Journal of Biogeography*, 2018, 1–12.

Dal Vechio, F., Prates, I., Grazziotin, F. G., Zaher, H. Graboski, R. & Rodrigues, M. T. (Accepted). Rainforest shifts through time and riverine barriers shaped the diversification of the terrestrial South American pit vipers in the *Bothrops jararacussu* species group. *Journal of Biogeography*.

Fenwick, A. M., Gutberlet, R. L., Jr, Evans, J. A. & Parkinson, C. L. (2009). Morphological and molecular evidence for phylogeny and classification of South American pitvipers, genera *Bothrops*, *Bothriopsis*, and *Bothrocophias* (Serpentes: Viperidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 156, 617–640.

Ferrarezzi, H. & Freire, E. M. X. (2001). New species of *Bothrops* Wagler, 1824, from the Atlantic forest of northeastern Brazil (Serpentes, Viperidae, Crotalinae). *Boletim do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 440, 1–10.

Folleco-Fernández, A. J. (2010). Taxonomía del complejo *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae) en el sudoeste de Colombia. revalidación de la especie *Bothrops rhombeatus* (García 1896) y descripción de una nueva especie. *Revista Novedades Colombianas*, 10(1), 33–70.

Fouquet, A., Recoder, R., Teixeira Jr, M., Cassimiro, J., Amaro, R. C., Camacho, A., Damasceno, R., Carnaval, A. C., Moritz, C. & Rodrigues, M. T. (2012). Molecular phylogeny and morphometric analyses reveal deep divergence between Amazonia and Atlantic Forest species of *Dendrophryniscus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 66, 826–838.

Freitas, M. A. (2008). Distribuição geográfica, história natural e avaliação do status de conservação da jaracuçu-tapete, *Bothrops pirajai* Amaral, 1923. Dissertação.

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

- Harvey, M. B., Aparicio, J. & Gonzales, L. (2005). Revision of the venomous snakes of Bolivia: Part II. The pitvipers (Serpentes: Viperidae). *Annals of Carnegie Museum*, 74, 1–37.
- Hoge, A. R. (1953). A new Bothrops from Brazil - Bothrops brazili, sp. nov. *Memórias do Instituto Butantan*, 25, 15–21.
- Machado, T., Silva, V. X. & Silva, M. J. J. (2014). Phylogenetic relationships within *Bothrops neuwiedi* group (Serpentes, Squamata): Geographically highly-structured lineages, evidence of introgressive hybridization and Neogene/Quaternary diversification. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 71, 1–14.
- Ledo, R. M. D. & Colli, G. R. (2017). The historical connections between the Amazon and the Atlantic Forest revisited. *Journal of Biogeography*, 2017, 1–13.
- Martini, A. M. Z., Fiaschi, P., Amorim, A. M. & Paixão, J. M. (2007). A hot-point within a hot-spot: a high diversity site in Brazil's Atlantic Forest. *Biodiversity and Conservation*, 16, 3111–3128.
- Pellegrino, K. M. C., Rodrigues, M. T., Harris, D. J., Yonenaga-Yassuda, Y. & Sites, J. S. Jr. (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 Phylogenetic and Evolution*, 61, 446–459.
- Prates I., Xue A. T., Brown J. L., Alvarado-Serrano D. F., Rodrigues M. T., Hickerson M. J., Carnaval A. C. (2016b). Inferring responses to climate dynamics from historical demography in neotropical forest lizards. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(29), 7978–7985.
- Prates, I., Melo-Sampaio, P. R., Drummond, L. O., Teixeira Jr., M., Rodrigues, M. T. & 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. doi:10.1016/j.ympev.2017.05.009

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

Uetz, P. (2019). Reptile data base. Disponível em <http://www.reptile-database.org/db-info/taxa.html#Ser> (acesso em 20 de janeiro de 2019).

Vivo, M. (1997). Mammalian evidence of historical ecological change in the Caatinga semiarid vegetation of northeastern Brazil. *Journal of Computational Biology*, 2, 65-73.

Wüster, W., Salomão, M. G., Quijada-Mascarenãs, J. A., Thorpe, R. S. & BBBSP (2002). Origins and evolution of the South American pitvipers fauna: evidence from mitochondrial DNA sequence analysis. In: G. W. Schuett, M. Höggren, M. E. Douglas & H. W. Greene (Eds) *Biology of the Vipers*. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing, pp. 111– 129.

Zamudio, K. R. & Greene, H. W. (1997). Phylogeography of the bushmaster (*Lachesis muta*: Viperidae): implications for neotropical biogeography, systematics, and conservation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 62, 421–442.

Conclusões

Usando uma abordagem multi-locus, os dados filogenéticos e de demografia histórica suportam múltiplos pulsos de fragmentação e expansão florestal nos últimos 2.5 milhões de anos, com contato físico entre a Amazônia e a Mata Atlântica e intercâmbio de fauna em ambas as direções. As análises de cenários históricos ainda suportam pulsos de fragmentação e expansão de abertas na América do Sul em sincronia temporal e espacial com os eventos paleobiogeográficos encontrados para as áreas florestadas. Adicionalmente, os resultados de demografia populacional elucidam o papel dos rios amazônicos na diversificação da fauna, sugerindo que a formação e estabilização do Rio Amazonas atuou como uma barreira vicariante na separação de populações de serpentes amazônicas e tem atuado nos dias atuais como uma barreira para fluxo gênico. Por último, as análises moleculares e delimitação de linhagens evolutivas independentes apontam para problemas taxonômicos no reconhecimento do limite específico e diversidade críptica em *Crotalus durissus* e nos diversos grupos de espécies em *Bothrops* aqui estudados, sendo imprescindíveis revisões sistemáticas integrando-se dados moleculares com os de morfologia externa.

Referências Bibliográficas

- Aleixo, A. (2004) Historical diversification of a terra-firme forest bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution* 58, 1303–1317.
- 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). Palaeoenvironments in semi-arid northeastern Brazil inferred from high precision mass spectrometric speleothem and travertineages and the dynamics of South American rainforests. *Speleogenesis and Evolution of Karst Aquifers*, 2, 1–4.
- Batalha-Filho, H., Fjeldsa, J., Fabre, P. H. & Miyaki, C. Y. (2013). Connections between the Atlantic and the Amazonian forest avifaunas represent distinct historical events. *Journal of Ornithology*, 154, 41-50.
- Boubli, J. P., Ribas, C., Alfaro, J. W. L., Alfaro, M. E., da Silva, M. N. F., Pinho, G. M. & Farias, I. P. (2015). Spatial and temporal patterns of diversification on the Amazon: A test of the riverine hypothesis for all diurnal primates of Rio Negro and Rio Branco in Brazil. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82, 400–412.
- Cracraft, J. 1985 Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American avifauna: areas of endemism. *American Ornithological Society*, 36, 49–84.
- Czaplewski, N. J. & Cartelle, C. (1998). Pleistocene bats from cave deposits in Bahia, Brazil. *Journal of Mammalogy*, 79, 784–803.

- Dal Vechio, F., Prates, I., Grazziotin, F. G., Zaher, H. & Rodrigues, M. T. (2018). Phylogeography and historical demography of the arboreal pit viper *Bothrops bilineatus* (Serpentes, Crotalinae) reveal multiple connections between Amazonian and Atlantic rain forests. *Journal of Biogeography*, 2018, 1–12. doi: 10.1111/jbi.13421
- Dal Vechio, F., Prates, I., Grazziotin, F. G., Zaher, H. Graboski, R. & Rodrigues, M. T. (2019 Accepted). Rainforest shifts through time and riverine barriers shaped the diversification of the terrestrial South American pit vipers in the *Bothrops jararacussu* species group. *Journal of Biogeography*.
- Dever, L., Fontes, J. C. & Richè, G. (1987). Isotopic approach to calcite dissolution and precipitation in soils under semi-arid conditions. *Chemical Geology*, 66, 307–314.
- Gehara, M, Garda, A. A, Werneck, F. P., et al. (2017) Estimating synchronous demographic changes across populations using hABC and its application for a herpetological community from northeastern Brazil. *Molecular Ecology*, 26, 4756–4771. <https://doi.org/10.1111/mec.14239>
- Hartwig, W. C. & Cartelle, C. (1996). A complete skeleton of the giant South American primate *Protopithecus*. *Nature*, 381, 307–311.
- Heyes, F. E. & Sewlal, J. N. (2004). The Amazon River as a dispersal barrier to passerine birds: effects of river width, habitat and taxonomy. *Journal of Biogeography*, 31, 1809–1818.
- Hoorn, C., Bogotá-A, G. R., Romero-Baez, M., Lammertsma, E. I., Flantua, S. G. A., Dantas, E. L., Dino, R., Carmo, D. A. & Chemale-Jr, F. (2017). e Amazon at sea: Onset and stages of the Amazon River from a marine record, with special reference to Neogene plant turnover in the drainage basin. *Global and Planetary Change*, 153, 51–65.

- 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. C., Riff, D., Negri, F. R., Hooghiemstra, H., Lundberg, J., Stadler, T., Särkinen, T. & Antonelli, A. (2010) Amazonia through time: andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330, 927–931.
- Ledo, R. M. D. & Colli, G. R. (2017). The historical connections between the Amazon and the Atlantic Forest revisited. *Journal of Biogeography*, 2017, 1–13. doi:10.1111/jbi.13049
- Oliveira, P. E., Barreto, A. M. F. & Suguio, K. (1999) Late Pleistocene/Holocene climatic and vegetational history of the Brazilian caatinga: the fossil dunes of the middle São Francisco River. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 152, 319–337.
- Pomara, L.Y., Ruokolainen, K. & Young, K. R. (2014). Avian species composition across the Amazon River: the roles of dispersal limitation and environmental heterogeneity. *Journal of Biogeography*, 41, 784–796.
- Pôrto, K. C., Cabral, J. J. P. & Tabarelli, M. (2004). Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. 324pp.
- Prates, I., Melo-Sampaio, P. R., Drummond, L. O., Teixeira Jr., M., Rodrigues, M. T. & 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. doi:10.1016/j.ympev.2017.05.009

- Prates, I., Rivera, 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.
- Quijada-Mascareñas JA, Fergunson JE, Pook CE, Salomão MG, Thorpe RS & Wüster W. (2007). Phylogeographic patterns of trans-Amazonian biogeography: the neotropical rattlesnake (*Crotalus durissus* complex) as an example. *Journal of biogeography* 34, 1296–1312.
- 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*, 279, 681–689.
- Silva, J. M. C., Rylands, A. B. & Fonseca, G. A. B. 2005. The fate of Amazonian areas of endemism. *Conservation Biology*, 19, 689–694. (doi:10.1111/j.1523-1739.2005.00705.x)
- Wallace, A. R. (1852). On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 20, 107–110.
- Wang, X., Auler, A. S., Edwards, R. L., Cheng, H., Cristalli, P. S., Smart, P. L., Richards, D. A. & Shen, C. C. (2004). Wet periods in northeastern Brazil over the past 210kyr linked to distant climate anomalies. *Nature*, 432, 740–743.
- Wüster, W., Ferguson, J. E., Quijada-Mascareñas, J. A., Pook, C. E., Salomão, M. G. & Thorpe, R. S. (2005) Tracing the invasion: landbridges, refugia and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus durissus*). *Molecular Ecology*, 14, 1095–1108.
-

Resumo

O contato pretérito Amazônia-Mata Atlântica vem sendo recorrentemente citado na literatura para diversos grupos da fauna Neotropical e teria ocorrido por diferentes rotas geográficas e períodos temporais. Segundo esta hipótese, em períodos quentes e úmidos as florestas se expandiram provocando retração/fragmentação das áreas abertas, ao passo que em períodos frios e secos, o inverso ocorreria. Assim, utilizando-se de crotalíneos como modelo, esta tese pretende: (1) testar o pretérito contato Amazônia-Mata Atlântica, assim como o tempo de separação entre as linhagens relictuais nesses ambientes florestados, elucidando a história demográfica das espécies de *Bothrops* do grupo *jararacussu*, do grupo *atrox* e de *B. bilineatus*; (2) paralelamente *Crotalus durissus*, espécie associada à diagonal de áreas abertas da América do Sul (Caatinga, Cerrado e Chaco), foi utilizada para testar a ocorrência de expansão desses ambientes, o que levaria a quebra da hipotetizada ponte florestada Amazônia-Mata Atlântica. Através de *dataset* multi-locus sob Inferência Bayesiana (quatro genes mitocondriais e cinco nucleares) foram testadas as relações filogenéticas e filogeográficas entre as amostras em *Bothrops* e *Crotalus*. Cenários históricos alternativos foram testados com base em simulações coalescentes e ABC (approximate Bayesian computation). Adicionalmente, foi empregado teste de delimitação de linhagens evolutivas para o reconhecimento da diversidade, a nível de espécie, em cada grupo estudado, usando a implementação Bayesiana do algoritmo *Generalized Mixed Yule-Coalescent*. Os resultados filogenéticos e análises de delimitação de espécies indicam diversidade críptica para os grupos *jararacussu*, *atrox* e *taeniatus*. Os testes de cenários históricos sugerem (1) múltiplas conexões florestais Amazônia-Mata Atlântica nos últimos 2.5 milhões de anos, com intercâmbio faunístico em ambas as direções e (2) expansão das

áreas abertas do Cerrado e Caatinga em sincronia temporal com perda de conectividade florestal Amazônia–Mata Atlântica durante o Pleistoceno tardio (3) que a formação e estabilização do Rio Amazonas teve influência na diversificação do grupo *jararacussu*, gerando diversidade. Os resultados trazem informações sobre o dinamismo histórico das paisagens florestadas e abertas no Neotrópico ao longo do tempo, assim como o papel dos rios amazônicos na diversificação da fauna. Adicionalmente, os resultados apontam para instabilidade taxonômica e diversidade críptica em diversos grupos em *Bothrops* e em *Crotalus durissus*, revelando a necessidade do aprofundamento sistemático para essas serpentes venenosas de importância médica.

Abstract

The hypothesized historical contact Amazon-Atlantic Forest has been recurrently cited in the literature for several groups of Neotropical fauna and would have occurred by different geographic routes and time periods. According to this hypothesis, in hot and humid periods the forests expanded causing retraction / fragmentation of the open areas, while in cold and dry periods, the reverse would occur. Thus, by using Neotropical pit vipers as a model, this thesis aims to: (1) test the historical forest contact Amazon-Atlantic Forest, as well as the time of separation between relict lineages in these forested environments, elucidating the demographic history of *Bothrops* species from *jararacussu* group, *atrox* group and *B. bilineatus*; (2) *Crotalus durissus*, a species associated with the diagonal of open areas of South America (Caatinga, Cerrado and Chaco), was used in parallel to test the occurrence of expansion of these environments, which would lead to the breakage of the hypothetical Amazon-Atlantic Forest forested bridge. Phylogenetic and phylogeographic relationships between samples of *Bothrops* and *Crotalus* were tested through a multi-locus dataset (four mitochondrial genes and five nuclear) under Bayesian Inference. Alternative historical scenarios were tested based on coalescent simulations and ABC (approximate Bayesian computation). In addition, was inferred independently evolving lineages to recognized species diversity in each group studied, using Bayesian implementation of the molecular species delimitation algorithm *Generalized Mixed Yule-Coalescent*. Phylogenetic results and analyzes of species delimitation indicate cryptic diversity for the groups *jararacussu*, *atrox* and *taeniatus*. The tests of historical scenarios suggest (1) multiple Amazon-Atlantic Forest forest connections in the last 2.5 million years, with faunal exchange in both directions and (2) expansion of the open areas of the Cerrado and Caatinga in

temporal synchrony with loss of forest bridge Amazon-Atlantic Forest during late Pleistocene (3) that the formation and stabilization of the Amazon River influenced the diversification of the *jararacussu* group, generating diversity. The results provide information on the historical dynamism of forested and open landscapes in the Neotropics over time, as well as the role of Amazonian rivers in the diversification of fauna. Moreover, the results point to taxonomic instability and cryptic diversity in several groups within *Brothrops* and *Crotalus durissus*, revealing the need for systematic deepening for these medically important venomous snakes.

Biografia

Cursei bacharelado em Ciências Biológicas oferecido pelo Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo – USP entre 2006-2011. Realizei durante este período uma iniciação científica no Laboratório de Bioquímica e Biofísica do Instituto Butantan, supervisionada pela Dra. Marilene Demasi, entre 2007-2009 (Número Fapesp: 2007/05620-6); e outra no Laboratório de Herpetologia do Instituto de Biociências - USP com o Prof. Dr. Miguel Trefaut Rodrigues (2010-2012) (Número Fapesp: 2010/15339-5). Dei continuidade aos estudos com a herpetofauna, realizando meu mestrado entre 2013-2014 (Número Fapesp: 2012/21213-0), no Departamento de Zoologia, IB-USP sob a orientação do Prof. Dr. Miguel, onde iniciei minha tese de doutorado no ano de 2015 (Número Fapesp: 2014/24431-3). Publiquei 24 trabalhos em revistas científicas como primeiro autor e como co-autor; e participei de congressos nacionais, Latino-Americanos e mundial na área de Herpetologia.

Lista de publicações:

1. Dal Vechio, F.; Prates, I. ; Grazziotin, F. G. ; Zaher, H. ; Rodrigues, M. T. . Phylogeography and historical demography of the arboreal pit viper *Bothrops bilineatus* (Serpentes, Crotalinae) reveal multiple connections between Amazonian and Atlantic rain forests. *Journal of Biogeography*, v. 45, p. 2415-2426, 2018.
2. Dal Vechio, F.; Prates, I. ; Grazziotin, F. G. ; Zaher, H. ;Graboski, R. ; Rodrigues, M. T. . Rainforest shifts through time and riverine barriers shaped the diversification of terrestrial South American pit vipers (*Bothrops jararacussu* species group). *Journal of Biogeography*, 2019 aceito.
3. Dal Vechio, F. ; Recoder, R. S. ; Zaher, H. & Rodrigues, M. T. The herpetofauna of the Estação Ecológica de Uruçuí-Una, state of Piauí, Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 53, p. 225-243, 2013.

4. Dal Vechio, F.; Teixeira JR., M. ; Sena, M. ; Argôlo, A. ; Garcia, C. ; Rodrigues, M. T. . Taxonomic Status and the Phylogenetic Placement of *Amphisbaena leucocephala* Peters, 1878 (Squamata, Amphisbaenidae). *South American Journal of Herpetology*, v. 11, p. 157-175, 2016.
5. Dal Vechio, F.; Teixeira Jr., M. ; Mott, T. ; Rodrigues, M. T. . Rediscovery of the Poorly Known *Amphisbaena bahiana* Vanzolini, 1964 (Squamata, Amphisbaenidae), with Data on Its Phylogenetic Placement, External Morphology and Natural History. *South American Journal of Herpetology*, v. 13, p. 238-248, 2018.
6. Dal Vechio, F. ; Recoder, R. ; Zaher, H. & Rodrigues, M.T. Natural history of *Micrablepharus maximiliani* (Squamata: Gymnophthalmidae) in a Cerrado region of northeastern Brazil. *Zoologia (Curitiba)*, v. 31, p. 114-118, 2014.
7. Dal Vechio, F.; Teixeira Jr., M. ; Recoder, R. S. ; Rodrigues, M. T. ; Zaher, H. . The herpetofauna of Parque Nacional da Serra das Confusões, state of Piauí, Brazil, with a regional species list from an ecotonal area of Cerrado and Caatinga. *Biota Neotropica*, v. 16, p. 1-19, 2016.
8. Dal Vechio, F.; Teixeira Jr, M.; Mollo Neto, A.; Rodrigues, M. T. . On the snake *Siphlophis worontzowi* (Prado, 1940): notes on its distribution, diet and morphological data. *Check List*, v. 11, p. 1-5, 2015.
9. Dal Vechio, Francisco; Teixeira Jr., M. ; Recoder, R. S. ; DE Sena, M. A. ; Marques-Souza, S.; Rodrigues, M. T. .Distribution extension and revised map of *Erythrolamprus pygmaeus* (Cope, 1868) (Serpentes: Dipsadidae). *Check List*, v. 11, p. 1719, 2015.
10. Dal Vechio, F. ; Cerqueira, F. ; Augusto, O. ; Lopes, R. & Demasi, M. Peptides that activate the 20S proteasome by gate opening increased oxidized protein removal and reduced protein aggregation. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 67, p. 304-313, 2014.
11. Almeida, J. P. F. A. ; Dal Vechio, F. ; Teixeira Jr., M. ; Rodrigues, M. T. ; Mott, T. . Morphological similarities between *Amphisbaena mitchelli* Procter, 1923 and *A. miringoera* Vanzolini, 1971 (Squamata: Amphisbaenidae): phylogenetic relatedness or morphological convergence?. *Zootaxa*, v. 4168, p. 573, 2016.

12. Teixeira, M. ; Dal Vechio, F. ; Mollo Neto, A. ; Rodrigues, M.T. A New Two-Pored *Amphisbaena* Linnaeus, 1758, from Western Amazonia, Brazil (Amphisbaenia: Reptilia). *South American Journal of Herpetology*, v. 9, p. 62-74, 2014.
13. Teixeira Jr, M. ; Dal Vechio, F. ; Recoder, R.S. ; Carnaval, A.C. ; Strangas, M. ; Damasceno, R.P. ; Sena, M.A. ; Rodrigues, M. T. Two new species of marsupial tree-frogs genus *Gastrotheca* Fitzinger, 1843 (Anura, Hemiphractidae) from the Brazilian Atlantic Forest. *Zootaxa*, v. 3437, p. 1-23, 2012.
14. Teixeira Jr, M.; Dal Vechio, F. ; Nunes, P.M.S. ; Mollo Neto, A. ; Lobo, L.M. ; Storti, L.F. ; Gaiga, R.A.J. ; Dias, P.H.F ; Rodrigues, M.T. A new species of *Bachia* Gray, 1845 (Squamata: Gymnophthalmidae) from the western Brazilian Amazonia. *Zootaxa*, v. 3636, p. 401-420, 2013.
15. Teixeira Jr, M.; Dal Vechio, F. ; Rodrigues, M. T. . Diagnostic clarification, new morphological data and phylogenetic placement of *Amphisbaena arenaria* Vanzolini, 1991 (Amphisbaenia, Amphisbaenidae). *Zootaxa*, v. 4205, p. 293-296, 2016.
16. Rodrigues, M.T. ; Teixeira Jr, M. ; Dal Vechio, F. ; Amaro, R.C. ; Nisa, C. ; Guerrero, A.C. ; Damasceno, R. ; Roscito, J.G. ; Nunes, P.M.S. ; Recoder, R.S. Rediscovery of the Earless Microteiid Lizard *Anotosaura collaris* Amaral, 1933 (Squamata: Gymnophthalmidae): A redescription complemented by osteological, hemipenial, molecular, karyological, physiological and ecological data. *Zootaxa*, v. 3731, p. 345-370, 2013.
17. Rodrigues, M.T. ; Teixeira Junior, M. ; Recoder, R.S. ; Dal Vechio, F. ; Damasceno, R.P. ; Pellegrino, K.C.M. A new species of *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae) with four fingers from the Atlantic Forest central corridor in Bahia, Brazil. *Zootaxa*, v. 3635, p. 459-475-475, 2013.
18. Teixeira Jr, M. ; Amaro, R.C. ; Recoder, R.S. ; Dal Vechio, F. ; Rodrigues, M.T. A new dwarf species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro, 1920 (Anura, Cycloramphidae) from the highlands of Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. *Zootaxa*, v. 3551, p. 25-42-42, 2012.
19. Costa, H. C. ; Resende, F. C. ; Teixeira Jr., M. ; Dal Vechio, F. ; Clemente, C. A. . A new *Amphisbaena* (Squamata: Amphisbaenidae) from southern

- Espinhaço Range, southeastern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 87, p. 891-901, 2015.
20. Marques-Souza, S. ; Prates, I. ; Fouquet, A. ; Camacho, A. ; Kok, P. J. R. ; Nunes, P. M. S. ; Dal Vechio, F. ; Recoder, R. S. ; Mejia, N. ; Teixeira JR., M. ; Barrio-Amorós, C. ; Cassimiro, José ; Dias Lima, J. ; de Sena, M. A. ; Rodrigues, M. T. . Reconquering the water: Evolution and systematics of South and Central American aquatic lizards (Gymnophthalmidae). *Zoologica Scripta*, v. 47, p. 255-265, 2018.
21. Oliveira, E. C.S. ; Vaz-Silva, W. ; Santos-Jr, A. P. ; Graboski, R. ; Teixeira Jr., M. ; Dal Vechio, F. ; Ribeiro, S. . A new four-pored *Amphisbaena* Linnaeus, 1758 (*Amphisbaenia*, *Amphisbaenidae*) from Brazilian Amazon. *Zootaxa*, v. 4420, p. 451, 2018.
22. Recoder, R. S. ; Dal Vechio, F. ; Marques-Souza, S. ; Teixeira Jr, M.. ; Silva-da-Silva, M. ; Santos-Jr., A. P. ; Ribeiro, S. ; Barrio-Amoro's, C. ; Rodrigues, M. T. . Geographic variation and taxonomy of red-tailed *Gymnophthalmus* (Squamata: Gymnophthalmidae) from Amazonian Savannas. *Zootaxa*, v. 4497, p. 61-81, 2018.
23. Rodrigues, M. T. ; Recoder, R. ; Teixeira Jr., M. ; Roscito, J. G. ; Guerrero, A. C. ; Nunes, P. M. S. ; Freitas, M. A. ; Fernandes, D. S. ; Bocchiglieri, A. ; Dal Vechio, F. ; Leite, F. S. F. ; Nogueira, C. C. ; Damasceno, Roberta ; Pellegrino, K. C. M. ; Argôlo, A. J. S. ; Amaro, R. C. . A morphological and molecular study of *Psilops*, a replacement name for the Brazilian microteiid lizard genus *Psilophthalmus* Rodrigues 1991 (Squamata, Gymnophthalmidae), with the description of two new species. *Zootaxa*, v. 4286, p. 451, 2017.
24. Passos, P. ; Teixeira Jr, M. ; Recoder, R. S. ; Sena, M. A. ; Dal Vechio, F. ; Bonfim, H. ; Mendonca, S. ; Cassimiro, J. ; Rodrigues, M. T. . A new species of *Atractus* (serpentes: Dipsadidae) from Serra do Cipó, espinhaço range, southeastern Brazil, with proposition of A new species group to the genus. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 53, p. 75-85, 2013.
-