

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA**  
**ANIMAL**

**TESE**

**Diversificação e evolução em anuros neotropicais, uma  
abordagem filogeográfica e biogeográfica**

**Elvis Almeida Pereira Silva**

**2020**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**DIVERSIFICAÇÃO E EVOLUÇÃO EM ANUROS NEOTROPICAIS,  
UMA ABORDAGEM FILOGEOGRÁFICA E BIOGEOGRÁFICA**

**ELVIS ALMEIDA PEREIRA SILVA**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Hélio Ricardo da Silva**

*e Co-orientação do Professor*  
**Diego José Santana Silva**

Tese submetida como  
requisito parcial para  
obtenção do grau de **Doutor  
em Biologia Animal**, no  
Curso de Pós-Graduação em  
Biologia Animal

Seropédica, RJ  
Outubro de 2020

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586d Silva, Elvis Almeida Pereira, 1992-  
Diversificação e evolução em anuros neotropicais,  
uma abordagem filogeográfica e biogeográfica / Elvis  
Almeida Pereira Silva. - Muriaé, 2020.  
96 f.: il.

Orientador: Hélio Ricardo da Silva.  
Coorientador: Diego José Santana Silva.  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Biologia  
Animal, 2020.

1. Filogeografia. 2. Biogeografia. I. da Silva,  
Hélio Ricardo, 1961-, orient. II. Silva, Diego José  
Santana, 1985-, coorient. III Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Animal. IV. Título.



TERMO Nº 318 / 2020 - PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)

Nº do Protocolo: 23083.052596/2020-16

Seropédica-RJ, 09 de outubro de 2020.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

ELVIS ALMEIDA PEREIRA SILVA

Tese de Doutorado submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor(a)**, no **Programa de Pós Graduação em Biologia Animal**, Área de Concentração em **Biodiversidade Animal**

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 06/10/2020

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

Dr. Hélio Ricardo da Silva  
(Orientador)

Dra. Denise Monnerat Nogueira

Dr. Ricardo Utsunomia

Dra. Sarah Mângia

Dra. Eliana Faria de Oliveira

Dra. Patrícia Alves Abrunhosa

(Assinado digitalmente em 14/10/2020 12:02 )  
DENISE MONNERAT NOGUEIRA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptG (12.28.01.00.00.00.50)  
Matrícula: 1539011

(Assinado digitalmente em 12/10/2020 22:49 )  
HELIO RICARDO DA SILVA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptBA (12.28.01.00.00.00.45)  
Matrícula: 2289640

(Assinado digitalmente em 13/10/2020 12:37 )  
PATRICIA ALVES ABRUNHOSA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptBA (12.28.01.00.00.00.45)  
Matrícula: 1770892

(Assinado digitalmente em 12/10/2020 13:17 )  
RICARDO UTSUNOMIA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptG (12.28.01.00.00.00.50)  
Matrícula: 3138877

(Assinado digitalmente em 13/10/2020 16:05 )  
ELIANA FARIA DE OLIVEIRA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 303.094.048-94

(Assinado digitalmente em 12/10/2020 15:36 )  
SARAH MÂNGIA BARROS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 075.831.936-70

Para verificar a autenticidade deste documento entre em  
<https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **318**, ano: **2020**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **09/10/2020** e o código de verificação: **b22c2e8e2d**

À minha querida família e  
aos eternos amigos, pelo  
incentivo e força.

## AGRADECIMENTOS

Esta tese não é só minha, então, agradeço a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho. Desde quando pisei a primeira vez dentro de uma escola até então, foram diversos professores, colegas e amigos que dividiram comigo conhecimento e informações. Obrigado a todos, não só no meio acadêmico, mas de todos que me cercam e que ao longo desses anos me deram enorme apoio.

À toda minha família, em especial à minha mãe (**Cristina**), pai (**Márcio**) e avó (**Alaíde**), que sempre me incentivaram durante toda a vida e mesmo sem entender direito o que eu fazia, nunca me deixaram desistir de correr atrás dos meus sonhos.

Aos professores **Dr. Hélio Ricardo da Silva** e **Dr. Diego José Santana Silva (Diegão)**, por terem aceitado o desafio de me orientar e além da orientação, pela amizade.

Ao **Laboratório Mapinguari** e aos meus amigos Mapinguarianos (**Carlinha, Pedro, Henrique, Huguito, Sarah, Diegão, Juan, Jorge, Fadel, Ceron, Pri, Mari, Moroti, Leandro, Renata Serejo, José, Victória**) obrigado pela amizade, risadas, discussões, ensinamentos e companheirismo na hora de tomar aquela breja gelada. Ao **Laboratório de Herpetologia (UFRRJ)** em especial aos amigos **Gustavo Colaço, Marcelo Batista, Gabriel Limp** e **Mayara Baêta**. À **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul** e seus funcionários e ao **Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal (UFRRJ e UFMS)** pela oportunidade e pelos ensinamentos.

Aos amigos da Alemanha e da **Technische Universität of Braunschweig (Vanessa, Sten, Loïs, Joana, Aswini, Robin e Dominik)**, por terem me acolhido tão bem durante o duro e difícil período longe do Brasil, também, pelas risadas, cervejas (que foram muitas) e shots. À companheira de sala e de laboratório **Meike Kondermann**, por ter sido minha companhia de escritório durante nove meses, ter feito meus dias no laboratório mais felizes com seu bom humor e suas deliciosas “apple pies”, por ter me ensinado um pouco de alemão e ensinado várias técnicas no laboratório molecular. Danke schön!! Ao professor **Dr. Miguel Vences**, por ter me aceitado orientar neste período de doutorado sanduíche e me permitido frequentar esta instituição de pesquisa, através desta parceria tive um crescimento profissional enorme.

Aos meus amigos de Campo Grande e Muriaé, **Thielle (mula), Priscila Hote (mula), Henrique (Henriqueta), Rafaela (Rafagrela), Carol (alfajó)** de tantas sociais, risadas, churras, brejas, companheirismo e ajudas... valeu pela amizade galera!

Aos amigos **Éric Ragalzi, Sarah Mângia** e **Ricardo Koroiva**, por terem tirado um pouquinho do tempo para me ensinar os processos e o passo a passo no laboratório de Biologia Molecular, sem vocês este trabalho não seria possível.

Ao **Diego José Santana Silva (Diegão), Sarah Mângia, Eliana Faria de Oliveira (Elianinha)** e a **Karol Ceron** por toda ajuda e esclarecimento com as análises estatísticas e a especialização individual, sem vocês eu não teria conseguido.

Aos amigos da consultoria, **Luiz (Xandoca), Emanuelle (Manú), Guilherme (Gui) Daniel (Dani Boy), Leonardo (Léo)** por fazerem meus dias mais suaves com tanto assunto aleatório e engraçado no grupo de Whatsapp. Saudade de vocês gurizada!

Aos pesquisadores e colaboradores, **Pedro Peloso, Marcelo Napoli, Adrian Garda Antoine Fouquet, Miguel Trefaut e Katyuscia**, pelo envio de diversas amostras essenciais para execução deste trabalho.

Ao amigo **Luiz Gomes** e aos primos **Mariah** e **João Paulo**, por terem me hospedado diversas vezes em Seropédica durante as semanas de disciplinas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)** - Código de Financiamento 001, que concedeu a bolsa de doutorado sanduíche (PDSE) pelo período de nove meses entre 2018 e 2019, sem a qual não seria possível a realização deste estudo. Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento**

**Científico e Tecnológico (CNPq)** pela concessão da bolsa de estudos durante todo o período de doutorado e a licença de coleta emitida pelo **Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio** (54493).

Foram quatro longos anos de muito aprendizado, muitos artigos e parcerias, muitos finais de semana e feriados trabalhando, ansiedades e psicológico abalado. Enfim, agradeço a todos vocês por fazerem deste doutorado uma experiência ímpar na minha vida. Meu eterno muito obrigado!

## RESUMO

PEREIRA, Elvis Almeida. **Diversificação e evolução em anuros neotropicais, uma abordagem filogeográfica e biogeográfica.** 2020. 96p Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Herpetologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2020.

A biologia visa entender o funcionamento dos organismos, a relação deles com o meio e seu processo de evolução. A ciência que busca identificar os processos que levaram à formação desses padrões de distribuição dos organismos é a Biogeografia. Como o acesso a dados moleculares aumentou entre as décadas de 1970 e 80, o estudo da Biogeografia se expandiu e então foi criado o termo Filogeografia, que possui como objetivo principal entender os processos que atuaram na distribuição geográfica das espécies, baseado em dados genéticos. Testar o papel dos eventos históricos geomorfológicos e climáticos que possivelmente atuaram nos padrões e processos que levaram a essas distribuições geográficas em organismos filopátricos, com baixa vagilidade e com altas taxas de endemismos. A região neotropical é uma das mais diversas do planeta, e possui a maior riqueza de anfíbios do mundo, além de uma geomorfologia diversificada devido ao complexo histórico de evolução do continente sul-americano e vários tipos de eco regiões. Nos últimos milhões de anos o continente sul-americano passou por severas modificações devido às incursões marinhas, soerguimento de cadeias montanhosas e o fechamento do Istmo do Panamá, que alterou o clima da América do Sul completamente. Além destes eventos geológicos, as mudanças climáticas também atuaram na modificação da paisagem neotropical diversas vezes, causando a expansão e a retração dos domínios morfoclimáticos e, conseqüentemente, dos organismos que habitam estes ambientes. Os anuros ocupam uma ampla diversidade de habitats, possuem baixa vagilidade e muitas espécies possivelmente acompanharam os ciclos dos Biomas, tornando-os bons modelos para entender a evolução destes domínios morfoclimáticos. A presente tese está dividida em dois capítulos: o primeiro, sobre a estrutura filogeográfica de *Boana crepitans*; e o segundo, aspectos biogeográficos das espécies da tribo Sphaenorhynchini. Além de apontar informações sobre as conexões históricas entre os domínios morfoclimáticos florestais da Amazônia e da Mata Atlântica e identificar alguns principais processos que atuaram na diversificação desses táxons.

**Palavras-chave:** Anfíbios, Brasil, Delimitação de espécie.



## ABSTRACT

PEREIRA, Elvis Almeida. **Diversification and evolution in neotropical anurans, a phylogeographic and biogeographic approach.** 2020. 96p Thesis (Doctoral degree in Animal Biology). Instituto de Biologia, Departamento de Herpetologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2020.

Biology has as one of its main questions, the search for patterns of distribution of organisms. The science that seeks to identify the processes that led to the formation of these standards is Biogeography. As access to molecular data increased between the 1970s and 1980s, the study of Biogeography expanded and then the term Phylogeography was created, whose main objective is to understand the processes that acted on the geographical distribution of species, based on genetic data. Testing the patterns and processes that led to these distributions in philopatric organisms, with low vagility and high rates of endemism is interesting when trying to understand historical geomorphological and climatic events. The neotropical region is one of the most diverse regions on the planet, as it is home to enormous biodiversity, with the greatest diversity of amphibians in the world, in addition to having a diversified geomorphology due to the historical complex of evolution of the continent and different types of ecoregions. In the past millions and years, the South American continent has undergone severe changes due to marine incursions, uplift of mountain ranges and the closing of the Isthmus of Panama, which changed the climate of South America completely. In addition to these geological events, climatic events also acted in the modification of the neotropical landscape several times, causing forest morphoclimatic domains to expand and retract over time, and consequently, species dependent on forest habitats, fluctuated with the events of expansion and retraction of these forests. Anurans occupy a wide range of habitats, have low vagility and many species possibly followed the forest cycles, making them good models for understanding the evolution of these morphoclimatic domains. With this, the present thesis presents two chapters, the first, phylogeographic structure of *Boana crepitans* and the second, biogeographic aspects of the species of the Sphaenorhynchini tribe. In addition to pointing out information about the historical connections between the forest morphoclimatic domains of the Amazon and the Atlantic Forest and identifying some main processes that have acted in the diversification of these taxa.

**Key words:** Amphibians, Brazil, Species delimitation.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b>	10
2. Pereira, E. A.; Mângia, S.; Ceron, K.; Ragalzi, E.; Garda, A. A.; Napoli, M. F.; Silva, H. R & Santana, D. J. 2020. Filogeografia e modelagem de nicho ecológico revelam uma quebra geográfica na estrutura populacional de <i>Boana crepitans</i> (Anura: Hylidae) durante o Pleistoceno no Leste do Brasil	16
3. Pereira, E. A.; Ceron, K.; Silva, H. R & Santana, D. J. 2020. Relações históricas entre a Amazônia e a Mata Atlântica durante as flutuações climáticas do Paleógeno tardio reveladas pela biogeografia da tribo Sphaenorhynchini (Anura, Hylidae)	66
<b>4. CONCLUSÃO GERAL</b>	96

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A biogeografia, pertencente a uma área de estudo multidisciplinar, é a ciência que procura entender o relacionamento dos eventos ou processos ocorridos que resultaram nos padrões de distribuição geográfica dos organismos (Brown & Lomolino, 2006; Crisci et al., 2009). Ao longo do seu desenvolvimento, esta ciência foi dividida por biogeógrafos em duas diferentes abordagens: a biogeografia ecológica, que procura explicar padrões de distribuição das espécies com base nas interações ecológicas que aconteceram a um intervalo de tempo relativamente curto (Wiens & Donoghue, 2004; Brown & Lomolino, 2006); e a biogeografia histórica, que procura entender como os processos/eventos que ocorreram ao longo de milhares a milhões de anos definiram as distribuições das espécies (Brown & Lomolino, 2006; Crisci et al., 2009). A partir da década de 1970, devido ao acesso a dados moleculares, o estudo da Biogeografia começou a expandir, possibilitando explorar novas abordagens e permitindo análises mais robustas. A partir destes avanços, no final da década de 1980, foi criado o termo Filogeografia (Avice et al., 1987), que possui como objetivo principal interpretar os processos que atuaram na distribuição geográfica e demografia das populações de espécies, baseado nas genealogias gênicas (Avice, 2000).

Testar padrões filo/biogeográficos em organismos com pouca mobilidade e com altos padrões de endemismos, além de grupos filopátricos, é interessante quando se busca entender padrões ecorregionais, geomorfológicos e climáticos (Zeisset & Beebee, 2008). A região neotropical, além de possuir uma grande diversidade de ambientes e um complexo histórico evolutivo do continente com diversos domínios morfoclimáticos distintos, ainda ocupa uma posição crucial para os anfíbios, pois abriga a maior biodiversidade do planeta (Duellman, 1999; Galindo-Leal & Câmara, 2005; Silva & Casteleti, 2005; Hoorn & Wesselingh, 2010; Turchetto-Zolet et al., 2013). Devido às altas taxas de endemismo e grande estágio de degradação, vários domínios morfoclimáticos são considerados prioridades mundiais para conservação (Myers et al., 2000; Ribeiro et al., 2009). Entender quando e quais foram os processos envolvidos na evolução dos organismos é um dos principais objetivos dos estudos sobre diversificação da biota neotropical (Moritz et al., 2000; Antonelli & Sanmartín, 2011). Entretanto, com a incerteza sobre o conhecimento de quando a evolução da paisagem e eventos vicariantes ocorreram para a maioria das regiões, idealizar previsões genéticas para as hipóteses de diversificação nos neotrópicos não é uma tarefa trivial (Brumfield, 2012).

Os estudos biogeográficos e filogeográficos de organismos no continente sul-americano estão em constante avanço, porém, os trabalhos possuem um forte viés em organismos com ocorrência em apenas uma região climática ou um domínio morfoclimático, portanto existe a necessidade da utilização de táxons amplamente distribuídos para uma observação mais precisa dos processos evolutivos de domínios morfoclimáticos que possuem histórias evolutivas duvidosas (Turchetto-Zolet et al., 2013).

A América do Sul é constituída por diferentes tipos de vegetação, tais como: florestas montanas (nas encostas dos Andes), florestas tropicais (Amazônia e Mata Atlântica), formações secas denominadas “Florestas Tropicais Sazonalmente Secas” (Caatinga, Cerrado, Pantanal e o Chaco), entre outras (Ab’Saber, 1977; Löwenberg-Neto et al., 2011). Nos últimos milhões de anos, o cenário do continente sul-americano foi intensamente transformado. Entre 56 a 33,9 milhões de anos atrás, no Eoceno, as florestas tropicais se estendiam ao longo de todo o continente, constituindo uma grande área contínua de florestas (Morley, 2000). A partir de então, a diversificação dos organismos foi influenciada diretamente por eventos em diferentes escalas que afetaram a paisagem da região. Durante o Neógeno, eventos geológicos como as incursões marinhas durante o Mioceno superior e o soergimento dos Andes foram importantes no processo de diversificação, pois além de

funcionar como evento vicariante, provocou alterações drásticas no clima do continente, nos sistemas hídricos e no regime de chuvas, uma vez que a cordilheira retém toda umidade que vem do Oceano Atlântico (Hoorn et al., 2010; Rull, 2011a; b). No final do Mioceno e Plioceno, o fechamento do Istmo do Panamá além de promover o intercâmbio entre as biotas da América do Sul e das Américas Central e do Norte, alterou a dinâmica das correntes marítimas modificando também o clima da região (Bacon et al., 2015; O’Dea et al., 2016).

Esses eventos seguidos de uma diminuição da precipitação e temperatura global, possibilitaram um aumento na ocorrência das gramíneas, principalmente na região central do Brasil (Potter & Szatmari, 2009). Com a expansão das vegetações de savana, as “Florestas Tropicais Sazonalmente Secas” emergiram e ocasionaram uma divisão na grande área contínua de florestas tropicais úmidas, separando a Amazônia e a Mata Atlântica. Após a sua formação, eventos geológicos ao longo do Mioceno como o soerguimento do Planalto Central Brasileiro, rebaixamento do Chaco e outras regiões (de Carvalho et al., 2013; Ross, 2016) e recorrentes transgressões marítimas no Chaco (Ruskin et al., 2011) também influenciaram a diversificação na região das “Florestas Tropicais Sazonalmente Secas”.

Além dos eventos geológicos, a influência dos eventos climáticos também entrou em pauta e são frequentemente elencados como potenciais promotores da diversificação na região Neotropical, com intensa diversificação de linhagens no Quaternário (Whitmore & Prance, 1987; Cabanne et al., 2007, 2008; Carnaval et al., 2009; Martins et al., 2009; Ribeiro et al., 2010; d’Horta et al., 2011; Maldonado-Coelho., 2012; Turchetto-Zolet et al., 2013). A hipótese mais debatida é a teoria dos refúgios florestais pleistocênicos (Haffer, 1969; Brown & Ab’Sáber, 1979; Vanzolini & Williams, 1970; 1981; Carnaval & Moritz, 2008), pois houve mudanças na temperatura e pluviosidade, que em consequência, pode ter causado alterações na distribuição geográfica das florestas (Sobral-Souza et al., 2015). A alternância entre períodos quentes e úmidos com períodos frios e secos fez com que estas florestas úmidas se retraíssem e se expandissem durante os períodos de máximo glacial e ciclos interglaciais, respectivamente, enquanto as áreas de vegetação aberta se comportavam de maneira contrária, formando refúgios de ilhas de florestas densas úmidas isoladas por vegetação aberta (Behling, 2002; Neto & Nery, 2005; Behling & Pillar, 2007).

Assim, espécies dependentes de ambientes florestais acompanharam esses ciclos de retração e expansão das florestas durante o Pleistoceno, fazendo com que populações isoladas em cada fragmento evoluíssem de maneira alopátrica (Carnaval & Moritz, 2008), podendo acarretar na diferenciação de linhagens e até especiação, caso o tempo de isolamento tenha sido suficiente para acumular diferenças entre elas. Deste modo, mesmo depois do estabelecimento das “Florestas Tropicais Sazonalmente Secas”, a história dos domínios morfoclimáticos Neotropicais ao longo do Pleistoceno teria sido dinâmica, e conexões entre Amazônia e Mata Atlântica através das matas de galeria e brejos de altitude são propostas por vários autores (e.g. Por, 1992; Oliveira et al., 1999; Behling et al., 2000; Auler & Smart, 2001; Costa, 2003; Auler et al., 2004; Wang et al., 2004; Batalha-Filho et al., 2013; Prates et al., 2016; Ledo & Colli, 2017).

As espécies de anuros são bons modelos para entender a diversificação destes domínios morfoclimáticos através de estudos biogeográficos e filogeográficos, pois geralmente são filopátricos, possuem baixa vagilidade, ocupam uma ampla diversidade de habitats. Além disto, várias espécies florestais podem ser sensíveis a mudanças no habitat e possivelmente flutuaram demograficamente junto com os domínios florestais e, com isto, suas histórias evolutivas podem ser demonstradas (Duellman, 1982; Blaustein et al., 1994; Beebee, 1996; Duellman, 1999; Zeisset & Beebee, 2008). Desta forma, a presente tese aponta informações singulares sobre a estrutura filogeográfica, biogeografia histórica, sistemática e da história demográfica de algumas espécies de anuros, identificando quais foram os principais processos que atuaram na diversificação desses táxons. Além disso, apresenta um

panorama espaço-temporal sobre as conexões históricas entre os domínios morfoclimáticos florestais (Amazônia e Mata Atlântica) e informações sobre o padrão de diversificação dessas espécies nesses domínios morfoclimáticos, colaborando para o entendimento da história evolutiva da biota nestas florestas.

### Referências Bibliográficas

- Ab'Saber, A. N. 1977. Os domínios morfoclimáticos da América do Sul. Primeira aproximação. *Geomorfologia*, 53: 1–23.
- Antonelli, A. & Sanmartín, I. 2011. Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon*, 60: 403–414.
- Auler, A. S. & Smart, P. L. 2001. Late Quaternary paleoclimate in semiarid northeastern Brazil from u-series dating of travertine and water-table speleothems. *Quat. Res.*, 55: 159–167.
- Auler, A. S., Wang, A., Edwards, R. L., Cheng, H., Cristalli, P. S., Smart, M. L. & Richards, D. A. 2004. Quaternary ecological and geomorphic changes associated with rainfall events in presently semi-arid northeastern Brazil. *J. Quat. Sci.*, 19: 693–701.
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A. & Saunders, N. C. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 18: 489–522.
- Avise, J. C. 2000. *Phylogeography: the History and Formation of Species*. Cambridge: Harvard University Press.
- Bacon, C. D., Silvestro, D., Jaramillo, C., Smith, B. T., Chakrabarty, P., & Antonelli, A. (2015). Biological evidence supports an early and complex emergence of the Isthmus of Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(19): 6110–6115.
- Batalha-Filho, H., Fjeldså, 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(1): 41–50.
- Beebee, T. 1996. *Ecology and conservation of amphibians*. Vol. 7. Springer Science & Business Media.
- Behling, H. 2002. South and southeast Brazilian grasslands during Late Quaternary times: a synthesis. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, 177: 19–27.
- Behling, H., Arz, H. W., Patzold, J. & Wefer, G. 2000. Late Quaternary vegetational and climate dynamics in northeastern Brazil, inferences from marine core GeoB3104–1. *Quat. Sci. Rev.*, 19: 981–994.
- Behling, H. & Pillar, V. D. P. 2007. Late Quaternary vegetation, biodiversity and fire dynamics on the southern Brazilian highland and their implication for conservation and management of modern *Araucaria* forest and grassland ecosystems. *Philos. Trans. R. Soc. B.*, 362: 243–251.
- Blaustein, A. R., Wake, D. B. & Sousa, W. P. (1994). Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation biology*, 8(1): 60–71.
- Brown, J. H. & Lomolino M. V. 2006. *Biogeografia*. 2ª ed. Trad: Iulo Feliciano Afonso. Ribeirão Preto: FUNPEC Editora.
- Brown, K. S. & Ab'Saber, A. N. 1979. Ice-ages forest refuges and evolution in the Neotropics: correlation of paleoclimatological, geomorphological, and pedological data with modern biological endemism. *Paleoclimas*, 5: 1–30.
- Brumfield, R. T. 2012. Inferring the origins of lowland neotropical birds. *Auk*, 129: 367–376.

- Cabanne, G. S., Santos, F. R & Miyaki, C. Y. 2007. Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic forest. *Biol. J. Linn. Soc.*, 91: 73–84.
- Carnaval, A. C. & Moritz, C. 2008. Historical climate modeling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *J. Biogeogr.* 35: 1187–1201.
- Carnaval, A. C., Hickerson, M. J., Haddad, C. F. B., Rodrigues M. T. & Moritz, C. 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, 323: 785–789.
- Costa, L. P. 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic forests of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *J. Biogeogr.*, 30: 71–86.
- Crisci, J., Katinas, L., Posadas, P., & Crisci, J. V. 2009. Historical biogeography: an introduction. Harvard University Press.
- d’Horta, F., 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. *Mol. Ecol.*, 20: 1932–1935.
- de Carvalho, A. L. G., de Britto, M. R., & Fernandes, D. S. 2013. Biogeography of the lizard genus *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1825 (Squamata: Tropiduridae): distribution, endemism, and area relationships in South America. *PloS one*, 8(3).
- Duellman, W. E. 1982. Quaternary climatic-ecological fluctuations in the lowland tropics: frogs and forests. *Biological Diversification in the Tropics*. Columbia University Press, New York, 389–402.
- Duellman, W. E. 1999. Patterns of distribution of amphibians: a global perspective. JHU Press.
- Galindo-Leal, C. & Câmara, I. G. 2005. Status do *hotspot* Mata Atlântica: uma síntese. In: Galindo-Leal, C. & Câmara IG (Eds). *Mata Atlântica: Biodiversidade, Ameaças e Perspectivas*. Belo Horizonte: Conservação Internacional, 3–11 pp.
- Haffer, J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165: 131–137.
- Hoorn, C. & Wesselingh, F. P. 2010. Introduction: Amazonia, landscape and species evolution. In: Hoorn, C. & Wesselingh, F. P (Eds). *Amazonia: Landscape and Species Evolution: a Look into the Past*. London: Blackwell, pp 1–6.
- Ledo, R. M. D., & Colli, G. R. 2017. The historical connections between the Amazon and the Atlantic Forest revisited. *Journal of Biogeography*, 44(11): 2551–2563.
- Löwenberg-Neto, P., Carvalho, C. J. B., & Almeida, E. A. B. 2011. Conservação da biodiversidade e biogeografia histórica. *Biogeografia da América do Sul–Padrões e Processos*. São Paulo, Editora Roca: 162–172.
- Maldonado-Coelho, M. 2012. Climatic oscillations shape the phylogeographical structure of Atlantic Forest fire-eye antbirds (Aves: *Thamnophilidae*). *Biol. J. Linn. Soc.*, 105: 900–924.
- Martins, F. M., Templeton, A. R., Pavan, A. C. O., Kohlbach, B. C. & Morgante, J. S. 2009. Phylogeography of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*): marked population structure, Neotropical Pleistocene vicariance and incongruence between nuclear and mtDNA markers. *BMC Evol. Biol.*, 9: 294.
- Moritz, C., Patton J. L., Schneider, C. J. & Smith, T. B. 2000. Diversification of rainforest faunas: An integrated molecular approach. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 31: 533–563.
- Morley, G. D. 2000. Syntax in functional grammar: an introduction to lexicogrammar in systemic linguistics. A&C Black.
- 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.

- Neto, J. L. S. & Nery, J. T. 2005. Variabilidade e mudanças climáticas no Brasil e seus impactos. In: Souza, G. R. G., Suguio, K., Oliveira, M. A. S. & Oliveira, P. L. (Eds). Quaternário do Brasil. Ribeirão Preto: Holos Editora, 28–50 pp.
- O’Dea, A., Lessios, H. A., Coates, A. G., Eytan, R. I., Restrepo-Moreno, S. A., Cione, A. L., ... & Stallard, R. F. 2016. Formation of the Isthmus of Panama. *Science advances*, 2(8): e1600883.
- 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. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, 152: 319–337.
- Por, F. D. 1992. Sooretama: the Atlantic Rain Forest of Brazil. The Haugue: SPB Academic Publishing.
- Potter, P. E. & Szatmari, P. 2009. Global Miocene tectonics and the modern world. *Earth-Science Reviews*, 96(4): 279–295.
- 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(20): 5174–5186.
- Ribeiro, C. A., 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. *Biol. Cons.*, 142: 1141–1153.
- Ribeiro, R. A., Lemos-Filho, J. P., Ramos, A. C. S. & Lovato, M. B. 2010. Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. *Heredity*, 106: 46–57.
- Ross, J. L. S. 2016. O relevo brasileiro no contexto da América do Sul. *Revista Brasileira de Geografia*, 61(1): 21–58.
- Rull, V. 2011a. Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trends Ecol. Evol.*, 26: 508–513.
- Rull, V. 2011b. Origins of biodiversity. *Science*, 331: 398–399.
- Ruskin, B. G., Dávila, F. M., Hoke, G. D., Jordan, T. E., Astini, R. A., & Alonso, R. (2011). Stable isotope composition of middle Miocene carbonates of the Frontal Cordillera and Sierras Pampeanas: Did the Paranaense seaway flood western and central Argentina?. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 308(3-4): 293–303.
- Silva, J. M. C. & Casteleti, C. H. M. 2005. Estado da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira. In: Galindo-Leal, C. & Câmara, I. G. (Eds). *Mata Atlântica: Biodiversidade, Ameaças e Perspectivas*. Belo Horizonte: Conservação Internacional, 43–59 pp.
- 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(5): 643–655.
- Turchetto-Zolet, A. C., Pinheiro, F., Salgueiro, F. & Palma-Silva, C. 2013. Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology*, 22(5): 1193–1213.
- Vanzolini, P. E. & Williams, E. E. 1970. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria: Iguanidae). *Arquiv. Zool.*, 19: 1–298.
- Vanzolini, P. E. & Williams, E. E. 1981. The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 34(23): 251–255.
- Wang, X. F., 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 210 kyr linked to distant climate anomalies. *Nature*, 432: 740–743.

- Whitmore, T. C. & Prance, G. T. 1987. *Biogeography and Quaternary History in Tropical America*. Oxford: Oxford University Press.
- Wiens, J. J. & Donoghue, M. J. 2004. Historical biogeography, ecology and species richness. *Trends in ecology & evolution*, 19(12): 639–644.
- Zeisset, I. & Beebee, T. J. C. 2008. Amphibian phylogeography: a model for understanding historical aspects of species distributions. *Heredity*, 101(2): 109–119.



**Filogeografia e modelagem de nicho ecológico revelam uma quebra geográfica na estrutura populacional de *Boana crepitans* (Anura: Hylidae) durante o Pleistoceno no Leste do Brasil**

A ser submetido no periódico científico Molecular Ecology

## Filogeografia e modelagem de nicho ecológico revelam uma quebra geográfica na estrutura populacional de *Boana crepitans* (Anura: Hylidae) durante o Pleistoceno no Leste do Brasil

Elvis Almeida Pereira<sup>1,2,3\*</sup>, Sarah Mângia<sup>2</sup>, Karoline Ceron<sup>2</sup>, Eric Ragalzi<sup>2</sup>, Adrian Antônio Garda<sup>4</sup>, Marcelo Felgueiras Napoli<sup>5</sup>, Hélio Ricardo da Silva<sup>1</sup>, Diego José Santana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Biologia Animal, Laboratório de Herpetologia, 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>2</sup>Mapinguari - Laboratório de Biogeografia e Sistemática de Anfíbios e Répteis, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79002-970, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

<sup>3</sup>Zoological Institute, Technische Universität Braunschweig, Mendelssohnstrasse, Braunschweig 4, 38106, Germany.

<sup>4</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Botânica e Zoologia, Campus Universitário, 59078-970, Lagoa Nova, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil.

<sup>5</sup>Universidade Federal da Bahia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, 41170-115, Salvador, Bahia, Brasil.

\*Autor correspondente: elvisaps@hotmail.com

**Resumo.** Várias hipóteses têm sido usadas para explicar a diversificação das espécies nos Neotrópicos. A integração da evolução com a ecologia amplia o escopo para testar as estruturas dessas hipóteses. Recentemente, estudos filogeográficos começaram a explorar os processos de biodiversidade nos domínios morfoclimáticos secos da América do Sul, avaliando a influência dos eventos orogênicos e climáticos sobre a especiação. Testamos algumas hipóteses de diversificação integrando modelos de filogeografia e nichos ecológicos (MNEs) usando como modelo o anuro *Boana crepitans* das florestas atlânticas e secas. Estimamos tempos de divergência, áreas ancestrais, eventos de diversificação, demografia histórica, compartilhamento de haplótipos e distâncias genéticas com base em genes mitocondriais e nucleares. Nós geramos MNEs e testamos divergências de nicho entre linhagens; usamos dados genéticos integrados para prever corredores de fluxo gênico; e paleo distribuições projetadas para comparação com a demografia histórica. Encontramos duas linhagens sob o táxon *Boana crepitans*: Oeste e Leste. A linhagem Atlântica Oeste divergiu da linhagem Leste por meio da dispersão, cerca de 280 mil anos e ambas linhagens permaneceram estáveis ao longo dos anos. Essa estabilidade populacional pode ser explicada pelas oscilações climáticas quaternárias, considerando que as linhagens permaneceram mais estáveis ao longo do tempo por conta dos refúgios da Caatinga, da Mata Atlântica e do Cerrado previsto a partir da modelagem paleo. Estudos que integram evolução e ecologia prometem separar hipóteses alternativas e lançar luz sobre a biogeografia dessa região megadiversa.

**Palavras-chave.** Biogeografia, Computação Bayesiana Aproximada, Métodos Coalescentes.

**Abstract.** Several hypotheses have been used to explain the diversification in the Neotropics. The integration of evolution with ecology expands the scope of testing the structures of these hypotheses. Recently, phylogeographic studies have begun to explore the processes of biodiversity in the dry morphoclimatic domains of South America, assessing the influence of orogenic and climatic events on speciation. We tested some hypotheses for diversification by integrating phylogeography models and ecological niches (MNEs) using the anuran *Boana crepitans* from the Atlantic Forest and SDTF as a model. We estimate times of divergence, ancestral areas, diversification events, historical demography, sharing of haplotypes and

genetic distances based on mitochondrial and nuclear genes. We generate MNEs and test niche divergences between lineages; integrated genetic data to predict gene flow corridors; and paleo distributions designed for comparison with historical demography. We found two lineages under the *Boana crepitans* taxon: West and East. The Western Atlantic lineage diverged from the Eastern lineage through dispersion, about 0.28 Mya and both lineages have remained stable over the years. This population stability can be explained by the Quaternary oscillations, considering that the lineages remained more stable over time due to the refuges areas of the Caatinga, the Atlantic Forest and the Cerrado predicted from paleo modeling. Studies that integrate evolution and ecology promise to separate alternative hypotheses and shed light on the biogeography of this megadiverse region.

**Key words.** Biogeography, Approximate Bayesian Computation, Coalescent Methods.

## Introdução

Na última década, surgiu um grande interesse em entender a diversificação biótica da região neotropical devido a inclusão da genética molecular, que impulsionou os avanços da biogeografia (Ridley et al., 2008). Vários estudos biogeográficos lançaram nova luz sobre os padrões e processos que moldaram a alta diversidade nessa região (e.g. Carnaval, Hickerson, Haddad, Rodrigues, & Moritz, 2009; Menezes et al., 2016; Ledru, Carnaval, Miyaki, “AF biota” participants, 2017; Paz et al., 2018). Porém, muitos deles são focados nas florestas tropicais úmidas e, várias hipóteses (e.g. rios como barreiras, influência do soerguimento dos Andes, efeito das alterações climáticas do Pleistoceno) foram propostas para as origens da biodiversidade na América do Sul, devido a sua intrigante história evolutiva e sua heterogeneidade biológica (Fine, Daly, & Cameron, 2005; Antonelli & Sanmartín, 2011; Rull, 2011; Turchetto-Zolet, Pinheiro, Salgueiro, & Palma-Silva, 2013). Apesar do crescente número de estudos filogeográficos, pesquisas atuando nas matas secas neotropicais para entender os processos de diversificação continuam iniciais (Oliveira & Marquis, 2002; Werneck, Costa, Colli, Prado, & Sites, 2011; Turchetto-Zolet et al., 2013; da Silva, Leal, & Tabarelli, 2017; Antonelli et al., 2018).

A região Neotropical é a mais diversa da Terra (Myers, Mittermeier, Mittermeier, da Fonseca, & Kent, 2000; Rull, 2008), e apresenta uma grande variedade de domínios morfoclimáticos, desde florestas tropicais até formações abertas e secas. A Mata Atlântica, um dos principais domínios morfoclimáticos da região, forma uma ilha de floresta pluvial, cercada pelo Oceano Atlântico e pela enorme porção contínua de vegetação seca, denominada Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (daqui em diante, FTSSs), contendo diversos platôs cobertos por vegetação de savana que ficaram estáveis ao longo do tempo, atravessando o continente sul-americano do nordeste ao sudoeste (Vanzolini 1963; Werneck et al., 2011; Werneck, Nogueira, Colli, Sites Jr, & Costa, 2012b).

As depressões que ocorrem entre os platôs nas STDFs abrangem tipos de vegetação méxicas nos domínios morfoclimáticos do Chaco, composto por florestas secas subtropicais e florestas no norte da Argentina, Paraguai e Bolívia; do Cerrado, um mosaico de subunidades que variam de pastagens a florestas secas com faixas de florestas (florestas de galeria) ocorrendo em toda a região, no centro do continente (Oliveira-Filho & Ratter, 1995; Oliveira-Filho & Fontes, 2000); e da caatinga, o maior núcleo neotropical de STDFs no nordeste do Brasil, composta por uma vegetação xerofítica, quase desértica (Kuhlmann, 1977; de Oliveira, Barreto, & Suguio, 1999) que circunda “brejos de altitude” no interior, enclaves de floresta úmida causada pela precipitação nas encostas de vários planaltos (Mori, Silva, Lisboa, & Coradin, 1989) e depressões compostas por matas ciliares e florestas tropicais sazonais secas (Prado, 2003). Alguns estudos indicam que a paisagem da Caatinga sofreu fortes modificações e possuía condições mais úmidas durante o Quaternário (de Oliveira et al.,

1999; Pessenda et al., 2004; Pessenda, Gouveia, de Souza Ribeiro, de Oliveira, & Aravena, 2010).

Através de dados geológicos, fitogeográficos, palinológicos e zoogeográficos, estudos sugerem que as STDFs e a Mata Atlântica eram intimamente relacionadas evolutivamente (Oliveira-Filho & Ratter, 1995; Ledru, Salgado-Labouriau, & Lorscheitter, 1998; de Oliveira et al., 1999; Bush & Oliveira, 2006; Batalha-Filho, Fjeldså, Fabre, & Miyaki, 2013). Elas compartilham componentes vegetais e estavam ligadas, no nordeste da Caatinga, através dos “brejos de altitude”, e pelas florestas de galeria, formando corredores de vegetação mais úmida no sul/sudeste do Cerrado, possibilitando o intercâmbio de espécies e a estabilidade de linhagens de florestas tropicais dentro dos domínios morfoclimáticos abertos (Borges-Nojosa & Caramaschi, 2003; Carnaval & Bates, 2007; Batalha-Filho et al., 2013; Ledo & Colli, 2017; de Sá et al., 2019).

Esforços para entender as relações entre os domínios morfoclimáticos da América do Sul identificaram as flutuações climáticas do Quaternário (Hipótese do Arco Pleistocênico – HAP) (e.g. Werneck et al., 2011; Werneck et al., 2012b; Sobral-Souza & Lima-Ribeiro, 2017) e a estabilidade do habitat (refúgios) como os principais fatores da atual distribuição dos principais tipos de vegetação florestal nos Neotrópicos (Nores, 1994; Carnaval et al., 2009; Sérsic et al., 2011; Sobral-Souza, Lima-Ribeiro, & Solferini, 2015). Os repetidos ciclos de expansão e retração da vegetação durante o Pleistoceno frio/seco e quente/úmido, respectivamente, causaram a distribuição disjunta dos STDFs e das florestas tropicais, alcançando a formação atual durante o Último Máximo Glacial (UMG) no final do Pleistoceno (Prado & Gibbs, 1993; Pennington et al., 2000). Estes fatores influenciaram a dinâmica populacional de muitas espécies ao retrair ou expandir extensões de distribuição (Haffer & Prance, 2002; Pellegrino et al., 2005; Cabanne, et al., 2007; Werneck, 2011).

Até recentemente, a espécie de anfíbio *Boana crepitans* (Wied-Neuwied, 1824) exibiu uma extensiva e intrigante distribuição geográfica, com uma população ocorrendo à Leste do Brasil, em áreas de Mata Atlântica e áreas adjacentes de Cerrado e Caatinga, e outra distribuída através do escudo da Guiana, Caribe (Tobago), Llanos, Andes e América Central (Panamá) (Orrico et al., 2017). Após análises integrativas (dados morfológicos, moleculares (mtDNA) e acústicos), incluindo populações ao longo da distribuição de *B. crepitans* (Orrico et al., 2017), foi constatada a existência de duas espécies distintas, onde a população amazônica foi revalidada como *B. xerophylla* (Duméril & Bibron, 1841), e *B. crepitans* ficou restrita ao Leste do Brasil, do estado da Paraíba ao norte do estado do Rio de Janeiro, incluindo o estado de Minas Gerais, Goiás e recentemente, também encontrada no estado de Tocantins (ver Dantas et al., 2019; Silva et al., 2020). Através destas análises, foi possível observar também uma divisão em dois clados bem suportados dentro desta faixa de ocorrência de *B. crepitans*, um clado para a Mata Atlântica Central e outro para a Mata Atlântica do Nordeste e domínios adjacentes (ver Orrico et al., 2017).

Esta espécie de hilídeo pode ser facilmente encontrada do Sudeste ao Nordeste do Brasil, predominantemente associada a habitats florestais e méxicos, com muitas populações também encontradas em ambientes secos ou xéricos, na Caatinga, no Cerrado e em regiões de Mata Atlântica (Orrico et al. 2017). Dessa forma a distribuição atual desta espécie pode ter sido influenciada pelas mudanças climáticas do Pleistoceno.

Entretanto, basear-se apenas na influência das FTSSs como explicação para a atual distribuição desta espécie não parece suficiente. Dado que espécies amplamente distribuídas em diferentes domínios morfoclimáticos representam ótimos modelos para investigar padrões de diversificação quaternária (Werneck, Gamble, Colli, Rodrigues, & Sites, 2012a) nós reconstruímos a história evolutiva deste táxon amplamente distribuído nos domínios morfoclimáticos da Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica através de uma abordagem *multilocus* avaliando toda a distribuição da espécie. Utilizamos métodos baseados em inferência

bayesiana e modelos coalescentes com o objetivo de identificar as linhagens de *Boana crepitans*, estimar o tempo de divergência entre elas e buscar quais fatores climáticos históricos estão associados com a assinatura populacional atual.

## **Materiais e Métodos**

### **Amostragem**

Nós obtivemos amostras de tecido de 116 indivíduos de *Boana crepitans*, provenientes de 40 localidades através de trabalhos de campo liderado pelos autores e por meio de doações de alíquotas de diferentes coleções herpetológicas no Brasil (ver Tabela 1). Além destes, utilizamos 36 sequências (Tabela 1) de *B. crepitans*, importadas do GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), provenientes de outras 14 localidades. Esta amostragem abrange a maior parte da distribuição da espécie (Figura 1). Utilizamos sequências de *Boana lanciformes* (Cope, 1871) e *B. xerophylla* (Duméril and Bibron, 1841) como grupo externo.

### **Sequenciamento**

Nós extraímos DNA genômico de amostras de músculo e/ou fígado usando o protocolo fenol-clorofórmio de Sambrook, Fritschi e Maniatis (1989) e o protocolo da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) de Costa, Santana, Leal, Koroiva e Garcia (2016). Nós realizamos a PCR para amplificação de fragmentos selecionados usando primers específicos com seus próprios protocolos (Tabela 2). Purificamos os produtos de PCR com técnica de Acetato-Amônio (Hirata & Head-Gordon, 1999) e as sequências foram geradas pelo método de Sanger no equipamento ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, EUA).

Primeiramente, sequenciamos todos os indivíduos para um gene do DNA mitocondrial (mtDNA) (16S ribossômico RNA; 16S). Em seguida, nós identificamos os diferentes haplótipos para o gene 16S através do programa DnaSP 5.10 (Librado & Rozas, 2009) e selecionamos indivíduos de cada haplótipo para o sequenciamento dos genes nucleares: proopiomelanocortina (POMC) e ativadores de recombinação 1 (RAG1). Nos casos onde o mesmo haplótipo ocorria em duas ou mais localidades, foram selecionados dois ou mais indivíduos, de modo a incluir representantes dos extremos da distribuição geográfica desse haplótipo, totalizando 52 amostras, seguindo uma abordagem de estudos anteriores (Ruane et al., 2014; Oliveira et al., 2015; Mângia et al., 2020). Todas as sequências obtidas foram alinhadas através do algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004) e conferidas visualmente no software Geneious 9.1.2 (Biomatters Ltd).

As 116 amostras (40 localidades), foram sequenciadas com sucesso para o gene mitocondrial 16S (285 pb, 87% do tamanho original), representando todas as localidades. Com base nos haplótipos mitocondriais das amostras selecionadas, foram obtidas 102 sequências faseadas de POMC (354 pb) e 104 sequências faseadas de RAG1 (1.038 pb) (Tabela 1), totalizando 52 amostras que tiveram o gene mitocondrial e ao menos um gene nuclear sequenciado. Foram obtidas na plataforma do GenBank, 15 sequências do gene 12S (718 pb), 16 sequências do gene COI (497 pb) e 5 para o gene 16S (Tabela 1). As sequências mtDNA 16S obtidas no Genbank foram incluídas no alinhamento com as amostras sequenciadas neste trabalho, totalizando 121 amostras.

Nós encontramos lacunas nos genes 12S e 16S e as removemos usando o Gblocks 0.91b (Castresana, 2000; Talavera & Castresana, 2007), disponível como servidor da web ([http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks\\_server.html](http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks_server.html)). Este programa remove sítios alinhados de forma ambígua, desta forma, elimina os gaps e deixa as sequências do mesmo tamanho, facilitando a reprodução dos alinhamentos e subsequente análise filogenética por outros pesquisadores, reduzindo a necessidade de editar manualmente vários alinhamentos.

Utilizamos o algoritmo PHASE (Stephens, Smith, & Donnelly, 2001) implementado no software DnaSP 5.10 (Librado & Rozas, 2009) usando as opções padrão para determinar os pares de alelos mais prováveis para cada sequência nuclear em heterozigose. Consideramos nas análises subsequentes apenas os pares de alelos com probabilidade maior que 80%. Todas as seqüências obtidas neste estudo serão depositadas no GenBank (números de acesso ainda não disponíveis).

### **Estrutura populacional**

Nós utilizamos uma matriz genotípica de um gene mtDNA (16S) e dois nDNA (POMC e RAG-1) combinados com um arquivo contendo coordenadas espaciais dos indivíduos amostrados, para usar extensivamente todos os dados disponíveis para investigar a estrutura populacional com o programa GENELAND 4.0.3 (Guillot, Mortier, & Estoup, 2005a; Guillot, Estoup, Mortier, & Cosson, 2005b) implementado na plataforma R 3.6.1 (R Core Team, 2019), que utiliza o algoritmo de agrupamento de STRUCTURE sob um modelo espacial. Essa análise avalia a presença da estrutura populacional em um grupo de dados genéticos georreferenciados identificando e inferindo explicitamente descontinuidades genéticas ao longo da paisagem. O número mais provável de unidades populacionais ( $k$ ) foi determinado pelo método Monte Carlo via Cadeia de Markov (MCMC), com 3 repetições ( $1 \times 10^6$  iterações em cada) de  $k=1$  a 4.

### **Diversidade molecular e rede de haplótipos**

Sequências mitocondriais e nucleares “faseadas” de cada gene e cada linhagem identificadas com base nos agrupamentos do GENELAND foram utilizadas para calcular o número de sítios polimórficos ( $S$ ), número de haplótipos ( $h$ ), diversidade de haplótipos ( $Hd$ ), diversidade de nucleotídeos ( $\pi$ ), para cada *locus* usando o programa DnaSP v5.10.1. A diferenciação genética entre e dentro de cada linhagem também foi quantificada através da Análise de Variância Molecular (AMOVA), implementada no programa Arlequin 3.5, utilizando-se 10.000 permutações (Excoffier & Lischer, 2010).

Calculamos a divergência de sequência para o gene 16S (distância- $p$  não corrigida) entre linhagens encontradas pelo Geneland usando o MEGA v 6.06 (Tamura, Stecher, Peterson, Filipinski, & Kumar, 2013). Estimamos também, redes de haplótipos para genes mtDNA e nDNA (faseados) usando o método *median-joining* (MJ) (Bandelt et al., 1999) no programa POPART (Leigh & Bryan, 2015), empregando-se as configurações padrão. Identificamos cada linhagem usando cores diferentes na rede de haplótipos. Para esta análise, os indivíduos foram designados para populações seguindo os resultados do GENELAND.

### **Árvore de espécies**

A árvore de espécies foi feita no programa BEAST 1.8 (Drummond et al., 2012) usando genes mtDNA e nDNA (faseados). Esta análise requer uma atribuição a priori de alelos individuais a uma espécie antes de estimar o relacionamento e, portanto, fizemos atribuições baseadas nos resultados do GENELAND. Devido à falta de calibrações fósseis para este grupo, utilizamos a taxa de mutação 16S proposta por Lemmon, Lemmon, Collins, Lee-Yaw e Cannatella (2007) e Lymberakis et al. (2007) (0,28% por linhagem por milhão de anos) utilizando um processo de nascimento e morte (Birth-Death process). Em seguida, todas as análises no BEAST foram realizadas por  $3 \times 10^8$  gerações e amostradas a cada  $3 \times 10^4$  gerações (mais detalhes na Tabela 3). Avaliamos a convergência das execuções do MCMC e valores de ESS ( $\geq 200$ ) usando TRACER 1.6 (Drummond & Rambaut, 2007). Os primeiros 20% das genealogias amostradas foram descartadas (burn-in) e a árvore de credibilidade máxima do clado foi inferida com o TreeAnnotator 1.8 (Drummond et al., 2012).

## Demografia histórica

Calculamos o D de Tajima, que permite a rejeição de uma hipótese nula, e se uma população estiver estável ao longo do tempo, espera-se que esta estatística seja próxima de zero. Então, se uma população experimentou crescimento, valores negativos são esperados, pois alelos raros são mais numerosos que o esperado e um valor positivo será recuperado se alelos raros forem eliminados após gargalo (Tajima, 1989). Estimamos o D do Tajima com 1.000 simulações para cada *locus* no software DnaSP 5.10 (Librado & Rozas, 2009).

Para investigar as oscilações passadas nos tamanhos efetivos da população de ambas as linhagens em *B. crepitans*, utilizamos um modelo não-paramétrico com único locus que estima o tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) ao longo do tempo, o *Bayesian SkyLine Plot* (Drummond, Rambaut, Shapiro, & Pybus, 2005; Drummond et al., 2007; 2012). Cada uma das duas linhagens foi analisada separadamente no BEAST. Os parâmetros utilizados nas análises estão apresentados na Tabela 3. Calculamos os valores de  $N_e$  para 50 intervalos de tempo (*grid points*) ao longo dos últimos 500 mil anos (*cutoff*). Baseamos a calibragem de tempo na taxa de substituição estimada para o gene mitocondrial 16S ( $2,8 \times 10^{-3}$  substituição/sítio/ano) e avaliamos os valores de convergência dos parâmetros, estacionariedade e ESS ( $\geq 200$ ) visualmente no programa TRACER e em seguida, através da função *Skyline Reconstruction* do mesmo programa, geramos os gráficos que ilustram a dinâmica demográfica histórica das populações.

## Reconstrução filogeográfica e centro de origem

Para gerar as reconstruções filogeográficas, utilizamos o gene mtDNA 16S através do modelo *Homogeneous Brownian Diffusion* (Lemey, Rambaut, Welch, & Suchard, 2010), para as linhagens Oeste e Leste implementado no programa BEAST. Obtivemos a partir da análise da árvore de espécies e tempo de divergência, a taxa de mutação utilizada para o *locus* (ver valor na Tabela 3). Para o gene analisado, nós usamos as coordenadas geográficas das amostras (*traits*) e as sequências nucleotídicas. Algumas coordenadas das amostras foram duplicadas, então usamos uma opção de jitter de 0,05. À medida em que estima a localização geográfica dos nós internos em cada genealogia, a análise também utiliza inferência bayesiana para fazer a reconstrução dos caracteres contínuos ancestrais. Abrimos no programa SPREAD 1.0.4 (Bielejec, Rambaut, Suchard, & Lemey, 2011) a árvore final do gene 16S, que cria um arquivo em formato *keyhole markup language* (.kml) contendo a reconstrução da história filogeográfica do gene. O arquivo .kml pode ser aberto no Google Earth, que exibe a representação da área onde possivelmente se originou cada nó da árvore filogenética e o surgimento gradual de polígonos (baseados em 80% de alta densidade posterior). As possíveis rotas de colonização das linhagens são sugeridas pela ordem em que surgem os polígonos. O provável centro de origem de cada linhagem de *B. crepitans* foi reconhecida pela área em que há sobreposição dos polígonos dos nós mais basais da árvore do gene utilizado.

## Migração

As análises anteriores mostraram que *B. crepitans* é composta por duas linhagens principais (definidas como linhagens Oeste e Leste). Foi de suma importância em nossa análise avaliar os níveis de fluxo gênico, pois as duas linhagens recuperadas não são reciprocamente monofiléticas para todos os genes e identificamos compartilhamento de haplótipos entre as populações. Para estimar o fluxo gênico, o tamanho da população ancestral e atual e o tempo de divergência entre as linhagens Oeste e Leste, usamos o programa MIGRATE-N 4.4.3 (Beerli 2006), baseado em coalescência, para testar o fluxo gênico. Um modelo de migração foi testado: um modelo completo de migração em que populações inferidas estão trocando migrantes. Os parâmetros de migração foram estimados em todos os locais em termos de taxas de imigração em escala de mutação  $M$  ( $m/\mu$ ) e tamanhos efetivos de

população em escala de mutação  $\Theta$  ( $4N\mu$ ) foram calculados para cada população. Utilizamos uma abordagem bayesiana e integração termodinâmica de quatro cadeias com um esquema de troca de aquecimento estático (temperaturas: 1.0, 1.5, 3.0,  $10^6$ ), amostrando a cada  $100^{\text{th}}$  incremento para um total de 50.000 etapas e um burn-in de 5.000 etapas. Os modelos são responsáveis pelas taxas de migração e pelo tamanho efetivo da população.

### **Modelo de nicho ecológico**

Utilizamos 120 registros de ocorrência para a construção dos modelos finais para as espécies: 21 para o MNE da linhagem Oeste e 99 para a linhagem Leste (Tabela 1). Modelamos nichos ecológicos para a espécie e separadamente para cada linhagem recuperada pelas análises filogenéticas para permitir a estimativa das áreas de distribuição em potencial para a espécie e suas linhagens. Usamos o algoritmo de entropia máxima (Maxent, Phillips et al., 2006) através do pacote *dismo* (Hijmans, Phillips, Leathwick, Elith, & Hijmans, 2017) no programa R para construir os MNEs. Maxent gera previsões a partir de apenas dados de presença, com base no princípio da entropia máxima, que pressupõe que a melhor aproximação para uma distribuição de probabilidade desconhecida é aquela que satisfaz qualquer restrição à sua distribuição (Phillips et al., 2006; Elith, Phillips, Hastie, Dudík, Chee, & Yates, 2011).

Um método importante para evitar erros de omissão é reduzir a extensão da área de estudo – a região onde os pontos de fundo serão gerados para o treinamento de modelagem – a ser usada nos MNEs (Anderson & Raza, 2010) desde previsões negativas falsas (quando um modelo falha em prever uma área em que a espécie ocorre) tende a aumentar com a extensão da área de estudo (Pearson 2010). Assim, reduzimos a extensão da área de fundo a ser usada nos MNEs cortando as camadas de variáveis ambientais no programa R (R Core Team, 2019). Para avaliar a redundância entre variáveis, construímos uma matriz de correlação de Pearson com o pacote *ENMTools* (Warren, Glor, & Turelli, 2010) no R, mantendo apenas variáveis não correlacionadas, considerando um limiar de  $r > 0,75$  (Rissler & Apodaca, 2007) e alta relevância biológica para a espécie. A relevância biológica foi avaliada considerando o hábito da espécie e a contribuição de variáveis nos MNEs preliminares usando o teste de Jackknife em Maxent (Phillips, Anderson, & Schapire, 2006). Este método avalia a contribuição das variáveis para modelar o desempenho construindo modelos com cada variável sozinha e removendo cada variável uma por vez. Utilizamos apenas variáveis não correlacionadas com alta relevância para gerar os MNEs finais para as espécies e suas linhagens. Por fim, oito variáveis bioclimáticas foram selecionadas: Intervalo médio diurno (Média mensal (temperatura máxima - temperatura mínima) (bio2), Sazonalidade de temperatura (desvio padrão\*100) (bio4), Temperatura máxima do mês mais quente (bio5), Precipitação anual (bio12), Sazonalidade de precipitação (coeficiente de variação) (bio15), Precipitação do quadrimestre mais quente (bio18), Precipitação do quadrimestre mais frio (bio19) e Elevação.

### *Construção modelo*

O Maxent tornou-se um algoritmo adequado e amplamente utilizado, devido à escassez de estudos de longo prazo que coletam dados confiáveis de ausência de espécies, sendo considerado mais bem-sucedido do que outros métodos para gerar modelos a partir de um número reduzido de pontos de ocorrência (Elith et al., 2011), como é o caso das linhagens de *B. crepitans*. Os modelos finais foram gerados usando 10 réplicas independentes, enquanto 25% dos pontos (k) foram usados para teste usando o método Bootstrap. O Bootstrap é recomendado para um número reduzido de ocorrências porque seleciona aleatoriamente do conjunto de dados original um número (k) de registros para testar o modelo, definidos a priori com a substituição, para que o mesmo registro de ocorrência possa ser incluído em um teste



de modelo mais adequação de 0 (representando condições inadequadas) a 1 (adequação máxima) (Phillips et al., 2006).

O desempenho dos modelos foi avaliado pelo método AUC (Area Under the Curve), com o valor limite de  $AUC > 0,7$  para aceitar modelos (Phillips et al., 2006 sugerem valores superiores a 0,5). Projetamos os ENMs de cada linhagem em paleoclima do passado, correspondentes a LIG (~120 a 140 kya), LGM (~21 kya) e Holoceno médio (~6 kya), com o intuito de detectar padrões compatíveis com retração ou expansão de distribuições modeladas durante paleoclima, indicativos de um papel de refúgios de habitat ou expansão para florestas úmidas e secas, respectivamente. O uso inferencial de modelos de paleodistribuição em biogeografia tem se mostrado útil para desvendar hipóteses alternativas, em estudos filogeográficos que abordam eventos recentes de diversificação (Chan, Brown, & Yoder, 2011; Tonini, Costa, & Carnaval, 2013; Alvarado-Serrano & Knowles, 2014; Pyron, Costa, Patten, & Burbrink, 2015; Leite et al., 2016).

## Resultados

### Sequenciamento e estrutura filogenética

A partir do conjunto de dados das sequências mtDNA e nDNA, a análise do GENELAND detectou duas populações (Figura 2). Uma é distribuída do nordeste para o sudeste da Mata Atlântica, ocupando grande parte desse domínio (linhagem Leste), e áreas adjacentes dos domínios morfoclimáticos Caatinga e Cerrado, e a outra ocorre ao sul do domínio Caatinga e sudeste até o centro do domínio Cerrado (linhagem Oeste).

A linhagem Oeste apresenta maior diversidade de haplótipos e nucleotídeos do que a linhagem Leste para os genes mtDNA; no entanto, para os genes nDNA, a linhagem Leste apresenta maior diversidade de haplótipos e nucleotídeos do que a linhagem Oeste (Tabela 4). A AMOVA mostrou baixos valores de  $F_{ST}$  (1–9%) para todos os genes. Em todos os cinco genes, mais de 90% da variação genética foi explicada por diferenças dentro das linhagens e apenas uma pequena parcela das diferenças foi encontrada entre as linhagens, não indicando estruturação populacional (Tabela 5).

Os cálculos da distância- $p$  a partir do gene 16S indicam uma diferença de até 2,2% entre as duas linhagens, uma diferenciação interna de até 1,8% na linhagem Leste e até 2,2% na linhagem Oeste (Material Suplementar 1). A estrutura da população não pode ser facilmente visualizada através de redes de haplótipos mtDNA e nDNA, pois vários haplótipos são compartilhados entre as linhagens Leste e Oeste em todos os genes (Figura 3).

### Árvore de espécies e tempo de divergência

A árvore de espécies obtida no \*BEAST baseada nos cinco genes, identificou as duas linhagens com suporte de 100% de probabilidade posterior (Figura 4). As análises com taxas de substituição de 16S de  $2,8 \times 10^{-3}$  substituição/sítio/ano apontam que essas linhagens divergiram por volta de 0.28 Maa (95% HPD = 0.12 – 0.48 Maa). As estimativas correspondem à época entre o final do Pleistoceno e o início do Holoceno.

### Demografia Histórica

A análise do *Skyline* revelou que as linhagens Leste e Oeste se mantiveram estáveis durante os últimos 500 mil anos (Figura 5). Esses resultados são corroborados pelas redes de haplótipos (Figura 3), nas quais é possível observar que nenhuma linhagem exibe um padrão “em estrela”, típico de populações que sofreram recente expansão demográfica. Além disso, constituindo evidência adicional que não há expansão populacional desses clados, os valores de  $D$  de Tajima para todos os genes, nas duas linhagens (Leste e Oeste) não se mostraram significativos (Tabela 4).

### **Reconstrução filogeográfica e centro de origem**

As análises de centro de dispersão indicam que o ancestral comum mais antigo das linhagens Leste e Oeste surgiu provavelmente no sul do estado da Bahia, à Leste da Cadeia de Montanhas do Espinhaço (Figura 6). Os polígonos dos clados basais do gene 16S se sobrepõem na região que corresponde atualmente ao Espinhaço Central e Setentrional, no estado da Bahia. A reconstrução filogeográfica do gene 16S demonstra que as populações localizadas no noroeste do estado da Bahia até o estado da Paraíba e no sudeste do estado de Minas Gerais resultam de colonizações mais recentes. A população ancestral posteriormente se expandiu para o nordeste, oeste, leste e sul da cadeia do Espinhaço colonizando toda esta região durante o final do Pleistoceno (Figura 6).

### **Migração**

O número de imigrantes por geração da população do Leste para Oeste ( $M_{1 \rightarrow 2} = 443.5$ ) foi quase três vezes maior do que o da população do Oeste para Leste ( $M_{2 \rightarrow 1} = 170.7$ ). Além disso, o tamanho efetivo em escala de mutação da população do Leste ( $\Theta_{\text{Leste}} = 0,00407$ ) foi quatro vezes maior que o da população do Oeste ( $\Theta_{\text{Oeste}} = 0,00106$ ). O tamanho efetivo amostral ficou acima de 1.000 para todos os parâmetros estimados  $\Theta$  e  $M$ , conforme recomendado pelo manual do programa (Tabela 6).

### **Modelo de nicho ecológico**

O MNE para a espécie teve um valor elevado de AUC (0,91) com as variáveis de Sazonalidade de temperatura (desvio padrão \*100) (bio4, 64,79%), Precipitação anual (bio12, 15,69%) e Intervalo médio diurno (Média mensal (temperatura máxima - mínima) (bio2, 12,42%) apresentando elevada contribuição ao modelo. O MNE da espécie previa uma grande área de distribuição, incluindo o nordeste e sudeste do Brasil (Figura 7). O MNE para a linhagem Oeste também teve um alto valor de AUC (0,9), com a maior contribuição para o modelo das variáveis de Precipitação do quadrimestre mais frio (bio19, 37,87%), Precipitação anual (bio12, 27,01%) e Elevação (19,83%). O modelo previu alta adequação em uma grande área no centro-norte do estado da Bahia, onde a linhagem ocorre, atingindo algumas áreas dentro da Caatinga no nordeste e em outras áreas ao oeste da cadeia do Espinhaço (Figura 7). O MNE para a linhagem Leste também teve uma AUC semelhante aos demais modelos (0,91), com as variáveis que mais contribuíram para o modelo: Sazonalidade de temperatura (bio4, 66,3%), Intervalo médio diurno (Média mensal (temperatura máxima - mínima) (bio2, 13,94%) e Precipitação anual (bio12, 12,63%), prevendo uma área potencial de distribuição dessa linhagem ao longo do nordeste e sudeste, e também em áreas de Cerrado, no estado de São Paulo, e de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro, locais onde a espécie não ocorre (Figura 7).

### **Modelos de paleodistribuição**

Projeções do MNEs para condições paleoclimáticas para o LGM (~21 kya) indicaram que a área potencial adequada para a linhagem do leste estava fragmentada durante esse período, ocorrendo em apenas algumas áreas de refúgio na Mata Atlântica do nordeste e sudeste (Figura 7). Os modelos de paleo distribuição das linhagens do Leste e do Oeste revelaram uma área bem menor durante esse período do que os previstos para o presente. A distribuição da linhagem Oeste foi maior durante o Holoceno médio do que atualmente (Figura 7). Os modelos de paleo distribuição para as duas linhagens durante o LIG (~120 a 140 kya) previram uma distribuição um pouco maior do que a distribuição prevista para o LGM e menor do que as distribuições previstas para o Holoceno médio e o presente (Figura 7).

## Discussão

Nossos resultados apoiam a hipótese da diversificação neotropical ocorrendo durante as flutuações climáticas do Pleistoceno (Vanzolini & Willians, 1981; Rull, 2011). Neste período em que eventos de expansão e retração dos domínios morfoclimáticos isolaram e estabilizaram ilhas de matas xéricas, podendo estas, estarem interligadas por corredores de vegetação méscica nas STDFs (Werneck, 2011).

A dessemelhança nas árvores gênicas e a dificuldade na estimativa das árvores, entre populações ou espécies intimamente relacionadas com baixos níveis de divergência, são reflexo de processos evolutivos como “classificação incompleta de linhagem” e “fluxo gênico” entre populações ou espécies (Maddison & Knowles, 2006; Leaché, Fujita, Minin, & Bouckaert, 2014). Essa diferença pode representar alguma conservação de polimorfismos ancestrais devido à classificação incompleta das linhagens, indicada pela baixa variabilidade e o compartilhamento de haplótipos. No entanto, também encontramos evidências de migração entre populações, o que pode indicar uma introgressão genética. Dessa forma, não pode ser descartada a possibilidade de que o fluxo gênico tenha efeito sobre a inferência filogenética.

Os períodos glaciais e interglaciais durante as oscilações climáticas do Quaternário produziram mudanças nas distribuições das espécies (Hewitt, 2000). Este impacto sobre a biodiversidade tem sido amplamente discutido (Cardoso, Cristiano, Tavares, Schubart, & Heinze, 2015) e parece ter sido fundamental à diversificação da herpetofauna em diferentes domínios morfoclimáticos da América do Sul (e.g. Carnaval et al., 2009; Werneck et al., 2012b; Santos, Nogueira, Giugliano, & Colli, 2014; Oliveira et al., 2015; Thomé et al. 2016; Gehara et al., 2017; Ledo et al., 2020), permitindo a ocupação das biota florestais nas STDFs e vice-versa (de Oliveira et al., 1999; Pessenda et al., 2004; Pessenda et al., 2010; Batalha-Filho et al., 2013; Ledo & Colli, 2017; Buzatti et al., 2018; Ledo et al., 2020). Nossos resultados filogenéticos corroboram esta hipótese, pois o tempo de divergência estimado pela análise bayesiana indica que as duas linhagens se separaram no Pleistoceno tardio (0.28 Maa 95% HPD = 0.12-0.48 Maa), período marcado por intensas oscilações climáticas com aumento de amplitude (Head & Gibbard, 2005). Resultados encontrados em outros estudos filogeográficos com a herpetofauna da América do Sul também corroboram essa estimativa (Fitzpatrick, Brasileiro, Haddad, & Zamudio, 2009; Thomé et al., 2010; Vásquez, Correa, Pastenes, Palma, & Méndez, 2013; Menezes et al., 2016; Turchetto-Zolet et al., 2013; Ledo & Colli, 2017). O início da glaciação no Hemisfério Norte, iniciada no Mioceno tardio, e sua intensificação com a formação de mantos de gelo no Plioceno tardio (Maslin, Mikkelsen, Vilela, & Haq, 1998), contribuíram consideravelmente para a expansão de um clima semiárido no nordeste do Brasil. Assim, mudanças nas distribuições dos domínios morfoclimáticos (Sobral-Souza et al., 2015) podem ter isolado populações de *B. crepitans* em áreas estáveis disjuntas, possibilitando a divergência das linhagens bem como a estruturação populacional durante o Pleistoceno.

A reconstrução espaço-temporal mostrou que após ter originado ao Leste da cadeia de montanhas do Espinhaço, a espécie *B. crepitans* se espalhou para o Oeste, onde uma linhagem foi estabelecida (Figura 6). As fases de difusão indicam uma demografia histórica que começou no Plio-Pleistoceno (~3.5 Maa) e foi marcada por difusões a longa distância que pode estar associado à geomorfologia de ambientes xéricos e méscicos. O isolamento por distância desempenha um papel importante na formação da estrutura genética de vários grupos de organismos (e.g. Santos et al., 2014; Vasconcellos et al., 2019; Bartoletti, Peres, Fontes, da Silva, & Solferini, 2018; Melo, Freitas, Bacon, & Collevatti, 2018). As diferenças entre as populações de *B. crepitans* Leste e Oeste não apoiam o papel dos rios como uma grande barreira que promove a diversificação, pois encontramos evidências de fluxo gênico sem a presença de linhagens claras nas margens do rio São Francisco. Nossos resultados são consistentes com alguns estudos recentes sobre linhagens generalizadas da Caatinga que não

mostraram estrutura filogeográfica entre as margens do rio (Caetano et al., 2008; Magalhães et al., 2014; Recoder et al., 2014; Oliveira et al., 2018) e também corroboram com os resultados encontrados por Ledo et al., (2020), para a espécie do lagarto *Colobosaura modesta*. A estrutura genética observada em *B. crepitans* indica que as expansões e retrações das florestas méxicas no Pleistoceno promoveram o fluxo intraespecífico de genes, isolando populações periféricas em relação às populações centrais através de redes interconectadas que as matas ciliares formaram entre a Mata Atlântica, Caatinga e o Cerrado no Brasil, promovendo diferenças entre elas (Mares & Ernest, 1995; Oliveira-Filho & Ratter, 1995; de Oliveira et al., 1999).

A distribuição geográfica das espécies neotropicais tem sido discutida desde a Teoria de Refúgios (Haffer, 1969; Vanzolini & Williams, 1981), sugerindo que as florestas úmidas teriam se retraído durante os períodos glaciais e expandido durante os interglaciais. Embora alguns organismos apresentem esse padrão esperado (e.g. de Ré et al., 2014), trabalhos recentes desafiaram esse conceito, pois vários organismos exibiram estabilidade populacional (e.g. Batalha-Filho et al., 2012) ou expansão pré-LGM (e.g. Peres et al., 2015). Portanto, as variações climáticas desse período tiveram efeitos semelhantes na demografia das linhagens Leste e Oeste de *B. crepitans*. O tamanho populacional das linhagens Leste e Oeste se manteve estável nos últimos 500 mil anos (Figura 5), embora isso pareça contradizer as poucas áreas estáveis preditas pela modelagem de nicho. Também descobrimos que a linhagem Oeste tem baixos níveis de variação genética e corrobora com alguns estudos que demonstram que espécies que ocorrem nas matas ciliares das depressões do Cerrado (Bartoleti et al., 2018; Vasconcellos et al., 2019) representam linhagens recentes.

A ausência de divergências genéticas recentes nas linhagens Leste e Oeste, podem ser explicadas pelas oscilações Quaternárias, considerando-se que eventuais subclados da linhagem Leste já diferenciados ou em processo de diferenciação permaneceram mais estáveis ao longo do tempo por conta do grande refúgio da Caatinga estar intimamente relacionado com o refúgio da Mata Atlântica previsto a partir de paleomodelagem (Carnaval & Moritz, 2008) e a linhagem Oeste possivelmente ficou restrita em áreas de refúgio com vegetação xérica à Oeste da cadeia de montanhas do Espinhaço. A capacidade de *B. crepitans* lidar com uma ampla gama de condições ambientais, pode ajudar a explicar a estabilidade demográfica encontrada em nossos dados, pois as respostas às flutuações climáticas dependem muito das tolerâncias ecológicas e ambientais da espécie (Prates, Rivera, Rodrigues, & Carnaval, 2016).

As análises de modelagem de nicho ecológico e de estrutura genética indicaram que a distribuição geográfica e estrutura genética de *B. crepitans* pode ter sofrido modificações no Quaternário (~120 a 6 mil anos atrás). Nós recuperamos áreas de estabilidade prevista (refúgio), conforme apontado pela modelagem de nicho (Figura 7) e os modelos mostram que a distribuição potencial da espécie sofreu uma redução da faixa durante o LGM, com uma quebra entre um refúgio isolado no Centro-Oeste do Brasil e outros dois no Nordeste. Essas áreas coincidem com os centros de endemismo da Serra Geral de Goiás (SGGR), proposta por Werneck et al., (2012b) e de Pernambuco e da Bahia propostos por Carnaval e Moritz (2008), que presumivelmente promoveram os padrões de divergência em vários organismos (Carnaval et al., 2009; Menezes et al., 2016). Este cenário reflete a distinção entre os clusters Oeste e Leste, e essas diferenças de nicho ecológico podem ter promovido diversificação adicional entre esses dois grupos, visto que as mudanças na distribuição da vegetação no Pleistoceno tenham formado fortes assinaturas genéticas em muitos grupos (Carnaval et al., 2009; Lancey Knowles & Alvarado-Serrano, 2010; Lessa, D'Elia, Guillermo, & Pardinas, 2010).

## Conclusões

Os eventos de expansão e retração dos domínios morfoclimáticos do Cerrado, Caatinga e da Mata Atlântica, com a estabilidade de ilhas de matas xéricas isoladas ocorridas

no Pleistoceno parecem explicar a diversificação entre as duas linhagens, Leste e Oeste encontradas em *Boana crepitans*. Contudo, provavelmente não foi suficiente para interromper o fluxo gênico completamente, desde que as áreas circundantes fossem cobertas por formações abertas e secas com preferências térmicas compatíveis. Assim, um cenário de isolamento parcial produzido pelos refúgios durante períodos úmidos e secos parece plausível. Investigar a estrutura filogeográfica e a história demográfica de outros táxons que habitam vegetações xéricas é substancial para a compreender se há padrões gerais de diversificação, pois a importância de cada evento histórico varia dependendo da biologia das espécies sob estudo.

### Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. EAP agradece a bolsa de estudos oferecida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq processo n° 141718/2016-1), ao professor Doutor Miguel Vences, da Technische Universität of Braunschweig (TU), por ter financiado parte dos sequenciamentos e ter permitido realizar análises e experimentos moleculares no seu laboratório e a Meike Kondermann e Gabi Keuncke pela ajuda com os processos laboratoriais. DJS agradece ao (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de pesquisa (311492/2017-7).

### Referências

- Alvarado-Serrano, D. F., & Knowles, L. L. (2014). Ecological niche models in phylogeographic studies: applications, advances and precautions. *Molecular Ecology Resources*, *14*(2), 233–248. doi: 10.1111/1755-0998.12184
- Anderson, R. P., & Raza, A. (2010). The effect of the extent of the study region on GIS models of species geographic distributions and estimates of niche evolution: preliminary tests with montane rodents (genus *Nephelomys*) in Venezuela. *Journal of Biogeography*, *37*(7), 1378–1393. doi: 10.1111/j.1365-2699.2010.02290.x
- Antonelli, A., & Sanmartín, I. (2011). Why are there so many plant species in the Neotropics?. *Taxon*, *60*(2), 403–414. doi: 10.1002/tax.602010
- Antonelli, A., Ariza, M., Albert, J., Andermann, T., Azevedo, J., Bacon, C., ... Edwards, S. V. (2018). Conceptual and empirical advances in Neotropical biodiversity research. *PeerJ*, *6*, e5644. doi: 10.7717/peerj.5644
- Avise, J. C. (2009). Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of biogeography*, *36*(1), 3–15. doi: 10.1111/j.1365-2699.2008.02032.x
- Bandelt, H. J., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, *16*(1), 37–48. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036
- Bartoletti, L. F. D. M., Peres, E. A., Fontes, F. V. H. M., da Silva, M. J., & Solferini, V. N. (2018). Phylogeography of the widespread spider *Nephila clavipes* (Araneae: Araneidae) in South America indicates geologically and climatically driven lineage diversification. *Journal of Biogeography*, *45*(6), 1246–1260. doi: 10.1111/jbi.13217
- Batalha-Filho, H., Cabanne, G. S., & Miyaki, C. Y. (2012). Phylogeography of an Atlantic forest passerine reveals demographic stability through the last glacial maximum. *Molecular phylogenetics and evolution*, *65*(3), 892–902. doi: 10.1016/j.ympev.2012.08.010
- Batalha-Filho, H., Fjeldså, 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*(1), 41–50. doi: 10.1007/s10336-012-0866-7

- Beerli, P. (2006). Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters. *Bioinformatics*, 22(3), 341–345. doi: 10.1093/bioinformatics/bti803
- Bielejec, F., Rambaut, A., Suchard, M. A., & Lemey, P. (2011). SPREAD: spatial phylogenetic reconstruction of evolutionary dynamics. *Bioinformatics*, 27(20), 2910–2912. doi: 10.1093/bioinformatics/btr481
- Bokermann, W. C. A. (1966). *Lista anotada das localidades tipo de anfíbios brasileiros*. São Paulo: Serviço de Documentação, Universidade Rural São Paulo.
- Borges-Nojosa, D. M., & Caramaschi, U. (2003). Composição e análise comparativa da diversidade e das afinidades biogeográficas dos lagartos e anfisbenídeos (Squamata) dos brejos nordestinos. *Ecologia e conservação da Caatinga*, 1, 489–540.
- Bush, M. B., & Oliveira, P. E. D. (2006). The rise and fall of the Refugial Hypothesis of Amazonian speciation: a paleoecological perspective. *Biota Neotropica*, 6(1). doi: 10.1590/S1676-06032006000100002
- Buzatti, R. S. D. O., Pfeilsticker, T. R., de Magalhães, R. F., Bueno, M. L., Lemos-Filho, J. P., & Lovato, M. B. (2018). Genetic and historical colonization analyses of an endemic Savanna tree, *Qualea grandiflora*, reveal ancient connections between Amazonian Savannas and Cerrado core. *Frontiers in Plant Science*, 9. doi: 10.3389/fpls.2018.00981
- Cabanne, G. S., Santos, F. R., & Miyaki, C. Y. (2007). Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 91(1), 73–84. doi: 10.1111/j.1095-8312.2007.00775.x
- Cabanne, G. S., d’Horta, F. M., Sari, E. H., 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(3), 760–773. doi: 10.1016/j.ympev.2008.09.013
- Caetano, S., Prado, D., Pennington, R. T., Beck, S., Oliveira-Filho, A., Spichiger, R., & Naciri, Y. (2008). The history of seasonally dry tropical forests in East South America: inferences from the genetic structure of the tree *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). *Molecular Ecology*, 17(13), 3147–3159. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03817.x
- Cardoso, D. C., Cristiano, M. P., Tavares, M. G., Schubart, C. D., & Heinze, J. (2015). Phylogeography of the sand dune ant *Mycetophylax simplex* along the Brazilian Atlantic Forest coast: remarkably low mtDNA diversity and shallow population structure. *BMC evolutionary biology*, 15(1), 106. doi: 10.1186/s12862-015-0383-4
- Carnaval, A. C., & Bates, J. M. (2007). Amphibian DNA shows marked genetic structure and tracks Pleistocene climate change in Northeast Brazil. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 61(12), 2942–2957. doi: 10.1111/j.1558-5646.2007.00241.x
- Carnaval, A. C., & Moritz, C. (2008). Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 35(7), 1187–1201. doi: 10.1111/j.1365-2699.2007.01870.x
- Carnaval, A. C., Hickerson, M. J., Haddad, C. F., Rodrigues, M. T., & Moritz, C. (2009). Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, 323(5915), 785–789. doi: 10.1126/science.1166955
- Castresana, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution*, 17(4), 540–552. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334

- Chan, L. M., Brown, J. L., & Yoder, A. D. (2011). Integrating statistical genetic and geospatial methods brings new power to phylogeography. *Molecular phylogenetics and evolution*, *59*(2), 523–537. doi: 10.1016/j.ympev.2011.01.020
- Cope, E. D. (1871 "1870"). Eighth contribution to the herpetology of tropical America. *Proceedings of the American Philosophical Society*, *11*, 553–559.
- Costa, H. C., Santana, D. J., Leal, F., Koroiva, R., & Garcia, P. C. A. (2016). A new species of *Helicops* (Serpentes: Dipsadidae: Hydropsini) from Southeast Brazil. *Herpetologica*, *72*(2), 157–166. doi: 10.1655/herpetologica-D-15-00059.
- da Silva, J. M. C., Leal, I. R. & Tabarelli, M. (2017). *Caatinga: The largest Tropical Dry Forest region in South America*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing.
- Dantas, S. P., Tavares, H. D., Pascoal, W., Saviato, M. J., Ávila, R. W., Vasconcelos, T. S., & Oda, F. H. (2019). New distribution records from the Brazilian Cerrado and species distribution modelling of *Boana crepitans*, *Lithobates palmipes*, *Pipa pipa*, and *Micrurus h. hemprichii*. *Biodiversity*, *20*(4), 149–160. doi: 10.1080/14888386.2019.1664931
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods*, *9*(8), 772–772. doi: 10.1038/nmeth.2109
- Darst, C. R., & Cannatella, D. C. (2004). Novel relationships among hylid frogs inferred from 12S and 16S mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *31*(2), 462–475. doi: 10.1016/j.ympev.2003.09.003
- de 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.
- de Ré, F. C., Gustani, E. C., Oliveira, A. P. F., Machado, L. P., Mateus, R. P., Loreto, E. L., & Robe, L. J. (2014). Brazilian populations of *Drosophila maculifrons* (Diptera: Drosophilidae): low diversity levels and signals of a population expansion after the Last Glacial Maximum. *Biological journal of the Linnean Society*, *112*(1), 55–66. doi: 10.1111/bij.12244
- de Sá, R. O., Tonini, J. F. R., van Huss, H., Long, A., Cuddy, T., Forlani, M. C., ... Haddad, C. F. (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. doi: 10.1016/j.ympev.2018.10.021
- Drummond, A. J., Rambaut, A., Shapiro, B., & Pybus, O. G. (2005). Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution*, *22*, 1185–1192. doi: 10.1093/molbev/msi103
- Drummond, A., & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, *7*, 214. doi: 10.1186/1471-2148-7-214
- Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., & Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, *29*, 1969–1973. doi: 10.1093/molbev/mss075
- Duméril, A. M. C., & Bibron, G. (1841). *Erpétologie Générale ou Histoire Naturelle Complète des Reptiles* (8 Eds.). Paris: Librairie Encyclopedique de Roret.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, *32*(5), 1792–1797. doi: 10.1093/nar/gkh340

- Elith, J., Phillips, S. J., Hastie, T., Dudík, M., Chee, Y. E., & Yates, C. J. (2011). A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and distributions*, *17*(1), 43–57. doi: 10.1111/j.1472-4642.2010.00725.x
- Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, *10*(3), 564–567. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
- Feller, A. E., & Hedges, S. B. (1998). Molecular evidence for the early history of living amphibians. *Molecular phylogenetics and evolution*, *9*(3), 509–516. doi: 10.1006/mpev.1998.0500
- Fine, P. A., Daly, D. C., & Cameron, K. M. (2005). The contribution of edaphic heterogeneity to the evolution and diversity of bursacear trees in the West Amazon. *Evolution*, *59*(7), 1464–1478. doi: 10.1111/j.0014-3820.2005.tb01796.x
- Magalhaes, I. L. F., Oliveira, U., Santos, F. R., Vidigal, T. H. D. A., Brescovit, A. D., & Santos, A. J. (2014). Strong spatial structure, Pliocene diversification and cryptic diversity in the Neotropical dry forest spider *Sicarius cariri*. *Molecular Ecology*, *23*(21), 5323–5336. doi: 10.1111/mec.12937
- Fitzpatrick, S. W., Brasileiro, C. A., Haddad, C. F., & Zamudio, K. R. (2009). Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. *Molecular Ecology*, *18*(13), 2877–2896. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04245.x
- Gehara, M., Garda, A. A., Werneck, F. P., Oliveira, E. F., da Fonseca, E. M., Camurugi, F., ... Silveira-Filho, R. (2017). Estimating synchronous demographic changes across populations using hABC and its application for a herpetological community from Northeast Brazil. *Molecular Ecology*, *26*(18), 4756–4771. doi: 10.1111/mec.14239
- Goebel, A. M., Donnelly, J. M., & Atz, M. E. (1999): PCR primers and amplification methods for 12S ribosomal DNA, the control region, cytochrome oxidase 1, and cytochrome b in bufonids and other frogs, and an overview of PCR primers which have amplified DNA in amphibians successfully. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *11*, 163–199.
- Graybeal, A. (1997). Phylogenetic relationships of bufonid frogs and tests of alternate macroevolutionary hypotheses characterizing their radiation. *Zoological journal of the Linnean Society*, *119*(3), 297–338.
- Guillot, G., Mortier, F., & Estoup, A. (2005a) Geneland: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes*, *5*, 712–715. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01031.x
- Guillot, G., Estoup, A., Mortier, F., & Cosson, J. F. (2005b). A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, *170*, 1261–1280. doi: 10.1534/genetics.104.033803
- Haffer, J. (1969). Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, *165*(3889), 131–137.
- Haffer, J., & Prance, G. T. (2002). Impulsos climáticos da evolução na Amazônia durante o Cenozoico: sobre a teoria dos Refúgios da diferenciação biótica. *Estudos avançados*, *16*(46), 175–206. doi: 10.1590/S0103-40142002000300014.
- Head, M. J., & Gibbard, P. L. (2005). Early-Middle Pleistocene transitions: an overview and recommendation for the defining boundary. *Geological Society, London, Special Publications*, *247*(1), 1–18. doi: 10.1144/GSL.SP.2005.247.01.01
- Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, *405*(6789), 907–913. doi: 10.1038/35016000
- Hijmans, R. J., Phillips, S., Leathwick, J., Elith, J., & Hijmans, M. R. J. (2017). Package ‘dismo’. *Circles*, *9*(1), 1–68.



- Hirata, S., & Head-Gordon, M. (1999). Time-dependent density functional theory within the Tamm–Dancoff approximation. *Chemical Physics Letters*, 314(3-4), 291–299. doi: 10.1016/S0009-2614(99)01149-5
- Kuhlmann, E., (1977). A Vegetação. In: Geografia do Brasil (Eds.). *Região Nordeste* (pp. 85–110). 2nd ed. Rio de Janeiro: IBGE.
- Lacey Knowles, L., & Alvarado-Serrano, D. F. (2010). Exploring the population genetic consequences of the colonization process with spatio-temporally explicit models: insights from coupled ecological, demographic and genetic models in montane grasshoppers. *Molecular Ecology*, 19(17), 3727–3745. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04702.x
- Leaché, A. D., Fujita, M. K., Minin, V. N., & Bouckaert, R. R. (2014). Species delimitation using genome-wide SNP data. *Systematic biology*, 63(4), 534–542. doi: 10.1093/sysbio/syu018
- Ledo, R. M. D., & Colli, G. R. (2017). The historical connections between the Amazon and the Atlantic Forest revisited. *Journal of Biogeography*, 44(11), 2551–2563. doi: 10.1111/jbi.13049
- Ledo, R. M. D., Domingos, F. M., Giugliano, L. G., Sites Jr, J. W., Werneck, F. P., & Colli, G. R. (2020). Pleistocene expansion and connectivity of mesic forests inside the South American Dry Diagonal supported by the phylogeography of a small lizard. *Evolution*. doi: 10.1111/evo.13978
- Ledru, M. P., Salgado-Labouriau, M. L., & Lorscheitter, M. L. (1998). Vegetation dynamics in southern and central Brazil during the last 10,000 yr BP. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 99(2), 131–142. doi: 10.1016/S0034-6667(97)00049-3
- Ledru, M. P., Carnaval, A. C., Miyaki, C. Y., “AF biota” participants. (2017). Integrating paleoecology and phylogeography reveals congruent bioclimatic regions in the Brazilian Atlantic Forest. *Past Global Changes Magazine*, 25(2), 92–93. doi: 10.22498/pages.25.2.92
- Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110–1116. doi: 10.1111/2041-210X.12410
- Leite, Y. L., Costa, L. P., Loss, A. C., Rocha, R. G., Batalha-Filho, H., Bastos, A. C., ... Pardini, R. (2016). Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(4), 1008–1013. doi: 10.1073/pnas.1513062113
- Lemey, P., Rambaut, A., Welch, J. J., & Suchard, M. A. (2010). Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. *Molecular Biology and Evolution*, 27(8), 1877–1885. doi: 10.1093/molbev/msq067
- Lemmon, E. M., Lemmon, A. R., Collins, J. T., Lee-Yaw, J. A., & Cannatella, D. C. (2007). Phylogeny-based delimitation of species boundaries and contact zones in the trilling chorus frogs (*Pseudacris*). *Molecular phylogenetics and evolution*, 44(3), 1068–1082. doi: 10.1016/j.ympev.2007.04.010
- Lessa, E. P., D’Elía, Guillermo & Pardinias, U. F. (2010). Genetic footprints of late Quaternary climate change in the diversity of Patagonian-Fuegian rodents. *Molecular Ecology*, 19(15), 3031–3037. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04734.x
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451–1452. doi: 10.1093/bioinformatics/btp187
- Lymberakis, P., Poulakakis, N., Manthalou, G., Tsigenopoulos, C. S., Magoulas, A., & Mylonas, M. (2007). Mitochondrial phylogeography of *Rana* (*Pelophylax*)

- populations in the East Mediterranean region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(1), 115–125. doi: 10.1016/j.ympev.2007.03.009
- Maddison, W. P., & Knowles, L. L. (2006). Inferring phylogeny despite incomplete lineage sorting. *Systematic Biology*, 55(1), 21–30. doi: 10.1080/10635150500354928
- Mângia, S., Oliveira, E. F., Santana, D. J., Koroiva, R. K., Paiva, F., & Garda, A. A. (2020). Revising the taxonomy of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro, 1920 (Anura: Odontophrynidae) from the Brazilian semiarid Caatinga: Morphology, calls and molecules support a single widespread species. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 2020, 1–22. doi: 10.1111/jzs.12365
- Mares, M. A., & Ernest, K. A. (1995). Population and community ecology of small mammals in a gallery forest of central Brazil. *Journal of Mammalogy*, 76(3), 750–768. doi: 10.2307/1382745
- Maslin, M., Mikkelsen, N., Vilela, C., & Haq, B. (1998). Sea-level and gas-hydrate controlled catastrophic sediment failures of the Amazon Fan. *Geology*, 26(12), 1107–1110. doi: 10.1130/0091-7613(1998)026<1107:SLAGHC>2.3.CO;2
- Melo, W. A., Freitas, C. G., Bacon, C. D., & Collevatti, R. G. (2018). The road to evolutionary success: insights from the demographic history of an Amazonian palm. *Heredity*, 121, 183–195. doi: 10.1038/s41437-018-0074-1
- Menezes, L., Canedo, C., Batalha-Filho, H., Garda, A. A., Gehara, M., & Napoli, M. F. (2016). Multilocus phylogeography of the treefrog *Scinax eurydice* (Anura, Hylidae) reveals a Plio-Pleistocene diversification in the Atlantic Forest. *PloS one*, 11(6). doi: 10.1371/journal.pone.0154626
- Meyer, C. (2003): Molecular systematics of cowries (Gastropoda: Cypraeidae) and diversification patterns in the tropics. *Biological Journal of the Linnean Society*, 79, 401–459. doi: 10.1046/j.1095-8312.2003.00197.x
- Mori, S. A., Silva, L. A. M., Lisboa, G., & Coradin, L. (1989). *Manual de manejo do Herbário Fanerogâmico*. Ilhéus: Centro de Pesquisas do Cacau.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A., & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772), 853. doi: 10.1038/35002501
- Nores, M. (1994). Quaternary vegetational changes and bird differentiation in subtropical South America. *The Auk*, 111(2), 499–503.
- Oliveira, P. S., & Marquis, R. J. (2002) The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna. New York: Columbia University Press.
- Oliveira, E. F., Gehara, M., São-Pedro, V. A., Chen, X., Myers, E. A., Burbrink, F. T., ... Costa, G. C. (2015). Speciation with gene flow in whiptail lizards from a Neotropical xeric biome. *Molecular Ecology*, 24, 5957–5975. doi: 10.1111/mec.13433
- Oliveira, E. F., Gehara, M., São-Pedro, V. A., Costa, G. C., Burbrink, F. T., Colli, G. R., ... Garda, A. A. (2018). Phylogeography of Muller's termite frog suggests the vicariant role of the Central Brazilian Plateau. *Journal of biogeography*, 45(11), 2508–2519. doi: 10.1111/jbi.13427
- Oliveira-Filho, A. T., & Ratter, J. A. (1995). A study of the origin of central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. *Edinburgh journal of botany*, 52(2), 141–194. doi: 10.1017/S0960428600000949
- Oliveira-Filho, A. T., & Fontes, M. A. L. (2000). Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in Southeast Brazil and the influence of climate 1. *Biotropica*, 32(4b), 793–810. doi: 10.1111/j.1744-7429.2000.tb00619.x
- Orrico, V. G., Nunes, I., Mattedi, C., Fouquet, A., Lemos, A. W., Rivera-Correa, M., ... Rodrigues, M. T. (2017). Integrative taxonomy supports the existence of two distinct species within *Hypsiboas crepitans* (Anura: Hylidae). *Salamandra*, 53(1), 99–113.

- Palumbi, S. R., Martin, A., Romano, S., McMillan, W. O., Stice, L., & Grabowski, G. (1991). *The Simple Fool's Guide to PCR*. Honolulu: Department of Zoology, University of Hawaii.
- Paz, A., Spanos, Z., Brown, J. L., Lyra, M., Haddad, C., Rodrigues, M., & Carnaval, A. (2019). Phylogeography of Atlantic Forest glassfrogs (*Vitreorana*): when geography, climate dynamics and rivers matter. *Heredity*, *122*(5), 545–557. doi: 10.1038/s41437-018-0155-1
- Pearson, R. G. (2010). Species' Distribution Modeling for Conservation Educators and Practitioners. *Lessons in Conservation*, *3*, 54–89.
- Pellegrino, R., Viegi, G., Brusasco, V., Crapo, R. O., Burgos, F., Casaburi, R., van der Grinten, C. P. M., Gustafsson, P., Hankinson, J., Jensen, R., Johnson, D. C., MacIntyre, N., McKay, R., Miller, M. R., Navajas, D., Pedersen, O. F., Wanger, J. (2005). Interpretative strategies for lung function tests. *European Respiratory Journal*, *26*(5), 948–968. doi: 10.1183/09031936.05.00035205
- Pennington, R. T., Prado, D. E., & Pendry, C. A. (2000). Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography*, *27*(2), 261–273. doi: 10.1046/j.1365-2699.2000.00397.x
- Peres, E. A., Sobral-Souza, T., Perez, M. F., Bonatelli, I. A., Silva, D. P., Silva, M. J., & Solferini, V. N. (2015). Pleistocene niche stability and lineage diversification in the subtropical spider *Araneus omnicolor* (Araneidae). *PLoS One*, *10*(4). doi: 10.1371/journal.pone.0121543
- Pessenda, L. C. R., de Souza Ribeiro, A., Gouveia, S. E. M., Aravena, R., Boulet, R., & Bendassolli, J. A. (2004). Vegetation dynamics during the late Pleistocene in the Barreirinhas region, Maranhão state, Northeast Brazil, based on carbon isotopes in soil organic matter. *Quaternary Research*, *62*(2), 183–193. doi: 10.1016/j.yqres.2004.06.003
- Pessenda, L. C. R., Gouveia, S. E. M., de Souza Ribeiro, A., de Oliveira, P. E., & Aravena, R. (2010). Late Pleistocene and Holocene vegetation changes in Northeast Brazil determined from carbon isotopes and charcoal records in soils. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, *297*(3-4), 597–608. doi: 10.1016/j.palaeo.2010.09.008
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., & Schapire, R. E. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, *190*(3-4), 231–259. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, *25*(7), 1253–1256. doi: 10.1093/molbev/msn083
- 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*, 902–927. doi: 10.2307/2399937
- Prado, D. E. (2003). As caatingas da América do Sul. *Ecologia e Conservação da Caatinga*, *2*, 3–74.
- 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*(20), 5174–5186. doi: 10.1111/mec.13821
- Pyron, R. A., Costa, G. C., Patten, M. A., & Burbrink, F. T. (2015). Phylogenetic niche conservatism and the evolutionary basis of ecological speciation. *Biological Reviews*, *90*(4), 1248–1262. doi: 10.1111/brv.12154

- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieve from <https://www.R-project.org/>.
- Rambaut, A., & Drummond, A. J. (2009). Tracer v1. 5.0.
- Recoder, R. S., Werneck, F., Teixeira, Jr, M., Colli, G. R., Sites Jr, J. W., & Rodrigues, M. T. (2014). Geographic variation and systematic review of the lizard genus *Vanzosaura* (Squamata, Gymnophthalmidae), with the description of a new species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, *171*(1), 206–225. doi: 10.1111/zoj.12128
- Riddle, B. R., Dawson, M. N., Hadly, E. A., Hafner, D. J., Hickerson, M. J., Mantooth, S. J., & Yoder, A. D. (2008). The role of molecular genetics in sculpting the future of integrative biogeography. *Progress in Physical Geography*, *32*(2), 173–202. doi: 10.1177/0309133308093822
- Rissler, L. J., & Apodaca, J. J. (2007). Adding more ecology into species delimitation: ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the black salamander (*Aneides flavipunctatus*). *Systematic Biology*, *56*(6), 924–942. doi: 10.1080/10635150701703063
- Ruane, S., Bryson Jr, R. W., Pyron, R. A., & Burbrink, F. T. (2014). Coalescent species delimitation in milksnakes (genus *Lampropeltis*) and impacts on phylogenetic comparative analyses. *Systematic Biology*, *63*(2), 231–250. doi: 10.1093/sysbio/syt099
- Rull, V. (2008). Speciation timing and neotropical biodiversity: the Tertiary-Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. *Molecular ecology*, *17*(11), 2722–2729. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03789.x
- Rull, V. (2011). Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, *26*(10), 508–513. doi: 10.1016/j.tree.2011.05.011
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual (2nd ed.). New York: Cold spring harbor laboratory press. doi: 10.1016/0167-7799(91)90068-S
- Santos, M. G., Nogueira, C., Giugliano, L. G., & Colli, G. R. (2014). Landscape evolution and phylogeography of *Micrablepharus atticolus* (Squamata, Gymnophthalmidae), an endemic lizard of the Brazilian Cerrado. *Journal of Biogeography*, *41*, 1506–1519. doi: 10.1111/jbi.12291
- Sérsic, A. N., Cosacov, A., Cocucci, A. A., Johnson, L. A., Pozner, R., Avila, L. J., ... Morando, M. (2011). Emerging phylogeographical patterns of plants and terrestrial vertebrates from Patagonia. *Biological Journal of the Linnean Society*, *103*, 475–94. doi: 10.1111/j.1095-8312.2011.01656.x
- Silva, L. A. D., Carvalho, P. S., Pereira, E. A., Fadel, R. M., Dantas, S. P., Brandão, R. A., & Santana, D. J. (2020). Richness, diversity patterns, and taxonomic notes of amphibians from the Tocantins state. *Biota Neotropica*, *20*(1). doi: 10.1590/1676-0611-bn-2019-0838
- 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*(5), 643–655. doi: 10.1007/s10682-015-9780-9
- Sobral-Souza, T., & Lima-Ribeiro, M. S. (2017). De volta ao passado: revisitando a história biogeográfica das florestas neotropicais úmidas. *Oecologia Australis*, *21*(2). doi: 10.4257/oeco.2017.2102.01
- Stephens, M., Smith, N. J., & Donnelly, P. (2001). A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *The American Journal of Human Genetics*, *68*(4), 978–989. doi: 10.1086/319501

- Sullivan, J., & Joyce, P. (2005). Model selection in phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 445–466. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152633
- Tajima, F. (1989). The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 597–601.
- Talavera, G., & Castresana, J. (2007). Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology*, 56(4), 564–577. doi: 10.1080/10635150701472164
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and Evolution*, 30(12), 2725–2729. doi: 10.1093/molbev/mst197
- Thomé, M. T. C., Zamudio, K. R., Giovanelli, J. G., Haddad, C. F., Baldissera Jr, F. A., & Alexandrino, J. (2010). Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(3), 1018–1031. doi: 10.1016/j.ympev.2010.02.003
- Thomé, M. T. C., Sequeira, F., Brusquetti, F., Carstens, B., Haddad, C. F., Rodrigues, M. T., & Alexandrino, J. (2016). Recurrent connections between Amazon and Atlantic forests shaped diversity in Caatinga four-eyed frogs. *Journal of Biogeography*, 43(5), 1045–1056. doi: 10.1111/jbi.12685
- Tonini, J. F. R., Costa, L. P., & Carnaval, A. C. (2013). Phylogeographic structure is strong in the Atlantic Forest; predictive power of correlative paleodistribution models, not always. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 51(2), 114–121. doi: 10.1111/jzs.12014
- Turchetto-Zolet, A. C., Pinheiro, F., Salgueiro, F., & Palma-Silva, C. (2013). Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular ecology*, 22(5), 1193–1213. doi: 10.1111/mec.12164
- Vanzolini, P. (1963). Problemas faunísticos do cerrado. In: Simpósio sobre o Cerrado (Eds.). *The problems of Cerrados fauna*. Sao Paulo: EDUSP.
- Vanzolini, P. E., & Williams, E. E. (1981). The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 34(23), 251–255.
- Vasconcellos, M. M., Colli, G. R., Weber, J. N., Ortiz, E. M., Rodrigues, M. T., & Cannatella, D. C. (2019). Isolation by instability: Historical climate change shapes population structure and genomic divergence of treefrogs in the Neotropical Cerrado savanna. *Molecular ecology*, 28(7), 1748–1764. doi: 10.1111/mec.15045
- Vásquez, D., Correa, C., Pastenes, L., Palma, R. E., & Méndez, M. A. (2013). Low phylogeographic structure of *Rhinella arunco* (Anura: Bufonidae), an endemic amphibian from the Chilean Mediterranean hotspot. *Zoological Studies*, 52(1), 35. doi: 10.1186/1810-522X-52-35
- Vences, M., Hildenbrand, A., Warmuth, K. M., Andreone, F., & Glaw, F. (2018). A new riparian *Mantidactylus* (*Brygoomantis*) frog from the Tsaratanana and Manongarivo Massifs in northern Madagascar. *Zootaxa*, 4486(4), 575–588. doi: 10.11646/zootaxa.4486.4.10
- Vieites, D. R., Min, M. S., & Wake, D. B. (2007). Rapid diversification and dispersal during periods of global warming by plethodontid salamanders. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(50), 19903–19907. doi: 10.1073/pnas.0705056104
- Warren, D. L., Glor, R. E., & Turelli, M. (2010). ENMTools: a toolbox for comparative studies of environmental niche models. *Ecography*, 33(3), 607–611. doi: 10.1111/j.1600-0587.2009.06142.x

- Werneck, F. P. (2011). The diversification of East South American open vegetation biomes: historical biogeography and perspectives. *Quaternary Science Reviews*, 30, 1630–1648. doi: 10.1016/j.quascirev.2011.03.009
- Werneck, F. P., Costa, G. C., Colli, G. R., Prado, D. E., & Sites Jr, J. W. (2011). Revisiting the historical distribution of Seasonally Dry Tropical Forests: new insights based on palaeodistribution modelling and palynological evidence. *Global Ecology and Biogeography*, 20(2), 272–288. doi: 10.1111/j.1466-8238.2010.00596.x
- Werneck, F. P., Gamble, T., Colli, G. R., Rodrigues, M. T., & Sites, Jr, J. W. (2012a). Deep diversification and long-term persistence in the South American ‘dry diagonal’: integrating continent-wide phylogeography and distribution modeling of geckos. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 66(10), 3014–3034. doi: 10.1111/jbi.12291
- Werneck, F. P., Nogueira, C., Colli, G. R., Sites Jr, J. W., & Costa, G. C. (2012b). Climatic stability in the Brazilian Cerrado: implications for biogeographical connections of South American savannas, species richness and conservation in a biodiversity hotspot. *Journal of Biogeography*, 39(9), 1695–1706. doi: 10.1111/j.1365-2699.2012.02715.x
- Wied-Neuwied, M. A. P., Prinz zu. (1824). *Abbildungen zur Naturgeschichte Brasiliens*. Heft 8. Weimar: Landes-Industrie-Comptoir.
- Wiens, J. J., Fetzner Jr, J. W., Parkinson, C. L., & Reeder, T. W. (2005). Hylid frog phylogeny and sampling strategies for speciose clades. *Systematic Biology*, 54(5), 778–807. doi: 10.1080/10635150500234625

## TABELAS

**Tabela 1.** Amostras de tecido utilizadas no presente estudo (116 amostras de *Boana crepitans*). Para cada amostra é apresentado o número do código do mapa (Figura 1), Loc = localidade, instituição de origem, V = número do voucher, C.L. = número do código do laboratório, coordenadas geográficas (longitude e latitude em graus decimais) e números de acesso ao GenBank.

Código Mapa	Espécies	Loc.	Estado	Código de tombo	V	C.L.	Long	Lat	Números de acesso do GenBank				
									12S	COI	16S	POMC	RAG1
1	<i>Boana crepitans</i>	Cuité	PB	AAGARDA	8993	E145	-6.4852	-36.154	-	-	-	-	-
1	<i>Boana crepitans</i>	Cuité	PB	AAGARDA	8991	E146	-6.4852	-36.154	-	-	-	-	-
1	<i>Boana crepitans</i>	Cuité	PB	AAGARDA	8992	E147	-6.4852	-36.154	-	-	-	-	-
2	<i>Boana crepitans</i>	Areia	PB	AAGARDA	3857	E138	-16.179	-40.697	-	-	-	-	-
2	<i>Boana crepitans</i>	Areia	PB	AAGARDA	3931	E139	-6.969	-35.7	-	-	-	-	-
2	<i>Boana crepitans</i>	Areia	PB	AAGARDA	3933	E140	-6.969	-35.7	-	-	-	-	-
2	<i>Boana crepitans</i>	Areia	PB	AAGARDA	3999	E141	-6.969	-35.7	-	-	-	-	-
2	<i>Boana crepitans</i>	Areia	PB	AAGARDA	4000	E142	-6.969	-35.7	-	-	-	-	-
3	<i>Boana crepitans</i>	Puxin anã	PB	AAGARDA	3593	E143	-7.1445	-35.959	-	-	-	-	-
3	<i>Boana crepitans</i>	Puxin anã	PB	AAGARDA	4035	E144	-7.1445	-35.959	-	-	-	-	-

4	<i>Boana crepitans</i>	São Vice Ferre r	PE	FSCHUFPB	1001 6	E179	-7.6089	-35.493	-	-	-	-	-
6	<i>Boana crepitans</i>	Buíq ue	PE	AAGARDA	8053	E148	-8.6165	-37.083	-	-	-	-	-
6	<i>Boana crepitans</i>	Buíq ue	PE	AAGARDA	8162	E149	-8.6165	-37.083	-	-	-	-	-
6	<i>Boana crepitans</i>	Buíq ue	PE	AAGARDA	8230	E150	-8.6165	-37.083	-	-	-	-	-
6	<i>Boana crepitans</i>	Buíq ue	PE	AAGARDA	8519	E151	-8.6165	-37.083	-	-	-	-	-
6	<i>Boana crepitans</i>	Buíq ue	PE	AAGARDA	8688	E152	-8.6165	-37.083	-	-	-	-	-
8	<i>Boana crepitans</i>	Paulo Afon so	BA	AAGARDA	4293	E97	-9.4062	-38.218	-	-	-	-	-
8	<i>Boana crepitans</i>	Paulo Afon so	BA	AAGARDA	4383	E98	-9.4062	-38.218	-	-	-	-	-
8	<i>Boana crepitans</i>	Paulo Afon so	BA	AAGARDA	4381	E99	-9.4062	-38.218	-	-	-	-	-



8	<i>Boana crepitans</i>	Paulo Afonso	BA	AAGARDA	4380	E100	-9.4062	-38.218	-	-	-	-	-
8	<i>Boana crepitans</i>	Paulo Afonso	BA	AAGARDA	4573	E101	-9.4062	-38.218	-	-	-	-	-
10	<i>Boana crepitans</i>	Monte Alegre de Sergipe	SE	FSCHUFPB	24	E175	-10.069	-37.66	-	-	-	-	-
-10	<i>Boana crepitans</i>	Monte Alegre de Sergipe	SE	FSCHUFPB	42	E176	-10.069	-37.66	-	-	-	-	-
10	<i>Boana crepitans</i>	Monte Alegre de Sergipe	SE	FSCHUFPB	355	E177	-10.069	-37.66	-	-	-	-	-
10	<i>Boana crepitans</i>	Monte Alegre de	SE	FSCHUFPB	L50	E180	-10.069	-37.66	-	-	-	-	-

		Sergi pe										
11	<i>Boana crepitans</i>	Estân cia	SE	AAGARDA	9153	E153	-11.269	-37.439	-	-	-	-
12	<i>Boana crepitans</i>	Jagua rari	BA	CHUFPB	7182	E118	-10.264	-40.199	-	-	-	-
12	<i>Boana crepitans</i>	Jagua rari	BA	CHUFPB	7183	E119	-10.264	-40.199	-	-	-	-
12	<i>Boana crepitans</i>	Jagua rari	BA	CHUFPB	7184	E120	-10.264	-40.199	-	-	-	-
13	<i>Boana crepitans</i>	Jacob ina	BA	AAGARDA	1228 1	E90	-11.182	-40.512	-	-	-	-
13	<i>Boana crepitans</i>	Jacob ina	BA	AAGARDA	1228 2	E91	-11.182	-40.512	-	-	-	-
14	<i>Boana crepitans</i>	Migu el Calm on	BA	UFBA15879	T273 6	E222	-11.461	-40.554	-	-	-	-
14	<i>Boana crepitans</i>	Migu el Calm on	BA	UFBA15880	T273 7	E223	-11.461	-40.554	-	-	-	-
14	<i>Boana crepitans</i>	Migu el	BA	UFBA15881	T273 8	E224	-11.461	-40.554	-	-	-	-

		Calm on										
14	<i>Boana crepitans</i>	Migu el Calm on	BA	UFBA15882	T273 9	E225	-11.461	-40.554	-	-	-	-
14	<i>Boana crepitans</i>	Migu el Calm on	BA	UFBA15883	T274 0	E226	-11.461	-40.554	-	-	-	-
14	<i>Boana crepitans</i>	Migu el Calm on	BA	UFBA15884	T274 1	E227	-11.461	-40.554	-	-	-	-
15	<i>Boana crepitans</i>	Morr o do Chap éu	BA	CHUFPB	7156	E115	-11.583	-41.12	-	-	-	-
15	<i>Boana crepitans</i>	Morr o do Chap éu	BA	CHUFPB	7157	E116	-11.583	-41.12	-	-	-	-
15	<i>Boana crepitans</i>	Morr o do Chap éu	BA	CHUFPB	7158	E117	-11.583	-41.12	-	-	-	-

16	<i>Boana crepitans</i>	Santa Teresinha	BA	PPBIO	39	E92	-12.77	-39.611	-	-	-	-
16	<i>Boana crepitans</i>	Santa Teresinha	BA	PPBIO	40	E93	-12.77	-39.611	-	-	-	-
16	<i>Boana crepitans</i>	Santa Teresinha	BA	PPBIO	41	E94	-12.77	-39.611	-	-	-	-
16	<i>Boana crepitans</i>	Santa Teresinha	BA	PPBIO	42	E95	-12.77	-39.611	-	-	-	-
16	<i>Boana crepitans</i>	Santa Teresinha	BA	PPBIO	43	E96	-12.77	-39.611	-	-	-	-
17	<i>Boana crepitans</i>	Elísio Medrado	BA	AAGARDA	9622	E107	-12.95	-39.549	-	-	-	-
17	<i>Boana crepitans</i>	Elísio Medrado	BA	AAGARDA	9649	E108	-12.95	-39.549	-	-	-	-
17	<i>Boana crepitans</i>	Elísio Medrado	BA	AAGARDA	9621	E109	-12.95	-39.549	-	-	-	-

17	<i>Boana crepitans</i>	Elísio Medrado	BA	AAGARDA	9647	E110	-12.95	-39.549	-	-	-	-
18	<i>Boana crepitans</i>	Planaltino	BA	UFBA14308	T128 8	E194	-13.176	-40.268	-	-	-	-
19	<i>Boana crepitans</i>	Lencóis	BA	UFBA14589	T134 2	E188	-12.562	-41.39	-	-	-	-
20	<i>Boana crepitans</i>	Palmiras	BA	AAGARDA	6973	E102	-12.559	-41.559	-	-	-	-
20	<i>Boana crepitans</i>	Palmiras	BA	AAGARDA	6974	E103	-12.559	-41.559	-	-	-	-
20	<i>Boana crepitans</i>	Palmiras	BA	AAGARDA	6975	E104	-12.559	-41.559	-	-	-	-
20	<i>Boana crepitans</i>	Palmiras	BA	AAGARDA	7020	E105	-12.559	-41.559	-	-	-	-
20	<i>Boana crepitans</i>	Palmiras	BA	AAGARDA	7096	E106	-12.559	-41.559	-	-	-	-
21	<i>Boana crepitans</i>	Mucugê	BA	CHUFPB	7120	E113	-13.019	-41.375	-	-	-	-
21	<i>Boana crepitans</i>	Mucugê	BA	CHUFPB	7121	E114	-13.019	-41.375	-	-	-	-
27	<i>Boana crepitans</i>	Brotas de	BA	UFBA15245	T220 1	E200	-13.235	-42.783	-	-	-	-

		Macaúbas										
28	<i>Boana crepitans</i>	Bom Jesus da Lapa	BA	UFBA7710	T1135	E187	-13.251	-43.411	-	-	-	-
30	<i>Boana crepitans</i>	Pindaí	BA	UFBA10495	T987	E190	-14.461	-42.667	-	-	-	-
31	<i>Boana crepitans</i>	Condúba	BA	AAGARDA	10522	E111	-14.899	-42.036	-	-	-	-
31	<i>Boana crepitans</i>	Condúba	BA	AAGARDA	10592	E112	-14.899	-42.036	-	-	-	-
32	<i>Boana crepitans</i>	Arraias	TO	ZUFMS	SPD11	E154	-12.678	-46.981	-	-	-	-
32	<i>Boana crepitans</i>	Arraias	TO	ZUFMS	SPD10	E234	-12.678	-46.981	-	-	-	-
33	<i>Boana crepitans</i>	Flores de Goiás	GO	ZUFMS	65	E121	-14.457	-47.038	-	-	-	-
34	<i>Boana crepitans</i>	Itacarambi	MG	AAGARDA	736	E125	-15.087	-44.133	-	-	-	-
34	<i>Boana crepitans</i>	Itacarambi	MG	AAGARDA	729	E126	-15.087	-44.133	-	-	-	-

36	<i>Boana crepitans</i>	Uruc uia	MG	MZUFV	CT40 25	E166	-16.121	-45.714	-	-	-	-
36	<i>Boana crepitans</i>	Uruc uia	MG	MZUFV	CT39 18	E167	-16.121	-45.714	-	-	-	-
37	<i>Boana crepitans</i>	Buriti zeiro	MG	MZUFV	CT39 86	E168	-17.363	-44.966	-	-	-	-
38	<i>Boana crepitans</i>	Mont es Claro s	MG	ZUFMS783	MAP - T394 3	E231	-16.729	-43.858	-	-	-	-
38	<i>Boana crepitans</i>	Mont es Claro s	MG	ZUFMS784	MAP - T394 4	E232	-16.729	-43.858	-	-	-	-
38	<i>Boana crepitans</i>	Mont es Claro s	TO	ZUFMS785	MAP - T394 5	E233	-16.729	-43.858	-	-	-	-
40	<i>Boana crepitans</i>	Turm alina	MG	UFBA15504	T245 3	E201	-17.254	-42.825	-	-	-	-
40	<i>Boana crepitans</i>	Turm alina	MG	UFBA15505	T245 4	E202	-17.254	-42.825	-	-	-	-
40	<i>Boana crepitans</i>	Turm alina	MG	UFBA15506	T245 5	E203	-17.254	-42.825	-	-	-	-

40	<i>Boana crepitans</i>	Turmalina	MG	UFBA15507	T245 6	E204	-17.254	-42.825	-	-	-	-
40	<i>Boana crepitans</i>	Turmalina	MG	UFBA15508	T245 7	E205	-17.254	-42.825	-	-	-	-
40	<i>Boana crepitans</i>	Turmalina	MG	UFBA15509	T245 8	E206	-17.254	-42.825	-	-	-	-
41	<i>Boana crepitans</i>	Coronel Murta	MG	UFBA15534	T248 3	E207	-16.589	-42.198	-	-	-	-
41	<i>Boana crepitans</i>	Coronel Murta	MG	UFBA15535	T248 4	E208	-16.589	-42.198	-	-	-	-
41	<i>Boana crepitans</i>	Coronel Murta	MG	UFBA15536	T248 5	E209	-16.589	-42.198	-	-	-	-
41	<i>Boana crepitans</i>	Coronel Murta	MG	UFBA15537	T248 6	E210	-16.589	-42.198	-	-	-	-
41	<i>Boana crepitans</i>	Coronel Murta	MG	UFBA15538	T248 7	E211	-16.589	-42.198	-	-	-	-



41	<i>Boana crepitans</i>	Coronel Murta	MG	UFBA15539	T248 8	E212	-16.589	-42.198	-	-	-	-
42	<i>Boana crepitans</i>	Itaobim	MG	UFBA15667	T261 8	E219	-16.559	-41.503	-	-	-	-
42	<i>Boana crepitans</i>	Itaobim	MG	UFBA15668	T261 9	E220	-16.559	-41.503	-	-	-	-
42	<i>Boana crepitans</i>	Itaobim	MG	UFBA15669	T262 0	E221	-16.559	-41.503	-	-	-	-
43	<i>Boana crepitans</i>	Almenara	MG	UFBA14445	T157 7	E191	-16.179	-40.697	-	-	-	-
43	<i>Boana crepitans</i>	Almenara	MG	UFBA14446	T157 8	E192	-16.179	-40.697	-	-	-	-
43	<i>Boana crepitans</i>	Almenara	MG	UFBA14447	T157 9	E193	-16.179	-40.697	-	-	-	-
43	<i>Boana crepitans</i>	Almenara	MG	UFBA14450	T158 2	E195	-13.176	-40.268	-	-	-	-
43	<i>Boana crepitans</i>	Almenara	MG	UFBA14451	T158 3	E196	-16.179	-40.697	-	-	-	-
43	<i>Boana crepitans</i>	Almenara	MG	UFBA14452	T158 4	E197	-16.179	-40.697	-	-	-	-
44	<i>Boana crepitans</i>	Jacinto	MG	UFBA14560	T169 4	E198	-16.19	-40.35	-	-	-	-

44	<i>Boana crepitans</i>	Jacinto	MG	UFBA14561	T169 5	E199	-16.19	-40.35	-	-	-	-
46	<i>Boana crepitans</i>	Serro	MG	UFBA15379	T232 7	E213	-18.605	-43.381	-	-	-	-
46	<i>Boana crepitans</i>	Serro	MG	UFBA15380	T232 8	E214	-18.605	-43.381	-	-	-	-
46	<i>Boana crepitans</i>	Serro	MG	UFBA15381	T232 9	E215	-18.605	-43.381	-	-	-	-
46	<i>Boana crepitans</i>	Serro	MG	UFBA15382	T233 0	E216	-18.605	-43.381	-	-	-	-
46	<i>Boana crepitans</i>	Serro	MG	UFBA15383	T233 1	E217	-18.605	-43.381	-	-	-	-
46	<i>Boana crepitans</i>	Serro	MG	UFBA15384	T233 2	E218	-18.605	-43.381	-	-	-	-
48	<i>Boana crepitans</i>	Ferros	MG	MZUFV	CT45 17	E170	-19.275	-42.903	-	-	-	-
49	<i>Boana crepitans</i>	Mesquita	MG	MZUFV	1676 9	E173	-19.281	-42.609	-	-	-	-
50	<i>Boana crepitans</i>	Lagoa Santa	MG	AAGARDA	701	E122	-19.627	-43.9	-	-	-	-
50	<i>Boana crepitans</i>	Lagoa Santa	MG	AAGARDA	704	E123	-19.627	-43.9	-	-	-	-

50	<i>Boana crepitans</i>	Lago a Santa	MG	AAGARDA	702	E124	-19.627	-43.9	-	-	-	-	
52	<i>Boana crepitans</i>	Ponte Nova	MG	CAUFJF	1390	E132	-20.413	-42.899	-	-	-	-	
52	<i>Boana crepitans</i>	Ponte Nova	MG	CAUFJF	1386	E133	-20.413	-42.899	-	-	-	-	
52	<i>Boana crepitans</i>	Ponte Nova	MG	AAGARDA	1215 9	E134	-20.413	-42.899	-	-	-	-	
52	<i>Boana crepitans</i>	Ponte Nova	MG	AAGARDA	1216 0	E135	-20.413	-42.899	-	-	-	-	
52	<i>Boana crepitans</i>	Ponte Nova	MG	AAGARDA	1216 1	E136	-20.413	-42.899	-	-	-	-	
53	<i>Boana crepitans</i>	Ubá	MG	CAUFJF	1554	E137	-21.12	-42.943	-	-	-	-	
54	<i>Boana crepitans</i>	Catag uases	MG	MZUFV	1621 4	E171	-21.389	-42.695	-	-	-	-	
54	<i>Boana crepitans</i>	Catag uases	MG	MZUFV	1621 5	E172	-21.389	-42.695	-	-	-	-	
5	<i>Boana crepitans</i>	Parqu e Naci onal do	PE	MTR	1536 6	-	-8.5051	-37.348	KX697972	KX698018	-	-	-

7	<i>Boana crepitans</i>	Cati mbau Cam po Alegre	AL	CFBH	1636 1	-	-9.777	-36.33	KX697945	KX697992	KU495262	-	-
7	<i>Boana crepitans</i>	Cam po Alegre	AL	CFBH	7825	-	-9.777	-36.33	KX697941	KU494470	KU495263	-	-
9	<i>Boana crepitans</i>	Piranhas	AL	CFBH	2966	-	-9.5451	-37.747	AY843621	-	AY843621	-	-
14	<i>Boana crepitans</i>	Miguel Calmon	BA	MTR	2007 0	-	-11.461	-40.554	KX697976	KX698022	-	-	-
21	<i>Boana crepitans</i>	Mucugê	BA	JC	1273	-	-13.019	-41.375	KX697967	KX698013	-	-	-
22	<i>Boana crepitans</i>	Cama mu	BA	CFBH	2782 6	-	-13.939	-39.103	KX697959	KX698006	-	-	-
22	<i>Boana crepitans</i>	Cama mu	BA	CFBH	1284 1	-	-13.939	-39.103	-	KU494469	-	-	-
23	<i>Boana crepitans</i>	Aurelio Leal	BA	CFBH	1872 8	-	-14.321	-39.33	KX697950	KX697997	-	-	-

24	<i>Boana crepitans</i>	Ilhéus	BA	CFBH	2885	-	-14.795	-39.049	KX697939	KX697986	-	-	-
25	<i>Boana crepitans</i>	Jussari	BA	MRT	5785	-	-15.126	-39.51	KX697969	KX698015	-	-	-
26	<i>Boana crepitans</i>	Dom Basílio	BA	CFBH	21090	-	-13.757	-41.768	KX697949	KX697996	-	-	-
29	<i>Boana crepitans</i>	Caetité	BA	CFBH	21073	-	-14.067	-42.495	KX697948	KX697995	-	-	-
35	<i>Boana crepitans</i>	Januária	MG	MTJ	384	-	-15.48	-44.362	KX697971	KX698017	-	-	-
39	<i>Boana crepitans</i>	Grão Mogol	MG	CFBH	10243	-	-16.554	-42.905	KX697938	KX697985	-	-	-
39	<i>Boana crepitans</i>	Grão Mogol	MG	CFBH	2360	-	-16.554	-42.905	-	KU494468	KU495261	-	-
45	<i>Boana crepitans</i>	Caráíva	BA	CFBH	13275	-	-16.796	-39.152	-	KX697988	-	-	-
47	<i>Boana crepitans</i>	Itacolomi	MG	MCNAM	18136	-	-19.019	-43.585	-	-	KY007118	-	-
51	<i>Boana crepitans</i>	Jaboticabas	MG	CFBH	24368	-	-19.521	-43.745	KX697953	KX698000	-	-	-

<i>Boana xerophylla</i>	Mont Saint Marc el	GF	-	-	-	-	-	-	KX697962	-	-	-	-
<i>Boana xerophylla</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	KF157577	-	-
<i>Boana xerophylla</i>	Estac ao Ecolo gica Mara ca	RR	MTR	2040 7	-	-	-	-	-	KX698023	-	-	-
<i>Boana xerophylla</i>	Kuru pukar i	G	ROM	2056 0	-	-	-	-	-	-	-	JN970903	-
<i>Boana lanciformes</i>	Provi ncia de Napo , Huin o	EQU	QCAZ	3093 6	-	-	-	-	-	-	-	-	KF955326

Abreviação das instituições: Universidade Federal da Bahia (UFBA), Laboratório de Anfíbios e Répteis da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (AAGARDA), Coleção Zoológica de Referência da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (ZUFMS), Coleção Célio F. B. Haddad, da Universidade Federal Paulista (CFBH), Museu de Zoologia João Moojen, Universidade Federal de Viçosa (MZUFV), Museu de Ciências Naturais, Coleção de Herpetologia Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (MCNAM), Coleção Herpetológica da Universidade Federal da Paraíba (CHUFPB), Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Juiz de Fora (CAUFJF); Abreviação dos estados: Alagoas (AL), Bahia (BA), Goiás (GO), Minas Gerais (MG), Paraíba (PB), Pernambuco (PE), Roraima (RR), Sergipe (SE), Tocantins (TO) e países: Guiana Francesa (GF), Guiana (G) e Equador (EQU).

**Tabela 2.** Primers utilizados para amplificação e sequenciamento dos loci utilizados neste estudo. Cada iniciador apresenta a fonte de origem.

<b>Locus</b>	<b>Nome</b>	<b>Primer</b>	<b>Fonte</b>
<i>12S</i>	MVZ59	5'- ATAGCACTGAAAAYGCTDAGATG -3'	Graybeal, 1997
	12S F-H	5'- CTTGGCTCGTAGTTCCTGGCG -3'	Goebel et al., 1999
	12SM	5'- GGCAAGTCGTAACATGGTAAG -3'	Darst & Cannatella (2004)
	12sL13	5'- TTAGAAGAGGCAAGTCGTAACATGGTA -3'	Feller & Hedges (1998)
<i>16S</i>	16S-AL	5'- CGCCTGTTTATCAAAAACAT -3'	Palumbi et al., 1991
	16S-BH-New	5'- CCTGGATTACTCCGGTCTGA -3'	
<i>COI</i>	dgHCO-2198	5'- TAAACTTCAGGGTGACCAAARAAYCA -3'	Meyer, 2003
	dgLCO-1490	5'- GGTCAACAAATCATAAAGAYATYGG -3'	Meyer, 2003
	AnF1	5'- ACHAAAYCAYAAAGAYATYGG -3'	Wiens et al., 2005
	AnR1	5'- CCRAARAATCARAADARRTGTTG -3'	Wiens et al., 2005
<i>POMC</i>	POMC-DRV-F1	5'- ATATGTCATGASCCAYTTYCGCTGGAA -3'	Vieites et al., 2007
	POMC-DRV-R1	5'- GGCRTTYTTGAAWAGAGTCATTAGWGG -3'	
<i>RAG1</i>	Rag-1-Amp-F2	5'- ACNGGNMGICARATCTTYCARCC -3'	Vences et al., 2018
	Rag1-UC-R	5'- TTGGACTGCCTGGCATTTCAT -3'	

**Tabela 3.** Análises realizadas no programa BEAST. Para cada análise é apresentado o locus utilizado, número de sequências (N), modelo de substituição estimado pelo programa jModelTest e configurações de relógio molecular, taxa de mutação, árvore prévia, tamanho da cadeia (MCMC) e frequência de amostragem (Freq).

Análise	Locus	N	Modelo	Principais Parâmetros BEAST				
				Relógio	Taxa	Árvore prévia	MCMC	Freq
Árvore de genes	<i>12S</i>	16	HKY	rigoroso	1			
	<i>16S</i>	122	HKY+I	lognormal	2.88E <sup>-03</sup>			
	<i>COI</i>	18	HKY+G	rigoroso	1	Coalescente: CS	2 x 10 <sup>-7</sup>	2,000
	<i>POMC</i>	52	HKY+G	rigoroso	1			
	<i>RAG1</i>	53	K80	rigoroso	1			
Árvore de espécies e datação de divergência	<i>12S</i>	15	HKY	rigoroso	1			
	<i>16S</i>	121	GTR+G	lognormal	2.88E <sup>-03</sup>			
	<i>COI</i>	17	HKY	rigoroso	1	Especiação: BDP	3 x 10 <sup>-8</sup>	30,000
	<i>POMC</i>	*102	HKY+I	rigoroso	1			
	<i>RAG1</i>	*104	HKY+I	rigoroso	1			
Skyline – linhagem Leste	<i>16S</i>	100	TrNef+I	lognormal	2.88E <sup>-03</sup>	Coalescente: BSL		
Skyline – linhagem Oeste	<i>16S</i>	21	K80	lognormal	2.88E <sup>-03</sup>	Coalescente: BSL	1 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>4</sup>



Centro de origem das linhagens	<i>I6S</i>	121	K80+I	lognormal	2.88E <sup>-03</sup>	Coalescente: CS	5 x 10 <sup>7</sup>	$\frac{5 \times}{10^3}$
--------------------------------	------------	-----	-------	-----------	----------------------	-----------------	---------------------	-------------------------

---

\*sequências faseadas; abreviaturas anteriores das árvores: Constant Size (CS), Yule Process (YP), Birth-Death Process (BDP) and Bayesian Skyline (BSL).

**Tabela 4.** Estatísticas genéticas para cada *locus* para linhagens Leste e Oeste de *Boana crepitans*.

Locus	População	<i>L</i> (bp)	<i>N</i>	<i>S</i>	<i>H</i>	<i>H<sub>d</sub></i>	$\pi$	Tajima's <i>D</i>	<i>P</i> -value
12S	Leste	824	11	5	4	0.745	0.00274	-0.31446	>0.10
	Oeste	824	4	6	4	1	0.00384	1.22875	>0.10
16S	Leste	331	101	13	13	0.782	0.01016	0.67051	>0.10
	Oeste	331	21	15	11	0.838	0.01027	-0.86487	>0.10
COI	Leste	553	13	11	4	0.756	0.00922	1.68877	>0.10
	Oeste	553	4	10	3	0.833	0.00934	-0.52807	>0.10
POMC	Leste	354	*68	33	12	0.772	0.02647	1.15819	>0.10
	Oeste	354	*34	26	10	0.731	0.01376	-0.81691	>0.10
RAG1	Leste	1038	*70	12	17	0.906	0.00229	-0.13227	>0.10
	Oeste	1038	*34	10	12	0.891	0.00214	-0.28094	>0.10

*L*, comprimento pares de base; *N*, tamanho da amostra; *S*, número de sítios polimórficos; *H*, número de haplótipos; *H<sub>d</sub>*, diversidade haplotípica;  $\pi$ , diversidade nucleotídica. Teste Tajima's *D* e *P*-values. \*Sequências faseadas.

**Tabela 5.** Porcentagens de variância para componentes de análises de variância molecular (AMOVAs) realizadas com diferentes genes nas linhagens Leste e Oeste de *Boana crepitans*.

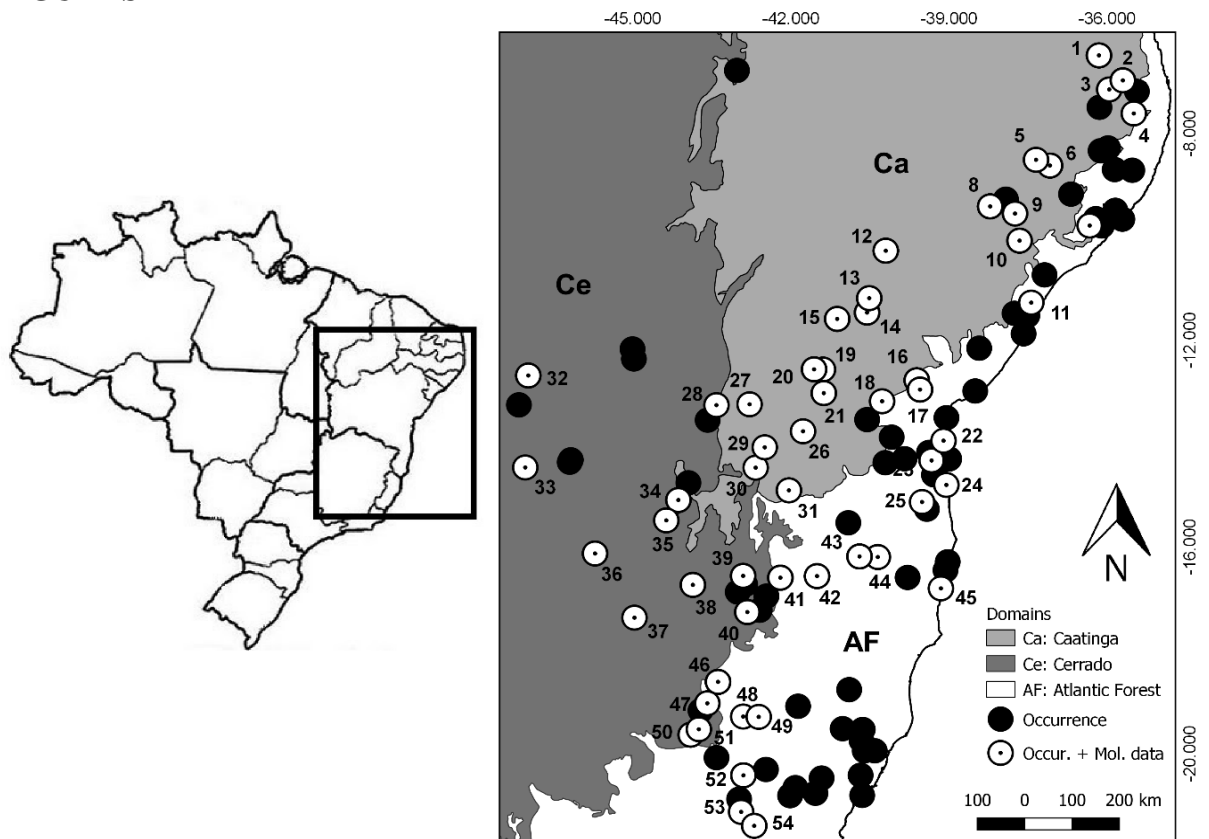
Locus	Fontes de variação		$F_{st}$
	Entre as linhagens	Dentro das linhagens	
12S	1.07	98.93	0.01068
16S	9.38	90.62	0.09384
COI	5.47	94.53	0.05472
POMC	3.27	96.73	0.03272
RAG1	5.08	94.92	0.05077

Todos  $P$ -values < 0.0001.

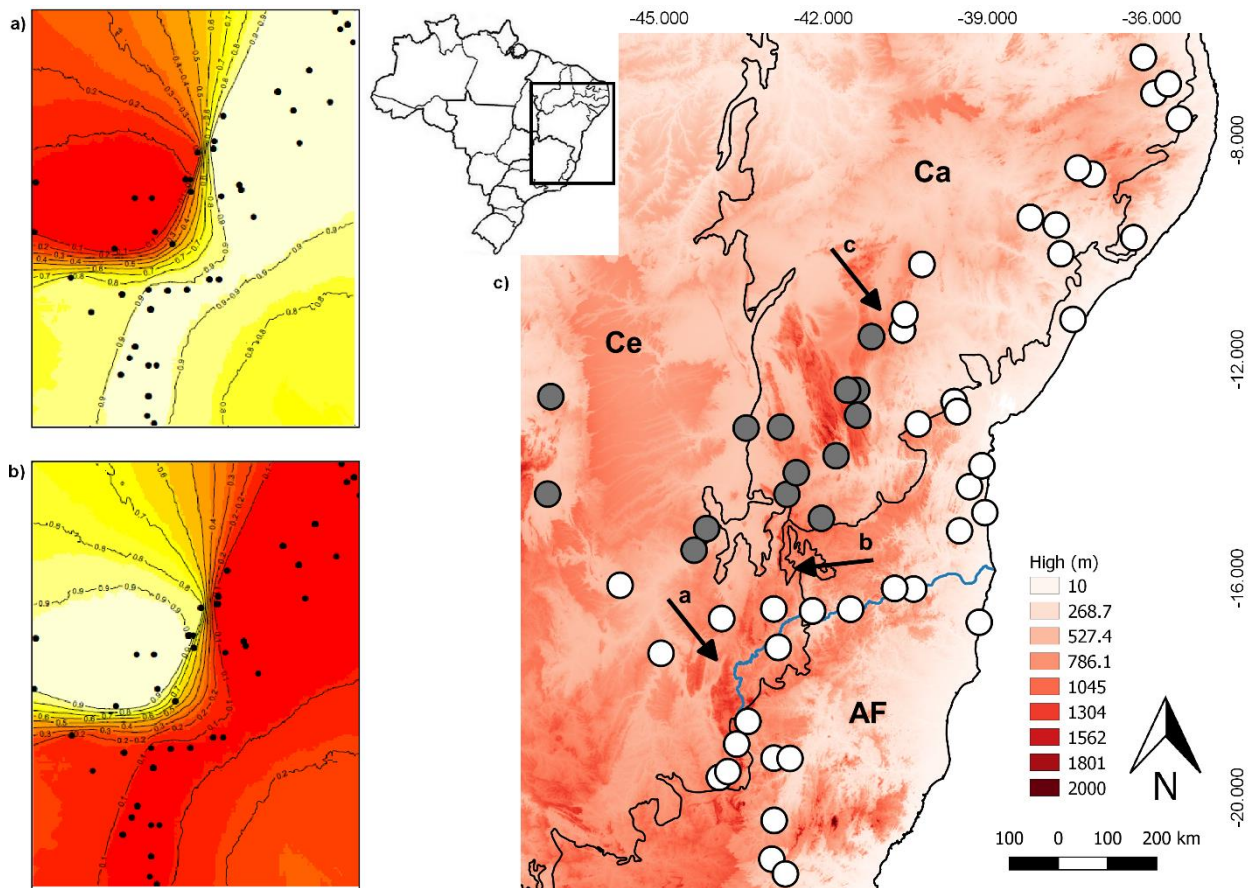
**Tabela 6.** Resultados da análise Migrate-N

Parâmetro	2.5%	25.0%	Mode	75.0%	97.5%	Mediana	Mean
Q <sub>1</sub>	0.00000	0.0000 0	0.0000 3	0.0000 7	0.0000 7	0.0045 0	0.0040 7
Q <sub>2</sub>	0.00007	0.0006 0	0.0010 3	0.0014 0	0.0020 0	0.0011 0	0.0010 6
M <sub>2-&gt;1</sub>	0.0	0.0	0.3	37.3	37.3	37.7	170.7
M <sub>1-&gt;2</sub>	361.3	449.3	476.3	486.0	497.3	456.3	443.5

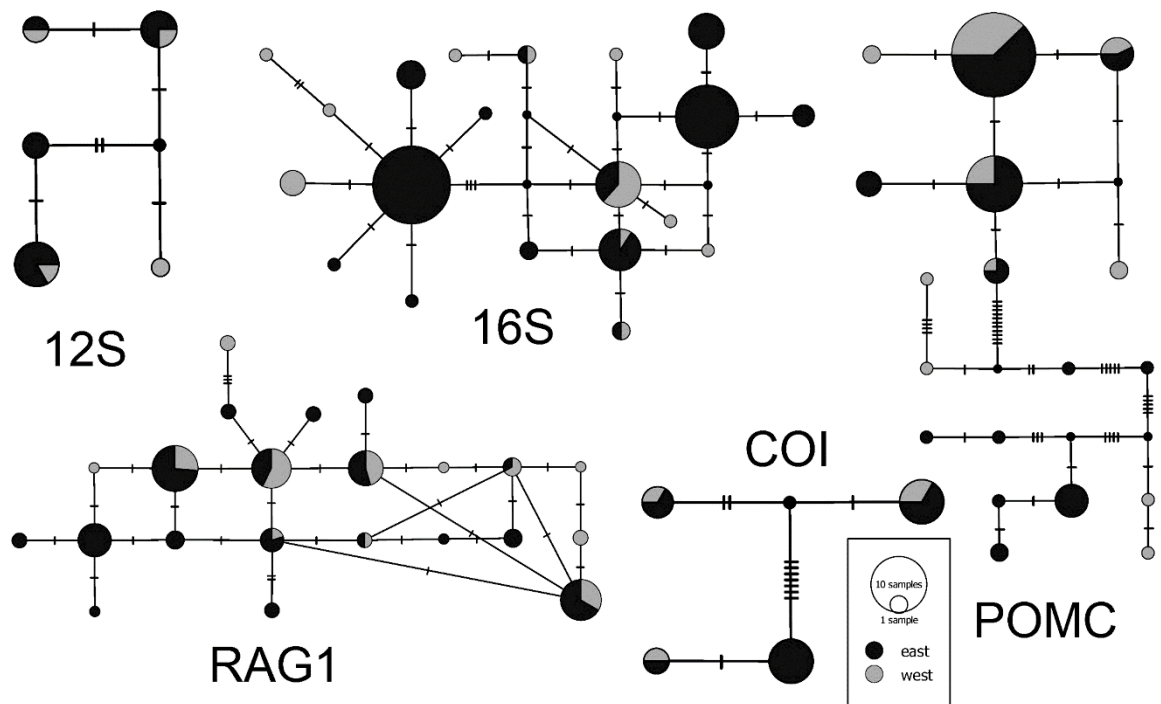
## FIGURAS



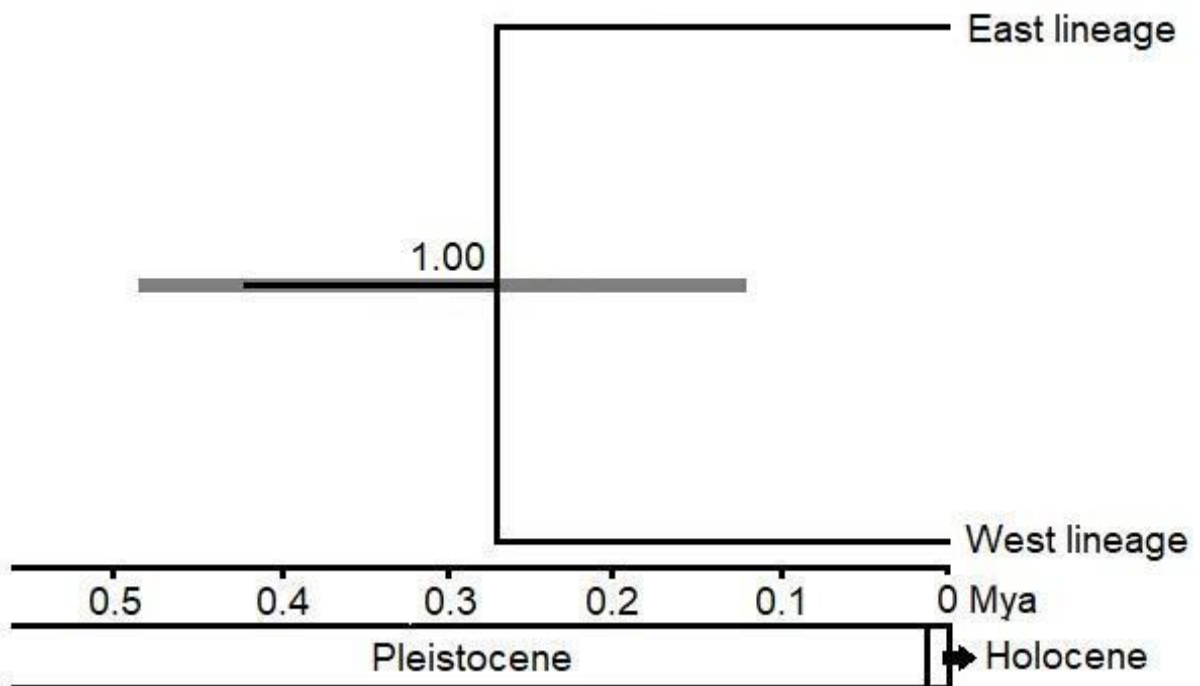
**Figura 1.** Distribuição geográfica de *Boana crepitans*. Círculos pretos: pontos de ocorrência (ver Dantas et al. 2019). Círculos brancos com ponto: pontos de ocorrência + dados moleculares. Os números correspondem a 54 nomes de localidades na Tabela 1.



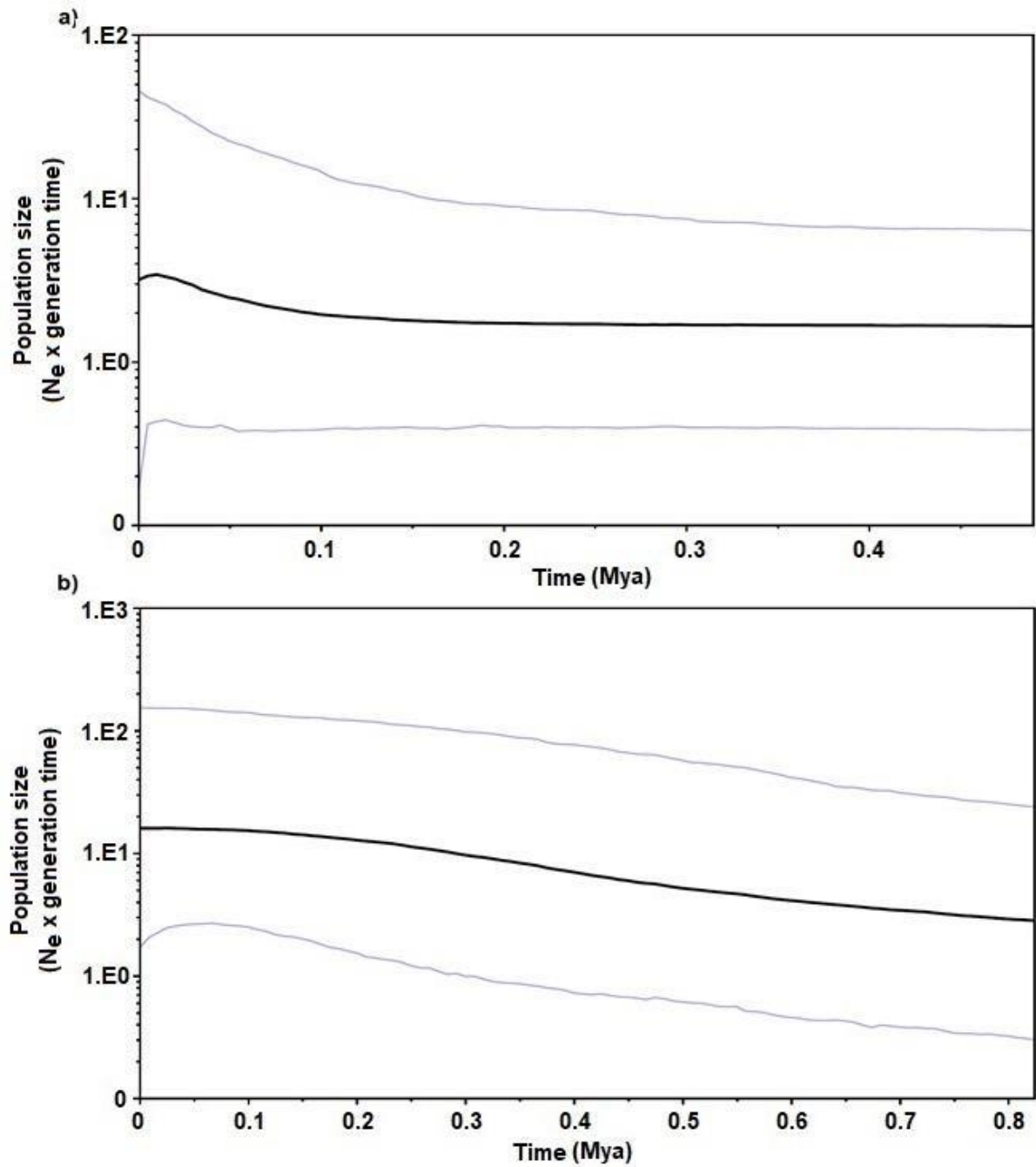
**Figura 2.** Análise GENELAND (a e b) com isoclinas de probabilidade posterior, que indicam extensões das populações genéticas encontradas (linhas pretas com probabilidades de inclusão). Zonas coloridas em cada mapa indicam os grupos de localidades com maiores probabilidades de pertencer à mesma unidade genética. Pontos pretos indicam a localização das 54 localidades analisadas. O mapa à direita (c) mostra a distribuição da linhagem Leste (círculos brancos) e linhagem Oeste (círculos cinzas) ao longo dos domínios morfoclimáticos Caatinga (Ca), Cerrado (Ce) e Mata Atlântica (AF). A cor vermelha representa altitudes mais elevadas e o branco representa altitudes mais baixas. As setas representam: (a) limite norte do Espinhaço Meridional, (b) limite sul do Espinhaço Central e (c) Chapada Diamantina. A linha em azul, representa o Rio Jequitinhonha.



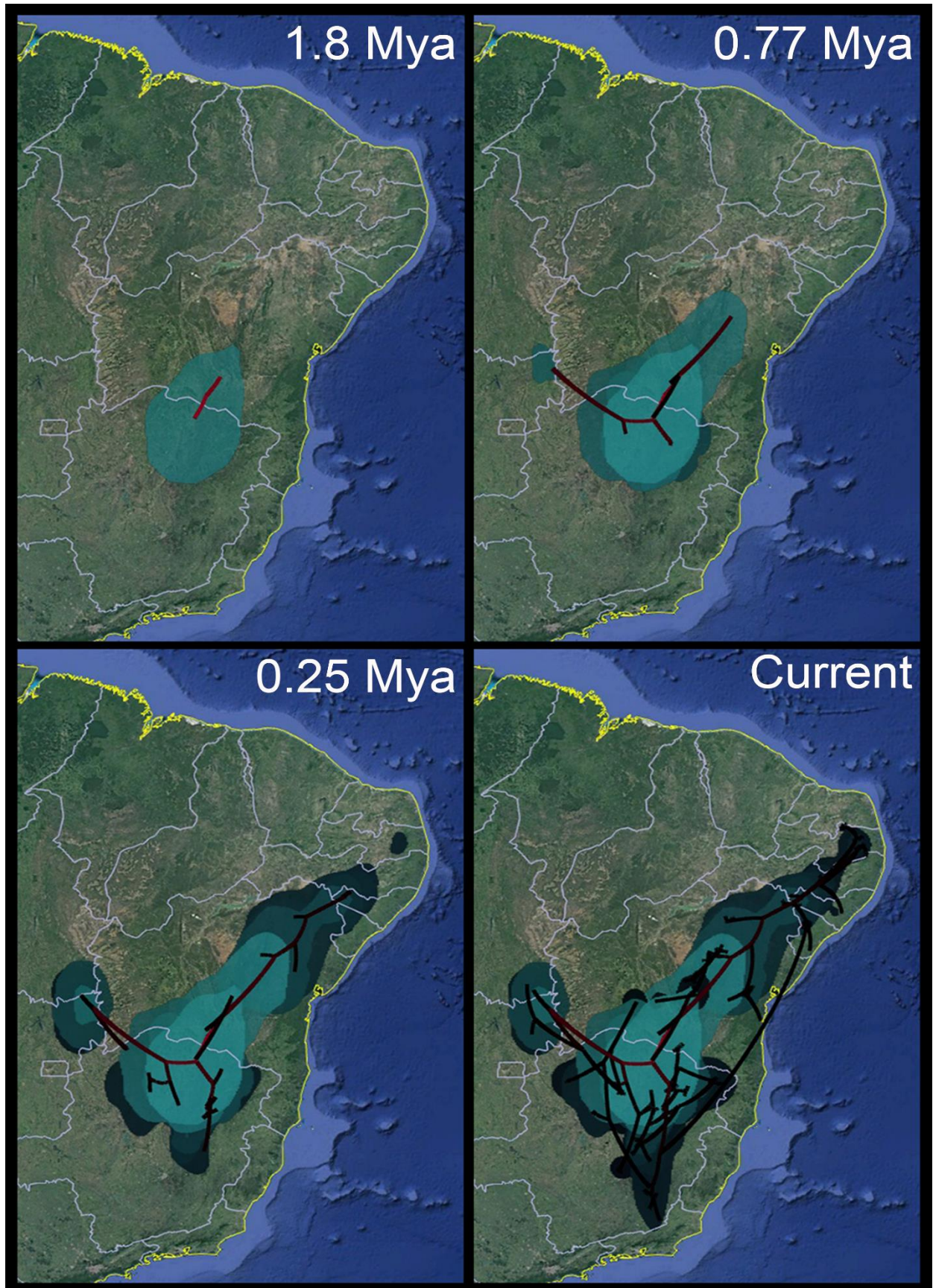
**Figura 3.** Rede de haplótipos para os genes mitocondriais 12S, 16S, COI e nucleares POMC e RAG1 usando o método de junção mediana. Cada haplótipo é representado por um círculo cuja área é proporcional à sua frequência. Círculos pretos e cinzas representam as linhagens Leste e Oeste, respectivamente. Pontos pretos, vectores medianos (haplótipos não amostrados ou extintos não são mostrados).



**Figura 4.** Árvore de espécies entre as linhagens Leste e Oeste da espécie *Boana crepitans*, com base na análise bayesiana dos genes mitocondriais 12S, 16S, COI e nucleares POMC e RAG1. O valor acima do ramo indica probabilidade posterior.



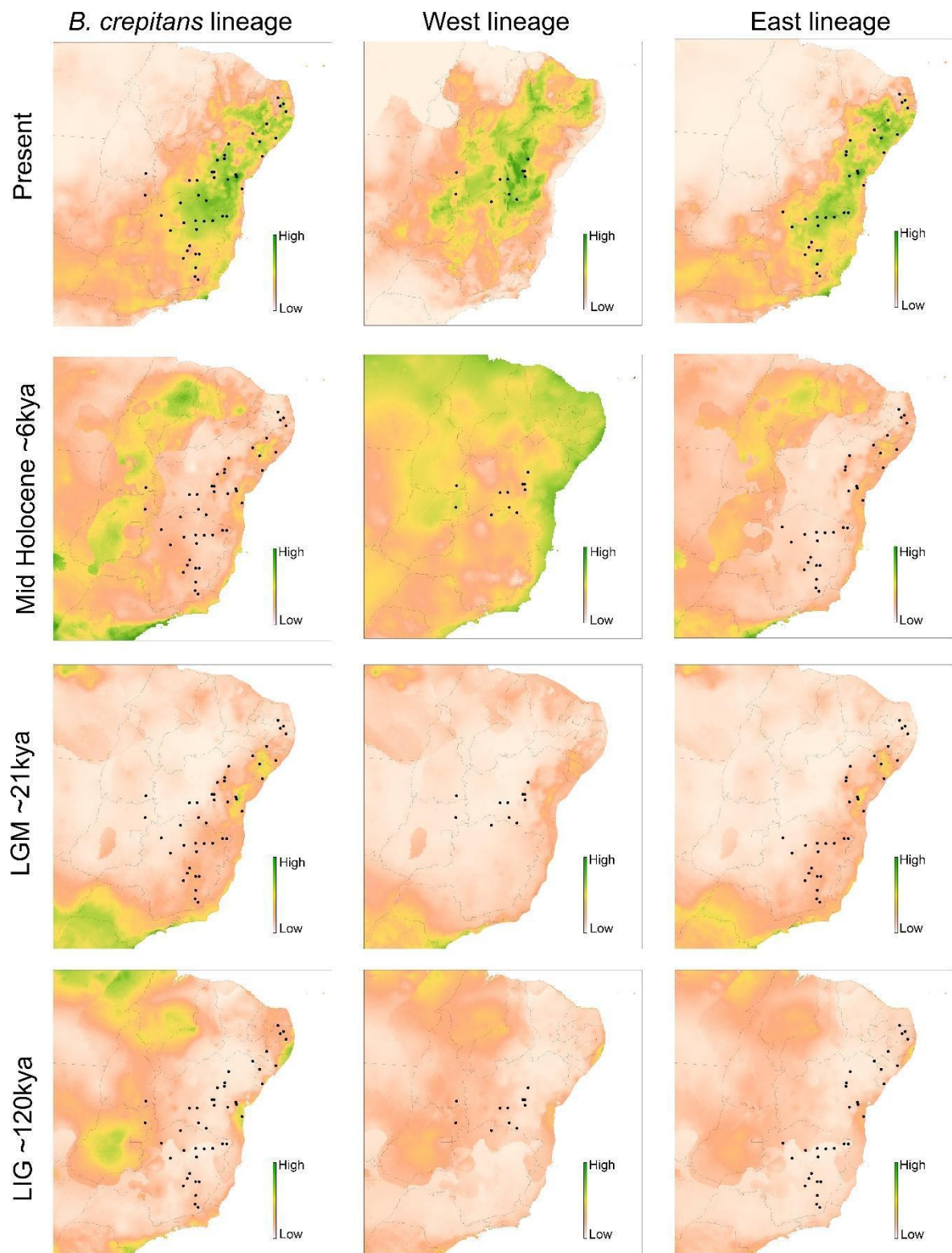
**Figura 5.** Bayesian Skyline plots ilustrando tamanhos efetivos da população ( $N_e$ ) ao longo do tempo (em anos) das linhagens Leste (a) e Oeste (b). A linha preta representa o tamanho médio da população e as linhas cinza representam uma probabilidade posterior maior que 95%.



**Figura 6.** Reconstruções filogeográficas da linhagem Leste e Oeste. A dinâmica espaço-temporal do gene 16S é mostrada em quatro períodos de tempo diferentes desde a sua origem até o presente. Polígonos claros representam clados basais e escuros representam clados



recentes. As linhas representam os galhos de árvores com credibilidade máxima do clado projetado na superfície. Os mapas são baseados em imagens de satélite visualizadas no Google Earth.



**Figura 7.** Modelos de nicho ecológico (MNEs) para *Boana crepitans* (usando todos os registros de ocorrência para as duas linhagens). As cores indicam adequação prevista, variando

de inadequada (branca) a baixa (laranja), média (amarela) e alta (verde). Pontos pretos representam registros de ocorrência.

**Relações históricas entre a Amazônia e a Mata Atlântica durante as flutuações climáticas do Paleógeno tardio reveladas pela biogeografia da tribo Sphaenorhynchini (Anura, Hylidae)**

A ser submetido no periódico científico Journal of Biogeography

## Relações históricas entre a Amazônia e a Mata Atlântica durante as flutuações climáticas do Paleógeno tardio reveladas pela biogeografia da tribo Sphaenorhynchini (Anura, Hylidae)

Elvis Almeida Pereira<sup>1,2</sup>, Karoline Ceron<sup>2</sup>, Hélio Ricardo da Silva<sup>1</sup>, Diego José Santana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Biologia Animal, Laboratório de Herpetologia, 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>2</sup>Mapinguari - Laboratório de Biogeografia e Sistemática de Anfíbios e Répteis, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79002-970, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

\*corresponding author: elvisaps@hotmail.com

**Resumo.** A reconstrução da história espacial e temporal dos organismos busca esclarecer os padrões de distribuição das espécies. A região Neotropical é muito visada pelos pesquisadores para entender estes padrões biogeográficos, pois o continente Sul-Americano apresenta uma ampla gama de ambientes, altitudes, domínios morfoclimáticos e sofreu diversas mudanças geológicas e climáticas ao longo do tempo. Na paisagem atual, dois domínios morfoclimáticos que compreendem as mais diversas florestas tropicais do mundo, a Amazônia e Mata Atlântica, são separados pela diagonal de formações abertas. A tribo Sphaenorhynchini está entre as poucas linhagens que ocorrem em ambas florestas tropicais, e os padrões biogeográficos nunca foram propostos nesta tribo. Com isto, neste estudo inferimos as relações filogenéticas com datação entre as espécies da tribo Sphaenorhynchini e fizemos a reconstrução da história biogeográfica descrevendo o tempo, a cronologia de diversificação e possíveis padrões de dispersão e vicariância, fornecendo informações sobre como forças externas e a especiação afetaram a evolução da tribo na América do Sul.

**Palavras-chave.** Hatchet-faced Treefrog, Lime Treefrogs, Short-snouted Green Treefrogs, Dispersão, Zoogeografia, Filogenia, *Sphaenorhynchus*, *Gabohyla*, BioGeoBEARS.

**Abstract.** The reconstruction of the spatial and temporal history of organisms seeks to clarify the distribution patterns of species. The Neotropical region is highly sought by researchers to understand these biogeographic patterns, since the South American continent presents a wide range of environments, altitudes, morphoclimatic domains and has undergone several geological and climatic changes over time. In the current landscape, two morphoclimatic domains that comprise the most diverse tropical forests in the world, the Amazon and the Atlantic Forest, are separated by the diagonal of open formations. The Sphaenorhynchini tribe is among the few lineages that occur in both rainforests, and biogeographic patterns have never been observed in this tribe. Therefore, in this study we infer the phylogenetic relationships with dating between the species of the Sphaenorhynchini tribe and we reconstructed the biogeographic history describing the time, the diversification chronology and possible patterns of dispersion and vicariance, providing information about how external forces and speciation affected the evolution of the tribe in South America.

**Key words:** Hatchet-faced Treefrog, Lime Treefrogs, Short-snouted Green Treefrogs, Dispersal, Zoogeography, Phylogeny, *Sphaenorhynchus*, *Gabohyla*, BioGeoBEARS.

### Introdução

Compreender os processos evolutivos e padrões biogeográficos na região Neotropical tem sido objeto de interesse de pesquisadores, desde o século XIX (Wallace, 1852; Sclater, 1858; Bates, 1862; Papavero, Teixeira, & Llorente-Bousquets, 1997). A

reconstrução da história espacial e temporal dos organismos busca esclarecer tal dilema, mas obter uma imagem clara da história evolutiva pode ser um desafio, uma vez que diversas características ecológicas, filogenéticas e climáticas devem ser levadas em consideração (Wiens, 2011). A região Neotropical é a mais diversa da Terra, e possui desde formações recentes à antigas abrangendo uma ampla gama de formações geológicas e geomorfológicas (Saadi, 1995; Hoorn, Wesselingh, Hovikoski, & Guerrero, 2010a). Diferentes hipóteses, a maioria delas fundamentadas nas regiões florestais (e.g. Hoorn & Wesselingh, 2010; Batalha-Filho et al., 2012; Fouquet et al., 2012; Paz et al., 2018) foram sugeridas para a origem e manutenção da biodiversidade nesta região, tais como o isolamento da América do Sul, a orogenia andina, o fechamento do istmo do Panamá e as flutuações climáticas do quaternário (Hoorn & Wesselingh, 2010; Batalha-Filho, Cabanne, & Miyaki, 2012; Fouquet et al., 2012a; Fouquet et al., 2012b; Paz et al., 2018).

Com a elevação andina, a paisagem neotropical teve múltiplas mudanças, pois neste período houve alteração do clima (Insel, Poulsen, & Ehlers, 2010) e formação da bacia amazônica e o sistema Pebas, criando novos habitats que influenciaram a diversificação de diferentes grupos, principalmente na região Amazônica (Hoorn, 1993; Antonelli, Nylander, Persson, & Sanmartín, 2009; Hoorn et al., 2010a, Hoorn et al., 2010b). Já a região Atlântica, localizada no Leste da América do Sul, sofreu alterações significativas com a transição climática global durante o Cenozóico (Carnaval & Moritz, 2008). Estas mudanças climáticas na Mata Atlântica influenciaram a diversificação de grupos em diferentes domínios morfoclimáticos (Antonelli et al., 2010; Graham, VanDerWal, Phillips, Moritz, & Williams, 2010; Hughes, Pennington, & Antonelli, 2013) e impulsionaram a evolução das linhagens recentes de diversos grupos de animais e vegetais dentro do domínio morfoclimático florestal (Carnaval et al., 2009; Fitzpatrick, Brasileiro, Haddad, & Zamudio, 2009; Mata et al., 2009; Thomé, Zamudio, Haddad, & Alexandrino, 2014; Porto, Carnaval, & da Rocha, 2013).

O tempo de diversificação na região neotropical tem sido amplamente debatido (e.g. Rull, 2008; 2011a; b; Hoorn et al., 2010a; Batalha-Filho et al., 2012; Fouquet et al., 2012a; b; de Sá et al., 2019). A ideia original, considerando a riqueza de espécies tropicais como resultado de um processo de longo prazo em ambientes estáveis, foi abandonada com a hipótese do refúgio, e a maior parte da especiação foi atribuída a eventos quaternários (Haffer, 1969, 2001). Mais recentemente, uma evidência crescente de diferenciação pré-quaternária foi acumulada, atribuindo eventos tectônicos, eustáticos e orogênicos (Rull, 2006; Geurgas, Rodrigues, & Moritz, 2008; Ribas, Miyaki, & Cracraft, 2009), ou a rios como barreiras ao fluxo gênico (Gascon et al., 2000; Pellegrino et al., 2005; Passoni, Benozzati, & Rodrigues, 2008).

Os domínios morfoclimáticos da Amazônia e Mata Atlântica na América do Sul (Ab'Saber, 1977; Dinerstein et al., 2017) compreendem as mais diversas florestas tropicais do mundo, e são separados pela diagonal de formações abertas (Prado & Gibbs, 1993; Silva, Sousa, & Castelletti, 2004), a qual age como uma barreira à migração de espécies entre essas regiões florestais (Mori, Nowycky, & Shepherd, 1981; Por, 1992; Costa, 2003). Tal separação faz com que ambas florestas possuam poucas espécies em comum, e vários clados endêmicos para cada região (Duelmann, 1999). Porém, os dois domínios morfoclimáticos florestais já estiveram conectados durante as flutuações climáticas do Neógeno e do Quaternário, resultando em relações biogeográficas conflitantes entre o leste da floresta amazônica e as partes norte e sul da Mata Atlântica (Perret, Chautems, & Spichiger, 2006; Santos et al., 2007; Fiaschi & Pirani, 2009; Cheng et al., 2013; Costa et al., 2018).

O monofiletismo de Sphaenorhynchini tem sido sempre suportado (Pyron, 2014; Duellman, Marion, & Hedges, 2016; Araujo-Vieira, Luna, Caramaschi, & Haddad, 2020) e várias sinapomorfias morfológicas foram sugeridas atribuído (Duellman & Wiens, 1992; Faivovich et al., 2005; Araujo-Vieira et al., 2015), porém as relações interespecíficas

permaneciam incertas. Através de análises recentes, incluindo dados morfológicos e moleculares, Araujo-Vieira et al. (2019) realizaram um teste filogenético buscando compreender os relacionamentos internos da tribo. Entre as poucas linhagens que ocorrem em ambas florestas tropicais, a tribo *Sphaenorhynchini* é composta por 15 espécies de pererecas esverdeadas (ver Araújo-Vieira et al., 2019; 2020; Frost 2020), e os padrões biogeográficos observados nesta tribo nunca foram abordados. Dentro da tribo a única espécie do gênero *Gabohyla* (*G. pauloalvini*) juntamente com outras 11 espécies do gênero *Sphaenorhynchus* (*S. botocudo*, *S. bromelicola*, *S. cammaeus*, *S. canga*, *S. caramaschii*, *S. mirim*, *S. palustris*, *S. planicola*, *S. platycephalus*, *S. prasinus* e *S. surdus*), ocorrem na Mata Atlântica, do estado de Pernambuco ao estado do Rio Grande do Sul (Werner, 1984; Lutz & Lutz, 1938; Cochran, 1953; Bokermann, 1966; Bokermann, 1973; Toledo, Garcia, Lingnau, & Haddad, 2007; Caramaschi, Almeida, & Gasparini, 2009; de Freitas, Silva, & Loebmann, 2009; Lacerda & Moura, 2013; da Silva, de Luna-Dias, & de Carvalho, 2013; Araújo-Vieira et al., 2015; Roberto, Araujo-Vieira, de Carvalho-e-Silva, & Ávila, 2017; Araújo-Vieira, Caramaschi, Grillitsch, Grant, & Faivovich, 2018; Melo, Rodrigues, Pelegrini, & Martins, 2018), enquanto as demais três espécies possuem distribuição associada à bacia Amazônica e do Orinoco (*S. carneus*, *S. dorisae* e *S. lacteus*) (La Marca, Azevedo-Ramos, Coloma, Ron, & Hardy, 2010; Benício, Silva, & Fonseca, 2011).

Dada a distribuição desse clado restrita aos dois maiores domínios morfoclimáticos florestais da América do Sul, aliada ao histórico evolutivo conhecido entre esses dois domínios, neste estudo nós inferimos as relações filogenéticas com datação entre as espécies da tribo *Sphaenorhynchini* usando marcadores mitocondriais e nucleares. A partir desta estrutura, reconstruímos as áreas ancestrais usando técnicas para predizer o passado com base nos tempos de divergência estimados e nas atuais faixas geográficas das espécies existentes de *Sphaenorhynchini*. Esta reconstrução da história biogeográfica descreve o tempo, a cronologia de diversificação e possíveis padrões de dispersão e vicariância. Aqui integramos dados distributivos, moleculares e uma estrutura filogenética bem estabelecida em um estudo amplo dos padrões de evolução das espécies e das mudanças históricas que as moldaram (Crisci, 2001), fornecendo informações sobre forças externas (mudanças climáticas, ambiente geofísico) que, em conjunto com a especiação, afetaram o modo evolutivo destas espécies na América do Sul.

## **Materiais e Métodos**

### **Coleta de amostras**

Sequências correspondentes a 13 espécies de *Sphaenorhynchus* e *Gabohyla* em nossas análises foram derivadas de estudos filogenéticos anteriores (ver Faivovich et al. 2005; Wiens et al. 2006; Araujo-Vieira 2019; 2020). Nós utilizamos sequências das espécies (*G. pauloalvini*, *S. botocudo*, *S. cammaeus*, *S. canga*, *S. caramaschi*, *S. carnaeus*, *S. dorisae*, *S. lacteus*, *S. mirim*, *S. planicola*, *S. platycephalus*, *S. prasinus*, *S. surdus*) junto com *Scinax fuscovarius* como grupo externo, todas disponíveis no Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>; Tabela 1). Não há sequências disponíveis para *Sphaenorhynchus bromelicola* e *S. palustris*, e, portanto, não foram incluídos em nossas análises. Nós obtivemos sequências de 41 espécimes da tribo *Sphaenorhynchini* além de *Scinax fuscovarius* que foi utilizada como grupo externo (ver Tabela 1).

### **Edição e geração de alinhamentos**

Para análises filogenéticas, utilizamos quatro marcadores moleculares (ver Tabela 1), três genes mitocondriais (12S, 16S e Citocromo b - Cytb) e um gene nuclear (Tirosinase - Tyr). Geramos um alinhamento de 667 pares de base (pb) para o gene 12S, 1.015 pb para o gene 16S, 299 pb para o gene Cytb e 432 pb para o gene Tyr. As sequências foram alinhadas

com o algoritmo ClustalW (Sievers et al., 2011) e verificadas visualmente no programa Geneious v9.1.2 (Biomatters Ltd). Nós encontramos lacunas nos genes 12S e 16S e as removemos usando o Gblocks 0.91b (Castresana, 2000; Talavera & Castresana, 2007), disponível como servidor da web

([http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks\\_server.html](http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks_server.html)). Este programa reduz a necessidade de editar manualmente vários alinhamentos, facilitando a reprodução dos alinhamentos e subsequente análise filogenética por outros pesquisadores.

### **Análises Filogenéticas**

Para estimar o melhor modelo de substituição de cada segmento gênico, utilizamos o Critério de Informação Bayesiano (BIC, Sullivan & Joyce, 2005) implementado no programa jModelTest 2.1.4 (Darriba, Taboada, Doallo, & Posada, 2012). Os modelos mais adequados foram GTR+I+G para 12S, GTR+I+G para 16S, HKY+I+G para Citocromo b e K80+G para Tirosinase. Para inferir o tempo dos eventos de especiação dentro do gênero *Sphaenorhynchus*, construímos uma árvore de espécies no \*BEAST usando os três genes mitocondriais e o nuclear no programa BEAST v1.8 (Drummond et al., 2012). Devido a falta de calibrações fósseis para este grupo, utilizamos a taxa de mutação do 16S proposta por Lemmon, Lemmon, Collins, Lee-Yaw, & Cannatella (2007) e Lymberakis et al., (2007) (0,28% por linhagem por milhão de anos) e uma taxa geral de mutação do Citocromo b para anuros de 0,957% por linhagem por milhão de anos (Crawford, 2003). Executamos 300 milhões de gerações, amostrando a cada 30.000 etapas usando uma árvore do Yule Process anterior. Avaliamos visualmente a convergência das execuções do MCMC e os tamanhos efetivos da amostra (valores de ESS  $\geq$  200) usando o programa TRACER 1.5 (Rambaut & Drummond, 2009). Descartamos 10% das gerações como *burn-in*, e a árvore de consenso para cada locus foi inferida com o TreeAnnotator 1.8. (Drummond et al., 2012).

### **Análises Biogeográficas**

A distribuição geográfica ao longo do tempo da tribo Sphaenorynchini na América do Sul foi estimada com o pacote “BioGeoBEARS” (Matzke, 2013; 2014) no ambiente R (R Core Team, 2018). A variedade de espécies de Sphaenorynchini foi subdividida em cinco áreas geográficas: A) Oeste da Amazônia, B) Leste da Amazônia, limitada pelos rios Madeira e Negro, C) Sul da Mata Atlântica, D) Mata Atlântica Central (MA) e E) Norte da Mata Atlântica, limitadas pelos rios Tietê e Paraíba do Sul (Figura 1). Atribuímos espécies a essas cinco regiões com base em mapas de distribuição disponíveis na Lista Vermelha da IUCN. O pacote ‘BioGeoBEARS’ implementa métodos de máxima verossimilhança (ML) que replicam as principais premissas dos três métodos mais comumente usados na biogeografia histórica, a saber, DEC (Cladogênese de Dispersão-Extinção; Ree & Smith, 2008), DIVA (Análise de Dispersão-Vicariância; Ronquist, 1997) e BayArea (Inferência Bayesiana de Biogeografia Histórica para Áreas Discretas; Landis, Matzke, Moore, & Huelsenbeck, 2013). Esses três métodos foram originalmente desenvolvidos em estruturas diferentes (probabilidade para DEC, parcimônia para DIVA e Bayesiana para BayAREA), mas todos são representados como modelos de probabilidade em ‘BioGeoBEARS’ para permitir comparação direta. Os dois últimos modelos não são, portanto, idênticos à sua formulação original e são referidos como DIVALIKE e BAYAREALIKE dentro de ‘BioGeoBEARS’ (Matzke, 2013). Coletivamente, esses modelos permitem uma ampla gama de processos, incluindo especiação dentro da área, vicariância, expansão da faixa (dispersão para uma nova área) e contração da faixa (extinção em uma área). Também testamos modelos com e sem especiação de evento fundador, que é incorporada ao parâmetro *j*. A partir do modelo com menor critério de informação de Akaike (AIC), estimamos as probabilidades de área ancestral ao longo da filogenia (Burnham & Anderson, 2003).

O modelo DEC, responsável pela expansão do intervalo por meio de um evento fundador (+ j), foi o mais adequado aos dados (AIC = 54,54; Tabela 2). Esse modelo é responsável pela dispersão, extinção e o parâmetro de salto. Em geral, os três modelos "+ J" melhoraram significativamente o ajuste do modelo para o modelo correspondente sem a inclusão de "+ J". Isso indicou que a especiação entre eventos fundadores desempenhou um papel importante na biogeografia de *Sphaenorhynchus*. Sob o modelo DEC + j, pelo menos quatro eventos de vicariância (v) e múltiplos eventos de dispersão poderiam ter explicado os padrões de distribuição (ver Matzke, 2014).

## Resultados

### Filogenia e Tempos de Divergência

Na árvore de espécies, 75% dos nós foram fortemente suportados (Figura 2). A maioria dos eventos de especiação que reproduzem a diversidade atual ocorreu entre 34 e 5 milhões de anos atrás (daqui em diante, Maa), e a maior diversificação foi observada a partir da metade do Mioceno até o início do Plioceno (Figura 2).

As estimativas da data de divergência do \*BEAST entre as 13 espécies de *Sphaenorhynchini* utilizadas na análise filogenética são mostradas na Figura 2. A idade do ancestral comum mais recente (MRCA) de *Sphaenorhynchus* e *Gabohyla* foi estimado em 57 Maa (HPD 95%: 43,92–72,61 Maa) entre o final do Cretáceo e o médio Eoceno, com forte suporte na filogenia bayesiana (PP = 1.00), quando os *Sphaenorhynchini* divergiram de todos os outros Hylideos. Relativamente pouco depois da divisão inicial, durante o final do Eoceno, o clado contendo *G. pauloalvini* e *S. carneus* divergiu de todos os demais *Sphaenorhynchini* (34,43 Maa; 95% HDP: 27,63–42,63 Maa). O ancestral mais recente comum das duas espécies foi estimado em 29,95 Maa, no início do Oligoceno (95% HDP: 22,83–37,74 Maa), originando duas espécies em diferentes domínios morfoclimáticos, amazônico e atlântico. Aproximadamente ao mesmo tempo, o clado contendo o grupo *S. planicola* (*S. mirim* e *S. planicola*) divergiu dos demais *Sphaenorhynchus* à 28,55 Maa também no início do Oligoceno (95% HDP: 31,34–52,81 Maa). Já no Oligoceno médio, houve uma nova divergência, dando origem a dois novos clados (amazônico: grupo *S. lacteus* (*S. lacteus* e *S. dorisae*) e atlântico) há cerca de 22,83 Maa (95% HDP: 19,02–27,75 Maa). Cerca de três milhões de anos depois, ainda no médio Oligoceno uma divergência foi estimada em 20,07 Maa (95% HDP: 16,26–24,60 Maa), separando *S. prasinus* das demais espécies. Isso foi seguido por uma nova divisão, separando *S. lacteus* e *S. dorisae* durante o final do Oligoceno à 17,1 Maa (95% HDP: 13,03–21,91 Maa). Dentro do grupo *S. platycephalus* cinco eventos de diversificação podem ser observados entre o Mioceno e o Plioceno (Figura 2). A divisão inicial das espécies existentes deste grupo foi estimada durante o médio Mioceno (9,77 Maa; 95% HDP: 7,75–12,04 Maa). Neste mesmo período houve uma divergência entre as duas espécies do grupo *S. planicola* (*S. mirim* e *S. planicola*) datada de 9,51 Maa (95% HDP: 6,44–12,8 Maa).

### Estimativas das Áreas Ancestrais

Nossos resultados indicam que o primeiro evento de diversificação dos *Sphaenorhynchini* ocorreu no Norte Mata Atlântica, a cerca de 34 Maa, no final do Eoceno. Dois distintos eventos de dispersão ocorreram com as espécies entre os domínios morfoclimáticos florestais, Mata Atlântica e Amazônia. As dispersões iniciais ocorrem no início do Oligoceno, quando houve radiação do ancestral comum e um evento restrigiu *S. carneus* ao Oeste do domínio morfoclimático Amazônico, e *G. pauloalvini* na Mata Atlântica, especificamente entre o norte do Rio Paraíba do Sul e o vale do Rio Jequitinhonha (Figura 3). Ainda no Oligoceno, houve uma nova divergência, originando dois novos clados. Ocorrendo assim, uma nova radiação de linhagens da Mata Atlântica para a Amazônia. Após esta



diversificação, um evento ocorreu e restringiu *S. dorisae* a Oeste do Rio Madeira, e *S. lacteus* amplamente distribuído na floresta amazônica (Figura 3).

O clado com as espécies atlânticas diversificou por volta de 28 Maa restringindo o *S. mirim* ao norte do Rio Paraíba do Sul, na divisa dos estados da Bahia e Espírito Santo, e *S. planicola* à região costeira do Sul do estado da Bahia ao Sul do estado do Rio de Janeiro. O segundo evento de diversificação na Mata Atlântica foi estimado para o médio Oligoceno (cerca de 20 Maa), restringindo *S. prasinus* ao Norte do Rio Paraíba do Sul. Porém, o maior número de diversificações das linhagens atlânticas ocorreu do médio Mioceno até o final do Plioceno, quando três eventos distintos ocorreram por volta de 10 Maa, restringindo *S. caramaschi* ao Sul do Rio Tietê; posteriormente, *S. cammaeus* ao nordeste do Brasil e dividiu *S. planicola* à região costeira da Mata Atlântica, especificamente, do Sul do estado da Bahia até o Sul do estado do Rio de Janeiro; e *S. mirim* restringindo-a ao norte do estado do Espírito Santo, na divisa com estado da Bahia. Já no final do Mioceno, outros dois eventos de diversificação ocorreram, restringindo *S. botocudo* também ao norte do Rio Doce e em seguida, *S. surdus* ao Sul do Rio Tietê. As linhagens mais recentes a se diversificarem foram *S. canga* (restrita ao Norte do Rio Paraíba do Sul) e *S. platycephalus* (com ocorrência do Norte do Rio Tietê ao Sul do Rio Paraíba do Sul), ocorrendo no Plioceno (cerca de 4,22 Maa) (Figura 3).

## Discussão

Em nossa análise da árvore de espécies, nós recuperamos três clados característicos que reconhecemos como grupos de espécies (grupo *S. lacteus*, *S. planicola* e *S. platycephalus*), sendo *S. carneus* e *G. pauloalvini* os táxons irmãos de todas as outras espécies da tribo, diferentemente do encontrado por Araújo-Vieira et al., (2019; 2020), que não incluíram *S. carneus*, como espécie irmã do restante da tribo. Esta diferença pode ser devido ao baixo valor de suporte deste clado na nossa filogenia (PP = 0.7; Figura 2), entretanto, este resultado destaca a necessidade de investigações maiores acerca desse relacionamento, dado que nossa análise (árvore de espécies) é baseada em modelos coalescentes robustos, e assim, a inclusão de mais indivíduos e mais marcadores genéticos poderá revelar de forma mais adequada esses relacionamentos. O restante da topologia da árvore de espécies em nossa análises corrobora com Araújo-Vieira et al., (2019) e a maioria dos conflitos são restritos a relacionamentos dentro do grupo *S. platycephalus*, onde há duas espécies para as quais não temos dados de sequência (*S. bromelicola* e *S. palustris*).

A diversificação das espécies de *Sphaenorhynchus* e *Gabohyla* das linhagens amazônicas e atlânticas, coincidem com os principais fatores climáticos e geológicos que moldaram a paisagem neotropical durante o Cenozóico (Linder, 2008; Rull, 2011a; Perret, Chautems, de Araujo, & Salamin, 2013). O ancestral comum mais recente das espécies de *Sphaenorhynchini* surgiu no Norte da Mata Atlântica, cerca de 34 Maa e migraram para Amazônia em eventos distintos de dispersão ocorridos durante as conexões entre esses domínios morfoclimáticos. Os padrões fornecidos por novas ideias na compreensão das relações evolutivas entre os dois domínios morfoclimáticos florestais têm sido amplamente abordadas na literatura, e alguns exemplos recentes com diversos táxons indicam que essas trocas ocorreram em momentos diferentes e nos dois sentidos, como por exemplo, para aves (Batalha-Filho, Fjeldsã, Fabre, & Miyaki, 2013; Patel, Weckstein, Patané, Bates, Aleixo, 2011), serpentes (Zamudio & Greene, 1997; Graziotin, Monzel, Echeverrigaray, & Bonatto, 2006; Dal Vechio, Prates, Graziotin, Zaher, & Rodrigues, 2018), lagartos (Prates, Rivera, Rodrigues, & Carnaval, 2016; Rodrigues et al., 2014) e mamíferos (Costa, 2003; Pavan et al., 2011) em conexões recentes (durante Plioceno e Pleistoceno) e antigas (Oligoceno, Mioceno médio e tardio) para anuros (Castroviejo-Fisher, Guayasamin, Gonzalez-Voyer, & Vilà, 2014; Fouquet et al., 2012a; 2012b; 2012c; Pirani et al., 2020), lagartos (Prates, Rodrigues, Melo-

Sampaio, & Carnaval, 2015; Prates et al., 2017) e também aves (Batalha-Filho et al., 2013). Estes padrões sugerem múltiplas conexões entre Mata Atlântica e Amazônia ao longo do tempo na América do Sul promovendo o intercâmbio de fauna nas duas direções e exibindo dezenas de milhões de anos de divergência em pequenos vertebrados restritos ao habitat de floresta, abandonando a ideia de um grande evento migratório em uma única direção. A presença de *Sphaenorhynchus* na floresta Amazônica é provavelmente o resultado de dois eventos distintos de dispersão ocorridos durante essas conexões (Figura 3), concordando com os diferentes achados de múltiplas conexões entre essas duas regiões.

Após o evento de extinção Cretáceo-Paleogeno, análises paleoclimáticas e palinológicas (Bigarella, Andrade-Lima, & Riehs, 1975; Ledru, 1993; Costa, 2003; Ortiz-Jaureguizar & Cladera, 2006; Micheels, Bruch, Uhl, Utescher, & Mosbrugger, 2007; Sobral-Souza, Lima-Ribeiro, & Solferini, 2015) indicam que o clima da América do Sul era úmido e quente durante grande parte de sua faixa no Paleógeno, devido ao Máximo Térmico do Paleoceno-Eoceno (MTPE). Esse clima teria promovido o desenvolvimento florestal em todo o continente, permitindo que as florestas amazônica e atlântica fossem conectadas (Willis, 1992; Patton, da Silva, Lara, & Mustrangi, 1997; Patton & Costa, 1999; de Oliveira, Barreto, & Suguio, 1999; Behling, Arz, Pätzold, & Wefer, 2000; Auler & Smart, 2001; Costa, 2003; Auler et al., 2004; Wang et al., 2004; Vilela et al., 2009) por diferentes rotas biogeográficas (ver Por, 1992) tais como: através do nordeste do Brasil, através do Brasil Central, via florestas de galeria que atravessavam as áreas mais secas e através da bacia do rio Paraná.

Porém, durante o Eoceno-Oligoceno (~34 Maa) o clima começou a passar por mudanças bruscas devido ao isolamento da Antártica (Kvasov & Verbitsky, 1981; Goldner, Herold, & Huber, 2014; Carter, Fricker, & Siegfried, 2017). Esta separação causou um resfriamento global dado à Corrente Circumpolar Antártica. As flutuações climáticas continuaram através do Oligoceno e Mioceno (Zachos et al., 2001; Jaramillo, Rudea, & Mora, 2006; Graham, 2010) mudando a composição da vegetação em todo o mundo (Meseguer, Lobo, Ree, Beerling, & Sanmartín, 2015) e provavelmente causaram a contração e a ruptura de áreas de florestas tropicais anteriormente contínuas (Jaramillo et al., 2010), influenciando a diversificação de grupos em diferentes domínios morfoclimáticos (Antonelli et al., 2010; Hughes et al., 2013). Nossa reconstrução fornece apoio a essa hipótese, sugerindo que o início da diversificação de *Sphaenorhynchini* entre o clado atlântico e amazônico ocorreu no Eoceno tardio em torno de 34 Maa com intervalos de credibilidade que variam até o Oligoceno médio (Figura 3).

Todas as espécies da tribo pertencem a apenas uma área geográfica definida, exceto *S. lacteus* (pertencente a duas áreas, A e B) e *S. planicola* (pertencente às áreas D e E) e a partir das reconstruções biogeográficas, sugerimos que a área ancestral para origem de *Sphaenorhynchini* provavelmente ocupava uma ampla área geográfica no leste da América do Sul, o que hoje é o Sudeste e Nordeste da Mata Atlântica (Regiões D e E; Figura 3). Todavia, supomos que *Sphaenorhynchini* se espalhou por áreas florestais durante o Eoceno (50–36 Maa), um período em que as áreas florestadas provavelmente se estendiam da Amazônia à Mata Atlântica. A contração subsequente de áreas florestais durante o final do Eoceno-Oligoceno (33–35 Maa) pode ter isolado uma linhagem no norte da Mata Atlântica, que divergiu, dando origem a *G. pauloalvini*, uma espécie com dados insuficientes e com distribuição limitada (Peixoto & Pimenta 2004; Freitas et al., 2009). Do mesmo modo, isolou uma outra linhagem no Oeste da Amazônia, dando origem a *S. carneus*, espécie de distribuição limitada pelos Rios Amazonas e Madeira (de la Riva, Kohler, Lotters, & Reichle, 2000; Azevedo-Ramos, Coloma, & Santiago, 2004). Também no Eoceno, houve o início da diversificação de outras linhagens descendentes do ancestral comum mais recente de *Sphaenorhynchus* (Figura 3).

Acredita-se que a formação da “diagonal de formações abertas”, também conhecida como “a principal disjunção sul-americana” (Brieger, 1969), tenha começado durante o Oligoceno (Hoorn et al., 2010; Perret et al., 2013; Sobral-Souza et al., 2015). Ao final do Mioceno (11-5 Maa), o aumento da aridez foi responsável pela rápida expansão da vegetação savânica e pela separação das florestas, remotamente contínuas, em duas regiões separadas, a Amazônia a oeste e Mata Atlântica a leste, totalmente formada no Pleistoceno (2 Maa) (Bigarella et al., 1975; Costa, 2003; Orme & Orme, 2007; Roig-Juñent, Domínguez, Flores, & Mattoni, 2006; Jaramillo et al., 2006; Wesselingh & Salo, 2006; Fouquet et al., 2012c; Sobral-Souza et al., 2015; Arruda, Schaefer, Fonseca, Solar, & Fernandes-Filho, 2018; Costa et al., 2018). Atualmente, este corredor seco compreende o Chaco, o Pantanal, o Cerrado e a Caatinga, savanas neotropicais e florestas sazonalmente secas (Ab’Saber, 1977; Sobral-Souza et al., 2015).

Embora a “Floresta Tropical Sazonalmente Seca” tenha expansão limitada entre as florestas amazônica e atlântica, importantes na diversificação nos anfíbios e répteis (Por, 1992; Costa, 2003; Chacón, de Assis, Meerow, & Renner, 2012; Fouquet et al., 2012a; 2012b; Castroviejo-Fisher et al., 2014; Sobral-Souza et al., 2015; Prates et al., 2016; Thomé et al., 2016a; Thomé & Cartens, 2016b), as florestas de galeria e porções mais úmidas, geralmente em áreas de altitude, mantinham alguma conectividade entre os domínios morfoclimáticos florestais (Costa, 2003; Sobral-Souza et al., 2015; Ledo & Colli, 2017; Fine & Lohmann, 2018). Por exemplo, fósseis, dados paleopalínológicos e espeleotemas do domínio morfoclimático da Caatinga, no nordeste do Brasil indicam que no passado houve a substituição da vegetação xérica por espécies de árvores da floresta tropical, devido à níveis de precipitação mais altos (Auler & Smart, 2001; Auler et al., 2004; Czaplewski & Cartelle, 1998; Cartelle & Hartwig, 1996; de Oliveira et al., 1999; Wang et al., 2004). Além do mais, a existência dos brejos de altitudes, que são enclaves florestais dentro da vegetação semiárida da Caatinga, formando ilhas de floresta úmida (Andrade-Lima, 1982) contendo uma mistura de espécies com afinidades amazônicas e atlânticas sustenta a hipótese dos corredores florestais (Mângia et al., 2018). A ideia de antigos corredores florestais conectando o Oeste Amazônico e o Nordeste da Mata Atlântica (Rizzini, 1963; Melo Santos, Cavalcanti, Silva, & Tabarelli, 2007; Ledo & Colli, 2017) são corroborados com os padrões biogeográficos que encontramos para as espécies do gênero *Sphaenorhynchus* e *Gabohyla*. Outros potenciais fatores também influenciaram os padrões de diversificação, como a história geológica (movimentos tectônicos e orogênese das montanhas) que teve profunda consequência para a origem e evolução da biodiversidade neotropical através do aumento e queda de barreiras biogeográficas (Antonelli et al., 2009; Moritz, Patton, Schneider, & Smith, 2000). Ao longo do Neógeno (24–2 Maa), eventos tectônicos, como a elevação andina afetaram o clima da América do Sul, que por sua vez mudou drasticamente a paisagem amazônica com a formação do sistema Pebas, um grande pântano que separou o oeste e o leste da América do Sul e a formação do Sistema Acre (início da formação do rio Amazonas), delimitando a bacia Amazônica nas partes norte e sul, promovendo a evolução de novas linhagens (Morlet, 2000; Hoorn et al., 2010; Latrubesse et al., 2010; Insel et al. 2010; Antonelli & Sanmartín, 2011).

Dada a provável distribuição das espécies amazônicas (*S. carneus*, *S. lacteus* e *S. dorisae*) (Figura 1), a mudança na paisagem aquática provavelmente mediou a influência de linhagens Amazônicas de *Sphaenorhynchus*, como pode ser observado na diversificação entre *S. dorisae* e *S. lacteus* (~17Maa), período em que a drenagem da bacia amazônica estava sendo formado (Hoorn et al., 2010). Delimitando *S. dorisae* no Oeste amazônico, entre os rios Madeira e Negro e *S. lacteus* sendo amplamente distribuída, associada à toda a bacia amazônica possuindo também registros de ocorrências em zonas de transição entre Amazônia e Cerrado (ver Silva, Carvalho, Pereira, Fadel, Dantas, Brandão, & Santana, 2020) e em florestas de galeria, numa zona de transição entre Cerrado e Caatinga, no nordeste do Brasil (ver Benício et

al., 2011). A ampla distribuição de *S. lacteus* é um fato curioso e pode ser devido a sua antiga diversificação, mas somente com um estudo filogeográfico abrangendo toda a distribuição desta espécie, será possível entender quais eventos históricos influenciaram na atual distribuição geográfica.

Na Mata Atlântica, considerando dados e informações publicadas anteriormente, é evidente que a diversidade é altamente estruturada ao longo de um gradiente norte-sul, e que os rios provavelmente tiveram um papel importante nessa divergência (Etheridge, 1969; Jackson, 1978; Behling, 1997; Oliveira-Filho & Fontes, 2000; Ledru et al., 2005; Pellegrino et al., 2005; Cheng et al., 2013). Um grande número de estudos filogeográficos com táxons deste domínio morfoclimático identificaram algumas principais barreiras ao fluxo gênico, através da separação de táxons irmãos intimamente relacionados, tais como: uma quebra no estado de São Paulo, próximo ao vale do rio Tietê; quebras no estado de Minas Gerais, próximas ao vale do rio Paraíba do Sul, rio Doce e Jequitinhonha e uma quebra no nordeste do Brasil, próxima ao vale do rio São Francisco (ver Cracraft & Prum, 1988; Costa, 2003; da Silva & Casteleti, 2003; Silva et al., 2004; Pellegrino et al., 2005; Pinto da Rocha, da Silva, & Bragagnolo, 2005; Grazziotin et al., 2006; Cabanne et al., 2007; Cabanne, d'Horta, Sari, Santos, & Miyaki, 2008; Cabanne, D'Horta, Meyer, Silva, & Miyaki, 2011; Carnaval, Hickerson, Haddad, Rodrigues, & Moritz, 2009; Martins, Templeton, Pavan, Kohlbach, & Morgante, 2009; Batalha-Filho et al., 2012; Resende et al., 2010; Thomé et al., 2010; D'Horta et al., 2011; Amaro, Rodrigues, Yonenaga-Yassuda, & Carnaval, 2012; Fouquet et al., 2012c; Valdez & D'Elía, 2013; Carnaval et al., 2014; Pirani et al., 2020). É possível observar algumas destas barreiras na distribuição das espécies de Sphaenorhynchini, como por exemplo, o vale do rio Paraíba do Sul no Rio de Janeiro e Minas Gerais e o rio Doce no Espírito Santo e Minas Gerais, que em conjunto, é o limite atual das distribuições de *S. canga* (ver Araújo-Vieira et al., 2015), *S. prasinus* (ver da Silva et al., 2013), *G. pauloalvini* (ver Freitas et al., 2009) e *S. mirim* (ver Caramaschii et al., 2009). Já a região do rio Tietê em São Paulo, é o limite atual da distribuição *S. caramaschi* (ver Melo et al., 2018) e *S. surdus* (ver Toledo et al., 2007) podendo ter desempenhado um papel importante na divergência destas espécies do ancestral das outras espécies de Sphaenorhynchini (Figura 1).

Baseado nas semelhanças dos padrões de distribuição de diversos grupos de mamíferos, aves e invertebrados (Cabanne et al., 2008; Carnaval et al., 2014; Thomé et al., 2010), estudos recentes associaram flutuações climáticas a refúgios florestais (Carnaval & Moritz, 2008; Martins, 2011), identificando vários centros de endemismo para explicar a diversificação de linhagens na Mata Atlântica. Os refúgios do Pleistoceno (Haffer, 1969; 1997; Vanzolini & Williams, 1981; Carnaval et al., 2009) têm sido utilizados e revisados como um cenário que explica o que ocasionou o aumento na taxa de diversidade e riqueza desses ambientes (Connor, 1986; Bush & Oliveira, 2006; Bush, 1994; Garzón-Orduña, Benetti-Longhini, & Brower, 2015). De acordo com esta hipótese, as oscilações climáticas durante o Último Máximo Glacial (LGM) teriam mantido um clima e ambientes florestais estáveis em algumas áreas, servindo, portanto, como fonte de refúgio para a recolonização (Sobra-Souza & Lima-Ribeiro, 2017; Arruda et al., 2018).

Diante da provável distribuição das espécies de Sphaenorhynchini na Mata Atlântica (Figura 1), conseguimos observar padrões de ocorrências semelhantes com às áreas de refúgio propostas por Carnaval & Moritz (2008) e Carnaval et al., (2009), como por exemplo, *S. cammaeus* é conhecida apenas para uma localidade na região designada como refúgio de Pernambuco (ver Roberto et al., 2017); outras espécies são limitadas a área de refúgio da Bahia, tais como *S. mirim*, *S. botocudo* e *G. pauloalvini* (ver Caramaschi et al., 2009; Freitas et al., 2009) e *S. caramaschii* com ocorrência para região do refúgio de São Paulo (ver Melo et al., 2018).

A distribuição geográfica de espécies endêmicas de *Sphaenorhynchus* que divergiram entre 30 e 5 Ma, durante o Oligoceno, principalmente durante o Mioceno (que foi principal período de origem da maioria das linhagens) e Quaternário na parte norte da Mata Atlântica coincide com as áreas sugeridas como refúgio (Figura 3) os tempos de divergência entre as espécies são mais antigos que o Último Máximo Glacial (LGM). Assim, as mudanças climáticas do Mioceno podem ter tido um papel central na origem simultânea destes táxons, evidenciando que alguns desses fragmentos florestais permaneceram relativamente estáveis por um período muito mais longo do que o proposto por Carnaval & Moritz (2008), servindo assim como refúgio por sucessivos ciclos climáticos. Estudos filogeográficos, abrangendo a área de ocorrência de todas as espécies de *Sphaenorhynchus* e *Gabohyla*, com extensa amostragem, irão esclarecer e permitir um melhor entendimento desses padrões.

## Conclusão

Geralmente a diversificação é provocada por eventos de vicariabilidade, impedindo a migração de genes entre subpopulações através de barreiras recém-formadas (Nelson & Platnick, 1981). Diante disto, a separação alopátrica de populações leva cada uma a se diferenciar em populações geneticamente diferentes. Utilizando uma abordagem multi-locus para realizar inferência filogenética e biogeografia histórica este é o primeiro estudo em larga escala a incluir uma filogenia calibrada quase completa de Sphaenorhynchini, apresentando informações importantes sobre a evolução da tribo e diversificação das espécies. Com base nas datas de divergência inferidas por nossas análises, a diversificação das 15 espécies de Sphaenorhynchini das linhagens florestais, amazônicas e atlânticas corroboram com os principais fatores climáticos e geológicos, eventos que moldaram a paisagem neotropical durante o Cenozóico (Linder, 2008; Rull, 2011a; Perret et al., 2013), provavelmente influenciadas pelo aumento da aridez durante o Eoceno/Oligoceno Tardio e formação da “diagonal seca” composta por habitats mais xéricos (Orme & Orme, 2007; Batalha-Filho et al., 2013; Sobral-Souza et al., 2015).

## Agradecimentos

EAP e DJS agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida (processo n° 141718/2016-1) e pela bolsa de pesquisa concedida (processo n° 311492/2017-7), respectivamente. KC agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Financiamento Código 001 pela sua bolsa de estudos.

## Referências

- Ab'Saber, A. N. (1977). *Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. Geomorfologia*. São Paulo, SP: Universidade de São Paulo, Instituto de Geografia.
- Amaro, R. C., Rodrigues, M. T., Yonenaga-Yassuda, Y., & Carnaval, A. C. (2012). Demographic processes in the montane Atlantic rainforest: molecular and cytogenetic evidence from the endemic frog *Proceratophrys boiei*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62, 880–888.
- Andrade-Lima, D. D. (1982). Present-day forest refuges in northeastern Brazil. *Biological diversification in the tropics*, 245, 251.
- Antonelli, A., & Sanmartín, I. (2011). Why are there so many plant species in the Neotropics?. *Taxon*, 60(2), 403–414.
- Antonelli, A., Nylander, J. A., Persson, C., & Sanmartín, I. (2009). Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(24), 9749–9754.
- Antonelli, A., Quijada-Mascareñas, A., Crawford, A. J., Bates, J. M., Velasco, P. M., & Wüster, W. (2010). 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*, 386, 404.
- Araujo-Vieira, K., Lacerda, J. V. A., Pezzuti, T. L., Leite, F. S., Assis, C. L., & Cruz, C. A. G. (2015). A new species of hatchet-faced treefrog *Sphaenorhynchus* Tschudi (Anura: Hylidae) from Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Southeastern Brazil. *Zootaxa*, 4059(1), 96–114.
- Araujo-Vieira, K., Caramaschi, U., Grillitsch, H., Grant, T., & Faivovich, J. (2018). On the Identity of *Sphaenorhynchus platycephalus* (Werner, 1894) (Anura: Hylidae). *South American Journal of Herpetology*, 13(1), 73–84.
- Araujo-Vieira, K., Blotto, B. L., Caramaschi, U., Haddad, C. F., Faivovich, J., & Grant, T. (2019). A total evidence analysis of the phylogeny of hatchet-faced treefrogs (Anura: Hylidae: *Sphaenorhynchus*). *Cladistics*, 35(5), 469–486.
- Araujo-Vieira, K., Luna, M. C., Caramaschi, U., & Haddad, C. F. (2020). A new genus of lime treefrogs (Anura: Hylidae: Sphaenorhynchini). *Zoologischer Anzeiger*, 286, 81–89
- Arruda, D. M., Schaefer, C. E., Fonseca, R. S., Solar, R. R., & 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(1), 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(2), 159–167.
- Auler, A. S., Wang, X., Edwards, R. L., Cheng, H., Cristalli, P. S., Smart, P. L., & Richards, D. A. (2004). Quaternary ecological and geomorphic changes associated with rainfall events in presently semi-arid northeastern Brazil. *Journal of Quaternary Science*, 19(7), 693–701.
- Azevedo-Ramos, C., Coloma, L.A., & Santiago, R. (2004). *Sphaenorhynchus carneus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. Accessed at <http://www.iucnredlist.org> (last access at 02/03/2016).
- Batalha-Filho, H., Cabanne, G. S., & Miyaki, C. Y. (2012). Phylogeography of an Atlantic forest passerine reveals demographic stability through the last glacial maximum. *Molecular phylogenetics and evolution*, 65(3), 892–902.
- Batalha-Filho, H., Fjeldså, 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(1), 41–50.
- Bates, H. W. (1862). XXXII. Contributions to an Insect Fauna of the Amazon Valley. Lepidoptera: Heliconidæ. *Transactions of the Linnean Society of London*, 23(3), 495–566.
- Behling, H. (1997). Late Quaternary vegetation, climate and fire history of the Araucaria forest and campos region from Serra Campos Gerais, Paraná state (South Brazil). *Review of palaeobotany and palynology*, 97(1–2), 109–121.
- Behling, H., Arz, H. W., Pätzold, J., & Wefer, G. (2000). Late Quaternary vegetational and climate dynamics in northeastern Brazil, inferences from marine core GeoB 3104-1. *Quaternary Science Reviews*, 19(10), 981–994.
- Benício, R., Silva, G., & Fonseca, M. (2011). Amphibia, Anura, Hylidae, *Sphaenorhynchus lacteus* (Daudin, 1800): First record of the genus and species for the state of Piauí, Brazil. *Check List*, 7, 196.
- Bigarella, J. J., Andrade-Lima, D., & Riehs, 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.

- Bokermann, W. C. A. (1966). Duas novas espécies de *Sphaenorhynchus* (Amphibia, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 26, 15–21.
- Bokermann, W. C. A. (1973). Duas novas espécies de *Sphaenorhynchus* da Bahia (Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 33, 589–594.
- Brieger, F. G. (1969). Contribuição à fitogeografia do Brasil com referência especial às orquídeas. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 47, 411–464.
- Brunes, T. O., Sequeira, F., Haddad, C. F., & 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(3), 1120–1133.
- Burnham, R. J., & Graham, A. (1999). The history of neotropical vegetation: new developments and status. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 546–589.
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2003). *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. New York, NY. Springer Science & Business Media.
- Bush, M. B. (1994). Amazonian speciation: a necessarily complex model. *Journal of Biogeography*, 5–17.
- Bush, M. B., & Oliveira, P. E. D. (2006). The rise and fall of the Refugial Hypothesis of Amazonian speciation: a paleoecological perspective. *Biota Neotropica*, 6(1).
- Cabanne, G. S., Santos, F. R., & Miyaki, C. Y. (2007). Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 91(1), 73–84.
- Cabanne, G. S., d’Horta, F. M., Sari, E. H., 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(3), 760–773.
- Cabanne, G. S., D’Horta, F. M., Meyer, D., Silva, J. M., & Miyaki, C. Y. (2011). Evolution of *Dendrocolaptes platyrostris* (Aves: Furnariidae) between the South American open vegetation corridor and the Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103(4), 801–820.
- Caramaschi, U., Almeida, A. P., & Gasparini, J. L. (2009). Description of two new species of *Sphaenorhynchus* (Anura, Hylidae) from the State of Espírito Santo, Southeastern Brazil. *Zootaxa*, 2115, 34–46.
- Carnaval, A. C., & Moritz, C. (2008). Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 35(7), 1187–1201.
- Carnaval, A. C., Hickerson, M. J., Haddad, C. F., Rodrigues, M. T., & Moritz, C. (2009). Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, 323(5915), 785–789.
- 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. (2014). Prediction of phylogeographic endemism in an environmentally complex biome. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1792), 20141461.
- Cartelle, C., & Hartwig, W. C. (1996). Updating the two Pleistocene primates from Bahia, Brazil. *Neotropical Primates*, 4(4).
- Carter, S. P., Fricker, H. A., & Siegfried, M. R. (2017). Antarctic subglacial lakes drain through sediment-floored canals: theory and model testing on real and idealized domains. *The Cryosphere*, 11(1), 381.

- Castresana, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular biology and evolution*, 17(4), 540–552.
- Castroviejo-Fisher, S., Guayasamin, J. M., Gonzalez-Voyer, A., & Vilà, C. (2014). Neotropical diversification seen through glassfrogs. *Journal of Biogeography*, 41(1), 66–80.
- Chacón, J., de Assis, M. C., Meerow, A. W., & Renner, S. S. (2012). From east Gondwana to Central America: historical biogeography of the Alstroemeriaceae. *Journal of Biogeography*, 39(10), 1806–1818.
- 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(1), 1–6.
- Cochran, D. M. (1953). Three new Brazilian frogs. *Herpetologica*, 8, 111–115.
- Connor, E. F. (1986). The role of Pleistocene forest refugia in the evolution and biogeography of tropical biotas. *Trends in ecology & evolution*, 1(6), 165–168.
- 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.
- 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(3), 285–297.
- Cracraft, J., & Prum, R. O. (1988). Patterns and processes of diversification: speciation and historical congruence in some Neotropical birds. *Evolution*, 42(3), 603–620.
- Crawford, A. J. (2003). Relative rates of nucleotide substitution in frogs. *Journal of Molecular Evolution*, 57(6), 636–641.
- Crisci, J. V. (2001). The voice of historical biogeography. *Journal of Biogeography*, 28(2), 157–168.
- Czaplewski, N. J., & Cartelle, C. (1998). Pleistocene bats from cave deposits in Bahia, Brazil. *Journal of Mammalogy*, 79(3), 784–803.
- D’Horta, 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(9), 1923–1935.
- da 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, Threats, and Outlook*. Washington, CABS and Island Press, 43–59.
- da Silva, G. R., de Luna-Dias, C., & de Carvalho, S. P. (2013). Amphibia, Anura, Hylidae, *Sphaenorhynchus prasinus* Bokermann, 1973: First record of the genus and species for the state of Alagoas, Brazil. *Check List*, 9(6), 1519–1520.
- 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*, 45(10), 2415–2426.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods*, 9(8), 772–772.
- de Freitas, M. A., Silva, T. F. S., & Loebmann, D. (2009). Amphibia, Hylidae, *Sphaenorhynchus pauloalvini* Bokermann, 1973: Distribution extension and rediscovery in nature. *Check List*, 5(2), 200–201.
- de La Riva, I., Kohler, J., Lotters, S., & Reichle, S. (2000). Ten years of research on Bolivian amphibians: Update checklist, distribution, taxonomic problems, literature and iconography. *Revista Española de Herpetología*, 14, 19–164.



- de Moraes-Barros, N., Silva, J. A., Miyaki, C. Y., & Morgante, J. S. (2006). Comparative phylogeography of the Atlantic forest endemic sloth (*Bradypus torquatus*) and the widespread three-toed sloth (*Bradypus variegatus*) (Bradypodidae, Xenarthra). *Genetica*, 126(1–2), 189–198.
- de 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(3–4), 319–337.
- de Sá, R. O., Tonini, J. F. R., van Huss, H., Long, A., Cuddy, T., Forlani, M. C., Peloso, P. L. V., Zaher, H., & Haddad, C. F. (2019). Multiple connections between Amazonia and Atlantic Forest shaped the phylogenetic and morphological diversity of *Chiasmocleis* Mehely, 1904 (Anura: Microhylidae: Gastrophryinae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 130, 198–210.
- Dinerstein, E., Olson, D., Joshi, A., Vynne, C., Burgess, N. D., Wikramanayake, E., Hahn, N., Palminterl, S., Hedao, P., Noss, R., Hansen, M., Locke, H., Ellis, E. C., Jones, B., Barber, C. V., Hayes, R., Kormos, C., Martin, V., Crist, E., Sechrest, W., Price, L., Baillie, J. E. M., Weeden, D., Suckling, K., Davis, C., Nigel, S., Moore, R., Thau, D., Birch, T., Potapov, P., Turubanova, S., Tyukavina, A., Souza, N. D., Pinteá, L., Brito, J. C., Llewellyn, O. A., Miller, A. G., Pataelt, A., Ghazanfar, S. A., Timberlake, J., Kloser, H., Shennan-farpon, Y., Kindt, R., Lilleso, J. B., van Breugel, P., Graudal, L., Voge, M., Al-Shammari, F. F., & Saleem, M. (2017). An ecoregion-based approach to protecting half the terrestrial realm. *BioScience*, 67(6), 534–545.
- Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., & Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular biology and evolution*, 29(8), 1969–1973.
- Duellman, W., & Wiens, J. J. (1992). The status of the hylid frog genus *Ololygon* and the recognition of *Scinax* Wagler, 1830. *Occasional Paper of the Museum of Natural History*, 151, 1–23.
- Duellman, W. E. (Ed.). (1999). *Patterns of distribution of amphibians: a global perspective*. JHU Press.
- Duellman, W. E., Marion, A. B., & Hedges, S. B. (2016). Phylogenetics, classification, and biogeography of the treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). *Zootaxa*, 4104(1), 1–109.
- Etheridge, R. (1969). A review of the iguanid lizard genus *Enyalius*. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Zoology*, 18(8), 233–260.
- Faivovich, J., Haddad, C. F., Garcia, P. C., Frost, D. R., Campbell, J. A., & Wheeler, W. C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of natural History*, 2005(294), 1–240.
- Fiaschi, P., & Pirani, J. R. (2009). Review of plant biogeographic studies in Brazil. *Journal of Systematics and Evolution*, 47(5), 477–496.
- Fine, P. V., & Lohmann, L. G. (2018). Importance of dispersal in the assembly of the Neotropical biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(23), 5829–5831.
- Fitzpatrick, S. W., Brasileiro, C. A., Haddad, C. F., & Zamudio, K. R. (2009). Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. *Molecular Ecology*, 18(13), 2877–2896.
- Fouquet, A., Loebmann, D., Castroviejo-Fisher, S., Padiá, J. M., Orrico, D. V. G., Lyra, M., Joventino, I., Kok, P., Haddad, C. F. B., & Rodrigues, M. T. (2012a). From Amazonia to the Atlantic Forest: Molecular phylogeny of Physelaphryninae frogs

- reveals unexpected diversity and a striking biogeographic pattern that stress out conservation status. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65(2), 547–556.
- Fouquet, A., Recoder, R., Teixeira, M., Cassimiro da Silva J., Amaro, R. C., Guerrero, A. C., Damasceno, R., Carnaval, A. C., Moritz, C., & Rodrigues, M. T. (2012b). Molecular phylogeny and morphometric analyses reveal deep divergence between Amazonia and Atlantic Forest species of *Dendrophryniscus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62, 826–838.
- Fouquet, A., Noonan, B. P., Rodrigues, M. T., Pech, N., Gilles, A., & Gemmell, N. J. (2012c). Multiple quaternary refugia in the eastern Guiana Shield revealed by comparative phylogeography of 12 frog species. *Systematic Biology*, 61, 461–489.
- Fouquet, A., Cassini, C., Haddad, C. F. B., Pech, N. & Rodrigues, M. T. (2014). Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of a Neotropical frog genus; *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Biogeography*, 41(5), 855–870.
- Frost, D. R. (2020). Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1 (16/06/2020). Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, NY.
- Garzón-Orduña, I. J., Benetti-Longhini, J. E., & Brower, A. V. (2015). Competing paradigms of Amazonian diversification and the Pleistocene refugium hypothesis. *Journal of Biogeography*, 42(7), 1357–1360.
- Gascon, C., Malcolm, J. R., Patton, J. L., Silva, M. N. F., Bogart, J. P., Lougheed, S. C., Peres, C. A., Neckel, S., & Boag, P. T. (2000) Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 97, 13672–13677.
- Geurgas, S. R., Rodrigues, M. T., & Moritz, C. (2008). The genus *Coleodactylus* (Sphaerodactylinae, Gekkota) revisited: a molecular phylogenetic perspective. *Molecular phylogenetics and evolution*, 49(1), 92–101.
- Goldner, A., Herold, N., & Huber, M. (2014). Antarctic glaciation caused ocean circulation changes at the Eocene–Oligocene transition. *Nature*, 511(7511), 574–577.
- Graham, C. H., VanDerWal, J., Phillips, S. J., Moritz, C., & Williams, S. E. (2010). Dynamic refugia and species persistence: tracking spatial shifts in habitat through time. *Ecography*, 33(6), 1062–1069.
- Grazziotin, F. G., Monzel, M., Echeverrigaray, S., & Bonatto, S. L. (2006). Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology*, 15(13), 3969–3982.
- Guayasamin, J. M., Castroviejo-Fisher, S., Ayarzagüena, J., Trueb, L., & Vilà, C. (2008). Phylogenetic relationships of glassfrogs (Centrolenidae) based on mitochondrial and nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(2), 574–595.
- Guayasamin, J. M., Castroviejo-Fisher, S., Trueb, L., Ayarzagüena, J., Rada, M., & Vilà, C. (2009). Phylogenetic systematics of Glassfrogs (Amphibia: Centrolenidae) and their sister taxon *Allophryne ruthveni*. *Zootaxa*, 2100, 1–97.
- Haffer, J. (1969). Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165(3889), 131–137.
- Haffer, J. (1997). Pleistocene speciation in Amazonian birds. *Amazoniana: Limnologia et Oecologia Regionalis Systematis Fluminis Amazonas*, 6(2), 161–191.
- Haffer J. (2001). *Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia*. In: Vieira, I. C. G., Silva, J. M. C., Oren, D. C., & D'Incao, M. A. (Eds). *Diversidade Biológica e Cultural da Amazônia* (pp. 45–118). Editora do Museu Paraense Emílio Goeldi.

- Hoorn, C. (1993). Marine incursions and the influence of Andean tectonics on the Miocene depositional history of northwestern Amazonia: results of a palynostratigraphic study. *Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology*, 105(3–4), 267–309.
- Hoorn, C., & Wesselingh, F. P. (2010). Introduction: Amazonia, landscape and species evolution. *Amazonia: landscape and species evolution: a look into the past*, 1–6.
- Hoorn, C., Wesselingh, F. P., Hovikoski, J., & Guerrero, J. (2010a). The Development of the Amazonian mega-wetland (Miocene; Brazil, Colombia, Peru, Bolivia). In: Hoorn, C., Wesselingh, F. P. (Eds.), *Amazonia, Landscape and Species Evolution: Look into the Past*. (pp. 123–143). Oxford: Wiley-Blackwell.
- 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. (2010b). Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330(6006), 927–931.
- Hughes, C. E., Pennington, R. T., & Antonelli, A. (2013) Neotropical plant evolution: assembling the big picture. *Botanical Journal of the Linnean Society* 171(1), 1–18.
- Insel, N., Poulsen, C. J., & Ehlers, T. A. (2010). Influence of the Andes Mountains on South American moisture transport, convection, and precipitation. *Climate Dynamics*, 35(7–8), 1477–92.
- Jackson, J. F. (1978). Differentiation in the genera *Enyalius* and *Strobilurus* (Iguanidae): Implications for Pleistocene climatic changes in Eastern Brazil. *Arquivos de Zoologia*, 30, 1–79
- Jaramillo, C. A., Rueda, M. J., & Mora, G. (2006). Cenozoic plant diversity in the neotropics. *Science*, 311(5769), 1893–1896.
- Jaramillo, C. A., Ochoa, D., Contreras, L., Pagani, M., Carvajal-Ortiz, H., Pratt, L. M., Krishnan, S., Cardona, A., Romero, M., Quiroz, L., Rodriguez, G., Rueda, M. J., La Parra, F., Morón, S., Green, W., Bayona, G., Montes, C., Quintero, O., Ramirez, R., Mora, G., Schouten, S., Bermudez, H., Navarrete, R., Parra, F., Alvarán, M., Osorno, J., Crowley, J. L., Valencia, V., & Vervoort, J. (2010). Effects of rapid global warming at the Paleocene-Eocene boundary on neotropical vegetation. *Science*, 330(6006), 957–961.
- Kvasov, D. D., & Verbitsky, M. Y. (1981). Causes of Antarctic glaciation in the Cenozoic. *Quaternary Research*, 15(1), 1–17.
- La Marca, E., Azevedo-Ramos, C., Coloma, L. A., Ron, S., & Hardy, J. (2008). *Sphaenorhynchus lacteus*. In IUCN. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.2. Electronic Database accessible at <http://www.iucnredlist.org/>. Captured on 20 July 2010.
- Lacerda, J. V. A., & Moura, M. R. (2013). Vocal repertoire of *Sphaenorhynchus palustris* (Anura, Hylidae), with notes on *S. botocudo*. *Salamandra*, 49, 105–108.
- Landis, M., Matzke, N. J., Moore, B. R., & Huelsenbeck, J. P. (2013). Bayesian analysis of biogeography when the number of areas is large. *Systematic Biology*, 62(6), 789–804.
- 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(5), 1332–1342.
- Latrubesse, E. M., Cozzuol, M., da Silva-Caminha, S. A., Rigsby, C. A., Absy, M. L., & Jaramillo, C. (2010). The Late Miocene paleogeography of the Amazon Basin and the evolution of the Amazon River system. *Earth-Science Reviews*, 99(3–4), 99–124.
- Ledo, R. M. D., & Colli, G. R. (2017). The historical connections between the Amazon and the Atlantic Forest revisited. *Journal of Biogeography*, 44(11), 2551–2563.

- Ledru, M. P. (1993). Late Quaternary environmental and climatic changes in central Brazil. *Quaternary research*, 39(1), 90–98.
- Ledru, M. P., Rousseau, D. D., Cruz, F. W., Riccomini, C., Karmann, I., & Martin, L. (2005). Paleoclimate changes during the last 100,000 yr from a record in the Brazilian Atlantic rainforest region and interhemispheric comparison. *Quaternary Research*, 64(3), 444–450.
- Ledru, M. P., Carnaval, A. C., Miyaki, C. Y., & “AF biota” participants. (2017). Integrating paleoecology and phylogeography reveals congruent bioclimatic regions in the Brazilian Atlantic Forest. *Past Global Changes Magazine*, 25(2), 92–93.
- Lemmon, E. M., Lemmon, A. R., Collins, J. T., Lee-Yaw, J. A., & Cannatella, D. C. (2007). Phylogeny-based delimitation of species boundaries and contact zones in the trilling chorus frogs (*Pseudacris*). *Molecular phylogenetics and evolution*, 44(3), 1068–1082.
- Linder, H. P. (2008). Plant species radiations, where, when, why?. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363, 3097–3105
- Lutz, A., & Lutz, B. (1938). I. On *Hyla aurantiaca* Daudin and *Sphoenorhynchus* Tschudi and on two allied Hylae from South-eastern Brazil. II. Two new hylae: *H. albosignata* n. sp. & *H. pickeli*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 10, 175–194.
- Lymberakis, P., Poulakakis, N., Manthou, G., Tsigenopoulos, C. S., Magoulas, A., & Mylonas, M. (2007). Mitochondrial phylogeography of *Rana* (*Pelophylax*) populations in the Eastern Mediterranean region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(1), 115–125.
- Mângia, S., Koroiva, R., Nunes, P. M. S., Roberto, I. J., Ávila, R. W., Sant'Anna, A. C., Santana, D. J., & Garda, A. A. (2018). A New species of *Proceratophrys* (Amphibia: Anura: Odontophrynidae) from the Araripe Plateau, Ceará state, Northeastern Brazil. *Herpetologica*, 74(3), 255–268.
- Martins, F. M., Templeton, A. R., Pavan, A. C., Kohlbach, B. C., & Morgante, J. S. (2009). Phylogeography of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*): marked population structure, Neotropical Pleistocene vicariance and incongruence between nuclear and mtDNA markers. *BMC evolutionary biology*, 9(1), 294.
- Martins, F. M. (2011). Historical biogeography of the Brazilian Atlantic forest and the Carnaval–Moritz model of Pleistocene refugia: what do phylogeographical studies tell us?. *Biological Journal of the Linnean Society*, 104(3), 499–509.
- Mata, H., Fontana, C. S., Maurício, G. N., Bornschein, M. R., de Vasconcelos, M. F., & 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(2), 450–462.
- Matzke, N. J. (2013). Probabilistic historical biogeography: new models for founder-event speciation, imperfect detection, and fossils allow improved accuracy and model-testing. *Frontiers of Biogeography*, 5(4).
- Matzke, N. J. (2014). Model selection in historical biogeography reveals that founder-event speciation is a crucial process in island clades. *Systematic biology*, 63(6), 951–970.
- Melo Santos, A. M., Cavalcanti, D. R., Silva, J. M. C. D., & Tabarelli, M. (2007). Biogeographical relationships among tropical forests in north-eastern Brazil. *Journal of Biogeography*, 34(3), 437–446.
- Melo, M. A., Rodrigues, K. E., Pelegrini, S. J. S., & Martins, R. A. (2018). Range extension and natural history comments of peri urban populations of *Sphaenorhynchus*

- caramaschii* Toledo, Garcia, Lingnau & Haddad, 2007 (Anura, Hylidae) in the State of São Paulo, Brazil. *Check List*, 14, 779.
- Meseguer, A. S., Lobo, J. M., Ree, R., Beerling, D. J., & Sanmartín, I. (2015). Integrating fossils, phylogenies, and niche models into biogeography to reveal ancient evolutionary history: the case of *Hypericum* (Hypericaceae). *Systematic Biology*, 64(2), 215–232.
- Micheels, A., Bruch, A. A., Uhl, D., Utescher, T., & Mosbrugger, V. (2007). A Late Miocene climate model simulation with ECHAM4/ML and its quantitative validation with terrestrial proxy data. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, 253, 251–270.
- Mori, K., Nowicky, M. C., & Shepherd, G. M. (1981). Analysis of a long-duration inhibitory potential in mitral cells in the isolated turtle olfactory bulb. *The Journal of physiology*, 314(1), 311–320.
- Moritz, C., Patton, J. L., Schneider, C. J., & Smith, T. B. (2000). Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual review of ecology and systematics*, 31(1), 533–563.
- Morley, R. J. (2000). Origin and evolution of tropical rain forests. John Wiley & Sons.
- Nelson, G., & Platnick, N. I. (1981). *Systematics and biogeography: Cladistics and vicariance*. New York, NY: Columbia University Press.
- Oliveira-Filho, A. T., & Fontes, M. A. L. (2000). Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the influence of climate 1. *Biotropica*, 32(4b), 793–810.
- Orme, A. R., & Orme, A. J. (2007). Late Pleistocene pluvial lakes of the Owens River Cascade, California: the relative roles of tectonic and climatic forcing. *Bulletin-southern California academy of sciences*, 106(2), 26A.
- Ortiz-Jaureguizar, E., & Cladera, G. A. (2006). Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic. *Journal of Arid Environments*, 66(3), 498–532.
- Papavero, N., Teixeira, D. M., & Llorente-Bousquets, J. (1997). *História da biogeografia no período pré-evolutivo*. Plêiade.
- Passoni, J. C., Benozzati, M. L., & Rodrigues, M. T. (2008). Phylogeny, species limits, and biogeography of the Brazilian lizards of the genus *Eurolophosaurus* (Squamata: Tropiduridae) as inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 46, 403–414.
- Patel, S., Weckstein, J. D., Patané, J. S. L., Bates, J. M., Aleixo, A. (2011). Temporal and spatial diversification of *Pteroglossus arçaris* (Aves: Ramphastidae) in the neotropics: constant rate of diversification does not support an increase in radiation during the Pleistocene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58: 105–115.
- Patton, J. L., da Silva, M. N. F., Lara, M. C., & Mustrangi, M. A. (1997). Diversity, differentiation, and the historical biogeography of nonvolant small mammals of the Neotropical forests. *Tropical forest remnants: ecology, management, and conservation of fragmented communities*, 455–465.
- Patton, J. L., & Costa, L. P. (1999). *Diversidade, limites geográficos e sistemáticos de marsupiais brasileiros*. *Marsupiais brasileiros*. Editora da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 63–81.
- Pavan, S. E., & Leite, Y. L. (2011). Morphological diagnosis and geographic distribution of Atlantic Forest red-rumped mice of the genus *Juliomys* (Rodentia: Sigmodontinae). *Zoologia (Curitiba)*, 28(5), 633–672.
- Paz, A., Spanos, Z., Brown, J. L., Lyra, M., Haddad, C., Rodrigues, M., & Carnaval, A. (2019). Phylogeography of Atlantic Forest glassfrogs (*Vitreorana*): when geography, climate dynamics and rivers matter. *Heredity*, 122(5), 545–557.

- Peixoto, O.L., Pimenta, B. (2004). *Sphaenorhynchus pauloalvini*. The IUCN Red List of Threatened Species: e.T56018A11409979(2004)10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T56018A11409979.en Accessed 22 Feb 2019.
- Pellegrino, K C. M., Rodrigues, M. T., Waite, A. N., Morando, M., Yassuda, Y. Y., & Sites, Jr. J. W. (2005). Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(1): 13–26.
- Pellegrino, K. C., Rodrigues, M. T., Harris, D. J., Yonenaga-Yassuda, Y., & Sites Jr, 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(2), 446–459.
- Perret, M., Chautems, A., & Spichiger, R. (2006). Dispersal-Vicariance Analyses in the tribe Sinningieae (Gesneriaceae): A clue to understanding biogeographical history of the Brazilian Atlantic Forest 1. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93(2), 340–358.
- Perret, M., Chautems, A., de Araujo, A. O., & Salamin, N. (2013). Temporal and spatial origin of Gesneriaceae in the New World inferred from plastid DNA sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171(1), 61–79.
- Pinto-da-Rocha, R., da Silva, M. B., & Bragagnolo, C. (2005). Faunistic similarity and historic biogeography of the harvestmen of southern and southeastern Atlantic Rain Forest of Brazil. *The Journal of Arachnology*, 33(2), 290–299.
- Pirani, R. M., Peloso, P. L. V., Prado, J. R., Polo, E., Lacey Knowles, L., Ron, S. R., Rodrigues, M. T., Sturaro, M. J., & Werneck, F. P. (2020). Diversification History of Clown Tree Frogs in Neotropical Rainforests (Anura, Hylidae, *Dendropsophus leucophyllatus* group). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 106877.
- Por, F. D. (1992). Sooretama: the Atlantic rain forest of Brazil (SPB Academic Publishing, The Hague).
- Porto, T. J., Carnaval, A. C., & da Rocha, P. L. B. (2013). Evaluating forest refugial models using species distribution models, model filling and inclusion: a case study with 14 Brazilian species. *Diversity and Distributions*, 19(3), 330–340.
- 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*, 902–927.
- Prates, I., Rodrigues, M. T., Melo-Sampaio, P. R., & Carnaval, A. C. (2015). Phylogenetic relationships of Amazonian anole lizards (*Dactyloa*): Taxonomic implications, new insights about phenotypic evolution and the timing of diversification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82, 258–268.
- 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.
- Prates, I., Melo-Sampaio, P. R., de Oliveira Drummond, L., 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.
- Pyron, R. A., & Wiens, J. J. (2011). A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular phylogenetics and evolution*, 61(2), 543–583.

- Pyron, R. A. (2014). Biogeographic analysis reveals ancient continental vicariance and recent oceanic dispersal in amphibians. *Systematic biology*, 63(5), 779–797.
- R Core Team (2018). R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria: 2015. *R: A language and environment for statistical computing*, 2013.
- Rambaut, A., & Drummond, A. J. (2009). Tracer v1. 5.0.
- Ree, R. H., & Smith, S. A. (2008). Maximum likelihood inference of geographic range evolution by dispersal, local extinction, and cladogenesis. *Systematic biology*, 57(1), 4–14.
- Resende, H. C., Yotoko, K. S., Delabie, J. H., Costa, M. A., Campiolo, S., Tavares, M. G., Campos, L. A., & Fernandes-Salomao, 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., Miyaki, C. Y., & Cracraft, J. (2009). Phylogenetic relationships, diversification, and biogeography in Neotropical *Brotogeris parakeets*. *Journal of Biogeography*, 36, 1712–1729.
- Rizzini, C. T. (1963). *Nota prévia sobre a divisão fitogeográfica do Brasil*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Conselho Nacional de Geografia.
- Roberto, I. J., Araujo-Vieira, K., de Carvalho-e-Silva, S. P., & Ávila, R. W. (2017). A new species of *Sphaenorhynchus* (Anura: Hylidae) from northeastern Brazil. *Herpetologica*, 73(2), 148–161.
- 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.
- Roig-Juñent, S., Domínguez, M. C., Flores, G. E., & Mattoni, C. (2006). Biogeographic history of South American arid lands: A view from its arthropods using TASS analysis. *Journal of Arid Environments*, 66, 404–420.
- Ronquist, F. (1997). Dispersal-vicariance analysis: a new approach to the quantification of historical biogeography. *Systematic Biology*, 46, 195–203.
- Rull, V. (2008). Speciation timing and neotropical biodiversity: The Tertiary-Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. *Molecular Ecology*, 17(11), 2722–2729.
- Rull, V. (2011a). Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 26(10), 508–513.
- Rull, V. (2011b). Origins of biodiversity. *Science*, 331(6016), 398–399.
- Saadi, A. (1995). A geomorfologia da Serra do Espinhaço em Minas Gerais e de suas margens. *Geonomos*.
- Sabaj, M. H. (2016). Standard symbolic codes for institutional resource collections in herpetology and ichthyology: an Online Reference. Version 6.5 (16 August 2016).
- Sabbag, A. F., Lyra, M. L., Zamudio, K. R., Haddad, C. F., Feio, R. N., Leite, F. S., Gasparini, J. L., & Brasileiro, C. A. (2018). Molecular phylogeny of Neotropical rock frogs reveals a long history of vicariant diversification in the Atlantic forest. *Molecular phylogenetics and evolution*, 122, 142–156.
- Santos, J. C., Coloma, L. A., Summers, K., Caldwell, J. P., Ree, R., & Cannatella, D. C. (2010). Correction: Amazonian Amphibian Diversity Is Primarily Derived from Late Miocene Andean Lineages. *PloS biology*, 8(9).
- Sclater, P. L. (1858). On the general geographical distribution of the members of the class Aves. *Journal of the Proceedings of the Linnean Society of London. Zoology*, 2(7), 130–136.

- Sievers, F., Wilm, A., Dineen, D., Gibson, T. J., Karplus, K., Li, W., Lopez, R., McWilliam, H., Remmert, M., Söding, J., Thompson, J. D., & Higgins, D. G. (2011). Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular Systems Biology*, 7.
- 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, L.A., Carvalho, P. S., Pereira, E. A., Fadel, R. M., Dantas, S. P., Brandão, R. A., & Santana, D. J. (2020). Richness, diversity patterns, and taxonomic notes of amphibians from the Tocantins state. *Biota Neotropica*, 20(1), e20190838.
- 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(5), 643–655.
- Sobral-Souza, T., & Lima-Ribeiro, M. S. (2017). De volta ao passado: revisitando a história biogeográfica das florestas neotropicais úmidas. *Oecologia Australis*, 21(2).
- Sullivan, J., & Joyce, P. (2005). Model selection in phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 445–466.
- Talavera, G., & Castresana, J. (2007). Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology*, 56(4), 564–577.
- Thomé, M. T. C., Zamudio, K. R., Giovanelli, J. G. R., Haddad, C. F. B., Baldissera Jr., F. A., & Alexandrino, J. M. B. (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., & Alexandrino, J. (2014). Barriers, rather than refugia, underlie the origin of diversity in toads endemic to the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology*, 23(24), 6152–6164.
- Thomé, M. T. C., Sequeira, F., Brusquetti, F., Carstens, B., Haddad, C. F., Rodrigues, M. T., & Alexandrino, J. (2016a). Recurrent connections between Amazon and Atlantic forests shaped diversity in Caatinga four-eyed frogs. *Journal of Biogeography*, 43(5), 1045–1056.
- Thomé, M. T. C., & Carstens, B. C. (2016b). Phylogeographic model selection leads to insight into the evolutionary history of four-eyed frogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(29), 8010–8017.
- Toledo, L. F., Garcia, P. C. A., Lingnau, R., & Haddad, C. F. B. (2007). A new species of *Sphaenorhynchus* (Anura: Hylidae) from Brazil. *Zootaxa*, 1658, 57–68.
- Valdez, L., & D'Elia, G. (2013). Differentiation in the Atlantic Forest: phylogeography of *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) and the Carnaval-Moritz model of Pleistocene refugia. *Journal of Mammalogy*, 94(4), 911–922.
- Vanzolini, P. E., & Williams, E. E. (1981). The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 34(23), 251–255.
- Vilela, R. V., Machado, T., Ventura, K., Fagundes, V., de J Silva, M. J., & Yonenaga-Yassuda, Y. (2009). The taxonomic status of the endangered thin-spined porcupine, *Chaetomys subspinosus* (Olfers, 1818), based on molecular and karyologic data. *BMC evolutionary Biology*, 9(1), 29.
- Wallace, A. R. (1852). Letter to the editor, concerning the fire on the 'Helen'. *Zoologist. Section on the Proc Nat-hist collect foreign count*, 3641–3643.
- 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 210 kyr linked to distant climate anomalies. *Nature*, 432(7018), 740–743.



- Werner, F. 1894. Über einige Novitäten der herpetologischen Sammlung des Wiener zoolog. vergl. anatom. Instituts. *Zoologischer Anzeiger*, 17, 155–157.
- Wesselingh, F. P., & Salo, J. A. (2006). A Miocene perspective on the evolution of the Amazonian biota. *Scripta Geologica*, 133, 439–458.
- Wiens, J. J., Graham, C. H., Moen, D. S., Smith, S. A., & Reeder, T. W. (2006). Evolutionary and ecological causes of the latitudinal diversity gradient in hylid frogs: treefrog trees unearth the roots of high tropical diversity. *The American Naturalist*, 168(5), 579–596.
- Wiens, J. J., Kuczynski, C. A., Hua, X., & Moen, D. S. (2010). An expanded phylogeny of treefrogs (Hylidae) based on nuclear and mitochondrial sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(3), 871–882.
- Wiens, J. J., (2011). The niche, biogeography and species interactions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366, 2336–2350.
- Willis, O. (1992). Zoogeographical origins of eastern Brazilian birds. *Ornithol Neotrop* 3, 1–15.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E., & Billups, K. (2001). Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science*, 292(5517), 686–693.
- 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(3), 421–442.

## TABELAS

**Tabela 1.** Espécies, vouchers, localidades e números de acesso ao GenBank de sequências mitocondriais e nucleares utilizadas neste estudo. (-) genes não sequenciados. Abreviações: 12S-tRNA valina-16S (12S, o tRNAVal interveniente e 16S). As abreviações institucionais seguem Sabaj (2016). CRR = número de campo Camila R. Rievers. JMP = número de campo José M. Padial. MVS = número de campo Magno V. Segalla. MTR e ITH = número de campo Miguel T. Rodrigues. SR = número de campo Steffen Reichle.

Espécies	Voucher	Localidade	12S-tRNA valina-16S	Citocromo <i>b</i>	Tyrosinase	Referência
<b>Grupo externo</b>						
<i>S. fuscovarius</i>	SR 87	Bolivia: Tarija	MK266760	MK266612	MK266695	Araújo-Vieira et al. 2019
<b>Grupo interno</b>						
<b><i>Sphaenorhynchini</i></b>						
<i>S. botocudo</i>	MNRJt 483	Brasil: estado do Espírito Santo, Município de Mucurici, Lagoa Nova	MK266724	MK266587	MK266670	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. botocudo</i>	UFMG 20767	Brasil: estado da Bahia, município de Mucuri	MK266723	MK266586	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. botocudo</i>	UFMG 20768	Brasil: estado da Bahia, município de Mucuri	MK266722	MK266585	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. botocudo</i>	ZUFG 5360	Brasil: estado da Bahia, município de Porto Seguro	MK266725	MK266588	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. cammaeus</i>	MACN-He 48851	Brasil: estado de Alagoas, município de Quebrangulo, Rebio Pedra Talhada	MK266727	MK266590	MK266672	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. cammaeus</i>	MACN-He 48852	Brasil: estado de Alagoas, município de Quebrangulo, Rebio Pedra Talhada	MK266726	MK266589	MK266671	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. canga</i>	MNRJ 56336	Brasil: estado de Minas Gerais, município de Mariana	MK266728	MK266591	MK266673	Araújo-Vieira et al. (2019)

<i>S. caramaschii</i>	CFBH 6876	Brasil: estado de São Paulo, município de Ribeirão Branco	MK266734	MK266594	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	CFBH 10325	Brasil: estado de Santa Catarina, município de Treviso	MK266732	MK266592	MK266675	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	CFBH 11285	Brasil: estado de São Paulo, município de Ribeirão Branco	MK266733	MK266593	MK266676	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	ITH 0626	Brasil: estado de São Paulo, município de Buri	MK266737	MK266596	MK266678	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	MCP 11531	Brasil: estado do Rio Grande do Sul, município de Torres	MK266739	-	MK266680	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	MCP 11542	Brasil: estado do Rio Grande do Sul, município de Torres	MK266738	-	MK266679	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	MCP 11980	Brasil: estado de Santa Catarina, município de São Bento do Sul	MK266729	-	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	MCP 11981	Brasil: estado de Santa Catarina, município de São Bento do Sul	MK266730	-	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	MCP 12558	Brasil: estado de Santa Catarina, município de Blumenau, Nova Rússia	MK266731	-	MK266674	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	MZUSP 134240	Brasil: estado de São Paulo, município de Embu das Artes	MK266735	-	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. caramaschii</i>	MZUSP 134698	Brasil: estado de São Paulo, município de Juquitiba	MK266736	MK266595	MK266677	Araújo-Vieira et al. (2019)

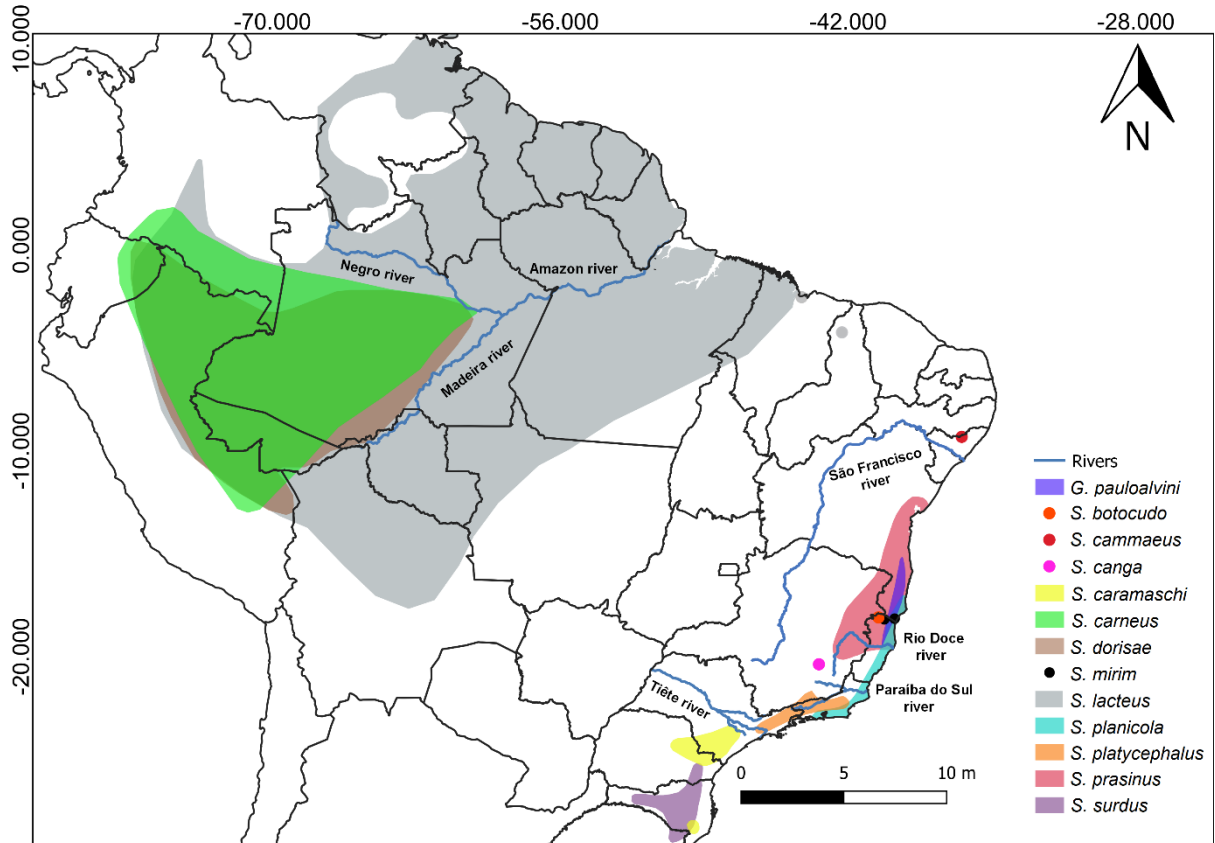
<i>S. carneus</i>	JMP 2091	Colômbia: Departamento Amazonas, Los Lagos, Bosque de Várzea	MK266740	MK266597	MK266681	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. carneus</i>	JMP 2094	Colômbia: Departamento Amazonas, Los Lagos, Bosque de Várzea	MK266741	MK266598	MK266682	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. dorisae</i>	CFBH 15721	Brasil: estado do Acre, município de Rodrigues Alves	MK266742	MK266599	MK266683	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. dorisae</i>	MJH 46	Brasil: estado do Amazonas, município de Manaus, Lago Janauari	AY843766	AY844011	AY844187	Faivovich et al. (2005)
<i>S. lacteus</i>	CFBH 15725	Brasil: estado do Acre, município de Rodrigues Alves	MK266743	MK266600	MK266684	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. lacteus</i>	USNM 152136	Peru: Madre de Dios, 30 km SSW Puerto	-	AY844012	AY844188	Faivovich et al. (2005)
<i>S. lacteus</i>	USNM 268930	Peru: Madre de Dios, Tambopata Reserve	AY549367	-	-	Faivovich et al. (2005)
<i>S. lacteus</i>	UWIZM 4635	Trinidad and Tobago: Trinidad, Icacos	MK266744	-	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. mirim</i>	MNRJt 494	Brasil: estado do Espírito Santo, município de Mucurici, Fazenda Matutina	MK266745	MK266601	MK266685	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>G. pauloalvini</i>	CFBH 22920	Brasil: estado do Espírito Santo, município de Linhares, Floresta Nacional de Goytacazes	MK266747	MK266603	MK266687	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>G. pauloalvini</i>	CFBH 22925	Brasil: estado do Espírito Santo, município de Linhares, Floresta Nacional de Goytacazes	MK266748	-	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>G. pauloalvini</i>	MTR 12098	Brasil: estado do Espírito Santo, município de Linhares, Floresta Nacional de Goytacazes	MK266749	MK266604	MK266688	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>G. pauloalvini</i>	MTR 12116	Brasil: estado do Espírito Santo, município de Linhares, Floresta Nacional de Goytacazes	MK266750	MK266605	MK266689	Araújo-Vieira et al. (2019)

<i>S. planicola</i>	MNRJ 39704	Brasil: estado do Rio de Janeiro, município de Maricá	MK266751	MK266606	MK266690	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. platycephalus</i>	CFBH 10573	Brasil: estado de São Paulo, município de Bairro Alto	MK266746	MK266602	MK266686	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. platycephalus</i>	USNM 243667	Brasil: estado de São Paulo, município de Salesópolis, próxima a Estação Biológica de Boracéia, Serra do Mar	DQ380388	-	-	Wiens et al. (2006)
<i>S. prasinus</i>	CRR 70	Brasil: estado de Minas Gerais, município de Marliéria, Parque Estadual do Rio Doce	MK266754	MK266608	MK266693	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. prasinus</i>	MZUFBA 6756	Brasil: estado da Bahia, município de Mata de São João, Fazenda Camurujipe	MK266752	-	MK266691	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. prasinus</i>	MZUFBA 6758	Brasil: estado da Bahia, município de Mata de São João, Fazenda Camurujipe	MK266753	MK266607	MK266692	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. surdus</i>	CFBHt 5536	Brasil: estado de Santa Catarina, município de Lebon Regis	MK266756	MK266610	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. surdus</i>	CFBH 8546	Brasil: estado de Santa Catarina, município de Lages	MK266755	MK266609	MK266694	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. surdus</i>	MVS 399	Brasil: estado de Santa Catarina, município de Santa Cecília	MK266757	-	-	Araújo-Vieira et al. (2019)
<i>S. surdus</i>	UFRGSt 404	Brasil: estado de Santa Catarina, município de Campo Belo	MK266758	-	-	Araújo-Vieira et al. (2019)

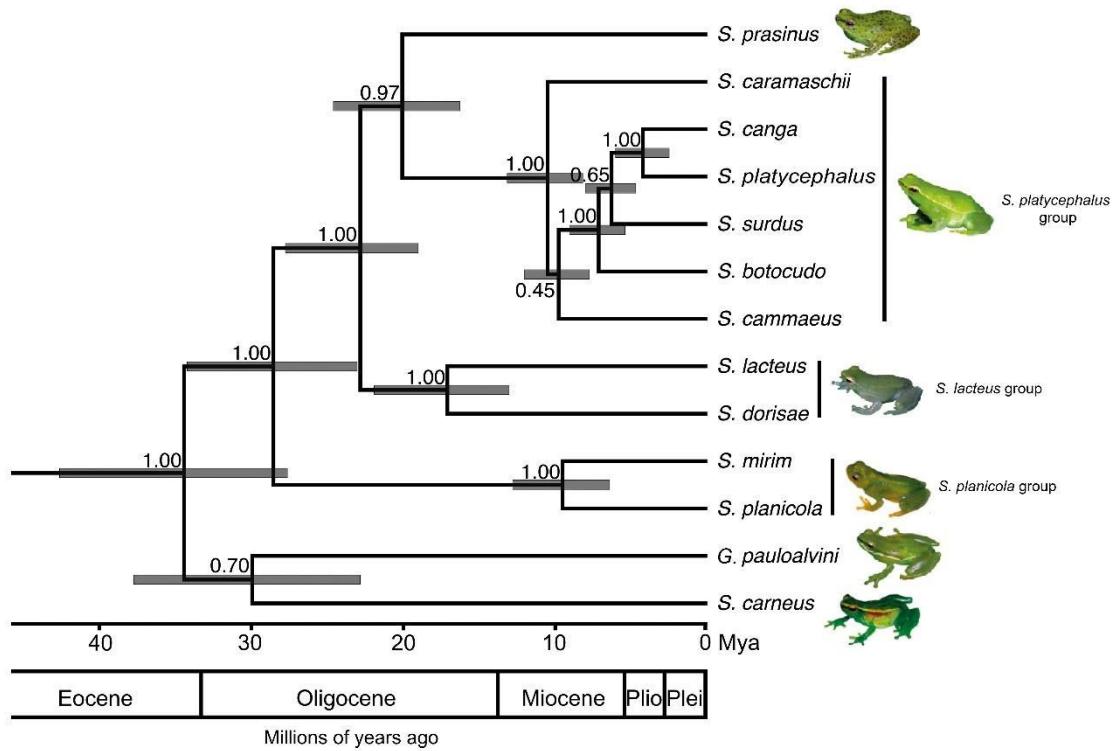
**Tabela 2.** Comparação do modelo BioGeoBEARS para Sphaenorynchini com base no log-verossimilhança (LnL) e no critério de informação de Akaike (AIC); *N*, número de parâmetros; *d*, taxa de dispersão; *e*, taxa de extinção; *J*, probabilidade relativa de especiação entre eventos fundadores. O melhor modelo é mostrado em negrito.

Model	LnL	<i>N</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>J</i>	AIC
DEC	-32.890	2	0.005	0.004	0.000	69.780
<b>DEC+j</b>	<b>-24.180</b>	<b>3</b>	<b>0.002</b>	<b>0.000</b>	<b>0.210</b>	<b>54.350</b>
DIVALIKE	-34.580	2	0.008	0.007	0.000	73.170
DIVALIKE+j	-25.550	3	0.002	0.000	0.150	57.110
BAYAREALIKE	-36.350	2	0.006	0.051	0.000	76.700
BAYAREALIKE+j	-26.620	3	0.002	0.000	0.190	59.240

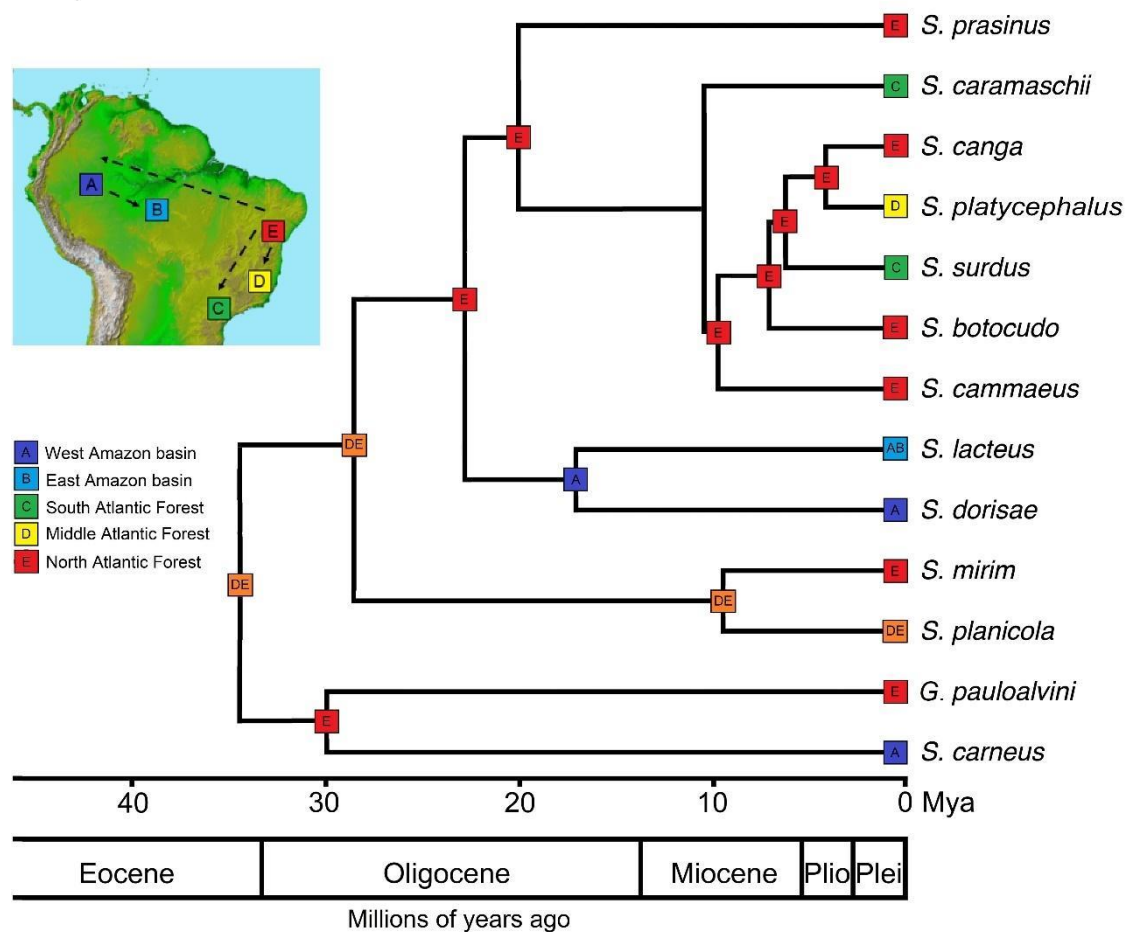
**FIGURAS**



**Figura 1.** Distribuição geográfica das espécies da tribo Sphaenorhynchini na América do Sul.



**Figura 2.** Árvore de espécies da tribo Sphaenorhynchini, com base na análise bayesiana dos genes 12S, 16S, Citocromo b e Tirosinase. Os valores acima dos ramos indicam probabilidades posteriores. A barra de escala representa o número de substituições por sitio. Fotos de I.J. Roberto (*S. cammaeus* – *S. platycephalus* group) and *S. prasinus*), F.S.F. Leite (*S. canga*), C.E. Costa-Campos (*S. carneus*), T. Grant (*S. lacteus* – *S. lacteus* group), J.L. Gasparini (*S. mirim* – *S. planicola* group), and M.T. Rodrigues (*G. pauloalvini*).



**Figura 3.** Cenário biogeográfico inferido para as espécies de *Sphaenorhynchus* e *Gabohyla* através do modelo de melhor ajuste recuperado por BioGeoBEARS (DEC+J). As principais áreas biogeográficas definidas com base na distribuição de Sphaenorhynchini são mostradas no mapa da seguinte forma: Oeste Amazônico (azul escuro), Leste Amazônico (azul claro), Sul da Mata Atlântica (verde), Mata Atlântica Central (amarelo) e Norte da Mata Atlântica (vermelho). As flechas no mapa representam os eventos de dispersão inferidos como ocorrendo ao longo dos ramos. Veja na Figura 2 as probabilidades posteriores dos clados.



## 4 CONCLUSÃO GERAL

Os eventos de expansão e retração dos domínios morfoclimáticos do Cerrado, Caatinga e da Mata Atlântica, com a estabilidade de ilhas de matas xéricas isoladas ocorridas no Pleistoceno parecem explicar a diversificação entre as duas únicas linhagens, Leste e Oeste encontradas em *Boana crepitans*. Contudo, provavelmente não foi suficiente para interromper o fluxo gênico completamente, desde que as áreas circundantes fossem cobertas por formações abertas e secas com preferências térmicas compatíveis. Assim, um cenário de isolamento parcial produzido pelos refúgios durante períodos úmidos e secos parece plausível. Investigar a estrutura filogeográfica e a história demográfica de outros táxons que habitam vegetações xéricas é substancial para a compreensão se há a ocorrência de padrões gerais de diversificação, pois a importância de cada evento histórico varia dependendo da biologia das espécies sob estudo.

Geralmente a diversificação é provocada por eventos de vicariabilidade, impedindo a migração de genes entre subpopulações através de barreiras recém-formadas (Nelson e Platnick, 1981). Diante disto, a separação alopátrica de populações leva cada um a se diferenciar em populações geneticamente diferentes. Utilizando uma abordagem multi-locus para realizar inferência filogenética e biogeografia histórica este é o primeiro estudo em larga escala a incluir uma filogenia calibrada quase completa de Sphaenorhynchini, apresentando informações importantes, sobre a evolução do gênero e diversificação das espécies. Com base nas datas de divergência produzidas por nossas análises, inferimos que a diversificação das 15 espécies existentes de Sphaenorhynchini das linhagens florestais, amazônicas e atlânticas corroboram com os principais fatores climáticos e geológicos, eventos que moldaram a paisagem neotropical durante o Cenozóico (Linder, 2008; Rull, 2011; Perret et al., 2013), provavelmente influenciadas pelo aumento da aridez durante o Eoceno/Oligoceno Tardio e formação da “diagonal seca” composta por habitats mais xéricos (Orme, 2007; Batalha-Filho et al., 2013; Sobral-Souza et al., 2015).