



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DAS ÁGUAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE

ANA MARIA DE SOUSA COELHO

**EVIDÊNCIAS MORFOLÓGICAS SUSTENTAM
DIVERGÊNCIA EVOLUTIVA MEDIADA POR ALAGAMENTO
SAZONAL DE FLORESTAS NA AMAZÔNIA**

Santarém
2019

ANA MARIA DE SOUSA COELHO

**EVIDÊNCIAS MORFOLÓGICAS SUSTENTAM
DIVERGÊNCIA EVOLUTIVA MEDIADA POR ALAGAMENTO
SAZONAL DE FLORESTAS NA AMAZÔNIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade para obtenção do título de mestre em Biodiversidade pela Universidade Federal do Oeste do Pará, área de concentração Biodiversidade.

Orientador: Alfredo Pedroso dos Santos Junior

Co-orientador: Rafael de Fraga

**Santarém
2019**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- C672e Coelho, Ana Maria de Sousa
Evidências morfológicas sustentam divergência evolutiva mediada por alongamento sazonal de florestas na Amazônia./ Ana Maria de Sousa Coelho. – Santarém, 2019.
43 p. : il.
Inclui bibliografias.
- Orientador: Alfredo Pedroso dos Santos Junior
Coorientador: Rafael de Fraga
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação Tecnológica, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade.
1. *Bothrops atrox*. 2. Floresta Netropical. 3. Dimorfismo sexual. I. Santos Junior, Alfredo Pedroso dos., *orient.* II. Fraga, Rafael de, *coorient.* III. Título.

CDD: 23 ed. 591.38098115



Universidade Federal do Oeste do Pará
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE

ATA Nº 6

Em acordo com o Regimento do Programa de Pós Graduação em Biodiversidade da Universidade Federal do Oeste do Pará, a dissertação de mestrado é julgada por uma Banca Avaliadora não presencial, constituída por três avaliadores titulares, sendo um deles obrigatoriamente externo ao curso, com título de doutor ou equivalente (Artigo 57 do referido regimento), e dois suplentes. O acadêmico é considerado aprovado quando ao menos dois membros avaliadores emitirem pareceres Aprovado ou Aprovado com Correções. Alternativamente, o acadêmico que comprovar o aceite ou a publicação de pelo menos um artigo resultante da sua dissertação, como primeiro autor, em co-autoria com orientador (ou orientador e co-orientador quando for o caso) em periódico avaliado pela CAPES, no sistema Periódico Qualis, nível A2 ou superior na área de biodiversidade, será dispensado da avaliação da dissertação, cabendo ao discente apenas a apresentação pública do trabalho (Artigo 59). O acadêmico que tiver sua dissertação aprovada deverá apresentá-la em sessão pública com duração entre 40 e 50 minutos, no prazo máximo de vínculo com o curso, ou seja, 24 meses desde o ingresso, a que se refere essa ata, de acordo com o Artigo 65 do Regimento do PPGBEES.

Assim, aos dois dias do mês de agosto do ano de dois mil e dezenove, às 14h00min, no auditório da Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação Tecnológica (PROPPIT), instalou-se a apresentação de seminário público da dissertação de mestrado da aluna Ana Maria de Sousa Coelho. Deu-se início a abertura dos trabalhos, onde o Professor Dr. Alfredo Pedroso dos Santos Júnior, após esclarecer as normativas de tramitação da defesa e seminário público, de imediato solicitou à candidata que iniciasse a apresentação da dissertação, intitulada EVIDÊNCIAS MORFOLÓGICAS SUSTENTAM DIVERGÊNCIA EVOLUTIVA MEDIADA POR ALAGAMENTO SAZONAL DE FLORESTAS NA AMAZÔNIA. Concluída a exposição, o orientador comunicou a discente que a versão final da dissertação deverá ser entregue ao programa, no prazo de 30 dias; contendo as modificações sugeridas pela banca examinadora e constante nos formulários de avaliação da banca.

A banca examinadora foi composta pelos examinadores professores doutores listados abaixo. Os pareceres assinados seguem em sequência.

ALFREDO PEDROSO DOS SANTOS JUNIOR

Orientador

ANA MARIA DE SOUSA COELHO

Discente



Universidade Federal do Oeste do Pará
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE

Dra. CHRISTINE STRUSSMANN, UFMT

Examinadora Externa à Instituição

Dr. SAMUEL CAMPOS GOMIDES, UFOPA

Examinador Interno

Dr. RICARDO ALEXANDRE KAWASHITA RIBEIRO, UFOPA

Examinador Interno

ANA MARIA DE SOUSA COELHO

Mestrando

Ao meu amado filho Manoel Coelho
Golobovante.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de expressar minha gratidão ao meu orientador Alfredo Pedroso que topou prontamente o desafio de me orientar. Muito dos resultados deste trabalho são frutos da nossa parceria amistosa e produtiva. Alfredo é a alegria em pessoa, não houve um dia sequer eu o tenha visto mal-humorado, é sempre disposto a ajudar e compartilhar um café! Da igual forma agradeço ao meu co-orientador Rafael “Rato” de Fraga, que mesmo sabendo de todas as minhas dificuldades e limitações nunca hesitou em me auxiliar. Todo aquele que puder aprender com o Rato pelo menos um pouco sobre herpetologia, ecologia, R, política, Frank Zappa, e sobre as melhores cervejas, é um privilegiado! Agradeço muito aos dois pela paciência e por todo conhecimento compartilhado comigo, saibam que são um exemplo pra mim, tanto do ponto de vista profissional quanto pessoal.

A todos os professores e colegas do PPGBEES.

Aos companheiros de campo: Pedro Salomão, Neto, Glawber, Leandro, Maria Clara, Jady, Darlison, Clarinha. Sou muito grata por toda ajuda, risadas e companheirismo nas coletas. Não poderia esquecer de mencionar aqui o Seu Lalico, fiel companheiro e guia pelas águas do lago do Maicá, PPC!

A todos os comunitários dos locais por onde passei para coletar as jararacas para este estudo. Em especial a família do Seu Walquir, Seu Waldir, Beth e Thiago, e a todos os moradores da Comunidade Igarapé do Costa, por receberem a mim e meus amigos de forma tão hospitaleira a ponto de nos sentirmos em um verdadeiro hotel no meio da várzea amazônica! Nunca esquecerei da recepção, dos peixes saborosos, do empenho em ajudar nas coletas.

Aos amigos do laboratório mais animado da UFOPA: LECAn - Laboratório de Ecologia e Comportamento animal, em especial: Professora Sírria Ribeiro, Brenna, Jéssica, Liz, Lucas, Nyanne, Juh Lourido, Robertinha, Cauê, Jady, obrigada a todos pela amizade, conversas, e principalmente por não deixar faltar café no lab (“Força, CAfé, Foco!”).

Às queridas amigas que o mestrado me deu, Morgana e Francesca, embora muito diferentes cada uma com seu jeito conquistou minha amizade.

A todas as herpetólogas Brasil afora, que me serviram de inspiração para seguir na ciência, principalmente na atual conjuntura do país, em que ser mulher e cientista no Brasil, mais ainda na Amazônia, é um ato de resistência!

Agradeço a minha família. Meus pais Graça e Jango que sempre me apoiaram incondicionalmente ao longo da minha vida, por me ensinarem desde cedo que a educação e o conhecimento eram as únicas riquezas que jamais poderiam perecer e alguém porventura, tirar de mim. A minha irmã Bruna por toda ajuda e cuidado com meu filho na minha ausência, sou eternamente grata por toda paciência e dedicação. Muito obrigada ao meu filho Manoel, por ser a minha principal fonte de energia e motivação, por ser a criança mais incrível e inteligente que existe. Muito do que sou hoje é graças a você, tudo vale a pena por você, filho. Por você, pra você e com você sempre. Ao Fabrício, meu companheiro de vida, defensor do meu bem-estar e da minha felicidade. Gratidão por tudo, por caminhar do meu lado, me incentivando e me ajudando a construir cada pedaço dessa jornada! A todos, vocês, gratidão pela compreensão de minha ausência em determinados momentos, em decorrência das minhas viagens e atividades acadêmicas

Aos organizadores e ministrantes da 1ª Oficina de Publicação do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, financiada pelo Programa Nacional de Cooperação Acadêmica na Amazônia (PROCAD-AM/CAPES).

À Fernanda Werneck e ao Leandro Moraes, do Laboratório Temático de Biologia Molecular – LTBM, INPA – Manaus.

Ao professor Gabriel Iketani do Laboratório de Educação e Evolução - LEDEVO – UFOPA.

Ao Laboratório de Pesquisas Zoológicas (LPZ – UNAMA) na pessoa do professor Hipócrates Chalckidis, por permitir o acesso à coleção de herpetologia

À Capes pela concessão da bolsa de mestrado.

“Será a grande cientista que sempre quis ser e ainda será a grande mulher que o mundo tanto temeu, mas que o salvará! Minha pequena cientista, dou-lhe de presente a coragem e a força de todas as “bruxas” do mundo! Dou-lhe o mundo! Tome, ele é seu!”

Trecho do poema *Carta à minha pequena cientista*, de Daniella França

RESUMO

Variações espaciais em características morfológicas emergem em resposta a diferentes pressões seletivas experimentadas quando a distribuição geográfica cruza habitats heterogêneos. Em habitats sazonalmente alagados, a adaptação animal é visivelmente demonstrada pela capacidade de nadar entre topos de colinas que formam ilhas durante a inundação, ou pela capacidade de escalar as copas das árvores acima do nível da água. Nós notamos que uma serpente terrestre amplamente distribuída é forçada a escalar as copas das árvores em florestas de várzea inundadas do leste da Amazônia. Nós testamos a hipótese de que a inundação sazonal de habitats seleciona morfotipos pelos níveis de adaptação para usar as copas das árvores como sítios de forrageamento e repouso. Medimos sete variáveis morfológicas em 30 espécimes de *Bothrops atrox* de florestas alagáveis de várzea e 25 espécimes de florestas não alagáveis de terra firme. Modelos de Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) separados por sexo mostraram diferenças morfológicas entre esses tipos de habitat, os quais foram independentes de distância geográfica. Encontramos cauda mais longa e cabeça mais larga em fêmeas, cabeça mais baixa e corpo mais esguio em machos das florestas de várzea amostradas. Apesar das divergências em características morfológicas selecionadas terem sido enviesadas por sexo, nossos resultados convergem para seleção natural em direção à especialização para vida arborícola em habitats sazonalmente alagados. Em última análise, mostramos um estágio intermediário de divergência evolutiva, embora um processo de especiação não seja claro como em populações isoladas em ilhas.

Palavras-chave: *Bothrops atrox*, floresta Neotropical, dimorfismo sexual, terra firme, várzea

ABSTRACT

Spatial variation in morphological traits emerges in response to different selective pressures experienced when geographic range crosses heterogeneous habitats. In seasonally flooded habitats, animal adaptation is conspicuously demonstrated by the ability to swim among tops of hills that form islands during flooding, or by the ability to climb treetops above the water level. We have noticed that a widely distributed terrestrial snake is forced to climb treetops in flooded *várzea* forests of eastern Amazonia. We hypothesized that seasonal flooding of habitats selects morphotypes by the levels of adaptation to use treetops as foraging and resting sites. We measured seven morphological variables on 30 *Bothrops atrox* specimens from floodable *várzea* forests, and 25 specimens from non-floodable *terra firme* forests. Models of Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) separately by sex showed morphological differences between these habitat types, which were independent of geographic distance. We found longer tail and wider head in females and lower head and slender body in males from the *várzea* forests sampled. Despite sex-biased divergences in selected morphological traits, our results converge to natural selection toward arboreality in seasonally flooded habitats. We ultimately show an intermediary stage of evolutionary divergence, although speciation is not clear as in island-isolated populations.

Keywords: *Bothrops atrox*, Neotropical rainforest, sexual dimorphism, terra firme, várzea

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

EPÍGRAFE

RESUMO

ABSTRACT

1.INTRODUÇÃO GERAL	9
2. CAPÍTULO 1 (ARTIGO)	13
Morphological evidence supports evolutionary divergence mediated by seasonal flooding in Amazonia	14
Abstract.....	15
Introduction.....	15
Methods.....	19
Results.....	22
Discussion.....	28
Acknowledgments.....	32
References.....	33

1. INTRODUÇÃO GERAL

Como o alagamento sazonal dos rios da Amazônia influencia a morfologia dos organismos?¹

O que é a pesquisa?

A utilização do ambiente e dos microhabitats parecem estar intimamente ligados à evolução e distribuição das populações naturais. Mesmo que um organismo ocorra em diferentes ambientes ele pode mostrar adaptações em caracteres fisiológicos, comportamentais ou morfológicos. Especialmente para a região amazônica, que possui alta biodiversidade, muitos organismos podem apresentar ampla distribuição e estar segregados espacialmente em diferentes ambientes.

Dentre os principais ecossistemas da Amazônia estão as florestas inundáveis de várzea e as florestas não inundáveis de terra firme, as quais são bastante distintas em aspectos abióticos, o que pode gerar diferentes pressões evolutivas sobre a biota. As florestas de terra firme nunca ficam inundadas, o que favorece maior diversidade de espécies animais e vegetais em comparação às florestas de várzea. Por outro lado, a inundação sazonal (isto é, repeti o do fen meno a cada esta o de cheia e seca) dos rios da Amazônia exerce forte influência ecológica sobre as espécies que vivem nesses ambientes. Diversas plantas e animais precisam desenvolver estratégias de adapta es fisiológicas, etol gicas (comportamentais) e morfológicas para sobreviverem às mudanças impostas pelas inunda es. Muitas espécies terrestres têm a dispersão limitada pelo alagamento dos hábitats, e animais podem ficar isolados nas copas das árvores durante o pico da cheia dos rios, pois esses são os únicos hábitats disponíveis.

Neste trabalho utilizamos como modelo a jararaca-da-Amazônia *Bothrops atrox* (Figura 1) para compreender como florestas inundáveis de várzea e florestas não inundáveis de terra firme selecionam morfologicamente as serpentes amazônicas. A jararaca-da-Amazônia é uma serpente amplamente distribuída pela bacia Amazônica, responsável pela maioria dos acidentes ofídicos na região. Nos baseamos na premissa de que diferentes pressões evolutivas causam diferenças

¹ Texto de comunica o científica formatado conforme as normas do "Canal Ciência - Portal de Divulga o Científica e Tecnológica", do Instituto Brasileiro de Informa o em Ciência e Tecnologia (Ibict).

morfológicas entre os tipos de habitats. Essa premissa nos permite levantar a hipótese de que *Bothrops atrox* que primariamente são serpentes terrestres, podem apresentar características arborícolas nas florestas de várzea durante o período de cheia dos rios.

Como a pesquisa foi realizada?

Basicamente, a pesquisa resumiu-se em investigar se populações de serpentes terrestres de florestas inundáveis de várzeas amazônicas ao ficarem abrigadas nas copas das árvores têm sua morfologia alterada para adaptarem-se e sobreviverem às mudanças sazonais causadas pela cheia dos rios. Para isso, foram tomadas medidas do tamanho do corpo (comprimento do corpo, diâmetro do corpo e comprimento da cauda) e da cabeça das serpentes (comprimento, altura e largura da cabeça) (Figura 1). Essas estruturas morfológicas foram selecionadas para serem medidas pois estão associadas à forma de alimentação e deslocamento das serpentes, os quais podem mudar em diferentes habitats. Os exemplares de jararacas provenientes de várzea e de terra firme estavam depositados nas coleções herpetológicas (coleção de anfíbios e répteis) da Universidade Federal do Oeste do Pará e da UNAMA campus de Santarém. Para testar as diferenças morfológicas entre as jararacas foi empregado um método baseado na variação de diferenças entre grupos amostrais, chamado de análise de discriminante de componentes principais. As diferenças entre esses grupos (várzea e terra firme) foram testadas posteriormente por análises estatísticas.

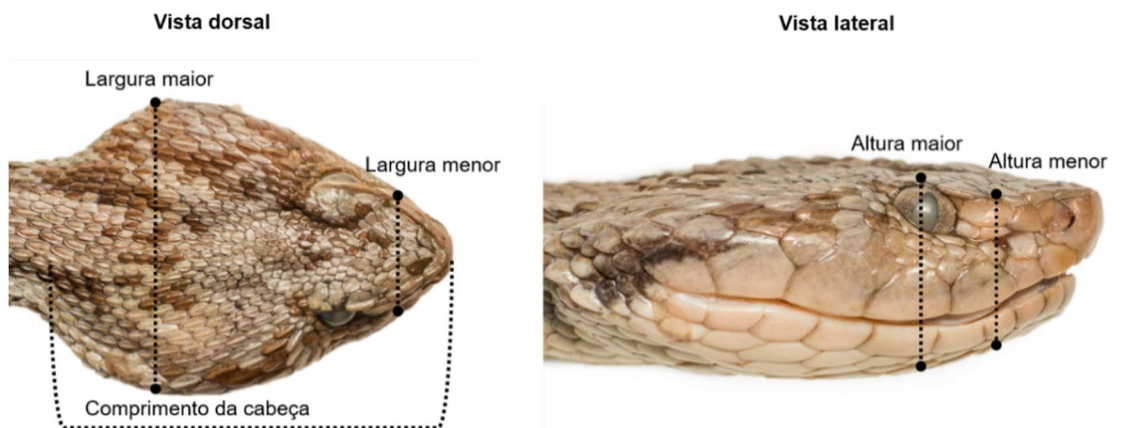


Figura 1: Medidas de comprimento, largura e altura da cabeça da jararaca *Bothrops atrox*.

Qual a importância da pesquisa?

Os resultados gerados neste trabalho permitem preencher uma lacuna existente na literatura sobre como fatores temporais como as cheias dos rios influenciam na dinâmica populacional e evolutiva das serpentes amazônicas, pois não existem trabalhos que enfoquem nessas pressões ambientais como preditores evolutivos tanto em escalas locais quanto em escalas mais amplas. Os conhecimentos obtidos sobre as estratégias morfológicas adaptativas podem ser complementares a dados genéticos, que são outra importante forma de avaliar a evolução dos seres vivos que compõem as florestas de várzea e terra firme.

Finalmente, pesquisas como essa fornecem subsídio para a elaboração de medidas diferenciadas de conservação da biodiversidade em diferentes ambientes.

Autores

Ana Maria de Sousa Coelho^{1, 3}, Alfredo P. Santos-Jr¹ e Rafael de Fraga²

Instituição

¹Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Rua Vera Paz, s/n – Salé, Santarém - PA, 68040-255

²Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia

³Autor para correspondência: E-mail: anamariascoelho@gmail.com

Sugestões de leitura:

Lopes A, Piedade MTF (Org.) 2015. Conhecendo as áreas úmidas amazônicas: uma viagem pelas várzeas e igapós. 1. ed. Manaus: Inpa. 170p.

Mayr, E. 2009. Como são explicadas as mudanças evolutivas e a adaptabilidade? In: Mayr, E. (org). O que é a evolução. 2. ed. Rio de Janeiro: Rocco. Pp. 99-179.

2. CAPÍTULO I

Morphological evidence supports evolutionary divergence mediated by seasonal flooding in Amazonia

Artigo formatado nas normas da Revista PLOS One, exceto pelas figuras inseridas no corpo do texto para facilitar a leitura.

Status: Submetido

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

PloS One

Morphological evidence supports evolutionary divergence mediated by seasonal
flooding in Amazonia

Ana Maria Coelho^{1*}, Alfredo P. Santos-Jr¹, Rafael de Fraga²

¹ Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Universidade Federal do Oeste
do Pará, Santarém, Pará, Brazil

² Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia, Universidade
Federal do Oeste do Pará, Santarém, Pará, Brazil

* Corresponding author

E-mail: anamariascoelho@gmail.com (AMC)

23 **Abstract**

24 Spatial variation in morphological traits emerges in response to different selective
25 pressures experienced when geographic range crosses heterogeneous habitats. In
26 seasonally flooded habitats, animal adaptation is conspicuously demonstrated by the
27 ability to swim among tops of hills that form islands during flooding, or by the ability to
28 climb treetops above the water level. We have noticed that a widely distributed
29 terrestrial snake is forced to climb treetops in flooded *várzea* forests of eastern
30 Amazonia. We hypothesized that seasonal flooding of habitats selects morphotypes
31 by the levels of adaptation to use treetops as foraging and resting sites. We
32 measured seven morphological variables on 30 *Bothrops atrox* specimens from
33 floodable *várzea* forests, and 25 specimens from non-floodable *terra firme* forests.
34 Models of Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) separately by sex
35 showed morphological differences between these habitat types, which were
36 independent of geographic distance. We found longer tail and wider head in females
37 and lower head and slender body in males from the *várzea* forests sampled. Despite
38 sex-biased divergences in selected morphological traits, our results converge to
39 natural selection toward arboreality in seasonally flooded habitats. We ultimately
40 show an intermediary stage of evolutionary divergence, although speciation is not
41 clear as in island-isolated populations.

42

43 **Introduction**

44 The range of geographic distribution of biodiversity is often limited by
45 environmental filtering [1, 2]. In general, species are absent from portions of
46 environmental gradients that represent suboptimal conditions for survival and

47 reproduction [3]. However, the area occupied by an organism may be increased by
48 means of phenotypic plasticity in morphological, physiological or behavioral traits [4,
49 5]. Spatial variation in such attributes emerges in response to different selective
50 pressures experienced when geographic range crosses heterogeneous habitats [6,
51 7, 8]. Therefore, widely distributed species tend to show morphological variation [9,
52 10], which may be associated with genetic divergence between categorical habitats
53 [11], or along continuous gradients [12].

54 Amazonian rainforests may be heterogeneous enough that environmental
55 filtering causes species spatial turnover throughout continuous landscapes, even at
56 regional or local scales [13, 14, 15]. Nevertheless, species that are able to cross
57 different habitat patches may colonize wide geographic ranges, which cover high
58 levels of environmental heterogeneity [16]. Consequently, widely distributed species
59 may show high levels of variation in body color or morphological traits, although the
60 distribution of color or morphotypes are not necessarily geographically explicit.

61 Intraspecific morphological divergence in Amazonia has been attributed to
62 polymorphism [17, 18], riverine barriers [19], and seasonal flooding of habitats [20,
63 21]. Ultimately, non-random distribution of morphotypes may reflect recent
64 divergence processes, which suggest an intermediate stage of speciation [19].
65 Therefore, analyzing spatially explicit morphological data is a special opportunity to
66 understand patterns of evolutionary divergence and the origins of biodiversity.

67 Environmental heterogeneity across Amazonia has been often classified in
68 seasonally flooded (e.g. *várzea*) and non-flooded forests (e.g. *terra firme*). Although
69 such categorical levels represent extreme portions of continuous gradients of
70 vegetation cover, soil water saturation and nutrient availability, they are justified by
71 conspicuous differences in attributes of biodiversity. For instance, *terra firme* forests

72 are not widely flooded for long periods, which causes greater diversity of animal and
73 plant species compared to *várzea* forests [22, 23, 24, 25]. However, such difference
74 may be reversed due to seasonal fluctuation in the river levels. Periods of resource
75 scarcity during the dry season may stimulate migration to *várzea* forests, where
76 sediment-rich soils increase the availability of nutrients during non-flooded seasons
77 [26]. During flooding, *várzea* forests may considerably limit plant survival and
78 dispersal capacity of terrestrial animals, since the availability of adequate habitats is
79 considerably reduced for several months every year [24, 27]. In addition,
80 environmental filtering and limited dispersal cause differences in assemblage
81 composition of flying [28, 29] and non-flying mammals [24, 27, 30], amphibians and
82 squamate reptiles [31]. Therefore, assuming *várzea* and *terra firme* forests as distinct
83 biogeographic units at local or regional scales is widely based on evidence, which
84 makes this an efficient approach for modeling ecological hypotheses that support
85 conservation decision making.

86 Ecological dynamics in the *várzea* forests are highly dependent on
87 topography, because altitudinal variation can generate islands formed by tops of hills
88 above the water level. Animal species may be isolated on these islands during
89 flooding, or islands may function as habitat patches for animals that are good
90 swimmers [30]. Alternatively, treetops above the water level may provide foraging
91 and resting sites for arboreal species during flooding. Trees have dealt with the lack
92 of oxygen and light during flooding through morphological, metabolic and
93 physiological plasticity, associated with high capacity to recover dead tissues [32].
94 However, probabilities of animals to occupy treetops may be highly dependent on
95 morphological and physiological adaptations for climbing. For instance, arboreal
96 snakes are often slender and have longer tails than terrestrial or aquatic snakes,

97 which enables the physical and physiological conditions required for climbing [33]. In
98 addition, seasonal flooding also causes differences in estimated assemblage
99 composition of rats and small marsupials [34], frogs and Squamata reptiles [31].
100 Since these animals are prey, one could expect morphological trait selection in
101 predators, via prey size range or encounter rates of varying-sized prey, and specially
102 in gap-limited predators such as snakes [35]. Therefore, it is reasonable to
103 hypothesize that forced arboreality exerts selective pressure on morphological traits
104 that reflect ability for climbing (e.g. tail length, body diameter), and overall differences
105 in diet between different habitats (e.g. head measurements). We note that a pitviper
106 snake *Bothrops atrox* (Linnaeus, 1758) that is primarily terrestrial in *terra firme* forests
107 tends to become strictly arboreal in the flooded *várzea* forests of the eastern
108 Amazonia. We hypothesize that specimens are morphologically distinct between
109 these habitat types.

110 In this study, we use the Amazon Lancehead *Bothrops atrox* (Serpentes:
111 Viperidae: Crotalinae) to investigate the effects of seasonal flooding on intraspecific
112 morphological divergence. We test the general hypothesis that seasonal flooding of
113 habitats selects morphotypes by the levels of adaptation to use treetops as foraging
114 and resting sites. Although adult and especially juvenile lanceheads may eventually
115 climb trees in flooded and non-flooded forests, they are considered as primarily
116 terrestrial [36, 37]. We measured variables thought to express the ability for climbing
117 or possible differences in diet between *várzea* and *terra firme*.

118 The Amazon Lancehead provides a good opportunity to investigate
119 intraspecific morphological variation because it is widely distributed across
120 heterogeneous habitats in Amazonia, and it shows conspicuous variations in body
121 color and morphology (see [37]). Additionally, lanceheads may be genetically

122 different between *várzea* and *terra firme* forests, suggesting that populations
123 experience distinct evolutionary pressures along environmental gradients [11]. Here,
124 we focus on demonstrating that the genetic divergence found in [11] may be
125 associated with morphological differences between habitats, which are specifically
126 caused by seasonal flooding.

127

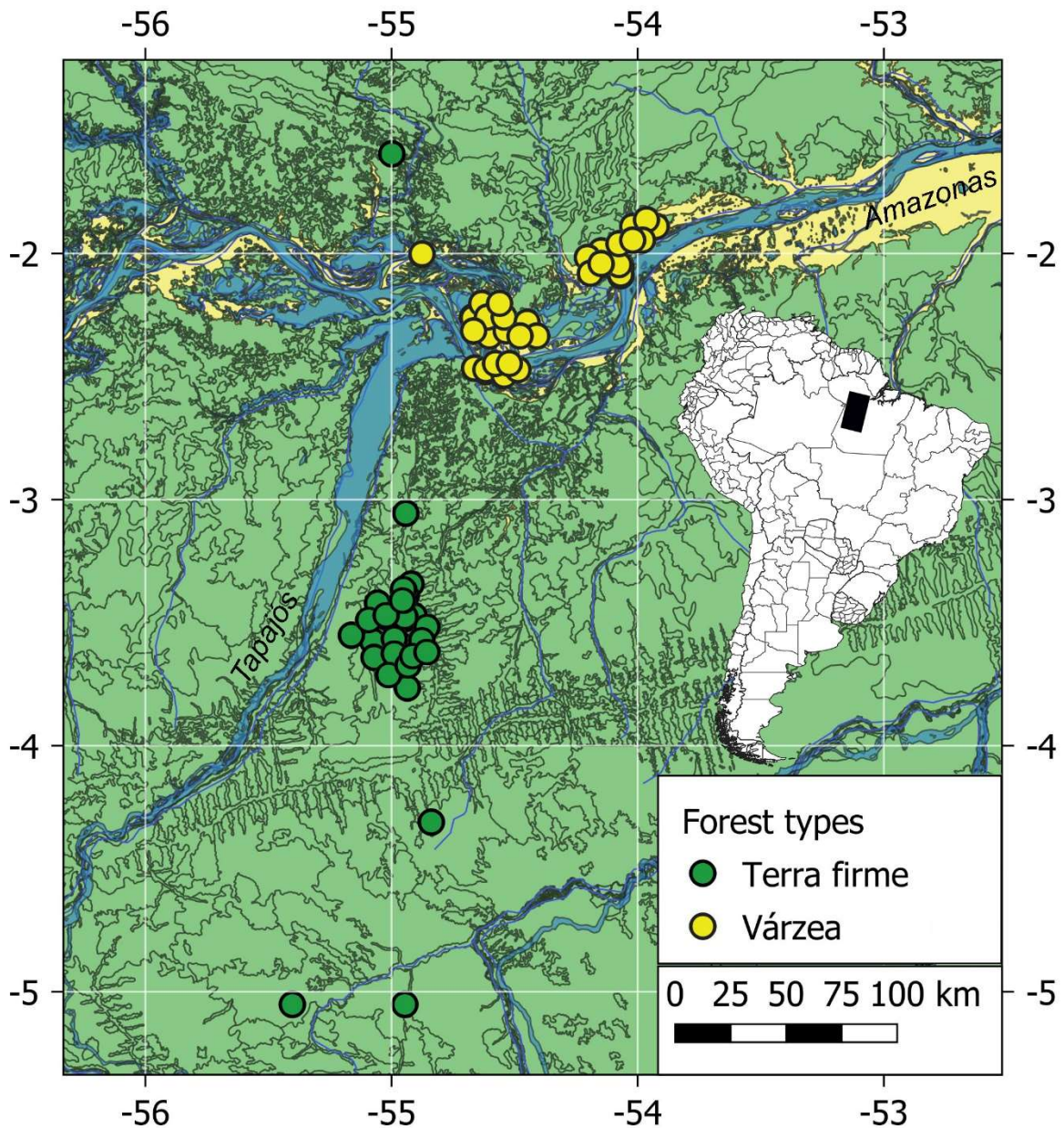
128 **Methods**

129 **Sampling and morphological measuring**

130 We measured 55 juvenile and adult *Bothrops atrox* specimens (24 females, 31
131 males) deposited in the herpetological collections of Universidade Federal do Oeste
132 do Pará (UFOPA-H) and Universidade da Amazônia (UNAMA), both in Santarém,
133 Pará, Brazil. The *várzea* forests were represented by 30 specimens (nine females,
134 21 males), and the *terra firme* forests were represented by 25 specimens (15
135 females, 11 males).

136 Our sampling covers approximately 4000 km² along the banks of the
137 Amazonas River and within the Tapajós River basin, in the eastern Amazonian,
138 Brazil (Fig 1). The geographical coverage of the study area is equivalent to less than
139 0.6% of the *B. atrox* range (entire Amazon Basin). We attempted to sample a
140 relatively small area to reduce possible effects of uncontrolled variables on the
141 morphological variation found (e.g. great geographic distances, unmeasured
142 environmental heterogeneity). Additionally, genetic divergence in *B. atrox* populations
143 between *várzea* and *terra firme* forests has been found in the region covered by our
144 sampling [11]. Therefore, we were able to investigate whether evolutionary
145 divergence between habitat types can be also demonstrated by morphological data.

146 Our sampling covers both banks of the Amazonas River, but riverine barrier
 147 effects on the morphological variation are unlikely, because islands that emerge in
 148 the river channel during the dry season allow stepping-stone dispersal [11].
 149 Furthermore, the only analyzed specimen from *terra firme* forests in the north bank of
 150 the Amazonas River was not identified as an outlier in any of our models.



151

152 **Figure 1. Distribution of *Bothrops atrox* specimens analyzed.** Distribution of

153 *Bothrops atrox* specimens measured to test morphological differences between

154 *várzea* (flooded) and *terra firme* (non-flooded) forests in Amazonia. Some
 155 coordinates are approximate, based on centroid coordinates of sampling sites.

156 We used a digital caliper (0.1 mm accuracy) to measure snout-vent length
 157 (SVL), tail length, head length, head width in the snout region, head width in the eye
 158 region, head height in the snout region, head height in the eye region, and diameter
 159 in the middle of the body. To reduce the effects of measurement errors on
 160 morphological variation [38], we measured each variable five times on
 161 nonconsecutive days, and we used average values.

162 To reduce the effects of body size and allometry, we transformed all variables
 163 [39]. We applied the formula $Y_i (SVL_0/SVL_i)^b$, where Y_i is the observed value, SVL_0 is
 164 the average SVL, SVL_i is the individual SVL, and b is the slope of a linear regression
 165 between $\log Y_i$ and $\log SVL$. Additionally, we scaled the transformed variables by
 166 subtracting the mean and dividing by the standard deviation. This approach was
 167 useful in reducing the effects of very different variances among morphological
 168 variables [40]. The morphological dataset is summarized in Table 1.

169

170 **Table 1.** Summary of morphological variables measured in *Bothrops atrox* specimens
 171 (Females: N = 24; Males: N = 31). The values are corrected for body size and
 172 allometry. SD = standard deviation.

Variable	Females		Males	
	Mean	SD	Mean	SD
Tail length	101.03	8.69	107.38	7.33
Head length	31.42	1.59	29.63	1.69
Head width_snout	20.29	2.26	19.26	1.55
Head width_eyes	10.17	0.84	10.26	0.77
Head height_snout	9.08	0.89	8.43	0.59
Head height_eyes	10.87	1.51	10.37	0.76
Body diameter	58.30	7.85	56.58	4.62

173

174 **Data analysis**

175 To estimate morphological differences between specimen groups we used
176 Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC). This method was efficient to
177 our study system because the discriminant function optimize variation between
178 groups while minimize variation within groups [41]. Therefore, the morphological
179 variation detected by DAPC is expected to be less biased by within-habitat variation
180 than similar multivariate ordination methods, such as PCA [42]. We implemented
181 DAPC models in the adegenet R-package [41], defining numbers of retained principal
182 component axes using a-scores. This approach optimizes probabilities that the
183 samples are allocated to a same group over successive random permutations, which
184 avoids excessive retention of principal components, and the consequent false
185 clustering [43]. We set up an initial DAPC model defining sex as *a priori* groups, to
186 decide whether to run the subsequent analyzes with the full dataset or separately by
187 sex, in the case of sexual dimorphism. We set up the subsequent models assuming
188 habitat types (*várzea* and *terra firme*) as *a priori* groups. To control the quality of the
189 groups defined *a priori* in all DAPC models, we checked posterior probabilities of the
190 specimens being correctly allocated in *várzea* or *terra firme*.

191 We obtained statistical support for the DAPC models using ANOVA. We used
192 the scores produced by the discriminant function axis from each DAPC model as
193 dependent variables, and sex or habitat types as categorical independent variables.
194 All ANOVA models were validated by residuals not differing from theoretical normal
195 distributions (Shapiro-Wilk $P > 0.35$ in all cases).

196 To evaluate the effects of geographic distance on the morphological variation
197 we tested spatial autocorrelation in the residuals of the ANOVA models. We used
198 pairwise Euclidean distances among geographical coordinates as dependent

199 variables in Moran's I tests (separately by sex) for global spatial autocorrelation, and
200 Geary's C tests for spatial autocorrelation at local scales [44] along six distance
201 classes. We set up Geary's C models attempting to reach the best solution regarding
202 homogeneity in the distribution of pairwise comparisons among geographic distance
203 classes.

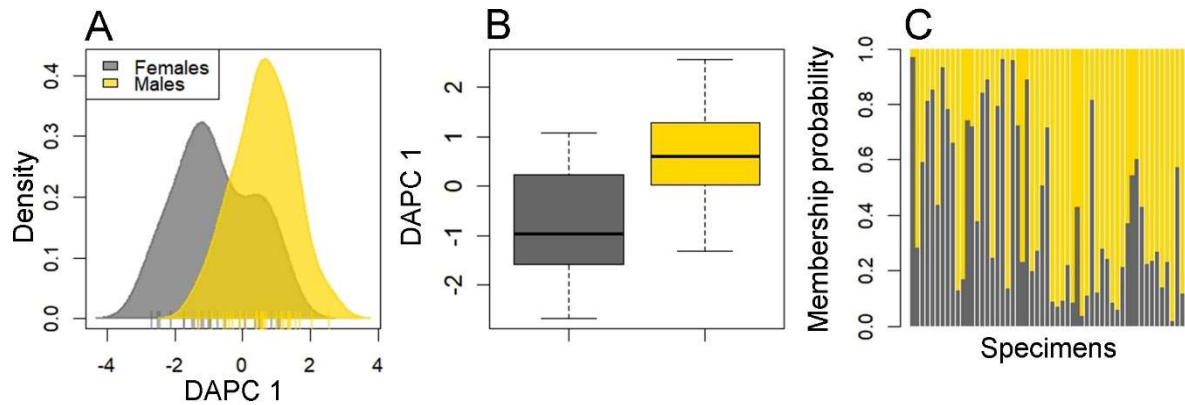
204

205 **Results**

206 **Sexual dimorphism**

207 The DAPC modeled to test sexual dimorphism was based on seven principal
208 components axes, which captured 100% of the observed variance in the pairwise
209 morphological dissimilarities. Although some overlap in morphological variables were
210 detected along axis 1 of the DAPC (Fig 2A), significant differences (ANOVA $F_{1-53} =$
211 27.83, $P < 0.0001$) in the scores produced between females and males sustained
212 sexual dimorphism (Fig 2B). This finding was supported by high probabilities (Fig 2C)
213 that the samples were correctly allocated in the female (70%) and male (80%)
214 groups. Sexual dimorphism was mainly associated with differences in tail length
215 (longer in males), head length (longer in females) and head height in the snout region
216 (higher in females). The contributions of these variables to the solution returned by
217 DAPC were 40, 27 and 20%, respectively. The other variables contributed less than
218 5% to the sexual dimorphism. Sexual dimorphism suggests that morphological traits
219 respond to different evolutionary pressures between sexes, which led us to analyze
220 morphological differences between habitats separately by sex.

221



222

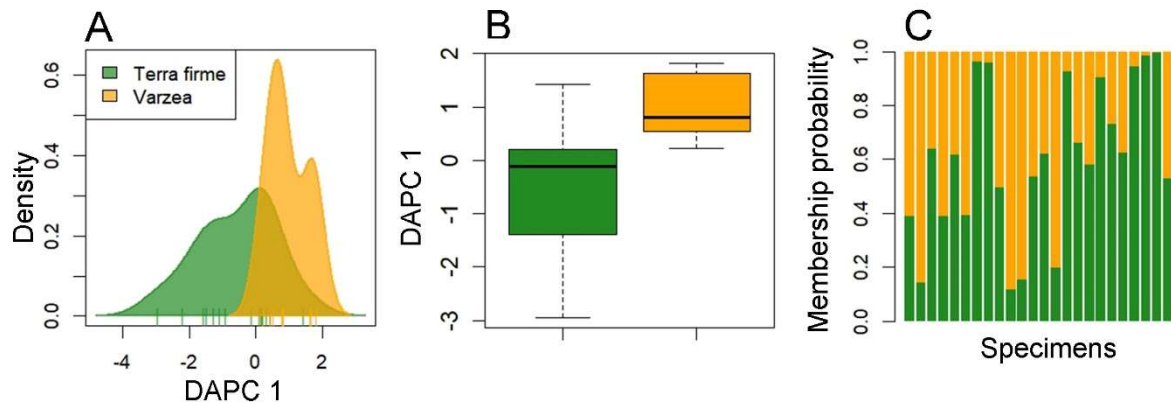
223 **Figure 2. Sexual dimorphism in *Bothrops atrox* from eastern Amazonia.** Sexual
 224 dimorphism in *Bothrops atrox* from eastern Amazonia, based on seven morphological
 225 variables corrected for body size and allometry. A) Distribution of specimen densities
 226 along the first axis produced by a Discriminant Analysis of Principal Components
 227 (DAPC). B) Differences in the scores generated by the DAPC between sexes. C)
 228 Probabilities that the specimens were correctly allocated in one of the groups
 229 (females and males).

230

231 Morphological variation between habitat types

232 The DAPC model based on female's data was set up with five principal
 233 components axes, which captured 90% of the observed variance in the original
 234 morphological data. We found that females are morphologically different between
 235 *varzea* and *terra firme* forests (Fig 3A). This finding was supported by significant
 236 differences (ANOVA $F_{1-22} = 13.59$, $P = 0.001$) in the scores produced by DAPC 1
 237 between habitat types (Fig 3B), and high probabilities that the samples were correctly
 238 allocated in the *varzea* (80%) and *terra firme* (93%) groups (Fig 3C). Morphological
 239 differences between habitat types were mainly associated to tail length (70%
 240 contribution to the morphological variation detected by the DAPC), and head width in
 241 the snout region (15%). Overall, females from *varzea* forests had longer tail (Fig 5A)

242 and wider head in the snout region (Fig 5B) than specimens from *terra firme*. The
 243 other variables contributed 8% or less for the solution returned by the DAPC model.
 244



245

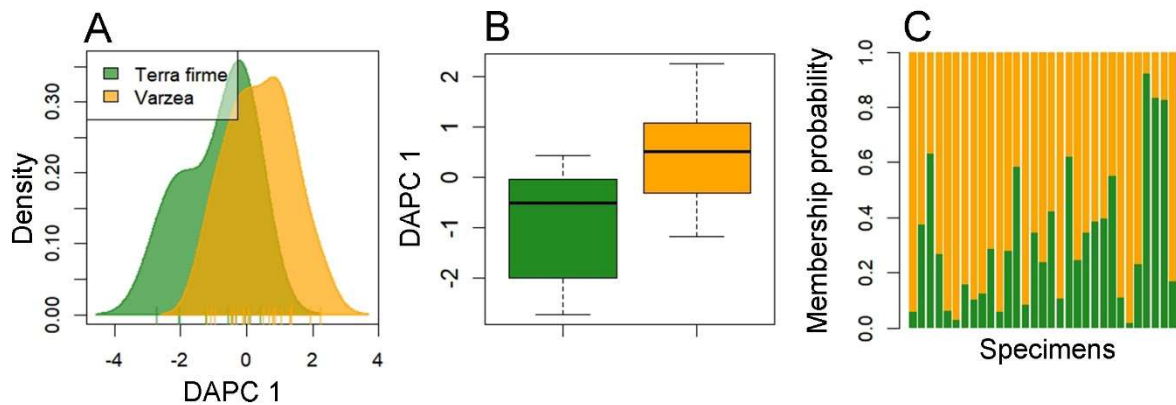
246 **Figure 3. Morphological variation in females *Bothrops atrox* in function of**
 247 **habitat types in eastern Amazonia.** Morphological variation in females *Bothrops*
 248 *atrox* in function of habitat types in eastern Amazonia, based on seven morphological
 249 variables corrected for body size and allometry. A) Distribution of specimen densities
 250 along the first axis produced by a Discriminant Analysis of Principal Components
 251 (DAPC). B) Differences in the scores generated by the DAPC between habitats. C)
 252 Probabilities that the specimens were correctly allocated in one of the groups (*várzea*
 253 and *terra firme*).

254

255 For males, the DAPC model was set up with four principal components axes,
 256 which capture 85% of the dissimilarities observed in the morphological data. The
 257 DAPC revealed significant morphological differences (ANOVA $F_{1-22} = 11.30$, $P =$
 258 0.002) between *várzea* and *terra firme* forests (Figs 4A and 4B). This finding was
 259 supported by a high *a posteriori* probability (Fig 4C) that the specimens have been
 260 correctly allocated in *várzea* (86%), although a smaller proportion of specimens were
 261 correctly allocated in *terra firme* (40%). The variables that contributed most to the

262 morphological differences between habitat types were head height in the snout
 263 region (40%), head height in the eye region (32%) and diameter in the middle of the
 264 body (18%). The specimens from *várzea* had lower head (Fig 5C) and a slender
 265 body (Fig 5D) than specimens from *terra firme*. The other variables contributed 7% or
 266 less to the solution returned by DAPC.

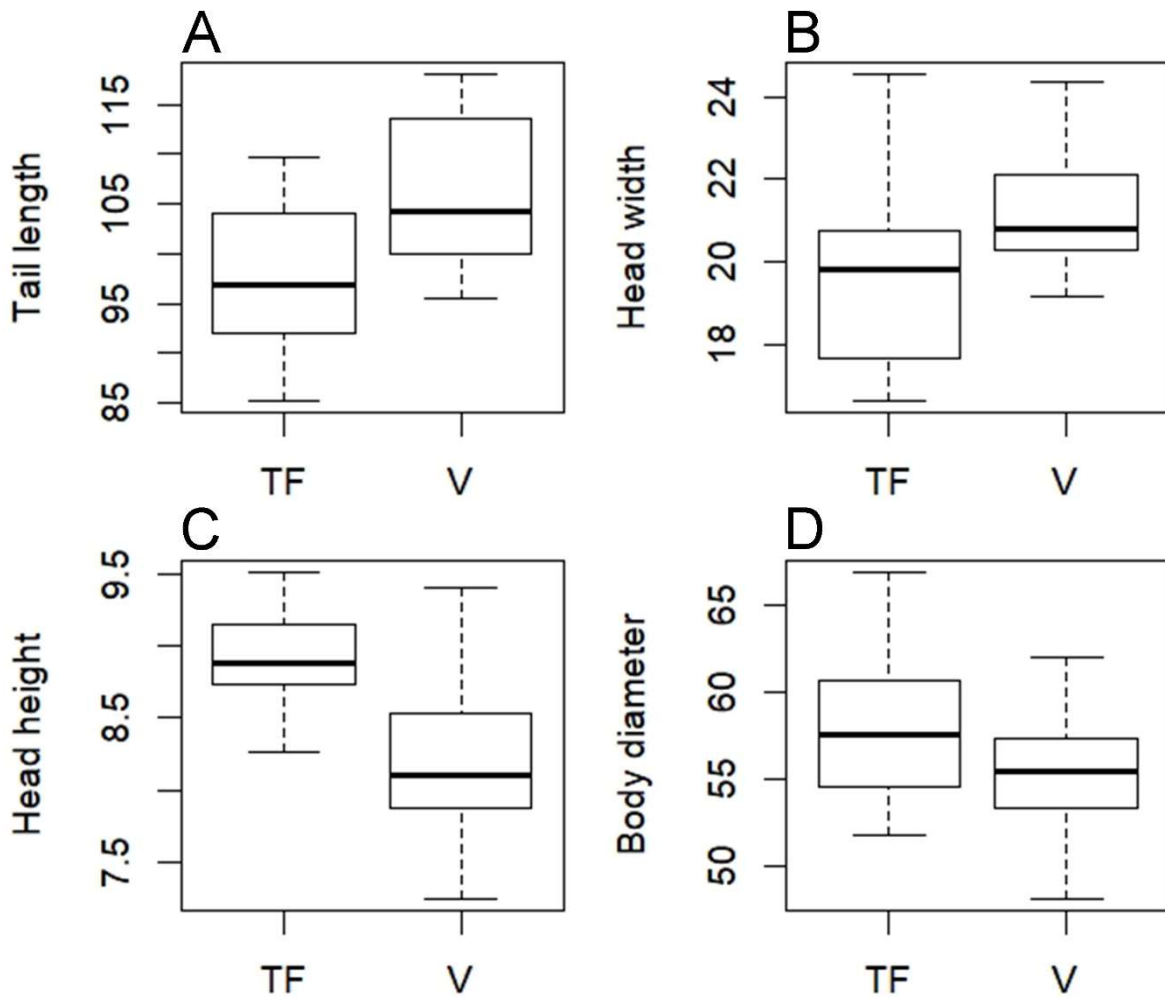
267



268

269 **Figure 4. Morphological variation in males *Bothrops atrox* in function of habitat**
 270 **types in eastern Amazonia.** Morphological variation in males *Bothrops atrox* in
 271 function of habitat types in eastern Amazonia, based on seven morphological
 272 variables corrected for body size and allometry. A) Distribution of specimen densities
 273 along the first axis produced by a Discriminant Analysis of Principal Components
 274 (DAPC). B) Differences in the scores generated by the DAPC between habitats. C)
 275 Probabilities that the specimens were correctly allocated in one of the groups (*várzea*
 276 and *terra firme*).

277



278

279 **Figure 5. Morphological differences in females and males *Bothrops atrox*.**

280 Morphological differences in females (A and B) and males (C and D) *Bothrops atrox*
 281 between *terra firme* (TF) and *várzea* (V) forests in eastern Amazonia. The variables
 282 were identified by a Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) as more
 283 relevant for the morphological divergence between habitat types. The variables were
 284 corrected for body size and allometry.

285

286 The Moran's I test showed that the morphological differences between habitat
 287 types were not globally biased by spatial autocorrelation for females ($P = 0.86$) and
 288 males ($P = 0.69$). This finding was consistently captured by the Geary's C tests for

289 local-scale spatial autocorrelation, for which the null hypothesis was not rejected in
 290 any of the six distance classes (Table 2).

291

292 **Tabela 2.** Summary of Geary's C tests for spatial autocorrelation in the residuals of
 293 ANOVA models used to test morphological differences in *Bothrops atrox* between
 294 *várzea* and *terra firme* forests. The models were set up with six geographic distance
 295 classes, separately by sex. Distances are shown in kilometers. N = number of
 296 pairwise comparisons per distance class.

Females				Males			
Distance	C	P	N	Distance	C	P	N
32	0.82	0.10	170	22	1.03	0.70	274
96	0.88	0.25	82	66	0.96	0.39	206
160	1.06	0.74	206	110	0.66	0.10	116
224	0.73	0.19	54	155	0.87	0.18	182
288	1.58	0.93	18	198	0.92	0.32	116
352	1.32	0.86	22	242	1.07	0.55	34

297

298 Discussion

299 We showed that environmental heterogeneity in eastern Amazonia drives the
 300 evolutionary history of a widely distributed species through selection of morphological
 301 traits associated with habitat use. Although *Bothrops atrox* is traditionally considered
 302 as habitat-generalist [36, 45], we found spatially explicit morphological variation
 303 associated with environmental filtering pressure acting towards habitat specialization.
 304 Spatial variation in selection of morphological traits may be related to wide
 305 geographic range crossing heterogeneous habitats [10], and suggests natural
 306 selection favoring locally specialized phenotypes [9, 46]. Different morphotypes have
 307 been predominant in the populations of distinct habitats, in a way to optimize
 308 functional responses to environmental conditions [1, 47, 48]. Ultimately, our results

309 show that evolutionary divergences between *várzea* and *terra firme* forests, which
310 have been detected by genetic data of *B. atrox* [11], may be also detected by
311 morphological evidence.

312 Environmental gradients selecting morphological traits is an expected scenario
313 for species that are widely distributed across heterogeneous habitats [49, 50], but
314 this is often inferred from indirect evidence [10]. Here we demonstrated that selection
315 of morphological traits is directly caused by seasonal flooding of habitats, which
316 forces snakes to occupy treetops above the water level during several months. This
317 finding is supported by the fact that morphological differences between habitat types
318 were specifically caused by traits associated with arboreality. For instance, the
319 gravitational force imposed during climbing generates levels of cardiovascular stress
320 that should be compensated by a combination of elongated blood vessels along the
321 tail and small mass/length ratio [33, 51]. Consequently, arboreal snakes typically
322 show longer tails and slender bodies than terrestrial or aquatic snakes [52], and
323 snake assemblages may be richer in long-tailed slim species in forests than
324 savannas [53]. In addition, the relatively low compliance of long tails is relevant for
325 the blood flow through vital organs (specially the brain) in the vertical position
326 required for climbing [54]. Therefore, longer tails and slender bodies in the flooded
327 *várzea* forests are not only morphological but also physiological adaptive
328 advantages.

329 Particularly in vipers, arboreality may result in selective pressure on head,
330 body and tail size, and on the position of the heart relative to the body [51, 55, 56].
331 While divergence in most of these characters seems to be associated with adaptive
332 advantages for climbing, morphological variation in the head may be more
333 associated with diet [56, 57, 58]. *Bothrops atrox* may feed on a wide variety of prey

334 such as centipedes, frogs, lizards, snakes and mammals, despite adults tend to
335 avoid low-calorie ectotherm prey [36, 59]. Assemblage composition may differ
336 between *várzea* and *terra firme* forests for most of these prey types, as observed for
337 frogs, Squamata reptiles [31] and small mammals [34]. We hypothesized that (i)
338 different encounter frequencies of varying prey size between *várzea* and *terra firme*
339 forests may select morphotypes by head size, since snakes are gap-limited predators
340 [60]. This is supported by differences in the composition of the *B. atrox* venom
341 between *várzea* and *terra firme* forests [11, 61], since biochemical structure of the
342 venom results from molecular adaptations to kill and digest prey [62]. Moreover, (ii)
343 the enlarged head in the *várzea* forests compensates for the seasonal absence of
344 small ground frogs (e.g. *Adenomera andreae*, *Pristimantis* sp.) that are important
345 prey for juveniles in the *terra firme* forests [36]. An ability to swallow calorie-rich large
346 prey that is developed ontogenetically early should be selectively advantageous, and
347 therefore proportionately large-headed neonates tend to be born [63]. Sexual
348 dimorphism in snakes is more likely innate than ontogenetically acquired by
349 environmental pressure [35]. Nonetheless, spatially explicit dietary datasets, that are
350 not biased by rapid digestion of fragile tissues [64], are required to test both
351 hypotheses appropriately.

352 Our data showed an expected sexual dimorphism determined by longer tail in
353 males, which is caused by presence of hemipenial muscles. Larger head in females
354 is more likely associated with ecological than sexual selection, because snakes are
355 gap-limited predators, and do not use the feed apparatus in any social interaction
356 [35]. Sexual dimorphism in the context of our study has caused selective pressure on
357 distinct morphological traits between sexes. This finding is largely supported by
358 sexual-biased dispersal, an expected phenomenon for polygynous species, for which

359 sexes have different abilities and needs to acquire energy stock for reproduction [65,
360 66]. Female vipers tend to be more sedentary and hunt endothermic prey more often
361 than males, especially when pregnant. Consuming calorie-rich endothermic prey is
362 functionally advantageous to produce offspring or simply to provide for the larger
363 bodies of females [67]. Males on the other hand, are more diet-generalist and cover
364 larger areas looking for mating [68, 69]. We suggest that longer tails and wider heads
365 in females are adaptive advantages for acquiring fat reserves for live and reproduce
366 on the treetops. Males, on the other hand, have evolved lower heads and slender
367 bodies in the *várzea* forests as advantageous traits to acquire agility for mating
368 dispersal across treetops.

369 We have shown morphological evidence supporting effects of seasonal
370 flooding on the evolutionary history of a widely distributed species across Amazonia.
371 This finding is strongly supported by the fact that *B. atrox* contains genetically distinct
372 lineages between *várzea* and *terra firme* forests [11]. Despite sex-biased differences
373 in morphological traits under adaptive pressure in flooded forests, our results
374 converge to the general conclusion that seasonal flooding forces morphological
375 adaptation specifically selected for arboreality. Morphological variation resulting from
376 environmental pressure has been mainly demonstrated at interspecific level, and
377 vicariously isolated populations that are forced to become arboreal tend to diverge in
378 distinct species [56]. Nonetheless, a remarkable finding of our study is an
379 intermediary stage of evolutionary divergence at fine spatial scale, whereby
380 intraspecific morphological variation has been revealed as a response to
381 environmental heterogeneity. Speciation processes in our study system are not as
382 clear as in island-isolated populations because higher levels of gene flow between
383 *várzea* and *terra firme* forests are to be expected during the dry season, when wide

384 dispersal corridors become available between these habitat types. Future studies
385 should focus on quantifying the levels and directions of gene flow between flooded
386 and non-flooded habitats, and also among *várzea* forests in different drainage basins
387 across Amazonia.

388

389 **Acknowledgments**

390 We thank Hipócrates Chalkidis for accessing the herpetological collection of
391 Universidade da Amazônia. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
392 Superior (CAPES) provides a master's scholarship to AMC and a postdoc grant to
393 RF. The team of the Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade (UFOPA)
394 provided valuable comments on the draft version of the manuscript, through a
395 publication workshop funded the Programa Nacional de Cooperação Acadêmica na
396 Amazônia (PROCAD-AM / CAPES, process nº 21/2018, file 88887.200472 / 2018-
397 00).

398

399 **Author Contributions**

400 Conceptualization: AMC, RF, APS

401 Data collect: AMC

402 Data analysis: AMC, RF, APS

403 Writing – original draft: AMC, RF, APS

404 Writing – review and editing: AMC, RF, APS

405

406

407

408 **References**

- 409 1. Mayr E. O que é evolução. 2nd ed. Rio de Janeiro: ROCCO; 2009.
- 410
- 411 2. Piatti L, Rosauer DF, Nogueira C, Strussmann C, Ferreira VL, Martins M. Snake
412 diversity in floodplains of central South America: Is flood pulse the principal driver?
413 Acta Oecol. 2019; 97: 34-41. [doi: 10.1016/j.actao.2019.04.003](https://doi.org/10.1016/j.actao.2019.04.003)
- 414
- 415 3. Kinupp VF, Magnusson WE. Spatial patterns in the understory genus *Psychotria*
416 in central Amazonia: effects of distance and topography. J Trop Ecol. 2005; 21(4):
417 363-74. [doi: 10.1017/S0266467405002440](https://doi.org/10.1017/S0266467405002440)
- 418
- 419 4. West-Eberhard MJ. Developmental plasticity and evolution. New York: Oxford
420 University Press; 2003.
- 421
- 422 5. Martínez-Freiría F, Santos X, Pleguezuelos JM, Lizana M, Brito JC. Geographical
423 patterns of morphological variation and environmental correlates in contact zones: a
424 multi-scale approach using two Mediterranean vipers (Serpentes). J Zool Syst Evol
425 Res. 2009; 47(4): 357-67. [doi: 10.1111/j.1439-0469.2008.00506.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2008.00506.x)
- 426
- 427 6. Qualls FJ, Shine R. Geographic variation in lizard phenotypes: importance of the
428 incubation environment. Biol J Linn Soc. 1998; 64(4): 477-91. [doi:](https://doi.org/10.1006/bijl.1998.0236)
429 [10.1006/bijl.1998.0236](https://doi.org/10.1006/bijl.1998.0236)
- 430
- 431 7. Begon M, Townsend CR, Harper J. Ecology: from individuals to ecosystems. 4st
432 ed. Malden: Blackwell; 2006.

433

434 8. Villamil J, Camargo A, Maneyro R. Morphological variation and sexual dimorphism
435 in *Liolaemus wiegmanni* (Duméril & Bibron, 1837) (Squamata: Liolaemidae) from
436 Uruguay. Acta Herpetol. 2017; 12(1): 3-17. [doi: 10.13128/Acta_Herpetol-18188](https://doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-18188)

437

438 9. Bolnick DI, Svanbäck R, Araújo MS, Persson L. Comparative support for the niche
439 variation hypothesis that more generalized populations also are more
440 heterogeneous. Proc. Natl. Acad. Sci. 2007; 104(24): 10075-9. [doi:](https://doi.org/10.1073/pnas.0703743104)

441 [10.1073/pnas.0703743104](https://doi.org/10.1073/pnas.0703743104)

442

443 10. Taylor JN, Ternes WM, Lattanzio MS. Natural selection favors local specialization
444 in a widespread habitat generalist. Evol., 2018; 72(10): 2090-9.

445 [doi:10.1111/evo.13584](https://doi.org/10.1111/evo.13584)

446

447 11. Gibbs HL, Sovic M, Amazonas D, Chalkidis H, Salazar-Valenzuela D, Moura-Da-
448 Silva AM. Recent lineage diversification in a venomous snake through dispersal
449 across the Amazon River. Biol J Linn Soc. 2018; 123(3): 651-65. [doi:](https://doi.org/10.1093/biolinnean/blx158)

450 [10.1093/biolinnean/blx158](https://doi.org/10.1093/biolinnean/blx158)

451

452 12. Fraga R, Ferrão M, Stow AJ, Magnusson WE, Lima AP. Different environmental
453 gradients affect different measures of snake β -diversity in the Amazon rainforests.

454 PeerJ Prep. 2018; 6: e27146v1. [doi: 10.7287/peerj.preprints.27146v1](https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.27146v1)

455

- 456 13. Fraga R, Lima AP, Magnusson WE. Mesoscale spatial ecology of a tropical
457 snake assemblage: the width of riparian corridors in central Amazonia. *Herpetol J.*
458 2011; 21(1): 51-7.
459
- 460 14. Bueno AS, Bruno RS, Pimentel TP, Sanaiotti TM, Magnusson WE. The width of
461 riparian habitats for understory birds in an Amazonian forest. *Ecol Appl.* 2012; 22(2):
462 722-34. [doi: 10.1890/11-0789.1](https://doi.org/10.1890/11-0789.1)
463
- 464 15. Rojas-Ahumada DP, Landeiro VL, Menin M. Role of environmental and spatial
465 processes in structuring anuran communities across a tropical rain forest. *Austral*
466 *Ecol.* 2012; 37(8): 865-73. [doi: 10.1111/j.1442-9993.2011.02330.x](https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2011.02330.x)
467
- 468 16. Fraga R, Lima AP, Magnusson WE, Ferrão M, Stow AJ. Contrasting patterns of
469 gene flow for Amazonian snakes that actively forage and those that wait in ambush. *J*
470 *Heredity.* 2017; 108(5): 524-34. [doi: 10.1093/jhered/esx051](https://doi.org/10.1093/jhered/esx051)
471
- 472 17. Passos P, Prudente AL. Morphological variation, polymorphism, and taxonomy of
473 the *Atractus torquatus* complex (Serpentes: Dipsadidae). *Zootaxa*, 2012; 3407(1): 2-
474 21. [doi: 10.11646/zootaxa.3407.1.1](https://doi.org/10.11646/zootaxa.3407.1.1)
475
- 476 18. Duarte MDO, Freitas TMDS, Prudente ALDC. Polychromatism of populations of
477 *Corallus hortulanus* (Squamata: Boidae) from the southern Amazon Basin, Brazil.
478 *Acta Amazon.* 2015; 45(4): 373-82. [doi:10.1590/1809-4392201500603](https://doi.org/10.1590/1809-4392201500603)
479

- 480 19. Simões PI, Lima AP, Magnusson WE, Hödl W, Amézquita, A. Acoustic and
481 morphological differentiation in the frog *Allobates femoralis*: relationships with the
482 upper Madeira River and other potential geological barriers. *Biotropica*. 2008; 40(5):
483 607-14. [doi: 10.1111/j.1744-7429.2008.00416.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2008.00416.x)
484
- 485 20. Parolin P. Morphological and physiological adjustments to waterlogging and
486 drought in seedlings of Amazonian floodplain trees. *Oecologia*. 2001; 128(3): 326-35.
487 [doi: 10.1007/s004420100660](https://doi.org/10.1007/s004420100660)
488
- 489 21. De Simone O, Müller E, Junk WJ, Schmidt W. Adaptations of Central Amazon
490 tree species to prolonged flooding: root morphology and leaf longevity. *Plant Biolog.*
491 2002; 4(04): 515-22. [doi: 10.1055/s-2002-34127](https://doi.org/10.1055/s-2002-34127)
492
- 493 22. Borges SH, Carvalhaes A. Bird species of black water inundation forests in the
494 Jaú National Park (Amazonas state, Brazil): their contribution to regional species
495 richness. *Biodivers Conserv.* 2000; 9: 201-14. [doi: 10.1023/A:1008902306499](https://doi.org/10.1023/A:1008902306499)
496
- 497 23. Adis J, Junk WJ. Terrestrial invertebrates inhabiting lowland river floodplains of
498 Central Amazonia and Central Europe: A review. *Freshw Biol.* 2002; 47: 711-31. [doi:
499 10.1046/j.1365-2427.2002.00892.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2002.00892.x)
500
- 501 24. Haugaasen T, Peres CA. Mammal assemblage structure in Amazonian flooded
502 and unflooded forests. *J Trop Ecol.* 2005; 21(2): 133-45. [doi:
503 10.1017/S026646740400207X](https://doi.org/10.1017/S026646740400207X)
504

- 505 25. Gama JRV, Souza ALD, Martins SV, Souza DRD. Comparação entre florestas de
506 várzea e de terra firme do Estado do Pará. *Revista Árvore*. 2005; 29(4): 607-16.
507
- 508 26. Salvador S, Clavero M, Leite Pitman R. Large mammal species richness and
509 habitat use in an upper Amazonian forest used for ecotourism. *Mamm Biol*. 2011;
510 76(2): 115-23. [doi: 10.1016/j.mambio.2010.04.007](https://doi.org/10.1016/j.mambio.2010.04.007)
511
- 512 27. Alvarenga GC. Dinâmica espacial da assembleia de mamíferos de médio e
513 grande portes em ambiente de várzea e terra firme na Amazônia Central. M.Sc.
514 Thesis, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA. 2017. Available from:
515 <https://bdtd.inpa.gov.br/handle/tede/2280>
516
- 517 28. Pereira MJ, Marques JT, Santana J, Santos CD, Valsecchi J, de Queiroz HL,
518 Beja P, Palmeirim JM. Structuring of Amazonian bat assemblages: the roles of
519 flooding patterns and floodwater nutrient load. *J Anim Ecol*. 2009; 78(6):1163-71. [doi:](https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2009.01591.x)
520 [10.1111/j.1365-2656.2009.01591.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2009.01591.x)
521
- 522 29. Bobrowiec PED, Rosa LS, Gazarini J, Haugaasen T. Phyllostomid bat
523 assemblage structure in Amazonian flooded and unflooded forests. *Biotropica*. 2014;
524 46: 312-21. [doi: 10.1111/btp.12102](https://doi.org/10.1111/btp.12102)
525
- 526 30. Bodmer RE. Responses of ungulates to seasonal inundations in the Amazon
527 floodplain. *J Trop Ecol*. 1990; 6: 191-201. [doi: 10.1017/S0266467400004314](https://doi.org/10.1017/S0266467400004314)
528

- 529 31. Waldez F, Menin M, Vogt RC. Diversity of amphibians and Squamata reptilians
530 from lower Purus River Basin, Central Amazonia, Brazil. *Biota Neotrop.* 2013; 13(1).
531 [doi: 10.1590/S1676-06032013000100029](https://doi.org/10.1590/S1676-06032013000100029)
532
- 533 32. Parolin P. Submerged in darkness: Adaptations to prolonged submergence by
534 woody species of the Amazonian floodplains. *Ann Bot.* 2008; 103(2): 359-76. [doi:](https://doi.org/10.1093/aob/mcn216)
535 [10.1093/aob/mcn216](https://doi.org/10.1093/aob/mcn216)
536
- 537 33. Sheehy III CM, Albert JS, Lillywhite HB. The evolution of tail length in snakes
538 associated with different gravitational environments. *Funct Ecol.* 2016; 30(2): 244-54.
539 [doi: 10.1111/1365-2435.12472](https://doi.org/10.1111/1365-2435.12472)
540
- 541 34. Patton JL, Da Silva MNF, Malcolm JR. Mammals of the Rio Juruá and the
542 evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bull Am Mus Nat Hist.* 2000;
543 2000(244): 1-307. [doi: 10.1206/0003-0090\(2000\)244<0001:MOTRJA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1206/0003-0090(2000)244<0001:MOTRJA>2.0.CO;2)
544
- 545 35. Shine R. Intersexual dietary divergence and the evolution of sexual dimorphism
546 in snakes. *Am Nat.* 1991; 138(1): 103-22. [doi: 10.1086/285207](https://doi.org/10.1086/285207)
547
- 548 36. Martins M, Oliveira ME. Natural history of snakes in forests of the Manaus region,
549 Central Amazonia, Brazil. *Herpetol Nat Hist.* 1998; 6(2): 78-150.
550
- 551 37. Fraga R, Magnusson WE, Abrahão CR, Sanaiotti T, Lima AP. Habitat Selection
552 by *Bothrops atrox* (Serpentes: Viperidae) in Central Amazonia, Brazil. *Copeia.* 2013;
553 2013(4): 684-90. [doi: 10.1643/CE-11-098](https://doi.org/10.1643/CE-11-098)

554

555 38. Cundall D, Deufel A, MacGregor G, Pattishall A, Richter M. Effects of size,
556 condition, measurer, and time on measurements of snakes. *Herpetologica*. 2016;
557 72(3): 227-234. [doi: 10.1655/Herpetologica-D-16-00006.1](https://doi.org/10.1655/Herpetologica-D-16-00006.1)

558

559 39. Leonart J, Salat J, Torres GJ. Removing allometric effects of body size in
560 morphological analysis. *J Theor Biol*. 2000; 205(1): 85-93. [doi:10.1006/jtbi.2000.2043](https://doi.org/10.1006/jtbi.2000.2043)

561

562 40. Becker RA, Chambers JM, Wilks AR. *The New S Language*. 1st ed. Boca Raton:
563 CRC Press;1988.

564

565 41. Jombart T. Adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic
566 markers. *Bioinformatics*. 2008; 24: 1403-5. [doi:10.1093/bioinformatics/btn129](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129)

567

568 42. McCoy MW, Bolker BM, Osenberg CW, Miner BG, Vonesh JR. Size correction:
569 comparing morphological traits among populations and environments. *Oecologia*.
570 2006; 148(4): 547-54. [doi: 10.1007/s00442-006-0403-6](https://doi.org/10.1007/s00442-006-0403-6)

571

572 43. Jombart T, Devillard S, Balloux F. Discriminant analysis of principal components:
573 A new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genets*.
574 2010; 11: 94. [doi: 10.1186/1471-2156-11-94](https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94)

575

576 44. Jeffers JNR. A basic subroutine for Geary's contiguity ratio. *J R Stat Soc Series D*
577 *Stat*. 1973; 22(4): 299-302.

578

- 579 45. Campbell JA, Lamar WW. The Venomous Reptiles of Latin America. New York:
580 Cornell University Press; 1989.
581
- 582 46. Albert CH, Thuiller W, Yoccoz NG, Douzet R, Aubert S, Lavorel S. A multi trait
583 approach reveals the structure and the relative importance of intra vs interspecific
584 variability in plant traits. *Funct. Ecol.* 2010; 24: 1192-1201
585
- 586 47. Losos JB. Adaptive radiation, ecological opportunity, and evolutionary
587 determinism: American Society of Naturalists E. O. Wilson Award Address. *Am Nat.*
588 2010; 175(6): 623-39
589
- 590 48. Rossoni DM, Assis APA, Giannini NP, Marroig G. Intense natural selection
591 preceded the invasion of new adaptive zones during the radiation of New World leaf-
592 nosed bats. *Scientific Rep.* 2017; 7(1): 11076. [doi: org/10.1038/s41598-017-08989-6](https://doi.org/10.1038/s41598-017-08989-6)
593
- 594 49. Siepielski AM, Gotanda KM, Morrissey MB, Diamond SE, DiBattista JD, Carlson
595 SM. The spatial patterns of directional phenotypic selection. *Ecol Lett.* 2013; 16(11):
596 1382-92. [doi: 10.1111/ele.12174](https://doi.org/10.1111/ele.12174)
597
- 598 50. Van Buskirk J. Spatially heterogeneous selection in nature favors phenotypic
599 plasticity in anuran larvae. *Evolution.* 2017; 71(6): 1670-85. [doi: 10.1111/evo.13236](https://doi.org/10.1111/evo.13236)
600
- 601 51. Lillywhite HB. Subcutaneous compliance and gravitational adaptation in snakes.
602 *J Exp Zool.* 1993; 267: 557-62. [doi: 10.1002/jez.1402670602](https://doi.org/10.1002/jez.1402670602)
603

- 604 52. Martins M, Araujo MS, Sawaya RJ, Nunes R. Diversity and evolution of
605 macrohabitat use, body size and morphology in a monophyletic group of Neotropical
606 pitvipers (*Bothrops*). J Zool. 2001; 254(4): 529-38. [doi: 10.1017/S0952836901001030](https://doi.org/10.1017/S0952836901001030)
607
- 608 53. Cavalheri H, Both C, Martins M. The interplay between environmental filtering
609 and spatial processes in structuring communities: the case of Neotropical snake
610 communities. PloS One; 2015; 10(6): e0127959. [doi: 10.1371/journal.pone.0127959](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127959)
611
- 612 54. Lillywhite HB. Cardiovascular adaptation to gravity: lessons from
613 comparative studies of snakes. In: Hargens A, Takeda N, Singal PK, editors.
614 Adaption Biology and Medicine, Vol. 4: current concepts. New Delhi: Narosa
615 Publishing House; 2005. pp. 68-81.
616
- 617 55. Lillywhite HB, Henderson RW. Behavioral and functional ecology of arboreal
618 snakes. In: Seigel RA, Collins JT, editors. Snakes: ecology and behavior. New York:
619 McGraw-Hill; 1993. pp. 1-49.
620
- 621 56. Wüster W, Duarte MR, Salomão, MG. Morphological correlates of incipient
622 arboreality and ornithophagy in island pitvipers, and the phylogenetic position of
623 *Bothrops insularis*. J Zool. 2005; 266(1): 1-10. [doi: 10.1017/S0952836904006247](https://doi.org/10.1017/S0952836904006247)
624
- 625 57. Forsman A, Lindell LE. The advantage of a big head: swallowing performance in
626 adders, *Vipera berus*. Funct Ecol. 1993: 183-189. [doi: 10.2307/2389885](https://doi.org/10.2307/2389885)
627

- 628 58. Forsman A, Shine R. Rejection of non-adaptive hypotheses for intraspecific
629 variation in trophic morphology in gape-limited predators. Biol J Linn Soc. 1997;
630 62(2): 209-23. [doi: 10.1111/j.1095-8312.1997.tb01623.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1997.tb01623.x)
631
- 632 59. Bisneto PF, Kaefer IL. Reproductive and feeding biology of the common
633 lancehead *Bothrops atrox* (Serpentes, Viperidae) from central and southwestern
634 Brazilian Amazonia. Acta Amazon. 2019; 49(2): 105-13. [doi: 10.1590/1809-
635 4392201802371](https://doi.org/10.1590/1809-4392201802371)
636
- 637 60. Pough FH, Groves JD. Specializations of the body form and food habits of
638 snakes. Am Zool. 1983; 23(2): 443-54. [doi: 10.1093/icb/23.2.443](https://doi.org/10.1093/icb/23.2.443)
639
- 640 61. Sousa LF, Portes-Junior JA, Nicolau CA, Bernardoni JL, Nishiyama MY Jr,
641 Amazonas DR, Freitas-de-Sousa LA, Mourão RH, Chalkidis HM, Valente RH, Moura-
642 da-Silva AM. Functional proteomic analyses of *Bothrops atrox* venom reveals
643 phenotypes associated with habitat variation in the Amazon. J Proteom. 2017; 159:
644 32-46. [doi: 10.1016/j.jprot.2017.03.003](https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.03.003)
645
- 646 62. Casewell NR, Wüster W, Vonk FJ, Harrison RA, Fry BG. Complex cocktails: the
647 evolutionary novelty of venoms. Trends Ecol Evol. 2013; 28: 219-29. [doi:
648 10.1016/j.tree.2012.10.020](https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.10.020)
649
- 650 63. Sun LX, Shine R, Debi Z, Zhengren T. Low costs, high output: Reproduction in an
651 insular pit-viper (*Gloydius shedaoensis*, Viperidae) from north-eastern China. J. Zool.
652 (Lond.). 2002; 256: 511-21. [doi: 10.1017/S0952836902000560](https://doi.org/10.1017/S0952836902000560)

653

654 64. Glaudas X, Kearney TC, Alexander GJ. Museum specimens bias measures of
655 snake diet: a case study using the ambush-foraging puff adder (*Bitis arietans*).
656 Herpetologica. 2017; 73(2): 121-28. [doi: 10.1655/HERPETOLOGICA-D-16-00055](https://doi.org/10.1655/HERPETOLOGICA-D-16-00055)

657

658 65. Bohonak AJ. Dispersal, gene flow, and population structure. Q Rev Biol. 1999;
659 74(1): 21-45. [doi: 10.1086/392950](https://doi.org/10.1086/392950)

660

661 66. Li XY, Kokko H. Sex-biased dispersal: a review of the theory. Biol Rev. 2019;
662 94(2): 721-36.

663

664 67. Hartmann MT, Hartmann PA, Cechin SZ, Martins M. Feeding habits and habitat
665 use in *Bothrops pubescens* (Viperidae, Crotalinae) from Southern Brazil. J Herpetol.
666 2005; 39(4): 664-68. [doi: 10.1670/190-03N.1](https://doi.org/10.1670/190-03N.1)

667

668 68. Marques O, Almeida-Santos S, Hartmann, M. Reproductive biology of the
669 southern Brazilian pitviper *Bothrops neuwiedi pubescens* (Serpentes, Viperidae).
670 Amphib Reptil. 2004; 25(1): 77-85. [doi: 10.1163/156853804322992850](https://doi.org/10.1163/156853804322992850)

671

672 69. Tozetti AM, Martins M. Daily and seasonal activity patterns of free range South-
673 American rattlesnake (*Crotalus durissus*). An Acad Bras Cienc. 2013; 85(3): 1047-52.
674 [doi: 10.1590/S0001-37652013005000043](https://doi.org/10.1590/S0001-37652013005000043)

675

Comentários à coordenação do PPGBEES:

A dissertação está muito bem escrita e estruturada. Os resultados trazem dados novos e relevantes, e certamente é um trabalho com uma grande contribuição ao conhecimento da fauna neotropical. A quantidade e a qualidade das figuras são adequadas e a metodologia está clara. Os resultados e a discussão estão coerentes e claros.

Recomendo a aprovação da dissertação com apenas algumas sugestões de correções que podem ser acatadas ou não pelos autores. Nada que comprometa a qualidade final do trabalho.

Algumas dúvidas que tive e poderiam ser facilmente contornadas através de uma conversa com os autores eu incluí no pdf da dissertação.

As minhas sugestões ao texto estão inclusas no pdf em anexo.

Avaliação final do projeto de dissertação de mestrado**I - Aprovado (X)**

indica que o revisor aprova a dissertações em correções ou com correções mínimas

II - Aprovado com Correções ()

indica que o avaliador aprova o projeto com correção extensas,mas que a dissertação não precisa retornar ao avaliador para reavaliação

III - Necessita Revisão ()

indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que avaliador quer reavaliar a nova versão da dissertação antes de emitir uma decisão final

IV - Reprovado ()

indica que a dissertação não é adequada, nem com modificações substanciais

Identificação do membro da banca: Samuel Campos Gomides

Deseja identificar-se ao candidato e orientador(es): (X) Sim () Não

Data: 18 de julho de 2019

Assinatura:



Comentários à coordenação do PPGBEES:

A dissertação de Ana Coelho, que investiga modificações morfológicas em uma espécie de jararaca que alternativamente ocupa ambientes florestados inundáveis e de terra firme na porção oriental da Amazônia, está estruturada em forma de artigo, já submetido à revista PlosOne. Apesar de discordar um pouco do delineamento – que considerou amostras procedentes de florestas de várzea e de terra firme obtidas em margens opostas do rio Amazonas (o que pode representar algum ruído nas análises, tendo em vista as evidências acumuladas de divergência evolutiva nas calhas norte e sul do rio) – o artigo está bem estruturado e certamente atende ou mesmo ultrapassa o exigido para um trabalho em nível de mestrado. A hipótese e as premissas são adequadamente formuladas e as análises são pertinentes e evidenciam bastante bem os resultados. Estes são apresentados de forma clara e sucinta e foram discutidos de forma adequada.

Quanto à estrutura geral da dissertação, penso que o texto produzido para divulgação ainda soa muito acadêmico, especialmente nos dois últimos itens. A linguagem aí poderia ainda ser trabalhada de modo a permitir uma melhor compreensão do problema pelo público em geral, a exemplo dos outros textos disponíveis no canal ciência.

Ainda quanto à estrutura da dissertação, sugiro eliminar a numeração das duas seções existentes (1 - Introdução e 2 – Artigo) e eliminar, também, a referência a um “Capítulo 1”, que na verdade é capítulo único.

No mais, parabenizo a discente e seus orientadores, pela qualidade e cuidado na apresentação do produto final recebido para avaliação.

Avaliação final do projeto de dissertação de mestrado

I - Aprovado ()

indica que o revisor aprova a dissertações em correções ou com correções mínimas

II - Aprovado com Correções ()

indica que o avaliador aprova o projeto com correção extensas,mas que a dissertação não precisa retornar ao avaliador para reavaliação

III - Necessita Revisão ()

indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que avaliadorquer reavaliar a nova versão da dissertação antes de emitir uma decisão final

IV - Reprovado ()

indica que a dissertação não é adequada, nem com modificações substanciais

Identificação do membro da banca: Christine Strüssmann (UFMT)

Deseja identificar-se ao candidato e orientador(es): () Sim () Não

Data: 29 de julho de 2019

Assinatura:



Comentários à coordenação do PPGBEES:

O presente trabalho apresenta importantes contribuições para a compreensão de forças que podem no processo de evolução. Os dados utilizados e o desenho amostral são condizentes com os objetivos propostos. As análises estatísticas utilizadas foram bem aplicadas para responder a pergunta. E a discussão esta bem suportada pelos resultados e por bibliografia específica e atual.

Pequenas sugestões serão feitas no corpo do texto que será encaminhado diretamente ao discente e seus orientadores.

Avaliação final do projeto de dissertação de mestrado**I - Aprovado (X)**

indica que o revisor aprova a dissertações em correções ou com correções mínimas

II - Aprovado com Correções ()

indica que o avaliador aprova o projeto com correção extensas,mas que a dissertação não precisa retornar ao avaliador para reavaliação

III - Necessita Revisão ()

indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que avaliador quer reavaliar a nova versão da dissertação antes de emitir uma decisão final

IV - Reprovado ()

indica que a dissertação não é adequada, nem com modificações substanciais

Identificação do membro da banca: Ricardo Alexandre Kawashita Ribeiro

Deseja identificar-se ao candidato e orientador(es): (X) Sim () Não

Data: 31 de julho de 2019.

Assinatura:

