

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Zoologia

Márcia de Oliveira Tomasi

**FILOGENIA E BIOGEOGRAFIA DE UMA ARANHA ENDÊMICA DA MATA
ATLÂNTICA BRASILEIRA (ARANEAE: ZOROPSIDAE: *ITATIAYA*)**

Belo Horizonte

2022

Márcia de Oliveira Tomasi

**FILOGENIA E BIOGEOGRAFIA DE UMA ARANHA ENDÊMICA DA MATA
ATLÂNTICA BRASILEIRA (ARANEAE: ZOROPSIDAE: *ITATIAYA*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Zoologia.

Orientador: Adalberto José dos Santos

Belo Horizonte

2022

043

Tomasi, Márcia de Oliveira.

Filogenia e biogeografia de uma aranha endêmica da Mata Atlântica Brasileira (*Araneae: Zoropsidae: Itatiaya*) [manuscrito] / Márcia de Oliveira Tomasi. – 2022.

70 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Adalberto José dos Santos.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Zoologia.

1. Zoologia. 2. Aranhas. 3. Biogeografia. 4. Filogenia. I. Santos, Adalberto José dos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 591



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

**Filogenia e biogeografia de uma aranha endêmica da Mata Atlântica brasileira (Araneae: Zoropsidae:
Itatiaya)**

MÁRCIA DE OLIVEIRA TOMASI

Esta dissertação foi apresentada em sessão pública e submetida a avaliação em 30 de novembro de 2022, tendo sido aprovada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Adalberto José dos Santos

Orientador - UFMG

Kirstern Lica Follmann Haseyama

Membro - UFMG

Leticia Bidegaray-Batista

Membro - Instituto de Investigaciones Biologicas Clemente Estable

Belo Horizonte, 30 de novembro de 2022



Documento assinado eletronicamente por **Kirstern Lica Follmann Haseyama, Professora do Magistério Superior**, em 01/12/2022, às 09:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adalberto Jose dos Santos, Professor do Magistério Superior**, em 01/12/2022, às 09:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leticia Fernanda Bidegaray Batista**, Usuário Externo, em 01/12/2022, às 15:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1934884** e o código CRC **538BEC71**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a todos que compartilharam comigo essa jornada e contribuíram de alguma forma para que a execução deste trabalho fosse possível.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de mestrado. Agradeço também aos financiamentos que possibilitaram a execução de coletas e gastos de laboratório concedidos pela FAPEMIG (PPM-00605-17), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (405795/2016-5; 307731/2018-9) e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia dos Hymenoptera Parasitóides da Região Sudeste Brasileira (<http://www.hympar.ufscar.br/>, CNPq 465562/2014-0, FAPESP 2014/50940-2).

À Pós-graduação em Zoologia da UFMG, professores e funcionários do departamento, agradeço o suporte durante o desenvolvimento deste trabalho.

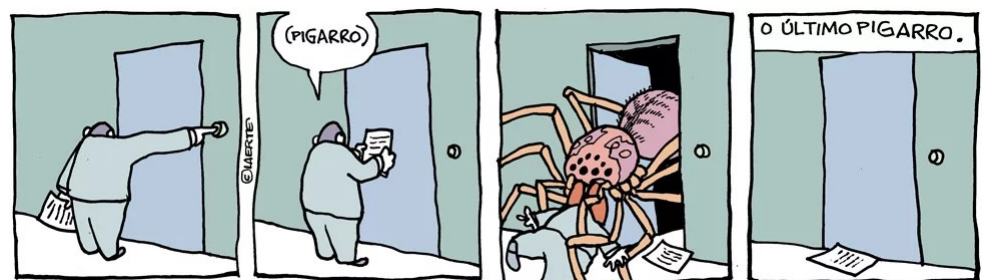
Ao Adal, agradeço pelos inúmeros ensinamentos, paciência infinita, incentivo e entusiasmo ao conduzir não somente este projeto, mas também a maior parte da minha formação científica ao longo dos quase sete anos de orientação.

Aos amigos do Laboratório de Aracnologia, agradeço pelos seminários, discussões, prévias de apresentações e idas ao boteco sempre muito enriquecedoras. Em especial, agradeço aos amigos que contribuíram diretamente para a realização deste trabalho: ao Vinícius, agradeço pelos ensinamentos de coleta e de bancada, sempre com muita paciência e dedicação, pela companhia fundamental em campo e pelas ligações de 50 minutos para conselhos e desabafos nos momentos difíceis da reta final. Ao Pedro, agradeço por todo entusiasmo e ajuda nas coletas, por me acompanhar durante semanas intermináveis de treinamento na bancada, pelas longas discussões sobre hipóteses biogeográficas e pelas maravilhosas fotos que ilustram este trabalho. Ao Ivan, agradeço a ajuda fundamental na etapa de análise de dados e a disponibilidade para responder infinitas perguntas com toda a paciência do mundo. À Bárbara e Mayara, além de toda a ajuda em campo, agradeço principalmente pela amizade, companheirismo e acolhimento.

Aos meus amigos da vida toda, agradeço a compreensão nos momentos de ausência, mas também por torcerem por mim e por protagonizarem tantos momentos felizes e de descontração. Vocês são show!

Aos meus pais, agradeço por tudo, mas especialmente por acolherem meus sonhos e por fornecerem todas as ferramentas para que eu fosse em direção à realização deles. À minha mãe, agradeço por todo o amor incondicional, pelo colo nos momentos de dificuldade, pelo incentivo e por vibrar minhas conquistas como se fossem dela. Ao meu pai, agradeço por me ensinar o “amor pela sabedoria” e a valorizar a busca interminável pelo saber. Obrigada por sempre me dizer que “aprender dói”, não fosse isso, talvez tivesse desistido no início do caminho. Ricardo e Maria Paula, obrigada por aguentarem uma irmã tão chata. Amo muito vocês.

Por fim, agradeço ao João Victor por nunca deixar a peteca cair. Obrigada por coletar *Itatiayas* literalmente com a mão, por cuidar com tanto amor de mim e do nosso lar nos momentos em que não dei conta de mais nada, por me ouvir pacientemente e por não medir esforços para me ver feliz.



RESUMO

A Mata Atlântica (MA) é uma das regiões mais biodiversificadas do planeta, entretanto, os mecanismos que explicariam sua diversidade e composição em espécies ainda são pouco compreendidos, principalmente para invertebrados. A porção sudeste da MA se destaca por um histórico de diversificação complexo, onde eventos climáticos e geológicos são apontados como principais agentes propiciadores de sua diversificação. Estudos baseados em filogenia molecular, com datação de eventos de divergência de linhagens endêmicas desta região, permitiriam a investigação de seu histórico biogeográfico. As aranhas do gênero *Itatiaya* Mello-Leitão, 1915 (Zoropsidae) são endêmicas de áreas de floresta montana na porção sudeste da MA e apresentam padrão de distribuição espacial bastante curioso, o que faz delas um bom modelo para estudos biogeográficos no bioma. Entretanto, suas relações evolutivas ainda não foram completamente resolvidas. Através de marcadores mitocondriais e nucleares, testamos o posicionamento de *Itatiaya* na família Zoropsidae, esclarecemos suas relações internas e estimamos os períodos de divergência entre suas oito espécies através da inclusão de pontos de calibração fóssil e de uma taxa de substituição estimada para o gene H3 nas análises filogenéticas. Adicionalmente, construímos um modelo de distribuição para o gênero buscando explorar os efeitos do clima e da paisagem em sua distribuição geográfica atual. Em nossos resultados, *Itatiaya* é recuperada junto à Udubidae. Devido ao histórico filogenético incerto do gênero, sugerimos que seu posicionamento seja reavaliado através de uma análise de evidência total. Nossas estimativas de datação apontam para a diversificação de *Itatiaya* durante o Mioceno, sugerindo que variações climáticas e a movimentação do relevo durante este período possam ter influenciado seus eventos de especiação. Entretanto, a ausência de estruturação geográfica do grupo sugere que as glaciações do Quaternário também possam ter influenciado, em parte, sua distribuição geográfica, possibilitando o contato secundário entre populações após a especiação. Finalmente, neste estudo também descrevemos pela primeira

vez o macho de *Itatiaya ywyty* Polotow & Brescovit, 2006 e apresentamos novos registros de distribuição para *I. modesta* Mello-Leitão, 1915; *I. pucupucu* Polotow & Brescovit, 2006 e *I. tubixaba* Polotow & Brescovit, 2006.

Palavras-chave: Araneae. Biogeografia Histórica. Filogenia Molecular.

ABSTRACT

The Brazilian Atlantic Rain Forest (BAF) is one of the most biodiverse regions on the planet, however, the mechanisms that could explain its diversity and species composition are still poorly understood, mostly for invertebrates. The southeastern portion of the BAF stands out for its complex diversification history, in which climatic and geological events are indicated as the main drivers of its diversification. Dated phylogenetic studies of lineages endemic to this region would be important for the investigation of its biogeographic history. The spider genus *Itatiaya* Mello-Leitão, 1915 (Zoropsidae) is endemic to mountain forests of the southeastern portion of BAF and has a curious distribution pattern, which makes then a suitable model for biogeographic studies in the biome. However, their evolutionary relationships are still to be completely resolved. We used mitochondrial and nuclear markers to test the position of the genus in the family Zoropsidae, elucidate its internal relationships and estimate the divergence times between the eight species of the genus using fossils as calibration points and incorporating an estimated substitution rate for the H3 molecular marker. Additionally, we built a distribution model for *Itatiaya* to explore the effects of climate and landscape on its current geographic distribution. Our phylogeny recovers *Itatiaya* within Udubidae. Based on this result and due to the uncertain phylogenetic history of the group, we suggest that its position should be reevaluated through a total evidence analysis. Our dating estimates indicates that the diversification of *Itatiaya* occurred mostly during the Miocene, suggesting that climatic variations and relief movement in this period may have influenced their speciation events. However, the lack of geographic structuring of the group suggests that the Quaternary glaciations may also have influenced its geographic distribution, enabling secondary contact between populations after speciation. In this study we also describe the male of *Itatiaya ywyty* Polotow & Brescovit, 2006 for the first time and provide

new distribution records of *I. modesta* Mello-Leitão, 1915; *I. pucupucu* Polotow & Brescovit, 2006; and *I. tubixaba* Polotow & Brescovit, 2006.

Keywords: Araneae. Historical Biogeography. Molecular Phylogeny.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Espécies do gênero *Itatiaya*. (A-B) *I. modesta*: (A) fêmea de Mogi das Cruzes, SP, (B) macho de Teresópolis, RJ. (C-D) *I. pucupucu*: (C) fêmea de Alto Caparaó, MG (D) macho de Alto Caparaó, MG. (E) *I. tubixaba*, fêmea de Alto Caparaó, MG. (F) *I. tacamby*, fêmea de Teresópolis, RJ. (G-H) *I. iuba*: (G) fêmea São Paulo, SP (H) macho de São Paulo, SP. (I-J) *I. ywyty*: (I) fêmea de Teresópolis, RJ, (J) macho de Teresópolis, RJ. (K-L) *I. pykyyra*: (K) fêmea de Alto Caparaó, MG, (L) macho de Alto Caparaó, MG. Fotos: P.H. Martins.....19
- Figura 2:** Ambiente de ocorrência do gênero *Itatiaya*. (A-B) Serapilheira: (A) Parque Nacional do Caparaó. Alto Caparaó, Minas Gerais. (B) Parque Estadual da Cantareira, Núcleo Águas Claras. São Paulo, São Paulo. (C-D) Floresta ombrófila: (C) Parque Estadual da Cantareira, Núcleo Águas Claras. São Paulo, São Paulo, (D) Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia. São Luiz do Paraitinga, São Paulo.....21
- Figura 3:** Registros de distribuição geográfica das espécies de *Itatiaya* em áreas montanhosas da Floresta Atlântica, Sudeste do Brasil.....21
- Figura 4:** Etapas para criação do modelo de nicho ecológico e de distribuição do gênero *Itatiaya*.....32
- Figura 5:** Filogenia datada de *Itatiaya* e grupos proximalmente relacionados à Zoropsidae, obtida sob inferência bayesiana no BEAST2 e baseada em dados moleculares (COI, H3, ITS, 12s, 16s, 18s e 28s). Círculos vermelhos nos nós representam probabilidade posterior dos clados igual ou superior a 0.95. Barras associadas aos nós representam intervalo de confiança de 95% das datas de divergência estimadas. Escala em milhões de anos.34
- Figura 6:** Filogenia de *Itatiaya* e *Cauquenia* estimada no BEAST2. Números próximos aos nós representam a probabilidade posterior dos clados. Barras associadas aos nós representam intervalo de confiança de 95% das datas de divergência estimadas. Escala em milhões de anos. Fotos: P.H. Martins.....35
- Figura 7:** Registros de distribuição geográfica das linhagens de *Itatiaya* nas serras da porção sudeste da Mata Atlântica.....38

- Figura 8:** Modelagem preditiva da distribuição do gênero *Itatiaya* para o bioma Mata Atlântica com uso de diferentes algoritmos através do *workflow* ModleR, implementado no R. Cores quentes indicam maior probabilidade de ocorrência do gênero na região. (B) Detalhe da porção sudeste da Mata Atlântica, região onde existem registros de ocorrência para o gênero, evidenciando uma maior adequabilidade do grupo nas áreas montanas.....38
- Figura 9:** Relação entre adequabilidade ambiental e altitude (em metros), de acordo com o modelo de nicho ecológico estimado para *Itatiaya*. Pontos no gráfico representam 200 pontos sorteados aleatoriamente para a Mata Atlântica.....39
- Figura 10:** *Itatiaya ywyty*: (A-B) macho (UFMG 27483), palpo esquerdo. (A) vista ventral; (B) vista retrolateral. Abreviações: (c) condutor, (e) êmbolo, (ma) apófise média, (eb) porção distal da ATR, (ib) porção proximal da ATR, (sa) apófise subventral, (vp) projeção ventral. Escala = 0.5 mm.....47
- Figura 11:** Localidades de ocorrência de *I. modesta*. Círculo preto: distribuição conhecida. Estrela amarela: novos registros.50
- Figura 12:** Localidades de ocorrência de *I. pucupucu*. Círculo preto: distribuição conhecida. Estrela amarela: novos registros.50
- Figura 13:** Localidades de ocorrência de *I. tubixaba*. Círculo preto: distribuição conhecida. Estrela amarela: novos registros.51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: <i>Primers</i> utilizados para amplificação e sequenciamento de DNA.....	26
Tabela 2: Incerteza associada às idades estimadas para os clados de <i>Itatiaya</i> e táxons proximalmente relacionados. Para cada clado e esquema de combinação de <i>priors</i> , apresentamos o valor médio e intervalo de maior densidade <i>a posteriori</i> obtidos sob inferência Bayesiana através do BEAST 2.2.6. Quatro combinações diferentes entre <i>priors</i> de árvore e relógio foram utilizados: (1) Yule + relógio relaxado não correlacionado com distribuição exponencial, (2) Yule + relógio relaxado não correlacionado com distribuição lognormal, (3) <i>birth-death</i> + relógio relaxado não correlacionado com distribuição exponencial e (4) <i>birth-death</i> + relógio relaxado não correlacionado com distribuição lognormal. Em todas as análises, as árvores foram calibradas seguindo a mesma estratégia: três pontos de calibração fóssil e taxa de substituição do gene H3 previamente estimada por Bidegaray-Batista & Arnedo (2011).....	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.1 Amostragem dos táxons.....	23
2.2 Protocolos de laboratório.....	24
2.2.1 Extração e PCR.....	24
2.2.2 Purificação de PCR e sequenciamento.....	25
2.3 Edição de sequências e Alinhamento.....	25
2.4 Análises filogenéticas.....	25
2.4.1 Máxima Verossimilhança.....	25
2.4.2 Análise bayesiana e datação de divergência.....	26
2.5 Taxonomia.....	29
2.6 Novos registros e distribuição geográfica.....	29
2.7 Modelo de distribuição de espécies.....	30
3. RESULTADOS.....	33
3.1 Dados amostrados e alinhamento.....	33
3.2 Análises filogenéticas.....	33
3.3 Datação.....	36
3.4 Modelagem de nicho ecológico.....	37

4. DISCUSSÃO.....	39
5. TAXONOMIA.....	46
6. NOVOS REGISTROS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	48
7. REFERÊNCIAS.....	51
8. MATERIAL SUPLEMENTAR.....	63

Filogenia e biogeografia de uma aranha endêmica da Mata Atlântica brasileira
(Araneae: Zoropsidae: *Itatiaya*)

1. INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é a segunda maior floresta tropical da América do Sul (Marques *et al.* 2021), é uma das regiões mais diversificadas do mundo, e é considerada um importante *hotspot* para conservação (Myers *et al.* 2000). Reconhecida pela alta diversidade de fisionomias vegetais, ampla variação topográfica e variedade de regimes climáticos, seus aspectos bióticos são resultado de uma história evolutiva complexa (Dantas *et al.* 2011). Entretanto, o efeito que estas características exercem sobre variações de diversidade e composição em espécies ainda é pouco compreendido, principalmente se tratando de invertebrados (Myers *et al.* 2000).

Apresentando altas taxas de endemismo e, por consequência, uma composição de espécies única, a região sudeste da Mata Atlântica se destaca como um laboratório de diversificação (Peres *et al.* 2020). Várias hipóteses sobre os mecanismos responsáveis pela origem e diversificação de sua biota são abordadas na literatura. Entre elas, mudanças climáticas durante o Pleistoceno (Carnaval & Moritz 2008, Costa *et al.* 2018), neotectonismo (Bragagnolo *et al.* 2015, Peres *et al.* 2018, 2019) e o efeito de barreiras fluviais (Cabanne *et al.* 2008, Batalha-Filho *et al.* 2010, DaSilva *et al.* 2015) são apontados como os principais fatores. Para que estas hipóteses possam ser testadas, informações sobre o período de diversificação de linhagens que ocorrem nesta região são cruciais (Peres *et al.* 2020). Através de estudos baseados em filogenia molecular, com datação de eventos de divergência de organismos endêmicos da porção sudeste da Mata Atlântica, seríamos capazes de inferir como processos históricos podem ter moldados sua biota.

O gênero *Itatiaya* Mello-Leitão, 1915 (Zoropsidae) é composto por oito espécies de aranhas (World Spider Catalog 2022) (Fig. 1) frequentemente encontradas sobre serrapilheira densa e úmida (Fig. 2A-B) de matas sombreadas (Fig. 2C-D) nas encostas das formações montanhosas da região sudeste da Mata Atlântica. Todas as suas espécies são encontradas, ao menos, a 500 metros acima do nível do mar (Polotow & Brescovit 2006) e, em conjunto, apresentam um padrão geográfico bastante curioso (Fig. 3). *Itatiaya modesta* Mello-Leitão, 1915 (Fig. 1A-B), espécie com maior área de ocorrência, apresenta registros para várias serras da região. As demais espécies possuem distribuição restrita, sendo três delas endêmicas de uma única serra: *I. pykyra* Polotow & Brescovit, 2006 (Fig. 1K-L) (Caparaó), *I. tacamby* Polotow &

Brescovit, 2006 (Fig. 1F) e *I. wyty* Polotow & Brescovit, 2006 (Fig. 1I-J) (Serra dos Órgãos). Quando ocorrem em simpatria, as espécies muitas vezes são encontradas em diferentes altitudes (Polotow & Brescovit 2006), sugerindo nichos ecológicos bastante restritos. Todas essas características fazem deste grupo um bom modelo para estudos biogeográficos na Mata Atlântica.

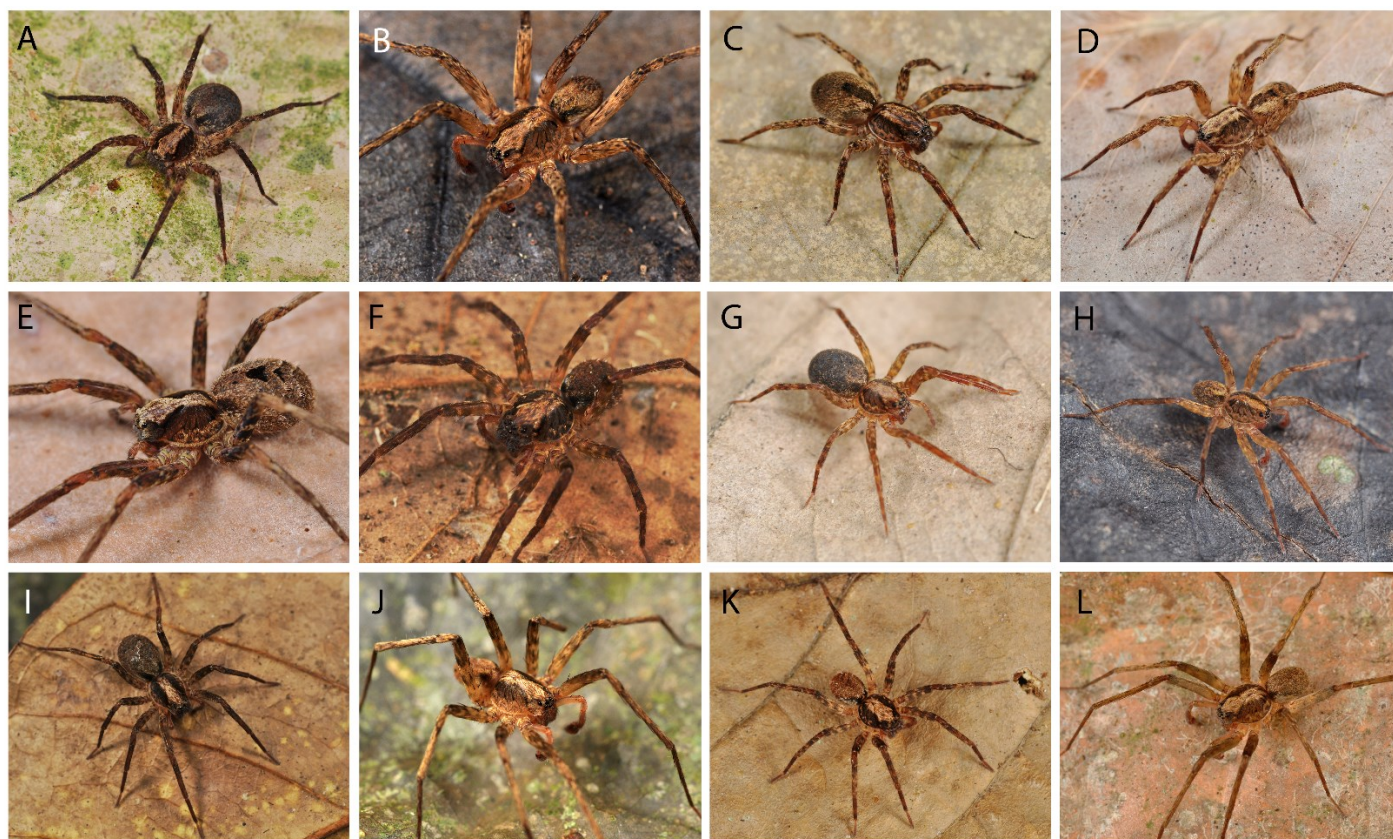


Figura 1: Espécies do gênero *Itatiaya*. (A-B) *I. modesta*: (A) fêmea de Mogi das Cruzes, SP, (B) macho de Teresópolis, RJ. (C-D) *I. pucupucu*: (C) fêmea de Alto Caparaó, MG (D) macho de Alto Caparaó, MG. (E) *I. tubixaba*, fêmea de Alto Caparaó, MG. (F) *I. tacamby*, fêmea de Teresópolis, RJ. (G-H) *I. iuba*: (G) fêmea São Paulo, SP (H) macho de São Paulo, SP. (I-J) *I. wyty*: (I) fêmea de Teresópolis, RJ, (J) macho de Teresópolis, RJ. (K-L) *I. pykyyra*: (K) fêmea de Alto Caparaó, MG, (L) macho de Alto Caparaó, MG. Fotos: P.H. Martins.

O gênero *Itatiaya* foi descrito por Mello-Leitão (1915) para alocar uma única espécie, *Itatiaya modesta*. Sua descrição foi feita com base em uma única fêmea, listando poucos caracteres diagnósticos, sem incluir ilustrações. Como agravante, o holótipo da espécie provavelmente encontra-se perdido (Polotow & Brescovit 2006). Devido ao trabalho de descrição pouco informativo e à indisponibilidade de espécimes para consulta, muitas dúvidas acerca do status de *Itatiaya* marcam o histórico taxonômico do gênero.

Itatiaya havia sido descrita originalmente como pertencente à família Ctenidae. Entretanto, devido à divergência entre a descrição da disposição dos olhos de *Itatiaya* (Mello-Leitão 1915) e do arranjo padrão dos olhos de ctenídeos em geral (Silva 2003), o posicionamento do gênero dentro da família passou a ser questionado. A partir disso, diferentes autores apresentaram propostas sobre seu status (Petrunkevitch 1928, Mello-Leitão 1936, Bryant 1942), embora o gênero tenha permanecido na família original (Lehtinen 1967). Em um trabalho mais recente, Silva (2003) propôs uma filogenia para Ctenidae, porém *Itatiaya* não pôde ser incluída devido à falta de material disponível em coleções.

A falta de espécimes de *Itatiaya* em coleções foi solucionada graças ao projeto “Biodiversidade de Arachnida e Myriapoda do estado de São Paulo”, do programa BIOTA/FAPESP. Através dele, foram realizadas coletas nas áreas montanhosas da região sudeste da Mata Atlântica. Nas amostras obtidas, foram identificados diversos indivíduos de *Itatiaya*, permitindo que o gênero fosse revisado. Além da descoberta de novas espécies de *Itatiaya*, indivíduos de *Itatiaya modesta* também foram coletados em sua localidade-tipo. Com base nesse material, Polotow & Brescovit (2006) redescreveram *I. modesta* e descreveram sete novas espécies para o gênero, três delas conhecidas apenas pelas fêmeas. Porém, apesar de o trabalho ter contribuído para a compreensão da composição do gênero e sua distribuição geográfica, o posicionamento taxonômico de *Itatiaya* ainda permaneceu incerto.

O posicionamento filogenético de *Itatiaya* e suas relações internas foram estudados pela primeira vez por Polotow & Brescovit (2011). Com base na descoberta de uma sutura linear na base da tíbia das pernas dos machos, caráter proposto como sinapomorfia de Zoropsidae por Griswold (1993), Polotow & Brescovit (2011) sugeriram que *Itatiaya* estaria posicionada erroneamente em Ctenidae. Através de uma filogenia morfológica, o posicionamento de *Itatiaya* em Zoropsidae foi testado e os resultados obtidos corroboraram esta hipótese (Polotow & Brescovit 2011). Assim, *Itatiaya* foi transferida para Zoropsidae e a distribuição da família para a região Neotropical foi registrada pela primeira vez.



Figura 2. Ambiente de ocorrência do gênero *Itatiaya*. (A-B) Serapilheira: (A) Parque Nacional do Caparaó. Alto Caparaó, Minas Gerais. (B) Parque Estadual da Cantareira, Núcleo Águas Claras. São Paulo, São Paulo. (C-D) Floresta ombrófila: (C) Parque Estadual da Cantareira, Núcleo Águas Claras. São Paulo, São Paulo, (D) Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia. São Luiz do Paraitinga, São Paulo.

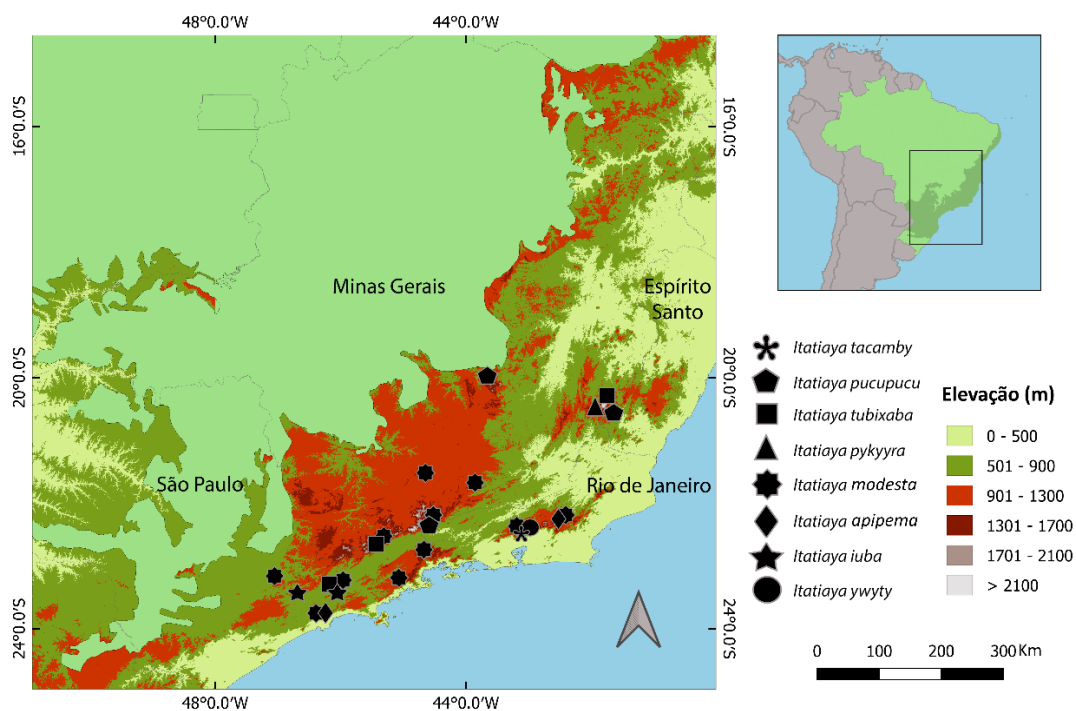


Figura 3: Registros de distribuição geográfica das espécies de *Itatiaya* em áreas montanhosas da Floresta Atlântica, Sudeste do Brasil.

O posicionamento filogenético de *Itatiaya* foi abordado novamente por Piacentini *et al.* (2013). Esses autores incluíram *I. modesta* em uma filogenia morfológica com vistas a testar o posicionamento de um novo gênero chileno, *Cauquenia* Piacentini, Ramírez & Silva, 2013 na família Zoropsidae, além de testar os limites e composição da família. Como resultado, *I. modesta* foi recuperada como grupo irmão de *C. maule* Piacentini, Ramírez & Silva, 2013, única espécie do gênero.

Apesar de Polotow & Brescovit (2011) e Piacentini *et al.* (2013) apresentarem resultados sobre o posicionamento de *Itatiaya*, as relações internas ao gênero continuaram incertas. Por não terem os machos descritos, *I. tubixaba* Polotow & Brescovit, 2006 e *I. ywyty* Polotow & Brescovit, 2006 não foram incluídas na filogenia proposta por Polotow & Brescovit (2011). Além disso, dados morfológicos não foram suficientes para esclarecer as relações entre *I. modesta*, *I. iuba* Polotow & Brescovit, 2006 e *I. pykyra* Polotow & Brescovit, 2006, que foram recuperadas em uma politomia. Dessa forma, até o momento, pouco se sabe sobre a evolução das linhagens de *Itatiaya*. Para que o grupo seja utilizado em estudos biogeográficos, precisamos que as relações filogenéticas do gênero sejam elucidadas e que a datação dos eventos de cladogênese que marcaram a evolução de suas linhagens seja estimada. Com acesso a hipóteses filogenéticas robustas e estimativas de datação, seríamos capazes inferir processos evolutivos envolvidos na diversificação das espécies de *Itatiaya* e o histórico biogeográfico da Mata Atlântica.

Dessa forma, neste trabalho, propusemos uma filogenia molecular datada para *Itatiaya* e grupos proximalmente relacionados visando (1) testar o posicionamento filogenético de *Itatiaya* dentro da família Zoropsidae, (2) elucidar as relações filogenéticas internas do gênero e (3) estimar uma datação para os eventos de divergência das linhagens de Zoropsidae e *Itatiaya*. Para estimar a importância de fatores climáticos e topográficos sobre a distribuição espacial de *Itatiaya*, também modelamos sua distribuição geográfica. Tomando como base todos os resultados, discutimos quais os possíveis eventos históricos que poderiam ter atuado sobre a diversificação do gênero e em sua distribuição geográfica. Adicionalmente, descrevemos o macho ainda desconhecido de *I. ywyty* e apresentamos novos registros de ocorrência para o gênero, contribuindo, dessa forma, com a taxonomia do grupo e a atualização da distribuição geográfica das espécies de *Itatiaya*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem dos táxons

Os espécimes de *Itatiaya* utilizados nesse estudo foram obtidos através de expedições de coleta realizadas entre dezembro de 2019 e outubro de 2021, visando a obtenção de exemplares frescos para aquisição de material genético de qualidade. As coletas foram executadas através de busca ativa noturna em localidades onde já havia registros de ocorrência de *Itatiaya* (conforme Polotow & Brescovit 2006).

O material coletado foi preservado em álcool 96% e armazenado refrigerado a -20 °C. A triagem do material e identificação das espécies foram realizadas com uso de um estereomicroscópio Olympus SZ40. Os espécimes coletados foram depositados na coleção de Arachnida do Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil (UFMG, curador Adalberto J. Santos) e no Instituto Butantan, São Paulo, Brasil (IBSP, Antonio D. Brescovit).

A extração de DNA foi realizada preferencialmente a partir de indivíduos coletados na localidade-tipo de cada espécie. Informações sobre material-testemunho estão especificadas na tabela S1 do material suplementar. As sequências de *Cauquenia maule* foram obtidas através de um espécime depositado na coleção de Arachnida do Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Os demais táxons utilizados como grupo externo tiveram suas sequências obtidas através do GenBank. Os táxons usados para gerar os dados deste estudo e seus respectivos códigos de acesso estão listados na tabela S2 do material suplementar.

A escolha do grupo externo foi baseada na filogenia de Araneae proposta por Wheeler *et al* (2017), um estudo de grande importância para a compreensão das relações entre diversos grupos de aranhas. O trabalho se baseia em um extenso conjunto de dados moleculares obtidos através de centenas de espécies representantes das famílias da ordem. Neste trabalho, Zoropsidae está posicionada em relação às demais famílias com base em 13 dos seus 27 gêneros, não incluindo *Itatiaya* ou *Cauquenia* (Wheeler *et al.* 2017, World Spider Catalog 2022). Entretanto, apesar de *Itatiaya* não ter sido incluída nas análises, esse estudo nos fornece uma quantidade de dados substancial para que o posicionamento filogenético do gênero e suas relações internas possam ser testadas, e a datação dos eventos de diversificação do grupo possa ser estimada. Nosso objetivo foi incluir representantes das famílias pertencentes ao Clado Calamistro Oval, um grupo informal recuperado em várias outras filogenias (Griswold 1993,

Griswold *et al.* 1999, 2005, Polotow *et al.* 2015), que agrupa aranhas com cerdas no calamistro dispostas em formato ovalado, e que inclui Zoropsidae próximo à base. Para testar o posicionamento filogenético de *Itatiaya*, foram incluídos na amostragem todos os representantes de Zoropsidae incluídos na filogenia de Araneae (Wheeler *et al.* 2017) e representantes das cinco subfamílias de Ctenidae recuperadas em Polotow & Brescovit (2014). Além disso, buscando aumentar a disponibilidade de pontos de calibração na filogenia, foram incluídos representantes de outras famílias de aranhas enteléginas, que apresentam registro fóssil útil para datação por relógio molecular (Magalhaes *et al.* 2019).

2.2 Protocolos de laboratório

2.2.1 Extração e PCR. Os espécimes escolhidos tiveram as pernas III e IV removidas, maceradas e submetidas ao kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) para a extração de DNA dos músculos, seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante. A amplificação do DNA foi realizada usando reagentes do kit GoTaq® Hot Start Polymerase para as reações em cadeia da polimerase (PCR, detalhes no material suplementar, tabela S3). As análises foram baseadas nos mesmos marcadores mitocondriais e nucleares usados por Wheeler *et al.* (2017), que têm se mostrado úteis para inferência filogenética em aranhas (*e.g.* Arnedo *et al.* 2004, Hedin & Bond 2006, Miller *et al.* 2010). As sequências de DNA mitocondrial foram obtidas de três regiões diferentes: RNA ribossômico 12s (12s), RNA ribossômico 16s (16s) e Citocromo C Oxidase I (COI). Para os genes nucleares, foram usados os marcadores Histona H3 (H3) e as subunidades menor e maior de genes de RNA ribossômico (18s e 28s, respectivamente). Adicionalmente, os indivíduos de *Itatiaya* e *Cauquenia* foram amostrados para o marcador nuclear Espaçador Transcrito Interno 2 (ITS2). Apesar dos espécimes utilizados como grupo externo não disporem de sequências para este marcador, ele se mostrou útil para auxiliar na elucidação das relações internas ao gênero e, portanto, foi incluído em nossa amostragem. A lista de *primers* usados nas reações de amplificação e suas sequências estão especificados na Tabela 1. Os protocolos de amplificação e temperaturas de anelamento variaram para cada gene, buscando a otimização dos resultados. Os programas utilizados estão especificados na tabela S4 do material suplementar. As PCRs foram executadas em termocicladores *MiniAmp*TM *Thermal Cycler* (Thermo Fisher Scientific) e *Mastercycler*[®] *nexus* (Eppendorf) e, em seguida, visualizadas

através de eletroforese em gel de agarose a 1%, coradas com GelGreen® Nucleic Acid Gel Stain (Biotium).

2.2.2 Purificação de PCR e sequenciamento. Os produtos de PCR foram purificados através do kit de purificação *Illustra™ ExoProStar™ 1-Step*, seguindo o protocolo do fabricante. Em seguida, foram sequenciados em sentido *forward* e *reverse* através do método de Sanger (Sanger *et al.* 1977) em um sequenciador automático ABI 3730xL (Applied Biosystems) na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

2.3 Edição de sequências e Alinhamento

Os cromatogramas foram reunidos, visualizados e editados com uso do software Geneious R7 (disponível em <http://www.geneious.com>). Para os fragmentos de origem nuclear, a ocorrência de heterozigotos nos cromatogramas foi conferida manualmente, sendo identificada nos fragmentos dos genes H3 e ITS2. Quando a presença de picos duplos foi observada nos dois sentidos de leitura das sequências, essa posição foi considerada heterozigota e identificada através do código de ambiguidade da IUPAC.

O conjunto de sequências de cada marcador foi alinhado através do algoritmo MAFFT em sua versão *online* disponível em <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/> (Kato *et al.* 2019). Para os genes codificantes de proteínas H3 e COI, por serem de resolução simples devido à ausência de *gaps*, os alinhamentos foram produzidos através do método L-INS-i. Para os genes ITS2, 12s, 16s, 18s e 28s, que apresentam variação no tamanho das sequências e, consequentemente, necessitaram de abertura de *gaps* para a manutenção da homologia entre os sítios, os alinhamentos foram produzidos através do método E-INS-i, que incorpora custos à abertura de *gaps*. Para a penalidade de abertura de *gaps*, foram mantidos os valores predefinidos pelo programa. Os alinhamentos resultantes foram visualizados e corrigidos manualmente através do programa MEGA X (Kumar *et al.* 2018).

2.4 Análises filogenéticas

2.4.1 Máxima Verossimilhança. As análises de máxima verossimilhança foram conduzidas através do programa IQ-Tree 1.6.12 (Minh *et al.* 2020). Os dados foram analisados de forma particionada por gene. Para cada um dos sete fragmentos sequenciados, os melhores modelos de evolução foram selecionados através do programa JModelTest 2.1.10 (Darriba *et al.* 2012).

Os modelos selecionados para cada partição estão especificados na tabela S5 do material suplementar. Em seguida, as árvores ótimas e os valores de suporte foram computados na mesma corrida através da linha de comando: `bin\iqtree -spp ML.nex -b 100 -nt AUTO`, utilizando 100 réplicas de *bootstrap* não-paramétrico e indicando que cada partição teria sua própria taxa de evolução. Os valores de confiança foram mapeados na melhor topologia e as árvores foram visualizadas e manipuladas através do programa FigTree V.1.4.4, disponível em <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.

Tabela 1: *Primers* utilizados para amplificação e sequenciamento de DNA.

Gene	Primer	Sequência do primer (5' para 3')	Referência
12s	12s-ai	AAA CTA GGA TTA GAT ACC CTA TTA T	Kocher <i>et al.</i> (1989)
	12s-bi	AAG AGC GAC GGG CGA TGT GT	Kocher <i>et al.</i> (1989)
16s	16S-A	CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT	Palumbi <i>et al.</i> (1991)
	16S-B	CTC CGG TTT GAA CTC AGA TCA	Palumbi <i>et al.</i> (1991)
COI	LCO1490	GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G	Folmer <i>et al.</i> (1994)
	HCOoutout	GTA AAT ATA TGR TGD GCT C	Wheeler <i>et al.</i> (2017)
	C1-N 2568	GCT ACA ACA TAA TAA GTA TCA TG	Hedin & Maddison (2001)
	C1-J 1751	GAG CTC CTG ATA TAG CTT TTC C	Hedin & Maddison (2001)
H3	aF	ATG GCT CGT ACC AAG CAG ACV GC	Colgan <i>et al.</i> (1998)
	aR	ATA TCC TTR GGC ATR ATR GTG AC	Colgan <i>et al.</i> (1998)
18s	18s-a2.0	ATG GTT GCA AAG CTG AAA	Whiting <i>et al.</i> (1997)
	18S-9R	GAT CCT TCC GCA GGT TCA CCT AC	Giribet <i>et al.</i> (1996)
28s	28s-B1	GAC CGA TAG CAG CAA ACA AGT ACC G	Bruvo-Madaric <i>et al.</i> (2005)
	28s-B2	GAT TAG TCT TTC GCC CCT ATA	Bruvo-Madaric <i>et al.</i> (2005)
ITS2	ITS-5.8	GGG ACG ATG AAG AAC GCA GC	White <i>et al.</i> (1990)
	ITS-4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	White <i>et al.</i> (1990)

2.4.2 Análise bayesiana e datação de divergência Uma das formas de obtenção da idade absoluta de clados em uma filogenia é através do uso de pontos de calibração fóssil. Uma vez que o uso de múltiplos pontos de calibração resultam em estimativas de datação mais realistas (Ho & Duchêne, 2014), incorporamos diferentes estratégias e pontos de calibração em nossas análises.

Existem espécimes fósseis identificados como Zoropsidae representados em inclusões de âmbar Báltico, com datação de pelo menos 35 milhões de anos (Wunderlich 2004a). Esses espécimes foram posicionados na família pela presença de uma sutura na tíbia. Entretanto, também apresentam o calamistro uniseriado, diferente da disposição oval característica das espécies de Zoropsidae viventes (Magalhaes *et al.* 2019). Assim, neste estudo preferimos não utilizar esses fósseis para a calibração de nossas análises.

Na falta de pontos de calibração internos para Zoropsidae, foram selecionados fósseis representantes de clados proximamente relacionados à família, levando em consideração sua adequação para datação com base na revisão de Magalhaes *et al.* (2019). Dessa forma, foram incluídos três pontos de calibração fóssil nas análises: (1) A divergência entre Dictynidae e Hahniidae foi calibrada com base no fóssil *Vectaraneus yulei* Selden (Selden 2002), conferindo um limite de pelo menos 35 milhões de anos para a idade de surgimento da família Dictynidae; (2) A divergência entre Thomisidae e Oxyopidae foi calibrada com base nos fósseis *Syphax cf. megacephalus* Koch & Berendt (Wunderlich 2004b) e *Oxyopes succini* Petrunkevitch (Wunderlich 2004c) (representantes das famílias Thomisidae e Oxyopidae, respectivamente), conferindo um limite de pelo menos 43 milhões de anos para a idade de surgimento das famílias Thomisidae e Oxyopidae; (3) A divergência entre Oecobiidae e Hersiliidae foi calibrada com base nos fósseis *Zamília aculeopectens* Wunderlich (Wunderlich 2015) e *Burmesiola cretacea* Wunderlich (Wunderlich 2011), (representantes das famílias Oecobiidae e Hersiliidae, respectivamente), conferindo um limite de pelo menos 98.17 milhões de anos para a idade de surgimento da superfamília Oecobioidea.

De forma a evitar flutuação dos ramos do grupo externo, os seguintes terminais externos ao Clado Calamistro Oval tiveram sua posição fixada na topologia: *Uloborus glomosus*, *Hersilia sericea*, *Uroctea* sp., *Tenedos serrulatus*, *Penestomos egazini*, *Caayguara album*, *Cybaeolus rastellus*, *Argyroneta aquatica* e *Homalonychus selenopoides*. Para essa decisão, tomamos como base resultados de trabalhos que recuperaram a posição desses grupos com alto valor de suporte, através do uso de dados filogenômicos (Fernández *et al.* 2018, Azevedo *et al.* 2022, Li *et al.* 2022).

Para todos os pontos de calibração fóssil, os limites mínimo e máximo da idade de um nó foram incluídos através de um *prior* de distribuição uniforme. Decidimos pelo uso deste *prior*, em detrimento de um *prior* mais informativo, devido à falta de informações sobre a idade de surgimento dos clados em relação à idade dos fósseis conhecidos, o que nos limita na decisão

do formato de sua distribuição. Assim, os limites inferiores dos nós calibrados foram definidos pela idade mínima do fóssil mais antigo que representa o determinado clado e os limites superiores foram definidos como 232 m.a de idade, idade estimada para a origem de Entelegynae (Magalhaes *et al.* 2019), uma vez que todos os terminais utilizados em nossa filogenia são aranhas enteléginas e, portanto, não poderiam ser mais antigos que o surgimento do grupo.

Buscando acrescentar maior quantidade de informação temporal nas análises, além da calibração por fósseis, utilizamos a taxa de substituição para o gene H3 previamente estimada por Bidegaray-Batista & Arnedo (2011) em um estudo filogenético para a família de aranhas Dysderidae. A taxa de substituição do gene H3 foi incorporada como *prior* da taxa do relógio. O *prior* H3.uclid.mean foi definido com uma distribuição normal com a média de 0.00108 e desvio padrão de 0.000259, para que o intervalo de confiança de 95% corresponda ao intervalo encontrado por Bidegaray-Batista & Arnedo (2011). Taxas de substituição de outros genes não foram incorporadas em nossas análises por não serem diretamente comparáveis ao nosso estudo, uma vez que, exceto pelo H3, os fragmentos dos genes utilizados no estudo de Bidegaray-Batista & Arnedo (2011) diferem dos utilizados em nossas análises.

Os modelos de substituição e de relógio foram definidos como independentes para todos os marcadores. Os melhores modelos de substituição para cada marcador foram definidos de acordo com os resultados obtidos no JModelTest (Tabela S5, material suplementar). Foi utilizada uma partição única para a árvore, tornando a topologia de todos os marcadores dependentes. Diferentes combinações de *priors* para a árvore e modelos de relógio foram testados em quatro corridas independentes: (1) Yule + relógio relaxado não correlacionado com distribuição exponencial, (2) Yule + relógio relaxado não correlacionado com distribuição lognormal, (3) *birth-death* + relógio relaxado não correlacionado com distribuição exponencial e (4) *birth-death* + relógio relaxado não correlacionado com distribuição lognormal. Os parâmetros para as corridas foram configurados no BEAUti e a estimativa das idades dos clados foram obtidas através de uma análise Bayesiana implementada no BEAST 2.2.6 (Bouckaert *et al.* 2019), através do *cluster* de servidores CIPRES Science Gateway (Miller *et al.* 2010). Em cada um dos casos, corremos pelo menos quatro cadeias de Markov com 100 milhões de gerações, amostrando os parâmetros a cada 50.000 gerações. A convergência das cadeias e os valores do tamanho efetivo das amostras (ESS) foram conferidos no programa Tracer 1.7 (Rambaut *et al.* 2018), para garantir que os valores de todos os parâmetros foram maiores que 200. Descartamos 10% dos estados iniciais

como *burn-in* no programa LogCombiner 2.5.2 e as árvores com clados com credibilidade máxima (MCC *tree*) foram sumarizadas através do programa TreeAnotator 2.5.2.7 (Bouckaert *et al.* 2019). Para a comparação dos modelos, foi calculada a verossimilhança marginal de cada hipótese através da análise de *Path Sampling* implementada no BEAST 2.2.6 (Tabela S6, material suplementar) e, em seguida, o fator bayesiano entre as hipóteses foi calculado.

2.5 Taxonomia

Para descrição do macho de *Itatiaya ywyty*, foram examinados três fêmeas e um macho coletados para este estudo em sua localidade-tipo. Os exemplares foram examinados imersos em etanol 80% com auxílio de um estereomicroscópio Olympus SZ40. Os registros fotográficos dos espécimes preservados foram obtidos através de um estereomicroscópio Leica M205C (Leica Microsystems, Switzerland) equipada com câmera digital Leica DFC295. As fotos retiradas em vários planos focais foram combinadas em imagens multifoco usando o programa Leica Applications Suite e editadas com uso do programa Photoshop CC 2021. As medidas foram obtidas através dos registros fotográficos, com uso do software ImageJ (Schneider 2012) e estão em milímetros. Abreviaturas: (OAM) olhos anteriores medianos, (OAL) olhos anteriores laterais, (OPM) olhos posteriores medianos, (OPL) olhos posteriores laterais, (ATR) apófise tibial retrolateral.

2.6 Novos registros e distribuição geográfica

O material dos novos registros pertence às seguintes instituições (curadores entre parênteses): UFMG, Centro de Coleções Taxonômicas, Universidade Federal de Minas Gerais (Adalberto J. Santos); IBSP, Instituto Butantan (Antonio D. Brescovit). Novos registros de espécies do gênero *Itatiaya* foram obtidos principalmente através de expedições de coleta na região sudeste da Mata Atlântica, junto ao exame de material depositado em coleções. Os mapas de distribuição foram elaborados através do QGIS 3.22.8 (Quantum GIS Development Team 2012).

2.7 Modelo de distribuição de espécies

O nicho ecológico, em um contexto Hutchinsoniano, representa um conjunto de condições ambientais e recursos necessários para que uma espécie possa se manter (Holt 2009). Partindo da premissa de que não é esperado que indivíduos deixem descendentes ou que populações persistam fora de seu nicho (Wiens *et al.* 2010), condições ambientais inadequadas seriam capazes de limitar a distribuição geográfica de um organismo. Por esta lógica, ao associarmos variáveis ambientais aos registros de ocorrência de um determinado táxon através de modelos de distribuição de espécies, somos capazes de identificar as condições ambientais necessárias para a manutenção desse táxon e estimar a distribuição espacial favorável para sua ocorrência (Elith & Leathwick 2009).

Uma vez que as *Itatiaya* apresentam distribuição bastante restrita, com algumas de suas espécies conhecidas por um único registro de ocorrência, a modelagem do nicho ecológico de suas espécies individualmente foi inviável. Dessa forma, levando em consideração que as populações de *Itatiaya* ocupam regiões com as mesmas características ambientais, como alternativa, optamos por utilizar modelos de distribuição para estimar áreas adequadas para a ocorrência do gênero como um todo na Mata Atlântica. Para isso, registros de ocorrência de *Itatiaya*, compilados através das coletas realizadas neste estudo e de espécimes depositados em coleções biológicas (UFMG, IBSP), foram associados a variáveis ambientais preditoras através de seis algoritmos com lógicas diferentes: Bioclim (Booth *et al.* 2014), Support Vector Machine – SVM (Joachims 1999), Maxent 3.3.3 (Phillips *et al.* 2006), Generalized linear model – GLM (McCullagh & Nelder 1989), Boosted Regression Trees (BRT) e Random Forest (Breiman 2001). Os registros de *Itatiaya* foram avaliados e tiveram as coordenadas geográficas conferidas manualmente para garantir a acurácia dos dados, totalizando ao final do processo 37 registros de presença para gerar os modelos. Uma vez que parte dos algoritmos utilizados necessitam de dados de ausência, foram criadas 10.000 pseudoausências aleatórias com inclusão delimitada por um *buffer* de raio equivalente à maior distância entre dois registros de ocorrência. Usamos 19 variáveis bioclimáticas com resolução de 30 segundos (1 km) obtidas no Worldclim (<http://www.worldclim.org/>), cortadas para a área da Mata Atlântica. Para eliminar a autocorrelação ambiental das variáveis e sobreajuste dos modelos, transformamos as variáveis ambientais em eixos de uma Análise de Componentes Principais (PCA) e, com base em uma matriz de correlação, selecionamos os cinco componentes da PCA não-correlacionados com maior valor explanatório, correspondendo a, aproximadamente, 80% de informação. As análises de PCA foram realizadas por meio dos pacotes raster

(Hijmans & van Etten 2012), *rgdal* (Bivand *et al.* 2018) e *vegan* (Oksanen *et al.* 2020) através do *software* R (R Core Team 2022). Os modelos de distribuição foram gerados através do *workflow* ModleR (Sánchez-Tapia *et al.* 2020), baseado no pacote *dismo* (Hijmans *et al.* 2017), também implementados no *software* R. Para calibração e validação dos modelos, os dados de presença e pseudoausência foram particionados em cinco subconjuntos, que foram utilizados para treinar e testar os modelos para cada algoritmo através do método de validação cruzada *k-fold*. Em seguida, definimos um valor de corte para que um *pixel* possa ser considerado ambientalmente adequado para a ocorrência do gênero. Para isso, convertemos a probabilidade de ocorrência dos modelos em presenças e ausências usando o valor do TSS (habilidade estatística verdadeira) como corte. Para avaliar a qualidade dos resultados, consideramos os valores da área sob a curva (AUC), curva parcial ROC (Peterson *et al.* 2008), TSS, sensibilidade, especificidade e acurácia (Tabela S7, material suplementar). Por fim, todos os modelos gerados pelos diferentes algoritmos foram reunidos em um mapa final através de média ponderada, usando o valor do TSS como o peso (Fig. 4).

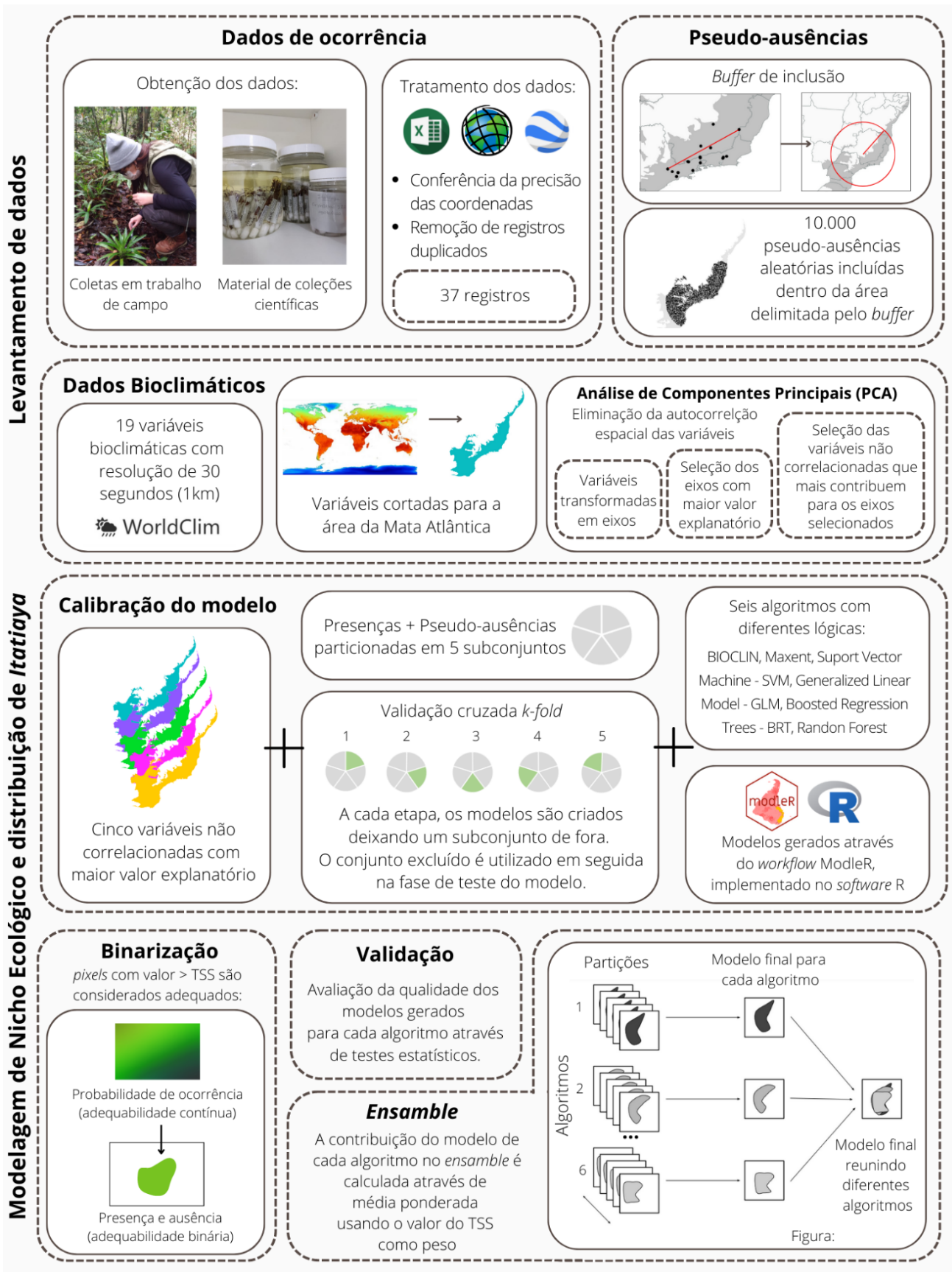


Figura 4: Etapas para criação do modelo de nicho ecológico e de distribuição do gênero *Itatiaya*.

3. RESULTADOS

3.1 Dados amostrados e alinhamento

O alinhamento final de todas as sequências resultou em um fragmento de 6735 pares de bases para cada táxon, consistindo em 318 pares de base alinhados para H3, 1075 para COI, 389 para ITS2, 2359 para 28s, 1741 para 18s, 479 para 16s e 374 para 12s.

3.2 Análises filogenéticas

A árvore datada final com maior probabilidade posterior obtida sob inferência bayesiana (Fig. 5) é semelhante à obtida na análise de máxima verossimilhança (Fig. S1, material suplementar) quando comparamos o posicionamento e relações internas de Zoropsidae e de *Itatiaya*. Dessa forma, guiaremos nossa discussão com base nos resultados bayesianos, pontuando as diferenças entre as duas análises quando presentes.

As famílias que compõem o Clado Calamistro Oval têm suas relações recuperadas de forma similar nas duas análises. Como exceção, a estrutura interna de Ctenidae é divergente entre os dois resultados, com os representantes de suas subfamílias emergindo como parafiléticos e polifiléticos nas análises de máxima verossimilhança e bayesiana, respectivamente. O não-monofiletismo da família concorda com resultados de estudos prévios, obtidos através de diferentes tipos de dados (Polotow & Brescovit 2014, Polotow *et al.* 2015, Piacentini & Ramírez 2019, Hazzi & Hormiga 2022). De modo geral, as relações entre os demais grupos que compõem o Clado Calamistro Oval são consistentes com os resultados obtidos por Wheeler *et al.* (2017).

Zoropsidae está posicionada na base do Clado Calamistro Oval, como na filogenia de Wheeler *et al.* (2017). As subfamílias Uliodoninae (*Uliodon* L. Koch e *Kilyana* Raven & Stumkat) e Griswoldiinae (*Griswoldia* Dippenaar-Schoeman & Jocqué e *Phanotea* Simon), sugeridas por Polotow *et al.* (2015), e Tengellinae (*Tengella* Dahl, *Zorocrates* Simon e *Liocranoides* Platnick), sugerida por Wheeler *et al.* (2017), também foram recuperadas com alto suporte em nossas análises.

Sob inferência bayesiana, Udubidae é recuperada como irmã de Zoropsidae com suporte moderado (pp =0.78), divergindo dos resultados de Polotow *et al.* (2015), onde a família aparece como irmã do Clado Tapetum em Formato de Grelha, e dos resultados de Wheeler *et al.* (2017), que recuperam Udubidae dentro de Zoropsidae em algumas análises.

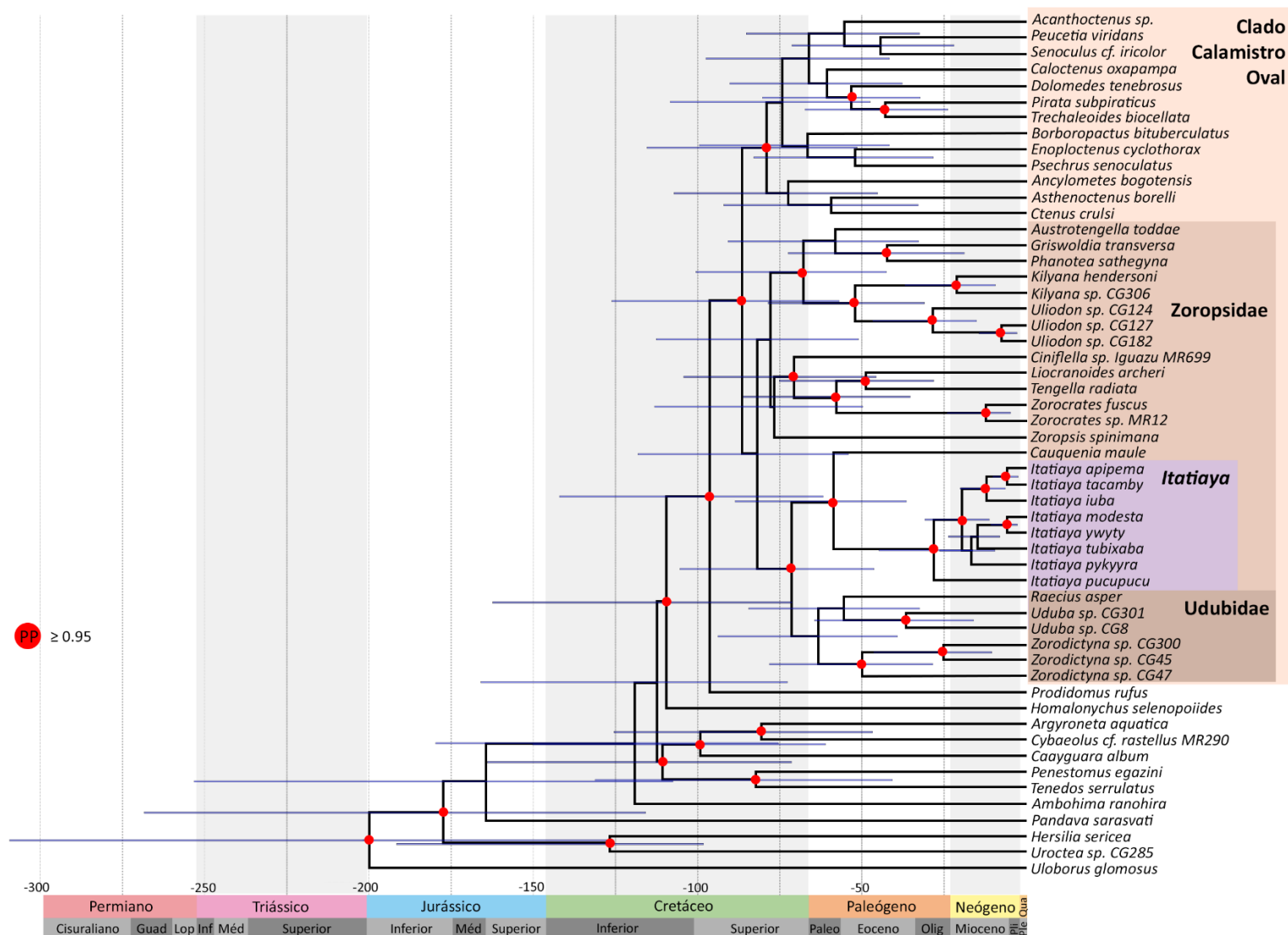


Figura 5: Filogenia datada de *Itatiaya* e grupos proxicamente relacionados à Zoropsidae, obtida sob inferência bayesiana no BEAST2 e baseada em dados moleculares (COI, H3, ITS, 12s, 16s, 18s e 28s). Círculos vermelhos nos nós representam probabilidade posterior dos clados igual ou superior a 0.95. Barras associadas aos nós representam intervalo de confiança de 95% das datas de divergência estimadas. Escala em milhões de anos.

Itatiaya é recuperada como irmã de *Cauquenia maule* em 100% das árvores. A relação entre os dois gêneros é consistente com o resultado obtido através de dados morfológicos por Piacentini *et al.* (2013). O clado *Itatiaya* + *Cauquenia* é recuperado como irmão de Udubidae com alto suporte, o que diverge do encontrado na filogenia morfológica de Polotow & Brescovit (2011), onde o gênero é recuperado dentro de Zoropsidae junto aos gêneros *Griswoldia* e *Zoropsis* em um clado politômico.

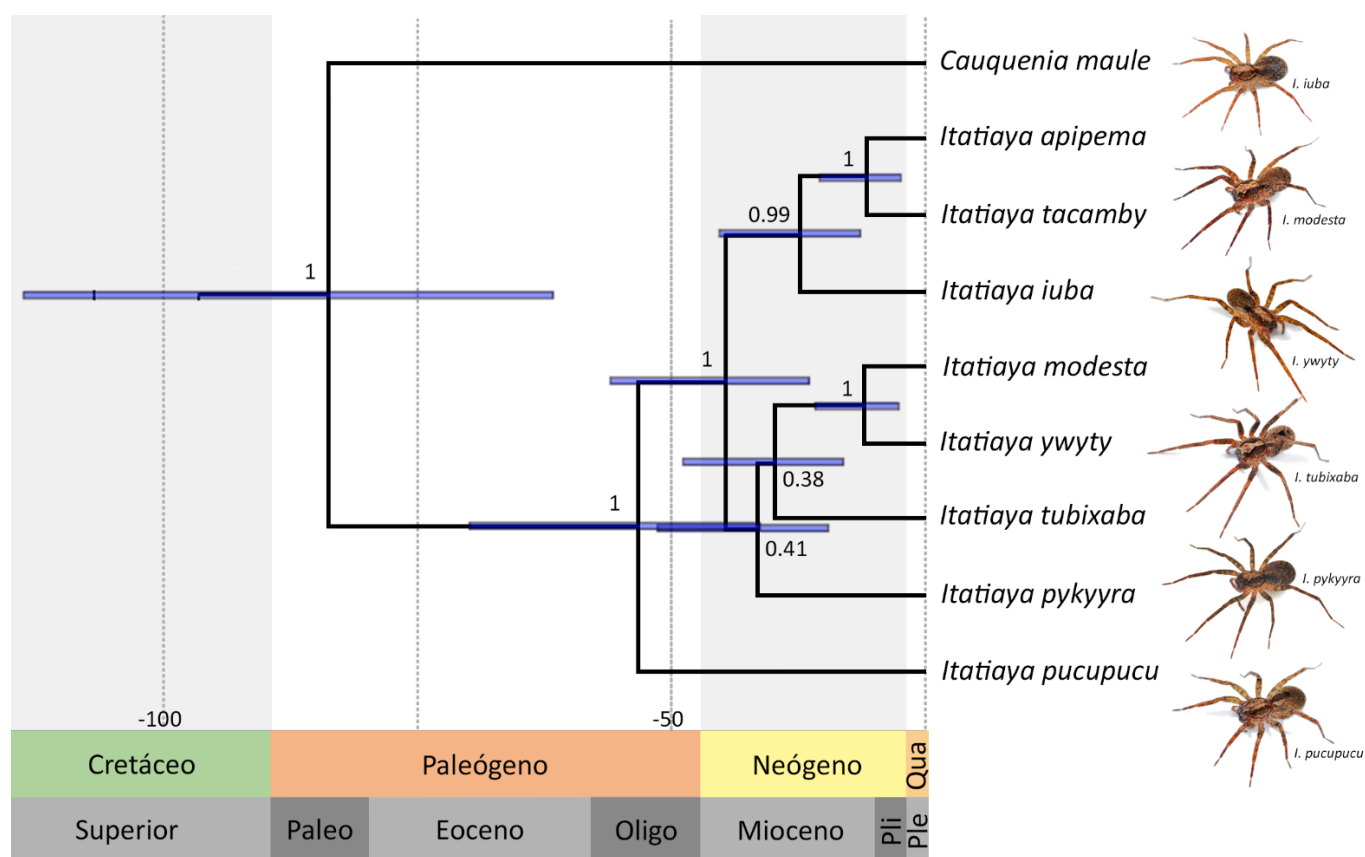


Figura 6: Filogenia de *Itatiaya* e *Cauquenia* estimada no BEAST2. Números próximos aos nós representam a probabilidade posterior dos clados. Barras associadas aos nós representam intervalo de confiança de 95% das datas de divergência estimadas. Escala em milhões de anos. Fotos: P.H. Martins.

Em nossa análise de máxima verossimilhança, *Cauquenia* emerge como irmã de Udubidae e *Itatiaya* é recuperada com irmã do clado Udubidae + *Cauquenia*. O clado ((Udubidae + *Cauquenia*) + *Itatiaya*) está posicionado dentro de Zoropsidae como irmão de *Austrotengella*, porém todas as relações são pouco suportadas.

Nossos resultados esclarecem as relações internas do gênero *Itatiaya*, fornecendo o posicionamento filogenético de *I. ywyty* e *I. tubixaba* pela primeira vez (Fig. 6). *I. pucupucu* emerge como grupo irmão das demais espécies do gênero, assim como indicado por dados morfológicos em Polotow & Brescovit (2011). O restante das espécies do gênero se divide em dois clados: o primeiro composto por *I. apipema* Polotow & Brescovit, 2006, *I. tacamby* Polotow & Brescovit, 2006 e *I. iuba*; e o segundo composto por *I. modesta*, *I. ywyty*, *I. tubixaba* e *I. pykyryra*. O posicionamento das espécies do gênero apresenta alto suporte, exceto

pelas relações de *I. pykyyra* e *I. tubixaba*, que divergem nos resultados bayesiano e de máxima verossimilhança.

3.3 Datação

Dentre as hipóteses de datação exploradas aqui, o resultado obtido com maior suporte foi a combinação de um relógio molecular relaxado com distribuição exponencial e modelo de evolução de árvore Yule (Tabela S6, material suplementar). Este resultado diferencia-se dos demais por estimar idades mais recentes para vários clados. As hipóteses obtidas por Yule + Lognormal e *birth-death* + Lognormal apresentam a mesma topologia recuperada no resultado com maior probabilidade posterior, enquanto a hipótese obtida por *birth-death* + Exponencial apresenta variação na posição de *I. pykyyra* e *I. tubixaba*, que foram recuperados com baixo valor de suporte em todas as hipóteses. Abordaremos apenas os resultados obtidos na hipótese com maior probabilidade posterior, mas, para fins de comparação, as árvores dos demais resultados estão apresentadas no material suplementar (Figs. S2, S3, S4) e os resultados dos quatro esquemas de datação estão sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2: Incerteza associada às idades estimadas para os clados de *Itatiaya* e táxons proximalmente relacionados, em milhões de anos. Para cada clado e esquema de combinação de *priors*, apresentamos o valor médio e intervalo de maior densidade *a posteriori* obtidos sob inferência Bayesiana através do BEAST 2.2.6. Quatro combinações diferentes entre *priors* de árvore e relógio foram utilizados: (1) Yule + relógio relaxado não correlacionado com distribuição exponencial, (2) Yule + relógio relaxado não correlacionado com distribuição lognormal, (3) *birth-death* + relógio relaxado não correlacionado com distribuição exponencial e (4) *birth-death* + relógio relaxado não correlacionado com distribuição lognormal. Em todas as análises, as árvores foram calibradas seguindo a mesma estratégia: três pontos de calibração fóssil e taxa de substituição do gene H3 previamente estimada por Bidegaray-Batista & Arnedo (2011).

Divergência/ <i>Priors</i>	Yule + Exponencial	Yule + Lognormal	BD + Exponencial	BD + Lognormal
<i>Itatiaya</i> + <i>Cauquenia</i> + Udubidae - Zoropsidae	81.72 (54.14-118.14)	94.66 (63.27-138.05)	88.14 (56.45-127.94)	85.85 (57.85-127.22)
<i>Itatiaya</i> + <i>Cauquenia</i> - Udubidae	71.42 (46.31-105.36)	82.2 (53.58-121.59)	77.07 (48.48-112.24)	76.57 (50.42-113.71)
<i>Itatiaya</i> - <i>Cauquenia</i>	58.65 (36.48-88.53)	69.06 (43.11 - 103.70)	64.05 (38.36-94.1)	64.5 (40.51-96.87)
<i>I. pucupucu</i> - demais <i>Itatiaya</i>	28.09 (16.27 -44.83)	33.09 (19.03-52.43)	31.3 (17.05-46.71)	30.7 (18.06-48.25)
Divergência entre os dois clados de <i>Itatiaya</i>	19.54 (11.31 -30.87)	-	22.03 (12.06-32.49)	21.07 (12.42-33.12)
<i>I. iuba</i> - <i>I. apipema</i> + <i>I. tacamby</i>	12.17 (6.38-20.12)	13.84 (7.50-22.73)	14.35 (6.64-21.51)	13.08 (6.96-21.33)
<i>I. apipema</i> - <i>I. tacamby</i>	5.74(2.5-10.3)	6.65 (3.07-11.96)	7.47 (2.56-10.96)	6.32 (2.87-11.18)
<i>I. pykyyra</i> - <i>I. modesta</i> + <i>I. ywyty</i> + <i>I. tubixaba</i>	16.55 (9.55-26.29)	-	19.02 (10.18-27.65)	17.77 (10.48-27.69)
<i>I. tubixaba</i> - <i>I. modesta</i> + <i>I. ywyty</i>	14.75 (8.05-23.73)	-	17.02 (8.8-25.25)	15.88 (8.92-25.55)
<i>I. modesta</i> + <i>I. ywyty</i>	5.9 (2.67-10.88)	7.13 (3.18-13.05)	7.83 (2.84-11.56)	6.64 (2.92-12.13)

Nossas estimativas (Fig. 5, Tabela 2) indicam que a divergência entre o clado *Cauquenia* + *Itatiaya* e Udubidae tenha ocorrido há pelo menos 71.4 milhões de anos (46.3 – 105.3, 95% de intervalo de maior densidade *a posteriori*; HPD) enquanto a linhagem que deu origem a *Itatiaya* e *Cauquenia* data do Paleoceno, com média de 58 milhões de anos (HPD 36.4 – 88.5). A divergência entre *I. pucupucu* e demais espécies do gênero data do Oligoceno, ocorrendo há pelo menos 28 milhões de anos (16.2 – 44.8) e a linhagem que deu origem aos dois clados compostos pelas demais espécies de *Itatiaya* data do Mioceno, com média de 19.5 milhões de anos (11.3 – 30.8), com os demais eventos de especiação do gênero ocorrendo antes do final do Mioceno (Fig. 6).

3.4 Modelagem de nicho ecológico e distribuição geográfica

Ao observarmos a distribuição geográfica das espécies de *Itatiaya* em relação à reconstrução filogenética do gênero (Fig. 7), notamos a ausência de estruturação geográfica do grupo, uma vez que espécies proximamente relacionadas apresentam distribuição descontínua ao longo das serras que compõem a região montanhosa da Mata Atlântica.

O modelo de distribuição de *Itatiaya* corrobora nosso conhecimento atual sobre a distribuição do gênero e revela novas áreas de adequabilidade alta, onde espécies de *Itatiaya* ainda não foram observadas (Fig. 8). Segundo nosso modelo, o conjunto de características climáticas adequadas para a ocorrência do gênero está restrito à porção sudeste da Mata Atlântica, com expansão de áreas de adequabilidade para região do Espinhaço e serras da região Sul do Brasil. As duas principais áreas de maior adequabilidade ocupam a Serra do Mar e a Serra da Mantiqueira, isoladas por uma região de baixa adequabilidade situada em áreas de baixas altitudes entre as duas cadeias.

Ao estabelecermos uma relação entre áreas de adequabilidade e altitude, notamos que o aumento da altitude, de modo geral, contribui para que o ambiente apresente característica mais adequadas para a ocorrência de *Itatiaya*. Entretanto, a presença de pontos que fogem desse padrão sugere que outros elementos também influenciam o estabelecimento de áreas adequadas para a ocorrência do gênero (Fig. 9).

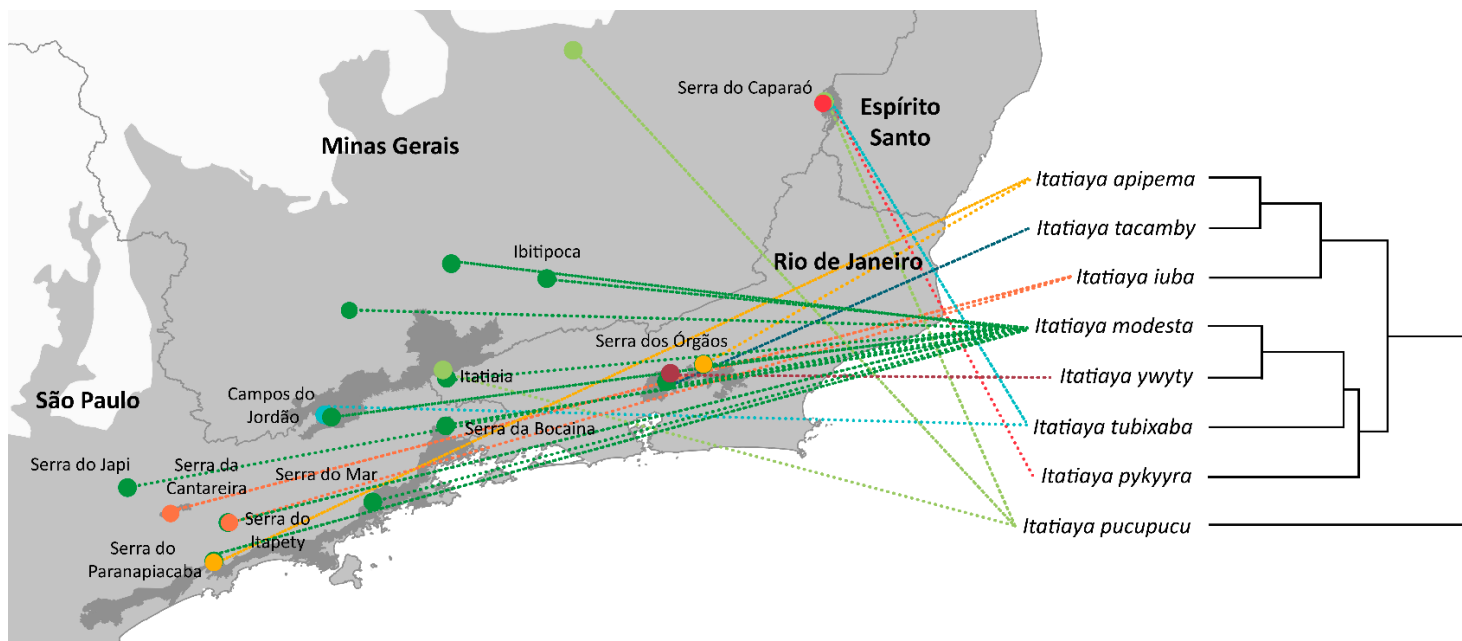


Figura 7: Registros de distribuição geográfica das linhagens de *Itatiaya* nas serras da porção sudeste da Mata Atlântica.

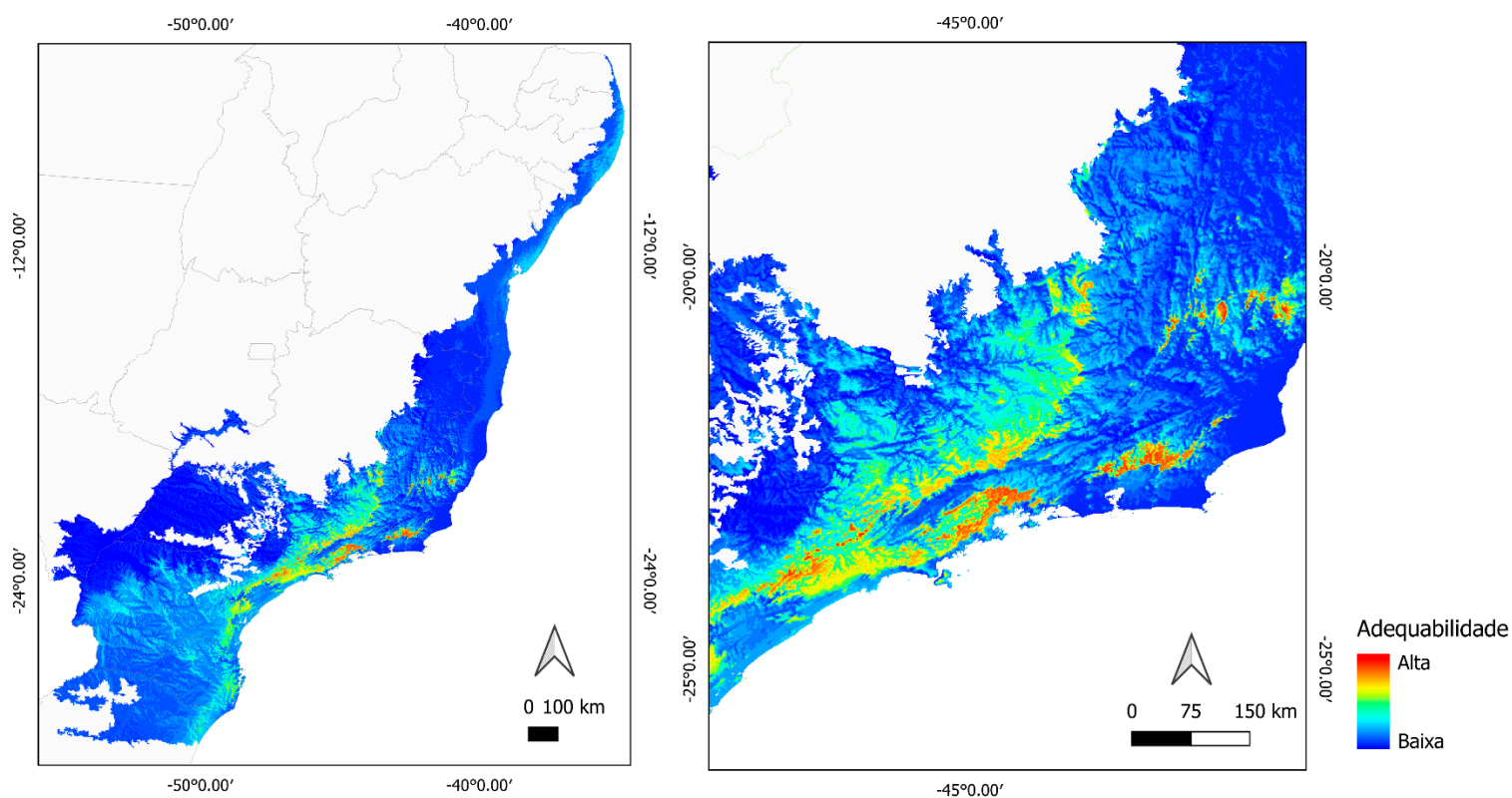


Figura 8: Modelagem preditiva da distribuição do gênero *Itatiaya* para o bioma Mata Atlântica com uso de diferentes algoritmos através do *workflow* ModleR, implementado no R. Cores quentes indicam maior probabilidade de ocorrência do gênero na região. (B) Detalhe da porção sudeste da Mata Atlântica, região onde existem registros de ocorrência para o gênero, evidenciando uma maior adequabilidade do grupo nas áreas montanas do bioma.

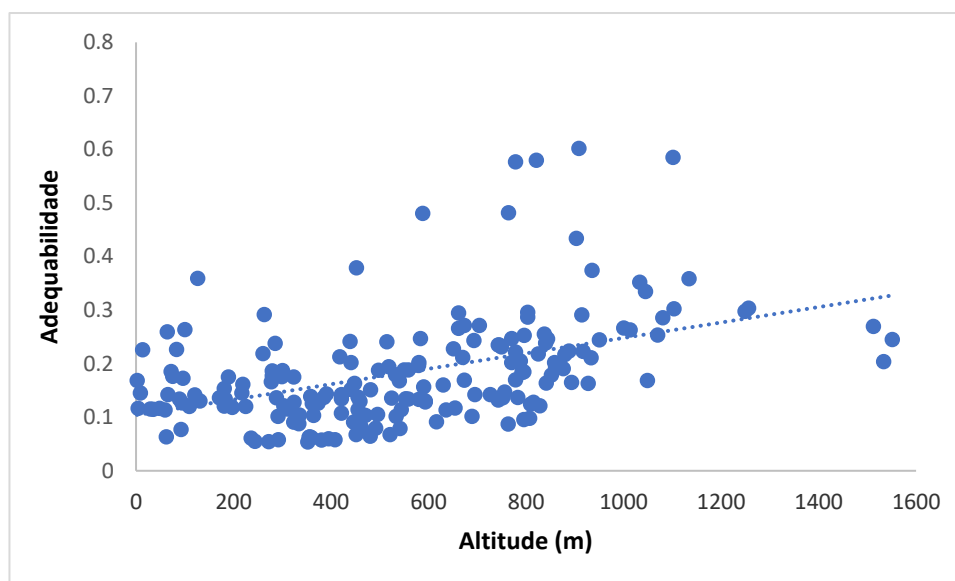


Figura 9: Relação entre adequabilidade ambiental e altitude (em metros), de acordo com o modelo de nicho ecológico estimado para *Itatiaya*. Pontos no gráfico representam 200 pontos sorteados aleatoriamente para a Mata Atlântica.

4. DISCUSSÃO

Nossos resultados indicam que o ancestral de *Itatiaya* + *Cauquenia* teria divergido de Udubidae durante o Cretáceo superior (71.4 M.a, 46.3–105.3, Fig. 5), com intervalo de confiança sobreposto às estimativas de separação da Gondwana (Upchurch 2008). A família Udubidae tem distribuição conhecida para África tropical e sub-tropical, Madagascar e Sri Lanka (World Spider Catalog 2022). Dessa forma, esta estimativa de datação sugere que a divergência entre os clados sul-americano e (predominantemente) africano possa ter ocorrido devido à deriva continental, seja através da separação das populações ancestrais por vicariância, provocada pela abertura do Oceano Atlântico entre os continentes, ou por dispersão transoceânica, possibilitada pela proximidade dos continentes nesse período.

Udubidae foi separada de Zoropsidae e elevada ao nível de família por Polotow *et al.* (2015), com seu monofiletismo sustentado por oito sinapomorfias morfológicas homoplásicas em uma análise de evidência total. Embora *Itatiaya* e *Cauquenia* não tenham sido amostradas no estudo, Polotow *et al.* (2015) reafirmaram o posicionamento dos dois gêneros em Zoropsidae, na subfamília Griswoldiinae, junto a *Griswoldia* e *Phanotea*, tomando como base as relações recuperadas por Polotow & Brescovit (2011) e Piacentini *et al.* (2013), ambas obtidas através de dados morfológicos. Tendo em vista a discordância do posicionamento de *Itatiaya* e *Cauquenia* quando analisados sob diferentes fontes de dados, e que os gêneros também compartilham parte dos caracteres que sustentam o monofiletismo de Udubidae, sugerimos

que o posicionamento dos grupos seja reavaliado através de uma análise de evidência total. Esta análise daria subsídios para a tomada de decisões a respeito da taxonomia desses grupos, que poderia envolver, por exemplo, a transferência de *Itatiaya* e *Cauquenia* para Udubidae, ou mesmo a sinonímia desta família com Zoropsidae.

A separação entre *Itatiaya* e *Cauquenia* data do final do Paleoceno, tendo ocorrido ao menos há 58 milhões de anos (Fig. 6). Neste período, devido ao aquecimento do globo decorrente do aumento de CO₂ atmosférico, florestas tropicais de todos os continentes encontravam-se em expansão, atingindo sua extensão máxima na transição entre o Paleoceno e o Eoceno, em um evento conhecido como o Máximo Térmico do Paleoceno-Eoceno (Gingerich 2006, McInerney & Wing 2011). Na América do Sul, reconstruções paleoambientais sugerem a conexão entre florestas tropicais neste período, inclusive entre as florestas úmidas do sul do Chile (onde ocorre *C. maule*) e a Mata Atlântica (Morley 2011). A idade do clado *Itatiaya* + *Cauquenia* recuperada em nossas análises, coincidindo com o final do Paleoceno, corrobora este cenário.

A complexa topografia do sudeste da Mata Atlântica e os eventos tectônicos que a moldaram são frequentemente apontados como motivadores de diversificação da biota nesta região (e.g. Grazziotin *et al.* 2006, Pellegrino *et al.* 2005, Peres *et al.* 2019). Com sua origem no Cretáceo Superior, as serras litorâneas da Mata Atlântica surgiram como uma elevação única que, posteriormente, daria origem às serras da Mantiqueira e do Mar através da abertura do vale do Paraíba do Sul, entre o final do Cretáceo e o início do Eoceno (Riccomini *et al.* 2004, Souza *et al.* 2021). Apesar das espécies de *Itatiaya* apresentarem distribuição restrita a estas serras, sugerindo que o surgimento dos vales tenha exercido papel no isolamento de suas populações, nossos resultados rejeitam esta hipótese por apresentarem clados com idades mais recentes que a origem do relevo.

De forma alternativa, o surgimento de *Itatiaya* no final do Oligoceno, com a diversificação de suas espécies ocorrendo principalmente durante Mioceno (28–5 Ma., Fig. 6), coincide com importantes eventos neotectônicos e climáticos que remodelaram a paisagem e afetaram a cobertura florestal da Mata Atlântica. A diversificação da biota da Mata Atlântica durante o Terciário é principalmente atribuída às modificações do relevo neste período. Os efeitos das variações climáticas no processo de diversificação durante este período são abordados em alguns estudos, porém, em menor escala (veja Peres *et al.* 2020 para um panorama geral). Diversas evidências sugerem que múltiplos mecanismos tenham atuado simultaneamente e continuamente na diversificação Neotropical, evidenciando que a explicação dos eventos de

especiação nesta região não deva ser restringida a um único mecanismo (Rull 2011). Uma vez que nossos resultados não fornecem evidências para descartarmos uma hipótese em detrimento à outra, possivelmente as populações de *Itatiaya* foram influenciadas tanto pelo clima quanto pelo relevo durante o final do Terciário, em um cenário de diversificação complexo.

Durante o Oligoceno, eventos de esfriamento e aridez propiciaram a expansão de campos abertos em diversas partes do globo (Morley 2011). Na América do Sul, áreas de florestas tropicais úmidas se tornaram restritas às regiões que conhecemos hoje como a Mata Atlântica e Amazônia, através da abertura de uma faixa diagonal seca que atravessava o continente (Zanella 2011). No final do Oligoceno e durante o Mioceno, oscilações da temperatura propiciaram sucessivas expansões e contrações dessas formações florestais, possibilitando a reconexão e isolamento de fragmentos durante este período (Zachos *et al.* 2001, Morley 2011). Por exemplo, a presença de caulinita no sistema fluvial sinuoso da bacia de São Paulo é apontada como indício de condições climáticas úmidas durante o final do Oligoceno e início do Mioceno na Mata Atlântica (Riccomini 1991). Já a grande diversificação de plantas características do Cerrado durante os últimos 10 milhões de anos (Simon *et al.* 2009) e o aumento de gramíneas C4 na América do Sul durante o final do Mioceno (Strömberg 2011) confirmam a expansão de ambientes áridos com vegetação esparsa, que restringiriam a extensão de áreas de florestas úmidas no final desse período.

A distribuição restrita de *Itatiaya* e seu nicho ecológico igualmente restrito indicam baixa tolerância ambiental, sugerindo que alterações no clima e na vegetação poderiam ser cruciais no processo de diversificação do gênero. Nosso modelo de nicho ecológico aponta que as áreas de adequabilidade para a ocorrência de *Itatiaya* estão restritas às formações montanhosas da porção sudeste da Mata Atlântica (Fig. 8), região que atualmente hospeda remanescentes de florestas ombrófilas densas. Dentre as variáveis climáticas que mais contribuíram para o modelo, além de variáveis relacionadas à variação de temperatura, estão a precipitação anual e a precipitação durante a estação mais úmida. Este conjunto de variáveis mais influentes demonstram a dependência de umidade e cobertura florestal para a ocorrência do gênero. Partindo deste resultado, podemos inferir que eventos de contração de florestas úmidas possam ter fragmentado áreas adequadas para a ocorrência de *Itatiaya*, resultando no isolamento de suas populações em refúgios florestais. Dessa forma, a divergência entre suas populações poderia ter sido favorecida de dois modos: (1) por vicariância, devido à fragmentação de áreas de floresta úmida durante períodos de maior aridez e contração de

florestas, ou (2) através de dispersão, possibilitada pela reconexão de áreas isoladas durante períodos de expansão das formações florestais.

Concomitantemente aos eventos climáticos, movimentos neotectônicos remodelaram a paisagem da Mata Atlântica durante o Mioceno. Divergências mais recentes entre as espécies de *Itatiaya* coincidem temporalmente com o rompimento e mudança de direção do rio Paraíba do Sul em resposta às movimentações da crosta, há aproximadamente 15 milhões de anos. A partir deste evento, este rio, que separa as serras da Mantiqueira e do Mar, deixa de correr para o interior do continente e passa a desaguar no mar, entre a Serra dos Órgãos e o Caparaó (Riccomini 2007, Souza *et al.* 2021). Uma vez que o vale do Paraíba do Sul aparenta exercer influência sob a distribuição das espécies de *Itatiaya* (veja adiante), podemos inferir que as alterações na paisagem durante esse período também possam ter influenciado na diversificação do gênero, agindo em conjunto com os efeitos das variações climáticas do Mioceno.

Os rios que compõem a paisagem da Mata Atlântica são frequentemente reconhecidos como barreiras biogeográficas para diversos grupos de organismos (*e. g.* Brunet *et al.* 2010, Cabanne *et al.* 2007, Peres *et al.* 2019, Thomé *et al.* 2010). Um exemplo disso pode ser observado em opiliões, aracnídeos que compartilham com *Itatiaya* a preferência por ambientes úmidos e de vegetação florestal. Pinto-da-Rocha (2002) e DaSilva *et al.* (2015) propõem que os rios Doce, Ribeira do Iguapé e Paraíba do Sul atuem como barreiras de dispersão para as espécies de opiliões da Mata Atlântica, delimitando áreas de endemismo para o grupo entre seus vales. Como apontado por Polotow & Brescovit (2006), as espécies de *Itatiaya* apresentam distribuição congruente com algumas das áreas de endemismo propostas para opiliões, nos levando a questionar se os dois grupos estariam sob influência das mesmas barreiras biogeográficas.

A Mata Atlântica é o bioma mais bem amostrado do Brasil, principalmente em sua região sudeste (Oliveira *et al.* 2016). Somado a isso, grandes expedições focadas na coleta de aracnídeos já foram realizadas nesta região (*e. g.* BIOTA/FAPESP; M.D.F. Magalhães, comunicação pessoal). Mesmo após todo o esforço amostral, a distribuição das espécies de *Itatiaya* permanece restrita à porção Sudeste do bioma, contida dentro dos limites impostos pelos vales dos rios Doce e Ribeira do Iguape (Fig. 3), reforçando um dos padrões geográficos já observados por Polotow & Brescovit (2006). Isso nos sugere que, assim como observado para opiliões, os dois vales poderiam representar barreiras intransponíveis para *Itatiaya*, limitando a dispersão de suas espécies para outras regiões do bioma. Por outro lado, dentro da

discussão sobre os efeitos que os rios da Mata Atlântica exercem na distribuição de espécies, propõe-se que, mais do que puramente barreiras físicas intransponíveis pelas populações, os vales representem rupturas entre áreas ambientalmente adequadas para a ocorrência de alguns táxons (Carnaval *et al.* 2014, Saiter *et al.* 2016). Para as espécies de *Itatiaya*, este pode ser o caso.

A ausência de áreas de adequabilidade para o gênero além da margem norte do Rio Doce nos sugere que a dispersão e o estabelecimento de *Itatiaya* na porção Nordeste da Mata Atlântica estejam impedidos pelas diferenças ambientais entre regiões, e não somente pela dificuldade de transposição do rio. Carnaval *et al.* (2014) indicam dois regimes climáticos amplamente distintos para a Mata Atlântica, um ao norte e outro ao sul do bioma, com zona de transição demarcada pelo Rio Doce. Dessa forma, sugerem que a grande mudança na composição das espécies entre as duas regiões da Mata Atlântica poderia ser atribuída a uma barreira climática, e não necessariamente à presença do rio, e nossos resultados corroboram esta hipótese.

De forma distinta, as serras ao sul do Rio Ribeira do Iguapé apresentam alguma adequabilidade para ocorrência do gênero. Entretanto, a ausência de registros de *Itatiaya* na literatura para esta região e a falta de espécimes coletados em expedições recentes (M.D.F Magalhães; A.D Brescovit, comunicação pessoal) indicam que o gênero não ocorra ao sul do Ribeira do Iguapé. Estudos sobre o efeito orográfico da Serra do Mar no vale do Ribeira apontam baixa pluviosidade na região (em comparação com outras porções da Serra do Mar) devido ao seu posicionamento em uma sombra de chuvas (Terassi & Galvani 2017). Dessa forma, o vale é caracterizado como um ambiente mais árido e, portanto, pouco adequado para a ocorrência de *Itatiaya*, o que justificaria a dificuldade de dispersão das espécies através dele mesmo em períodos de expansão da vegetação úmida. Esta hipótese poderia ser testada no futuro, através da paleomodelagem de distribuição do gênero.

Mais interessante, o vale do Paraíba do Sul aparenta delimitar três regiões com diferentes composições de espécies de *Itatiaya*: (1) *I. pucupucu* e *I. pykyra* ocorrem ao norte e oeste do vale; (2) *I. tacamby* e *I. ywyty* ocorrem ao leste; (3) *I. iuba* ocorre entre o cotovelo de captação do Rio Paraíba do Sul e o vale do Rio Tietê. *I. apipema* ocorre em simpatria com as espécies das áreas (2) e (3), *I. tubixaba* ocorre em simpatria com as espécies das áreas (1) e (3) e *I. modesta* está amplamente distribuída em todas as faces do vale. A diferente composição de espécies nas duas margens do Paraíba do Sul sugere que o vale também possa atuar como uma barreira para as espécies de *Itatiaya*. A baixa adequabilidade para a ocorrência do gênero nesta região, demonstrada em nosso modelo, reforça esta hipótese.

Assim como o vale do Ribeira, o Paraíba do Sul encontra-se em uma região de sombra de chuvas formada pela Serra do Mar. Da mesma forma, a baixa incidência de chuvas nessa região (Terassi & Galvani 2017) justificaria a ausência de características ambientais adequadas para a ocorrência de *Itatiaya* mesmo em períodos de expansão de áreas florestais e, portanto, explicaria a dificuldade de transposição do vale por suas espécies. Como exceção, *I. modesta* encontra-se amplamente distribuída nas duas bordas do Paraíba do Sul. Sua divergência recente torna este padrão de distribuição ainda mais curioso. Quais fatores possibilitaram sua dispersão para tantas regiões? Por que espécies que se diversificaram há mais tempo também não foram capazes de ocupar essas outras regiões? De forma especulativa, podemos inferir que uma maior tolerância ambiental possibilitaria a *I. modesta* transpor e permanecer em ambientes que para as outras espécies seriam inviáveis. Espécies que ocorrem próximas ao cotovelo de captação do Paraíba do Sul apresentam divergência posterior (Tabela 2) aos eventos neotectônicos que culminariam no rompimento do rio com a bacia do Tietê. Isso nos sugere que a diversificação e isolamento dessas populações possa ter sido propiciada pela movimentação da crosta e mudanças na configuração do curso do rio durante este período.

A baixa estruturação geográfica das espécies de *Itatiaya* também é uma característica interessante sobre a distribuição do grupo (Fig. 7). A distribuição descontínua de seus clados ao longo das serras da Mata Atlântica, somada ao fato de espécies filogeneticamente distantes ocorrerem em simpatria, nos sugere o contato secundário entre espécies a partir de eventos de dispersão mais recentes. Estudos com espécies montanas da Mata Atlântica (*e. g.* Leite *et al.* 2016, Paz *et al.* 2019) indicam que, durante os períodos glaciais do Pleistoceno, populações estariam aptas a explorar ambientes que atualmente são inviáveis para a sua ocorrência, principalmente em regiões de baixa altitude. Nossas estimativas de divergência entre as espécies de *Itatiaya* são mais antigas que os eventos de glaciação do Quaternário e, portanto, também rejeitam a hipótese dos refúgios (Haffer 1969) como explicação para a diversificação do gênero. Entretanto, a alternância entre períodos glaciais e interglaciais durante o Quaternário poderia explicar, em parte, a atual distribuição geográfica de suas espécies. Podemos especular que durante os períodos de resfriamento, as espécies de *Itatiaya* foram capazes de se dispersar através de regiões atualmente inadequadas para seu estabelecimento, possibilitando o contato secundário entre suas populações. Com o fim das glaciações e o aquecimento do clima, estas populações ficariam novamente limitadas às áreas que atuam

como refúgio para o gênero, explicando a distribuição atual de *Itatiaya* restrita a regiões de altitude.

A Mata Atlântica é um bioma complexo, composto por variados regimes climáticos, alta diversidade de fisionomias vegetais e ampla variação topográfica. Todas essas características fornecem elementos favoráveis à diversificação de sua biota, caracterizando o bioma como um dos mais diversificados da região Neotropical. Estudos filogeográficos de vários grupos permitiram a reconstrução da história paleoambiental da Mata Atlântica, fornecendo informações sobre como os processos históricos poderiam ter moldado a diversificação nessa região. Entretanto, apesar de toda a informação acumulada até o momento, os mecanismos envolvidos na origem e diversificação das espécies da Mata Atlântica ainda não foram completamente compreendidos (Peres *et al.* 2020).

No presente trabalho, esclarecemos as relações evolutivas entre as espécies de *Itatiaya*, recuperando o posicionamento filogenético de *I. ywyty* e *I. tubixaba* pela primeira vez, e elucidamos as relações entre *I. iuba*, *I. modesta* e *I. pykyra*. Além disso, testamos o posicionamento filogenético de *Itatiaya*, que emerge junto a Udubidae em nossas análises, revelando a necessidade de análises que combinem dados morfológicos e moleculares para a tomada de decisões taxonômicas. Nossas estimativas de datação apontam para a diversificação das espécies de *Itatiaya* durante o Mioceno, sugerindo que eventos climáticos e geológicos durante o Terciário possam ter influenciado nos eventos de especiação do gênero. Adicionalmente, apontamos que os efeitos das glaciações do Quaternário poderiam ter influenciado na distribuição geográfica das espécies de *Itatiaya*. Por fim, discutimos o padrão de distribuição do gênero, sugerindo que os rios Ribeira do Iguape, Paraíba do Sul e Doce marquem barreiras de dispersão para as espécies do gênero. Estes resultados são importantes pontos de partida para a formulação de hipóteses sobre o papel das características biogeográficas da Mata Atlântica no processo de diversificação do grupo. Através destas informações, seremos capazes de desenhar testes mais acurados e com maior poder explicativo em nível populacional, permitindo o aprofundamento em nossas interpretações. Ademais, as taxas de substituição obtidas neste estudo poderão ser empregadas em futuras análises de datação em nível populacional, possibilitando uma calibração mais refinada e, conseqüentemente, estimativas mais realistas. As espécies de *Itatiaya* apresentam padrão de distribuição bastante curioso, que faz delas bons modelos para auxiliar na compreensão do papel do relevo e do clima no processo de diversificação de organismos da Mata Atlântica durante os últimos 30 milhões de anos. Com base nos resultados preliminares obtidos neste

estudo, e em trabalhos futuros, poderemos contribuir com o avanço da reconstrução da história paleoambiental da Mata Atlântica.

5. TAXONOMIA

Família ZOROPSIDAE Bertkau, 1882

Gênero *Itatiaya* Mello-Leitão, 1915

Espécie-tipo por monotipia, *Itatiaya modesta* Mello-Leitão, 1915

Diagnose. Em Polotow & Brescovit (2006).

Descrição. Em Polotow & Brescovit (2006).

Composição. Oito espécies: *Itatiaya modesta* Mello-Leitão, 1915; *I. tacamby* Polotow & Brescovit, 2006; *I. iuba* Polotow & Brescovit, 2006; *I. apipema* Polotow & Brescovit, 2006; *I. pykyyra* Polotow & Brescovit, 2006; *I. tubixaba* Polotow & Brescovit, 2006; *I. pucupucu* Polotow & Brescovit, 2006 e *Itatiaya ywyty* Polotow & Brescovit, 2006.

Distribuição. Região Sudeste do Brasil

Itatiaya ywyty Polotow & Brescovit, 2006

Itatiaya ywyty Polotow & Brescovit, 2006: 439, figs 22, 60, 61. Holótipo fêmea de BRASIL: Rio de Janeiro: Teresópolis, 20-22.IV.1995, R. Baptista & M.I. Landim leg., depositado em IBSP 40822; parátipos, duas fêmeas com os mesmos dados do holótipo, depositadas em IBSP 40823 e 40824, não examinados.

Material examinado. BRASIL: Rio de Janeiro: Teresópolis (Bairro Quintas da Mata), três fêmeas e um macho, 17.VI.2021, M.O. Tomasi *et al.* leg. (UFMG 27015-27017, 27483).

Diagnose. O macho de *I. ywyty* assemelha-se ao de *I. apipema* (Polotow & Brescovit 2006: figs 44, 45) pela apófise mediana com base alargada e ponta alongada, mas pode ser distinguido pela ATR com porção proximal arredondada e porção distal pontiaguda em seu ápice (Fig. 10A). O macho de *I. ywyty* assemelha-se também ao de *I. modesta* (Polotow & Brescovit 2006: figs 11, 14, 27-35) pelo formato da ATR, mas pode ser distinguido desta pela apófise mediana com porção central mais alargada retrolateralmente (Fig. 10A). As fêmeas

podem ser distinguidas das demais espécies do gênero pela ampla placa mediana do epígino e pelas curtas esporas ventrais laterais (Polotow & Brescovit 2006: Fig. 60).

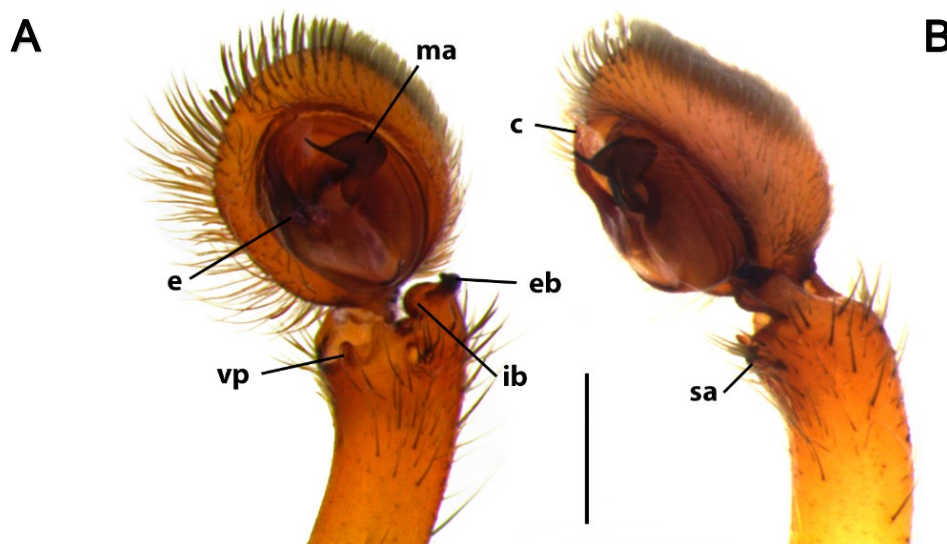


Figura 10: *Itatiaya ywyty*: (A-B) macho (UFMG 27483), palpo esquerdo. (A) vista ventral; (B) vista retrolateral. Abreviações: (c) condutor, (e) êmbolo, (ma) apófise média, (eb) porção distal da ATR, (ib) porção proximal da ATR, (sa) apófise subventral, (vp) projeção ventral. Escala = 0.5 mm

Descrição. Macho (UFMG 27483). Coloração: Carapaça marrom claro, com banda amarela dorsal, mediana, longitudinal, que se estende a partir da borda dos olhos medianos posteriores até a borda posterior da carapaça; linhas pretas divergentes alongando-se a partir do sulco torácico (Fig. 11). Quelíceras marrom avermelhadas com duas linhas longitudinais pretas. Esterno amarelo pálido. Pernas amarelo pálido com manchas cinzas longitudinais, tarso e metatarso marrom claro. Abdômen marrom claro com manchas pretas pareadas longitudinalmente (Fig11). Comprimento total 6.85. Comprimento da carapaça 4.08, largura 3.04. Altura do clipeo 0.07. Diâmetro dos olhos: OAM 0.20, OAL 0.20, OPM 0.25, OPL 0.26. Interdistância entre os olhos: OAM-OAM 0.04, OAM-OAL 0.02, OPM-OPM 0.03, OPM-OPL 0.02, OAL-OPL 0.08, OAM-OPM 0.03. Medidas das pernas: I: fêmur 3.80/patela 0.55/tíbia 4.60/metatarso 4.50/tarso 2.45/total 15.90; II: fêmur 3.62 (outros segmentos perdidos); III: 3.18/0.66/2.74/2.96/1.09/10.62; IV: 3.66/0.70/3.70/3.15/1.42/12.62. Palpo: tíbia alongada, duas vezes o tamanho do címbio; ATR com porção proximal arredondada e porção distal com ápice pontiagudo; apófise subventral curta com cerdas alongadas na região ventral da tíbia; címbio arredondado com escópula dorsal densa; êmbolo longo e fino; apófise média sinuosa, com base alargada e ponta fina (Fig 10 A-B).

Fêmea. descrita em Polotow & Brescovit (2006).

Distribuição. Conhecida apenas da localidade tipo.

6. NOVOS REGISTROS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Ao todo, 857 adultos de *Itatiaya* foram examinados, abrangendo todas as oito espécies que compõem o gênero. Desse material, *I. modesta*, *I. pucupucu* e *I. tubixaba* apresentaram novos registros de ocorrência.

***Itatiaya modesta* Mello-Leitão, 1915**

(Figs 1A-B, 11)

Distribuição. Previamente conhecida para regiões montanhosas de Mata Atlântica da região Sudeste, nas serras do Mar, Bocaina, Cantareira, Japi, Caucaia do Alto e Aldeia da Serra, todas no estado de São Paulo. No Rio de Janeiro, possui registro na Serra dos Órgãos e na Serra da Mantiqueira, em divisa com Minas Gerais. Neste estudo, sua distribuição é expandida para o sul, até a Serra do Itapety, em Mogi das Cruzes (SP) e para o oeste, até o Morro dos Perdizes, em Minduri (MG).

Novos registros. BRASIL: *São Paulo*: Campos do Jordão, Parque Estadual Campos do Jordão, Estrada dos Alpes, perto da estrada da Fazenda Lavrinhas, 22°42'58"S 45°26'55"W, 1969 m, 9 de março de 2020, M.O. Tomasi *et al.* leg., 1♀ (UFMG 27018); Santo André, Parque Municipal Nascentes do Paranapiacaba, 23°46'7"S 46°18'30"W, 764 m, 23 de novembro de 2020, M.O. Tomasi *et al.* leg., 4♀ (UFMG 26949, 26964-26966); Mogi das Cruzes, Serra do Itapety, Mirante do Urubu, Trilha do Onça, 23°29'16"S 46°12'22"W, 1026 m, 21 de junho de 2021, M.O. Tomasi *et al.* leg., 4♀ (UFMG 26974, 26976, 26993, 27025). *Minas Gerais*: Minduri, Morro dos Perdizes, 22°27'23.4"S 42°59'41.4"W, 1125 m, 22-25 de janeiro de 2011, L.S. Carvalho leg., 2♀ (UFMG 17322, 20415).

***Itatiaya pucupucu* Polotow & Brescovit, 2006**

(Figs 1C-D, 12)

Distribuição. Previamente conhecida para Minas Gerais, Serra do Caparaó. Neste estudo, sua distribuição é expandida para o sul, até o Parque Nacional do Itatiaia.

Novos registros. BRASIL: Minas Gerais: Caeté, Caverna AP-38, 20°01'52" 43°40'45", 1523m, 5 de agosto de 2011, Empresa Amplo leg., 1♂ (IBSP 161920); Rio de Janeiro: Resende, Parque Nacional do Itatiaia, Pedra da Lage, 1200 m, 9 de novembro de 1990, A.B. Kury leg., 1♂ (IBSP 39619); Resende, Parque Nacional do Itatiaia, 2450 m, 27 de dezembro de 2013, R.P. Indicatti *et al.* leg., 1♀ (IBSP 168757); Resende, Parque Nacional do Itatiaia, 2017, R.P. Indicatti leg., 1♂ (UFMG 28742).

***Itatiaya tubixaba* Polotow & Brescovit, 2006**

(Figs 1E, 13)

Distribuição. Previamente conhecida para Minas Gerais, Serra do Caparaó. Neste estudo, sua distribuição é expandida para o sul, até a Serra do Itapety, em Mogi das Cruzes (SP).

Novos registros. BRASIL: São Paulo: Campos do Jordão, Parque Estadual Campos do Jordão, Trilha da Caiambora, 22°41'58.95"S 45°29'50.67"W, 1541 m, 10 de março de 2020, M.O. Tomasi *et al.* leg., 1♀ (UFMG 26953); Mogi das Cruzes, Serra do Itapety, Mirante do Urubu, Trilha do Onça, 23°29'16"S 46°12'22"W, 1026 m, 21 de junho de 2021, M.O. Tomasi *et al.* leg., 5♀ (UFMG 27026-27030).

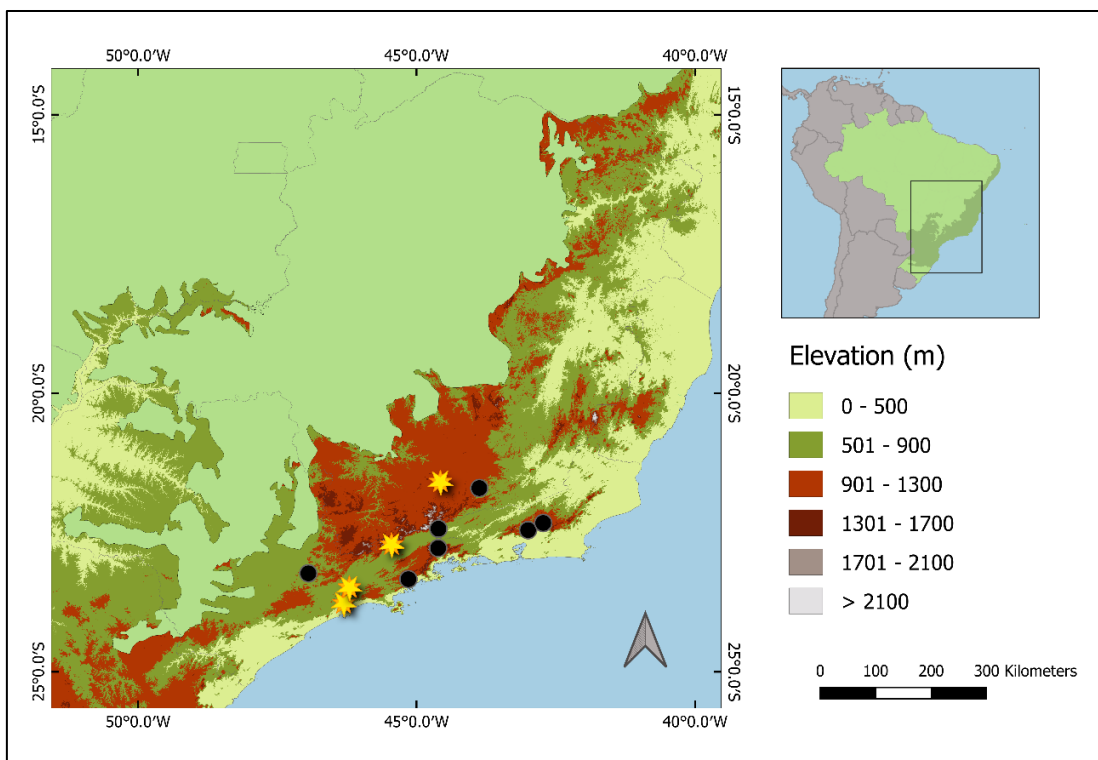


Figura 11: Localidades de ocorrência de *I. modesta*. Círculo preto: distribuição conhecida. Estrela amarela: novos registros.

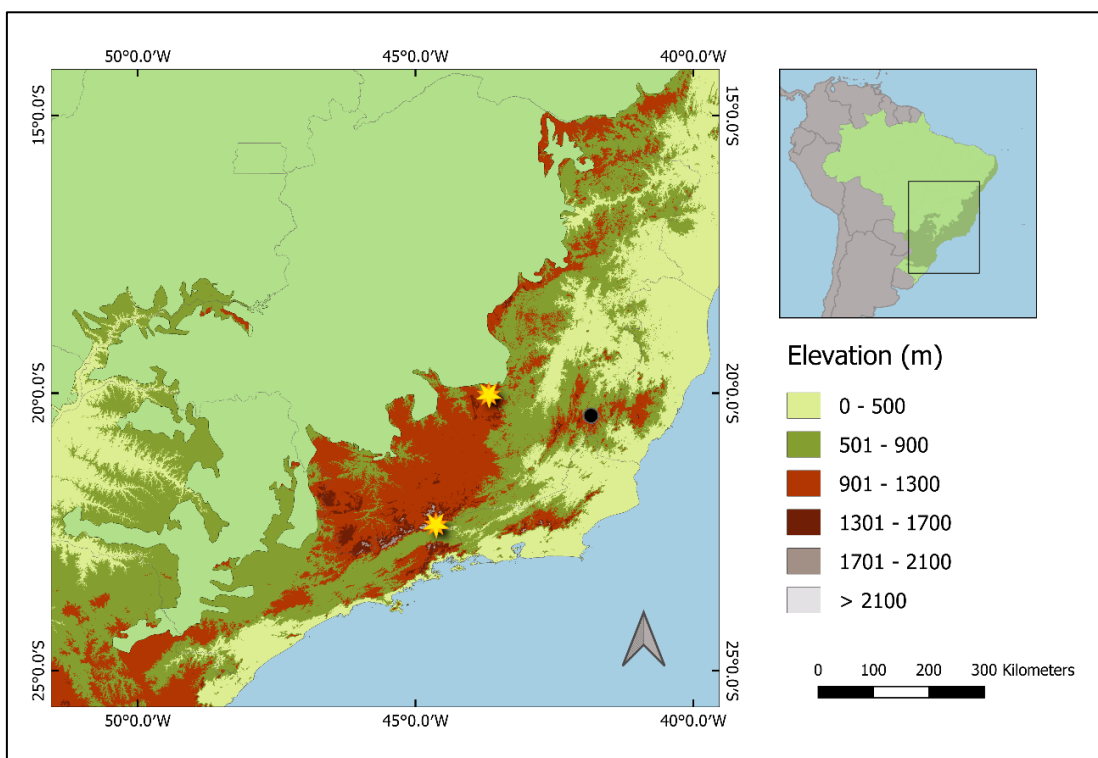


Figura 12: Localidades de ocorrência de *I. pucupucu*. Círculo preto: distribuição conhecida. Estrela amarela: novos registros.

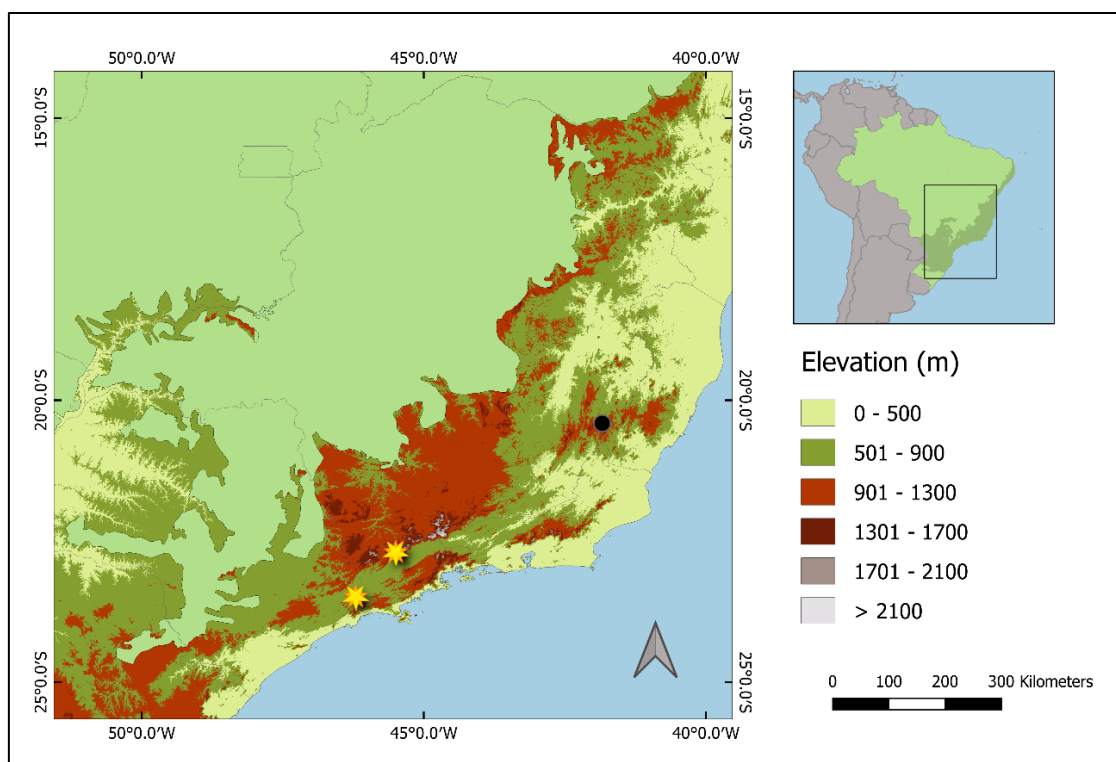


Figura 13: Localidades de ocorrência de *I. tubixaba*. Círculo preto: distribuição conhecida. Estrela amarela: novos registros.

7. REFERÊNCIAS

- Arnedo, M.A., Coddington, J., Agnarsson, I. & Gillespie, R.G. (2004) From a comb to a tree: phylogenetic relationships of the comb-footed spiders (Araneae, Theridiidae) inferred from nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31, 225–245.
- Azevedo, G.H., Bougie, T., Carboni, M., Hedin, M. & Ramírez, M.J. (2022) Combining genomic, phenotypic and Sanger sequencing data to elucidate the phylogeny of the two-clawed spiders (Dionycha). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 166, 107327.
- Batalha-Filho, H., Waldschmidt, A.M., Campos, L.A.O., Tavares, M.G. & Fernandes-Salomão, T.M. (2010) Phylogeography and historical demography of the neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae): incongruence between morphology and mitochondrial DNA. *Apidologie*, 41, 534–547.

- Bidegaray-Batista, L. & Arnedo, M.A. (2011) Gone with the plate: the opening of the Western Mediterranean basin drove the diversification of ground-dweller spiders. *BMC evolutionary biology*, 11, 317
- Bivand, R., Keitt, T., Rowlingson, B., Pebesma, E., Sumner, M. & Hijmans, R. (2018) *rgdal: bindings for the geospatial data abstraction library*. R package version 1-1.
- Booth, T.H., Nix, H.A., Busby, J.R. & Hutchinson, M.F. (2014) BIOCLIM: the first species distribution modelling package, its early applications and relevance to most current MAXENT studies. *Diversity and Distributions*, 20, 1–9.
- Bouckaert R., Vaughan T.G., Barido-Sottani J., Duchêne S., Fourment M. & Gavryushkina A. (2019) BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*, 15(4), e1006650.
- Bragagnolo, C., Pinto-da-Rocha, R., Antunes, M. & Clouse, R.M. (2015). Phylogenetics and phylogeography of a long-legged harvestman (Arachnida: Opiliones) in the Brazilian Atlantic Rain Forest reveals poor dispersal, low diversity and extensive introgression. *Invertebrate Systematics*, 29(4), 386–404.
- Breiman, L. (2001) Random forests. *Machine Learning*, 45, 5–32.
- Brunes, T.O., Sequeira, F., Haddad, C.F.B. & Alexandrino, J. (2010) Gene and species trees of a neotropical group of treefrogs: genetic diversification in the Brazilian Atlantic forest and the origin of a polyploid species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57, 1120–1133.
- Bruvo-Mađaric, B., Huber, B.A., Steinacher, A. & Pass, G. (2005) Phylogeny of pholcid spiders (Araneae: Pholcidae): Combined analysis using morphology and molecules. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37, 661–673.
- Bryant, E.B. (1942) Additions to the spider fauna of Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 26, 1–16.
- Cabanne, G.S., Santos, F.R. & Miyaki, C.Y. (2007) Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 91(1), 73–84.

- Cabanne, G.S., D'Horta, F.M., Sari, E.H.R., Santos, F.R. & Miyaki, C.Y. (2008) Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): biogeography and systematics implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49, 760–773.
- Carnaval, A.C. & Moritz, C. (2008) Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 35, 1187–1201.
- Carnaval, A.C., Waltari, E., Rodrigues, M.T., Rosauer, D., VanDerWal, J., Damasceno, R., Prates, I., Strangas, M., Spanos, Z., Rivera, D & Moritz, C. (2014) Prediction of phylogeographic endemism in an environmentally complex biome. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1792), 20141461.
- Colgan, D.J., McLauchlan, A., Wilson, G.D.F., Livingston, S.P., Edgecombe, G.D., Macarans, J., Cassis, G. & Gray, M.R. (1998) Histone H3 and U2 snRNA DNA sequences and arthropod molecular evolution. *Australian Journal of Zoology*, 46, 419–437.
- Costa, G.C., Hampe, A. & Ledru, M.P. (2018) Biome stability in South America over the last 30 kyr: inferences from long-term vegetation dynamics and habitat modelling. *Global Ecology and Biogeography*, 27, 285–297.
- Dantas, G.P.M., Cabanne, G.S. & Santos, F.R. (2011) How Past Vicariant Events Can Explain the Atlantic Forest Biodiversity. In: Grillo O. & Venera G. (Eds) *Ecosystems biodiversity*. Intech, pp. 429–442.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. & Posada, D. (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9, 772.
- DaSilva, M.B., Pinto-da-Rocha, R. & DeSouza, A.M. (2015) A protocol for the delimitation of areas of endemism and the historical regionalization of the Brazilian Atlantic Rain Forest using harvestmen distribution data. *Cladistics*, 31(6), 692–705.
- Elith, J. & Leathwick, J.R. (2009) Species distribution models: ecological explanation and prediction across space and time. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 40(1), 677–697.

- Fernández, R., Kallal, R.J., Dimitrov, D., Ballesteros, J.A., Arnedo, M.A., Giribet, G. & Hormiga, G. (2018) Phylogenomics, diversification dynamics, and comparative transcriptomics across the spider tree of life. *Current Biology*, 28(9), 1489–1497.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.
- Gingerich, P.D. (2006) Environment and evolution through the Paleocene–Eocene thermal maximum. *Trends in ecology & evolution*, 21(5), 246–253.
- Giribet, G., Carranza, S., Baguna, J., Riutort, M. & Ribera, C. (1996) First molecular evidence for the existence of a Tardigrada + Arthropoda clade. *Molecular Biology and Evolution*. 13(1), 76–84.
- Grazziotin, F.G., Monzel, M., Echeverrigaray, S. & Bonatto, S.L. (2006) Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology*, 15(13), 3969–3982.
- Griswold, C.E. (1993) Investigations into the phylogeny of the Lycosoid spiders and their kin (Arachnida: Araneae: Lycosoidea). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 539, 1–39.
- Griswold, C.E., Coddington, J.A., Platnick, N.I. & Foster, R.R. (1999) Towards a phylogeny of entelegyne spiders (Araneae, Araneomorphae, Entelegynae). *Journal of Arachnology*, 27, 53–63.
- Griswold, C.E., Ramírez, M.J., Coddington, J.A. & Platnick, N.I. (2005) Atlas of phylogenetic data for Entelegyne spiders (Araneae: Araneomorphae: Entelegynae) with comments on their phylogeny. *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 56, 1–324.
- Haffer, J. (1969) Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165, 131–137.
- Hazzi, N.A. & Hormiga, G. (2022) Molecular phylogeny of the tropical wandering spiders (Araneae, Ctenidae) and the evolution of eye conformation in the RTA clade. *Cladistics*, no prelo.

- Hedin, M.C. & Maddison, W.P. (2001) A combined molecular approach to phylogeny of the jumping spider subfamily Dendryphantinae (Araneae: Salticidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 18(3), 386–403.
- Hedin, M. & Bond, J.E. (2006). Molecular phylogenetics of the spider infraorder Mygalomorphae using nuclear rRNA genes (18S and 28S): conflict and agreement with the current system of classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41, 454–471.
- Hijmans, R.J. & van Etten, J. (2012) *raster: Geographic analysis and modeling with raster data*. R package version 2.0-12.
- Hijmans, R.J., Phillips, S., Leathwick, J. & Elith, J. (2017) *Dismo: Species Distribution Modeling*. R Package Version 1(4), 1-1.
- Ho, S.Y. & Duchêne, S. (2014) Molecular-clock methods for estimating evolutionary rates and timescales. *Molecular Ecology*, 23(24), 5947–5965.
- Holt, R.D. (2009) Bringing the Hutchinsonian niche into the 21st century: Ecological and evolutionary perspectives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 19659–19665.
- Joachims, T. (1999) Making large-Scale SVM Learning Practical. Retirado de: http://www.cs.cornell.edu/People/tj/publications/joachims_99a.pdf.
- Katoh, K., Rozewicki, J. & Yamada, K.D. (2019) MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics*, 20, 1160–1166.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Paabo, S., Villablanca, F. & Wilson, A.C. (1989) Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(16), 6196–6200.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549.

- Li, M., Chen, W.T., Zhang, Q.L., Liu, M., Xing, C.W., Cao, Y., Luo, F.Z. & Yuan, M.L. (2022) Mitochondrial phylogenomics provides insights into the phylogeny and evolution of spiders (Arthropoda: Araneae). *Zoological Research*, 43(4), 566–584.
- Lehtinen, P.T. (1967) Classification of the Cribellate spiders and some allied families, with notes on the evolution of the suborder Araneomorpha. *Annales Zoologici Fennici*, 4, 199–468.
- Leite, Y.L., Costa, L.P., Loss, A.C., Rocha, R.G., Batalha-Filho, H., Bastos, A.C. & Pardini, R. (2016) Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(4), 1008–1013.
- Magalhaes, I.L.F., Azevedo, G.H.F., Michalik, P. & Ramírez, M.J. (2019) The fossil record of spiders revisited: implications for calibrating trees and evidence for a major faunal turnover since the Mesozoic. *Biological Reviews*, 95, 184–217.
- Marques, M., Trindade, W., Bohn, A. & Grelle, C.E. (2021) The Atlantic Forest: an introduction to the megadiverse forest of South America. In: Marques, M.C.M. & Grelle, C.E. (Eds) *The Atlantic Forest*. Springer, pp 3–23.
- McCullagh, P. & Nelder, J.A. (1989) *Generalized Linear Models*. Chapman and Hall.
- McInerney, F.A. & Wing, S.L. (2011) The Paleocene-Eocene Thermal Maximum: A perturbation of carbon cycle, climate, and biosphere with implications for the future. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 39, 489–516.
- Mello-Leitão, C.F. (1915) Alguns gêneros e espécies novas de Araneidos do Brasil. *Broteria*, 13, 129–142.
- Mello-Leitão, C.F. (1936) Contribution à l'étude des Ctenides du Bresil. *Festschrift für Strand*, 1, 1–31.
- Miller, J.A., Carmichael, A., Ramírez, M.J., Spagna, J.C., Haddad, C.R., Rezac, M., Johannesen, J., Kral, J., Wang, X.-P. & Griswold, C.E. (2010) Phylogeny of entelegyne spiders: affinities of the family Penestomidae (NEW RANK), generic phylogeny of Eresidae, and asymmetric rates of change in spinning organ evolution (Araneae, Araneoidea, Entelegynae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55, 786–804.

- Miller, M.A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop*. GCE, pp 1-8.
- Minh, B.Q., Schmidt, H.A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M.D., Haeseler, A. & Lanfear, R. (2020) IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Molecular Biology and Evolution*, 37, 1530–1534.
- Morley, R.J. (2011) Cretaceous and Tertiary climate change and the past distribution of megathermal rainforests. In: Bush, M., Flenley, J. & Gosling, W. (Eds) *Tropical rainforest responses to climatic change*. Springer, pp 1–34.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B. & Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–85.
- Oksanen, F.J., Blanchet, G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P. R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E. & Wagner, H. (2020) *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-7.
- Oliveira, U., Paglia, A.P., Brescovit, A.D., Carvalho, C.J.B., Silva, D.P., Rezende, D.T., Leite, F.S.F., Batista, J.A.N., Barbosa, J.P.P.P., Stehmann, J.R., Ascher, J.S., Vasconcelos, M.F., De Marco Jr., P., Löwenberg-Neto, P., Dias, P.G., Ferro, V.G. & Santos, A.J. (2016) The strong influence of collection bias on biodiversity knowledge shortfalls of Brazilian terrestrial biodiversity. *Diversity and Distributions*, 22, 1232–1244.
- Palumbi, S.R., Martin, A., Romano, S., McMillan, W.O., Stice, L. & Grabowski, G. (1991) *The simple fool's guide to PCR, Version 2.0*. Privately published, compiled by S. Palumbi.
- Paz, A., Spanos, Z., Brown, J.L., Lyra, M., Haddad, C., Rodrigues, M. & Carnaval, A. (2019) Phylogeography of Atlantic Forest glassfrogs (Vitreorana): when geography, climate dynamics and rivers matter. *Heredity*, 122(5), 545–557.
- Pellegrino, K.C., Rodrigues, M.T., Waite, A.N., Morando, M., Yassuda, Y.Y. & Sites Jr., J.W. (2005) Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(1), 13–26.

- Peres, E.A., DaSilva, M.B., Antunes Jr., M. & Pinto-da-Rocha, R. (2018) A short-range endemic species from south-eastern Atlantic Rain Forest shows deep signature of historical events: phylogeography of harvestmen *Acutisoma longipes* (Arachnida: Opiliones). *Systematics and Biodiversity*, 16, 171–187.
- Peres, E.A., Benedetti, A.R., Hiruma, S.T., Sobral-Souza, T. & Pinto-da-Rocha, R. (2019) Phylogeography of Sodreaninae harvestmen (Arachnida: Opiliones: Gonyleptidae): insights into the biogeography of the southern Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 138, 1–16.
- Peres, E.A., Pinto-da-Rocha, R., Lohmann, L.G., Michelangeli, F.A., Miyaki, C.Y. & Carnaval, A.C. (2020) Patterns of species and lineage diversity in the Atlantic Rainforest of Brazil. In: Rull, V. & Carnaval, A.C. (Eds) *Neotropical diversification: patterns and processes*. Springer, pp 415–447.
- Peterson, A.T., Papes, M. & Soberón, J. (2008) Rethinking receiver operating characteristic analysis applications in ecological niche modeling. *Ecological Modelling*, 213(1), 63–72.
- Petrunkévitch, A. (1928) Systema Araneorum. *Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Sciences*, 29, 1–270.
- Phillips, S.J., Anderson, R.P. & Schapire, R.E. (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190, 231–259.
- Piacentini, L.N., Ramírez, M.J. & Silva, D. (2013) Systematics of *Cauquenia* (Araneae: Zoropsidae), with comments on the patterns of evolution of cribellum and male tibial crack on Lycosoidea. *Invertebrate Systematics*, 27, 567–577.
- Piacentini, L.N. & Ramírez, M.J. (2019) Hunting the wolf: a molecular phylogeny of the wolf spiders (Araneae, Lycosidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 136, 227–240.
- Pinto-da-Rocha, R. (2002) Systematic review and cladistic analysis of the Brazilian subfamily Caelopyginae (Opiliones: Gonyleptidae). *Arquivos de Zoologia*, 36(4), 357–464.
- Polotow, D. & Brescovit, A.D. (2006) Revision of the Neotropical spider genus *Itatiaya* Mello-Leitão (Araneae, Ctenidae) with considerations on biogeographic distribution of the species. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23, 429–442.

- Polotow, D. & Brescovit, A.D. (2011) Phylogenetic relationships of the Neotropical spider genus *Itatiaya* (Araneae). *Zoologica Scripta*, 40, 187–193.
- Polotow, D. & Brescovit, A.D. (2014) Phylogenetic analysis of the tropical wolf spider subfamily Cteninae (Arachnida, Araneae, Ctenidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 170, 333–361.
- Polotow, D., Carmichael, A. & Griswold, C.E. (2015) Total evidence analysis of the phylogenetic relationships of Lycosoidea spiders (Araneae, Entelegynae). *Invertebrate Systematics*, 29, 124–163.
- Quantum GIS Development Team (2012) *Quantum GIS Geographic Information System*. Open Source Geospatial Foundation Project. Disponível em: <http://qgis.osgeo.org> (Accessed 9 Jan. 2017)
- R Core Team (2022) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M.A. (2018) Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67, 901–904.
- Riccomini, C. (1991) Rift continental do sudeste do Brasil. *Boletim IG-USP. Série Científica*, 22, 83–4.
- Riccomini, C., Sant'Anna, L.G. & Ferrari, A.L. (2004) Evolução geológica do rift continental do sudeste do Brasil. In: Mantesso-Neto, V., Bartorelli, A., Carneiro, C.D.R. & Brito Neves, B.B.D. (Eds) *Geologia do Continente Sul-Americano: Evolução da Obra de Fernando Flávio Marques de Almeida*. CDR, pp 383–405.
- Riccomini, C., Grohmann, C.H., Sant'Anna, L.G. & Hiruma, S.T. (2007) A captura das cabeceiras do Rio Tietê pelo Rio Paraíba do Sul. In: *A Faixa Araçuaí e suas conexões 30 anos após Almeida 1977: Programação e Livro de Resumos*, 145.
- Rull, V. (2011) Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trends in ecology & evolution*, 26(10), 508–513.

- Saiter, F., Brown, J.L., Thomas, W.W., Oliveira-Filho, A.T. & Carnaval, A.C. (2016) Environmental correlates of floristic regions and plant turnover in the Atlantic Forest hotspot. *Journal of Biogeography*, 43(12), 2322–2331.
- Sánchez-Tapia, A., Mortara, S.R., Rocha, D.S.B., Barros, F.S.M., Gall, G. & Siqueira, M.F. (2020) modleR: a modular workflow to perform ecological niche modeling in R. *BioRxiv*.
- Sanger, F., Nicklen, S. & Chase, A.R. (1977) Sequencing with chain terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74, 5463–5468.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. & Eliceiri, K.W. (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9, 671–675.
- Selden, P.A. (2002) Missing links between *Argyroneta* and Cybaeidae revealed by fossil spiders. *Journal of Arachnology*, 30, 189–200.
- Simon, M.F., Grether, R., Queiroz, L.P., Skema, C., Pennington, R.T. & Hughes, C.E. (2009) Recent assembly of the Cerrado, a neotropical plant diversity hotspot, by in situ evolution of adaptations to fire. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(48), 20359–20364.
- Silva, D. (2003) Higher-level relationships of the spider family Ctenidae (Araneae: Ctenoidea). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 274, 1–86.
- Souza, D.H., Hackspacher, P.C., Silva, B.V., Siqueira-Ribeiro, M.C. & Hiruma, S.T. (2021) Temporal and spatial denudation trends in the continental margin of southeastern Brazil. *Journal of South American Earth Sciences*, 105, 102931.
- Strömberg, C.A. (2011) Evolution of grasses and grassland ecosystems. *Annual review of Earth and planetary sciences*, 39, 517–544.
- Terassi, P.M. & Galvani, E. (2017) O efeito orográfico da Serra do Mar e o potencial erosivo das chuvas nas bacias hidrográficas do Ribeira e Litorânea-Paraná. *Revista Brasileira de Climatologia*, 21, 327–345.
- Thomé, M.T.C., Zamudio, K.R., Giovanelli, J.G., Haddad, C.F., Baldissera Jr., F.A. & Alexandrino, J. (2010) Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence

- of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular phylogenetics and evolution*, 55(3), 1018–1031.
- Upchurch, P. (2008) Gondwanan break-up: legacies of a lost world? *Trends in ecology & evolution*, 23(4), 229–236.
- Wheeler, W.C., Coddington, J.A., Crowley, L.M., Dimitrov, D., Goloboff, P.A., Griswold, C.E., Hormiga, G., Prendini, L., Ramírez, M.J., Sierwald, P., Almeida-Silva, L., Alvarez-Padilla, F., Arnedo, M.A., Benavides Silva, L.R., Benjamin, S.P., Bond, J.E., Grismado, C.J., Hasan, E., Hedin, M., Izquierdo, M.A., Labarque, F.M., Ledford, J., Lopardo, L., Maddison, W.P., Miller, J.A., Piacentini, L.N., Platnick, N.I., Polotow, D., Silva-Dávila, D., Scharff, N., Szűts, T., Ubick, D., Vink, C.J., Wood, H.M. & Zhang, J. (2017) The spider tree of life: phylogeny of Araneae based on target-gene analyses from an extensive taxon sampling. *Cladistics*, 33, 574–616.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. & White, T.J. (Eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, pp 315–322.
- Whiting, M.F., Carpenter, J.C., Wheeler, Q.D. & Wheeler, W.C. (1997) The Strepsiptera problem: phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology. *Systematic Biology*. 46, 1–68.
- Wiens, J.J., Ackerly, D.D., Allen, A.P., Anacker, B.L., Buckley, L.B., Cornell, H.V., Damschen, E.I., Davies, T.J., Grytnes, J.A., Harrison, S.P., Hawkins, B.A., Holt, R.D., McCain, C.M. & Stephens, P.R. (2010) Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecology Letters*, 13, 1310–1324.
- World Spider Catalog (2022) World Spider Catalog. Version 23.0. Natural History Museum Bern, online em <http://wsc.nmbe.ch>, consultado em 2 de junho de 2022.
- Wunderlich, J. (2004a) The fossil Zoropsidae in Baltic amber with revised diagnoses of the family Zoropsidae and its fossil and extant higher taxa. *Beitrage zur Araneologie*, 3, 1489–1522.

- Wunderlich, J. (2004b) Fossil crab spiders (Araneae: Thomisidae) in Baltic and Dominican amber. *Beiträge zur Araneologie*, 3, 1747–1760.
- Wunderlich, J. (2004c) Fossil spiders (Araneae) of the family Oxyopidae in Baltic and Dominican amber. *Beiträge zur Araneologie*, 3, 1554–1556.
- Wunderlich, J. (2011) Some fossil spiders (Araneae) in Cretaceous ambers. *Beiträge zur Araneologie*, 6, 539–557.
- Wunderlich, J. (2015) On the evolution and the classification of spiders, the Mesozoic spider faunas, and descriptions of new Cretaceous taxa mainly in amber from Myanmar (Burma) (Arachnida: Araneae). *Beiträge zur Araneologie*, 9, 21–408.
- Zachos, J.C., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E. & Billups, K. (2001) Trends, rhythms and aberrations in global climate 65Ma to Present. *Science*, 292, 686–693.
- Zanella, F.C.V. (2011) Evolução da Biota da Diagonal de Formações Abertas Secas da América do Sul. In: Carvalho, C.J.B. & Almeida, E.A.B. (Eds) *Biogeografia da América do Sul: padrões e processos*. Roca, pp 198–220.

8. MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1: Voucher de coleção e localidade dos espécimes sequenciados nesse estudo.

Táxon	Voucher	Localidade
<i>Itatiaya modesta</i>	UFMG 26957, 26967 (28s, 12s)	Brasil, RJ, Resende Parque Nacional do Itatiaia, 22°25'55"S, 44°36'22"W
<i>Itatiaya apipema</i>	UFMG 27002	Brasil, RJ, Salinas, Parque Estadual Três Picos, 22°19'43"S, 42°43'32"W
<i>Itatiaya tacamby</i>	UFMG 27000, 26999 (16s)	Brasil, RJ, Teresópolis, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, 22°27'6"S, 42°59'28"W
<i>Itatiaya ywyty</i>	UFMG 27015, 27483 (H3)	Brasil, RJ, Teresópolis, Bairro Quintas da Mata, 23°23'43"S, 42°58'4W
<i>Itatiaya tubixaba</i>	UFMG 27013, 27012 (ITS)	Brasil, MG, Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó, 20°24'38"S, 41°50'9"W
<i>Itatiaya pucupucu</i>	UFMG 27007	Brasil, MG, Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó, 20°24'22"S, 41°50'22"W
<i>Itatiaya pykyra</i>	UFMG 27019, 27020 (H3)	Brasil, MG, Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó, 20°25'S, 41°51'W
<i>Itatiaya iuba</i>	UFMG 27035	Brasil, SP, São Paulo, Parque Estadual da Cantareira, 23°25'17"S, 46°37'31"W
<i>Cauquenia maule</i>	UFMG 27024	Chile, Biobío, Pinto Río Diguillin 36°53'14"S, 71°37'41"W

Tabela S2: Número de acesso no GenBank para sequências geradas em trabalhos prévios utilizadas nesse estudo.

Família	Espécies	COI	H3	18s	28s	12s	16s
Zoropsidae	<i>Griswoldia transversa</i>	KY018071	---	KY016868	KY017532	KY015686	---
Zoropsidae	<i>Phanotea sathegyna</i>	KY018075	KY018564	KY016872	KY017536	KY015688	KY016256
Zoropsidae	<i>Austrotengella toddae</i>	KM225097	KM225199	---	KM225043	---	---
Zoropsidae	<i>Kilyana hendersoni</i>	KY018072	KY018561	KY016869	KY017533	---	KY016253
Zoropsidae	<i>Kilyana</i> sp. CG306	KY018073	KY018562	KY016870	KY017534	---	KY016254
Zoropsidae	<i>Uliodon</i> sp. CG124	KY018077	KY018566	KY016874	KY017538	KY015690	KY016258
Zoropsidae	<i>Uliodon</i> sp. CG127	KY018078	---	KY016875	KY017539	KY015691	KY016259
Zoropsidae	<i>Uliodon</i> sp. CG182	KY018079	KY018567	KY016876	KY017540	KY015692	KY016260
Zoropsidae	<i>Ciniflrella</i> sp. Iguazu MR699	KY018070	KY018560	KY016867	KY017531	KY015685	KY016252
Zoropsidae	<i>Zoropsis spinimana</i>	KY018081	KY018569	KY016878	KY017542	KY015694	KY016262
Zoropsidae	<i>Liocranoides archeri</i>	KY018074	KY018563	KY016871	KY017535	KY015687	KY016255
Zoropsidae	<i>Tengella radiata</i>	KY018076	KY018565	KY016873	KY017537	KY015689	KY016257
Zoropsidae	<i>Zorocrates fuscus</i>	FJ607588	FJ607626	FJ607514	FJ607549	---	FJ607475
Zoropsidae	<i>Zorocrates</i> sp. MR12	KY018080	KY018568	KY016877	KY017541	KY015693	KY016261
Udubidae	<i>Raecius aspe</i>	---	KY018529	KY016825	KY017486	KY015658	KY016220
Udubidae	<i>Zorodictyna</i> sp. CG47	KY018039	---	KY016830	KY017491	KY015662	KY016223
Udubidae	<i>Zorodictyna</i> sp. CG45	KY018038	---	KY016829	KY017490	KY015661	KY016222
Udubidae	<i>Zorodictyna</i> sp. CG300	KY018037	KY018531	---	KY017489	KY015660	---
Udubidae	<i>Uduba</i> sp. CG8	---	---	KY016827	KY017488	---	---
Udubidae	<i>Uduba</i> sp. CG301	KY018036	KY018530	KY016826	KY017487	KY015659	KY016221
Ctenidae	<i>Ancylometes bogotensis</i>	KY017632	KY018159	KY016368	KY016981	KY015336	KY015784
Ctenidae	<i>Ctenus crulsi</i>	KY017633	KY018160	KY016369	KY016982	KY015337	KY015785
Ctenidae	<i>Acanthoctenus</i>	KM225088	KM225189	---	KM225033	---	HM575714
Ctenidae	<i>Asthenoctenus borelli</i>	KY190309	KY190280	---	KY190294	KY190230	KY190246
Ctenidae	<i>Enoploctenus cyclothorax</i>	KM225108	KM225208	---	KM225055	---	---
Ctenidae	<i>Caloctenus oxapampa</i>	KM225099	KM225200	---	KM225045	---	---
Pesechridae	<i>Psechrus senoculatus</i>	JX137148	KR074098	---	AY671970	DQ200052	DQ176040
Psauridae	<i>Dolomedes tenebrosus</i>	KY017873	KY018377	KY016642	KY017297	KY015526	KY016061
Trechaleidae	<i>Trechaleoides biocellata</i>	KY018027	KY018520	---	KY017475	KY015653	KY016213
Lycosidae	<i>Pirata subpiraticus</i>	JN817187	---	---	JN816979	DQ173435	JN816553
Senoculidae	<i>Senoculus</i> cf. <i>iricolor</i>	KY017912	---	KY016697	KY017350	KY015562	KY016110
Oxyopidae	<i>Peucetia viridans</i>	KY017832	KY018337	KY016589	---	---	KY016013
Thomisidae	<i>Borboropactus bituberculatus</i>	KY017978	---	KY016766	KY017426	KY015622	KY016173
Prodidomidae	<i>Prodidomus rufus</i>	KY017887	KY018392	KY016663	KY017315	KY015540	KY016080
Homalonychidae	<i>Homalonychus selenopoides</i>	AY959935	FJ949062	---	AY959908	---	AY955671
Sparassidae	<i>Caayguara album</i>	KY017918	KY018427	---	---	KY015569	KY016116

Tabela S3: Concentração e volume dos reagentes utilizados nas reações de PCR.

Reagente	Concentração	Volume (μ l)
Água	-	1.8
DNTP	2 μ M	1
Tampão 10x	10x	2
MgCl	50 μ M	2
Primer 1	5 μ M	1
Primer 2	5 μ M	1
Taq	1 unidade	0.2
DNA	-	1
Volume total	-	10

Tabela S4: Condições das reações em cadeia da polimerase (PCR) para todos os genes sequenciados nesse estudo.

Gene	Condições de PCR
12s	94 (hold), 34 vezes [94° (20 seg), 52° (35 seg), 65° (30 seg)] 72° (3:00 min), 4° (hold)
16s	94 (hold), 34 vezes [94° (20 seg), 48° (35 seg), 65° (30 seg)] 72° (3:00 min), 4° (hold)
18s	94 (hold), 34 vezes [94° (20 seg), 48° (35 seg), 65° (30 seg)] 72° (3:00 min), 4° (hold)
28s	94 (hold), 34 vezes [94° (20 seg), 50° (35 seg), 65° (30 seg)] 72° (3:00 min), 4° (hold)
COI	94 (hold), 35-38 vezes [94° (20 seg), 48-51° (35 seg), 65° (30 seg)] 72° (3:00 min), 4° (hold)
H3	94 (hold), 34 vezes [94° (20 seg), 58° (35 seg), 65° (30 seg)] 72° (3:00 min), 4° (hold)
IS2	94 (hold), 34 vezes [94° (20 seg), 48° (35 seg), 65° (30 seg)] 72° (3:00 min), 4° (hold)

Tabela S5: Modelos de substituição utilizados nas análises de máxima verossimilhança.

Gene	Modelo de substituição
12s	GTR+G
16s	GTR+G
18s	SYM+I+G
28s	GTR+I+G
COI	GTR+I+G
H3	GTR+I+G
ITS	HKY+G

Tabela S6: Probabilidade marginal das hipóteses de datação.

Hipótese	Probabilidade marginal
Yule + Exponencial	-10989.52641
Yule + Lognormal	-35510.33885
Birth-Death + Exponencial	-21570.51191
Birth-Death + Lognormal	-22350.83754

Tabela S7: Métricas estatísticas dos modelos de distribuição gerados por diferentes algoritmos.

	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	AUC	TSS	pROC
BIOCLIM	0.721428571	0.926	0.823714286	0.829311607	0.647428571	1.910860511
BRT	1	0.8616	0.9308	0.950070536	0.8616	1.847139624
Maxent	1	0.9075	0.95375	0.970508929	0.9075	1.905719068
Randon						
Forest	1	0.8684	0.9342	0.953933929	0.8684	1.8470733
SVM	0.860714286	0.8439	0.852307143	0.879975	0.704614286	1.634182384

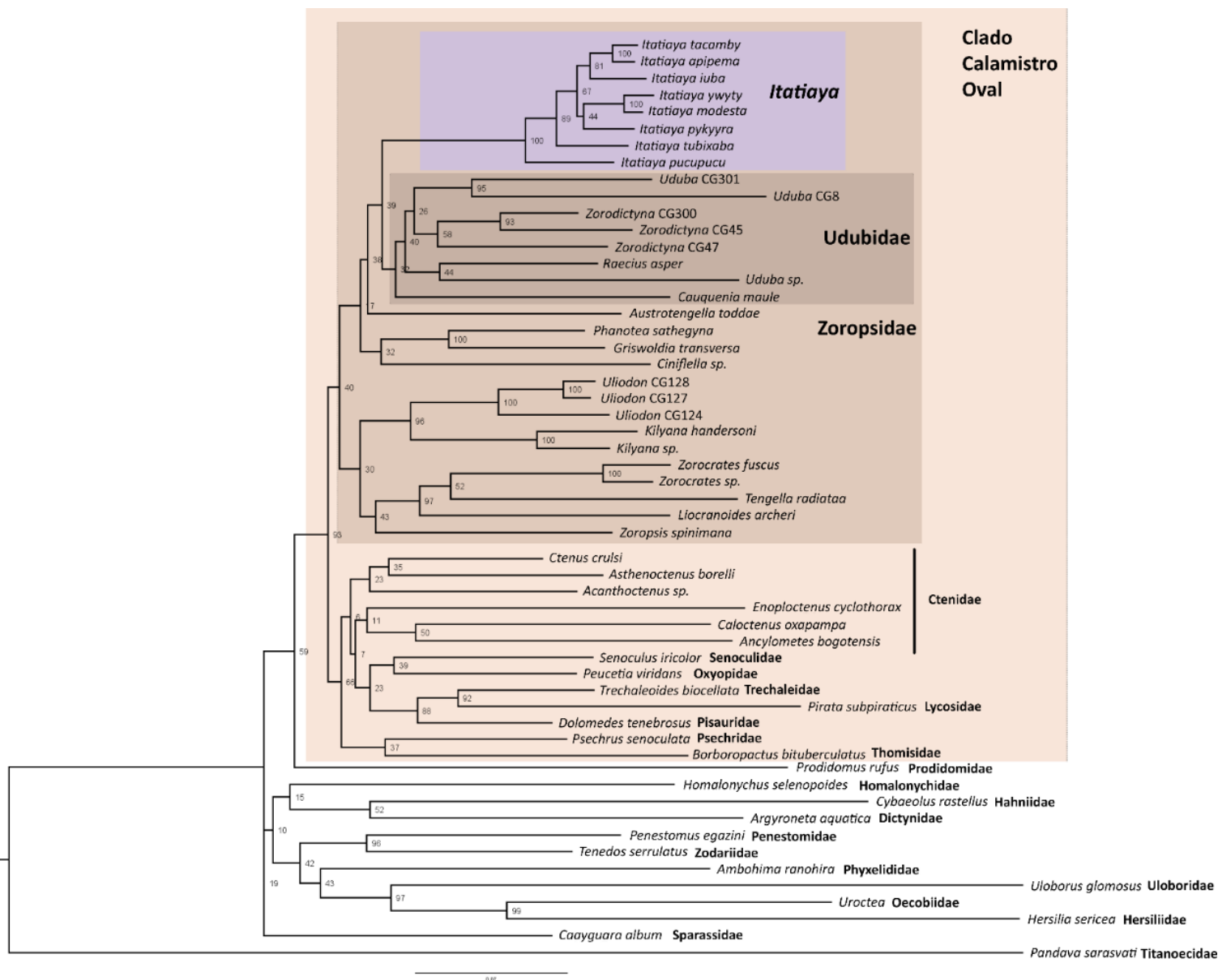


Figura S1: Filogenia de *Itatiaya* obtida através de máxima verossimilhança, baseada na análise de sete marcadores moleculares (COI, H3, ITS, 12s, 16s, 18s e 28s). Números próximos aos nós representam os valores de *bootstrap*.

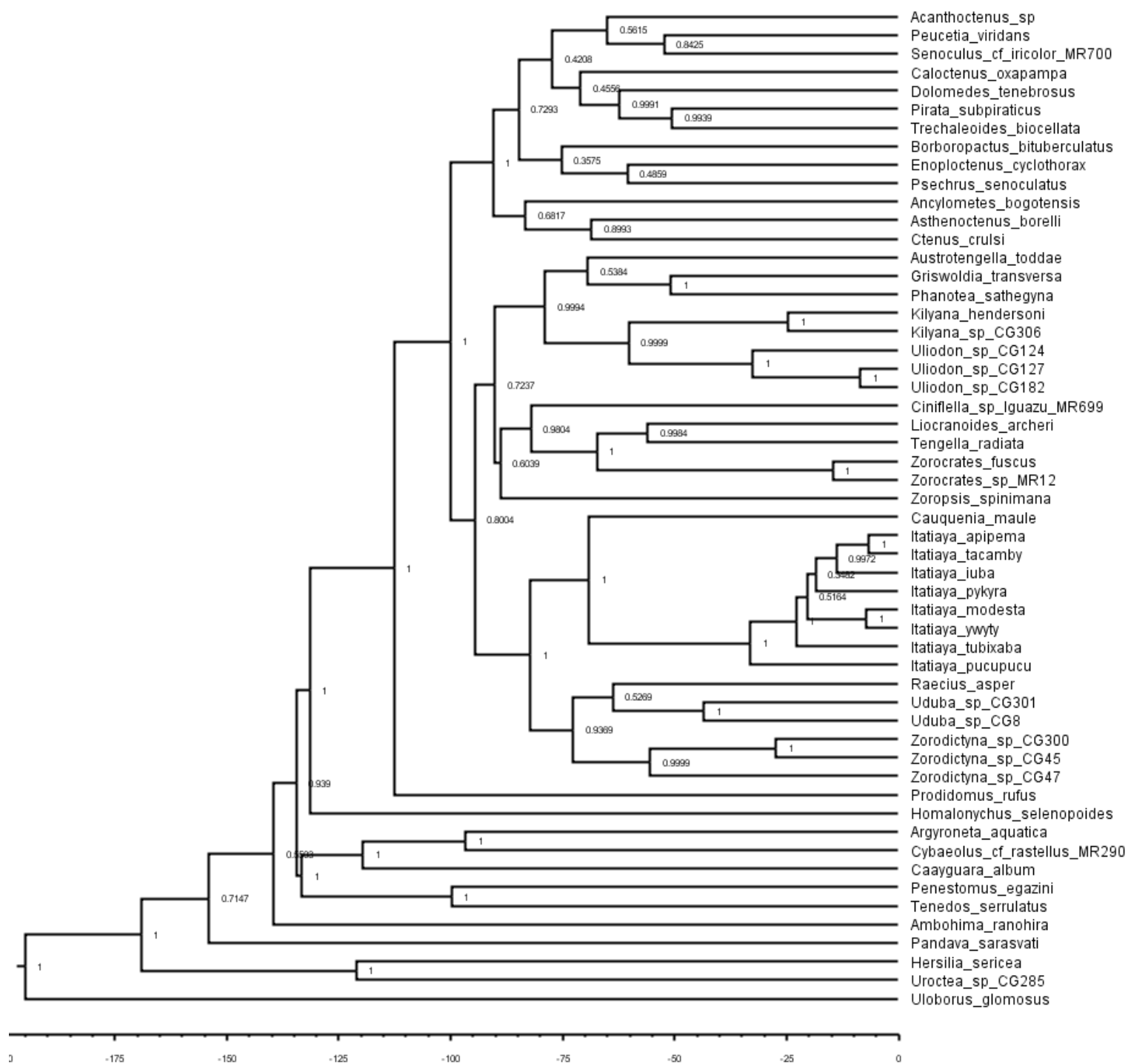


Figura S2: Filogenia datada de *Itatiaya* e grupos proximamente relacionados à Zoropsidae obtida sob inferência bayesiana no BEAST2 baseada em dados moleculares através dos *priors* de modelo de evolução de árvore Yule e modelo de relógio relaxado não correlacionado com distribuição lognormal. Números associados aos nós representam a probabilidade posterior dos clados. Idade dos nós e intervalo de confiança de 95% estão especificados na Tabela 2. Escala em milhões de anos.

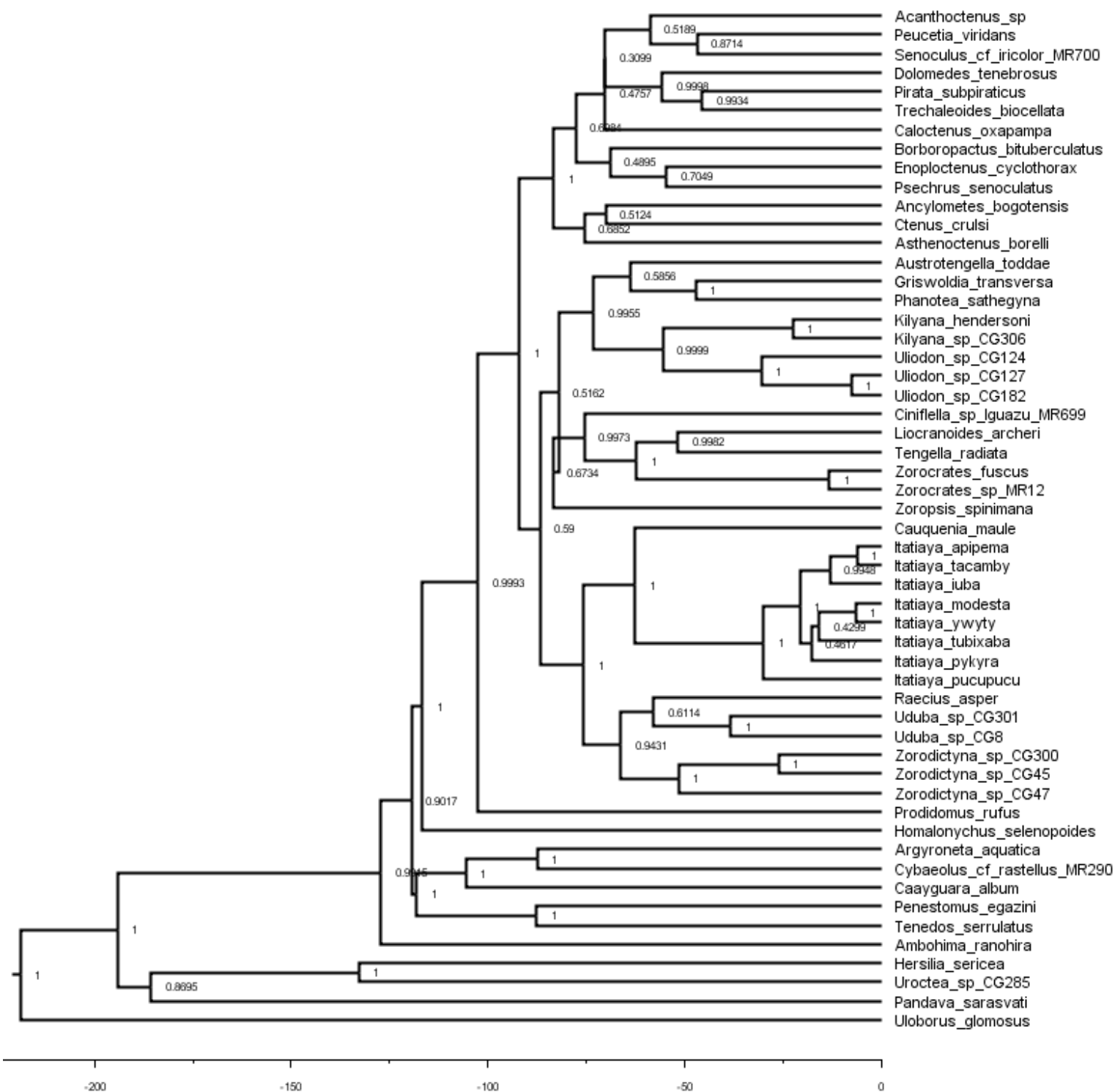


Figura S3: Filogenia datada de *Itatiaya* e grupos proxivamente relacionados à Zoropsidae obtida sob inferência bayesiana no BEAST2 baseada em dados moleculares através dos *priors* de modelo de evolução de árvore *birth-death* e modelo de relógio relaxado não correlacionado com distribuição exponencial. Números associados aos nós representam a probabilidade posterior dos clad. Idade dos nós e intervalo de confiança de 95% estão especificados na Tabela 2. Escala em milhões de anos.

