
Leonardo Gonçalves Tedeschi

Filogenia molecular e biogeografia de *Psomophis* Myers & Cadle 1994 e a história da diagonal de áreas abertas neotropicais

Orientadora: Dra. Lilian Gimenes Giugliano

Coorientador: Dr. Cristiano de Campos Nogueira

Universidade de Brasília

Março 2013

Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal

Filogenia molecular e biogeografia de *Psomophis* Myers & Cadle 1994 e a
história da diagonal de áreas abertas neotropicais

Leonardo Gonçalves Tedeschi

Dra. Lilian Gimenes Giugliano
(Orientadora)

Dr. Cristiano de Campos Nogueira
(Coorientador)

Universidade de Brasília – DF

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Biologia Animal
como parte dos requisitos necessários
para à obtenção do grau de Mestre em
Biologia Animal.

Brasília, Março de 2013

Ficha Catalográfica

Tedeschi, Leonardo Gonçalves

Filogenia molecular e biogeografia de
Psomophis Myers & Cadle 1994 e a história
da diagonal de áreas abertas neotropicais

53 páginas

Dissertação (Mestrado) - Instituto de
Ciências Biológicas da Universidade de
Brasília, Departamento de Biologia Animal.

1.Serpente, 2.América do Sul,
3.Divergência, 4.Distribuição.

I.Universidade de Brasília. Instituto de
Zoologia. Departamento de Biologia Animal.

Comissão Julgadora:

Dr. Gabriel Corrêa Costa

Universidade Federal do
Rio Grande do Norte

Dr. Renato Caparroz

Universidade de Brasília

Dr. Reuber Albuquerque Brandão

Universidade de Brasília - Suplente

Dr. Cristiano de Campos Nogueira

Universidade de Brasília – Presidente

“There's only one corner of the universe you can be certain of improving, and
that's your own self”.

Aldous Huxley

Agradecimentos

Primeiramente queria agradecer aos meus orientadores, Lilian Gimenes Giugliano e Cristiano Nogueira. Lilian, pela grata surpresa de ter me acolhido como seu orientado, mesmo sem nunca termos nos encontrado e por circunstancias bem diferentes, me auxiliando a crescer profissionalmente e me mostrando uma área até então desconhecida e não vista com bons olhos por mim, a genética, na qual achava que nunca iria trabalhar e hoje só quero aprender mais e mais. E ao Cristiano, que assim como a Lilian topou o desafio em me orientar, me mostrando sempre caminhos e conhecimentos que são e serão imprescindíveis na minha vida acadêmica. Aos dois os meus mais sinceros agradecimentos.

À banca examinadora, Gabriel Costa, Renato Caparroz e Reuber Brandão, por atenderem tão prontamente ao meu pedido, pelas correções e ajudas no meu trabalho. Também queria agradecer ao Júlio Cesar de Moura Leite e ao Hussam Zaher, por terem participado da correção da minha qualificação. Mas em especial ao Julio, por ter sido o meu primeiro “pai” dentro da herpetologia, me ensinado os primeiros passos como biólogo, e, além disso, ser apaixonado como eu por este gênero. Ao Alex Pyron, por ter me auxiliado em diferentes pontos da minha dissertação.

A Jéssica, Jé, minha companheira para todas as horas, agradeço por você fazer parte da minha vida pessoal e profissional. Profissionalmente me inspiro em você sempre, na sua determinação, inteligência e foco. Pessoalmente você sempre é a pessoa que mais acredita em mim, mais do que eu mesmo. E os meus dias são muito melhores com você do meu lado. Também quero agradecer a toda a sua família pelo apoio, principalmente minhas cunhadas, Janaína e Juliana, sua mãe, Maristela e seu pai, Fernando.

Ao pessoal do Laboratório de genética e biodiversidade: Flavinha, Carol, Mari Marzullo, Mari Ferreira, Marcella Mota, Cassia, Léo, pelas ajudas com as PCRs da vida e pelas conversas. Também queria agradecer ao pessoal da Chumb: Almir, Ana H, Ana Carol, André, Bernardo e Lolo, Ceci, Erick, Fabricius e Marina, Fer e Rafa, Gabriel, Guth, Isis e Davi, Josué, Lalá, Marcella Santos e Renan, Mari Stein, Nicolás e Suelem, Pietro, Regina, Roger, Tatá e Reuber e Tânia. Todos sempre receptivos desde quando a Jéssica chegou e tornando a nossa vida muito melhor aqui em Brasília. Finalmente, ao Guarino Colli pela disponibilidade de seu laboratório e me aceitar como parte deste grupo, mesmo não sendo seu orientado. Muito obrigado a todos.

Agradeço também a Capes pelo apoio financeiro durante a duração do meu mestrado. Também agradeço aos curadores das coleções que forneceram os exemplares e os tecidos das nossas espécies. Em especial à Glaucia Pontes, Hussam Zaher e Felipe Grazziotin, por terem repassado alíquota de tecido de *P. obtusus*, pois sem este exemplar nosso trabalho molecular não seria possível.

Aos meus amigos do Paraná: Guimo, Zé, Murilo, Ale, Vi, Japa, Deds, Vina, Rafinha, Fi, Bundudo, Rafa e todos os outros. Saibam que todos foram, são e serão muito especiais para mim, porque mesmo longe sei que vocês sempre torceram por mim. Mas os meus agradecimentos mais sinceros aos meus irmãos de coração: Alessandro, Java, Teteu e Nani, por desde sempre terem me proporcionado as melhores conversas e as melhores risadas, espero que a nossa amizade se fortaleça sempre.

Finalmente a minha família, Mãe, Pai, Re e Fe (Lu), que nunca duvidaram de mim mesmo quando eu mesmo duvidava, vocês são a minha inspiração sempre, a distancia nunca será um empecilho quando queremos o melhor. E aos meus pequenos: Eliza e Nicolas, mesmo estando longe, vocês são muito importantes para esse tio babão!

A todos que direta ou indiretamente auxiliaram neste trabalho os meus mais verdadeiros agradecimentos.

ÍNDICE

RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO.....	3
MATERIAS E METODOS	6
<i>Dados moleculares</i>	6
<i>Análises filogenéticas</i>	8
<i>Análises de distribuição</i>	10
RESULTADOS	12
<i>Análises filogenéticas</i>	12
<i>Análises biogeográficas</i>	14
DISCUSSÃO.....	16
<i>Conclusões gerais</i>	21
REFERENCIAS	22
ANEXOS.....	28

Resumo

1

2 A diagonal de áreas abertas separa os dois grandes blocos de formações florestais da
3 América do Sul, Floresta Amazônica e Mata Atlântica, e é formada pela união de três
4 conjuntos de formações vegetacionais no centro do continente: Caatinga, Cerrado e
5 Chaco. Estas regiões possuem uma herpetofauna diversa e com muitas espécies
6 endêmicas. O gênero de serpentes *Psomophis* é composto por três espécies (*P. joberti*,
7 *P. genimaculatus* e *P. obtusus*) e está amplamente distribuído nesta região. Entretanto,
8 dados precisos de ocorrência dos organismos são escassos, e o processo de
9 diversificação das biotas nestas regiões ainda é pouco compreendido. O presente
10 trabalho objetiva estudar as relações de parentesco e a biogeografia de *Psomophis*,
11 contribuindo para compreender a biogeografia da diagonal de áreas abertas neotropicais.
12 As relações intra e interespecíficas do grupo foram inferidas a partir das sequências dos
13 genes 12S, 16S, C-mos e NGFB. As análises filogenéticas foram realizadas pelos
14 métodos de máxima verossimilhança e inferência bayesiana. Utilizamos os pontos de
15 coordenadas geográficas das três espécies, obtidos de literatura taxonômica e de
16 exemplares depositados em museus para elaboração de mapas e análises biogeográficas.
17 Modelos de distribuição potencial foram realizados para cada espécie, utilizando as
18 variáveis bioclimáticas recentes da região neotropical. A partir destes dados, foram
19 confeccionados mapas de distribuições realizadas e potenciais das espécies e linhagens.
20 Finalmente, analisamos as identidades de nicho para cada clado, assim como a
21 existência de uma barreira biogeográfica atual em suas distribuições. Realizamos ainda
22 uma análise de relógio molecular relaxado para estimar o tempo de divergência de cada
23 espécie. As áreas ancestrais de cada clado foram obtidas com base em inferência
24 bayesiana implementada no programa Rasp. Os principais parâmetros de diversidade
25 genética foram calculados para *P. joberti* e a relação entre os haplótipos foi obtida por
26 median-joining. As espécies de *Psomophis* apresentaram baixa diversidade
27 intraespecífica, alta diferenciação interespecífica e monofiletismo recíproco. A
28 divergência do gênero data do Oligoceno Médio (~30 Ma) e as divergências entre as
29 espécies foram datadas entre o meio e final do Mioceno (~13-7 Ma). *Psomophis* é
30 encontrado em toda a extensão da diagonal de áreas abertas e em áreas adjacentes, como
31 a região dos Pampas. Cada espécie apresenta relação com uma ou duas grandes
32 formações vegetacionais inseridas nesta diagonal. Pela análise de identidade de nicho,
33 obtivemos divergências significativas entre cada espécie e a indicação da existência de
34 barreiras entre a distribuição das espécies de *Psomophis*. Observamos que a possível
35 área ancestral do grupo esta na região ao sul do Chaco e norte dos Pampas. Ainda, o
36 segundo evento de cladogênese no grupo provavelmente se deu em razão do surgimento
37 da depressão do alto Paraguai, entre o Cerrado e Chaco, onde atualmente se situam as
38 baixadas do Pantanal. O padrão de distribuição e diferenciação do grupo corrobora a
39 hipótese de regionalização que postula a inclusão dos Pampas e Monte como áreas da
40 província Chaquenha, junto com Cerrado, Chaco e Caatinga. O padrão observado,
41 também, indica uma maior relação do Cerrado com Chaco com populações relictuais na
42 região da Caatinga. Finalmente, este trabalho inclui uma compilação completa de dados
43 moleculares e de distribuição e portanto é o mais significativo sobre *Psomophis* desde a
44 sua descrição.

45

Abstract

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42

The South American arid diagonal occurs between two large blocks of forest formations, Amazon and Atlantic Forest, and is formed by three open vegetation regions in the center of the continent: Caatinga, Cerrado and Chaco. These regions have a diverse herpetofauna and many endemic species. The genus of snakes *Psomophis* comprises three species (*P. joberti*, *P. genimaculatus*, and *P. obtusus*) and is widely distributed in this region. However, their relationships and distribution are still poorly understood. The present work aims to study the evolutionary relationships and biogeography of *Psomophis* to bring new data about the biogeography the South American open diagonal. For estimating the intra- and interspecific relationship we used molecular data from the genes 12S, 16S, C-mos and NGFB. Phylogenetic analyses were performed by maximum likelihood and Bayesian inference. We used geographic coordinates points of the three species for mapping and performing biogeographic analyses. These point locality records were obtained by checking taxonomic literature and localities of verified specimens deposited in museums. The estimation of potential distributions was performed for each species, using recent bioclimatic variables for the Neotropical region. Based on these models we built observed and potential distribution maps. Finally, we analyzed niche identities for each pair of species, as well as the presence of biogeographical barriers between current distributions. We also performed a relaxed molecular clock dating to estimate the divergence time of each species. The ancestral area of each clade was inferred based on Bayesian analyses implemented in the software Rasp. Measures of genetic diversity were estimated for *P. joberti* and the relationship between haplotypes was obtained by median-joining. The species of *Psomophis* showed low intraspecific diversity and high interspecific differences with high supported reciprocal monophyly. The divergence date of the genus was estimated in the Oligocene (~ 30 Ma) and the differences between species were dated from the middle to late Miocene (~ 13 - 7 Ma). *Psomophis* is found throughout the South American arid diagonal and in adjacent areas, such as the Pampas region. Each species is associated to one or two major vegetation formations included in this diagonal. We obtained significant niche identity differences between each species and indications that there are barriers between species distributions. The probable ancestral area of this group is between southern portions of the Chacos and northern part of the Pampas. The second divergence event in the group probably occurred between Cerrado and Chaco, after the subsidence of the Upper Paraguay depression, in the Pantanal lowlands. The distribution pattern and differentiation of the group supports the hypothesis that Pampas and Monte regions should be included as a biogeographical unit along with Cerrado, Chaco and Caatinga (the Chacoan region of Morrone). The observed pattern also indicates a close relationship between Cerrado and Chaco with only relictual, isolated populations in the Caatinga. Finally, we presented here a comprehensive compilation of molecular and distribution data, and therefore this is the most significant study about *Psomophis* since its description.

1 **INTRODUÇÃO**

2
3 A diagonal de áreas abertas é uma região biogeográfica Neotropical de climas
4 variados, indo de regiões intertropicais a subtropicais, dominadas por savanas ou
5 florestas caducifólias (Ab`Sáber, 1977), separando dois grandes maciços florestais da
6 América do Sul: a Floresta Amazônica e a Mata Atlântica (Morrone & Coscaron, 1996;
7 Vanzolini, 1963). Possui como principais características a diversidade de paisagens, de
8 topografia e da biota (Rizzini, 1979; Colli et al., 2002; Macedo, 2002; Oliveira et al.,
9 2003; Werneck, 2011; Werneck et al., 2012b). Inserida nessa região biogeográfica
10 temos três principais formações vegetacionais, a Caatinga, o Cerrado e o Chaco
11 (Porzecanski & Cracraft, 2005; Vanzolini, 1963). Diferentemente desta classificação,
12 Morrone (2001) refere-se a esta região como sub-região Chaquenha, onde inclui
13 também outras formações vegetacionais como a região dos Pampas e o Monte, uma
14 formação vegetacional a oeste do Chaco (Figura 1).

15 Inicialmente a diagonal era considerada uma região com fauna similar entre suas
16 diferentes formações vegetacionais, em decorrência de amplos eventos de dispersão e
17 intercâmbio faunístico (Schmidt & Inger, 1951; Vanzolini, 1963). Porém, estudos
18 zoogeográficos e principalmente herpetofaunísticos recentes demonstram que estas
19 regiões possuem uma alta diversidade e grande número de espécies endêmicas, em geral
20 associadas a cada uma das grandes áreas que comporta (Colli et al., 2002; Rodrigues,
21 2003; Souza, 2005; Nogueira et al., 2011). Alguns estudos zoogeográficos indicam que
22 o Cerrado e o Chaco compartilham uma história mais recente em relação à Caatinga
23 (Porzecanski & Cracraft, 2005; Colli, 2005; Zanella, 2002), porém outras hipóteses
24 apontam para uma história recente compartilhada por Chaco e Caatinga, sendo o
25 Cerrado o mais diferenciado destas regiões (Vanzolini, 1974; Haffer, 1985). Finalmente,
26 uma última hipótese descreve que o Cerrado está mais relacionado com as savanas do

1 escudos das Guianas do que às formações abertas adjacentes (Silva, 1995; Werneck et
2 al., 2012b). Diferentes eventos geológicos foram descritos para toda a região, como o
3 soerguimento dos Andes e do planalto central no Brasil, que podem ter gerado um
4 importante efeito vicariante entre Chaco e Cerrado (Colli, 2005; Porzecanski &
5 Cracraft, 2005; Nogueira et al., 2011). Entretanto, maiores estudos sobre esta diagonal
6 são necessários para o entendimento da sua história biogeográfica. O gênero *Psomophis*,
7 por ocorrer amplamente nestas grandes regiões e por ter seu monofiletismo bem
8 corroborado (Myers & Cadle, 1994; Grazziotin et al., 2012) é um bom candidato a
9 estudos que visem compreender padrões e processos de diferenciação biológica nos
10 ambientes abertos neotropicais.

11 Estudos recentes demonstram que a utilização de dados filogenéticos e de
12 distribuição de espécies amplamente distribuídas podem indicar não só os padrões e
13 processos que geraram diversificação nestes grupos (Morando et al., 2003; Raxworthy
14 et al., 2007; Rissler & Apodaca, 2007), mas também elucidar a história das formações
15 vegetacionais em que se encontram. Como exemplo, há estudos sobre a Patagônia
16 utilizando o gênero de lagarto *Liolaemus* (Morando et al., 2003) e sobre anuros na bacia
17 Amazônia (Santos et al., 2009) e na floresta Atlântica (Carnaval et al., 2009). Estudos
18 comparativos como estes também foram realizados com vertebrados nas matas tropicais
19 australianas (Schneider et al., 1998) e com diferentes organismos distribuídos em uma
20 região dos Estados Unidos (Soltis et al., 2006). Por fim, temos exemplos dos trabalhos
21 realizados com lagartos do gênero *Phyllopezus* (Werneck et al., 2012a) e roedores
22 (Almeida et al., 2007) que discutem os processos de diversificação dentro da diagonal
23 de áreas abertas neotropicais. Estes últimos trabalhos demonstram que o Cerrado é peça
24 central na diversificação destas espécies, sendo o soerguimento do Planalto Central
25 (~7–5Ma) um evento muito importante para a divergência destes grupos.

1 Neste contexto, estudos de modelagem de nicho também vêm sendo apontados
2 como ferramenta importante em trabalhos sobre biogeografia e biologia evolutiva
3 (Araújo & Guisan, 2006; Kozak, Graham, & Wiens, 2008), mitigando lacunas amostrais
4 amplas, comuns em serpentes Neotropicais e favorecendo melhores descrições e
5 interpretações dos padrões de distribuição das espécies. Uma das principais abordagens
6 é analisar as sobreposições entre modelos de nicho de diferentes espécies ocorrentes em
7 uma mesma região para auxiliar a compreender a história geográfica das áreas (Warren
8 et al., 2008), investigando quais possíveis eventos biogeográficos estão relacionados à
9 diversificação das espécies, a partir da detecção de possíveis barreiras ambientais
10 recentes em suas distribuições (Glor & Warren, 2011). Estas barreiras podem ser
11 propostas de duas maneiras: (1) quando cada modelo de nicho apresenta características
12 ambientais muito distintas e as condições ambientais se modificam ao longo de um
13 gradiente ambiental, formando uma barreira gradual na distribuição das espécies, ou (2)
14 através de uma barreira física ou de ambientes poucos propícios à presença das espécies,
15 que separa dois blocos de ocorrência potencial, havendo características ambientais
16 similares em cada lado da barreira e equivalência no nicho das espécies (Glor &
17 Warren, 2011).

18 O gênero *Psomophis* possui uma distribuição ampla ao longo da diagonal de
19 áreas abertas sul-americanas (Myers & Cadle, 1994), estendendo-se ainda para a região
20 dos Pampas (Scrocchi & Giraudo, 1997), ocorrendo em todas as formações
21 vegetacionais inseridas na diagonal. Este gênero conta atualmente com três espécies:
22 *Psomophis genimaculatus* (Boettger, 1885), *P. obtusus* (Cope, 1864) e *P. joberti*
23 (Sauvage, 1884), sendo que cada uma delas ocorre em diferentes formações
24 vegetacionais dentro da diagonal de áreas abertas. Esse gênero dispõe de poucos estudos
25 sobre suas relações intra- e interespecíficas (Myers & Cadle, 1994; Grazziotin et al.,

1 2012) e dados atuais sobre os padrões de distribuição do gênero e de cada espécie são
2 ainda esparsos. O último trabalho relevante sobre o gênero foi realizado há mais de duas
3 décadas, no início dos anos 90 (Myers & Cadle, 1994).

4 Aqui visamos analisar as relações intra e interespecíficas das espécies do no
5 gênero *Psomophis*, utilizando dados moleculares e de distribuição. Analisaremos
6 também os processos de diversificação do gênero, com a filogenia datada, verificando
7 potenciais áreas ancestrais a partir dos dados de distribuição. Por fim, iremos investigar
8 possíveis barreiras na distribuição e diferenças de nicho das espécies de *Psomophis*,
9 para assim descrever a biogeografia do grupo nas áreas abertas neotropicais.

10

11 **MATERIAL E MÉTODOS**

12 *Dados moleculares*

13 Os dados moleculares foram obtidos de 24 indivíduos do gênero, sendo 17 de
14 *Psomophis joberti*, seis de *P. genimaculatus* e um de *P. obtusus*. *Xenodon merremi*,
15 *Alsophis elegans*, *Conophis lineatus* e *Crisantophis nevermanni* foram utilizados como
16 grupos externos nas análises filogenéticas. Sequenciamos três fragmentos de DNA
17 sendo dois mitocondriais (12S, 16S) e um nuclear (c-mos), escolhidos por serem
18 iniciadores já descritos e usados em estudo com filogenia de Xenodontinae
19 sulamericanos (Zaher et al., 2009). Incluímos também o gene nuclear NGFB, marcador
20 utilizado em trabalho recente de parentesco de répteis Squamata (Wiens et al., 2012).

21 As sequências utilizadas para os grupos externos foram retiradas do Genbank
22 (Tabela 01), enquanto que as sequências dos espécimes utilizados em nossas análises
23 foram obtidas dos tecidos oriundos das coleções herpetológicas, em sua maioria de
24 fígado conservado em álcool absoluto.

1 Para a extração do DNA de cada exemplar foi usado o kit DneasyTMTissue
2 (QIAGEN) seguindo o protocolo do fabricante. Com o DNA obtido da extração,
3 amplificamos as sequências utilizando os seguintes iniciadores: para o gene 12S rRNA,
4 L1091mod (5' CAA ACT AGG ATT AGA TAC CCT ACT AT 3') e H1557mod (5'
5 GTA CRC TTA CCW TGT TAC GAC TT 3') (Zaher et al., 2009); para o gene 16S
6 rRNA, L2510mod (5' CCG ACT GTT TAM CAA AAA CA 3') e H3056mod (5' CTC
7 CGG TCT GAA CTC AGA TCA CGT RGG 3') (Zaher et al., 2009). Para os dois genes
8 utilizamos os mesmos parâmetros de temperatura no termociclador, sendo utilizado
9 94°C por cinco minutos para desnaturação, seguido de 30 vezes um ciclo de 94°C a 35
10 segundos de desnaturação, 54°C por 35 segundos de anelamento e 72°C por 1 minuto de
11 alongamento, e finalizando com 72°C por 10 minutos para finalização do alongamento.
12 Para o gene c-mos, utilizamos os primers: S77 (5' CAT GGA CTG GGA TCAGTT
13 ATG 3') e S78 (5' CCT TGG GTG TGATTT TCT CAC CT 3') (Lawson et al., 2005).
14 Os parâmetros utilizados para a PCR deste gene foram: 94°C por três minutos para
15 desnaturação, seguido de um ciclo de 35 vezes de 94°C a 45 segundos de desnaturação,
16 54°C por 45 segundos de anelamento e 72°C por um minuto de alongamento, e
17 finalizando com 72°C por seis minutos para finalização do alongamento. Por fim, para o
18 gene NGFB, utilizamos os primers: NGFB-f2 (5' GA TTA TAG CGT TTC TGA TYG
19 GC 3') e NGFB-r2 (5' CAA AGG TGT GTG TWG TGG TGC 3'), (Townsend et al.,
20 2008), sendo utilizado os ciclos da PCR de 94°C por cinco minutos para desnaturação,
21 32 vezes um ciclo de 94°C a 30 segundos de desnaturação, 52°C por 40 segundos de
22 anelamento e 72°C por um minuto e 15 segundos de alongamento, e finalizando com
23 72°C por 5 minutos para finalização do alongamento.

24 Os produtos de PCR foram purificados com ExoSap®, com um ciclo padrão de
25 37°C por 90 minutos e 84°C por 20 minutos. O sequenciamento automatizado foi

1 realizado com o serviço da empresa Macrogen (Macrogen Inc., Seul, Coréia do Sul,
2 <http://www.macrogen.com>).

3 As sequências senso e antisenso foram analisadas e editadas visando obter uma fita
4 consenso utilizando o programa Staden 2.0.0b9 (Bonfield et al., 2011). Para o
5 alinhamento múltiplo das sequências consenso de cada indivíduo utilizamos o algoritmo
6 Multiple Alignment using Fast Fourier Transform (MAFFT) v.7 (Katoh & Standley,
7 2013), sendo que para fragmentos dos genes nucleares utilizamos os parâmetros G-INS-
8 i recomendados para menos de 200 sequências com homologia global. Para genes
9 mitocondriais, utilizamos Q-INS-i recomendado para estruturas de RNA (Katoh et al.,
10 2005). Para a escolha do melhor modelo de evolução molecular foi utilizando o critério
11 de Akaike, para cada região individualmente implementado, no software JModelTest
12 0.1.1 (Posada, 2008). No processo de concatenação dos dados as regiões em que não
13 obtivemos as sequências foram completadas com dados faltantes (“?”). Estudos
14 empíricos demonstram que a utilização destes dados faltantes pode reconstruir de forma
15 segura uma filogenia que possua muitos dados reais (Wiens, 2003; Wiens & Moen,
16 2008; Wiens et al., 2010; Wiens & Morrill, 2011).

17

18 *Análises filogenéticas*

19 Para a obtenção das árvores filogenéticas realizamos as análises de máxima
20 verossimilhança (MV) e métodos bayesianos (MB) para cada um dos conjuntos de
21 dados separadamente e concatenados, utilizando o melhor modelo de evolução obtido
22 para cada região individualmente.

23 A análise por MV foi implementado no software RaxMLv. 7.2.0 (Stamatakis, 2006),
24 e a confiabilidade dos ramos foi obtida pelo método de bootstrap com 500
25 pseudoréplicas. Para a obtenção das árvores filogenéticas seguindo o método bayesiano,

1 usamos o programa MrBayes v.3.0b4 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). A topologia da
2 árvore inicial foi obtida de forma randômica e foram realizadas duas corridas
3 independentes de 10 milhões de gerações amostradas a cada 1000 gerações. Nós
4 confirmamos que as duas corridas atingiram a fase estacionária e acessamos o número
5 de gerações *burn-in* pela análise gráfica do programa Tracer v. 1.5 (Rambaut &
6 Drummond, 2007). Uma vez eliminada a fase *burn in*, a frequência de cada clado em
7 uma árvore de consenso da maioria foi tomada como as probabilidades a posteriori de
8 cada nó (Huelsenbeck et al., 2001).

9 Também realizamos uma análise de diversidade haplotípica com o programa
10 DNASP v. 5 (Librado & Rozas, 2009), utilizando as espécies irmãs *P. joberti* e *P.*
11 *genimaculatus*. Esse teste foi realizado visando encontrar os haplótipos de cada uma das
12 espécies. Em seguida, construímos uma rede de haplótipos com uma análise de median-
13 joining (Bandelt et al., 1999) no software Network (Fluxus Technology, 2012), para
14 verificar as distâncias haplotípicas e a distribuição espacial dos haplótipos.

15 Finalmente, estimamos o tempo de divergência dos clados pelo método do relógio
16 molecular relaxado no programa BEAST 1.4 (Drummond et al., 2007), com 200
17 milhões de gerações. Para a análise foram utilizados todos os haplótipos obtidos pelo
18 software DnaSP e indivíduos que não possuíam dados faltantes. Com o conhecimento
19 sobre o registro fóssil do grupo, Pyron & Burbrink (2011) realizaram um estudo de
20 divergência dos grandes grupos de serpentes, com dados de tempo de diversificação.
21 Utilizando estes registro secundários, obtivemos o período de diversificação de cada
22 ramo que antecedeu o surgimento de Dipsadidae, visando deixar nossa análise mais
23 robusta e confiável, então adicionamos três espécies nesta análise: *Pseudoxenodon*
24 *macrops* (Pseudoxenodontidae, há 33.65 Ma), *Natrix natrix* (Natricidae, há 38.28 Ma) e

1 *Lamtropeltis getula* (Colubridae, 40 Ma). Para a calibração desses nós utilizamos cinco
2 milhões de anos de desvio padrão.

3

4 ***Análise de distribuição***

5 Dados de distribuição foram obtidos a partir de indivíduos depositados em coleções
6 herpetológicas. Conjuntamente, um levantamento bibliográfico foi realizado, visando
7 aperfeiçoar o mapeamento de áreas de ocorrência das espécies, principalmente de
8 exemplares procedentes de outros países, onde o acesso a coleções científicas é difícil,
9 como Argentina, Uruguai, Paraguai e Bolívia.

10 Os dados obtidos pelas localidades dos exemplares depositados em museus e
11 registros de bibliografia foram armazenados de acordo com as técnicas tradicionais de
12 SIG (Sistema de Informação Geográfica). Utilizamos o software Arcview v. 9.3 (ESRI,
13 2009) para a confecção dos mapas de distribuições de cada espécie do gênero. Em
14 seguida, confeccionamos modelos de distribuição potencial para cada espécie,
15 utilizando o algoritmo de máxima entropia MAXENT (Phillips et al., 2006) para
16 minimizar erros de comissão. Para isso, utilizamos variáveis bioclimáticas do
17 WorldClim com 1km de resolução (Hijmans et al., 2005), selecionando apenas as
18 variáveis não correlacionadas utilizadas por Costa et al. (2010).

19 Uma das dificuldades da interpretação dos modelos de distribuição é sua
20 transformação em valores de presença e ausência (zeros ou uns) a partir de valores
21 probabilísticos e contínuos. Visto que modelos de distribuição potencial não levam em
22 conta limites de dispersão (Graham & Hijmans, 2006), em geral tendem a superestimar
23 as áreas de ocorrência potencial, isto é, apontar áreas com condições favoráveis mas não
24 ocupadas efetivamente pelas espécies. Assim, utilizamos o método de LPT (Lower
25 Presence Thresholds) (Pearson et al., 2007) para transformar os valores originais dos

1 modelos em mapas de presença e ausência. Para tal, são cruzados primeiramente os
2 pontos originais de presença, com os valores de probabilidade de ocorrência do modelo.
3 Em seguida são eliminados os valores de probabilidade que são menores ou iguais ao
4 valor de corte, definido como o valor obtido no ponto correspondente a um
5 determinando percentual mais baixo entre todos os valores. Em nosso caso, utilizamos o
6 valor de 5%, já utilizado em estudos anteriores, visto que possuímos pontos de
7 ocorrência próximos ou menores que 100 localidades por espécie ou clado (Peterson et
8 al., 2008).

9 Para as análises biogeográficas utilizamos os modelos obtidos para comparação
10 de linhagens irmãs, utilizando o software ENMtools (Warren et al., 2008). O programa
11 se baseia em duas métricas, Schoener's *D* (Schoener, 1968) e Warren et al.'s *I* (Warren
12 et al., 2008) que visam quantificar a similaridade do nicho previsto entre duas espécies e
13 variam de 0 (nichos totalmente diferenciados) a 1 (modelos de nichos idênticos).

14 No programa utilizamos o método de equivalência de nicho, que basicamente
15 compara a divergência dos modelos originais (modelos gerados pela distribuição
16 original dos táxons) com pseudoréplicas aleatorizadas destes modelos, onde os pontos
17 obtidos para cada espécie em cada modelo e pseudoréplica são comparados visando
18 encontrar a similaridade entre duas espécies (Glor & Warren, 2011; Pyron & Burbrink,
19 2009; Warren et al., 2008). Como estamos utilizando espécies irmãs, não realizamos
20 possíveis correções filogenéticas para esta análise (Warren et al., 2008). Por fim,
21 utilizamos a análise de barreira geográfica em “blob”, que consiste em randomizar
22 diferentes barreiras geográficas em pseudoréplicas de distribuições com pontos
23 aleatórios. Diferente das outras análises, ela considera que a barreira não seria formada
24 por uma linha, mas sim uma barreira amorfa (“blob”), como no caso de um mosaico
25 irregular de ambientes distintos. Todas as análises do software ENMtools foram

1 realizadas com 500 pseudoréplicas e os testes de hipóteses foram realizados com teste T
2 unicaudal no software R v. 2.13.1 (R Development Core Team, 2010), utilizando os
3 valores de Schoener's D e I em comparação ao valor obtido do verdadeiro modelo de
4 distribuição, com valor de P de 0,05.

5 Por fim, realizamos uma análise para inferir a possível área ancestral do gênero,
6 utilizando a árvore das espécies e a distribuição de cada táxon e/ou indivíduos
7 implementado no programa RASP v 2.1b (Yu et al., 2011). Utilizamos para o teste
8 todas as árvores obtidas na análise de inferência bayesiana dos dados concatenados e a
9 árvore consenso desta análise. Confeccionamos ainda a distribuição de cada espécie em
10 relação às formações vegetacionais. Realizamos esta comparação entre a filogenia e a
11 distribuição por inferência bayesiana utilizando cadeia de Markov com 50 milhões de
12 gerações.

13

14 **RESULTADOS**

15 *Análises filogenéticas*

16 Encontramos um total de 435 e 529 pares de bases para os genes 12S e 16S,
17 respectivamente, totalizando 964 pares de bases para genes mitocondriais. Dados
18 “faltantes” foram utilizados, sendo que não obtivemos sequências de seis exemplares do
19 gene 12S e de apenas um indivíduo do gene 16S. Os genes nucleares C-mos e NGFB
20 apresentaram 578 e 585 pares de base respectivamente, totalizando 1163 pares de bases
21 para genes nucleares. Para o gene C-mos onze indivíduos não foram utilizados. Para o
22 gene NGFB, obtivemos sequências de apenas 10 indivíduos. Este foi o único gene em
23 que não utilizamos sequência das três espécies, pois não obtivemos nenhuma sequência
24 para *P. obtusus* (Tabela 2). As sequencias foram provenientes de 11 diferentes
25 localidades, sendo a espécie *P. joberti* com mais localidades por tecidos, totalizando

1 oito localidades. Para as demais espécies duas localidades foram registradas para *P.*
2 *genimaculatus* e uma localidade de *P. obtusus* (Tabela 3).

3 De modo geral, as árvores mostraram congruência entre os dados concatenados e os
4 dados separados por gene. Em todas as árvores a classificação das espécies está
5 altamente suportada, indicando que as espécies são claramente diferenciadas entre si.
6 Obtivemos também alto suporte de ramo para o gênero, corroborando a hipótese de ser
7 este um grupo monofilético. A principal diferença surgiu na análise de verossimilhança
8 para o gene mitocondrial 12s, onde *P. joberti* e *P. obtusus* foram consideradas espécies
9 irmãs, mas com baixo suporte do ramo para esse agrupamento (Figura 2). As outras
10 análises de genes mitocondriais (bayesiana de 12S e 16S e máxima verossimilhança de
11 16S) indicaram uma relação mais próxima entre *P. joberti* e *P. genimaculatus* (Figuras
12 2 e 3). Já as análises com os genes nucleares (C-mos e NGFB) recuperaram um grupo
13 monofilético incluindo todas as espécies de *Psomophis*, porém não foram informativas
14 para as relações dentro do gênero (Figuras 4 e 5).

15 As análises com dados concatenados por ambos os métodos resultou em topologias
16 melhor resolvidas, corroborando o monofiletismo de *P. joberti* e *P. genimaculatus*, com
17 alto grau de suporte dos ramos. Entretanto, poucas diferenças intraespecíficas foram
18 observadas e, portanto, as relações entre os indivíduos da mesma espécie ficaram pouco
19 resolvidas (Figura 6). O mesmo resultado foi encontrado para os genes mitocondriais
20 concatenados (Figura 7).

21 Dos 17 indivíduos analisados (Tabela 04) obtivemos nove haplótipos para o gênero,
22 com genes mitocôndrias concatenados. Detectamos um haplótipo em *P. obtusus*, outro
23 em *P. genimaculatus* e sete em *P. joberti*, onde somente um haplótipo foi compartilhado
24 por mais de um indivíduo. O haplótipo de *P. genimaculatus* foi compartilhado com
25 cinco indivíduos da mesma espécie, indicando uma baixa variação genotípica. Já para *P.*

1 *joberti*, que apresenta um único haplótipo compartilhado obtivemos valores de
2 diversidade haplotípica de $H_d = 0,515$ e de diversidade nucleotípica de $\pi = 0,00190$.
3 Também analisamos a estruturação das populações de *P. joberti*, com valor de F_{st} de
4 0,545 (Tabela 05), ou seja, para cada dois indivíduos é recuperado um haplótipo
5 diferente. Para o haplótipo de *P. obtusus* não foi realizada nenhuma análise de genética
6 de populações devido ao fato de só termos um haplótipo disponível.

7 A análise de tempo de divergência do grupo (Figura 08) evidenciou que a
8 divergência de *Psomophis* em relação aos outros Dipsadidae ocorreu durante o
9 Terciário, entre o Oligoceno e o Mioceno, há cerca de 30 milhões de anos atrás (Ma). A
10 divergência de *P. obtusus* foi estimada para aproximadamente 14 Ma, durante o
11 Mioceno, e a divergência de entre *P. joberti* e *P. genimaculatus* foi estimada para o final
12 do Mioceno ou início do Plioceno, por volta de 7,4 Ma. Nossas análises também
13 indicam que, provavelmente, as diversificações dos haplótipos de populações de *P.*
14 *joberti* se iniciaram durante o Quaternário, cerca de um milhão de anos antes do
15 presente.

16

17 **Análises biogeográficas**

18 Foi obtido um total de 124 registros de distribuição, formados pela combinação
19 única de espécie por localidade para todo o gênero, ocorrendo em toda a extensão da
20 diagonal de áreas abertas e na região dos Pampas. As áreas de ocorrência das espécies
21 obtidas dos modelos recortados variaram entre 3.405.033 km², 988.947 km² e 532.948
22 km² (Figura 10, 11, 12) sendo *P. joberti* a espécie com maior distribuição, seguida por
23 *P. genimaculatus* e *P. obtusus*.

24 Foi possível verificar sobreposição das distribuições potenciais de *P. joberti* e *P.*
25 *genimaculatus*, ocorrendo desde a região do Pantanal, seguindo até a região do Cerrado

1 de Beni, indicando uma grande área potencial de sobreposição das duas espécies (Figura
2 13). Houve também potencial simpatria entre as duas espécies na região do Pantanal. Já
3 a espécie *P. obtusus* ocorre mais ao sul que as outras duas espécies, tendo uma
4 distribuição disjunta em relação às congêneres, apresentando uma pequena área de
5 sobreposição na distribuição potencial em relação à espécie mais próxima
6 geograficamente, *P. genimaculatus* (Figura 14), não ocorrendo nenhuma simpatria das
7 duas espécies.

8 Visto que as análises filogenéticas mostraram que as espécies *P. joberti* e *P.*
9 *genimaculatus* são espécies irmãs, utilizamos primeiramente estas nos estudos de
10 comparação de nichos e barreira atual. Assim, as análises tiveram resultados
11 significativos para a diferença da identidade de nicho (Schoener's D e I, $P \ll 0,001$) e
12 indicam que há uma possível barreira biogeográfica entre as duas espécies (Schoener's
13 D e I, $P < 0,002$).

14 Tendo em vista que *P. genimaculatus* e *P. joberti* são espécies irmãs, escolhemos os
15 dados concatenados destas espécies para comparação com a outra espécie do gênero, *P.*
16 *obtusus*. Como o software ENMtools não utiliza a filogenia para as suas análises,
17 utilizamos as relações de parentesco encontradas na filogenia para a comparação dos
18 modelos potenciais das espécies. Assim verificamos diferenças significativas na
19 identidade de nicho destes dois grupos (*P. obtusus* X *P. joberti* + *P. genimaculatus*)
20 (Schoener's D e I, $P \ll 0,001$), assim como a ocorrência de uma possível barreira
21 biogeográfica (Schoener's D e I, $P \ll 0,001$) devido à pequena sobreposição da
22 distribuição potencial dos dois grupos (Figura 14) e a ausência de simpatria entre *P.*
23 *obtusus* e as demais espécies.

24 A análise da possível área ancestral para o gênero indica que há 28,57% de chances
25 que esta área seja na região do Chaco (CD). Já a segunda área com maior chance de

1 ancestralidade foi na região dos pampas, com 17,23% de chances. Assim há um total de
2 45,8% de chances de este gênero ter se originado na região mais austral da sua
3 distribuição, entre Chaco e Pampas (Figura 09). Esta análise também mostrou que a
4 possível área ancestral do grupo formado pelas espécies *P. joberti* e *P. genimaculatus*
5 está relacionada com a região do Pantanal, com mais de 50% das chances. Ainda,
6 resultados mostraram para *P. joberti* que o haplótipo 01 é o possível haplótipo ancestral,
7 pois todos os outros haplótipos da espécie derivam deste (Figura 15). Este haplótipo se
8 distribui na região central do Cerrado (Figura 16), indicando a possível ancestralidade
9 dessa espécie para esta região. Sobre a possível área ancestral da espécie *P. joberti*, os
10 resultados da análise demonstram uma grande relação com o Cerrado, sendo 43.82% de
11 chance de esta ser área ancestral da espécie, mas temos uma porcentagem de 26,71%
12 (AC) e 20,07% (C) de ocorrência na região entre o Cerrado e o Pantanal. Estas
13 porcentagens nos remetem a uma ocorrência mais ao sudoeste do Cerrado.

14

15 **DISCUSSÃO**

16 Nossas análises corroboram com alto suporte o monofiletismo de *Psomophis* e das
17 três espécies descritas do gênero, mesmo a espécie *P. obtusus* tendo somente um
18 indivíduo. Ainda, as relações entre espécies foram bem definidas nas análises,
19 corroborando *P. joberti* e *P. genimaculatus* como espécies irmãs e a outra espécie do
20 grupo, *P. obtusus*, como irmã das demais. Estes resultados estão de acordo com os
21 estudos morfológicos e moleculares prévios (Myers & Cadle, 1994; Grazziotin et al.,
22 2012).

23 Não foram encontradas grandes diferenças genéticas que indicassem a presença de
24 espécies não descritas no grupo. Esse resultado pode ser observado também em trabalho
25 com morfologia interna e externa (Myers & Cadle, 1994), onde os autores observaram

1 três padrões principais, diferenciados nas espécies descritas. Entretanto, estes resultados
2 podem estar relacionados ao baixo número amostral de *Psomophis* e de seus tecidos
3 disponíveis, raros na maioria das coleções herpetológicas. Outros estudos com
4 Squamata utilizando os genes mitocondriais 12S e 16S demonstram uma alta variação
5 intraespecífica (Sponer & Roy, 2002; Morando et al., 2003; Carranza et al., 2006;
6 Victoriano et al., 2008). Outro ponto que sugere a baixa variação intraespecífica, não
7 demonstrando grandes diferenças nas filogenias do grupo, pode decorrer do baixo
8 número amostral. Resultado de trabalho genético relacionado à diversificação de
9 lagartos na diagonal de áreas abertas (Werneck et al., 2012a) demonstra diferentes
10 variações intraespecíficas nas diferentes ecorregiões inseridas na diagonal. Por fim, a
11 grande estruturação e a alta diversidade haplotípica de *P. joberti* pode demonstrar que as
12 diferenças desta espécie reflitam um maior número amostral, principalmente a alta
13 variação dentro desta espécie. No entanto, podemos também supor que a baixa
14 diversidade em *P. genimaculatus*, comparada aos valores mais altos em sua espécie
15 irmã, indiquem a relativa homogeneidade da região das planícies do Pantanal em
16 relação ao mosaico topográfico, climático e vegetacional mais evidente do Cerrado e
17 Caatinga.

18 A divergência encontrada no grupo indica que provavelmente a sua área ancestral
19 seja ao sul do Chaco argentino, onde a primeira diversificação é datada para o meio do
20 Mioceno, a cerca de 13 Ma. Esta divergência estaria relacionada à linhagem de *P.*
21 *obtusus*, que se diferenciou das outras espécies do grupo neste período. As outras duas
22 espécies do gênero possivelmente divergiram a cerca de sete Ma, no final do Mioceno,
23 provavelmente na região do Pantanal e ao sul do Cerrado. A diversificação de *P. joberti*,
24 espécie com distribuição mais ampla do grupo, pode ter ocorrido na parte centro-leste
25 do Cerrado, há pouco mais de 1 Ma, como indicado para a área ancestral e a distribuição

1 do haplótipo ancestral, da localidade de Cocos, Bahia, no planalto da Serra Geral.
2 Estudos com paleomodelagem mostram que a região centro leste do Cerrado, dominada
3 pelos planaltos da Serra Geral de Goiás, representa uma área de refúgio de Cerrado,
4 com áreas de savanas estáveis ao longo do tempo (Werneck et al., 2012b).

5 Áreas de distribuição potencial das espécies do gênero podem ser relacionadas a
6 cada ecorregião onde são encontradas, sendo *P. joberti* a única espécie do grupo que
7 ocorre em mais de uma ecorregião, incluindo a Caatinga, na região mais ao norte e
8 nordeste próximo ao litoral, e no Cerrado, ocorrendo em quase toda a sua área. A
9 espécie *P. genimaculatus* está relacionada ao Chaco, estando ausente somente da região
10 mais austral desta formação. Estas duas espécies estão relacionadas com a tradicional
11 hipótese de limites da diagonal de áreas aberta neotropicais (Vanzolini, 1963; Ab`Sáber,
12 1977), ocorrendo em toda a sua extensão. Por fim, a espécie com distribuição mais ao
13 sul do grupo, *P. obtusus*, ocorre somente nos Pampas, corroborando a hipótese de
14 regionalização descrita por Morrone (2001), que descrê a província do Chaco,
15 agrupando os Pampas e o Monte com as outras formações inseridas na diagonal de áreas
16 abertas.

17 Quando comparamos as áreas potenciais de todas as espécies observamos relações
18 nos padrões de distribuição e barreiras atuais entre as espécies do gênero. Comparando
19 primeiramente as espécies *P. joberti* e *P. genimaculatus*, nossos resultados indicam
20 diferenças entre os seus nichos e uma possível barreira recente. Em conjunto com a
21 sobreposição da distribuição potencial, onde observa-se área de sobreposição das
22 espécies (Figura 11), pudemos inferir um gradiente ambiental de divergência entre as
23 duas espécies, considerada uma barreira alopátrica fraca (Pyron & Burbrink, 2010),
24 onde a dispersão nesta área é comum para as duas espécies. Isto é possível devido a uma
25 depressão não abrupta do escudo do planalto central nesta região (Figura 17), que se

1 degrada paulatinamente em direção às depressões do Pantanal. Assim, as depressões do
2 Pantanal, conectadas a planaltos adjacentes, permitem o intercâmbio e contato
3 secundário entre as duas espécies. Estudo recente com o gênero *Tropidurus* (De
4 Carvalho et al., 2013) indica uma alta relação do Pantanal com o Chaco, ainda tendo o
5 Cerrado como área irmã, revelando uma possível ligação entre estas áreas. A relação na
6 distribuição da espécie *P. obtusus* com as outras espécies do gênero indicou uma
7 barreira alopatrica forte, com possível diferenciação vicariante entre as espécies, visto
8 que existe uma possível barreira entre ela e as outras espécies de *Psomophis*. Tendo em
9 vista a pequena área de sobreposição entre as espécies (Figura 12) e a ausência de
10 simpatria entre estas espécies, podemos caracterizar um evento vicariante clássico como
11 provável fenômeno biogeográfico de diferenciação entre *P. obtusus* e as demais
12 espécies.

13 O gênero provavelmente teve um ancestral na região sul do Chaco/norte dos
14 Pampas, onde durante o Mioceno médio, a cerca de 15 Ma, ocorreu uma introgressão
15 marinha na região do rio Paraná (Ortiz-Jaureguizar & Cladera, 2006; Malumián &
16 Nández, 2011; Werneck, 2011). Este evento pode ter sido importante para a
17 diversificação desta espécie ancestral, que diversificou em outros dois clados: um
18 formado pela espécie ancestral de *P. joberti* e *P. genimaculatus* e outro com a espécie *P.*
19 *obtusus*. Ainda, esta espécie ancestral do gênero *Psomophis* possuía uma provável
20 distribuição ao sul, onde hoje ocorre a espécie *P. obtusus*. Durante esse período, o clima
21 mais quente na região dos Pampas devido ao fim de uma glaciação (Zachos et al.,
22 2001), provavelmente favoreceu a presença na região.

23 A outra espécie ancestral do grupo, hoje dividida em *P. genimaculatus* e *P. joberti*, se
24 distribuía na região do Pantanal, onde outro evento biogeográfico ocorreu a cerca de
25 sete Ma. Neste período, ocorreram diversos eventos que podem ter contribuído para a

1 diversificação, como o término do soerguimento do Planalto Central (Colli, 2005),
2 transgressões marinhas (Werneck, 2011) e efeitos resultantes do soerguimento dos
3 Andes (Porzecanski & Cracraft, 2005b). Todos estes eventos são uma síntese da
4 separação topográfica do planalto Central em relação à depressão pantaneira (Figura
5 17). Por esta região não ter um relevo tão abrupto, a diversificação das espécies pode ter
6 ocorrido devido um gradiente ambiental, tendo em vista que ainda há localidades em
7 que podemos encontrar as duas espécies, no contato entre Cerrado e depressão
8 Pantaneira. Por fim, *P. genimaculatus* continuou na região dos Chacos, possivelmente a
9 área ancestral do grupo, mas ocorrendo ainda em algumas regiões do sul do Cerrado. *P.*
10 *joberti* apresenta uma distribuição ampla do Pantanal até a Caatinga, chegando ao litoral
11 do nordeste/norte brasileiro, estabelecendo suas populações ao longo destas formações.

12 Estes eventos podem mostrar como a diagonal de áreas abertas pode ter se
13 diversificado. O estudo com o gênero *Psomophis* indica uma relação mais recente entre
14 as formações do Chaco e do Cerrado do que do Cerrado com a Caatinga, corroborando
15 com trabalhos anteriores sobre a diagonal (Colli, 2005; Porzecanski & Cracraft, 2005b;
16 de Carvalho et al., 2013). Nossos resultados não apresentaram um padrão que corrobora
17 a hipótese de que a Caatinga estaria mais próxima com o Chaco como sugerido em
18 estudos fitogeográficos sobre a diagonal (Vanzolini, 1974; Haffer, 1985) e nem a
19 relação do Cerrado com savanas do escudo das Guianas (Werneck et al., 2012a).
20 Mesmo a espécie *P. joberti* ocorrendo em duas das formações da diagonal de áreas
21 abertas, o pouco tempo de divergência (cerca de 1 Ma) indica que esta divergência pode
22 ter ocorrido após o soerguimento do Planalto Central. A ausência de *P. joberti* nas áreas
23 amplamente dominadas por depressões na Caatinga indica que provavelmente a
24 distribuição desta espécie está relacionada aos relictos de planalto, isolados no nordeste
25 brasileiro. Com base nos nossos resultados, concluímos ainda que o padrão de

1 divergência observado entre as espécies do gênero é diferente e bem mais antigo que o
2 esperado pela hipótese de diversificação nos refúgios climáticos do Pleistoceno (Haffer,
3 1969). Além disso, nossos resultados sobre o haplótipo ancestral de *P. joberti* estão de
4 acordo com o padrão encontrado em estudo sobre áreas ancestrais no Cerrado (Werneck
5 et al., 2012b), sendo eventos do Quaternário importantes somente para a diferenciação
6 dos haplótipos dentro de espécie.

7 Quando relacionamos o gênero com as hipóteses da diagonal de áreas abertas,
8 *Psomophis* fornece suporte à hipótese da sub-região Chaquenha (Morrone, 2001). Visto
9 que os Pampas se encontram em parte sobre o escudo brasileiro, assim como o Cerrado,
10 agrupar os Pampas com as demais regiões abertas da diagonal parece justificável,
11 evitando a delimitação de regiões compostas ou artificiais.

12 *Psomophis* se distribui em mais duas das grandes regiões adjacentes à formação da
13 diagonal de áreas abertas: na região das Savanas de Beni na Bolívia, onde ocorre a
14 espécie *P. genimaculatus* e na região da Ilha de Marajó, tendo a ocorrência de *P.*
15 *joberti*. As savanas de Beni tem características fitofisionômicas similares às Savanas
16 brasileiras (Cerrado), mas com maior proximidade ao Chaco. A região da Ilha de
17 Marajó, localidade tipo de *P. joberti*, é um fragmento de savanas alagáveis no norte do
18 Brasil.

19 ***Conclusões Gerais***

20 - As espécies *P. joberti* e *P. genimaculatus* apresentaram baixa diversidade
21 intraespecífica quando observamos as filogenias e estruturação genética das populações
22 para os genes estudados;

23 - *Psomophis* apresentou alta diversidade interespecífica e monofiletismo recíproco
24 com alto suporte para as três espécies, corroborando os dados morfológicos e a
25 classificação atual;

1 - Cada espécie possui nichos específicos e há possíveis barreiras entre suas
2 distribuições;

3 - As três espécies diferenciaram-se durante o Mioceno e corroboram uma relação
4 mais próxima entre as formações da Chaco e do Cerrado, como indicado em trabalhos
5 anteriores;

6 - O padrão de distribuição e diferenciação do grupo corrobora a hipótese de
7 regionalização de Morrone (2001), a qual postula a inclusão dos Pampas e Monte como
8 áreas da província Chaquenha, junto com Cerrado, Chaco e Caatinga.

9

10 REFERÊNCIAS

11 Ab`Sáber A.N. (1977) Os domínios morfoclimáticos da América do Sul: primeira
12 aproximação. *Geomorfologia*, **52**, 1–22.

13 Almeida F.C., Bonvicinoc C.R., & Cordeiro-Estrelae P. (2007) Phylogeny and temporal
14 diversification of *Calomys* (Rodentia, Sigmodontinae): Implications for the
15 biogeography of an endemic genus of the open/dry biomes of South America.
16 *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **42**, 449–466.

17 Araújo M.B. & Guisan A. (2006) Five (or so) challenges for species distribution
18 modelling. *Journal of Biogeography*, **33**, 1677–1688.

19 Bandelt H.J., Forster P., & Röhl A. (1999) Median-joining networks for inferring
20 intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, **16**, 37–48.

21 Bonfield J., Beal K., Jordan M., Cheng Y., & Staden R. (2011) *The Staden Package*,
22 *version 4*.

23 Carnaval A.C., Hickerson M.J., Haddad C.F.B., Rodrigues M.T., & Moritz C. (2009)
24 Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*
25 (*New York, N.Y.*), **323**, 785–789.

26 Carranza S., Arnold E.N., & Pleguezuelos J.M. (2006) Phylogeny, biogeography, and
27 evolution of two Mediterranean snakes, *Malpolon monspessulanus* and
28 *Hemorrhois hippocrepis* (Squamata, Colubridae), using mtDNA sequences.
29 *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **40**, 532–546.

30 De Carvalho A.L.G., De Britto M.R., & Fernandes D.S. (2013) Biogeography of the
31 Lizard genus *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1825 (Squamata: Tropiduridae):

- 1 Distribution, endemism, and area relationships in South America. *PLoS ONE*, **8**, 1
2 -14 .
- 3 Colli G.R. (2005) As origens e a diversificação da herpetofauna do Cerrado.
4 *Biodiversidade, Ecologia e Conservação do Cerrado* (ed. by A. Scariot, J.C.
5 Souza-Silva, and J.M. Felfili), pp. 247–264. Brasília, Distrito Federal.
- 6 Costa G.C., Nogueira C.C., Machado R.B., & Colli G.R. (2010) Sampling bias and the
7 use of ecological niche modeling in conservation planning: a field evaluation in a
8 biodiversity hotspot. *Biodiversity and Conservation*, **19**, 883–899.
- 9 Drummond A.J., Ho S.Y.W., Rawlence N., & Rambaut A. (2007) A Rough Guide to
10 BEAST 1 . 4. *Small*, 1–41.
- 11 ESRI (2009) ESRI - Environmental Systems Research Institute, Inc. ArcGIS.
12 Professional GIS for the desktop, version 9.3.1.
- 13 Fluxus Technology (2012) <<http://www.fluxus-engineering.com/>>. In March, 2013.
- 14 França F.G.R., Mesquita D.O., & Colli G.R. (2006) A Checklist Of Snakes From
15 Amazonian Savannas In Brazil, Housed In The Coleção Herpetológica Da
16 Universidade De Brasília, With New Distribution Records. *Occasional Papers of*
17 *the Oklahoma Museum of Natural History*, **17**, 1–13.
- 18 Glor R.E. & Warren D. (2011) Testing ecological explanations for biogeographic
19 boundaries. *Evolution*, **65**, 673–683.
- 20 Graham C.H. & Hijmans R.J. (2006) A comparison of methods for mapping species
21 ranges and species richness. *Global Ecology and Biogeography*, **15**, 578–587.
- 22 Grazziotin F.G., Zaher H., Murphy R.W., Scrocchi G., Benavides M. a., Zhang Y.-P., &
23 Bonatto S.L. (2012) Molecular phylogeny of the New World Dipsadidae
24 (Serpentes: Colubroidea): a reappraisal. *Cladistics*, **28**, 437–459.
- 25 Haffer J. (1969) Speciation in amazonian forest birds. *Science*, **165**, 131–137.
- 26 Haffer J. (1985) Avian zoogeography of the neotropical lowlands. *Ornithological*
27 *Monographs*, **36**, 113–147.
- 28 Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G., & Jarvis A. (2005) Very high
29 resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal*
30 *of Climatology*, **25**, 1965–1978.
- 31 Huelsenbeck J.P. & Ronquist F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny.
32 *Bioinformatics*, **17**, 754–755.
- 33 Huelsenbeck J.P., Ronquist F., Rasmus N., & Bollback J.P. (2001) Bayesian inference
34 of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science (New York, N.Y.)*,
35 **294**, 2310–2314.

- 1 Katoh K., Kuma K., Toh H., & Miyata T. (2005) MAFFT version 5: improvement in
2 accuracy of multiple sequence alignment. *Nucleic Acids Research*, **33**, 511–518.
- 3 Katoh K. & Standley D.M. (2013) MAFFT multiple sequence alignment software
4 version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and
5 Evolution*, **30**, 4, 772-780.
- 6 Kozak K.H., Graham C.H., & Wiens J.J. (2008) Integrating GIS-based environmental
7 data into evolutionary biology. *Trends in ecology & evolution*, **23**, 141–148.
- 8 Lawson R., Slowinski J.B., Crother B.I., & Burbrink F.T. (2005) Phylogeny of the
9 Colubroidea (Serpentes): New evidence from mitochondrial and nuclear genes.
10 *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **37**, 581–601.
- 11 Librado P. & Rozas J. (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of
12 DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**, 1451–1452.
- 13 Macedo R. (2002) The avifauna: ecology, biogeography, and behavior. *The cerrados of
14 brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna* (ed. by Paulos S.
15 Oliveira, Robert J. Marquis) pp. 242–265. Columbia University Press, New York.
- 16 Malumián N. & Nájuez C. (2011) The Late Cretaceous–Cenozoic transgressions in
17 Patagonia and the Fuegian Andes: foraminifera, palaeoecology, and
18 palaeogeography. *Biological Journal of the Linnean Society*, **103**, 269–288.
- 19 Morando M., Avila L.J., & Sites Jr. J.W. (2003) Sampling strategies for delimiting
20 species: genes, individuals, and populations in the *Liolaemus elongatus-kriegi*
21 complex (Squamata: Liolaemidae) in Andean-Patagonian South America.
22 *Systematic Biology*, **52**, 159–185.
- 23 Morrone J.J. (2001) Biogeografía de América Latina y el Caribe, Volume 3. *M&T –
24 Manuales y Tesis SEA*, **3**, 148.
- 25 Morrone J.J. & Coscaron M.C. (1996) Distributional patterns of the American
26 Peiratinae (Heteroptera : Reduviidae). *Zoologia Medica Leiden*, **70**, 1-15 .
- 27 Myers C.W. & Cadle J.E. (1994) A new genus for South American snakes related to
28 *Rhadinaea obtusa* Cope (Colubridae) and resurrection of *Taeniophallus* Cope for
29 the “*Rhadinaea*” *brevirostris* group. *American Museum Novitates*, **3102**, 1–33.
- 30 Nogueira C., Ribeiro S.R., Costa G.C., & Colli G.R. (2011) Vicariance and endemism
31 in a Neotropical savanna hotspot: distribution patterns of Cerrado squamate
32 reptiles. *Journal of Biogeography*, **38**, 1907–1922.
- 33 Ortiz-Jaureguizar E. & Cladera G. a. (2006) Paleoenvironmental evolution of southern
34 South America during the Cenozoic. *Journal of Arid Environments*, **66**, 498–532.
- 35 Oliveira J.A., Onçalves P.R., & Bonvicino C.R. (2003) Mamíferos da Caatinga.
36 *Ecologia e Conservação da Caatinga*. (ed. by I.R. Leal, M. Tabarelli, J.M.C.
37 Silva) pp. 275–333. Editora Universitária UFPE, Recife.

- 1 Pearson R.G., Raxworthy C.J., Nakamura M., & Townsend Peterson A. (2007)
2 Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test
3 case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, **34**, 102–117.
- 4 Peterson a. T., Papeş M., & Soberón J. (2008) Rethinking receiver operating
5 characteristic analysis applications in ecological niche modeling. *Ecological*
6 *Modelling*, **213**, 63–72.
- 7 Phillips S.J., Anderson R.P., & Schapire R.E. (2006) Maximum entropy modeling of
8 species geographic distributions. *Ecological Modelling*, **190** , 231–259.
- 9 Porzeczanski A.L. & Cracraft J. (2005) Cladistic analysis of distributions and endemism
10 (CADE): using raw distributions of birds to unravel the biogeography of the South
11 American aridlands. *Journal of Biogeography*, **32**, 261–275.
- 12 Posada D. (2008) jModelTest 0.1.1. *Systematic Biology*, **1**, 1–23.
- 13 Pyron R.A. & Burbrink F.T. (2009) Lineage diversification in a widespread species:
14 roles for niche divergence and conservatism in the common kingsnake,
15 *Lampropeltis getula*. *Molecular Ecology*, **18**, 3443–3457.
- 16 Pyron R.A. & Burbrink F.T. (2010) Hard and soft allopatry: physically and ecologically
17 mediated modes of geographic speciation. *Journal of Biogeography*, **37**, 2005–
18 2015.
- 19 Pyron R.A. & Burbrink F.T. (2011) Extinction , ecological opportunity , and the origins
20 of global snake diversity. *Evolution*, **66**, 163–178.
- 21 R Development Core Team (2010) R: A language and environment for statistical
22 computing. R Foundation for Statistical Computing.
- 23 Rambaut A. & Drummond A.J. (2007) Tracer v1.4. <<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>>.
24 In March, 2013.
- 25 Raxworthy C.J., Ingram C.M., Rabibisoa N., & Pearson R.G. (2007) Applications of
26 ecological niche modeling for species delimitation: a review and empirical
27 evaluation using day geckos (*Phelsuma*) from Madagascar. *Systematic biology*, **56**,
28 907–923.
- 29 Rissler L.J. & Apodaca J.J. (2007) Adding more ecology into species delimitation:
30 ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the
31 black salamander (*Aneides flavipunctatus*). *Systematic biology*, **56**, 924–942.
- 32 Rizzini C.T. (1979) *Tratado de Fitogeografia do Brasil*. 2nd edn. Editora da
33 Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 34 Rodrigues M.T. (2003) Herpetofauna da Caatinga. *Biodiversidade, Ecologia e*
35 *Conservação da Caatinga*. (ed. by M. Tabarelli and J.M.C. Silva), pp. 181–236.
36 Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

- 1 Santos J.C., Coloma L. a, Summers K., Caldwell J.P., Ree R., & Cannatella D.C. (2009)
2 Amazonian amphibian diversity is primarily derived from late Miocene Andean
3 lineages. *PLoS Biology*, **7**, 448–461.
- 4 Schmidt K.P. & Inger R.F. (1951) Amphibians and reptiles of the Hopkins-Branner
5 expedition to Brazil. *Fieldiana (Zool.)*, **31**, 439–465.
- 6 Schneider C.J., Cunningham M., & Moritz C. (1998) Comparative phylogeography and
7 the history of endemic vertebrates in the Wet Tropics rainforests of Australia.
8 *Molecular Ecology*, **7**, 487–498.
- 9 Schoener T.W. (1968) Anolis lizards of Bimini: resource partitioning in a complex
10 fauna. *Ecology*, **49**, 704–726.
- 11 Scrocchi G.J. & Giraud A. (1997) El género *Psomophis* (Serpentes: Colubridae) En La
12 Argentina. *Cuadernos de Herpetologia*, **11**, 63–68.
- 13 Silva J.M.C. (1995) Biogeographic analysis of the South American Cerrado avifauna.
14 *Steenstrupia*, **21**, 49–67.
- 15 Da Silva J.M.C. & Bates J.M. (2002) Biogeographic patterns and conservation in the
16 south american cerrado: a tropical savanna hotspot. *Bio Science*, **52**, 225–234.
- 17 Soltis D.E., Morris A.B., McLachlan J.S., Manos P.S., & Soltis P.S. (2006)
18 Comparative phylogeography of unglaciated eastern North America. *Molecular*
19 *Ecology*, **15**, 4261–4293.
- 20 Souza F.L. (2005) Geographical distribution patterns of South American side-necked
21 turtles (Chelidae), with emphasis on Brazilian species. *Revista Española de*
22 *Herpetologia*, **19**, 33–46.
- 23 Sponer R. & Roy M.S. (2002) Phylogeographic analysis of the brooding brittle star
24 *Amphipholis squamata* (Echinodermata) along the coast of New Zealand reveals
25 high cryptic genetic variation and cryptic dispersal potential. *Evolution*, **56**, 1954–
26 1967.
- 27 Stamatakis A. (2006) RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic
28 analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics (Oxford,*
29 *England)*, **22**, 2688–2690.
- 30 Townsend T.M., Alegre R.E., Kelley S.T., Wiens J.J., & Reeder T.W. (2008) Rapid
31 development of multiple nuclear loci for phylogenetic analysis using genomic
32 resources: an example from squamate reptiles. *Molecular Phylogenetics and*
33 *Evolution*, **47**, 129–142.
- 34 Vanzolini P.E. (1963) Problemas faunísticos do Cerrado. *Simpósio sobre o Cerrado* (ed.
35 by M.G. Ferri), Editora da Universidade de São Paulo., São Paulo.

- 1 Vanzolini P.E. (1974) Ecological and geographical distribution of lizards in
2 Pernambuco, northeastern Brazil (Sauria). *Papéis Avulsos de Zoologia, São Paulo*,
3 **28**, 61–90.
- 4 Victoriano P.F., Ortiz J.C., Benavides E., Adams B.J., & Sites J.W. (2008) Comparative
5 phylogeography of codistributed species of Chilean *Liolaemus* (Squamata:
6 Tropiduridae) from the central-southern Andean range. *Molecular Ecology*, **17**,
7 2397–2416.
- 8 Warren D.L., Glor R.E., & Turelli M. (2008) Environmental niche equivalency versus
9 conservatism: quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, **62**, 2868–
10 2883.
- 11 Werneck F.P. (2011) The diversification of eastern South American open vegetation
12 biomes: Historical biogeography and perspectives. *Quaternary Science Reviews*,
13 **30**, 1630–1648.
- 14 Werneck F.P., Gamble T., Colli G.R., Rodrigues M.T., & Sites J.W. (2012a) Deep
15 diversification and long-term persistence in the South American “dry diagonal”:
16 integrating continent-wide phylogeography and distribution modeling of geckos.
17 *Evolution*, **66**, 3014–3034.
- 18 Werneck F.P., Nogueira C., Colli G.R., Sites J.W., & Costa G.C. (2012b) Climatic
19 stability in the Brazilian Cerrado: implications for biogeographical connections of
20 South American savannas, species richness and conservation in a biodiversity
21 hotspot. *Journal of Biogeography*, **39**, 9, 1695–1706.
- 22 Wiens J.J. (2003) Missing data, incomplete taxa, and phylogenetic accuracy. *Systematic*
23 *Biology*, **52**, 528–538.
- 24 Wiens J.J., Hutter C.R., Mulcahy D.G., Noonan B.P., Townsend T.M., Jack W., Reeder
25 T.W., Supplement D., & Jr J.W.S. (2012) Resolving the phylogeny of lizards and
26 snakes (Squamata) with extensive sampling of genes and species. *Biology Letters*,
27 **8**, 1–5.
- 28 Wiens J.J., Kuczynski C. a, Townsend T., Reeder T.W., Mulcahy D.G., & Sites J.W.
29 (2010) Combining phylogenomics and fossils in higher-level squamate reptile
30 phylogeny: molecular data change the placement of fossil taxa. *Systematic Biology*,
31 **59**, 674–688.
- 32 Wiens J.J. & Moen D.S. (2008) Tracer - Missing data and the accuracy of Bayesian
33 phylogenetics. **46**, 307–314.
- 34 Wiens J.J. & Morrill M.C. (2011) Missing data in phylogenetic analysis: reconciling
35 results from simulations and empirical data. *Systematic Biology*, **60**, 719–731.
- 36 Yu Y., Harris A., & He X.-J. (2011) <<http://mnh.scu.edu.cn/soft/blog/RASP>>. In
37 March, 2013.

1 Zachos J., Pagani M., Sloan L., Thomas E., & Billups K. (2001) Trends, rhythms, and
2 aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science*, **292**, 686–93.

3 Zaher H., Grazziotin F.G., Cadle J.E., Murphy R.W., Moura-Leite J.C. De, & Bonatto
4 S.L. (2009) Molecular phylogeny of advanced snakes (Serpentes, Caenophidia)
5 with an emphasis on South American Xenodontines: A revised classification and
6 descriptions of new taxa. *Papéis Avulsos de Zoologia*, **49**, 115–153.

7

8 **Anexos**

9

10

11 Tabela 01. Códigos das sequências dos grupos externos utilizados no nosso trabalho
12 retiradas do sitio Genbank.

13

Espécie	12S	16S	C-mos	NGFB
<i>Alsophis elegans</i>	AF158401.1	AF158470.1	-	-
<i>Xenodon merremi</i>	GQ457840.1	-	GQ895836.1	-
<i>Crisantophis nevermanni</i>	GU018152.1	GU018169.1	-	-
<i>Conophis lineatus</i>	GU018143.1	GU018161.1	JQ598975.1	-
<i>Pseudoxenodon macrops</i>	JF697327.1	JF697338.1	JF697345.1	-
<i>Natrix natrix</i>	AY122682.1	AF158530.1	AF471121.1	EU438019.1
<i>Lamtropeltis getula</i>	AY122822.1	-	FJ627796.1	EU438009.1

Tabela 02. Sequências obtidas para cada gene de *Psomophis* no presente estudo

Tombo	Espécie	12S	16S	C-mos	NGFB
CHUNB38372	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	X	X
CHUNB41302	<i>Psomophis joberti</i>	X	NA	X	NA
CHUNB41306	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	NA	X
CHUNB41309	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	X	NA
CHUNB45365	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	X	X
CHUNB45421	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	X	X
CHUNB52071	<i>Psomophis joberti</i>	NA	X	NA	X
CHUNB52558	<i>Psomophis joberti</i>	X	NA	NA	NA
CHUNB52559	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	NA	NA
CHUNB52560	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	NA	NA
CHUNB52751	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	NA	NA
CHUNB52752	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	NA	NA
CHUNB52753	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	NA	NA
CHUNB61139	<i>Psomophis joberti</i>	NA	X	NA	X
CHUNB61140	<i>Psomophis joberti</i>	NA	X	NA	X
UFMT7891	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	X	X
Adrian	<i>Psomophis joberti</i>	X	X	NA	NA
CHUNB36519	<i>Psomophis genimaculatus</i>	X	X	X	X
UFMT9017	<i>Psomophis genimaculatus</i>	X	X	X	X
UFMT9018	<i>Psomophis genimaculatus</i>	X	X	X	NA
UFMT9025	<i>Psomophis genimaculatus</i>	X	X	X	X
UFMT9383	<i>Psomophis genimaculatus</i>	X	X	X	X
UFMT9384	<i>Psomophis genimaculatus</i>	X	X	NA	NA
MCP14242	<i>Psomophis obtusus</i>	X	X	X	NA

Tabela 03. Localidades e coordenadas dos tecidos utilizados das três espécies de *Psomophis*

Tombo	Espécie	Localidade	Coordenadas
CHUNB38372	<i>P. joberti</i>	Flores de Goiás-GO	-14.4486,-47.0503
CHUNB41302	<i>P. joberti</i>	Mateiros-GO	-10.5475,-46.4211
CHUNB41306	<i>P. joberti</i>	Mateiros-GO	-10.5475,-46.4211
CHUNB41309	<i>P. joberti</i>	Mateiros-GO	-10.5475,-46.4211
CHUNB45365	<i>P. joberti</i>	Caseara-TO	-9.34249,-49.9727
CHUNB45421	<i>P. joberti</i>	Caseara-TO	-9.34249,-49.9727
CHUNB52071	<i>P. joberti</i>	Carolina-MA	-7.34512,-47.4442
CHUNB52558	<i>P. joberti</i>	Peixe-TO	-12.0250,-48.5392
CHUNB52559	<i>P. joberti</i>	Peixe-TO	-12.0250,-48.5392
CHUNB52560	<i>P. joberti</i>	Peixe-TO	-12.0250,-48.5392
CHUNB52751	<i>P. joberti</i>	Peixe-TO	-12.0250,-48.5392
CHUNB52752	<i>P. joberti</i>	Peixe-TO	-12.0250,-48.5392
CHUNB52753	<i>P. joberti</i>	Peixe-TO	-12.0250,-48.5392
CHUNB61139	<i>P. joberti</i>	Pipipiri - PI	-4.1014,-41.7083
CHUNB61140	<i>P. joberti</i>	Pipipiri - PI	-4.1014,-41.7083
Adrian	<i>P. joberti</i>	Cachoeira dos Indios-PB	-6.9332,-38.6893
UFMT7891	<i>P. joberti</i>	N Senhora do Livramento-MT	-15.7750,-56.3456
CHUNB36519	<i>P. genimaculatus</i>	Corumbá-MS	-19.0000,-57.6500
UFMT9017	<i>P. genimaculatus</i>	Cáceres-MT	-16.0706,-57.6789
UFMT9018	<i>P. genimaculatus</i>	Cáceres-MT	-16.0706,-57.6789
UFMT9025	<i>P. genimaculatus</i>	Cáceres-MT	-16.0706,-57.6789
UFMT9383	<i>P. genimaculatus</i>	Cáceres-MT	-16.0706,-57.6789
UFMT9384	<i>P. genimaculatus</i>	Cáceres-MT	-16.0706,-57.6789
MCP14242	<i>P. obtusus</i>	Rio Grande-RS	-32.5383,-52.5388

Tabela 04: Indivíduos de *Psomophis* analisados pelos seus haplótipos com genes mitocondriais concatenados.

Indivíduos	Haplótipos
CHUNB36519	H8
CHUNB38372	H1
CHUNB41306	H1
CHUNB41309	H2
CHUNB45365	H3
CHUNB45421	H4
CHUNB52558	H1
CHUNB52559	H1
CHUNB52560	H1
CHUNB52751	H5
CHUNB52752	H6
UFMT7891	H7
UFMT9018	H8
UFMT9025	H8
UFMT9383	H8
UFMT9384	H8

Tabela 05: Descrição dos parâmetros de genética de populações para a espécie *Psomophis joberti*, utilizando genes mitocondriais concatenados.

Parâmetro	Valor
Número de indivíduos	11
Número de bases de base	964
Sítios polimórficos (S)	5
Numero de mutações (Eta)	5
N° de haplótipos (h)	7
Diversidade haplotípica (Hd)	0,515
Diversidade nucleotídica (π)	0,00190
N° de populações incluídas nas estimativas de Fst	4
Fst	0,54545

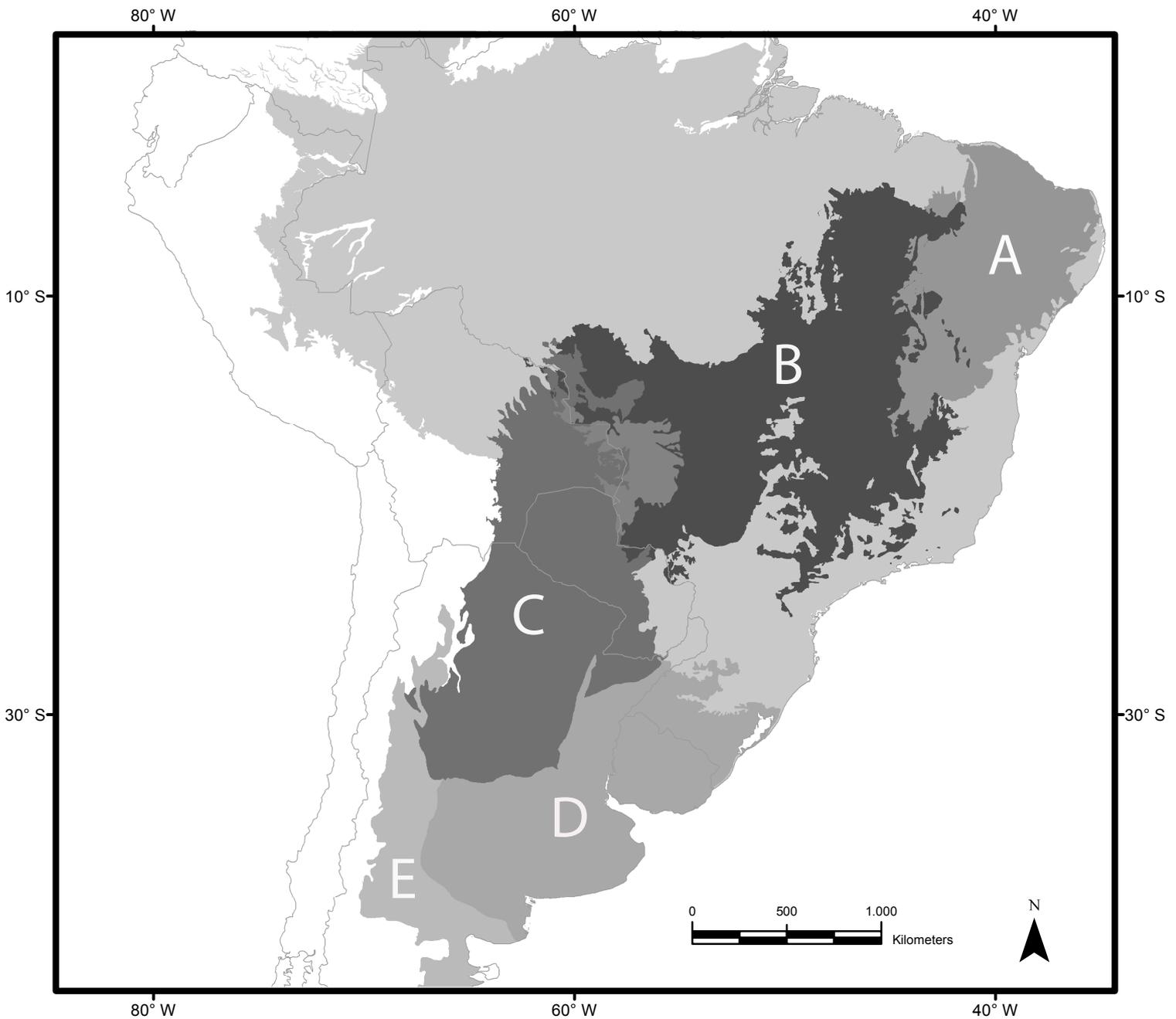


Figura 01: Diagonal de áreas abertas neotropicais e suas respectivas formações vegetacionais: A – Cerrado, B – Caatinga, E – Chaco. A região do Pantanal (C) está representada neste mapa mesmo não sendo uma formação vegetacional representativa da diagonal, assim como a região do Pampas (D), Monte (F), inseridas na hipótese da sub-região Chaquenha (Morrone, 2001).

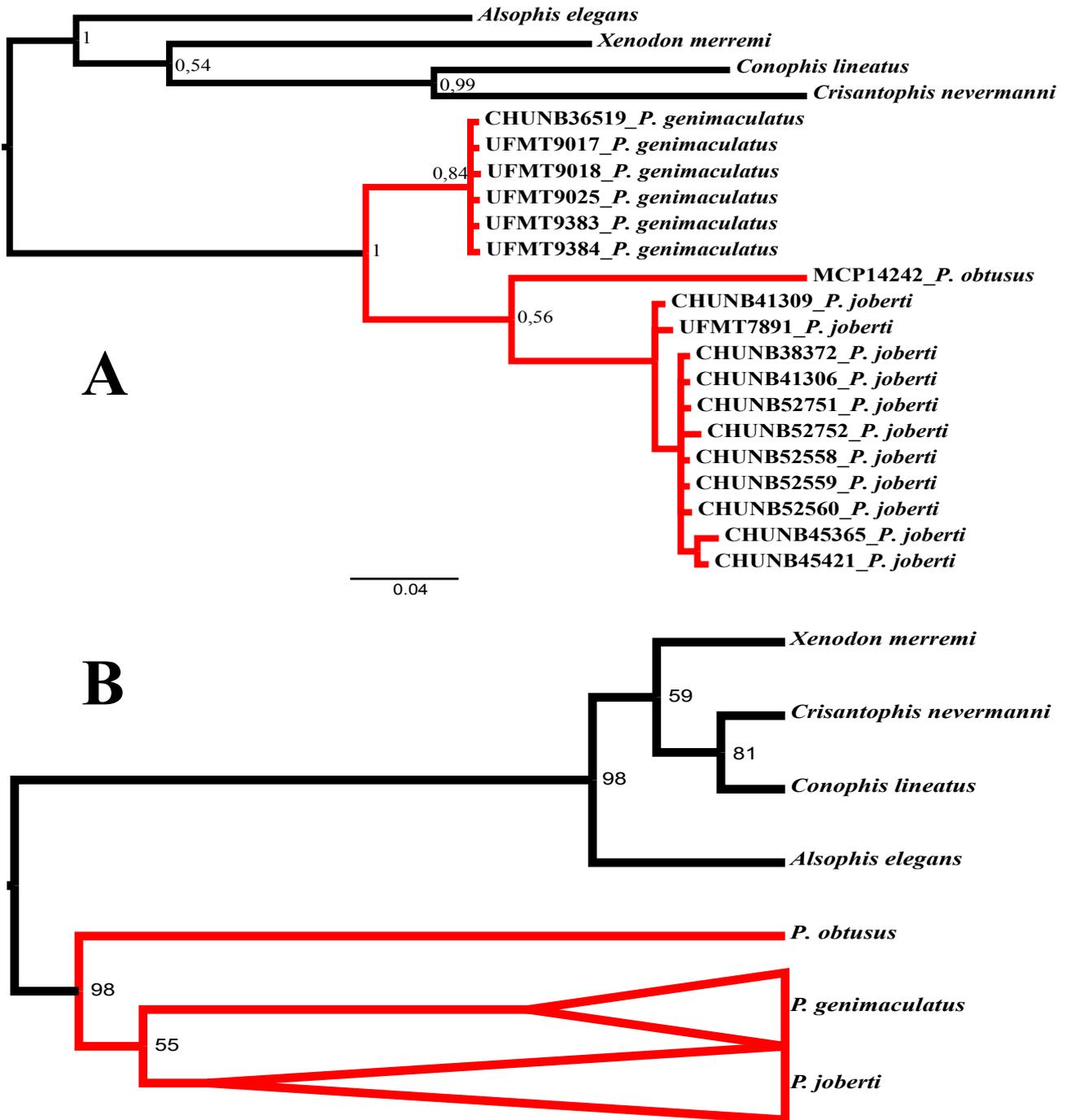


Figura 02. Filogenia das espécies de *Psomophis* com o gene mitocondrial 12S, (A) árvore obtida por inferência bayesiana, com a probabilidade posterior do suporte dos ramos e (B) árvore obtida com o método de verossimilhança, suporte dos ramos utilizando o método de bootstrap. Grupos com pouco baixo suporte de ramos foram reunidas em somente um grupo.

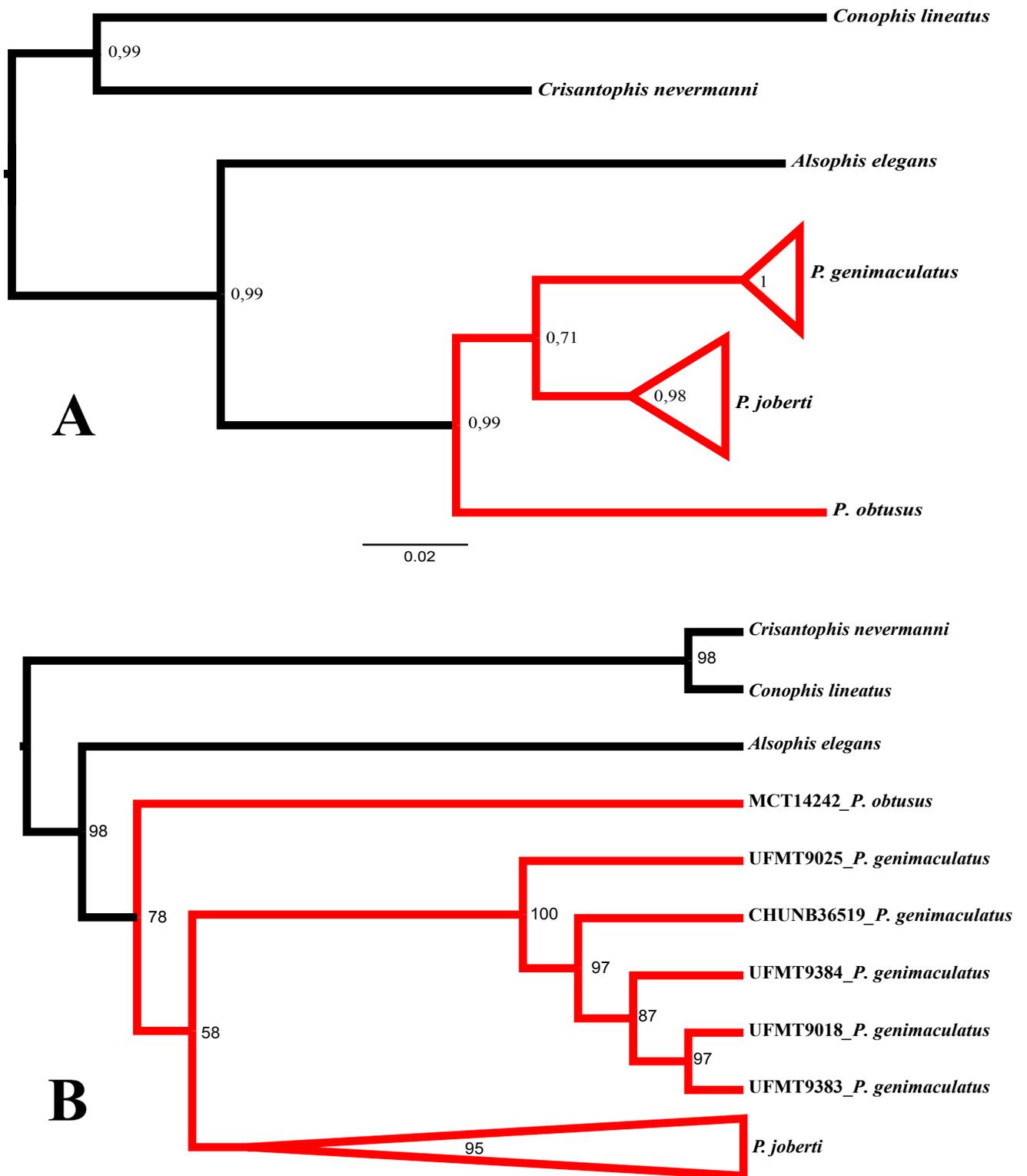


Figura 03. Filogenia das espécies de *Psomophis* com o gene mitocondrial 16S, (A) árvore obtida por inferência bayesiana, com a probabilidade posterior do suporte dos ramos. (B) árvore obtida com o método de verossimilhança, suporte dos ramos utilizando o método de bootstrap. Grupos com pouco baixo suporte de ramos foram concatenados em somente um grupo.

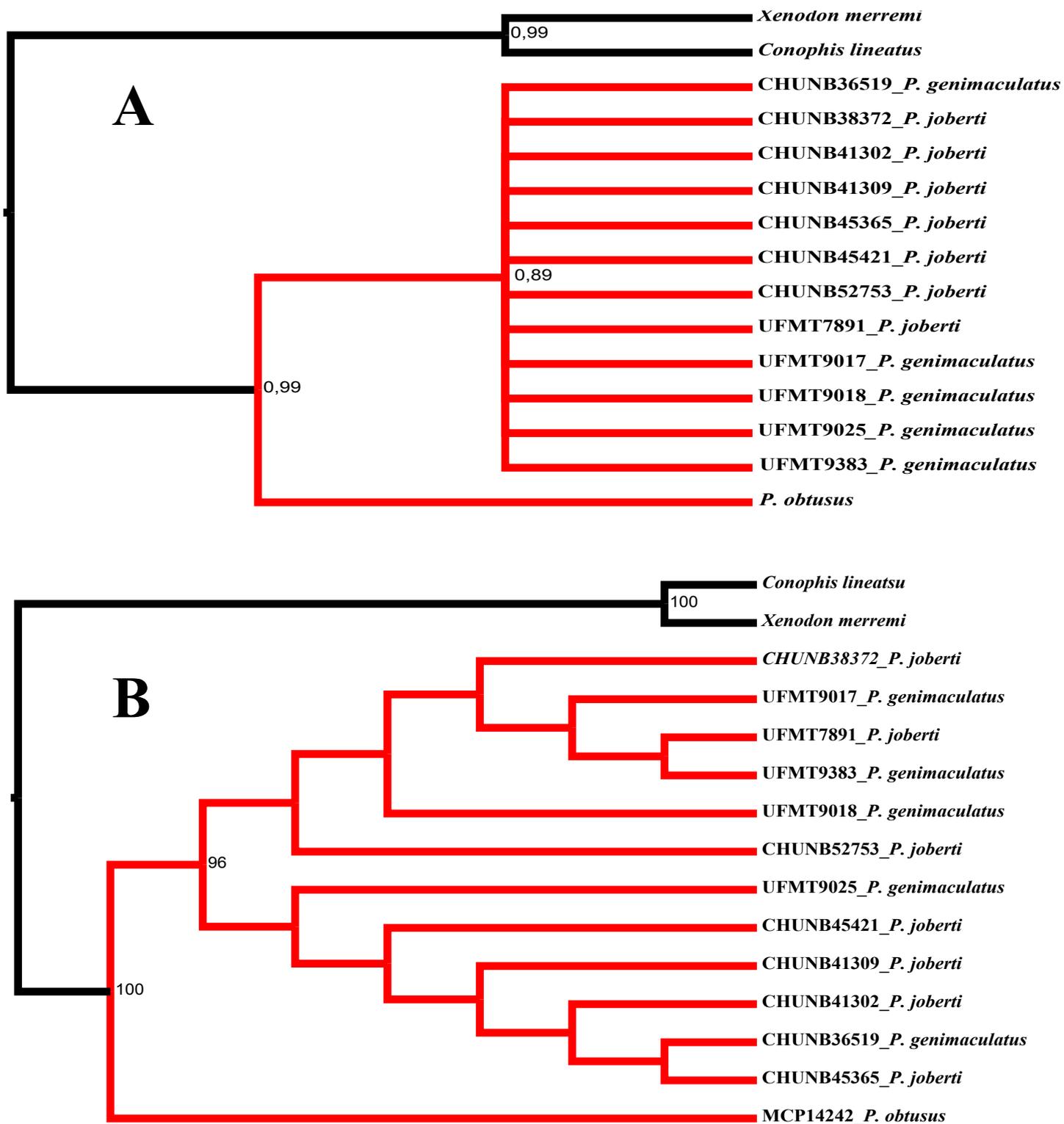


Figura 04. Filogenia das espécies de *Psomophis* com o gene nuclear c-mos, (A) árvore obtida por inferência bayesiana, com a probabilidade posterior do suporte dos ramos. (B) árvore obtida com o método de verossimilhança, suporte dos ramos utilizando o método de bootstrap.

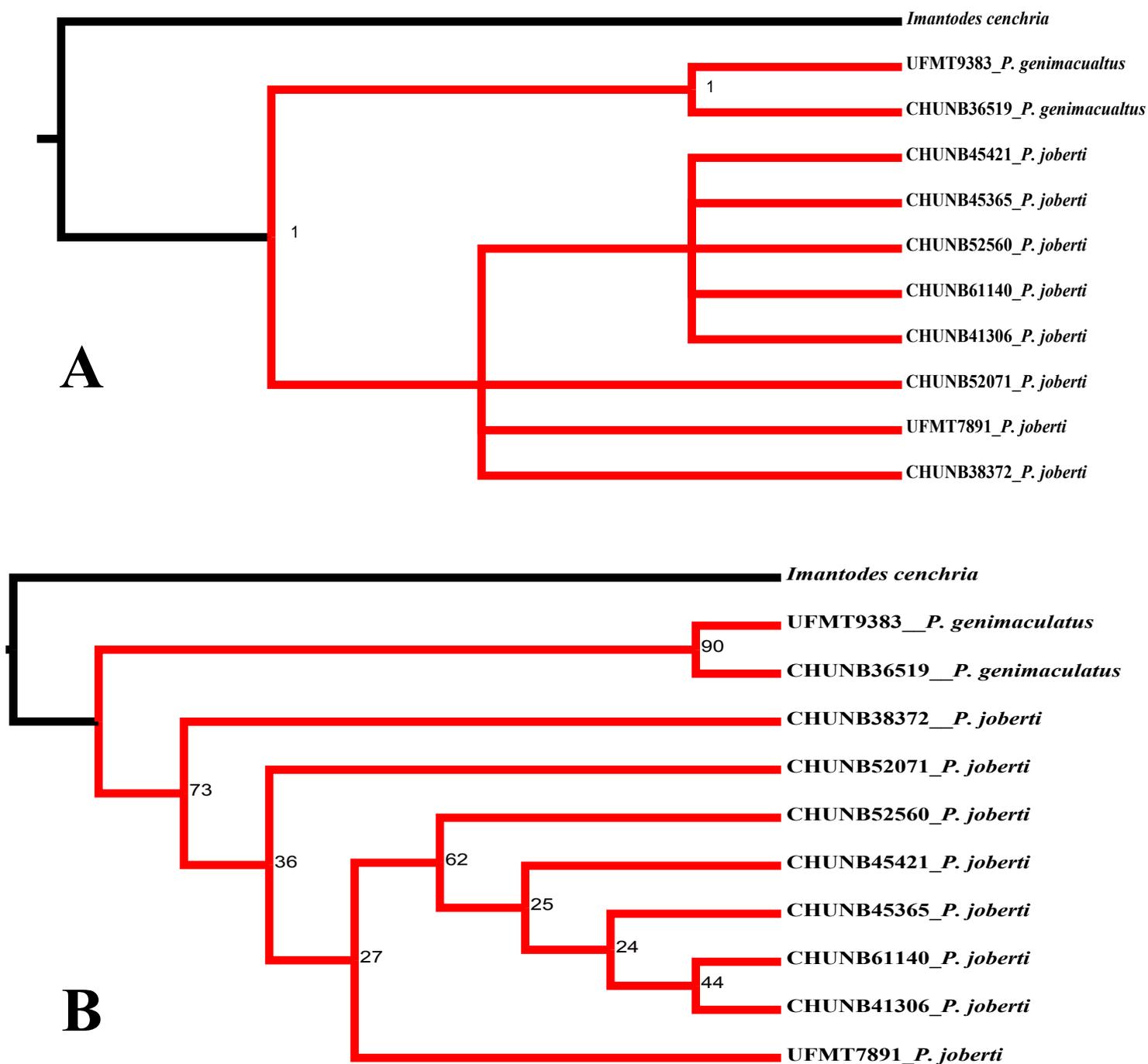


Figura 05. Filogenia das espécies de *Psomophis* com o gene nuclear NGFB, (A) árvore obtida por inferência bayesiana, com a probabilidade posterior do suporte dos ramos. (B) árvore obtida com o método de verossimilhança, suporte dos ramos utilizando o método de bootstrap.

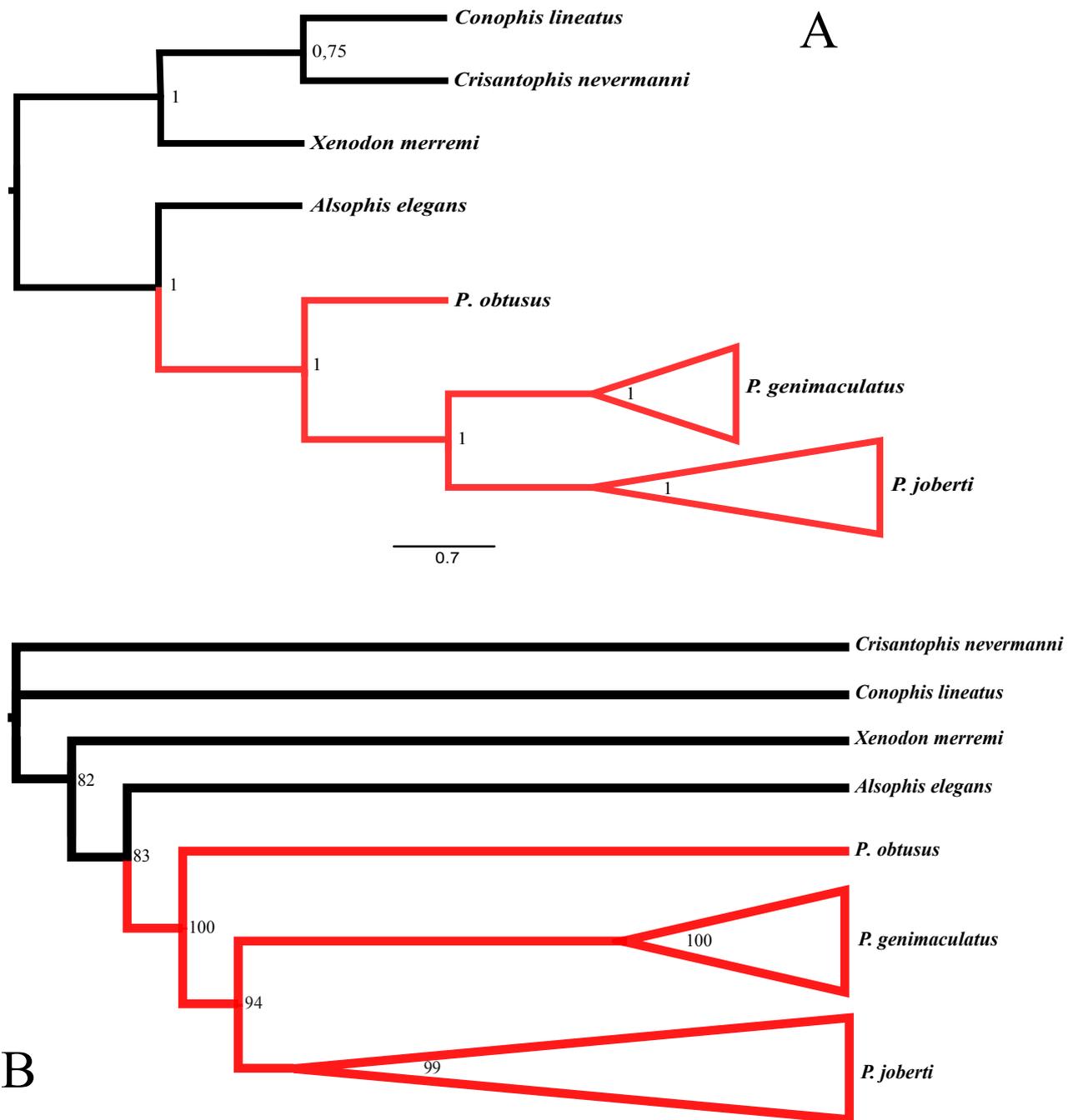


Figura 06. Filogenia das espécies de *Psomophis* com os dados de todos os genes concatenados, (A) árvore obtida por inferência bayesiana, com a probabilidade posterior do suporte dos ramos. (B) árvore obtida com o método de verossimilhança, suporte dos ramos utilizando o método de bootstrap. Grupos com pouco baixo suporte de ramos foram concatenados em somente um grupo.

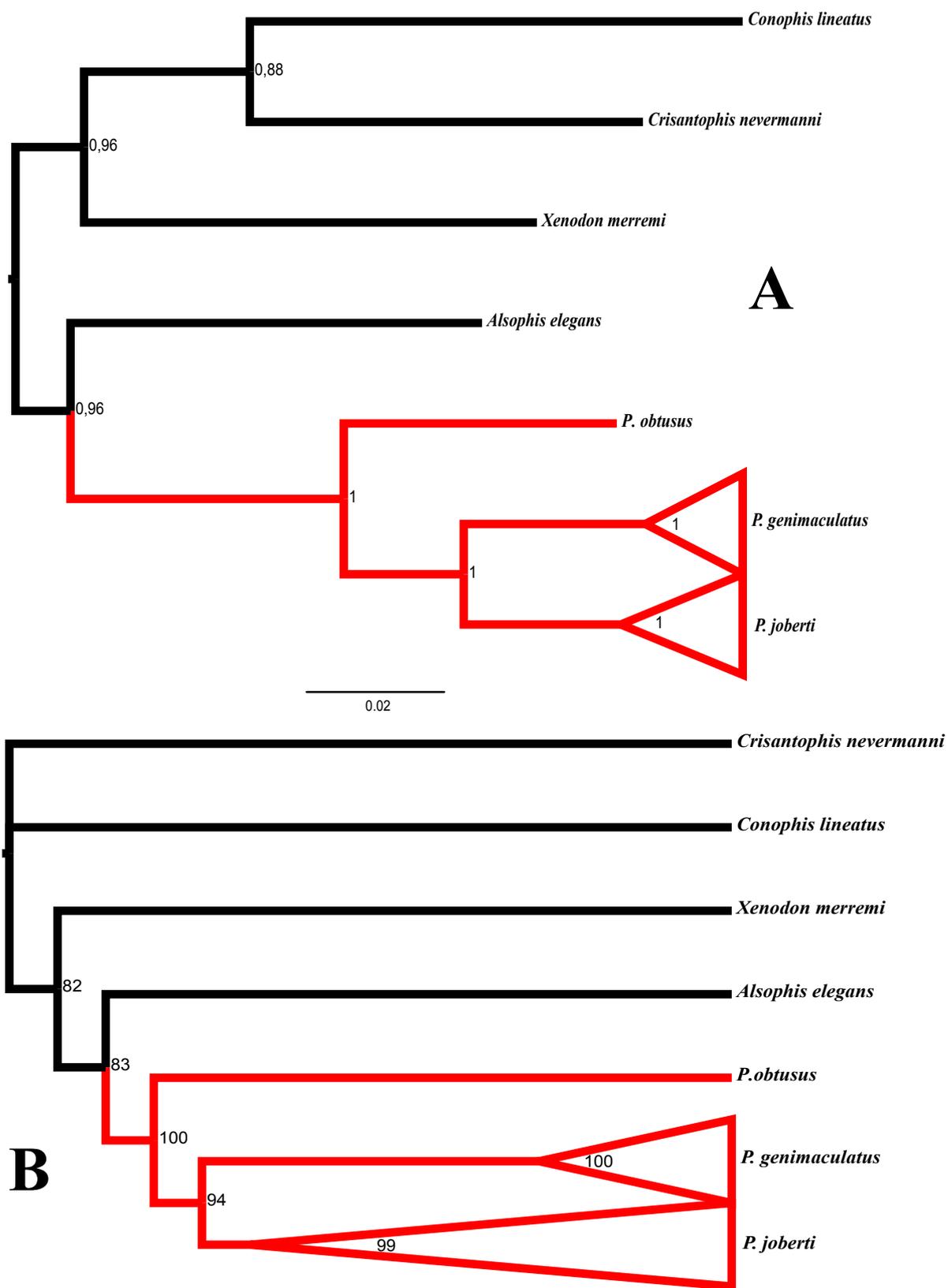


Figura 07. Filogenia das espécies de *Psomophis* com os de 12s e 16S, (A) árvore obtida por inferência bayesiana, com a probabilidade posterior do suporte dos ramos. (B) árvore obtida com o método de verossimilhança, suporte dos ramos utilizando o método de bootstrap. Grupos com pouco baixo suporte de ramos foram concatenados em somente um grupo.

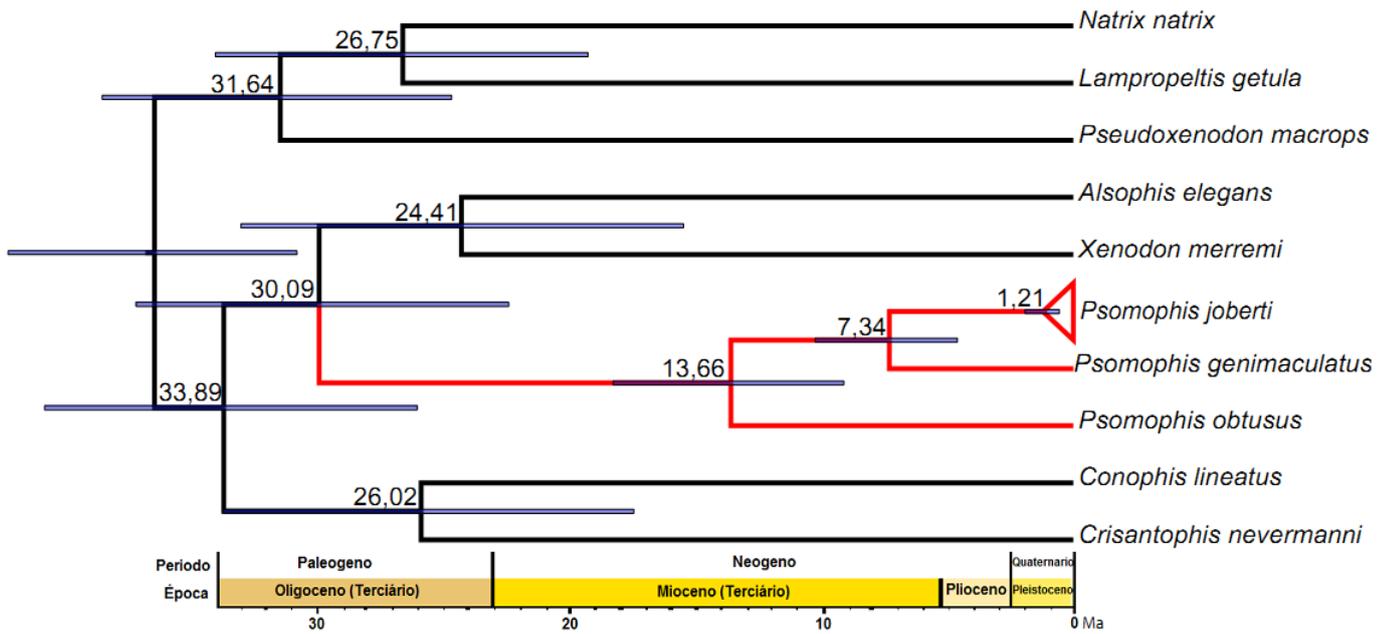


Figura 08. Cladograma com o tempo de divergência de Colubridae em relação à *Psomophis*, onde as áreas destacadas são as diversificações de: A - *Psomophis* em Dipsadidae; B – *P. obtusus* e outras espécies do gênero; C – *P. genimaculatus* e *P. joberti*; D – entre populações de *P. joberti*.

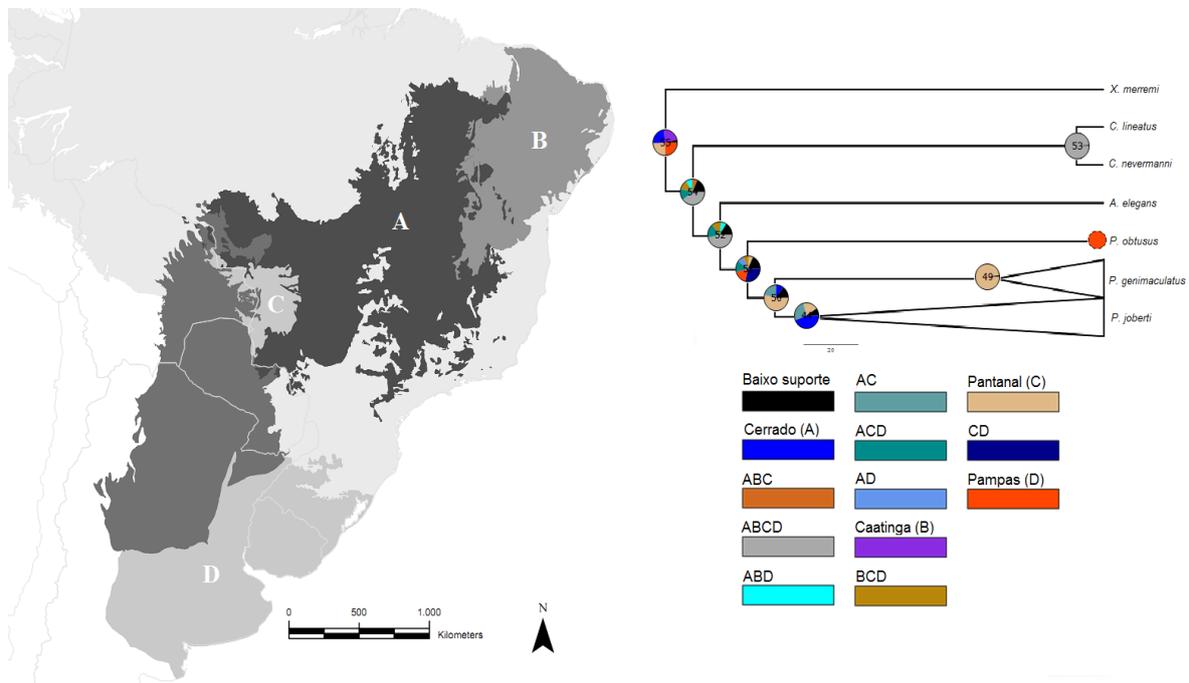


Figura 09 – Mapa e cladograma demonstrando a distribuição dos nós ancestrais das espécies de *Psomophis*, onde cada gráfico representa a probabilidade de chances de uma área ser a área ancestral de cada nó.

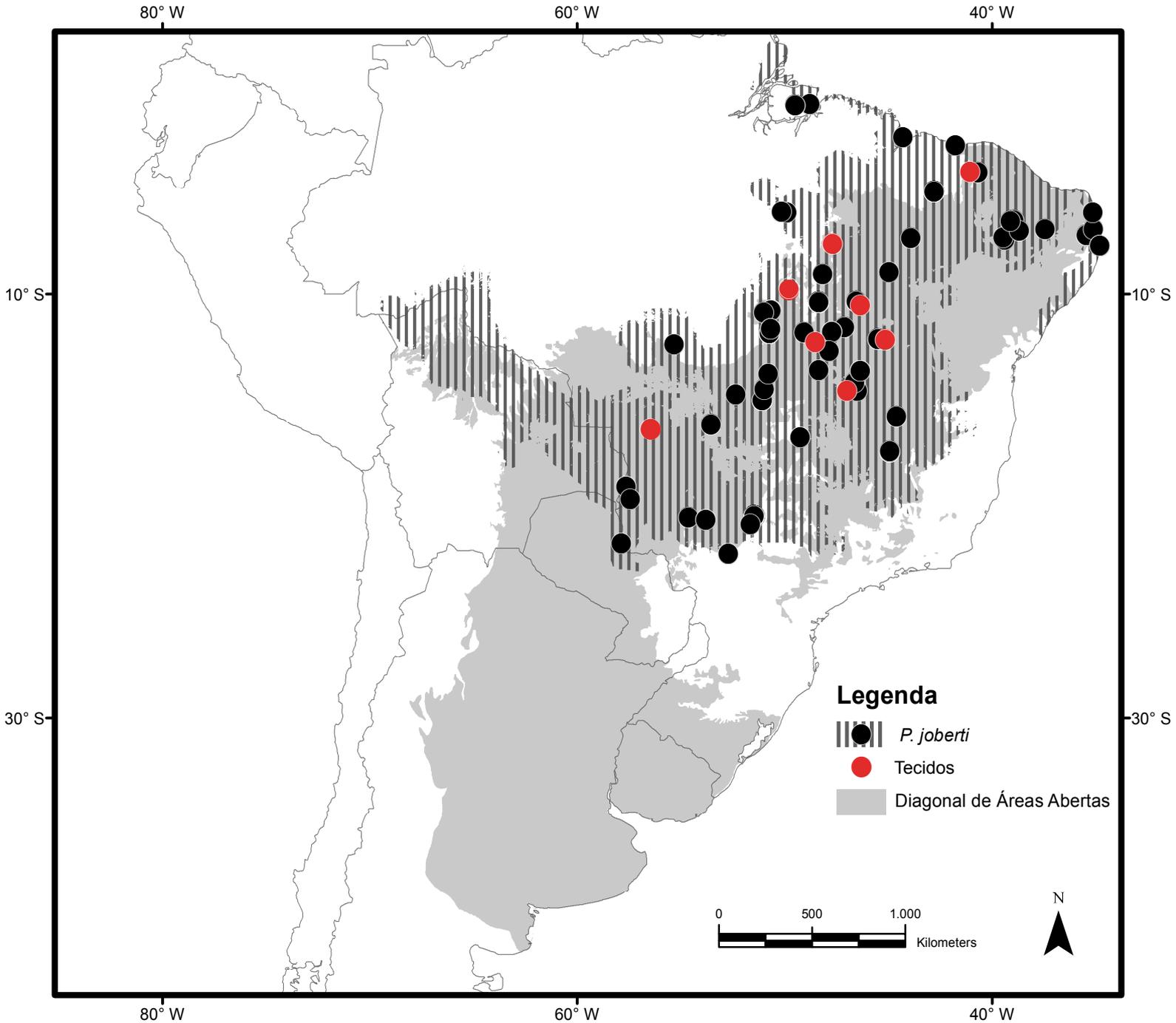


Figura 10. Área de distribuição potencial da espécie e dos tecidos de *P. joberti*, analisados no presente trabalho.

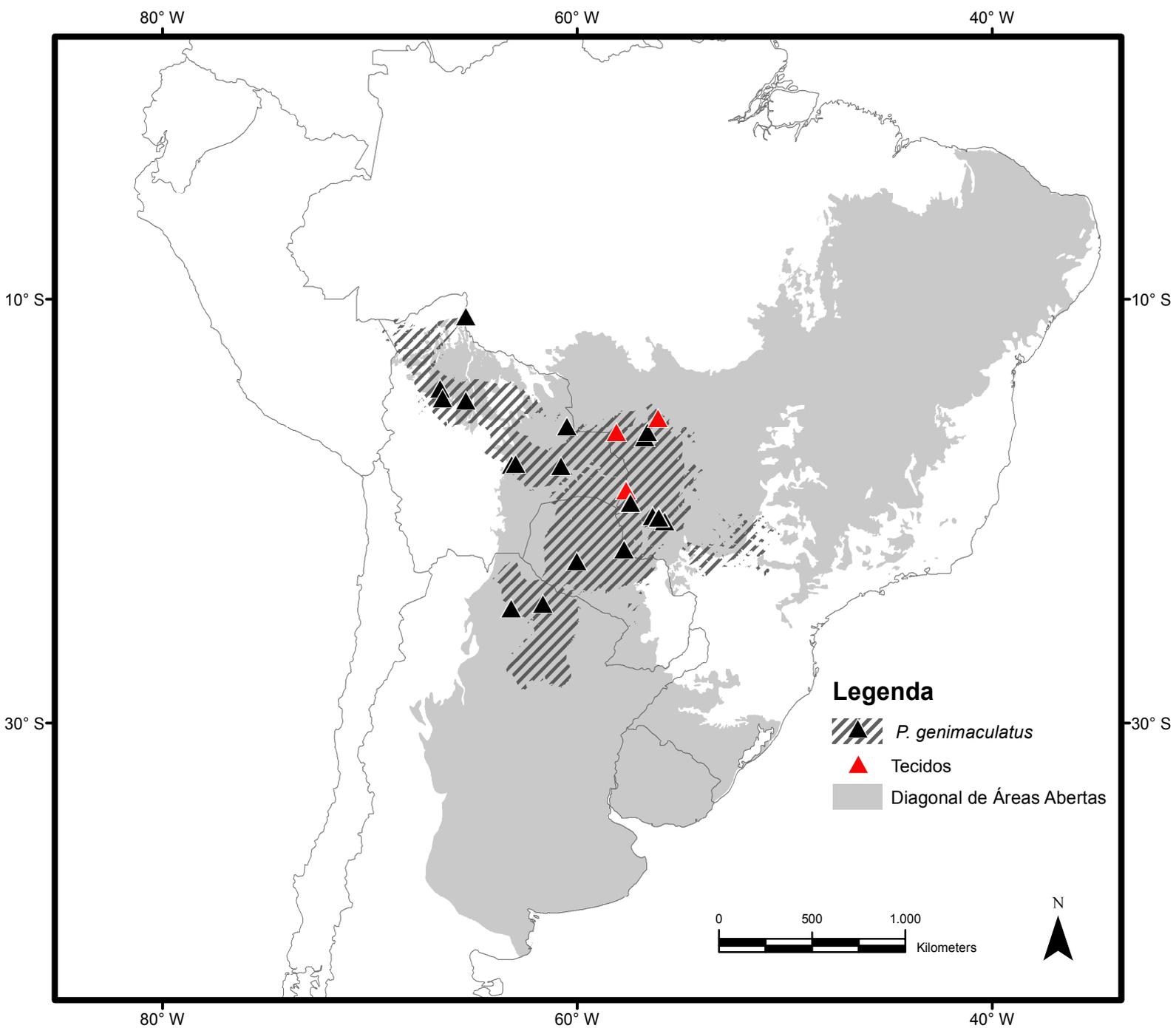


Figura 11. Área de distribuição potencial da espécie e dos tecidos de *P. genimaculatus*, analisados no presente trabalho.

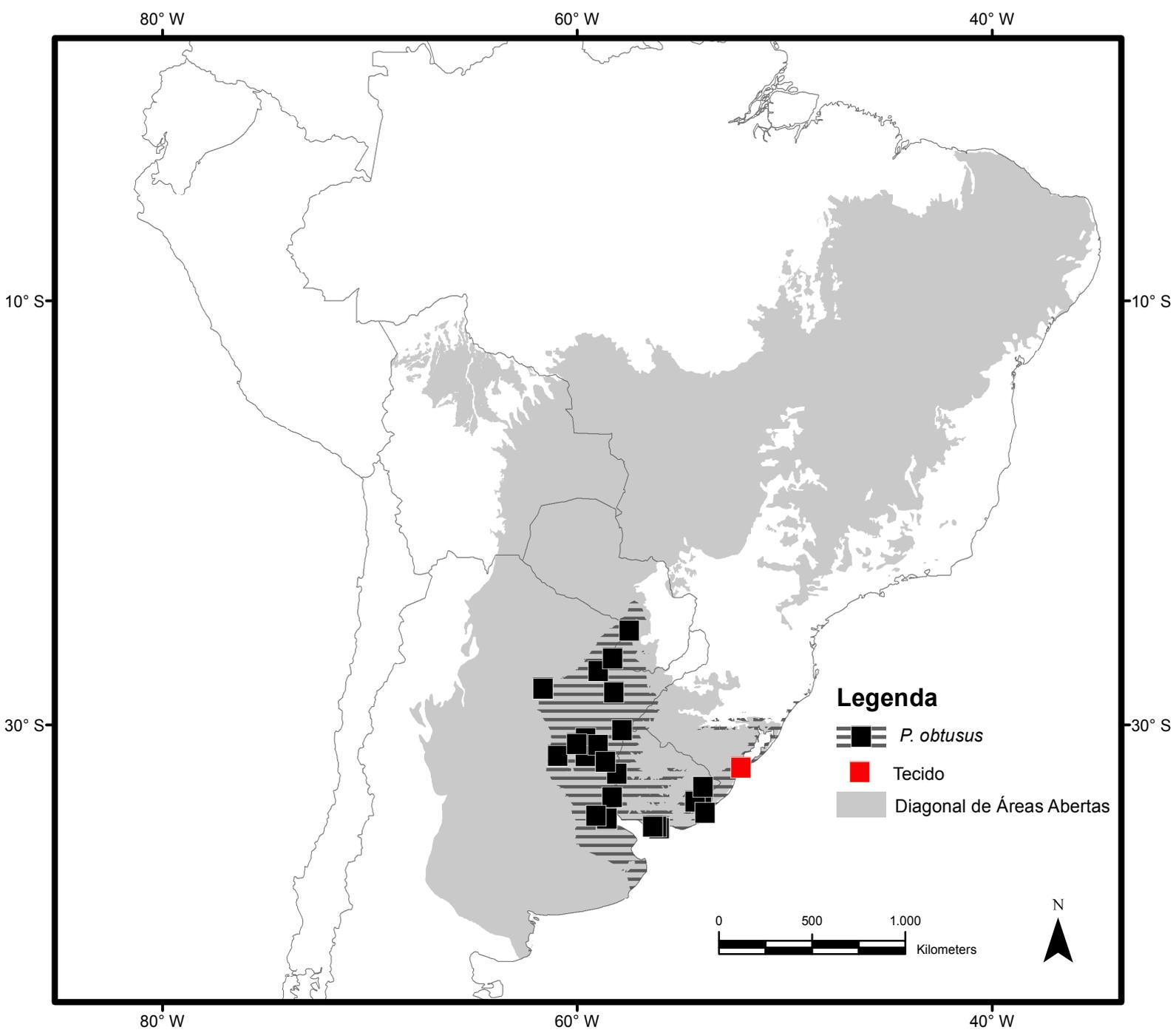


Figura 12. Área de distribuição potencial da espécie e do tecido de *P. obtusus*, analisados no presente trabalho.

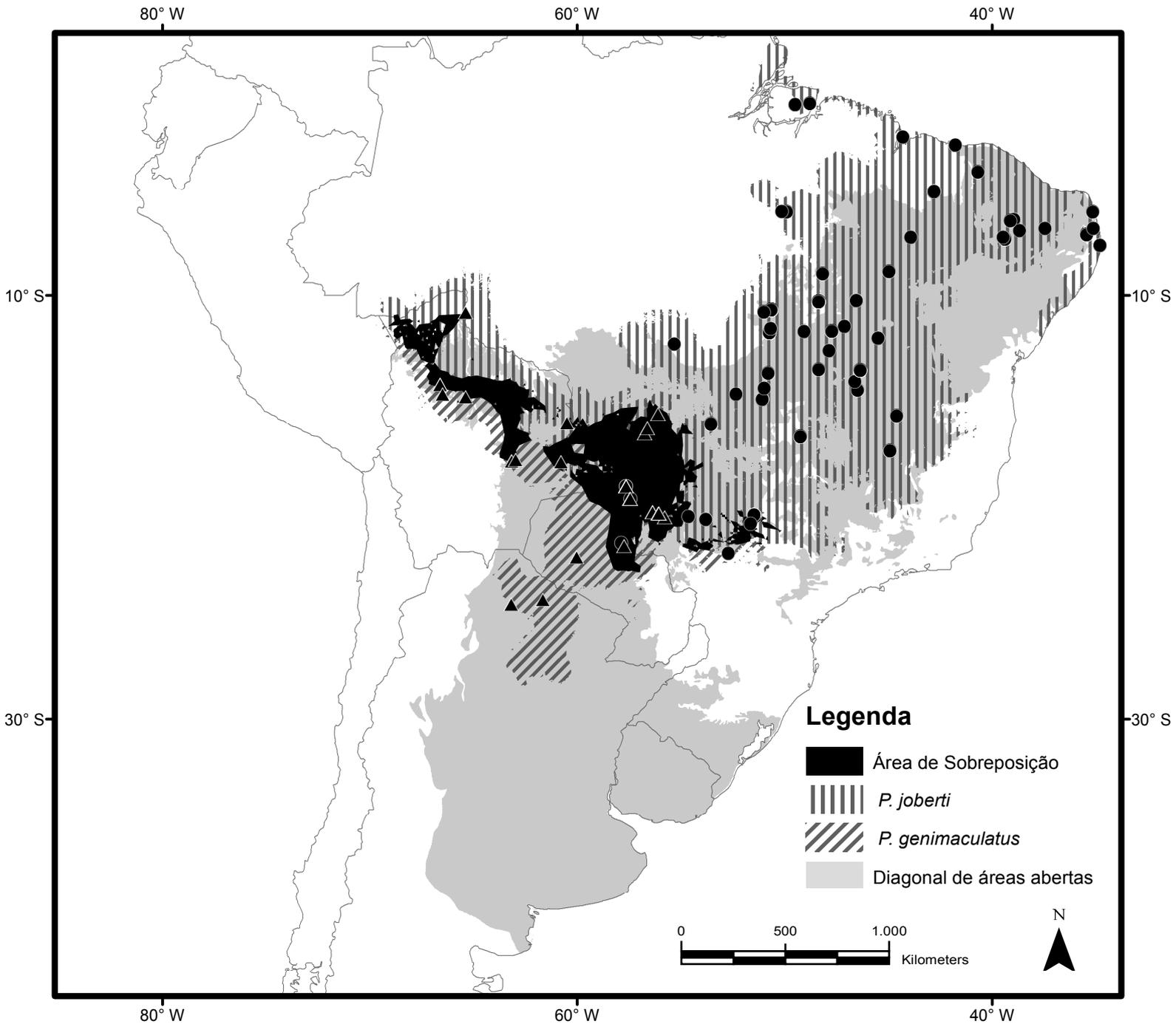


Figura 13. Representação da área de sobreposição da distribuição potencial de *P. joberti* e *P. genimaculatus*, onde a mancha escura que cobre todo o pantanal é a área potencial de simpatria das duas espécies.

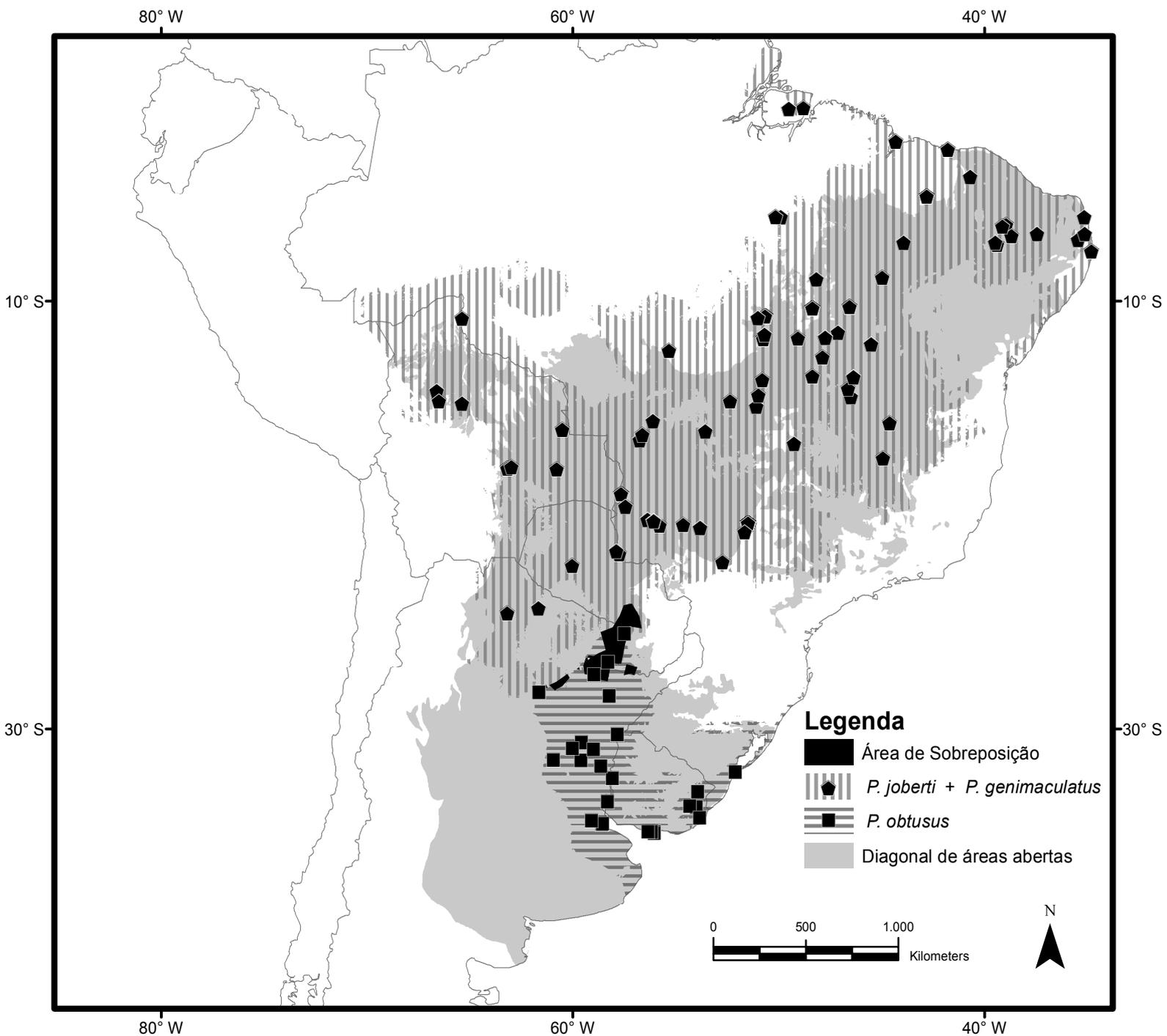


Figura 14. Representação da área de sobreposição da distribuição potencial de *P. obtusus* e o grupo formado por *P. joberti* mais *P. genimaculatus*, onde a mancha escura é a área potencial de simpatria dos dois grupos.

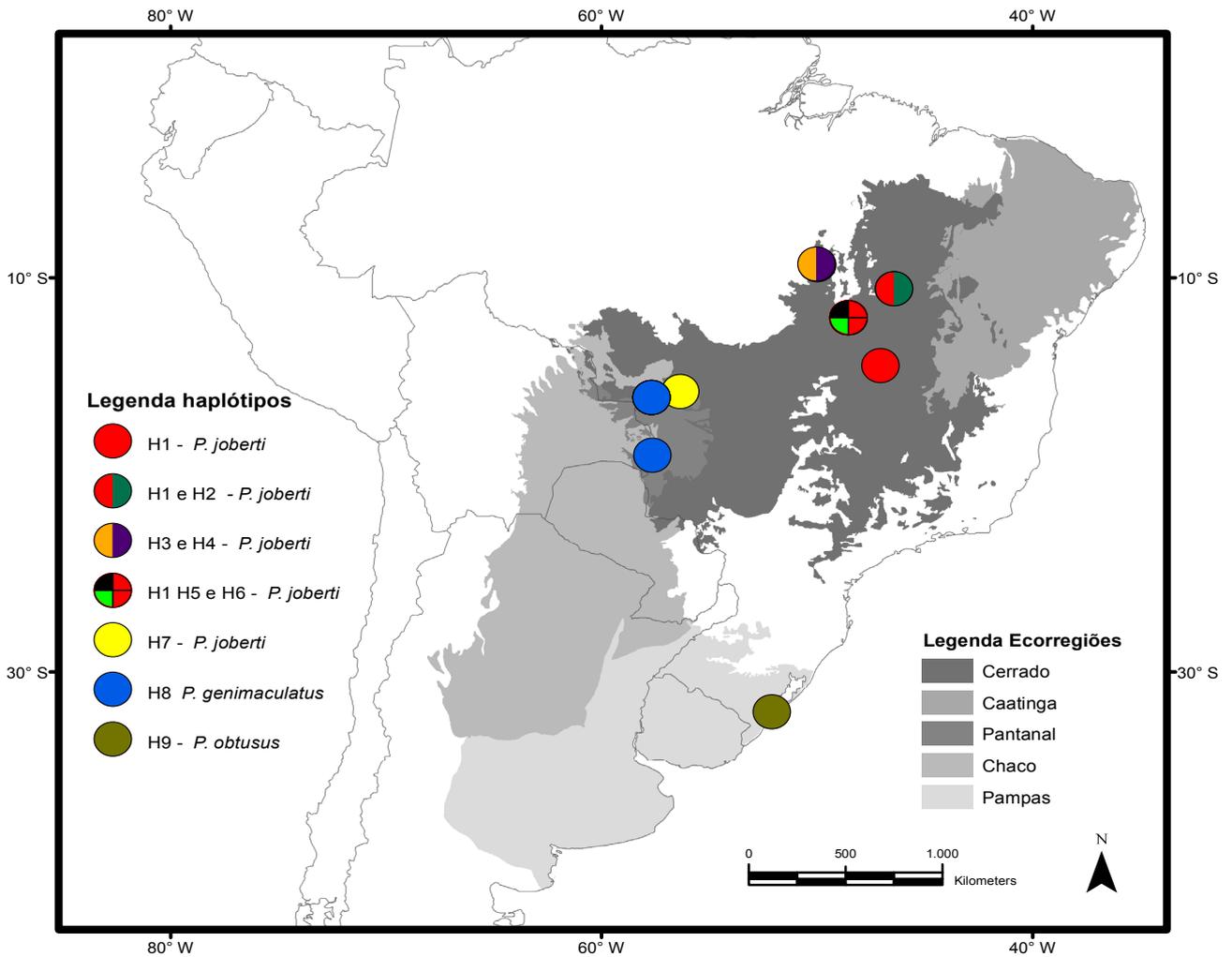


Figura 15. Mapa representando a distribuição dos haplótipos de *Psomophis* em relação as ecorregiões da diagonal de áreas abertas, sendo o possível haplótipo ancestral caracterizado pela cor vermelha.

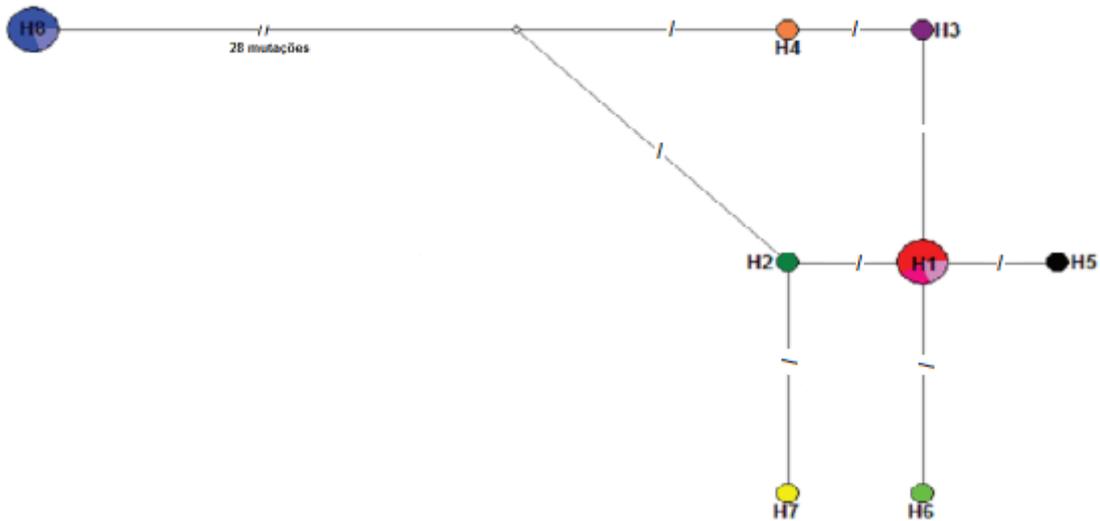


Figura 16. Rede de haplótipos do grupo *P. joberti* + *P. genimaculatus*, onde o haplótipo azul é o único representante de *P. genimaculatus* e o haplótipo em vermelho e rosa seria o haplótipo ancestral do grupo da espécie *P. joberti*, as barras representam uma mutação.

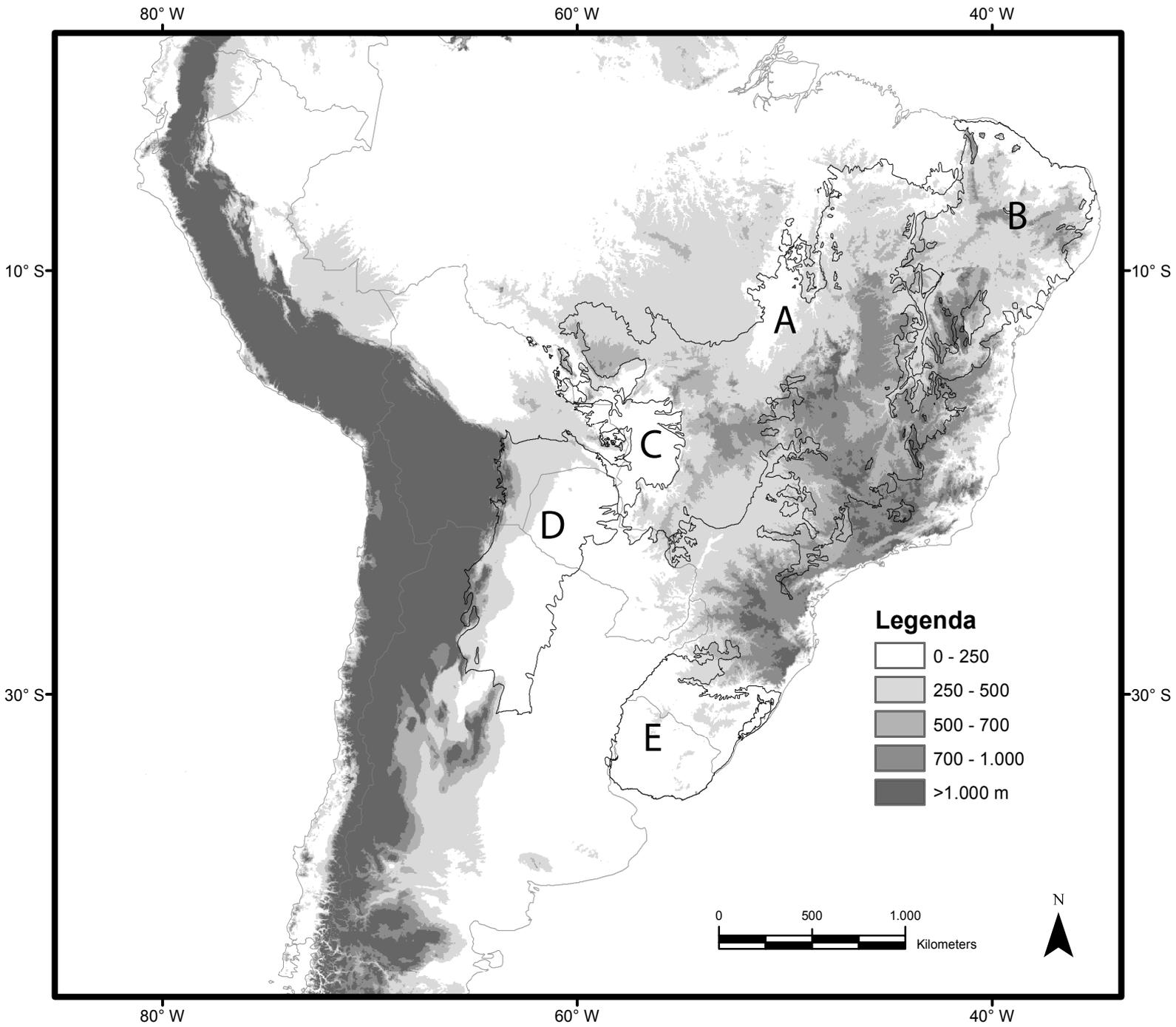


Figura 17: Mapa da altitude da América do Sul e a Diagonal de áreas abertas neotropicais e suas respectivas formações vegetacionais: A – Cerrado, B – Caatinga, C - Pantanal, D – Chaco e E - Pampas.