

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

Estrutura genética e a diversidade críptica de *Cnemidophorus*  
(Squamata, Teiidae) no Cerrado.

Flávia Renata Soares

**Orientador:** Dra. Lilian Gimenes Giugliano

**Brasília – DF**

**2015**

Flávia Renata Soares

Estrutura genética e a diversidade críptica de *Cnemidophorus*  
(Squamata, Teiidae) no Cerrado.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade de Brasília, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Orientadora:

Dra. Lilian Gimenes Giugliano

Brasília – DF

2015

Flávia Renata Soares

Estrutura genética e a diversidade críptica de *Cnemidophorus*  
(Squamata, Teiidae) no Cerrado.

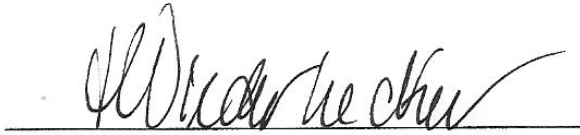
Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade de Brasília, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Comissão Julgadora:



---

Dr. Renato Caparroz  
Universidade de Brasília




---

Dra. Helga C. Wiederhecker  
Membro Externo

---

Dra. Rosana Tidon  
Universidade de Brasília - Suplente



---

Universidade de Brasília – Presidente  
Dra. Lilian Gimenes Giugliano

Serendipity: The occurrence and development of events by chance in a happy or  
beneficial way.

Oxford Dictionary

## AGRADECIMENTOS

Uma junção de acontecimentos inesperados me trouxe a Brasília. Agradeço primeiramente as pessoas que prontamente me acomodaram e deram carinho Vininha, Zeca, Kátia e Hugo. Obrigada aos amigos que fiz durante a graduação e mantive até hoje, em especial as lindas Carol e Camila que ainda se fazem presente. A Anninha uma amiga muito importante pra vida. Não poderia esquecer também das amigadas mais antigas de Palmas e que estive distante durante toda essa jornada, mas que amo com todo meu coração Kel e Dani. Às minhas lindinhas Giovanna e Júlia que já me dão muitas alegrias só de existirem.

Agradeço a minha orientadora Lilian Giugliano pelas muitas oportunidades oferecidas, constante confiança e apoio. Principalmente, pela primeira oferta de trabalhar em um laboratório apesar da falta de conhecimento na área. Com ela pude crescer academicamente e pessoalmente nesses quase cinco anos em que entrei para o seu grupo. Agradeço à todo o pessoal do Laboratório de Genética e Biodiversidade (GenBio). Todos aqueles que estavam no início até os que se juntaram mais recentemente ao grupo: Marcella, Fábio, Roger, Ricardo, Iara, Carlos Guarnizo, Adriana, Vitória, Túlio, Victor. Aos “grupos externos” Cássia, Amanda, Priscila, Samira, Renatinha, Rosana, Gislaine, Nina, Diogo, Patrícia, Thaiz, Niara, e aos professores Fernando e Renato.

À todo o departamento de Genética e Morfologia, que se tornou uma segunda casa e todos os que convivi, uma grande família. Ao pessoal dos Laboratórios de Evolução e Genética Humana. Um carinho especial para as meninas do laboratório da Genética Humana e ao Raphael querido. Um longo corredor com boas história para lembrar. Aos bons amigos que me acompanharam durante os dias de semana, finais de semana e feriados, principalmente aos amigos Marcos, Nina, Rosana, Gislaine, Thaiz, e Mariana.

Ao Guarino Colli pelo suporte e oportunidade de ir à expedição de campo a qual pude observar e coletar alguns espécimes para este estudo, podendo ter experiências mais do que simplesmente bancada de laboratório. E a todo o pessoal da CHUNB com quem pude ter contato e boas experiências. Ao meu casal preferido Jeh e Léo, não só pela amizade, mas também pela grande parceria. Dois biólogos que sinto grande orgulho. Espero que continuem essas pessoas maravilhosas que me fazem acreditar na felicidade.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade de Brasília. Aos funcionários das secretarias do IB pela ajuda, paciência e amizade: Dani, Nilma e Rodrigo e muitos outros. À minha querida Zara, uma pessoa maravilhosa que tenho orgulho de ter aprendido algo. Meus sinceros agradecimentos a todos que direta ou indiretamente auxiliaram neste trabalho. E minhas desculpas a quem, por qualquer motivo, eu tenha esquecido de mencionar, saiba que a importância é maior do que um pequeno esquecimento nesta hora tão atordoada.

Por último, mas não menos importante, agradeço à minha família: Meu pai Flávio, meu irmão Felipe e minha querida mãe Khon por continuar a dizer o quão inteligente sou. Todos esses seis anos longe em Brasília (e muitos anos longe) serviram para fortalecer nossa união e amor. Saibam que esta etapa da minha vida só foi possível com o apoio de vocês. E para finalizar por falar de apoio, nessa época difícil de tanto tempo longe de casa, agradeço a duas grandes amigas a quem declaro meu amor e orgulho, Thaiz Armond e Mariana Marzullo. Estas tentaram de uma forma ou de outra compartilhar suas casas e famílias.

Saibam que se sorri, foi de coração e que qualquer agradecimento que tenho é verdadeiro. Novamente agradeço a todos. Obrigada pelos momentos juntos.

# SUMÁRIO

Introdução geral .....	1
Capítulo 1. <i>Cnemidophorus ocellifer</i> : análises multilocus na delimitação de espécies do complexo no Cerrado .....	4
Introdução .....	4
Materiais e métodos .....	6
Amostragem e distribuição espacial .....	6
Análises moleculares .....	7
Análises filogenéticas e delimitação de espécies .....	8
Modelagem da distribuição atual .....	10
Resultados .....	11
Discussão .....	14
Tabelas .....	19
Legenda das figuras .....	21
Capítulo 2. Fatores históricos e geográficos na diversificação do gênero <i>Cnemidophorus</i> (Squamata, Teiidae) do Cerrado .....	25
Introdução .....	25
Materiais e métodos .....	28
Filogenia e datação molecular .....	28
Modelagem de distribuição .....	28
Efeito da altitude .....	29
Marcas de expansão populacional .....	30
Resultados .....	30
Discussão .....	32
Tabelas .....	37
Legenda das Figuras .....	39
Bibliografia .....	43
Anexo .....	51

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

2 O Cerrado cobre cerca de dois milhões de km<sup>2</sup> da porção central do Brasil, com  
3 enclaves no Amapá, Pará, Roraima e Amazonas, presente também na Bolívia e Paraguai  
4 (Ratter *et al.*, 1997; MMA, 2011). Inserido sob o clima tropical, possui um período chuvoso  
5 e outro de seca nos meses de outubro a março e abril até setembro, respectivamente (Ratter  
6 *et al.*, 1997; Klink e Machado, 2005). Embora haja discordâncias sobre a definição do  
7 Cerrado, segundo Batalha (2011), este seria um mosaico de biomas composto por campo  
8 tropical, savana e floresta estacional. No domínio, 47,84% da área estava desmatada até  
9 2008 (MMA, 2009), sendo a expansão agrícola e o desmatamento os principais fatores de  
10 ameaça à fauna devido à degradação de habitat (Machado *et al.*, 2004; Klink e Machado,  
11 2005; MMA, 2011). Caso as taxas de desmatamento continuem, é previsto que o Cerrado  
12 estará totalmente descaracterizado no ano de 2030 (Machado *et al.*, 2004). O Cerrado foi  
13 ranqueado entre os 25 hotspots terrestres mais ameaçados devido a sua riqueza de espécies,  
14 alto grau de endemismo e a crescente perda de habitat e é a única savana neotropical incluída  
15 nesta lista (Myers *et al.*, 2000; Klink e Machado, 2005).

16 A diversidade de lagartos do Cerrado foi predita inicialmente como inferior a de  
17 outros biomas brasileiros (Vitt, 1991), precocemente subestimada pela escassez de estudos e  
18 pobreza na amostragem. Estudos posteriores mostraram um aumento considerável da  
19 estimativa da fauna de lagartos, contrariando a ideia que esta seria inferior à Caatinga (Colli  
20 *et al.*, 2002). Destaca-se ainda o seu alto grau de endemismo, maior se comparado a outros  
21 grupos animais para o Cerrado (Klink e Machado, 2005; Nogueira *et al.*, 2011). A maior  
22 parte desta riqueza e endemismo está concentrada em ambientes abertos (Machado *et al.*,  
23 2008). Nogueira *et al.* (2011), em trabalho descritivo das espécies no domínio, estimaram em



24 271 o número de espécie de Squamata para o Cerrado, totalizando em 76 a diversidade de  
25 lagartos que anteriormente era estimada em 25 espécies.

26 O Cerrado e a Amazônia possuem média de riqueza de espécies de Squamata  
27 similares, e o número superior de espécies da Amazônia pode ser efeito do tamanho da sua  
28 área que chega a ser quase o dobro (Colli *et al.*, 2002). Essa alta diversidade no Cerrado, no  
29 entanto, ainda pode estar subestimada, uma vez que a cada ano aumenta o número de  
30 espécies descritas. Com base em um levantamento no Web of Science®, entre 2012 e 2014  
31 foram descritas 10 novas espécies de Squamata para o domínio (Giugliano *et al.*, 2013; Silva  
32 e Ávila-Pires, 2013; Teixeira *et al.*, 2013, 2014; Arias *et al.*, 2014a; b; Pinna *et al.*, 2014;  
33 Recoder *et al.*, 2014; Roberto *et al.*, 2014). Ainda há suspeita de que espécies conhecidas  
34 sejam na verdade compostas de várias espécies crípticas, o que aumentaria mais a riqueza do  
35 domínio (Gamble *et al.*, 2012; Giugliano *et al.*, 2013; Teixeira *et al.*, 2013; Domingos *et al.*,  
36 2014).

37 A grande diversidade de fauna e flora no Cerrado faz emergir dúvidas sobre fatores  
38 históricos que poderiam explicar a alta diversificação. Uma compilação das hipóteses  
39 biogeográficas de diversificação do Cerrado foi feita por Werneck (2011), que destaca que a  
40 estratificação horizontal (ambientes abertos e formações florestais), dinâmica da superfície  
41 geomorfológica, mudanças climáticas do Quaternário e eventos do Terciário seriam  
42 responsáveis e/ou mantenedores da diversidade da fauna. Espécies de ampla distribuição são  
43 ótimos modelos filogeográficos para avaliação destas hipóteses. Ainda, a compreensão plena  
44 da diversidade biológica depende da avaliação de múltiplos aspectos, todos em algum grau  
45 influenciados pelo conhecimento básico da delimitação das espécies. Em muitos casos, esta  
46 não é uma tarefa simples devido principalmente à similaridade morfológica (Bergmann e  
47 Russell, 2007; Prado *et al.*, 2012; Giugliano *et al.*, 2013; Kok *et al.*, 2013) e a variedade de

48 conceitos de espécie que podem levar a diferentes conclusões a respeito do número e limite  
49 das espécies (De Queiroz, 2007).

50 Análises baseada em marcadores genéticos tem se mostrado ferramentas poderosas  
51 para testar hipóteses filogeográficas (Beheregaray e Caccone, 2007; Bergmann e Russell,  
52 2007; Yang e Rannala, 2010; Wenner *et al.*, 2012) pela avaliação de fatores que podem ter  
53 promovido o padrão de diversificação genética com base na estruturação genética  
54 intraespecífica e relações genéticas entre as linhagens (Fouquet *et al.*, 2012; Elmer *et al.*,  
55 2013). A diversidade dos répteis Squamata (ecologia, forma do corpo e outras características  
56 Pianka e Vitt, 2003), baixa locomoção e susceptibilidade a mudanças ambientais faz com  
57 estes sejam comumente utilizados como modelos em diversos estudos evolutivos. Diversos  
58 autores sugerem que o lagarto *Cnemidophorus ocellifer*, com ampla distribuição no Cerrado,  
59 seria, na verdade, composto por várias espécies crípticas (Harvey *et al.*, 2012; Silva e Ávila-  
60 Pires, 2013; Arias *et al.*, 2014a). Desta forma *C. ocellifer* também é um ótimo modelo na  
61 avaliação das hipóteses de diversificação existentes para o domínio. Neste contexto, este  
62 trabalho trata da diversificação genética de *Cnemidophorus ocellifer* no Cerrado e pretende  
63 (1) avaliar a atual delimitação de espécies do gênero no domínio (capítulo 1) e (2) testar as  
64 principais hipóteses propostas na literatura como fatores importantes na diversificação da  
65 herpetofauna do Cerrado para as linhagens de *Cnemidophorus* (capítulo 2).

66

68    CAPÍTULO 1. *CNEMIDOPHORUS OCELLIFER*: ANÁLISES MULTILOCUS NA  
69    DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES DO COMPLEXO NO CERRADO.

70    INTRODUÇÃO

71            O gênero *Cnemidophorus* Wagler, 1830 é subdividido em quatro complexos de espécies:  
72    *lemniscatus*, *lacertoides*, *longicauda* e *ocellifer* (Avila-Pires, 1995; Dias *et al.*, 2002; Arias *et*  
73    *al.*, 2011a; b) que se distribuem ao longo da diagonal de formações abertas da América do Sul,  
74    atravessando o Cerrado desde a Caatinga até o Chaco e em formações abertas da Amazônia. Em  
75    recente revisão taxonômica de Teiidae, Harvey *et al.* (2012) elevaram ao status de gênero os  
76    quatro complexos previamente conhecidos de *Cnemidophorus*, sendo *Ameivula* a nomenclatura  
77    adotada para as espécies do complexo *ocellifer*. Devido a falta de suporte filogenético, vários  
78    trabalhos não tem adotado esta nova taxonomia (Cabrera, 2012; Giugliano *et al.*, 2013; Pyron *et*  
79    *al.*, 2013; Silva e Ávila-Pires, 2013). E ainda, uma vez que a filogenia do gênero  
80    *Cnemidophorus* ainda é complexa, diversos trabalhos seguem debatendo seu monofiletismo  
81    (Reeder *et al.*, 2002; Giugliano *et al.*, 2006, 2007; Pyron *et al.*, 2013). Assim sendo, nesta  
82    dissertação continuaremos referindo ao complexo *ocellifer* dentro de *Cnemidophorus*, embora  
83    reconheçamos a necessidade de mudanças taxonômicas dentro do gênero.

84            O complexo *ocellifer* é formado atualmente por 14 espécies, definido pela presença  
85    de grânulos nos semicírculos supraorbitais, baixo número de poros femorais (menos de 40),  
86    ausência de esporas anais e ausência de “orelhas operculares” (Arias *et al.*, 2011b). Este  
87    pode ser subdividido em dois subgrupos (Arias *et al.*, 2011a; b): *C. ocellifer* composto por  
88    *C. ocellifer* (Spix, 1825), *C. mumbuca* (Colli, Caldwell, Costa, Gainsbury, Garda, Mesquita,  
89    Filho, Soares, Silva, Valdujo, Vieira, Vitt, Werneck, Wiederhecker and Zatz, 2003), *C.*

90 *jalapensis* (Colli, Giugliano, Mesquita and França, 2009), *C. confusionibus* (Arias, Carvalho,  
91 Rodrigues and Zaher, 2011), *C. nigrigula* (Arias, Carvalho, Rodrigues and Zaher, 2011), *C.*  
92 *abalosi* (Cabrera, 2012), *C. pyrrhogularis* (Basto da Silva e Ávila-Pires, 2013). *C. cipoensis*  
93 (Arias *et al.*, 2014a) e *C. xacriaba* (Arias *et al.*, 2014b). O outro subgrupo, *littoralis*,  
94 composto por *C. littoralis* (Rocha, Araújo, Vrcibradic and Costa, 2000), *C. abaetensis* (Dias,  
95 Rocha and Vrcibradic, 2002), *C. venetacaudus* (Arias, Carvalho, Rodrigues and Zaher,  
96 2011) e *C. cyanurus* (Arias, Carvalho, Rodrigues and Zaher, 2011). *Cnemidophorus nativo*  
97 (Rocha, Bergallo and Peccinini-Seale, 1997), é provavelmente um híbrido entre espécies do  
98 gênero. *Cnemidophorus abaetensis*, *C. littoralis* e *C. nativo* foram consideradas como  
99 espécies em perigo de acordo com a Lista de Espécies ameaçadas do ICMBio publicado no  
100 Diário Oficial da União na portaria nº 444 de 17 de Dezembro de 2014.

101       Excetuando *C. ocellifer* e *C. nativo*, as doze espécies pertencentes ao complexo  
102 foram descritas a partir de 2000, o que insinua um conhecimento taxonômico incompleto do  
103 gênero. Devido a dificuldade de identificação correta das espécies com apenas caracteres  
104 morfológicos e a existência de poucos estudos moleculares, possivelmente muitos táxons  
105 não descritos encontram-se escondidos dentro *C. ocellifer* (Silva e Ávila-Pires 2013). Dados  
106 moleculares, ecológicos e comportamentais podem auxiliar na descrição de espécies uma  
107 vez que a especiação pode ocorrer sem que sejam vistas mudanças morfológicas (e.g. Rowe  
108 *et al.* 2011, Stark *et al.* 2011). Métodos que fazem inferências com base na coalescência dos  
109 genes podem ser incorporados na identificação de linhagens que são evolutivamente distintas  
110 mesmo antes destas se diferenciarem morfológicamente ou apresentarem isolamento  
111 reprodutivo (Ence e Carstens, 2010; Yang e Rannala 2010; Fujita *et al.* 2012 Camargo *et al.*  
112 2012).

113       A existência de diversidade genética escondida em espécies crípticas origina várias  
114 perguntas sobre possíveis vieses regionais e taxonômicos nas estimativas de diversidade,

115 dificultando a criação de estratégias de conservação das espécies (Bickford *et al.* 2007;  
116 Wiens 2007). Desta forma, este capítulo se dedica a verificar a concordância entre as  
117 espécies descritas atualmente no Cerrado e o padrão da diversidade genética de  
118 *Cnemidophorus ocellifer*, *C. mumbuca* e *C. jalapensis*. Ao contrário de *Cnemidophorus*  
119 *ocellifer* que ocorre por todo o Cerrado, *C. mumbuca* e *C. jalapensis* são descritos como  
120 endêmicos da região do Jalapão, no Tocantins. Na análise da diversidade genética entre e  
121 dentro das populações das localidades no Cerrado temos como objetivo principal avaliar a  
122 delimitação atual das espécies com base em metodologias bayesianas (Corander *et al.*, 2008;  
123 Yang e Rannala, 2010) e na identidade de nicho (Phillips *et al.*, 2006).

124

## 125 MATERIAIS E MÉTODOS

### 126 AMOSTRAGEM E DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL

127 As amostras de tecido dos indivíduos do complexo *ocellifer* utilizados nesse estudo  
128 foram obtidas na Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília – CHUNB. Priorizando  
129 indivíduos coletados em áreas de Cerrado, foram escolhidos um máximo de 20 espécimes  
130 por localidade de coleta, em expedições realizadas até o primeiro semestre de 2013 (detalhes  
131 nos anexos). Um total de 358 amostras de tecidos animais do gênero *Cnemidophorus* foram  
132 disponibilizadas para extração e realização das análises genéticas. Para evitar possíveis erros  
133 de identificação só foram considerados como *Cnemidophorus jalapensis* e *C. mumbuca* os  
134 indivíduos parátipos destas espécies. Dados sobre as coordenadas geográficas foram obtidas  
135 diretamente da coleção e quando esta informação não estava disponível foram utilizadas as  
136 coordenadas dos centróides dos municípios correspondentes as localidades. Nas análises  
137 filogenéticas a espécie irmã *Cnemidophorus littoralis* foi utilizado como grupo externo. Os

138 mapas de distribuição foram confeccionados apenas com os indivíduos utilizados nesse  
139 trabalho.

140

141 ANÁLISES MOLECULARES.

142 Para as análises moleculares o DNA foi extraído de músculo, fígado ou cauda  
143 preservados em etanol absoluto, utilizando-se o kit DneasyTMTissue (QIAGEN) ou  
144 PureLink™ Genomic MiniKit (Invitrogen), segundo recomendações dos fabricantes. Todas  
145 as extrações foram identificadas com o código da coleção e estão armazenadas em tubos de  
146 1,5 ml no Laboratório de Genética e Biodiversidade – UnB (LabGenBio). As extrações  
147 foram visualizadas em gel de agarose a 1% com brometo de etídio. As quantificações foram  
148 realizadas utilizando o programa KODAK MI SE com o marcador de peso molecular High  
149 Mass (Invitrogen). As regiões 12S ( $\pm$  400 pb) e 16S ( $\pm$  500 pb) do DNA mitocondrial foram  
150 amplificadas pela reação em cadeia de polimerase (PCR) utilizando os iniciadores 12Sa,  
151 12Sb, 16SaR e 16Sd de acordo com as condições de reação descritas por Reeder (1995). Os  
152 genes nucleares NKTR (Townsend *et al.*, 2011) e RP40 (Friesen *et al.* 1999 modificado por  
153 Leavitt) foram amplificados em uma subamostragem em que pelo menos um indivíduo por  
154 localidade e um indivíduo de cada haplótipo mitocondrial foi selecionado. Mais detalhes  
155 sobre os genes utilizados estão detalhados na Tabela 2.

156 As reações de PCR também foram avaliadas por eletroforese em gel de agarose a  
157 1,2%. Os produtos da PCR foram purificados pelas enzimas Exonuclease e Shimp Alcaline  
158 Phosphatase antes do sequenciamento. As reações de sequenciamento das fitas senso e anti-  
159 senso foram realizadas via prestação de serviço especializado realizado pela empresa  
160 MacroGen® (Seoul, Korea). A montagem e edição das sequências foi realizada utilizando o  
161 programa Geneious® 6.1. (Kearse *et al.*, 2012). As sequências editadas foram alinhadas com  
162 o programa MAFFT 6 (Katoh e Toh, 2008). Na edição das sequências nucleares possíveis

163 sítios hererozigóticos foram identificados pela presença de dois picos referentes a  
164 nucleotídeos diferentes na mesma posição nas duas fitas. Estas posições foram substituídas  
165 por códigos de ambiguidade.

166

## 167 ANÁLISES FILOGENÉTICAS E DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES

168 Análises estatísticas de diversidade molecular e estruturação genética dentro e entre  
169 localidades foram inferidas no programa DNAsp 5 (Librado e Rozas, 2009) para cada gene.  
170 Os haplótipos foram gerados pelo mesmo programa e os sítios com gaps/missing não foram  
171 considerados. A relação entre os haplótipos para os genes mitocondriais concatenados e  
172 nucleares das espécies delimitadas foi obtida pelo programa NETWORK 4.6.1.1. (Fluxus  
173 Technology, 2012) pelo método de Median-Joining (Bandelt *et al.*, 1999). Um pós-  
174 processamento (MP calculation) foi utilizado para simplificar as relações na rede visando  
175 diminuir “median vectors” desnecessários. Este passo é sugerido pelos autores após o  
176 cálculo das redes.

177

178 Estimamos o modelo de substituição nucleotídica mais adequado para cada gene pelo  
179 programa jModelTest (Posada, 2008) utilizando o critério de AIC. Uma árvore filogenética  
180 bayesiana dos haplótipos concatenada para os genes mitocondriais, uma para cada gene  
181 nuclear e por fim uma árvore concatenada com todos os genes foi elaborada no programa  
182 MrBayes (Ronquist e Huelsenbeck, 2003) com 10 milhões de gerações, amostrando a cada  
183 1000 e com um corte de 25% (*burn-in period*). Este programa de inferência Bayesiana  
184 utiliza a cadeia Markov de Monte Carlo (MCMC) na estimativa da distribuição posterior dos  
185 parâmetros do modelo. Os valores dos parâmetros das cadeias geradas pelo MrBayes foram  
186 analisados no programa TRACER 1.6 (Rambaut *et al.*, 2014) para verificar se o valor de

187 tamanho efetivo da amostra (Effective Sample Size – ESS) era adequado (>200) garantindo  
188 uma boa mistura da MCMC nas análises bayesianas.

189 As sequências concatenadas dos haplótipos foram utilizadas na análise bayesiana de  
190 delimitação de grupos pelo programa BAPS 6.0 (Corander *et al.*, 2008), utilizando dados  
191 moleculares e informações geográficas para estimar o número mais adequado de grupos.  
192 Uma árvore da espécie foi criada no programa \*Beast utilizando os dados multilocus com o  
193 modelo de especiação de Yule com 500 milhões de gerações e amostrando a cada 10 mil  
194 árvores. Assumimos os grupos delimitados pelo programa BAPS como espécies a serem  
195 validadas. As árvores *consensu* foram visualizadas no programa DensiTree que faz uma  
196 sobreposição de todas as árvores geradas após o período de burn-in. Ramos coincidentes se  
197 mostram mais fortemente coloridos representando visualmente clados bem suportados.

198 Para a delimitação de espécies com base na Teoria Coalescente e inferência  
199 Bayesiana, utilizamos o programa BP&P (Yang e Rannala, 2010) no qual testamos cenários  
200 de especiação distintos usando diferentes combinações de parâmetros de tamanho  
201 populacional ( $\theta$ ) e tempo de divergência ( $\tau_0$ ). Foi utilizada a árvore da espécie gerada no  
202 \*Beast uma vez que o programa precisa de uma árvore guia dada pelo usuário para reduzir o  
203 espaço de filogenias e delimitação das espécies que este precisaria integrar durante a análise.  
204 O BP&P iniciou as análises considerando probabilidade inicial igual (0,3333) para os três  
205 modelos de delimitação de espécies possíveis de acordo com nossa árvore guia. Os modelos  
206 possíveis incluem um mais conservador em que todos os clusters formariam uma espécie  
207 (00), os dois clusters irmãos sendo considerados uma mesma espécie (10) e cada cluster  
208 sendo uma espécie diferente (11). Cada um dos seis esquemas (Tabela 2) foi iniciado no  
209 mínimo três vezes para garantir que a era possível misturar corretamente entre as cadeias.  
210 Consideramos três diferentes combinações de priors: população ancestral grande e  
211 divergência profunda entre espécies, população ancestral pequena e divergência recente, e



212 população ancestral grande e divergência recente. Inicialmente, o programa foi ativado  
213 algumas vezes até que os parâmetros de ajustes finos (“finetunes”) adequados fossem  
214 obtidos (dentro do intervalo entre 0,15 e 0,7), segundo descrito por Yang e Rannala, 2014.  
215 Após ajustados os padrões, o programa foi executado no mínimo três vezes para cada  
216 esquema, variando entre os algoritmos 0 e 1 para confirmar a consistência entre as rodadas.  
217 O quadro demonstrativo dos esquemas testados está detalhado na Tabela 3.

218

## 219 MODELAGEM DA DISTRIBUIÇÃO ATUAL

220 Foram criados mapas de distribuição potencial para as duas espécie delimitadas pelas  
221 análises Bayesianas utilizando o algoritmo de máxima entropia MAXENT (Phillips *et al.*,  
222 2006). Os modelos foram criados seguindo os mesmo padrões utilizados por Santos et al.  
223 (2014) em trabalho semelhante realizado no Cerrado, para permitir comparações futuras.  
224 Utilizamos, além da altitude, nove variáveis ambientais: bio3 (Isotermalidade), bio4  
225 (sazonalidade da temperatura), bio7(amplitude térmica anual), bio10(temperatura média do  
226 trimestre mais quente), bio11 (temperatura média do trimestre mais frio), bio14 (precipitação  
227 no mês mais seco), bio15 (sazonalidade da precipitação), bio16 (precipitação do trimestre  
228 mais chuvoso), bio17 (precipitação do trimestre mais seco), retiradas do WorldClim  
229 (<http://www.worldclim.org>). Utilizamos apenas localidades contínuas do Cerrado para evitar  
230 a influência de *outliers*, considerando o limite definido pelo Instituto Brasileiro de Geografia  
231 e Estatística em 2004. O desempenho dos modelos foi analisado segundo a área sob a curva  
232 (AUC), medida de acurácia do modelo (Fielding e Bell, 1997; Phillips *et al.*, 2006).  
233 Utilizamos os modelos de distribuição potencial das duas espécies para testar a similaridade  
234 de nicho entre elas com análises de similaridade de nicho e similaridade background  
235 (Warren *et al.*, 2008) no software R (R Development Core Team, 2010) com o pacote  
236 phyloclim (Heibl e Calenge, 2013). A existência de uma barreira geográfica entre as espécie

237 foi testada no software ENMTools (Warren *et al.*, 2010) utilizando como parâmetro uma  
238 barreira biogeográfica em forma de *Blob* (Glor e Warren, 2011).

239

## 240 RESULTADOS

241 O levantamento amostral do complexo *ocellifer* resultou em 280 indivíduos das  
242 espécies de *C. ocellifer*, *C. jalapensis* e *C. mumbuca*. O DNA dos tecidos foi extraído de 37  
243 localidades amostradas (Figura1): Barreiras, Cocos, Conde, Jaborandi, Ibotirama, Muquém  
244 de São Francisco, Salvador e Santa Maria da Vitória (BA); Jijoca de Jericoacoara (CE);  
245 Brasília (DF); Alto Paraíso de Goiás, Alvorada do Norte, Colinas do Sul, Cristalina, Flores  
246 de Goiás, Minaçu e Pirenópolis (GO); Carolina (MA); Barra do Garças, Nova Senhora do  
247 Livramento, Nova Xavantina, Novo Santo Antonio, Querência, Ribeirão Cascalheira (MT);  
248 Arinos, Buritizeiro, Manga e Paracatu (MG); Mamanguape (PB); Caseara, Colinas do  
249 Tocantins, Mateiros, Natividade, Palmas, Paranã, Peixe e Ponte Alta do Tocantins (TO).

250 Para os genes mitocondriais 12S e 16S, um total de 264 e 240 amostras,  
251 respectivamente, resultaram em sequências de boa qualidade. Para os genes nucleares RP40  
252 e NKTR, foram 55 e 64 sequências, respectivamente. Oito sequências apresentaram *indels*  
253 após alinhamento múltiplo para o fragmento nuclear RP40. Foram encontrados um total de  
254 56 e 85 haplótipos para as regiões 12S e 16S, respectivamente. A obtenção dos haplótipos  
255 nucleares foi feita com as sequências concatenadas, gerando 60 haplótipos. Para análises  
256 conjuntas de todos os genes um total de 66 sequências foram construídas. Alguns indivíduos  
257 não puderam ser sequenciados para todos os genes, assim a utilização final dos haplótipos  
258 seguiu o critério de termos fragmentos de pelo menos três genes. Dados de *missing* foram  
259 incluídos quando não havia sequência referente a algum gene. Mais detalhes sobre os  
260 haplótipos encontram-se no anexo. As análises estatísticas de diversidade resultaram em uma

261 diversidade nucleotídica total de 0,034 e 0,024 para os genes 12S e 16S, respectivamente,  
262 bem como uma diversidade haplotípica de 0,967 (12S) e 0,978 (16S). A diversidade  
263 nucleotídica foi maior para as populações de Brasília e Peixe e menor para as populações de  
264 Carolina e Novo Santo Antônio. O nível de estruturação das populações calculado foi  
265 semelhante com  $F_{ST}$  aproximadamente de 0,851 para o segmento 12S e 0,873 para o 16S. O  
266 modelo de substituição nucleotídica mais adequado para cada gene foi GTR+I+G para as  
267 sequencias mitocondriais, HKY+G para o íntron RP40 e TIM2+I para o éxon NKTR. Esses  
268 resultados estão resumidos na Tabela 3.

269 A análise realizada no programa BAPS resultou em um número mais provável de três  
270 *clusters*, classificando-os por cores. O grupo vermelho composto por Alvorada do Norte,  
271 Arinos, Barra do Garças, Carolina, Cocos, Colinas do Tocantins, Ibotirama, Jaborandi,  
272 Manga, Mateiros, Muquém de São Francisco, Natividade, Nossa Senhora do Livramento,  
273 Nova Xavantina, Novo Santo Antonio , Palmas, Peixe, Ponte Alta do Tocantins, Ribeirão  
274 Cascalheira e Santa Maria da Vitória; Grupo verde: Alto Paraíso, Brasília, Buritizeiro,  
275 Caseara, Colinas do Sul, Cristalina, Flores, Minaçu, Palmas, Paracatu, Paranã e Pirenópolis;  
276 e Grupo azul: Brasília, Conde, Jijoca de Jericoacoara, Mamanguape e Salvador (Figura 1).  
277 Ainda algumas localidades ainda tiveram indivíduos presentes em dois grupos diferentes,  
278 como no caso de Brasília e Palmas. No anexo estão indicadas as localidades de cada grupo  
279 definido pelo BAPS e sua localização no mapa.

280 A árvore de haplótipos apresentou politomias e baixo suporte em alguns ramos assim  
281 a divisão dos três grupos encontrados pelo programa BAPS não pode ser recuperada pelas  
282 árvores. Ramos com probabilidade inferior a 80% foram colapsados e apenas a árvore  
283 concatenada será discutida aqui por ser mais informativa. O grupo azul delimitado pelo  
284 BAPS obteve suporte igual a 100% e foi o único grupo a apresentar monofiletismo. Na

285 árvore concatenada dos segmentos (Figura 1) dois haplótipos, de Palmas e Peixe, foram  
286 alocados ao grupo verde, tornando-o polifilético, embora com baixo suporte.

287 Na Figura 2 estão as redes dos genes mitocondriais (Figura 2A), do RP40 (Figura  
288 2B) e a do NKTR (Figura 2C). Na rede de haplótipos mitocondriais um haplótipo de Alto  
289 Paraíso de Goiás apresentou o maior número de mutações (39) entre qualquer outro  
290 haplótipo. Para o gene RP40 dois haplótipos sendo um compartilhado entre Caseara e Palmas  
291 e outro compartilhado entre Barreiras, Muquém de São Francisco e Santa Maria da Vitória  
292 apresentaram 15 e 14 passos mutacionais, respectivamente. Por fim, o haplótipo mais  
293 distante da rede do gene NKTR é o de Colinas do Tocantins, com oito passos mutacionais.  
294 Os indivíduos de *Cnemidophorus jalapensis* e *C. mumbuca* encontram-se intimamente  
295 relacionados a outros de *C. ocellifer* com diferença de poucos passos mutacionais.

296 A árvore de espécies resultou nos dois grupos do Cerrado sendo mais próximas entre  
297 si, todos os ramos com probabilidade posterior de 100% (Figura 2D). Nota-se que o  
298 comprimento dos ramos de todas as árvores obtidas possui uma variação pequena entre eles  
299 e a topologia foi a mesma para todas as árvores dos genes. A delimitação de espécies pelo  
300 programa BP&P utilizou a topologia obtida na árvore de espécies. O esquema que  
301 considerava os *priors* de população pequena e divergência recente não foi informativo para  
302 nenhum dos algoritmos uma vez que não pode misturar entre as cadeias. O modelo  
303 selecionado para quatro dos seis esquemas foi o modelo 11, em que existiriam três espécies  
304 válidas. *Cnemidophorus ocellifer* é um lagarto abundante de ampla distribuição e esquemas  
305 que consideravam populações grandes são mais adequados, sendo assim o resultado com o  
306 *prior* população pequena não reflete nosso caso.

307 Os modelos resultantes da modelagem de distribuição potencial apresentaram bom  
308 desempenho para as espécies em potencial 1 e 2 com AUC = 0.957 e AUC = 0.937,  
309 respectivamente. O teste de Jackknife identificou a variável Bio 17 (precipitação no trimestre

310 mais seco) como a de maior importância para ambas as espécies. No entanto, a variável com  
311 maior porcentagem de contribuição foram a Bio 14 (precipitação no mês mais seco) com  
312 42,6% para a espécie candidata 1 e a Bio 17 (precipitação no trimestre mais seco) com  
313 56,8% para a espécie candidata 2. A análise da contribuição das análises ainda mostrou que  
314 as variáveis Bio 14, Bio 17 e Bio 16 (precipitação do trimestre mais chuvoso) são  
315 responsáveis por 82,8% dos dados para a espécie candidata 1 e Bio 17, Bio 4 (sazonalidade  
316 da temperatura) e a altitude por 87,2% para a espécie candidata 2. A espécie em potencial 1  
317 apresenta distribuição mais ampla que a espécie candidata 2. Apesar dos dados genéticos  
318 indicarem fortemente a presença de pelo menos duas espécies no Cerrado não verificamos,  
319 nas variáveis ambientais analisadas, diferenças de nicho significativas para estas duas  
320 potenciais espécies ( $I - p = 0.4950598$  e  $D$  de Schoener -  $p = 0.4956223$ ) nem a presença de  
321 barreiras geográficas entre as suas distribuições ( $I - P < 0,0001$ ;  $D$  de Schoener -  $P < 0,0001$ ).

322

## 323 DISCUSSÃO

324 Os dados levantados nesse estudo revelaram o padrão genético de *Cnemidophorus* no  
325 Cerrado. Para 37 localidades, com distribuição ampla no domínio, foram analisados 264 e  
326 240 sequências para dois genes mitocondriais e uma subamostragem com 54 e 65 sequências  
327 para dois genes nucleares. Este esforço é o primeiro na caracterização da diversidade  
328 genética de *Cnemidophorus* no Cerrado, uma vez que poucos estudos avaliaram  
329 geneticamente a espécie e nenhum dado molecular de *C. jalapensis* ou *C. mumbuca* foi  
330 publicado desde as suas descrições. Ainda soma informação aos estudos genéticos de  
331 Squamatas no Cerrado. A América do Sul tem sua biodiversidade reconhecida como a maior  
332 entre os continentes, mas possui um dos menores números de publicações filogeográficas  
333 (6,3%) para espécies nativas (Beheregaray, 2008). O Cerrado, um dos *hotspots* mais

334 ameaçados (Myers *et al.*, 2000), é o domínio brasileiro como o menor número de estudos,  
335 principalmente relacionados a caracterização da biodiversidade para grupos de vertebrados  
336 como os de répteis e anfíbios (Borges *et al.*, 2014).

337 As populações de *Cnemidophorus* no Cerrado apresentam altos índices de  
338 diversidade e estruturação genética com nível de estruturação das populações ( $F_{ST}$ ) superior  
339 a 0,83, diversidade haplotípica ( $H_d$ ) superior a 0,96 para todos os genes e nucleotídica ( $\pi$ )  
340 para o gene mitocondrial 12S igual a 0,034. Os valores indicam alta diferenciação entre as  
341 populações concordante com os valores encontrados por Santos *et al.* (2014):  $H_d=0,976$ ,  
342  $\pi=0,043$  e  $F_{st}=0,76$  para *Micrablepharus atticolus* com base em sequências do citocromo b.  
343 O lagarto de ampla distribuição *Phyllorhynchus pollicaris* também apresentou valores altos de  
344 diversidade genética com base em fragmentos mitocondriais ( $H_d>0,98$ ) e nucleares  
345 ( $H_d>0,84$ ; Werneck *et al.*, 2012a). Na rede de haplótipos mitocondriais é possível reparar a  
346 existência de haplótipos exclusivos com quase nenhum compartilhamento entre localidades,  
347 sendo que apenas um haplótipo é compartilhado entre Muquém de São Francisco e Santa  
348 Maria da Vitória.

349 A árvore bayesiana dos haplótipos apresentou algumas politomias e baixo suporte  
350 basal na árvore concatenada dos genes. Tal resultado era esperado devido a complexidade na  
351 resolução das relações evolutivas dentro de espécie, por causa da separação incompleta das  
352 linhagens e a estocasticidade coalescente (Knowles e Maddison, 2002). Embora a topologia  
353 tenha sido semelhante entre a árvore concatenada e a árvore mitocondrial, elas se  
354 diferenciam pela relação do grupo litoral que derivou de Flores de Goiás e o agrupamento de  
355 Ponte Alta do Tocantins com o clado de Brasília, Paracatu e Cristalina na árvore  
356 mitocondrial. Para os genes nucleares as politomias foram ainda maiores, sendo que para o  
357 RP40 apenas uma relação entre dois haplótipos da mesma localidade formaram clado.  
358 Apesar do baixo suporte e relações entre clados diferente entre os gene, a árvore concatenada

359 resultou em maior suporte e na resolução de clados terminais que apresentaram ramos com  
360 probabilidade superior a 95%. Em estudos filogeográficos que focam em situações de  
361 divergência recente, como o nosso caso, simulações mostram que podem ser necessários  
362 mais de centenas de genes na tentativa de resolução das relações interespecíficas (Maddison  
363 e Knowles, 2006; Leaché e Rannala, 2011). Já para a árvore de espécies, que leva em  
364 consideração a heterogeneidade das árvores dos genes (Maddison e Knowles, 2006; Heled e  
365 Drummond, 2010), obtivemos alto suporte para todos os ramos.

366         Embora cinco espécies de *Cnemidophorus* sejam descritas como ocorrendo no  
367 Cerrado (Colli *et al.*, 2003, 2009; Da Silva e Avila-Pires, 2013; Arias *et al.*, 2014a; b), a  
368 análise bayesiana da estrutura genética das populações (BAPS) só encontrou dois  
369 agrupamentos no domínio. Ao iniciarmos este estudo, três espécies eram ditas como  
370 ocorrendo no Cerrado: *Cnemidophorus ocellifer*, *C. mumbuca* e *C. jalapensis*. Portanto,  
371 apenas estas espécies foram abordadas nos estudos genéticos de nosso trabalho e somente  
372 indivíduos da série tipo de *C. jalapensis* e *C. mumbuca* foram considerados como destas  
373 espécies. Ainda, apesar de estas espécies possuírem diferenças morfológicas, nossas análises  
374 não encontraram distinção genética que às separassem, resultando no agrupamento destas á  
375 indivíduos de *C. ocellifer*. Nossos dados amostrais apresentam ampla cobertura do Cerrado,  
376 inclusive com localidades próximas e de ocorrência das espécies descritas a partir de 2013  
377 (Silva e Ávila-Pires, 2013; Arias *et al.*, 2014a; b), porém em nossas análises genéticas  
378 nenhum dos dois grandes grupos encontrados correspondem exclusivamente as localidades  
379 das novas espécies. A caracterização diagnóstica dentro de *Cnemidophorus* é complexa, pois  
380 há um alto grau de variação dentro do gênero não havendo concordância na adoção de  
381 caracteres diagnósticos (Harvey *et al.*, 2012; Arias *et al.*, 2014a). Ainda que análises de  
382 caracteres morfológicos do lagarto *Gymnodactylus amarali* corroboraram os métodos da  
383 reconstrução da árvore de espécies e na delimitação Bayesiana de espécies para oito

384 linhagens crípticas (Domingos *et al.*, 2014), para linhagens de *Eutropis* das Filipinas que são  
385 altamente distintas geneticamente não é possível identificar morfologia externa distinguível  
386 entre as espécies (Barley *et al.*, 2013). Desta forma, a investigação de uma diversidade  
387 críptica esperada necessita de análises mais cautelosas e integrativas para assim resolver o  
388 cenário taxonômico.

389         As análises genéticas da estruturação das populações confirmam a existência de pelo  
390 menos dois grandes grupos distintos no Cerrado, testados com a delimitação de espécies pelo  
391 programa BP&P (Yang e Rannala, 2010). Esta delimitação validou a ocorrência de pelo  
392 menos duas espécies candidatas, com alta probabilidade posterior (100%). O programa é  
393 eficaz na identificação de espécies crípticas, porém é recomenda a análise de dados  
394 adicionais como morfologia, distribuição, ecologia e fisiologia para uma melhor delimitação  
395 de espécies (Leaché e Fujita, 2010; Yang e Rannala, 2010; Giarla *et al.*, 2014). A  
396 modelagem da distribuição potencial mostrou distinção nas distribuições, com a espécie em  
397 potencial 1 com probabilidade de ocorrência mais a nordeste da distribuição do domínio e a  
398 espécie em potencial 2 mais ao centro. Entretanto, as variáveis utilizadas não distinguiram  
399 significativamente os nichos das duas espécies nem a existência de barreiras geográficas.  
400 Ainda que não seja tratada neste capítulo, a altitude média das localidades para da espécie  
401 candidata 1 é de  $\approx$  440 metros (amplitude de 208m a 745m) e de 667 metros (amplitude de  
402 186m a 1268) para a espécie candidata 2. A utilização de novas variáveis e diferentes  
403 resoluções dos *grids* poderiam ser capazes de perceber distinção entre os nichos ou ainda se  
404 estes forem tratados como um contínuo, uma vez que espécies relacionadas possam ter  
405 nichos similares mas estes raramente serão iguais.(Warren *et al.*, 2008).

406         Antes descrita como uma espécie amplamente distribuída no Cerrado,  
407 *Cnemidophorus ocellifer* apresentou um padrão estruturado da diversidade com a ocorrência  
408 de pelo menos duas espécies candidatas. Já as espécies *Cnemidophorus jalapensis* e *C.*



409 *mumbuca* descritas como endêmicas da região do Jalapão em nossas análises não  
410 apresentaram grandes diferenças genéticas entre si, indicando fortemente que seriam uma  
411 mesma espécie. As espécies candidatas foram corroboradas por agrupamentos validados nas  
412 diferentes abordagens. Há pouca sobreposição entre a distribuição potencial modelada para  
413 as duas espécies com a maior probabilidade da espécie candidata 2 ocorrer mais ao sul da  
414 distribuição da espécie candidata 1. A espécie candidata 2 ainda apresenta um padrão de  
415 amplitude latitudinal maior do que longitudinal comparada a espécie candidata 1, e aparenta  
416 estar relacionada com altas altitudes. Os padrões genéticos deste trabalho mostram a  
417 existência de pelo menos duas espécies no Cerrado de ampla distribuição, sendo nenhuma  
418 endêmica a uma localidade, mesmo com o baixo compartilhamento entre haplótipos  
419 mitocondriais. As diferenças morfológicas existentes entre as três espécies já descritas:  
420 *Cnemidophorus ocellifer*, *C.jalapensis* e *C. mumbuca*, não foram corroboradas por nossas  
421 análises genéticas. Uma vez que se sabe que dentro das espécies do gênero existe variação  
422 morfológica entre localidades, a utilização de metodologias de validação de espécies com  
423 base em diferentes abordagens se tornam ferramentas necessárias para evitar equívocos  
424 taxonômicos e criação de epítetos desnecessários.

425 TABELAS

426 Tabela 1. Identificação da sequência de bases e comprimento dos fragmentos em relação aos  
 427 primer utilizados.

Primer	Região	Sequência	Comprimento
12S	Mitochondrial	12Sa 5'AAACTGGGATTAGATACCCCACTAT 3'	450pb
		12Sb 5'GAGGGTGACGGGCGGTGTGT 3'	
		16SaR 5'CGCCTGTTACCAAAAACAT 3'	
16S	Mitochondrial	16Sd 5'CTCCGGTCTGAACTCAGATCACGTAG 3'	550pb
		RP40f 5'-ATGTGGTGGATGYTGGCTCGT	
RP40	Nuclear Intron	RP40r 5'-GCTTCTCAGCWGCRGCCTGC	350pb
		NKTRf19 5'GATGACATGGAGATYTGACTCC 3'	
NKTR	Nuclear Exon	NKTRr18 5'CTYCTDGAYCGACTTCTTGAGTGACT 3'	600pb

428

429 Tabela 2. Descrição dos esquemas utilizados na análise de delimitação de espécies pelo  
 430 programa BP&P, algoritmos e os parâmetros usados.

Esquema	Algoritmo	$\theta$	$\tau_0$	Descrição
---------	-----------	----------	----------	-----------

1	0	G(2, 200)	G(2, 200)	População pequena, divergência pequena
2	0	G(1, 10)	G(1, 10)	População grande, divergência profunda
3	0	G(1, 10)	G(2, 200)	População grande, divergência pequena
4	1	G(2, 200)	G(2, 200)	População pequena, divergência pequena
5	1	G(1, 10)	G(1, 10)	População grande, divergência profunda
6	1	G(1, 10)	G(2, 200)	População grande, divergência recente

431

432 Tabela 3. Resumo das análises de diversidade genética realizadas pelo programa DNAsp.

	N <sup>a</sup> Sequencias	N <sup>o</sup> Sítios	S	$\pi$	Haplótipos	Hd	Fst	Populações	JmodelTes
12S	262	402	56	0,034	68	0,967	0,851	32	GTR+I+G
16s	238	526	75	0,024	85	0,978	0,873	32	GTR+I+G
RP40	55	361	68	0,008	15	0,996	0,830	9	HKY+G
NKT	64	607	68	0,008	34	0,996	0,830	9	TIM2+I

433

S: sítios polimórficos,  $\pi$ : diversidade nucleotídica, Hd: diversidade haplotípica.

434 LEGENDA DAS FIGURAS

435 Figura 1. Mapa mostrando 37 localidades amostrais no Cerrado de *Cnemidophorus gr.*  
436 *ocellifer* com DNA extraído e depositado no Laboratório de Genética e Biodiversidade da  
437 Universidade de Brasília. As cores indicam os grupos definidos pelo programa BAPS. A  
438 árvore concatenada dos genes apresenta apenas os ramos com suporte superior a 80% de  
439 probabilidade. Os asteriscos indicam ramos de probabilidade superior a 95%. As cerquilhas  
440 (#) indicam os indivíduos que pertencem as espécies de *C. jalapensis* e os símbolos de mais  
441 (+) os indivíduos de *C. mumbuca*. Imagem topográfica produzida por NASA/JPL/NIMA.

442

443 Figura 2. Rede de haplótipos dos genes (A) mitocondriais concatenados, (B) RP40 e (C)  
444 NKTR. Árvore de espécies multilocus dos genes concatenados (D). As cores correspondem  
445 aos grupos definidos anteriormente pelo programa BAPS. O comprimento dos ramos é  
446 proporcional aos passos mutacionais e os traços indicam a quantidade destes quando  
447 superiores a dois. O tamanho dos círculos indica a frequência do haplótipo. As cerquilhas  
448 indicam os indivíduos de *C. jalapensis* e os sinais de mais os *C. mumbuca*.

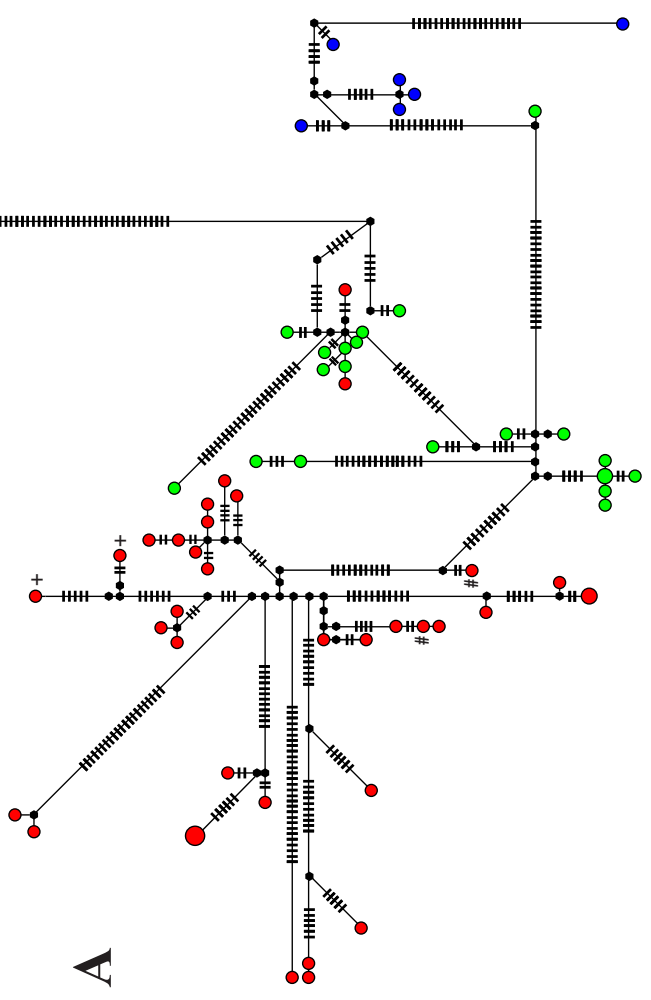
449

450 Figura 3. Modelagem de distribuição potencial para as duas potenciais espécies do Cerrado.  
451 Quanto mais quente a cor maior a probabilidade de ocorrência para a espécie.



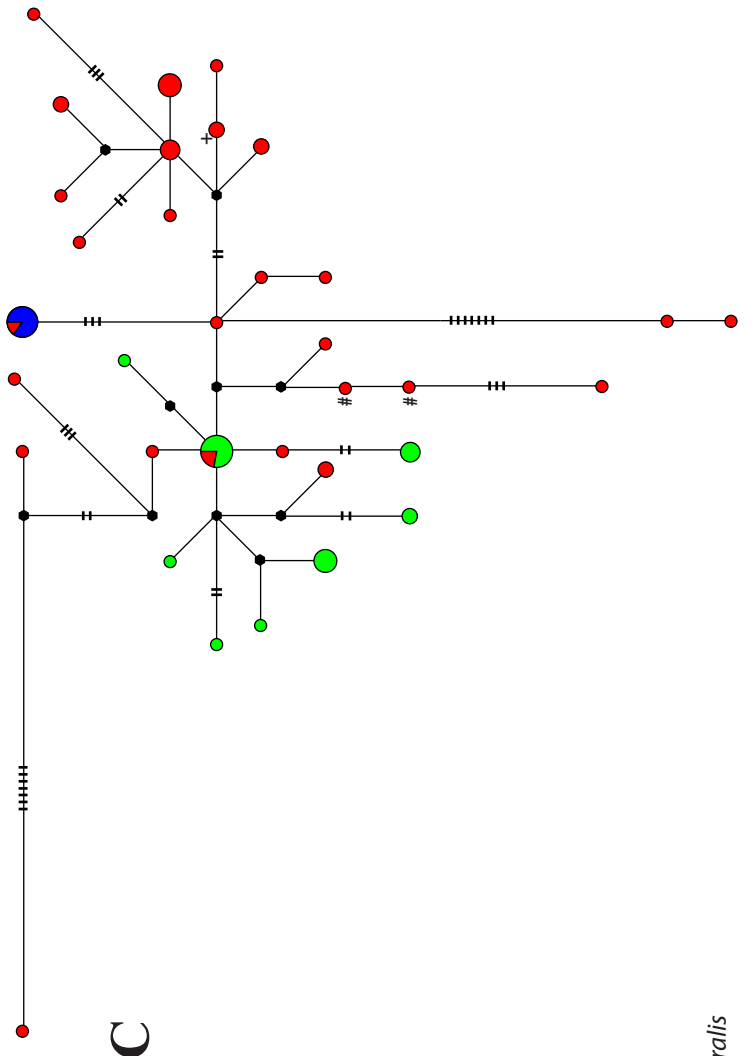
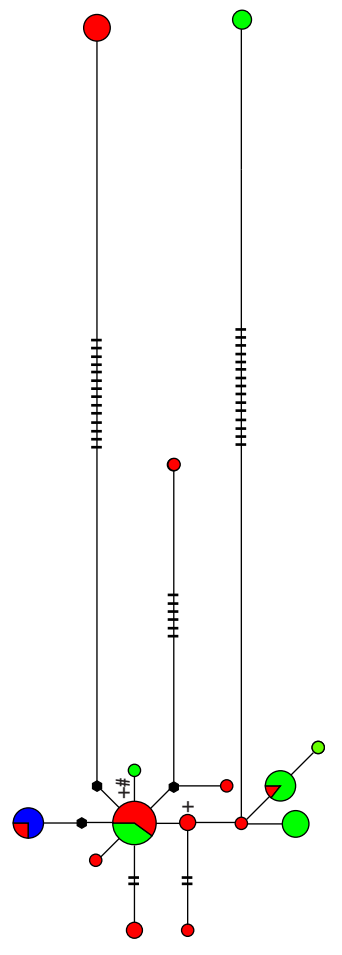
1 5 9 15  
 ○ ○ ○ ○ ○  
 Frequência do haplótipo

✂ Passos mutacionais  
 ● Haplótipos ancestrais/não amostrados

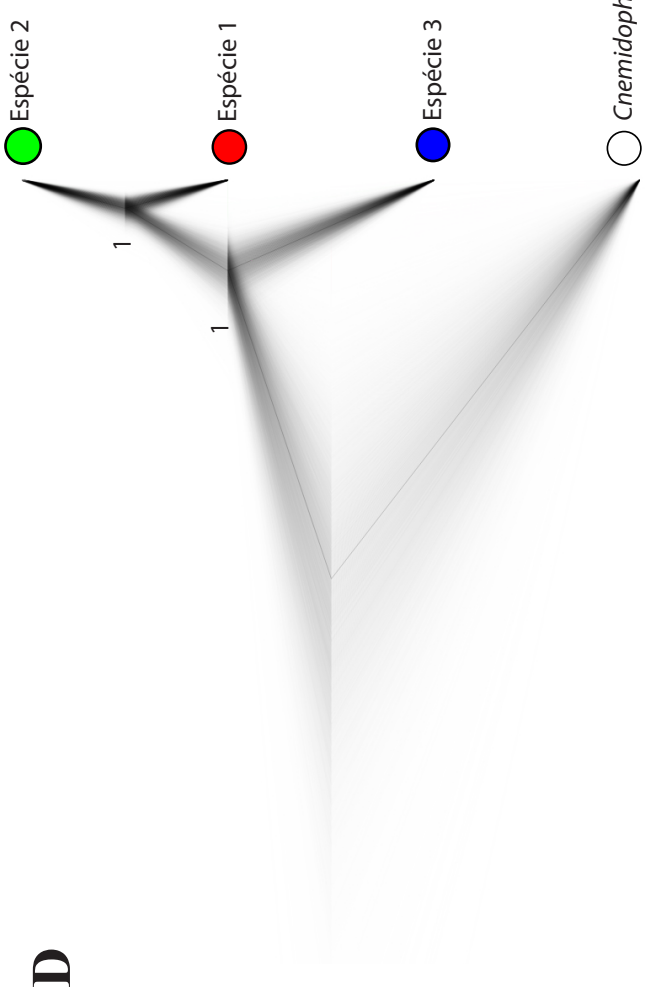


**A**

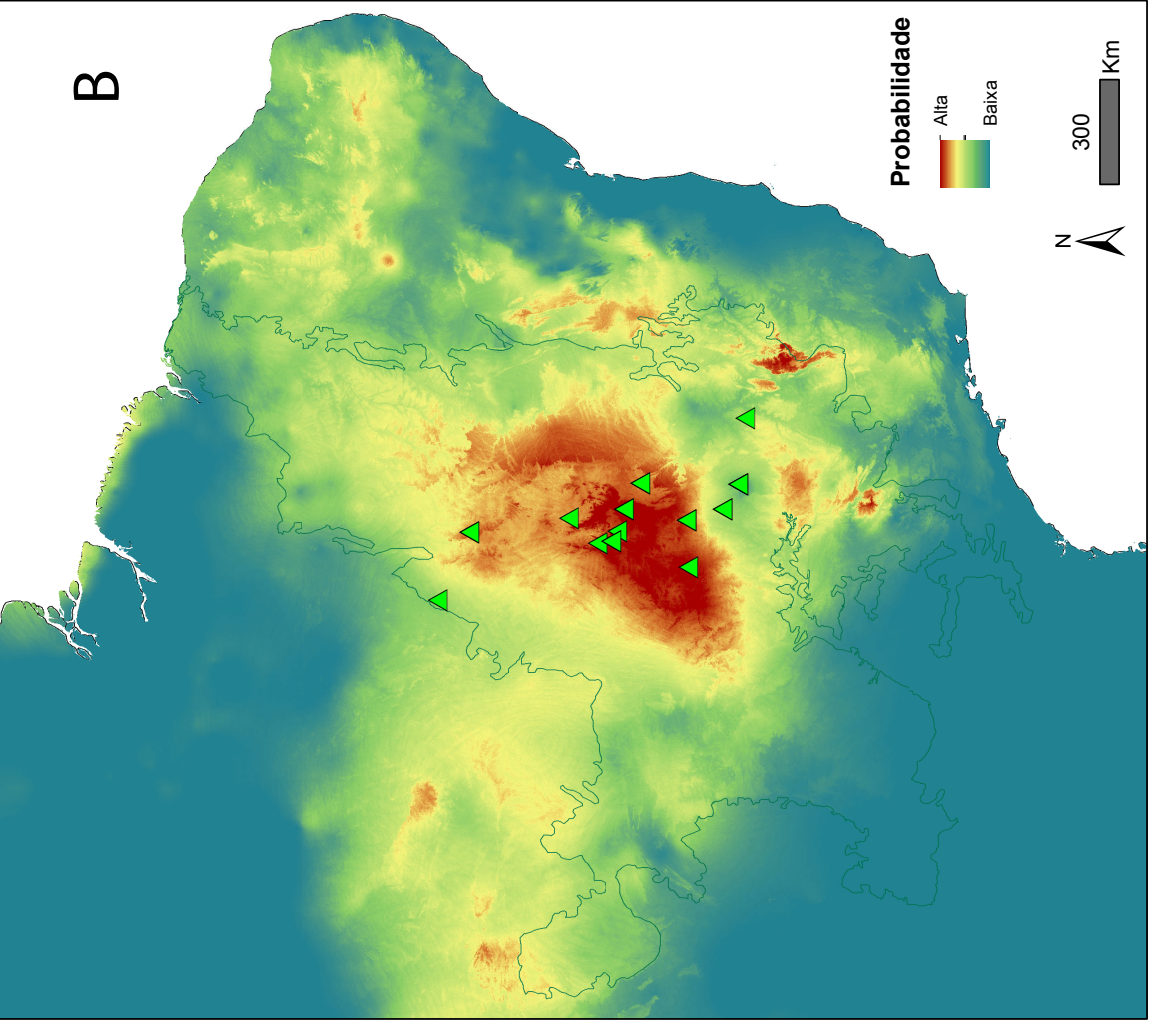
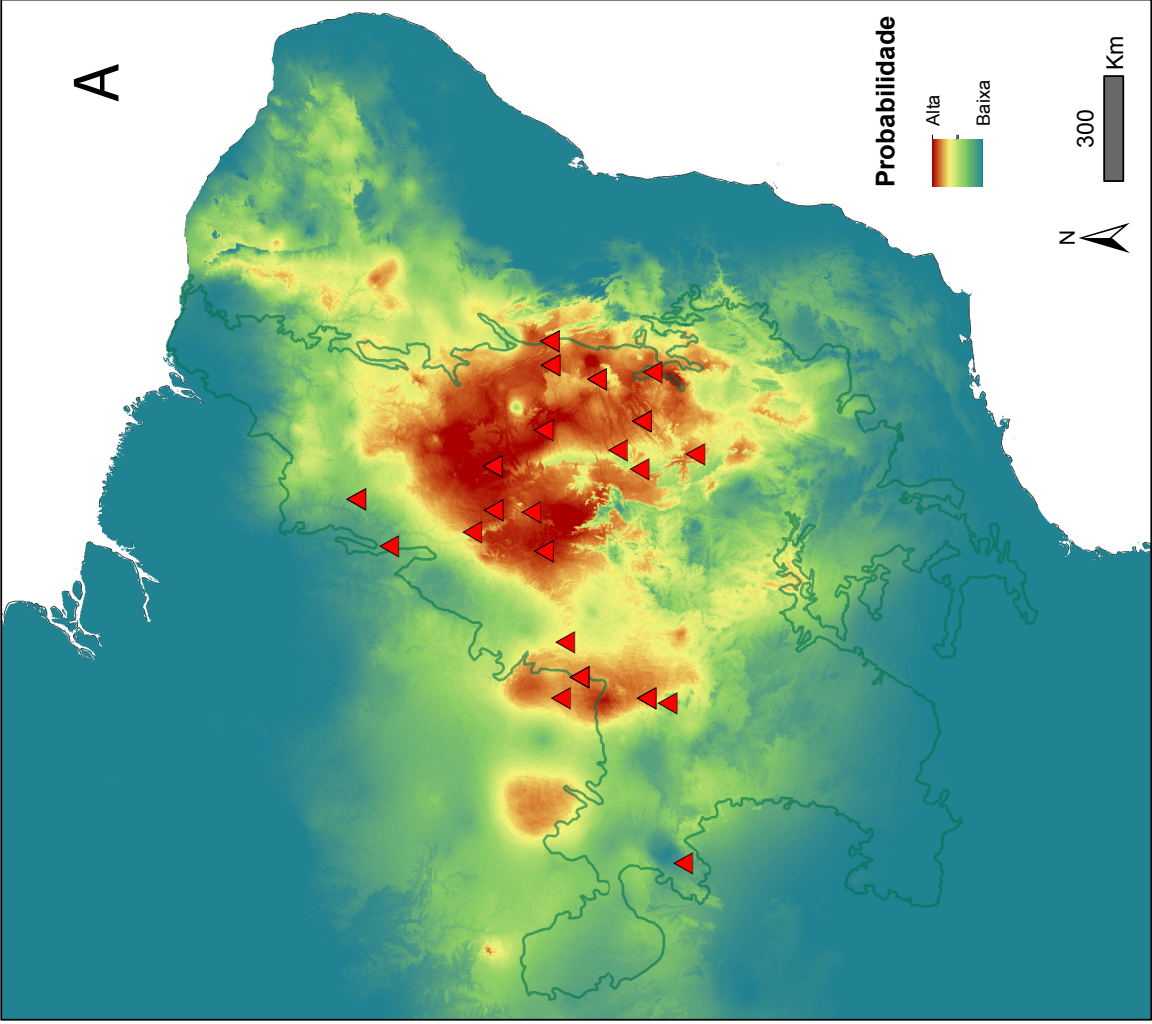
**B**



**C**



**D**



452 CAPÍTULO 2. FATORES HISTÓRICOS E GEOGRÁFICOS NA DIVERSIFICAÇÃO DO  
453 GÊNERO *CNEMIDOPHORUS* (SQUAMATA, TEIIDAE) DO CERRADO

454 INTRODUÇÃO

455 O Cerrado cobre cerca de 22% da superfície do Brasil sendo o segundo maior  
456 domínio da América do Sul, com sua área incidindo sobre os estados de Goiás, Tocantins,  
457 Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí, Rondônia,  
458 Paraná, São Paulo e Distrito Federal, além dos enclaves no Amapá, Para, Roraima e  
459 Amazonas (MMA, 2011). Muito se contesta sobre sua definição, e este, segundo Batalha  
460 (2011) não seria um bioma, mas um mosaico dos biomas campo tropical, savana e floresta  
461 estacional. Diferentes hipóteses baseiam-se isoladamente no clima, fogo e solo para explicar  
462 a origem do Cerrado ou ainda consideram uma interação entre estes como processo  
463 evolutivo para o domínio (Pinheiro e Monteiro, 2010). Em concordância, eventos vicariantes  
464 promoveram mudanças geomorfológicas que associadas à mudanças climáticas favoreceram  
465 uma diversificação da flora e fauna (Machado *et al.*, 2008).

466 Apesar do crescente aumento no número de artigos focados no Cerrado, este ainda  
467 recebe pouca atenção se comparado a outros biomas brasileiros, como a Amazônia e Floresta  
468 Atlântica (Turchetto-Zolet *et al.*, 2013; Borges *et al.*, 2014). Diferentes hipóteses  
469 biogeográficas foram propostas para explicar a diversificação no Cerrado (revisão em  
470 Werneck, 2011), sendo que há um questionamento principal sobre influência dos eventos do  
471 Quaternário ou Terciário na sua estruturação. A hipótese dos refúgios, formulada  
472 originalmente para a Amazônia (Haffer, 1969) e depois aplicada de forma adaptada ao  
473 Cerrado auxilia na investigação para esse evento (e.g. Collevatti *et al.*, 2003; Ramos *et al.*,  
474 2007; Bonatelli *et al.*, 2014). Esta hipótese baseia-se nas flutuações climáticas do  
475 Pleistoceno (Quaternário) delimitando áreas de estabilidade climática pela sua persistência



476 durante as oscilações do clima. Desta forma, regiões persistentes de áreas florestadas  
477 apresentam maior diversidade genética pois se mantiveram “estáveis” enquanto que áreas  
478 “instáveis” sofreram fragmentação da distribuição e apresentam uma menor diversidade  
479 devido à colonização recente (Ratter *et al.*, 1997; Carnaval *et al.*, 2009). Para muitos répteis  
480 da América do Sul, o tempo de divergência é estimado em 2.6 milhões de anos (Turchetto-  
481 Zolet *et al.*, 2013), concordante a estas flutuações do Quaternário. No entanto, para Rull  
482 (2008), essa informação pode estar enviesada devido a influência de muitos estudos  
483 utilizando o conceito de unidades evolutivamente significativas (ESU’s), e adverte que tais  
484 eventos seriam responsáveis por uma estruturação a nível intrapopulacional.

485       Mesmo que muita ênfase tenha sido dada a eventos do Quaternário como  
486 responsáveis pela alta diversidade, Colli (2005) defende que para o Cerrado eventos  
487 vicariantes históricos mais antigos teriam maior influência na diversificação da biota, como  
488 por exemplo: a diferenciação climática latitudinal no final do Cretáceo e início do Terciário,  
489 a formação da Cordilheira dos Andes no Oligoceno, a grande transgressão marinha no  
490 Mioceno e o soerguimento do Planalto Central Brasileiro. Por exemplo, a análise  
491 filogeográfica da espécie de anfíbio *Hypsiboas albopunctatus* corrobora uma divergência  
492 mais antiga, que pode estar associada ao soerguimento do planalto central no Plioceno, onde  
493 divergências mais recentes possivelmente estariam associadas às flutuações climáticas do  
494 Quaternário (Prado *et al.*, 2012). Um padrão de estruturação semelhante foi encontrado para  
495 *Micrablepharus atticolus* com um clado basal na Chapada dos Guimarães, um clado sudeste  
496 e um clado central no Cerrado (Santos *et al.*, 2014), com o tempo de divergência também  
497 coincidente no fim do Neogeno. Deste modo, eventos antigos poderiam ter causado a  
498 estruturação de linhagens intra-específicas de Squamata e as mudanças ambientais do  
499 Quaternário teriam um papel mais restrito na diversificação de espécies, com efeitos mais

500 importantes na formação de rotas de dispersão e diferenciação genética no nível  
501 populacional (Gamble *et al.*, 2007; Garda e Cannatella, 2007; Werneck *et al.*, 2009, 2012b).

502         Padrões biogeográficos gerais de diversidade do Cerrado parecem estar associados à  
503 estratificação horizontal dos habitats marcados pelas superfícies geomorfológicas (Colli *et*  
504 *al.*, 2002; Nogueira *et al.*, 2011). Para Garda e Cannatella (2007), o levantamento do escudo  
505 brasileiro no final do terciário influenciou a diversificação de *Pseudaes* devido a divisão da  
506 paisagem em depressões e planaltos. Com base nestas observações, Werneck ( 2011) propôs  
507 predições testáveis a respeito da influência desta estratificação na estrutura filogenética e  
508 filogeográfica, em que se espera encontrar um monofiletismo recíproco entre as regiões de  
509 platôs mais antigos com vegetação predominantemente savânica (campos-cerrado) e as  
510 regiões de depressões mais recentes associadas a formações florestais (matas de galerias e  
511 mata seca). Além disso, espera-se encontrar nos platôs grupos com genealogia bem  
512 estruturada e alta diversidade genética, enquanto que nas depressões são esperadas  
513 genealogias pouco estruturadas com braços terminais longos. Da mesma maneira a hipótese  
514 dos refúgios pode ser testada pela comparação da diversidade genética e assinaturas de  
515 expansão populacional entre áreas historicamente estáveis e instáveis (Carnaval *et al.*, 2009).  
516 Embora cada vez mais investigados para América do Sul, não é possível observar um padrão  
517 biogeográfico claro, de forma que ambos os eventos do Pleistoceno e Plioceno teriam  
518 contribuído para diversidade e distribuição das espécies atuais no Cerrado (Rull, 2011;  
519 Turchetto-Zolet *et al.*, 2013).

520         A busca de padrões espaciais de distribuição das linhagens genealógicas pode ser  
521 feita por meio da filogeografia, analisando as relações a nível inter e intraespecífico e pela  
522 paleomodelagem como meio de identificar áreas com condições prováveis para ocorrência  
523 da espécie (Avice *et al.*, 1987; Phillips *et al.*, 2006). *Cnemidophorus ocellifer* é um lagarto  
524 de ampla distribuição no Cerrado sendo um ótimo modelo na avaliação das hipóteses de

525 diversificação existentes para o domínio. Entretanto, sua história evolutiva ainda é pouco  
526 esclarecida. Poucos trabalhos avaliaram a diversidade genética da biota do Cerrado  
527 utilizando ferramentas filogeográficas. Assim o objetivo deste capítulo é testar a influência  
528 dos fatores históricos sobre a diversificação genética de *Cnemidophorus* no Cerrado e  
529 identificar possíveis padrões empregando a modelagem da distribuição potencial das  
530 espécies no passado.

531

## 532 MATERIAIS E MÉTODOS

### 533 FILOGENIA E DATAÇÃO MOLECULAR

534 Duas espécies do gênero *Cnemidophorus* ocorrem no Cerrado. Estas foram validadas  
535 pela delimitação de espécie baseada em coalescência a partir de marcadores multilocus (para  
536 mais detalhes ver capítulo anterior). Um total de 280 amostras de tecidos de espécies do  
537 gênero presentes no domínio foram selecionados da Coleção Herpetológica da Universidade  
538 de Brasília. Após a extração e sequenciamento, estimou-se o tempo de divergência pelo  
539 programa \*BEAST 2.0 (Bouckaert *et al.*, 2014) na construção da árvore de espécies, com  
540 500 milhões de gerações amostrando a cada 10 mil com base na abordagem bayesiana do  
541 relógio molecular relaxado e modelo de especiação de Yule. A árvore foi gerada para  
542 estimar o tempo de divergência entre as duas espécies do Cerrado e o clado do litoral.  
543 Utilizamos a taxa de substituição para os genes mitocondriais de 0,65% de mudanças por  
544 milhões de anos de acordo com Macey *et al.* (1998) e um desvio padrão de 0,0025. Para os  
545 genes nucleares foi utilizado o *prior* gama padrão com um desvio padrão médio de 0,5.

546

### 547 MODELAGEM DE DISTRIBUIÇÃO

548           Dados sobre as coordenadas geográficas foram obtidas diretamente da Coleção  
549 Herpetológica da Universidade de Brasília, visto que os exemplares utilizados foram  
550 coletados pela instituição em expedições realizadas até o primeiro semestre de 2013. Para  
551 avaliar os padrões históricos foram modelados mapas de distribuição potencial da espécie no  
552 passado e presente, utilizando o algoritmo de máxima entropia MAXENT (Phillips *et al.*,  
553 2006). Para edição dos modelos, utilizamos nove variáveis climáticas não correlacionadas do  
554 WorldClim (Hijmans *et al.*, 2005) e altitude (para mais detalhes ver Santos *et al.*, 2014). Para  
555 modelagem do passado utilizados dados paleoclimáticos para o último interglacial (UIG) de  
556 Otto-Bliesner *et al.* (2006) e para o ultima máxima glacial (UMG) e holoceno médio (HM) a  
557 partir do ECHAM3 modelo atmosférico de circulação geral (GCM) (DKRZ, 1993).  
558 Elaboramos um mapa de presença e ausência com base nos valores de probabilidade de  
559 ocorrência da espécie de todos os modelos sobrepostos, visando a identificação de possíveis  
560 áreas de estabilidade para cada espécie. Indivíduos presentes em áreas com apenas um ou  
561 nenhum modelo sobreposto foram identificados como pertencentes a áreas de instabilidade  
562 enquanto que indivíduos sob os quatro modelos foram considerado de áreas estáveis.

563

#### 564 EFEITO DA ALTITUDE

565           Trabalhos de descrição e distribuição das espécies de *Cnemidophorus* no Cerrado  
566 relatam sua ocorrência predominantemente em regiões de depressão, ou seja, áreas de  
567 altitude abaixo de 500 metros (Cardoso Da Silva e Bates, 2002; Colli *et al.*, 2003, 2009;  
568 Nogueira, 2006). Assim, para investigar o efeito da altitude na estrutura genética das  
569 populações traçamos a elevação na árvore Bayesiana dos haplótipos como característica  
570 binária (acima e abaixo de 500 metros), usando máxima verossimilhança para estimar o  
571 estado ancestral no Mesquite 3.03 (Maddison e Maddison, 2015). As altitudes foram

572 extraídas a partir das coordenadas geográficas das localidades pelo programa Google Earth  
573 (Google, 2015).

574

#### 575 MARCAS DE EXPANSÃO POPULACIONAL

576 Utilizando as sequências dos genes mitocondriais foram realizados testes estatísticos  
577 de neutralidade  $F_u$ 's  $F_s$  (Fu, 1997) e  $R_2$  (Ramos-Onsins e Rozas, 2002) para verificar  
578 possíveis sinais genéticos de expansão populacional. A estatística  $F_s$  de Fu (Fu, 1997) é um  
579 indicador sensível de expansão populacional que baseia-se na probabilidade de observar em  
580 uma população em equilíbrio mais haplótipos do que os que observamos na população, com  
581 base no valor estimado  $\Theta$ . Valores negativos indicam um excesso de alelos como seria  
582 esperado devido a uma expansão populacional recente. A estatística  $R_2$  (Ramos-Onsins e  
583 Rozas, 2002) baseia-se na diferença entre o número de *singletons* e o número médio de  
584 diferenças entre sequências. Valores muito baixos indicam expansão populacional recente.  
585 As análises foram feitas para localidades com número superior a cinco indivíduos.  
586 Posteriormente, foi feita uma comparação da diversidade genética pelo programa DnaSP 5  
587 (Librado e Rozas 2009). A partir das análises populacionais testamos as premissas de dois  
588 cenários: áreas de instabilidade *versus* áreas de estabilidade e platôs *versus* depressões.  
589 Desta maneira, platôs apresentariam maiores níveis de diversidade nucleotídica quando  
590 comparados a populações em áreas de depressões, enquanto que áreas estáveis (refúgios)  
591 teriam maior diversidade genética do que áreas instáveis e apresentariam assinaturas  
592 moleculares de expansão populacional recente.

593

#### 594 RESULTADOS

595 A divergência entre as duas espécies do Cerrado foi estimada em torno de 0,95  
596 milhões de anos atrás, durante o Pleistoceno. Já a divergência do clado formado pelas  
597 espécies do Cerrado com o clado do litoral, ocorreu no final do Plioceno, há  
598 aproximadamente 3,17 maa (Figura 4). Na modelagem da distribuição no passado para todos  
599 os modelos gerados, os valores da área sob a curva (AUC) foram maiores que o valor  
600 aleatório de 0,5 e que os 0,75 considerados como limite para valores bons e aceitáveis de  
601 desempenho do modelo em classificar de forma correta a presença da espécie (Elith *et al.*,  
602 2006). Para a espécie candidata 1, observamos uma provável expansão durante o último  
603 interglacial (130ka) (Figura 5). Já para a espécie candidata 2, no mesmo período, ocorreu  
604 uma contração, com expansão no último máximo glacial (21Ka) (Figura 6). No mapa de  
605 sobreposição dos modelos, para a modelagem da espécie candita 1, observamos que as  
606 localidades de Barra do Garças, Carolina, Colinas do Tocantins, Nossa Senhora do  
607 Livramento e Novo Santo Antonio, estão em áreas em que um ou nenhum modelo está  
608 presente enquanto que para espécie candidata 2 são as localidades de Buritizeiro, Caseara,  
609 Cristalina e Paracatu. As localidades consideradas estáveis pelo modelo são Barreiras,  
610 Cocos, Peixe, Ponte Alta do Tocantins Querência, Mateiros e Natividade para a espécie  
611 candidata 1 e para a espécie candidata 2 Alto Paraíso de Goiás, Brasília, Colinas do Sul,  
612 Minaçu e Pirenópolis. A árvore de altitude indica uma tendência em que a espécie candidata  
613 1 estaria associada a altitudes inferiores a 500m, enquanto a espécie candidata 2 em sua  
614 maioria estaria relacionada a altitudes maiores que 500 metros (Figura 7).

615 Para a maioria das populações, os testes estatísticos  $F_s$  de  $F_u$  e  $R_2$  não foram  
616 significativos (Tabela 4). Quatro localidades tiveram resultados significativos: Colinas do  
617 Sul (espécie candidata 2), Ibotirama (espécie candidata 1), Mateiros (espécie candidata 1) e  
618 Paracatu (espécie candidata 2), sendo que para esta última, o resultado dos dois testes foi  
619 significativo. As localidades com maior diversidade nucleotídica foram Palmas (espécie

620 candidata 2) e Peixe (espécie candidata 1), enquanto que as com menor diversidade foram  
621 Novo Santo Antônio (espécie candidata 1) e Palmas (espécie candidata 1). As localidades de  
622 Mateiros (espécie candidata 1) e Colinas do Sul (espécie candidata 2), ambas em áreas  
623 estáveis e de platô, apresentaram maior diversidade haplotípica, com número amostral de 24  
624 e 12, respectivamente (Tabela 4). Ao contrário do esperado, marcas de expansão  
625 populacional recente foram encontradas em áreas preditas estáveis (Colinas do Sul e  
626 Mateiros) e em platôs (Colinas do Sul, Mateiros e Paracatu).

627

## 628 DISCUSSÃO

629 O evento de divergência entre a espécie do litoral e as duas espécies presentes no  
630 Cerrado aconteceu no final do Plioceno, na transição Plioceno – Pleistoceno. Já o evento de  
631 divergência entre as duas espécies do Cerrado seria mais recente, ocorrendo no Pleistoceno.  
632 Dados semelhantes foram encontrados para outros grupos presentes no Cerrado. Estimativa  
633 do tempo de divergência para o complexo de plantas *Pilosocereus aurisetus* indicam  
634 semelhante diferenciação para o clado, iniciando no final do Plioceno e divergências mais  
635 recentes, dentro dos grupos, ocorrendo no meio do Pleistoceno (Bonatelli *et al.*, 2014).

636 Na construção dos modelos de distribuição potencial para o passado encontramos  
637 probabilidades diferentes entre as duas espécies, sendo que a espécie candidata 1 teria  
638 probabilidade maior de distribuição no Último Interglacial (LIG) enquanto que a espécie  
639 candidata 2, no mesmo período teria a menor probabilidade de distribuição, com a formação  
640 de duas áreas disjuntas ao centro e mais sudeste da distribuição. O padrão da espécie  
641 candidata 1 é coincidente com um padrão de áreas estáveis amplamente distribuídas durante o  
642 LIG (e.g. Werneck *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2014). O centro da sua distribuição modelada  
643 não sofreu muita alteração entre os diferentes períodos (Último Máximo Glacial – LGM –

644 até o presente). Sob um clima mais quente e úmido (LIG), a probabilidade de ocorrência da  
645 distribuição era mais ampla, com conexão entre uma área ao sudoeste que estaria isolada da  
646 parte central durante outras épocas (Figura 5). Por outro lado, para a espécie candidata 2 a  
647 área modelada resultou em uma distribuição fragmentada em áreas centro-sul e sudeste  
648 durante o LIG, expandindo-se após o LGM (Figura 6). Um padrão semelhante de expansão  
649 em épocas mais frias foi relatado para o complexo *Pilosocereus aurisetus* no Cerrado, com  
650 área de distribuição modelada ampla e conectada durante LGM (Bonatelli *et al.*, 2014). Este  
651 complexo sofreu fragmentação durante períodos mais quentes (LIG e presente) tanto nas  
652 abordagens ampla e restrita da distribuição atual das espécies do complexo.

653 Além de um padrão distinto da distribuição modelada, as duas espécies candidatas de  
654 *Cnemidophorus* do Cerrado parecem ter uma tendência desigual em relação à altitude, com a  
655 maioria (68%) dos indivíduos da espécie candidata 1 ocorrendo em áreas inferiores a 500m  
656 (depressões), enquanto que a espécie candidata 2 em sua maioria (66%) ocorre em áreas  
657 superiores a 500m (platôs). Localidades com as maiores altitudes (1101m e 1268m) são  
658 habitadas por indivíduos da espécie candidata 2. A árvore traçada da altitude elucidada tal  
659 padrão a partir da reconstrução do caráter ancestral. A relação da altitude pode estar um  
660 pouco mascarada devido à utilização de coordenadas geográficas de centroides municipais,  
661 que inflaria as altitudes, principalmente naqueles com altitudes próximas ao limiar de 500  
662 metros. Embora algumas localidades discordem da premissa de menor diversidade em áreas  
663 de depressão, deve-se levar em consideração que *Cnemidophorus ocellife*, *C. mumbuca* e *C.*  
664 *jalapensis* foram descritos como ocorrendo em baixas altitudes. No entanto, novas espécies  
665 descritas para o complexo em 2014 possuem ocorrência em áreas de platôs acima de 1000  
666 metros (e.g. Arias *et al.*, 2014b), semelhante a algumas localidades de ocorrência para  
667 indivíduos da espécie candidata 2.

668



669 Das 33 populações analisadas, apenas 14 possuíam número amostral superior a cinco  
670 indivíduos e dessas apenas quatro localidades tiveram resultados significativos para os testes  
671 de neutralidade. No entanto, apresentam marcas de expansão contrárias as esperadas pelas  
672 premissas em áreas estáveis e de platô (Tabela 4). As localidades de Peixe (espécie  
673 candidata 1), Mateiros (espécie1) e Alto Paraíso de Goiás (espécie candidata 2), possuem  
674 alta diversidade nucleotídica e estão em áreas de sobreposição das distribuições modelada  
675 das espécies. Esta área de sobreposição assemelha-se ao padrão do refúgio de Serra Geral de  
676 Goiás (SGGR) proposto por Werneck *et al.* (2012b). Também coincide entre clados de  
677 *Gracilinanus agilis* (Centro-Oeste e Nordeste) como uma possível barreira definida pelo  
678 programa Geneland para esta área (Faria *et al.*, 2013). O platô da Serra Geral, foi  
679 considerado uma área centro de endemismo para répteis Squamata (Nogueira *et al.*, 2011).  
680 Em trabalho realizado com a espécie *Gymnodactylus amarali*, três de oito clados candidatos  
681 a espécie encontrados apresentaram um padrão de distribuição de maior amplitude latitudinal  
682 do que longitudinal (Domingos *et al.*, 2014), semelhante as áreas de contato entre as duas  
683 espécies do Cerrado. A espécie candidata 2 apresenta maior amplitude latitudinal do que  
684 longitudinal e a espécie candidata 1, embora mais amplamente distribuída pelo Cerrado, tem  
685 ocorrência em localidades adjacentes à espécie candidata 2. Para a espécie endêmica de  
686 lagarto *Micrablepharus atticolus* também não foi encontrado suporte para a hipótese dos  
687 platôs *versus* depressões (Santos *et al.*, 2014). Os autores não corroboraram a hipótese de  
688 estabilidade *versus* instabilidade e centro *versus* periferia (não testada para nossos dados),  
689 encontrando sinais de expansão em uma área estável, de platô e centro da distribuição da  
690 espécie, devido provavelmente a consecutivas ocupações. Mesmo que as premissas das  
691 hipóteses “platô *versus* depressões” e de “áreas estáveis *versus* instáveis” não puderam ser  
692 corroboradas por falta de resultados significativos, localidades com alta diversidade  
693 nucleotídica (Mateiros, Peixe, Alto Paraíso de Goiás e Brasília) estão em áreas preditas

694 estáveis, sendo que apenas Peixe está em uma área predita como depressão. Assim,  
695 diferentes eventos históricos podem ter uma maior influência no padrão de distribuição das  
696 espécies de *Cnemidophorus* para o Cerrado.

697         Outro padrão que pode ser inferido está na árvore concatenada dos haplótipos gerada  
698 no capítulo 1 (Figura 1), na qual clados monofiléticos de localidades da espécie candidata 1  
699 assemelham-se às áreas CW, C&SE e N&NE das províncias fitogeográficas propostas por  
700 Ratter *et al.* (2003), padrão semelhante também relatado por Novaes *et al.* (2013). Múltiplos  
701 padrões podem ser responsáveis pela diversificação da herpetofauna do Cerrado conforme  
702 relatados em diversos trabalhos (e.g. Gamble *et al.*, 2007; Garda e Cannatella, 2007;  
703 Werneck *et al.*, 2009, 2012b; Prado *et al.*, 2012; Domingos *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2014).  
704 Organismos relacionados a ambientes xéricos apresentam respostas variáveis às oscilações  
705 climáticas e por isso estudos filogeográficos comparativos em uma escala menor (e.g.  
706 Cerrado), são de extrema importância na tentativa de identificação de refúgios e zonas de  
707 contato (Turchetto-Zolet *et al.*, 2013). De acordo com o tempo de divergência estimado, as  
708 flutuações climáticas do Quaternário teriam importância na especiação de *Cnemidophorus*  
709 no Cerrado, enquanto que os fatores mais antigos (do Plioceno) poderiam ter influenciado na  
710 primeira divergência entre as espécies do litoral. Coincidente com o término do Plioceno  
711 ocorreu o soergimento do Planalto Central Brasileiro e a primeira divergência dentro de  
712 *Micrablepharus atticolus* no Cerrado (Santos *et al.*, 2014). Para as espécies candidatas  
713 dentro do complexo *Gymnodactylus amarali* a divergência mais antiga dos clados é estimada  
714 em 5 m.a.a. (Plioceno) e divergências mais recentes (entre os clados B, E, F, G e H)  
715 ocorreram no Pleistoceno. Assim acreditamos que para as duas potenciais espécies de  
716 *Cnemidophorus* no Cerrado, uma combinação de fatores foi responsável pela diversificação  
717 entre elas. Primeiramente, a fragmentação da paisagem em áreas de platôs e depressões  
718 durante a transição Plioceno – Pleistoceno, o qual interrompeu o intercâmbio entre as

719 paisagens. Em seguida, eventos mais recentes como flutuações climáticas do Quaternário nas  
720 distribuições fragmentadas em áreas de platô e depressão teriam agido na diversificação das  
721 espécies no Cerrado durante o Pleistoceno.

722

723 Os padrões de diversificação encontrados para o gênero apontam eventos mais  
724 recentes como mais importantes na diversificação das espécies de *Cnemidophorus* do  
725 Cerrado, diferindo da maioria dos relatos para a herpetofauna do domínio. O tempo de  
726 divergência entre os clados do litoral e Cerrado é concordante com o fim do soergimento do  
727 Planalto Central, e, possivelmente após, com a formação de platôs e depressões a  
728 heterogeneidade topográfica gerada e oscilações climáticas no Quaternário agiriam na  
729 diversificação das duas espécies candidatas do Cerrado. Ainda, a semelhança entre a  
730 distribuição dos clados da árvore de haplótipos para a espécie candidata 1e o padrão  
731 fitogeográfico das espécies do Cerrado indica que outros fatores teriam influenciado a  
732 distribuição das espécies. Considerando que as espécies de *Cnemidophorus* que ocorrem no  
733 domínio são endêmicas, seus estudos auxiliam na caracterização dos processos relacionados  
734 a eventos históricos na formação deste domínio e podem auxiliar em estudos biogeográficos  
735 futuros a fim de elucidar o padrão de distribuição da biota do Cerrado.

736

738 Tabela 4. Análises das sequências mitocondriais de cada localidade para os testes de  
 739 expansão populacional e as medidas de diversidade genética (\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; +um  
 740 modelo, ++ dois modelos, +++ modelos).

Localidade	n	S	h	Hd	Pi	F <sub>S</sub>	R <sub>2</sub>	Instável/ Estável	Platô/ Depressão
Alvorada do Norte	14	14	3	0,582	0,003 05	3,6562	0,2239	+++	Depressão
Ibotirama	8	6	5	0,786	0,001 84	-1,5431	0,1214**	++	Depressão
Palmas sp1	5	1	2	0,4	0,000 44	0,0902	0,40	+++	Depressão
Palmas sp2	10	28	7	0,911	0,014 90	1,5880	0,2254	+++	Depressão
Paraná	12	16	7	0,773	0,004 54	-0,5167	0,1141	+++	Depressão
Ribeirão Cascalheira	16	21	8	0,875	0,005 48	-0,0111	0,1212	+++	Depressão
Mateiros	24	41	20	0,975	0,012 20	-6,355*	0,1233	Estável	Depressão
Peixe	5	33	4	0,9	0,017 35	2,3552	0,1973	Estável	Depressão
Carolina	11	20	6	0,8	0,004 37	0,1466	0,1994	Instável	Depressão
Novo Santo Antônio	10	4	4	0,644	0,001 06	-0,9712	0,1661	Instável	Depressão

Brasília	6	5	3	0,60	0,001 89	0,6877	0,2925	Estável	Platô
Colinas do Sul	12	10	8	0,924	0,003 03	-2,9405*	0,1264	Estável	Platô
Cristalina	7	16	3	0,667	0,008 52	4,8544	0,2411	Instável	Platô
Paracatu	12	4	5	0,788	0,001 15	-1,7865*	0,1289*	Instável	Platô

---

741

742 LEGENDA DAS FIGURAS

743 Figura 4. Árvore bayesiana multilocus das espécies com 10 milhões de gerações estimadas  
744 pelo programa \*Beast baseada no relógio molecular relaxado. As barras indicam média do  
745 tempo de divergência  $\pm$  desvio padrão.

746

747 Figura 5. Modelagem potencial para a espécie candidata 1 gerada pelo programa Maxent.  
748 Modelagem para o presente (A), Holoceno médio (B), Último Máximo Glacial (C). As cores  
749 quentes indicam maior probabilidade de ocorrência. Mapa de sobreposição dos modelos (D).

750

751 Figura 6. Modelagem potencial para a espécie candidata 2 gerada pelo programa Maxent.  
752 Modelagem para o presente (A), Holoceno médio (B), Último Máximo Glacial (C). As cores  
753 quentes indicam maior probabilidade de ocorrência. Mapa de sobreposição dos modelos (D).

754

755 Figura 7. Árvore de haplótipos após reconstrução do estado do caráter (altitude) nos nós  
756 ancestrais traçada no programa Mesquite 3.03(Maddison e Maddison, 2015) por máxima  
757 verossimilhança. A altitude foi considerada uma característica binária em que 0 = abaixo de  
758 500m e 1 = acima de 500m. Estão apresentados apenas os ramos com suporte superior a  
759 80% de probabilidade. As cerquilhas (#) indicam os indivíduos que pertencem as espécies de  
760 *C. jalapensis* e os símbolos de mais (+) os indivíduos de *C. mumbuca*.

**Espécie 1**



**Espécie 2**

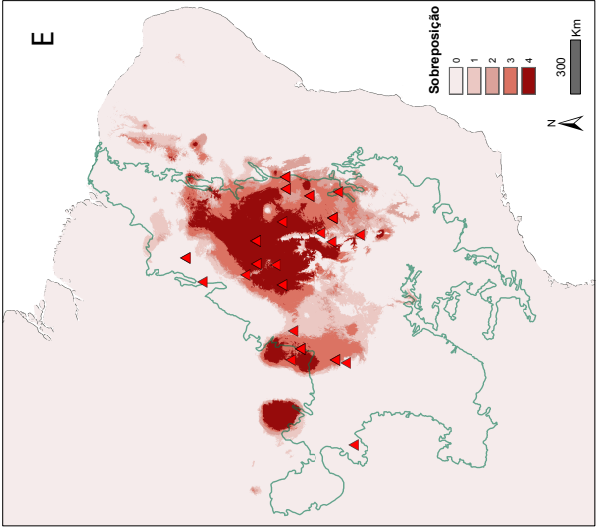
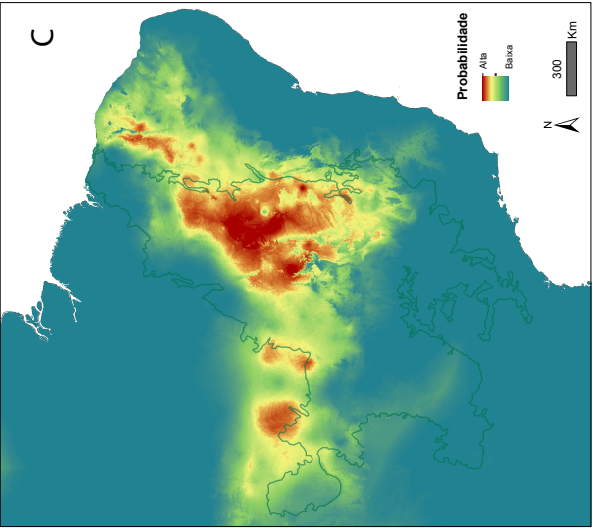
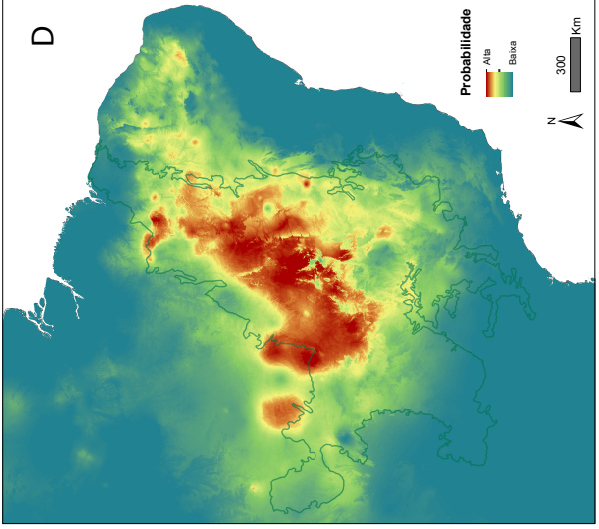
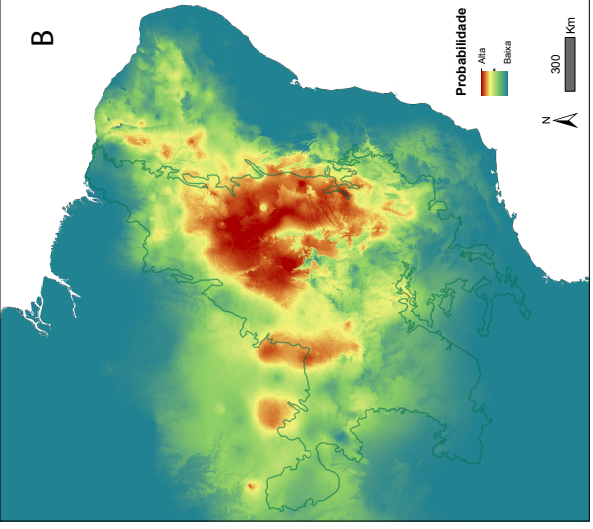
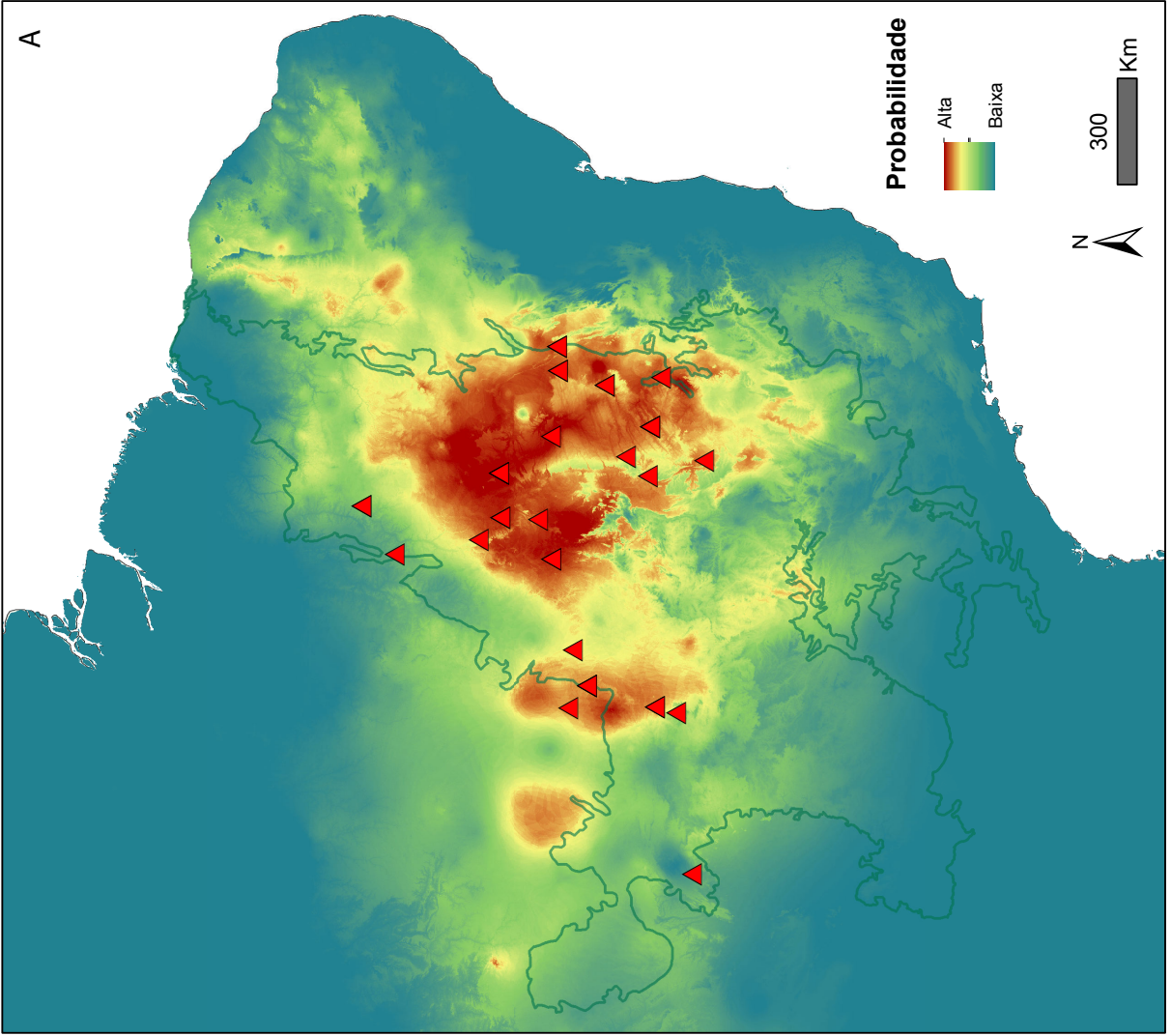


**Espécie 3**

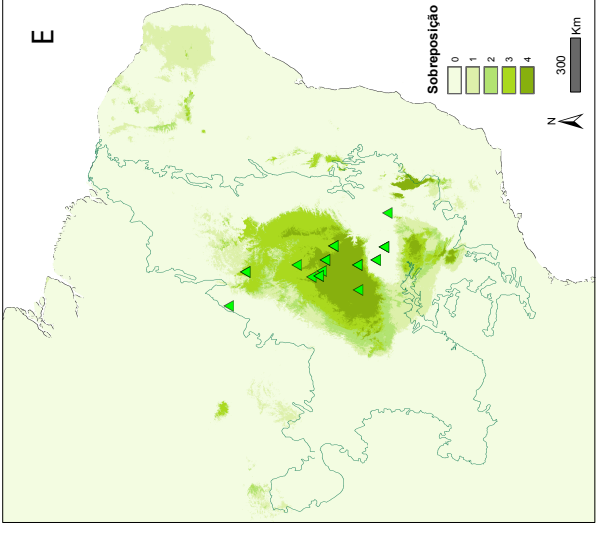
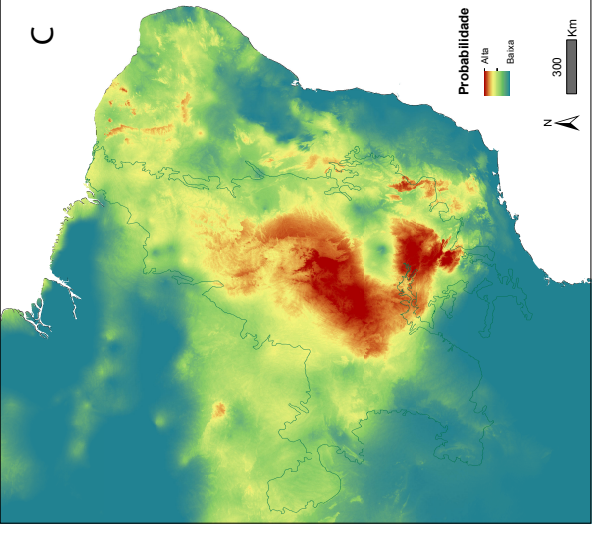
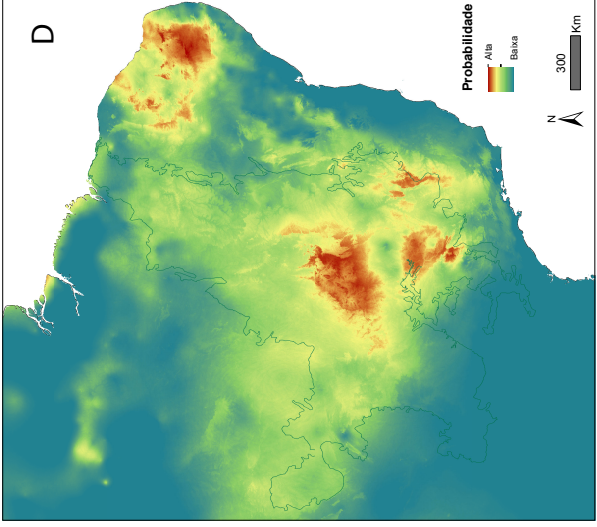
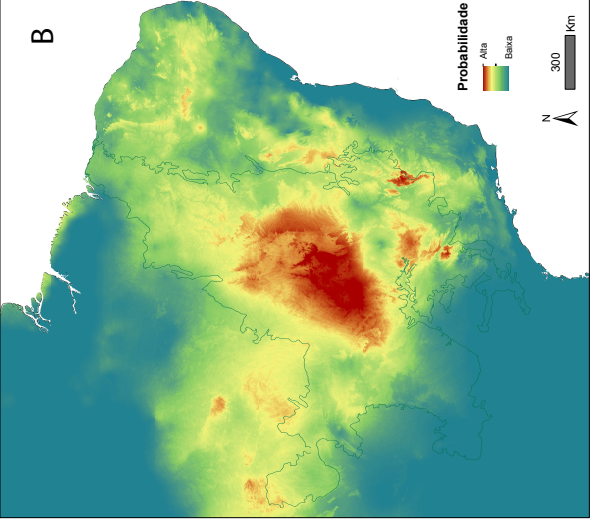
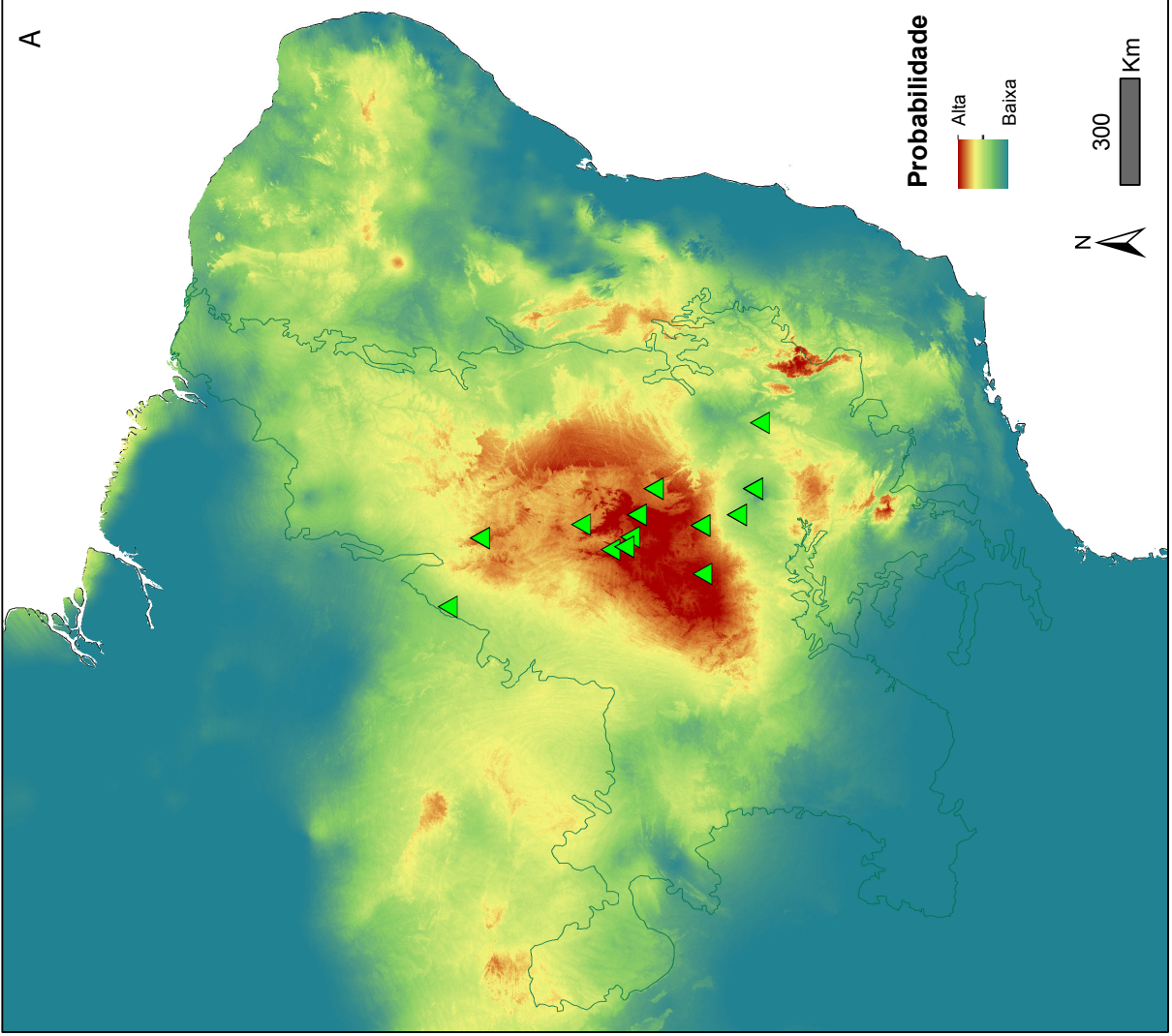


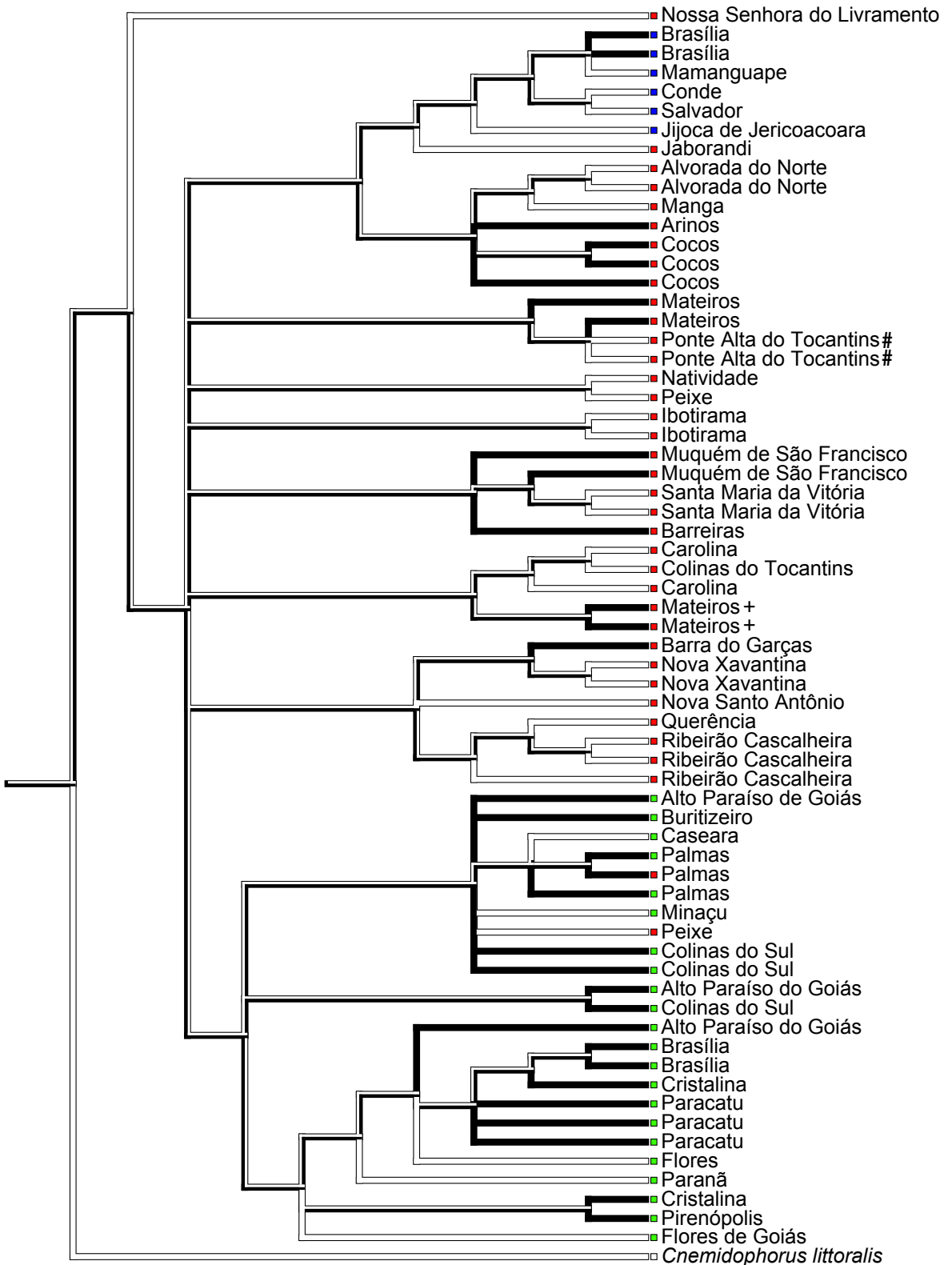
*Cnemidophorus littoralis*











761 BIBLIOGRAFIA

- 762 Arias, F., Carvalho, C.M. de & Rodrigues, M.T. 2011a. Two new species of *Cnemidophorus*  
 763 (Squamata: Teiidae) of the *C. ocellifer* group, from Bahia, Brazil. *Zootaxa* **3022**: 1–21.
- 764 Arias, F., Carvalho, C.M. de, Rodrigues, M.T. & Zaher, H. 2011b. Two new species of  
 765 *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae) from the Caatinga, Northwest Brazil. *Zootaxa* **54**: 37–  
 766 54.
- 767 Arias, F., de Carvalho, C.M., Zaher, H. & Rodrigues, M.T. 2014a. A New Species of *Ameivula*  
 768 (Squamata, Teiidae) from Southern Espinhaço Mountain Range, Brazil. *Copeia* **2014**: 95–  
 769 105.
- 770 Arias, F.J., Teixeira, M., de Carvalho, C.M., Recoder, R., Zaher, H. & Rodrigues, M.T. 2014b.  
 771 Whiptail lizards in South America: a new *Ameivula* (Squamata, Teiidae) from Planalto dos  
 772 Gerais, Eastern Brazilian Cerrado. *Amphibia-Reptilia* **35**: 227–242.
- 773 Avila-Pires, T.C.S. 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). *Zoologische*  
 774 *Verhandelingen*.
- 775 Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., *et al.* 1987.  
 776 Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population  
 777 Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**: 489–522.
- 778 Bandelt, H.J., Forster, P. & Röhl, a. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific  
 779 phylogenies. *Molecular biology and evolution* **16**: 37–48.
- 780 Barley, A.J., White, J., Diesmos, A.C. & Brown, R.M. 2013. The challenge of species  
 781 delimitation at the extremes: Diversification without morphological change in philippine  
 782 sun skinks. *Evolution* **67**: 3556–3572.
- 783 Batalha, M.A. 2011. O cerrado não é um bioma. *Biota Neotropica* **11**: 21–24.
- 784 Beheregaray, L.B. 2008. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the  
 785 challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular ecology* **17**: 3754–74.
- 786 Beheregaray, L.B. & Cacccone, A. 2007. Cryptic biodiversity in a changing world. *Journal of*  
 787 *biology* **6**: 9.
- 788 Bergmann, P.J. & Russell, A.P. 2007. Systematics and biogeography of the widespread  
 789 Neotropical gekkonid genus *Thecadactylus* (Squamata), with the description of a new  
 790 cryptic species. *Zoological Journal of the Linnean Society* **149**: 339–370.
- 791 Bonatelli, I. a S., Perez, M.F., Peterson, a. T., Taylor, N.P., Zappi, D.C., Machado, M.C., *et al.*  
 792 2014. Interglacial microrefugia and diversification of a cactus species complex:  
 793 Phylogeography and palaeodistributional reconstructions for *Pilosocereus aurisetus* and  
 794 allies. *Molecular Ecology* **23**: 3044–3063.
- 795 Borges, P.P., Oliveira, K.A.F.D.A., Machado, K.B., Vaz, Ú.L., Cunha, H.F. Da & Nabout, J.C.  
 796 2014. Trends and gaps of the scientific literature on the Cerrado biome: A scientometric  
 797 analysis. *Neotropical Biology and Conservation* **10**: 2–8.

- 798 Bouckaert, R., Heled, J., Kühnert, D., Vaughan, T., Wu, C.H., Xie, D., *et al.* 2014. BEAST 2: A  
799 Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Computational Biology* **10**:  
800 1–6.
- 801 Cabrera, M.R. 2012. A new species of Cnemidophorus (Squamata, Teiidae) from the South  
802 American Chaco. *Herpetological Journal* **22**: 123–131.
- 803 Cardoso Da Silva, J.M. & Bates, J.M. 2002. Biogeographic Patterns and Conservation in the  
804 South American Cerrado: A Tropical Savanna Hotspot. *BioScience* **52**: 225.
- 805 Carnaval, A.C., Hickerson, M.J., Haddad, C.F.B., Rodrigues, M.T. & Moritz, C. 2009. Stability  
806 predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science (New York, N.Y.)*  
807 **323**: 785–9.
- 808 Collevatti, R.G., Grattapaglia, D. & Hay, J.D. 2003. Evidences for multiple maternal lineages of  
809 Caryocar brasiliense populations in the Brazilian Cerrado based on the analysis of  
810 chloroplast DNA sequences and microsatellite haplotype variation. *Molecular Ecology* **12**:  
811 105–115.
- 812 Colli, G.R. 2005. As origens e a diversificação da herpetofauna do Cerrado. In: *Cerrado:*  
813 *Ecologia, Biodiversidade e Conservação* (J. C. Souza-Silva & J. M. Felfili, orgs), p. 247–  
814 264. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- 815 Colli, G.R., Bastos, R.P. & Araujo, A.F.B. 2002. The Character and dynamics of the Cerrado  
816 Herpetofauna. In: *The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical*  
817 *savana*, p. 223–239.
- 818 Colli, G.R., Caldwell, J.P., Costa, G.C., Gainsbury, A.M., Garda, A. a., Mesquita, D.O., *et al.*  
819 2003. A New species of cnemidophorus (Squamata Teiidae) from the Cerrado Biome in  
820 central Brazil. *Occasional Papers of the Oklahoma Museum of Natural History* 1–14.
- 821 Colli, G.R., Giugliano, L.G., Mesquita, D.O. & França, F.G.R. 2009. A New Species of  
822 Cnemidophorus from the Jalapão Region, in the Central Brazilian Cerrado.
- 823 Corander, J., Sirén, J. & Arjas, E. 2008. Bayesian spatial modeling of genetic population  
824 structure. *Computational Statistics* **23**: 111–129.
- 825 Da Silva, M.B. & Avila-Pires, T.C.S. 2013. The genus Cnemidophorus (Squamata: Teiidae) in  
826 State of Piauí, northeastern Brazil, with description of a new species. *Zootaxa* **3681**: 455–  
827 477.
- 828 De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic biology* **56**: 879–  
829 886.
- 830 Dias, E.J. dos R., Rocha, C.F.D. & Vrcibradic, D. 2002. New Cnemidophorus (Squamata:  
831 Teiidae) from Bahia State, Northeastern Brazil. *Copeia* **2002**: 1070–1077.
- 832 DKRZ. 1993. The ECHAM3 Atmospheric General Circulation Model.  
833 Modellbetreuungsgruppe, Hamburg, Germany.
- 834 Domingos, F.M.C.B., Bosque, R.J., Cassimiro, J., Colli, G.R., Rodrigues, M.T., Santos, M.G., *et*  
835 *al.* 2014. Out of the deep: Cryptic speciation in a Neotropical gecko (Squamata,

- 836 Phyllodactylidae) revealed by species delimitation methods. *Molecular Phylogenetics and*  
837 *Evolution* **80**: 113–124. Elsevier Inc.
- 838 Elith, J., Elith, J., Graham, C.H., Anderson, R.P., Dudík, M., Ferrier, S., *et al.* 2006. Novel  
839 methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography* **29**:  
840 129–151.
- 841 Elmer, K.R., Bonett, R.M., Wake, D.B. & Lougheed, S.C. 2013. Early Miocene origin and  
842 cryptic diversification of South American salamanders. *BMC evolutionary biology* **13**: 59.  
843 BMC Evolutionary Biology.
- 844 Faria, M.B., Nascimento, F.F., De Oliveira, J.A. & Bonvicino, C.R. 2013. Biogeographic  
845 determinants of genetic diversification in the mouse opossum *Gracilinanus agilis*  
846 (*Didelphimorphia: Didelphidae*). *Journal of Heredity* **104**: 613–626.
- 847 Fielding, A.H. & Bell, J.F. 1997. A review of methods for the assessment of prediction errors in  
848 conservation presence / absence models. *Environmental Conservation* **24**: 38–49.
- 849 Fouquet, A., Recoder, R., Teixeira, M., Cassimiro, J., Amaro, R.C., Camacho, A., *et al.* 2012.  
850 Molecular phylogeny and morphometric analyses reveal deep divergence between  
851 Amazonia and Atlantic Forest species of *Dendrophryniscus*. *Molecular phylogenetics and*  
852 *evolution* **62**: 826–38. Elsevier Inc.
- 853 Friesen, V.L., Congdon, B.C., Kidd, M.G. & Birt, T.P. 1999. Polymerase chain reaction (PCR)  
854 primers for the amplification of five nuclear introns in vertebrates. *Molecular Ecology* **8**:  
855 2147–2149.
- 856 Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking  
857 and background selection. *Genetics* **147**: 915–925.
- 858 Gamble, T., Bauer, A.M., Greenbaum, E. & Jackman, T.R. 2007. Evidence for Gondwanan  
859 vicariance in an ancient clade of gecko lizards. *Journal of Biogeography*  
860 070821084123003–???
- 861 Gamble, T., Colli, G.R., Rodrigues, M.T., Werneck, F.P. & Simons, A.M. 2012. Phylogeny and  
862 cryptic diversity in geckos (*Phyllopezus*; *Phyllodactylidae*; *Gekkota*) from South America's  
863 open biomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **62**: 943–953. Elsevier Inc.
- 864 Garda, A.A. & Cannatella, D.C. 2007. Phylogeny and biogeography of paradoxical frogs  
865 (*Anura*, *Hylidae*, *Pseudae*) inferred from 12S and 16S mitochondrial DNA. *Molecular*  
866 *Phylogenetics and Evolution* **44**: 104–114.
- 867 Giarla, T.C., Voss, R.S. & Jansa, S. a. 2014. Hidden diversity in the Andes: Comparison of  
868 species delimitation methods in montane marsupials. *Molecular Phylogenetics and*  
869 *Evolution* **70**: 137–151. Elsevier Inc.
- 870 Giugliano, L.G., Collevatti, R.G. & Colli, G.R. 2007. Molecular dating and phylogenetic  
871 relationships among *Teiidae* (*Squamata*) inferred by molecular and morphological data.  
872 *Molecular phylogenetics and evolution* **45**: 168–79.

- 873 Giugliano, L.G., Contel, E.P.B. & Colli, G.R. 2006. Genetic variability and phylogenetic  
874 relationships of *Cnemidophorus parecis* (Squamata, Teiidae) from Cerrado isolates in  
875 southwestern Amazonia. *Biochemical Systematics and Ecology* **34**: 383–391.
- 876 Giugliano, L.G., de Campos Nogueira, C., Valdujo, P.H., Collevatti, R.G. & Colli, G.R. 2013.  
877 Cryptic diversity in South American Teiinae (Squamata, Teiidae) lizards. *Zoologica Scripta*  
878 **42**: 473–487.
- 879 Glor, R.E. & Warren, D. 2011. Testing ecological explanations for biogeographic boundaries.  
880 *Evolution* **65**: 673–683.
- 881 Google. 2015. Google Earth Pro.
- 882 Haffer, J. 1969. Speciation in Amazonian Forest Birds.
- 883 Harvey, M.B., Ugueto, G.N. & Gutberlet, R.L. 2012. Review of teiid morphology with a revised  
884 taxonomy and phylogeny of the teiidae (lepidosauria: Squamata). *Zootaxa* **156**: 1–156.
- 885 Heibl, C. & Calenge, C. 2013. Package “phyloclim”.
- 886 Heled, J. & Drummond, A.J. 2010. Bayesian Inference of Species Trees from Multilocus Data.  
887 *Molecular Biology and Evolution* **27**: 570–580.
- 888 Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G. & Jarvis, A. 2005. Very high resolution  
889 interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* **25**:  
890 1965–1978.
- 891 Katoh, K. & Toh, H. 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment  
892 program. *Briefings in Bioinformatics* **9**: 286–298.
- 893 Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., *et al.* 2012.  
894 Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the  
895 organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* **28**: 1647–1649.
- 896 Klink, C. a. & Machado, R.B. 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conservation*  
897 *Biology* **19**: 707–713.
- 898 Knowles, L.L. & Maddison, W.P. 2002. Statistical Phylogeography. *Molecular Ecology* **11**:  
899 2623–2635.
- 900 Kok, P.J.R., Hölting, M. & Ernst, R. 2013. A third microendemic to the Iwokrama Mountains of  
901 central Guyana: A new “cryptic” species of *Allobates* Zimmerman and Zimmerman, 1988  
902 (*Anura*: Aromobatidae). *Organisms Diversity and Evolution* **13**: 621–638.
- 903 Leaché, A.D. & Fujita, M.K. 2010. Bayesian species delimitation in West African forest geckos  
904 (*Hemidactylus fasciatus*). *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* **277**: 3071–  
905 3077.
- 906 Leaché, A.D. & Rannala, B. 2011. The accuracy of species tree estimation under simulation: a  
907 comparison of methods. *Systematic biology* **60**: 126–37.
- 908 Librado, P. & Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA  
909 polymorphism data. *Bioinformatics* **25**: 1451–1452.

- 910 Macey, J.R., Schulte, J.A., Ananjeva, N.B., Larson, A., Rastegar-Pouyani, N., Shammakov,  
911 S.M., *et al.* 1998. Phylogenetic relationships among Agamid lizards of the *Laudakia*  
912 caucasia species group: testing hypotheses of biogeographic fragmentation and an area  
913 cladogram for the Iranian Plateau. *Molecular phylogenetics and evolution* **10**: 118–131.
- 914 Machado, R.B., Aguiar, L.M.S., Castro, A.A.J.F., Nogueira, C.C. & Ramos Neto, M.B. 2008.  
915 Caracterização da fauna e flora do Cerrado. *Savanas: desafios e estratégias para o*  
916 *equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais* 284–300.
- 917 Machado, R.B., Neto, M.G.P., Caldas, E.F., Gonçalves, D. a., Santos, N. a., Tabor, K., *et al.*  
918 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. *Conservation Internacional,*  
919 *Brasília, DF*.1–23.
- 920 Maddison, W.P. & Knowles, L.L. 2006. Inferring phylogeny despite incomplete lineage sorting.  
921 *Systematic biology* **55**: 21–30.
- 922 Maddison, W.P. & Maddison, D.R. 2015. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis.
- 923 MMA. 2011. *Quarto Relatório para a convecção sobre diversidade biológica.*
- 924 MMA. 2009. Relatório Técnico de Monitoramento do Desmatamento no Bioma Cerrado, 2002 a  
925 2008: Dados Revisados. Centro de Informação, Documentação Ambiental e Editoração  
926 Luís Eduardo Magalhães – CID Ambiental.
- 927 Myers, N., Mittermeier, R. a, Mittermeier, C.G., da Fonseca, G. a & Kent, J. 2000. Biodiversity  
928 hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 853–8.
- 929 Nogueira, C. 2006. Diversidade e padrões de distribuição da fauna de lagartos do Cerrado.
- 930 Nogueira, C., Ribeiro, S., Costa, G.C. & Colli, G.R. 2011. Vicariance and endemism in a  
931 Neotropical savanna hotspot: distribution patterns of Cerrado squamate reptiles. *Journal of*  
932 *Biogeography* **38**: 1907–1922.
- 933 Novaes, R.M.L., Ribeiro, R.A., Lemos-Filho, J.P. & Lovato, M.B. 2013. Concordance between  
934 phylogeographical and biogeographical patterns in the Brazilian Cerrado: Diversification of  
935 the endemic tree *Dalbergia miscolobium* (Fabaceae). *PLoS ONE* **8**.
- 936 Otto-Bliesner, B.L., Marshall, S.J., Overpeck, J.T., Miller, G.H. & Hu, A. 2006. Simulating  
937 Arctic climate warmth and icefield retreat in the last interglaciation. *Science (New York,*  
938 *N.Y.)* **311**: 1751–1753.
- 939 Phillips, S.J., Anderson, R.P. & Schapire, R.E. 2006. Maximum entropy modeling of species  
940 geographic distributions. *Ecological Modelling* **190**: 231–259.
- 941 Pianka, E.R. & Vitt, L.J. 2003. Chapter 10: From racerunners to night lizards. *LIZARDS.*  
942 *Windows to the evolution of diversity* 193–210.
- 943 Pinheiro, M.H.O. & Monteiro, R. 2010. Contribution to the discussions on the origin of the  
944 cerrado biome: Brazilian savanna. *Brazilian journal of biology = Revista brasleira de*  
945 *biologia* **70**: 95–102.

- 946 Pinna, P.H., Mendonça, A.F., Bocchiglieri, A. & Fernandes, S. 2014. A New Species of  
947 *Amphisbaena* Linnaeus, 1758 from a Cerrado Region in Bahia, Northeastern Brazil (Squamata: Amphisbaenidae). *The Herpetologists' League* **70**: 339–349.
- 949 Posada, D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*  
950 **25**: 1253–6.
- 951 Prado, C.P. a, Haddad, C.F.B. & Zamudio, K.R. 2012. Cryptic lineages and Pleistocene  
952 population expansion in a Brazilian Cerrado frog. *Molecular ecology* **21**: 921–41.
- 953 Pyron, R.A., Burbrink, F.T. & Wiens, J.J. 2013. A phylogeny and revised classification of  
954 Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. *BMC evolutionary biology* **13**: 93.  
955 BMC Evolutionary Biology.
- 956 R Development Core Team. 2010. R: A language and environment for statistical computing.  
957 Vienna, Austria.
- 958 Rambaut, A., Suchard, M.A., Xie, D. & Drummond, A.J. 2014. Tracer v1.6.
- 959 Ramos, A.C.S., Lemos-Filho, J.P., Ribeiro, R.A., Santos, F.R. & Lovato, M.B. 2007.  
960 Phylogeography of the tree *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and the  
961 influence of quaternary climate changes in the Brazilian cerrado. *Annals of Botany* **100**:  
962 1219–1228.
- 963 Ramos-Onsins, S.E. & Rozas, J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against  
964 population growth. *Molecular biology and evolution* **19**: 2092–2100.
- 965 Ratter, J. a., Bridgewater, S. & Ribeiro, J.F. 2003. Analysis of the Floristic Composition of the  
966 Brazilian Cerrado Vegetation Iii: Comparison of the Woody Vegetation of 376 Areas.  
967 *Edinburgh Journal of Botany* **60**: 57–109.
- 968 Ratter, J. a., Ribeiro, J.F. & S., B. 1997. The Brazilian Cerrado Vegetation and Threats to its  
969 Biodiversity. *Annals of Botany* **80**: 223–230.
- 970 Recoder, R.S., Werneck, F.D.E.P., Jr, M.T., Colli, G.R., Walter, J., Jr, S., *et al.* 2014.  
971 Geographic variation and systematic review of the lizard genus *Vanzosaura* (Squamata,  
972 Gymnophthalmidae), with the description of a new species. *Zoological Journal of the*  
973 *Linnean Society* **171**: 206–225.
- 974 Reeder, T.W. 1995. Phylogenetic relationships among phrynosomatid lizards as inferred from  
975 mitochondrial ribosomal DNA sequences: substitutional bias and information content of  
976 transitions relative to transversions. *Molecular phylogenetics and evolution* **4**: 203–222.
- 977 Reeder, T.W., Cole, C.J. & Dessauer, H.C. 2002. Phylogenetic Relationships of Whiptail  
978 Lizards of the Genus *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae): A Test of Monophyly,  
979 Reevaluation of Karyotypic Evolution, and Review of Hybrid Origins. *American Museum*  
980 *Novitates* **3365**: 1–61.
- 981 Roberto, I.J., Brito, L.B.M. & Ávila, R.W. 2014. A new six-pored *Amphisbaena* (Squamata:  
982 *Amphisbaenidae*) from the coastal zone of northeast Brazil. **3753**.



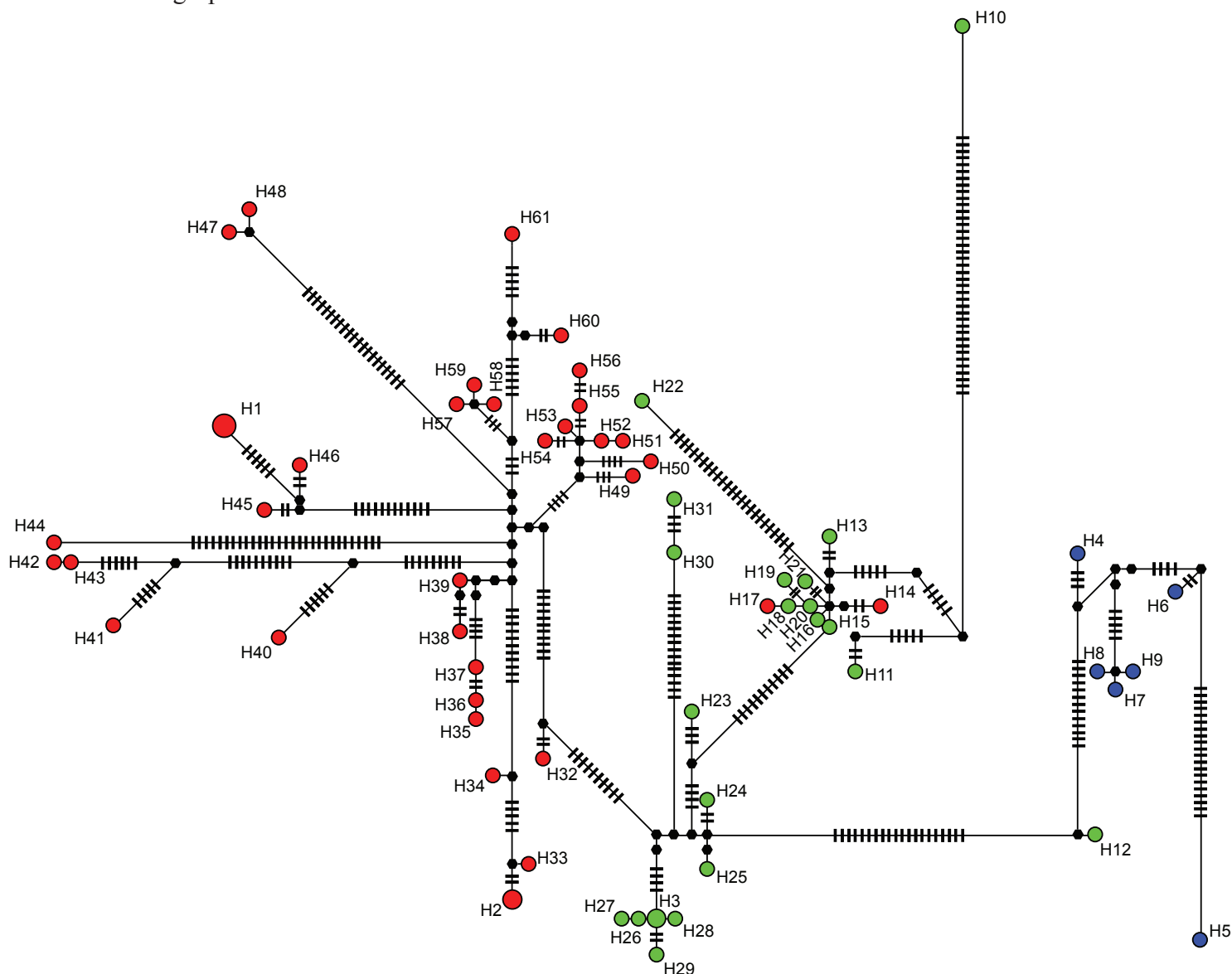
- 983 Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under  
984 mixed models. *Bioinformatics* **19**: 1572–1574.
- 985 Rull, V. 2011. Neotropical biodiversity: Timing and potential drivers. *Trends in Ecology and*  
986 *Evolution* **26**: 508–513.
- 987 Rull, V. 2008. Speciation timing and neotropical biodiversity: The Tertiary-Quaternary debate in  
988 the light of molecular phylogenetic evidence. *Molecular Ecology* **17**: 2722–2729.
- 989 Santos, M.G., Nogueira, C., Giugliano, L.G. & Colli, G.R. 2014. Landscape evolution and  
990 phylogeography of *Micrablepharus atticolus* (Squamata, Gymnophthalmidae), an endemic  
991 lizard of the Brazilian Cerrado. *Journal of Biogeography* **41**: 1506–1519.
- 992 Silva, M.B. & Ávila-Pires, T.C.S. 2013. The genus *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae) in State  
993 of Piauí, northeastern Brazil, with description of a new species. *Zootaxa* **3681**: 455–477.
- 994 Teixeira, M., Vechio, F.D., Neto, A.M. & Rodrigues, M.T. 2014. A New Two-Pored  
995 *Amphisbaena* Linnaeus, 1758, from Western Amazonia, Brazil (*Amphisbaenia*: Reptilia).  
996 *South American Journal of Herpetology* **9**: 62–74.
- 997 Teixeira, M.J., Recoder, R.S., Camacho, A., De Sena, M.A., Navas, C.A. & Rodrigues, M.T.  
998 2013. A new species of *Bachia* Gray, 1845 (Squamata: Gymnophthalmidae) from the  
999 Eastern Brazilian Cerrado, and data on its ecology, physiology and behavior. *Zootaxa* **3616**:  
1000 173–189.
- 1001 Townsend, T.M., Mulcahy, D.G., Noonan, B.P., Sites, J.W., Kuczynski, C. a., Wiens, J.J., *et al.*  
1002 2011. Phylogeny of iguanian lizards inferred from 29 nuclear loci, and a comparison of  
1003 concatenated and species-tree approaches for an ancient, rapid radiation. *Molecular*  
1004 *Phylogenetics and Evolution* **61**: 363–380.
- 1005 Turchetto-Zolet, A.C., Pinheiro, F., Salgueiro, F. & Palma-Silva, C. 2013. Phylogeographical  
1006 patterns shed light on evolutionary process in South America.
- 1007 Vitt, L.J. 1991. An Introduction to the Ecology of Cerrado Lizards. *Journal of Herpetology* **25**:  
1008 79–90.
- 1009 Warren, D.L., Glor, R.E. & Turelli, M. 2010. ENMTools: A toolbox for comparative studies of  
1010 environmental niche models. *Ecography* **33**: 607–611.
- 1011 Warren, D.L., Glor, R.E. & Turelli, M. 2008. Environmental niche equivalency versus  
1012 conservatism: Quantitative approaches to niche evolution. *Evolution* **62**: 2868–2883.
- 1013 Wenner, T.J., Russello, M. a. & Wright, T.F. 2012. Cryptic species in a Neotropical parrot:  
1014 genetic variation within the *Amazona farinosa* species complex and its conservation  
1015 implications. *Conservation Genetics* **13**: 1427–1432.
- 1016 Werneck, F.D.P., Giugliano, L.G., Collevatti, R.G. & Colli, G.R. 2009. Phylogeny,  
1017 biogeography and evolution of clutch size in South American lizards of the genus  
1018 *Kentropyx* (Squamata: Teiidae). *Molecular ecology* **18**: 262–78.

- 1019 Werneck, F.P. 2011. The diversification of eastern South American open vegetation biomes:  
1020 Historical biogeography and perspectives. *Quaternary Science Reviews* **30**: 1630–1648.  
1021 Elsevier Ltd.
- 1022 Werneck, F.P., Gamble, T., Colli, G.R., Rodrigues, M.T. & Sites, J.W. 2012a. Deep  
1023 diversification and long-term persistence in the south american “dry diagonal”: Integrating  
1024 continent-wide phylogeography and distribution modeling of geckos. *Evolution* **66**: 3014–  
1025 3034.
- 1026 Werneck, F.P., Nogueira, C., Colli, G.R., Sites, J.W. & Costa, G.C. 2012b. Climatic stability in  
1027 the Brazilian Cerrado: implications for biogeographical connections of South American  
1028 savannas, species richness and conservation in a biodiversity hotspot. *Journal of*  
1029 *Biogeography* **39**: 1695–1706.
- 1030 Yang, Z. & Rannala, B. 2010. Bayesian species delimitation using multilocus sequence data.  
1031 *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**:  
1032 9264–9.
- 1033 Yang, Z. & Rannala, B. 2014. Unguided Species Delimitation Using DNA Sequence Data from  
1034 Multiple Loci. *Molecular biology and evolution* **31**: 3125–3135.
- 1035

<b>Estado</b>	<b>Cidade</b>	<b>Altitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Latitude</b>
Bahia	Barreiras	736	-45.4884	-12.0241
	Cocos	557	-45.2420	-14.5450
	Conde	12	-37.6100	-11.8100
	Ibotirama	425	-43.2205	-12.1852
	Jaborandi	493	-46.0060	-13.9319
	Muquém de São Francisco	564	-43.8327	-12.1986
	Salvador	8	-38.4000	-12.9000
	Santa Maria da Vitória	436	-44.1900	-13.3900
Ceará	Jijoca de Jericoacoara	100	-40.4492	-2.89500
Distrito Federal	Brasília	1101	-47.7977	-15.7759
Goiás	Alto Paraíso	1268	-47.5233	-14.1622
	Alvorada do Norte	490	-46.4922	-14.4808
	Colinas do Sul	527	-48.0921	-13.9903
	Cristalina	960	-47.5151	-16.7030
	Flores de Goiás	486	-46.8587	-14.5858
	Minaçu	428	-48.3974	-13.4957
	Pirenópolis	799	-49.0110	-15.8259

Maranhão	Carolina	284	-47.2550	-7.21983
Mato Grosso	Barra do Garças	670	-52.5000	-15.2000
	Nossa Senhora do Livramento	283	-56.6000	-15.6000
	Nova Xavantina	275	-52.3531	-14.6733
	Novo Santo Antônio	208	-50.9167	-12.5803
	Querência	350	-52.370	-12.4700
	Ribeirão Cascalheira	328	-51.820	-12.9400
	Minas Gerais	Arinos	516	-46.1056
Minas Gerais	Buritizero	720	-45.1769	-17.2808
	Manga	484	-43.9960	-14.8178
	Paracatu	607	-46.8718	-17.1087
	Paraíba	Mamanguape	35	-35.2000
Tocantins	Caseara	186	-49.8429	-9.37229
	Colinas do Tocantins	227	-48.4750	-8.05920
	Mateiros	634	-46.4127	-10.7022
	Natividade	351	-47.6000	-11.7000
	Palmas	632	-48.1085	-10.1891
	Paraná	290	-47.7590	-12.7530
	Peixe	254	-48.6005	-12.0350
	Ponte Alta do Tocantins	300	-47.5361	-10.7439

1039 Anexo 2. Rede de haplótipos dos genes mitocondriais indicando cada haplótipo. A cores referem-se  
1040 aos grupos delimitados no BAPS.



1041 Anexo 3. Tabela demonstrativa dos haplótipos para os genes mitocondriais identificando as  
1042 localidades às quais pertencem.

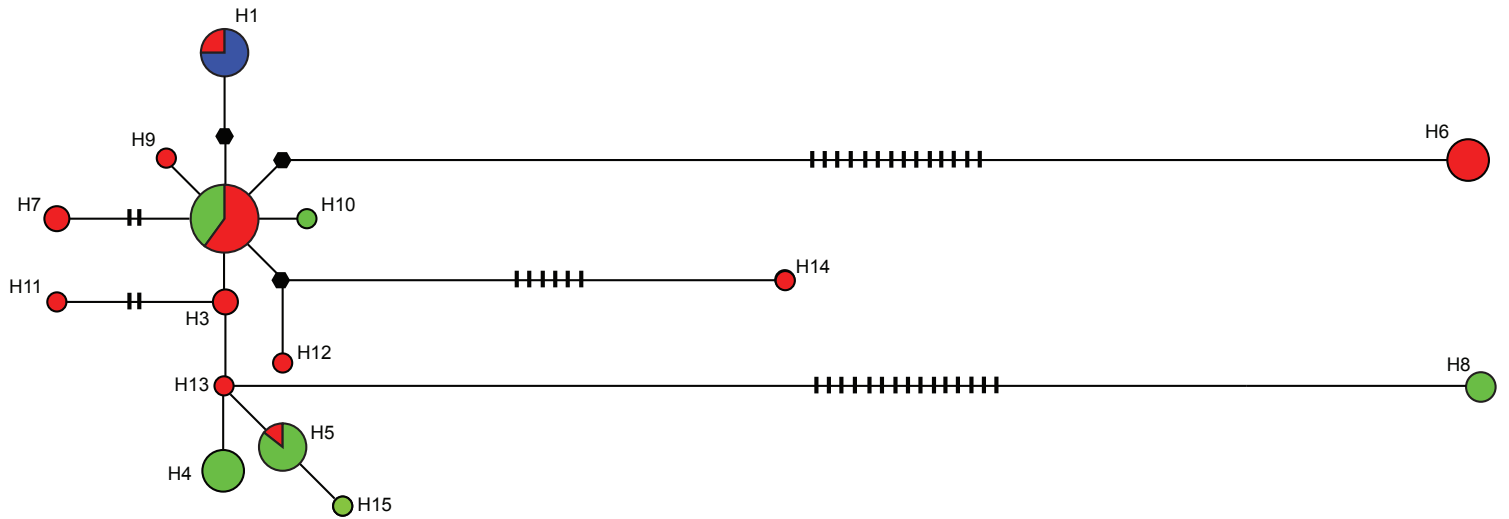
<b>Haplótipos</b>	<b>Localidades</b>
H01	Muquém de São Francisco, Santa Maria da Vitória
H02	Ribeirão Cascalheira
H03	Cristalina, Paracatu
H04	Jijoca de Jericoacoara
H05	Salvador
H06	Conde
H07	Brasília
H08	Brasília
H09	Mamanguape
H10	Alto Paraíso de Goiás
H11	Colinas do Sul
H12	Flores de Goiás
H13	Alto Paraíso de Goiás
H14	Peixe
H15	Minaçu
H16	Colinas do Sul
H17	Palmas
H18	Palmas
H19	Caseara
H20	Palmas
H21	Colinas do Sul
H22	Buritzeiro
H23	Paranã
H24	Alto Paraíso de Goiás
H25	Flores de Goiás
H26	Brasília
H27	Brasília
H28	Paracatu
H29	Paracatu
H30	Cristalina
H31	Pirenópolis
H32	Ponte Alta do Tocantins
H33	Querência
H34	Ribeirão Cascalheira
H35	Mateiros
H36	Ponte Alta do Tocantins
H37	Mateiros
H38	Peixes
H39	Natividade
H40	Novo Santo Antônio
H41	Barra do Garças

H42	Nova Xavantina
H43	Nova Xavantina
H44	Nossa Senhora do Livramento
H45	Barreira
H46	Muquém de São Francisco
H47	Ibotirama
H48	Ibotirama
H49	Manga
H50	Jaborandi
H51	Cocos
H52	Alvorada
H53	Arinos
H54	Alvorada
H55	Cocos
H56	Cocos
H57	Carolina
H58	Carolina
H59	Colinas do Tocantins
H60	Mateiros
H61	Mateiros

---

1043

1044 Anexo 4. Rede de haplótipos do gene RP40 indicando cada haplótipo. A cores referem-se aos  
1045 grupos delimitados no BAPS.



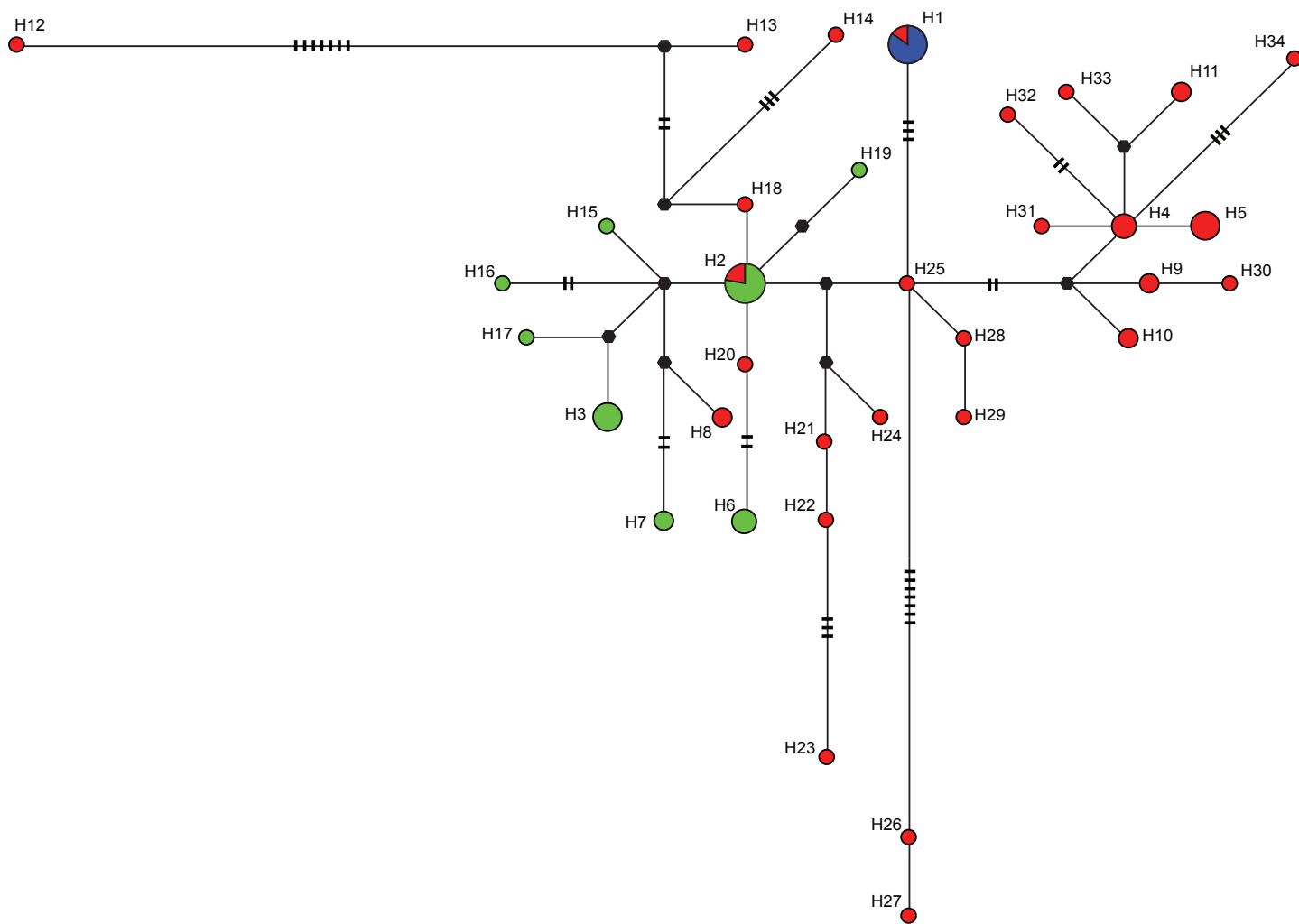


1046 Anexo 5. Tabela demonstrativa dos haplótipos para o gene RP40 identificando as localidades  
1047 às quais pertencem.

<b>Haplótipos</b>	<b>Localidades</b>
H01	Jijoca de Jericoacoara, Salvador, Carolina, Mamanguape, Jaborandi, Brasília, Conde
H02	Minaçu, Colinas do Sul, Paracatu, Mateiros, Alvorada, Arinos, Ponte Alta do Tocantins, Buritizeiro, Cocos, Carolina, Manga, Alto Paraíso de Goiás, Barra do Garças.
H03	Mateiros, Nossa Senhora do Livramento,
H04	Brasília, Cristalina, Pirenópolis
H05	Colinas do Sul, Paranã, Flores de Goiás, Alto Paraíso de Goiás, Colinas do Sul, Natividade
H06	Barreira, Muquém de São Francisco, Santa Maria da Vitória
H07	Ibotirama
H08	Palmas, Caseara
H09	Cocos
H10	Paracatu
H11	Colinas do Tocantins
H12	Novo Santo Antônio
H13	Peixes
H14	Ribeirão Cascalheira
H15	Flores de Goiás

1048

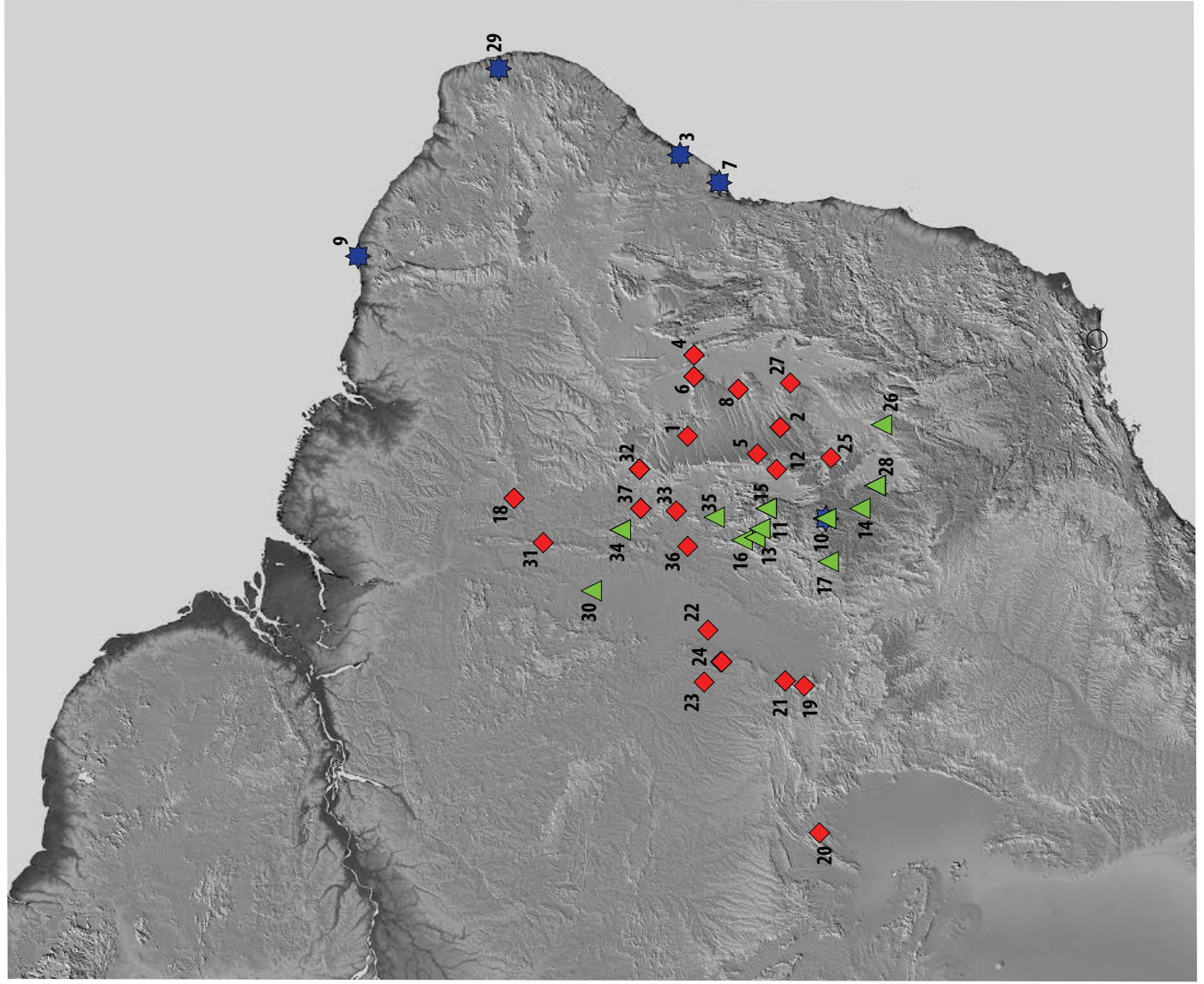
1049 Anexo 6. Rede de haplótipos do gene NKTR indicando cada haplótipo. A cores referem-se aos grupos delimitados no BAPS.



1050 Anexo 7 Tabela demonstrativa dos haplótipos para o gene NKTR identificando as  
1051 localidades às quais pertencem.

<b>Haplótipos</b>	<b>Localidades</b>
H01	Jijoca de Jericoacoara, Salvador, Mamanguape, Jaborandi, Brasília, Conde
H02	Minaçu, Palmas, Colinas do Sul, Alto Paraíso de Goiás, Colinas do Sul, Nova Xavantina, Peixe
H03	Paracatu, Buritizeiro
H04	Cocos
H05	Ribeirão Cascalheira, Querência,
H06	Cristalina, Brasília
H07	Paranã, Alto Paraíso de Goiás
H08	Peixe, Natividade
H09	Mateiros
H10	Nova Xavantina, Barra do Garças
H11	Alvorada
H12	Colinas do Tocantins
H13	Nossa Senhora do Livramento
H14	Muquém de São Francisco
H15	Pirenópolis
H16	Flores de Goiás
H17	Flores de Goiás
H18	Novo Santo Antônio
H19	Caseara
H20	Palmas
H21	Ponte Alta do Tocantins
H22	Ponte Alta do Tocantins
H23	Mateiros
H24	Mateiros
H25	Muquém de São Francisco
H26	Santa Maria da Vitória
H27	Santa Maria da Vitória
H28	Ibotirama
H29	Ibotirama
H30	Carolina
H31	Arinos
H32	Carolina
H33	Manga
H34	Barreiras

1052



<b>Id</b>	<b>Cidade</b>	<b>Estado</b>
1	Barreiras	Bahia
2	Cocos	Bahia
3	Conde	Bahia
4	Ibotirama	Bahia
5	Jaborandi	Bahia
6	Muquém de São Francisco	Bahia
7	Salvador	Bahia
8	Santa Maria da Vitória	Bahia
9	Jijoca de Jericoacoara	Ceará
10	Brasília	Distrito Federal
11	Alto Paraíso	Goiás
12	Alvorada do Norte	Goiás
13	Colinas do Sul	Goiás
14	Cristalina	Goiás
15	Flores de Goiás	Goiás
16	Minaçu	Goiás
17	Pirenópolis	Goiás
18	Carolina	Maranhão
19	Barra do Garças	Mato Grosso
20	Nossa Senhora do Livramento	Mato Grosso
21	Nova Xavantina	Mato Grosso
22	Novo Santo Antônio	Mato Grosso
23	Querência	Mato Grosso
24	Ribeirão Cascalheira	Mato Grosso
25	Arinos	Minas Gerais
26	Buritzeiro	Minas Gerais
27	Manga	Minas Gerais
28	Paracatu	Minas Gerais
29	Mamanguape	Paraíba
30	Caseara	Tocantins
31	Colinas do Tocantins	Tocantins
32	Mateiros	Tocantins
33	Natividade	Tocantins
34	Palmas	Tocantins
35	Paranã	Tocantins
36	Peixe	Tocantins
37	Ponte Alta do Tocantins	Tocantins