



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - RIO CLARO



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ÁREA DE ZOOLOGIA)

Roberta Graboski Mendes

**Filogeografia e Revisão Taxônomica de
Typhlops brongersmianus Vanzolini, 1972
(Serpentes: Scolecophidia: Typhlopidae):
padrões de diversidade genética e
morfológica em uma serpente fossorial**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", campus Rio Claro, para obtenção do título de mestre Ciências Biológicas (Área de concentração: Zoologia)

Rio Claro
2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS RIO CLARO

ROBERTA GRABOSKI MENDES

FILOGEOGRAFIA E REVISÃO TAXÔNOMICA DE
Typhlops brongersmianus Vanzolini, 1972
(SERPENTES:SCOLECOPHIDIA:TYPHLOPIDAE):
PADRÕES DE DIVERSIDADE GENÉTICA E
MORFOLÓGICA EM UMA SERPENTE FOSSORIAL

Tese apresentada ao Instituto de Bociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus Rio Claro, para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas (Área de concentração: Zoologia)

Orientador: Hussam El Dine Zaher

Co-Orientador: Sandro Luis Bonatto

Rio Claro

2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS RIO CLARO

ROBERTA GRABOSKI MENDES

FILOGEOGRAFIA E REVISÃO TAXÔNOMICA DE
Typhlops brongersmianus Vanzolini, 1972
(SERPENTES:SCOLECOPHIDIA:TYPHLOPIDAE):
PADRÕES DE DIVERSIDADE GENÉTICA E
MORFOLÓGICA EM UMA SERPENTE FOSSORIAL

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus Rio Claro, para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas (Área de concentração: Zoologia)

Orientador: Hussam El Dine Zaher
Co-Orientador: Sandro Luis Bonatto

Rio Claro
2011

ROBERTA GRABOSKI MENDES

FILOGEOGRAFIA E REVISÃO TAXÔNOMICA DE
***Typhlops brongersmianus* Vanzolini, 1972**
(SERPENTES:SCOLECOPHIDIA:TYPHLOPIDAE):
PADRÕES DE DIVERSIDADE GENÉTICA E
MORFOLÓGICA EM UMA SERPENTE FOSSORIAL

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus Rio Claro, para obtenção do título de mestre Ciências Biológicas (Área de concentração: Zoologia)

COMISSÃO JULGADORA

Hussam El Dine Zaher

Orientador

Rio Claro, SP ____ de _____ de 2011.

Aos Meus Pais e ao Felipe, por todo amor.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar eu gostaria de agradecer ao meu orientador Hussam Zaher, por me fazer ver o mundo além das moléculas, por me incentivar e por ter me dado a oportunidade de trabalhar com um grupo tão legal como os *Typhlops*. Agradeço as muitas conversas, tenho certeza que você auxiliou muito no meu crescimento profissional e pessoal.

Ao meu Co-orientador, Sandro Bonatto, por me dar a oportunidade de trabalhar em seu laboratório, por ter me iniciado na ciência. Agradeço pela confiança e pelo grande patrocínio que você deu e dá aos projetos dos quais participo. Espero poder recompensar isso tudo.

Aos meus Pais, Jaci Mendes e Teresa Graboski Mendes, pois tenho certeza que não estaria aqui se não fosse pelo apoio de vocês, que sempre me incentivaram. Obrigada por tudo.

À FAPESP, por ter concedido a bolsa durante esses dois anos de mestrado e a Pós Graduação da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, em especial ao Denis Otávio de Andrade e a Rute por toda sua compreensão no final desta dissertação.

Ao professor Célio F. B. Haddad, por sempre me dar abrigo em seu laboratório enquanto eu realizava as disciplinas na UNESP, e aos colegas que ali trabalham: Tereza, Francisco, Victor, Vanessa, André, João Giovanelli, Luís e Daniel, em especial a Olivia Gabriela Araújo e sua filha Indra pela grande amizade e por sempre acharem um cantinho para eu ficar em sua casa. A Katy, que mesmo sendo ex-Rio Clarense me ajudou muito no início.

Aos Curadores de diversas coleções pelo empréstimo de material: Dr. Taran Grant e Dra. Glaucia F. Pontes (MCP-PUCRS), Dr. Renato N. Feio (UFV), Dr. Francisco L. Franco e Valdir Germano (Instituto Butantan), Dr. Ana Lúcia Prudente (MPEG), Dr. Ronaldo Fernandes (MNRJ), Dra. Gilda Andrade (UFMA), Dr. Gustavo Vieira (UFPB), Dr. Marcos Andrade (UFMT), Dr. Luis Felipe de Toledo Ramos Pereira (ZUEC-REP), Dr. Guarino Colli (UNB), Dr. Antônio J. Argolô (UESC), Dr. Hussam Zaher e Carolina Mello (MZUSP) e Dr. Richard Vogt (INPA). Ao Dr. Philippe Kok (RBINS), Dr. Robert Murphy (ROM), Dr. Darrel Frost (AMNH), Dr. Alejandro Giraudo (UNL), e ao Dr. Miguel T. Rodrigues (IBUSP), por me ceder diversas amostras

e pelo acesso aos exemplares de suas coletas e também pelas conversas sobre os *Typhlops*. Obrigada a todos pela disponibilidade do material.

Aos grandes colegas Genômicos, com quem passei tanto tempo, e muitos momentos bons. Em especial a Cladinara Sarturi, pela amizade por me ajudar muito na parte de bancada, não só a mim, mas a todo o laboratório. Agradeço a muitos de vocês, alguns ex- genômicos, que fizeram parte do meu dia a dia por tanto tempo: Manoel, Nelson, Ana Maria, Arethuza, Fer Britto, Fer Vianna, Jaque Batillana, André Schnorr e Ane Hanh.

Aos meus queridos amigos de Sampa, meus colegas de laboratório no MZUSP, obrigada por tornarem tudo mais divertido e agradável. Ao Maurício Forlani, por sempre me ajudar muito com amostras de *Typhlops*, pelas conversas e pela parceria total. Ao Juan C. Arredondo, por sempre me ajudar com a morfologia, pelas discussões, e claro pelas obleas. À Carolina Mello pela amizade, conversas e disponibilidade do material da coleção. Às “AMIGAS” Paola Sanches e Vivian Trevine, por tornarem tudo mais Brilhante. À Giovanna Montingelli e Ricardo Arturo Guerra Fuentes por dividirem comigo suas experiências, pelos conselhos e pela amizade. À querida Luciana Lobo, que além de vizinha se tornou uma grande amiga e confidente. Ao Pedro Bernardo, por me mostrar que sempre podemos ultrapassar os limites do tempo, ao Matheus por sempre ter uma teoria para Tudo, ao Leonardo Oliveira por ser um exemplo de pessoa calma e serena, mesmo eu não conseguindo ser. Ao Fábio Machado por me ajudar com seu conhecimento sobre estatística e também pela sua agradável presença, à Hana Suzuki, pela amizade e por sempre me ajudar muito desde o início. Muito obrigada queridos colegas, sei que fiz grandes amigos ao longo dessa caminhada.

Agradeço ao Felipe Gobbi Grazziotin, que é a pessoa que mais me incentiva, que nunca deixou de acreditar em mim, desde o início sempre me ajudou em tudo mesmo. Obrigada pelo seu amor e amizade. Muito obrigada por existir e me fazer ver as adversidades da vida sempre pelo lado bom. Não imagino como seria a minha vida sem você. Agradeço também a Marlene de Lourdes Grazziotin, minha sogra, que ajudou muito com suas palavras de incentivo e por sua ajuda financeira quando a bolsa acabou.

Aos amigos que fiz na Universidade Federal da Paraíba, os herpetólogos: Gindomar Santana, Washington Viera, Rômulo e Kleber pela convivência na semana que estive por lá, em especial ao Gentil Filho e seus Pais, que me receberam em sua casa e me deram toda a assistência possível na minha passada por João Pessoa.

Agradeço a extensa colaboração com Ariane Auxiliadora, com quem consegui desenvolver projetos conjuntos mesmo com todos os obstáculos. Agradeço também pela sua amizade, paciência e calma. Também sou grata a Ana Lúcia Prudente pela grande amizade, ajuda e preocupação.

Agradeço às diversas pessoas, que em suas coletas de campo sempre se lembravam de trazer uma amostrinha para mim ou então simplesmente me cederam material. Eles são: Donizete Pereira, Gentil Filho, Marco de Freitas, Frederico França, Diego Santana, Henrique Costa, Gindomar Santana, Pier Cacciali, Alejandro Giraud, Daniel Loebmann e Eliana Gimenez. Agradeço também Roberta R. Pinto que me ajudou muito com o material do Museu Nacional, ao meu amigo Hebert Ferrarezzi pelas discussões científicas, pela amizade de longa data e por sempre me incentivar. Também gostaria de agradecer a JGP Consultoria e Participações que sempre ajudou com as coletas de exemplares.

Agradeço a bibliotecária do Museu de Zoologia, Dione Seripierri, pela disponibilidade e revisão das referências, por sempre estar disposta a ajudar, você realmente é um exemplo de profissional e a Erika Hingst-Zaher pela leitura minuciosa da dissertação e as diversas sugestões ao trabalho. Agradeço também a Thalita Caramel pela revisão do texto em inglês e Luciana Moreira Lobo pelas ilustrações.

Peço desculpa as pessoas que não incluí nesses agradecimentos, mas que fazem parte de minha vida de uma maneira ou outra. Agradeço muito por tudo.

Se as coisas são inatingíveis... ora!

Não é motivo para não querê-las...

Que tristes os caminhos se não fora

A mágica presença das estrelas!

Mario Quintana - Espelho Mágico

SÚMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	ii
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	9
1.INTRODUÇÃO.....	11
3.MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.RESULTADOS.....	32
5. DISCUSSÃO.....	43
6. CONCLUSÕES.....	56
7. REFERÊNCIAS.....	59
8. ANEXOS.....	73

RESUMO

A diversidade das serpentes é ampla, com aproximadamente três mil espécies descritas. Esta diversidade é agrupada, tanto por evidências morfológicas como moleculares, em dois clados: Alethinophidia (~2660 espécies) e Scolecophidia (~400 espécies). Comparativamente aos Alethinophidia, poucos estudos foram realizados até o momento com Scolecophidia, estudos estes dificultados tanto pelos hábitos furtivos como pela raridade destas serpentes. O clado Scolecophidia é reconhecido por agrupar serpentes pequenas, com olhos vestigiais e hábito subterrâneo. Atualmente são reconhecidas cinco famílias: Anomalepididae, Gerrhopilidae, Leptotyphlopidae, Xenotyphlopidae e Typhlopidae. A família Typhlopidae possui ampla distribuição, ocorrendo em todos os continentes incluindo diversas formações insulares. Dos cinco gêneros que compõem a família, o gênero *Typhlops* é o mais especioso, com aproximadamente 145 espécies descritas que ocupam uma variedade de habitats, desde desertos até florestas tropicais. Na América do Sul são reconhecidas oito espécies, sendo *Typhlops brongersmianus* a espécie que apresenta a maior distribuição, ocorrendo em diversos domínios morfoclimáticos. Em geral, vertebrados com estilo de vida subterrâneo são de difícil observação, e muitos aspectos de sua biologia evolutiva são mal compreendidos, incluindo o modo prevalente de especiação e os padrões de diversificação, bem como a estrutura geográfica da variabilidade genética e morfológica. Sendo assim, este trabalho visa dirimir estas lacunas tendo por objetivo estudar os padrões filogeográficos e demográficos, tentando contribuir para a elucidação da história evolutiva e taxonômica de *T. brongersmianus* bem como compreender as relações filogenéticas desta espécie com outras congêneres que ocorrem em simpatria na América do Sul. Para isso, foi realizada uma extensa análise de revisão morfológica através de um levantamento dos caracteres merísticos e morfométricos, totalizando em 317 exemplares examinados do gênero *Typhlops*, dos quais 219 espécimes são de *T. brongersmianus*, 39 de *T. paucisquamus*, 25 de *T. reticulatus*, 18 de *T. minuisquamus*, nove de *T. amoipira* e sete de *T. yonenagae*. Para as análises moleculares foram sequenciados os genes que codificam para o Citocromo b (*Cyt b*) e Citocromo Oxidase I (*CoI*) do DNA mitocondrial para respectivamente, 39 e 49 amostras de *T. brongersmianus*, totalizando em 1390 pares de bases analisados. Para inferir a coesão da variabilidade intraespecífica e as relações filogenéticas das espécies que ocorrem em simpatria com *T. brongersmianus* foram também sequenciadas amostras de *T. reticulatus*, *T. yonenagae*, *T.*

amoipira, *T. minuisquamus*, *T. paucisquamus* e *T. lumbricalis*. Através de uma análise comparativa da variação foi possível separar *T. brongersmianus* das outras espécies por um conjunto de características morfológicas bem definidas. Como demonstram os resultados do presente estudo as relações filogenéticas são bem resolvidas, e *T. brongersmianus* tem como grupo irmão as espécies de *Typhlops* que ocorrem no nordeste do Brasil. As populações morfológicas reconhecidas por Dixon e Hendrix (1979) e as populações delineadas através da informação molecular, apresentam uma grande sobreposição de caracteres fenotípicos e conclui-se que apesar de uma tendência de diferenciação morfológica entre as populações orientais e ocidentais, *T. brongersmianus* não apresenta morfotipos geográficos evidentes. Entretanto, a diversidade genética de *T. brongersmianus* é alta, apresentando 29 e 25 haplótipos para *CoI* e *Cytb*, respectivamente. Fatores morfoclimáticos e hidrográficos aparentam não representar barreiras para o fluxo gênico da espécie. Os resultados obtidos pelos testes de neutralidade e análises de *mismatch distribution* sugerem que *T. brongersmianus* sofreu uma moderada redução populacional, sem a perda de todas as linhagens mitocondriais. O teste de Mantel, que estima a correlação entre a distância genética e geográfica, sugere uma diferenciação através de isolamento por distância, o qual somado a redução populacional poderia explicar o padrão de baixa variabilidade local e alta estruturação geográfica. Esta baixa variabilidade local em conjunto com o limitado fluxo gênico representa o cenário esperado para espécies com hábito fossorial, devido à baixa vagilidade desses organismos. Sendo assim, a estruturação genética de *T. brongersmianus* pode ser o resultado da combinação de um pequeno tamanho populacional e de uma limitada capacidade de dispersão.

Palavras Chave: *Scolecophidia*, *Typhlops brongersmianus*, filogeografia, filogenia, Taxonomia.

ABSTRACT

The diversity of snakes is vast, with approximately three thousand described species. This diversity is grouped by both morphological and molecular evidence, in two clades: Alethinophidia (~2660 species) and Scolecophidia (~400 species). Compared to Alethinophidia, few studies have been conducted so far with Scolecophidia, these studies hampered both by furtive habits as the rarity of these snakes. The clade Scolecophidia group is recognized by small snakes with vestigial eyes and subterranean. Currently, five families are recognized: Anomalepididae, Gerrhopilidae, Leptotyphlopidae, and Xenotyphlopidae Typhlopidae. The family Typhlopidae has a wide distribution, occurring in all continents including several island formations. Of the five genera in the family, the genre is the most specious *Typhlops*, with about 145 described species that occupy a variety of habitats, from deserts to tropical rainforests. In South America are recognized eight species, *Typhlops brongersmianus* the species with the widest distribution, occurring in various areas morphoclimatic. In general, vertebrates with underground lifestyle are difficult to observe, and many aspects of their evolutionary biology are poorly understood, including the prevalent mode of speciation and diversification patterns and the geographical structure of genetic and morphological variability. Thus, this study aims to resolve these shortcomings have been studying the phylogeographic and demographic patterns, trying to contribute to the elucidation of evolutionary history and taxonomic *T. brongersmianus* well as understand the phylogenetic relationships of this species with other congeners that occur in sympatry in South America To do this, we performed an extensive analysis of morphological revision through a survey of meristic and morphometric characters, totaling 317 specimens examined in the genus *Typhlops*, of which 219 are specimens of *T. brongersmianus*, 39 *T. paucisquamus*, 25 *T. reticulatus*, 18 *T. minuisquamus*, nine *T. amoipira* and seven of *T. yonenagae*. For the molecular analysis were sequenced genes coding for cytochrome b (Cyt b) and cytochrome oxidase I (COI) mitochondrial DNA for respectively 39 and 49 samples of *T. brongersmianus*, totaling 1390 base pairs analyzed. To infer the cohesion of intraspecific variability and phylogenetic relationships of the species occurring in sympatry with *T. brongersmianus* were also sequenced samples of *T. reticulatus*, *T. yonenagae*, *T. amoipira*, *T. minuisquamus*, *T. paucisquamus* and *T. lumbricalis*. Through a comparative analysis of variance was possible to separate *T. brongersmianus* other species by a set of well defined morphological characteristics. As demonstrate the results of this study the phylogenetic relationships are well resolved, and *T. brongersmianus* has a sister group of *Typhlops* species

occurring in northeastern Brazil. Morphological populations recognized by Dixon and Hendrix (1979) and populations delineated by molecular information, have a large overlap of phenotypic traits and concluded that despite a trend of morphological differentiation between the eastern and western populations, *T. brongersmianus* shows no obvious geographic morphotypes. However, the genetic diversity of *T. brongersmianus* is high, with 29 and 25 to CoI and Cytb haplotypes, respectively. Morphoclimatic and hydrographic factors do not appear to represent barriers to gene flow species. The result from the neutrality tests and mismatch distribution analysis suggests that *T. brongersmianus* suffered a moderate population reduction, without the loss of all mitochondrial lineages. The Mantel test, which estimates the correlation between genetic and geographic distance, suggests a differentiation through isolation by distance, which coupled with the population reduction could explain the pattern of low variability and high local geographic structure. This low local variability in conjunction with the limited gene flow is the expected scenario for species with fossorial habits, due to low vagile these organisms. Thus, the genetic structure of *T. brongersmianus* may be the result of a combination of small population size and limited dispersal ability. Keywords: Scolecophidia, *Typhlops brongersmianus*, Phylogeography, Phylogeny, Taxonomy.

1.INTRODUÇÃO

1-INTRODUÇÃO

A Infraordem Scolecophidia é composta por serpentes pequenas, de 100 a 1000 mm, com olhos vestigiais cobertos por escamas cefálicas (Tipton, 2005). Possuem escamas lisas e redondas que são de forma e tamanho uniformes, cobrindo o corpo cilíndrico e delgado. O grupo tradicionalmente inclui três famílias com representantes atuais, sendo elas: Anomalepididae, Leptotyphlopidae e Typhlopidae. Todas possuem hábito fossorial e são encontradas nos cinco continentes e em diversas formações insulares, como Caribe, Ilhas Salomão, Arquipélago de Bismarck, Arquipélago de Ryukyu, entre outras (Tipton, 2005).

A grande maioria dos autores que estudaram a infraordem Scolecophidia do ponto de vista morfológico encontraram fortes evidências sustentando seu monofiletismo, como caracteres das estruturas ósseas e anatomia visceral (Haas, 1930a, 1964, 1968; Bellairs e Underwood, 1951; List, 1966; Underwood, 1967; Rieppel, 1979a, 1979b, 1979c, 1988; Estes *et al.*, 1988; Cundall *et al.*, 1993; Wallach, 1998; Tchernov *et al.*, 2000; Lee e Scanlon, 2002; Apesteguía e Zaher, 2006), com a notável exceção de McDowell e Bogert (1954) que sugeriram uma origem polifilética para o grupo. Entretanto, McDowell (1987) reconsiderou sua posição diante do conjunto de evidências favoráveis ao monofiletismo publicadas posteriormente ao seu trabalho. Mais recentemente, estudos moleculares têm apresentado resultados discrepantes a este respeito, sugerindo ora que as três famílias formam um único clado, tendo Leptotyphlopidae como grupo irmão do clado formado por Anomalepididae e Typhlopidae (Vidal e Hedges, 2002a), ora que o grupo representa uma irradiação parafilética com uma linhagem formada pelas famílias Typhlopidae e Leptotyphlopidae e outra pela família Anomalepididae (Heise *et al.*, 1995).

Com aproximadamente 400 espécies conhecidas, diversas mudanças taxonômicas foram realizadas nos Scolecophidia, e recentemente a taxonomia do grupo foi alterada, sendo a diversidade de espécies agrupada em cinco famílias: Anomalepididae, Gerrhopilidae, Leptotyphlopidae, Typhlopidae e Xenotyphlopidae (Vidal *et al.* 2010; Adalsteinsson *et al.*, 2009)

Dentro dos scolecophidia a família Typhlopidae é a que apresenta a maior distribuição, sendo composta por seis gêneros contendo mais de 265 espécies (McDiarmid *et al.*, 1999). Essa família caracteriza-se por apresentar dentes maxilares, dentário reduzido sem dentes e vestígios de cintura pélvica reduzida a um par de ísquios (List 1966; Lee e Scanlon 2000). Typhlopidae é pantropical, ocorrendo na África, Madagascar, Sul da Europa, Sul da

Ásia, Austrália, Américas e Oeste da Índia (Zug *et al.*, 1993). O tamanho corporal dos representantes da família varia de 140 mm (*Rhamphotyphlops braminus*) a 600 mm (*Rhinotyphlops schlegeli*). Ocupam uma grande variedade de habitats, desde desertos a florestas úmidas, construindo túneis ou galerias no solo, alimentando-se principalmente de larvas e pupas de formigas e cupins (Tipton, 2005).

Recentemente, Vidal *et al.* (2010), com base em dados moleculares, elevaram a família Typhlopidae à superfamília Typhlopoidea, sendo esta formada por três famílias: Gerrhopilidae, Xenotyphlopidae, e Typhlopidae, sendo esta última redefinida. A família Typhlopidae apresentou quatro clados biogeograficamente coesos: o clado eurásiatco (incluindo a irradiação australiana), o africano, o de Madagascar e o Sul-Americano + Antilhas.

Dos cinco gêneros que compõem a família, o gênero *Typhlops* é o mais especioso, contando atualmente com mais de 145 espécies. Vidal *et al.* (2010) publicaram a filogenia do gênero *Typhlops*, porém apenas duas espécies da América do Sul estão representadas em seu trabalho. Para este continente são conhecidas oito espécies (Roux, 1926; Richmond, 1965; Rodrigues e Juncá, 2002; Rodrigues, 1991d; Vanzolini, 1972; Dixon e Hendricks, 1979). Entre elas, cinco apresentam distribuição restrita: *T. lehneri* e *T. trinitatus* que ocorrem na Venezuela e na ilha de Trinidad, respectivamente. *T. yonenagae*, *T. amoipira* e *T. paucisquamus* ocorrem somente no Brasil. A primeira e a segunda espécie estão associadas às dunas do Rio São Francisco, no estado da Bahia, enquanto a última foi descrita baseada somente em dois exemplares provenientes do estado de Pernambuco.

Entretanto, três das oito espécies que ocorrem na América do Sul possuem ampla distribuição. A primeira espécie é *T. minuisquamus* que ocorre em toda a Bacia Amazônica, na porção oeste, desde Iquitos no Peru; a leste, passando por Manaus; ao norte, próximo a Maroa na Venezuela e também ao longo de todo o escudo das Guianas. Diferencia-se das demais por possuir uma redução acentuada das escamas ao redor do corpo (20/20/18, 18/18/14, 18/18/12). As outras duas espécies são *Typhlops reticulatus* e *Typhlops brongersmianus*, cuja distribuição abrange mais de um bioma Sul-Americano.

Vanzolini (1972) descreveu *T. brongersmianus* distinguindo-a de *T. reticulatus*, ressaltando que as principais diferenças entre as duas espécies recaem sobre o padrão de coloração e número de escamas dorsais (Figura 1). Apesar da aparente semelhança entre *T. reticulatus* e *T. brongersmianus*, a primeira é relativamente maior, possui um comprimento máximo de 522 mm e um mínimo de 115 mm e difere de todas as formas ocidentais de

Typhlops pela presença de sete a nove espinhos na face não sulcada do hemipênis (Dixon e Hendrix, 1979). O dorso é marrom profundamente acinzentado, com diversas listras escuras indistintas, o ventre e a ponta da cauda são creme amarelado. A porção dorsal da cabeça, na região nasal, possui coloração creme (cada escama possui as margens amareladas), e posteriormente aos olhos, as escamas possuem uma coloração marrom profundamente acinzentado (Martins. e Oliveira, 1999). Apresentando sua distribuição na porção Cisandina da América do Sul, entre 12° Norte e 14° Sul de latitude (Dixon e Hendricks, 1979).

A espécie *T. brongersmianus* foi descrita usando como holótipo um indivíduo do município de Ilhéus, Bahia e como caracteres diagnósticos Vanzolini (1972) citou a sutura internasal incompleta, a presença de 20 fileiras de escamas no meio do corpo, 216 escamas dorsais e um padrão de coloração dorsal com fileiras de manchas escuras sob um fundo marrom claro. Neste trabalho, o autor também salienta que *T. brongersmianus* possui a cabeça arredondada, sem incisão profunda de suturas, tendo um corpo robusto.

Na descrição de *T. brongersmianus*, Vanzolini (1972) ressalta que o comprimento rostro-cloacal é de 207 mm, o da cauda é de 7 mm e o tamanho do diâmetro do meio do corpo é de 9 mm. A coloração dorsal do corpo é amarronzada, com linhas pigmentadas na cor marrom, marrom amarelada ou marrom avermelhada sobre um fundo mais claro. O pigmento das escamas dorsais é frequentemente concentrado no centro das mesmas, mas ocasionalmente difuso, tendendo a aparecer manchados, reticulados ou revestidos, enquanto a escama rostral possui uma linha vertical característica na cor castanha mais escura. *Typhlops brongersmianus* apresenta sua distribuição na porção Cisandina da América do Sul (Figura 2), entre 11° norte e 35° sul (Dixon e Hendricks, 1979), sendo uma espécie amplamente distribuída na América do Sul, ocorrendo em quase todos os habitats. *Typhlops brongersmianus* é largamente simpátrica com *T. reticulatus* na Amazônia e com *T. paucisquamus*, *T. amoipira* e *T. yonenagae* na região nordeste do Brasil.

Dentro da diversidade de *T. brongersmianus*, o número total de escamas dorsais é o caráter mais óbvio que indica variação intra e interpopulacional. No entanto, há suspeitas de que exista um considerável dimorfismo sexual neste caráter. Roux-Estève (1975) encontrou variação significativa entre os sexos em algumas espécies africanas de *Typhlops* onde as fêmeas sempre apresentam contagem de escamas mais elevadas. Dixon e Hendricks (1979) estudando tiflopídeos Neotropicais chegaram a conclusões semelhantes às de Roux-Estève (1975), porém o dimorfismo sexual não foi avaliado, devido a dificuldade para sexar parte dos exemplares analisados.

As análises baseadas em número de escamas de Dixon e Hendricks (1979) sugerem a existência de duas populações geográficas de *T. brongersmianus*. Uma população é representada pelos indivíduos do Peru, Bolívia, Brasil central, Paraguai e Argentina que mostraram um aumento no número de dorsais do noroeste ao sudeste. A segunda população é caracterizada por ter um número menor de dorsais e é representada por amostras de Trinidad, Venezuela, Guiana, Suriname, nordeste e leste do Brasil distribuindo-se pela costa até o estado do Rio Grande do Sul. Entretanto, os autores também sugerem que poderia existir uma terceira população na bacia do Rio Paraná, pois tendem a ter o maior número de dorsais registrados para toda a espécie. Contudo, essa população possuiu um viés amostral neste estudo, com maior número de fêmeas do que de machos. Por esse motivo, os autores classificaram estes indivíduos como parte da população ocidental. Segundo Dixon e Hendrix (1979) não há sobreposição nos intervalos da contagem de escamas dorsais entre as populações orientais e ocidentais, mas há indivíduos que se encontram nas zonas intermediárias sugerindo um contato entre as populações e a possibilidade de fluxo gênico entre elas. No entanto, relações intraespecíficas, como estruturação populacional e fluxo gênico, são de difícil avaliação do ponto de vista morfológico, pois na maioria das vezes existe pouco polimorfismo dentro da espécie ou esse polimorfismo não possui correspondência com a variabilidade genética (Bickford *et al.*, 2006).

Condições ambientais extremas podem impor estabilização sobre características fenotípicas. Por exemplo: são encontradas muitas espécies crípticas em tundras no ártico e nas profundezas aquáticas, as quais não se diferenciam morfológicamente (Vrijenhoek *et al.*, 1994; Grundt *et al.*, 2006). Um caso emblemático é apresentado pelo estudo de Lefébure *et al.* (2006) sobre o anfípoda subterrâneo *Niphargus virei*. Este crustáceo ocupa habitats marcados por completa falta de luz, que sofrem longos períodos de anoxia e escassez de alimento (Malard e Hervant, 1999; Hüppop, 2000). Nas análises moleculares *N. virei* apresentou três clados altamente divergentes (mais de 13 milhões de anos de divergência), contudo, as características morfológicas analisadas não indicam nenhuma variação na forma entre os indivíduos pertencentes aos diferentes clados. Estes resultados reforçam a idéia de que espécies fossoriais provavelmente apresentam restrições seletivas para adaptação a vida subterrânea, as quais certamente limitam os polimorfismos (Nevo, 1979).

Tendo isto em vista, estudos com variabilidade genética são imprescindíveis para avaliar e inferir hipóteses sobre a estruturação populacional. Vertebrados com estilo de vida subterrâneo são de difícil observação e devido a isso, muitos aspectos de sua biologia

evolutiva tais como, modos prevalentes de especiação e padrões de diversificação são mal compreendidos. Embora linhagens genéticas de animais fossoriais sejam encontradas em répteis a maioria dos estudos é centrada em mamíferos (e.g. Nevo, 1979; Nevo *et al.*, 1982; Patton e Sherwood, 1983; Reig *et al.*, 1990; Lacey *et al.*, 2000; Cutrera *et al.*, 2005, Fernández-Stolz *et al.*, 2007; Gonçalves e Freitas, 2009).

Estudos focados em roedores fossoriais têm mostrado que os modos de especiação são altamente diversificados em táxons subterrâneos, variando entre a rápida e quase simpátrica especiação cromossômica (Reig *et al.*, 1990; Massarini *et al.*, 2002), até a especiação alopátrica, por isolamento geográfico (Daly e Patton, 1990; Steinberg e Patton, 2000).

Frequentemente, ao nível populacional, a diversificação genética corresponde à estruturação geográfica, como em pequenos roedores dos gêneros *Ctenomys* e *Tomomys* (Daly e Patton, 1990; Cutrera *et al.*, 2005). Esses roedores parecem geralmente obedecer a padrões filogeográficos esperados para pequenos mamíferos com capacidade limitada de dispersão, assim como porcos-espinhos e musaranhos (Taberlet *et al.*, 1998; Hewitt, 2000).

Os rios também podem servir como barreiras ao fluxo gênico para espécies fossoriais, e podem ser responsáveis pela especiação e estruturação genética das mesmass. Uma espécie de mamífero fossorial da família Soricidae, *Blarina brevicauda*, que ocorre na América do Norte apresenta dois clados bem diferenciados, separados pelo rio Mississipi, sendo que a população oriental apresenta ainda uma subdivisão entre duas subpopulações. Essa diferenciação é causada por fluxo gênico restrito e isolamento por distância, devido à baixa vagilidade (Brant e Ortí, 2003).

Estudos focados em anfíbios de galerias e semi-subterrâneas (Bezy *et al.*, 1977; Pearse e Pogson, 2000) demonstram um sinal filogeográfico geralmente forte nesses grupos. Contudo a generalização dessas descobertas para táxons verdadeiramente subterrâneos, como as serpentes do gênero *Typhlops*, não é simples. As serpentes fossoriais possuem visão limitada e seu senso de direção é auxiliado pelos quimiorreceptores. Em espécies como *Leptotyphlops dulcis*, *Typhlops pusillus* e *Ramphotyphlops nigrescens* (Webb e Shine, 1992; Gehlbach *et al.*, 1971) descobriu-se, através de experimentos realizados em laboratório, que essas serpentes seguem os rastros deixados por suas presas, sugerindo que possuem um comportamento de orientação pelo olfato. Sendo assim, o papel da comunicação química (Zenuto *et al.*, 2004) junto com as adaptações da vida subterrânea poderiam impor restrições aos padrões de colonização e processo de isolamento geográfico e diferenciação.

Em répteis fossoriais um recente estudo realizado na Flórida com *Rhineura floridiana*, mostrou fortes indícios de estruturação genética (Mulvaney *et al.*, 2005) possivelmente devido a limitada capacidade de dispersão, que pode influenciar na estruturação populacional das espécies fossoriais. Outro estudo realizado com o lagarto fossorial endêmico da Califórnia, *Anniella pulchra*, revelou cinco linhagens não conhecidas e algumas delas são restritas a região central da Califórnia, mostrando que essas linhagens são, ou foram historicamente independentes (Parham e Papenfuss, 2009). Apesar desses exemplos e dos estudos sobre a variação morfológica da fauna psamofilia de répteis do vale do Rio São Francisco (Rodrigues, 1996 e 2002), poucas análises filogeográficas foram realizadas com répteis fossoriais até o momento.

Por outro lado, a diversidade de espécies no continente Sul-Americano vem sendo continuamente estudada na tentativa de compreender os padrões filogeográficos e origens das espécies atuais (Eizirik *et al.* 1998; Lara e Patton 2000; Puerto *et al.*, 2001; Costa, 2003; Ribas e Miaky 2004). Atualmente, existem numerosas hipóteses para a formação dessa diversidade (Moritz *et al.*, 2000). Diversas quebras no fluxo gênico entre populações têm sido descritas para várias espécies, estando estas quebras associadas ou não a barreiras geográficas. Uma das quebras mais recorrentes é aquela identificada na porção central do Domínio da Mata Atlântica, localizada na área que corresponde ao curso do Rio Doce (Pellegrino *et al.*, 2005; Cabanne *et al.*, 2007; Costa, 2003). Outros padrões de quebras em linhagens filogeográficas são identificados na região Sudeste (Grazziotin *et al.*, 2006; Tchaicka *et al.*, 2007; Thomé *et al.*, 2010) e Nordeste (Carnaval 2002; Carnaval e Bates 2007) da Mata Atlântica.

Em resumo, excluindo alguns mamíferos, existe pouca informação sobre os modos de especiação e os padrões filogeográficos para outros grupos de animais fossoriais, sendo esta informação muito limitada para linhagens de répteis fossoriais. Desta forma, estudos focando serpentes fossoriais se fazem estritamente necessários para uma compreensão mais ampla dos processos que criaram a biodiversidade neotropical.

Considerando as diferenças morfológicas entre as populações de *T. brongersmianus* e sua distribuição, que abrange diversas áreas com putativas barreiras ao fluxo gênico (previamente identificadas para outros organismos), este trabalho teve como objetivo utilizar as técnicas moleculares aliadas à morfologia para compreender os padrões e processos evolutivos que moldaram a diversidade desta espécie, bem como inferir o posicionamento

filogenético da mesma, redefinindo a taxonomia associada ao grupo de espécies que *T. brongersmianus* pertence.

2.OBJETIVOS

2-OBJETIVOS

O presente trabalho visa inferir os padrões e processos evolutivos em *T. brongersmianus* com ênfase na variabilidade de dois genes mitocondriais e da variabilidade morfológica.

Em vista do acima exposto, os objetivos pontuais do presente trabalho são:

1 – Com base nos caracteres morfológicos e moleculares, compreender as relações filogenéticas e o status taxonômico das espécies que ocorrem na América do Sul em simpatria com *T. brongersmianus*;

2 – Analisar a variabilidade genética e morfológica na espécie visando confrontar os resultados moleculares e morfológicos com as populações morfológicamente descritas por Dixon e Hendricks (1979) e as populações encontradas nas análises moleculares;

3 – Identificar possíveis barreiras ao fluxo gênico comparando populações separadas por barreiras geográficas putativas (rios, domínios morfoclimáticos e áreas de ocorrência não registrada).

3.MATERIAL E MÉTODOS

3-MATERIAL E MÉTODOS

3.1- ANÁLISES MORFOLÓGICAS

3.1.1- Exemplos analisados

Foram analisados 317 espécimes identificados como pertencentes ao gênero *Typhlops*, sendo 219 espécimes de *T. brongersmianus*, 39 de *T. paucisquamus*, 25 de *T. reticulatus*, 18 de *T. minuisquamus*, nove de *T. amoipira* e sete de *T. yonenagae*. Os exemplares examinados e seus números de tombo encontram-se no Anexo I. Todos os exemplares apresentam dados de procedência, totalizando 95 localidades mapeadas (Figura 3). O levantamento das coordenadas geográficas foi feito através do site do Centro de Referência em Informação Ambiental (CRIA, disponível em <http://splink.cria.org.br/>) e do software *Google Earth*. Para a confecção dos mapas as localidades foram georreferenciadas e os mapas gerados pelo software DIVA-GIS (Hijmans *et al.*, 2002). As coordenadas geográficas encontram-se na Tabela 1. Os espécimes examinados estão depositados nas seguintes Instituições, seguidas dos seus acrônimos:

Instituto Butantan, São Paulo, SP (IBSP)

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM (INPA)

Museu de Ciências e Tecnologia da PUC-RS, Porto Alegre, RS (MCT-PUCRS)

Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP (MZUSP)

Museu de Zoologia/Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP (ZUEC-REP)

Museu Nacional do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ (MNRJ)

Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA (MPEG)

Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB (UFPB)

Museu de Zoologia João Moojen. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG (MZUFV)

Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA (UFMA)

Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, MT (UFMT)

3.1.2- Caracteres Estudados

Caracteres Morfométricos:

- Comprimento Rostro-Cloacal (SVL): Tomado com régua graduada com precisão de 1 mm desde a escama rostral até a cloaca. O comprimento foi tomado de forma indireta, utilizando uma linha estendida ao longo do dorso, posteriormente medida com régua.
- Comprimento da Cauda (TL): Foi medido com paquímetro digital desde a borda da cloaca até a ponta do espinho caudal.

Caracteres Merísticos:

- Número de Escamas Supralabiais (SL): as escamas supralabiais são as escamas que formam a borda superior da boca. Esta contagem representa, para cada um dos lados da cabeça, o número total escamas a partir da 1^o escama imediatamente posterior a rostral (1^o supralabial), até o a última escama situada no limite superior do canto da boca.
- Número de Escamas Infralabiais (IL): as escamas infralabiais são as escamas que formam a borda inferior da boca. Registrou-se o número total de infralabiais através da contagem desde a primeira escama imediatamente posterior à sinfusal (1^o infralabial), até o a última escama situada no limite inferior do canto da boca.
- Número de Escamas Ventrals (V): Foi registrado o número total de escamas ventrais, através da contagem, desde a primeira escama posterior a sifisial até a escama cloacal.
- Número de escamas Dorsais (D): Foi registrado o número total de escamas dorsais, contadas a partir da borda inferior da escama rostral até a altura da escama cloacal.
- Número de escamas Subcaudais (SC): Conta-se o número total de escamas desde a borda posterior da escama cloacal até a ponto do espinho caudal.
- Número de fileiras de escamas ao redor do corpo (ERC): As escamas ao redor do corpo organizam-se em fileiras uniformes. Registrou-se aqui o número de fileiras de escamas dorsais nas regiões anterior (na altura da 20^a escama dorsal), mediana do corpo e posterior (na altura da 10^a escama ventral contada de trás para frente, a partir da escama cloacal) do corpo.

3.1.3-Análises Estatísticas

As análises estatísticas tiveram como objetivo detectar a variação intra-específica em *T. brongersmianus*, bem como testar se os caracteres aqui analisados corroboram as hipóteses taxonômicas previamente reconhecidas para as espécies que ocorrem na América do Sul para o gênero *Typhlops*. Para analisar a variação interespecífica e intra-específica foram utilizados os caracteres merísticos e morfométricos descritos acima.

Para realizar as análises estatísticas, o primeiro passo foi testar os pressupostos de normalidade e homoscedasticidade. Estes foram verificados através do teste Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Numa segunda etapa, para avaliar o dimorfismo sexual das variáveis que apresentaram uma distribuição normal, foi utilizada a Análise de Covariância (ANCOVA). A ANCOVA é usada para testar efeitos principais e de interações de variáveis categóricas sobre uma variável dependente contínua, mediante o controle dos efeitos de outras variáveis contínuas (covariáveis) sobre a variável dependente. Para as variáveis que não apresentaram distribuição normal foram utilizadas Análises de Variância não-paramétrica (ANOVAnp) que visa fundamentalmente verificar se existe uma diferença significativa entre as médias de diferentes amostras ou populações (Anderson, 2001). Além disso, as análises descritivas tradicionais dos dados também foram realizadas (Sokal e Rohlf 1995; Zar, 1999). Quando detectado dimorfismo sexual, os machos e fêmeas foram considerados separadamente nas análises estatísticas no intuito de evitar qualquer viés oriundo de diferenças morfológicas entre sexos.

A Análise Multivariada de Variância não-paramétrica (MANOVAnp) também foi realizada. Esta análise possibilita que diversas variáveis sejam analisadas conjuntamente, extraindo uma estatística pseudo-F (similar ao F de Fisher) baseado nas distâncias entre as observações (Anderson, 2001). Para a presente análise, as variáveis foram centralizadas (subtraindo a média do valor de cada observação) e normalizadas (dividindo o valor de cada observação pelo desvio padrão da variável), A MANOVAnp foi então realizada sobre a distância euclidiana entre as observações no morfoespaço resultante, e o valor de significância p foi estimado através de 10000 permutações, e avaliados no nível de $\alpha=0.05$.

Foram testados dois conjuntos de dados para verificar a variação intraespecífica. Primeiramente, foram testadas as duas populações (leste e oeste) sugeridas por Dixon e Hendrix (1979). Sendo assim, os testes visaram verificar a existência de diferenças significativas entre essas duas populações. Da mesma forma, o segundo conjunto de dados visou verificar se os agrupamentos formados pelas análises moleculares são concordantes com

a morfologia. Para isso, o segundo conjunto de dados foi formado de acordo com a Análise Espacial de Variância Molecular (SAMOVA; ver abaixo).

Para verificar a variação interespecífica, também foram testadas as unidades taxonômicas previamente conhecidas dentro do gênero, para isso foram utilizados agrupamentos representados por outras espécies de *Typhlops* que ocorrem em simpatria com *T. brongersmianus* na América do Sul. Os resultados auxiliaram a compreender os padrões de distribuição dos caracteres nas diferentes espécies. Para isso, foram utilizadas as seguintes espécies: *T. amoipira*, *T. yonenagae*, *T. reticulatus*, *T. minusquamus* e *T. paucisquamus*. Esta última foi separada em dois grupos, um com os indivíduos provenientes de Areia/PB, que possuem contagens de dorsais e ventrais notadamente maiores. O outro grupo apresenta os indivíduos das demais localidades que possui contagens de dorsais e ventrais comparativamente menores. A diferença entre os grupos foi avaliada através da MANOVAnp, como descrito acima.

3.2-ANÁLISES MOLECULARES

3.2.1- Escolha dos genes e das amostras

Para as análises filogeográficas e filogenéticas foram sequenciados os genes que codificam para Citocromo b (*Cytb*) e Citocromo Oxidase I (*CoI*) do DNA mitocondrial de *T. brongersmianus* ao longo de sua distribuição. As amostras biológicas (tecidos de fígado) foram retiradas do animal logo após seu sacrifício, conservadas em Etanol 96% e mantidas a -20 °C de refrigeração.

As amostras sequenciadas de *T. brongersmianus* do Brasil são provenientes de localidades situadas nos estados de Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Alagoas, Ceará, Espírito Santo, Maranhão, Piauí, São Paulo e Tocantins. Também foram sequenciadas amostras provenientes da Argentina e Guiana, totalizando em 49 e 39 amostras de *T. brongersmianus* sequenciadas para os genes *CoI* e *Cytb*, respectivamente.

Para inferir a coesão da variabilidade intra-específica e as relações filogenéticas das espécies que ocorrem em simpatria com *T. brongersmianus* foram sequenciadas quatro amostras de *T. reticulatus*, uma amostra de *T. yonenagae*, duas amostras de *T. amoipira*, três amostras de *T. minuisquamus*, três amostras de *T. paucisquamus*, e uma amostra de *T. lumbricalis*. Foram também adicionadas as análises sequências do Genbank de *Typhlops reticulatus*, *Gerrhopilus mirus*, *T. platycephalus* e, como grupo externo uma espécie da família Leptotyphlopidae, *Rena humilis*. Os números de acessos do Genbank encontram-se na Tabela 2. Todas as amostras sequenciadas também foram georreferenciadas, e suas coordenadas encontram-se na Tabela 3. Os mapas foram gerados pelo software DIVA-GIS (Hijmans *et. al.*, 2002) (Figura 4). As amostras sequenciadas e seus respectivos vouchers encontram-se listadas na Tabela 4

3.2.2- Extração de DNA

Todas as amostras foram extraídas de fígado e a extração foi realizada pelo método padrão de extração de DNA de tecido animal utilizando Proteinase K, como descrito por Hillis *et. al.*, 1996.

Para 10mg do tecido foram adicionados 500µl do tampão STE (100m M NaCl; 50 mM Tris-HCL, pH 8,0; 1 mM EDTA), 25 µl de proteinase K (10mg/ml) e 75 µl de SDS 10%. A

mistura foi agitada e incubada por 2 horas a 55°C. Um volume igual de clorofórmio:fenol (1:1) foi adicionado e, após agitação cuidadosa, a mistura foi centrifugada por 15 minutos a 14000rpm. O sobrenadante foi recolhido e a este se adicionou 1 volume de clorofórmio:álcool iso-amílico (24:1). Após os passos de agitação e centrifugação que seguem a desproteinização, o DNA foi precipitado com 1 volume de Isopropanol, pré-resfriado a 20° C, e ressuspenso em 50 µl de H₂O milliQ. A qualidade do DNA foi verificada em gel de agarose 1% e após, tratados com ribonuclease (RNase), enzima que degrada o RNA.

3.2.3- Amplificação e Sequenciamento

A reação de amplificação dos genes mitocondriais *CoI* e *Cytb* foram realizadas em um volume final de 20 µl usando de 10 a 20 ng de DNA genômico, tampão de reação para PCR 1X Invitrogen, dNTPS (0,2 mM de cada), 2 mM de MgCl₂ (50Mm), 2 µM de cada primer e 1U Platinum® *Taq* Polimerase Invitrogen. A amplificação foi realizada em termociclador MJ Research Inc. Watertown, MA, USA e o programa constou de uma desnaturação por 30s a 94°C, 10 ciclos de Touchdown de 60 °C a 50 °C por 1 min. e extensão de 1 min.e 30s a 72°C, seguidos de 35 ciclos adicionais de anelamento a 50 °C e extensão final de 5 min. a 72 °C. O produtos de PCR foram verificados em gel de agarose 1% marcados por GelRed e quantificados através do marcador de peso molecular Low mass Invitrogen®.

Os produtos do PCR foram purificados usando as enzimas EXO (3,3 U) e SAP (0,66 U). Os produtos das amplifica es foram sequenciados no sequenciador automático MegaBACE 1000 (GE Healthcare) utilizando os kits de terminadores marcados da GE Healthcare de acordo com as especifica es do fabricante. Ambas as fitas de cada fragmento de um mesmo espécime foram sequenciados para garantir a qualidade das sequências utilizadas. Os primers utilizados para ambos os genes encontram-se descritos na Tabela 5.

3.2.4- Alinhamento das sequências e Inferências Filogenéticas

A qualidade das sequências foi previamente analisada no programa Chromas 2.0 (disponível em www.technelysium.com.au/chromas.html), em seguida os *contigs* foram montados, utilizando as duas fitas de DNA, gerando uma sequência consenso para cada individuo. Os *contigs* foram gerados pelo programa Geneious v. 4.7 (Drummond *et al.*, 2009) e foram alinhadas através do método de alinhamento múltiplo implementado no programa Clustal W (Thompson *et al.*, 1997), este é includo como aplicativo acessório do programa

BioEdit 7.09 (Hall 1999), o qual foi utilizado para revisão e edição manual das sequências. Em seguida os genes foram concatenados utilizando o programa Mesquite v. 2.72 (Maddison e Maddison 2009).

Para análises filogenéticas foram utilizados os métodos de Máxima Parcimônia (MP), através do programa TNT (Goloboff *et al.*, 2003) que utiliza os algoritmos de busca denominados de *New Technology* (rondas de árvores de Wagner seguidas de *swapping* por SPR, TBR, *Drift*, *Ratchet* e *Tree fusing*) e inferência Bayesiana (IB) utilizando o programa MrBayes v 3.1.2 (Huelsenbeck e Ronquist, 2001) com quatro cadeias e 1 milhão de gerações, amostrando uma árvore a cada 1000 gerações e sendo descartadas todas as árvores antes da convergência dos valores de *likelihood*, baseado na visualização no programa Tracer 1.5 (Rambaut *et al.*, 2007), o *burn-in* e o cálculo de probabilidade posterior foram realizados no programa TreeAnnotator v 1.5.4 (Drummond e Rambaut, 2007). Para análise de MP o método de *bootstrap* (Felsenstein, 1985) foi empregado para estimar suporte de confiança dos clados encontrados usando 1000 pseudoréplicas, valores acima de 70% e 0.85 para *bootstrap* e probabilidade posterior, respectivamente, foram considerados como clados fortemente suportados. Para a escolha do melhor modelo de substituição de bases foi utilizado o programa MrModeltest 2.3 (Nylander, 2008). A análise Bayesiana de *T. brongersmianus* foi realizada com todos os indivíduos e os genes concatenados, sendo os genes faltantes considerados como dados faltantes.

3.2.5. Análises populacionais

Para avaliar as relações evolutivas entre as sequências de *T. brongersmianus*, foram construídas redes de haplótipos, utilizando o método *Median-Joining Network*, implementado pelo programa *Network* 4.1 (www.fluxus-engineering.com; Bandelt *et al.*, 1999). Foram feitas redes para cada gene independente e dos indivíduos com os genes concatenados. Estatísticas sumárias como, diversidade nucleotídica (π) e haplotípica (Hd), e testes de neutralidade: D de Tajima (Tajima, 1983), F de Fu e Li (Fu e Li, 1993), Fs de Fu (Fu, 1997), D de Fu e Li (Fu e Li, 1993) e análise de *mismatch distribution* foram estimadas utilizando o programa DnaSP 5.0 (Rozas *et al.*, 2009), exceto o teste de neutralidade Fs de Fu que foi realizado no programa Arlequin v3.5 (Excoffier e Lisher, 2010).

Foram testados diferentes cenários visando estabelecer os grupos populacionais que melhor refletem a estrutura genética, bem como definir possíveis barreiras ao fluxo gênico. Para isso, foi utilizado o método de Análise de Variância Molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992) implementado no programa Arlequin v3.5. Dentre as diversas possibilidades de estruturação populacional, três cenários principais foram avaliados, sendo eles: 1) domínios morfoclimáticos, 2) bacias hidrográficas, e 3) variância molecular. O primeiro cenário visou avaliar se as amostras encontram-se geneticamente estruturadas seguindo os domínios morfoclimáticos. Para isso, elas foram divididas de acordo com suas localidades geográficas e separadas por grupos populacionais de acordo com os domínios a que pertencem. Duas configurações de domínios morfoclimáticos foram utilizadas, baseando-se em Ab'Saber (1977) e Josse *et al.*, (2003) (Tabela 6). O objetivo do segundo cenário foi testar se as principais bacias hidrográficas que cortam a distribuição de *T. brongersmianus* são barreiras efetivas ao fluxo gênico da espécie. Para isso as amostras foram agrupadas levando-se em conta as áreas separadas por distintas bacias (Tabela 7). Neste cenário, foram estabelecidos cinco agrupamentos principais: a) norte do Rio Amazonas, b) entre os Rios Paraguai e Paraná, c) entre os Rios São Francisco e Tocantins, d) leste do Rio Paraná, e e) sul do Rio Amazonas, entre os Rios Paraguai, Paraná e Tocantins. Outros quatro rios menores, que não fazem parte das principais bacias hidrográficas brasileiras e que cortam os territórios dos estados da Bahia e Espírito Santo (Rio Doce, Jequitinhonha, das Contas e Pardo), foram considerados de três formas diferentes. As formas que estes quatro rios foram considerados e os agrupamentos formados foram: a) todos os quatro rios como barreiras, agrupando amostras entre o Rio Doce e o Jequitinhonha e entre o Rio das Contas e Rio Pardo; b) somente os Rios Doce e das Contas como barreiras, agrupando todas as amostras entre esses dois rios; c) nenhum dos

quatro rios como barreiras, agrupando todas as amostras a leste do Rio São Francisco com as amostras a leste do Rio Paraná. Desta forma, estas três diferentes abordagens em conjunto com os cinco agrupamentos principais estabeleceram três sub-cenários distintos para avaliar os rios como barreiras ao fluxo gênico (um com sete grupos, um com seis e outro com cinco). O terceiro cenário foi formado utilizando o método de Análise Espacial de Variância Molecular (SAMOVA) (Dupanloup *et al.*, 2002). Essa análise é baseada na maximização da proporção da variância genética total devido as diferenças entre os grupos (F_{CT}). O número de grupos (K) é definido *a priori* e aquele agrupamento que possui o maior F_{CT} é escolhido como o que melhor explica a estruturação genética. Foram testados K s de dois a 10 visando encontrar o número ideal de grupos populacionais para a diversidade de *T. brongersiamus*. Esses testes foram realizados usando somente a informação contida no gene *CoI*, por possuir maior quantidade de amostras sequenciadas.

Paralelamente aos testes de estruturação populacional foi realizado o teste de Mantel (Mantel, 1967), com 1000 permutações, utilizando o programa *Alleles in Space* (Miller, 2005). Este teste visa estimar correlação entre distância genética e distância geográfica nas amostras analisadas.

4.RESULTADOS

4- RESULTADOS

4.1. ANÁLISES MORFOLÓGICAS

4.1.1. Variação Intra-específica: *T. brongersmianus*.

Para as variáveis morfométricas a presença de dimorfismo sexual foi investigada através de ANCOVA. A relação entre SVL e TL (Figura 5) apresentou dimorfismo sexual significativo ($F= 68,6607$ e $p= 1,029e^{-13}$) entre machos e fêmeas. Apresentando machos com tamanho relativo da cauda maior, entre 3,2 e 11,53 mm. Já as fêmeas, apresentaram um tamanho relativo da cauda menor, variando entre 3,46 e 9,66 mm. Ao avaliar os dados para as populações separadas observou-se que existe dimorfismo sexual entre machos e fêmeas de cada localidade. Porém, o tamanho relativo da cauda não difere entre as populações leste e oeste (Figura 6), apresentando valores não significativos para as localidades entre machos ($p=0,6731$) e fêmeas ($p=0,8115$).

Para as variáveis merísticas o dimorfismo sexual foi investigado através de ANOVAnp. As contagens de escamas dorsais (Figura 7) e ventrais (Figura 8) apresentaram dimorfismo sexual significativo $p=0,0264$ e $p=0,0371$, respectivamente. As fêmeas apresentam as maiores contagens para escamas dorsais (194 a 269) e ventrais (200 a 274). Já os machos, apresentaram contagens de escamas menores de dorsais (193 a 259) e ventrais (197 a 251). As contagens de escamas subcaudais (Figura 9) também apresentaram um dimorfismo sexual significativo ($p=0,0001$) apresentando machos com caudas maiores, de 10 à 15 subcaudais e fêmeas com caudas menores, de 6 à 13 subcaudais. Ao comparar as três variáveis para as populações leste e oeste observou-se que existe diferenças significativas entre as localidades (dorsais $p=0,0004$; ventrais $p= 0,0032$ e subcaudais $p= 0,0040$). A relação das contagens de escamas ventrais e dorsais sugere a divisão entre as populações leste e oeste (Figura 10). O dimorfismo sexual não foi investigado para o número de escamas infralabiais, supralabiais e para o número de fileiras de escamas ao redor do corpo, pois estes caracteres não apresentaram variação entre os indivíduos analisados para espécie. Com base nesses resultados fêmeas e machos foram abordados separadamente na análise multivariada.

Após investigado o dimorfismo sexual, foi realizada uma MANOVAnp baseada nas variáveis de SVL, CR, V, D, SB e ERC (região posterior do corpo). Verificaram-se dois

conjuntos de dados: o primeiro agrupamento formado pelas populações sugeridas por Dixon e Hendrix (1979) e o segundo agrupamento formado pela SAMOVA. Este último foi formado sobrepondo a distribuição das amostras analisadas morfológicamente aos resultados moleculares (Figura 11). Os resultados obtidos corroboraram os agrupamentos sugeridos por Dixon e Hendrix (1979), apresentaram valores significativos para essas divisões ($p= 0,0001$). Entretanto, os gráficos mostram grande sobreposição das variáveis ao longo da distribuição, apresentando uma porcentagem de variação entre os grupos de apenas a 10%, com valor de variação residual acima de 85%.

Os agrupamentos sugeridos pela SAMOVA (Tabela 8) apresentaram-se apenas significativo para os machos ($p= 5e^{-04}$). Ao analisar somente as fêmeas esses agrupamentos não foram significativos ($p= 0,074$). Os resultados aqui obtidos corroboraram, apenas para os machos, os agrupamentos sugeridos pela SAMOVA. Entretanto, os gráficos também demonstram grande sobreposição das variáveis ao longo da distribuição, apresentando uma porcentagem de variação inferior a 10% entre os grupos. Os gráficos de Coordenadas Principais para as populações sugeridas por Dixon e Hendrix (1979) e pela SAMOVA encontram-se ilustrados na Figura 12 e 13, respectivamente. As estatísticas obtidas pela MANOVAnp, para ambos os grupos, encontram-se descritos na Tabela 9.

4.1.2. Diagnose de *Typhlops brongersmianus*

Typhlops brongersmai Vanzolini, 1972. Zool Mededel: (47):27 - 29. Localidade Tipo: Barra de Itaípe - Ilhéus, Bahia – Brasil.

Typhlops brongersmianus Vanzolini, 1976. Pap. Avul. Zool. 29 (24): 247. Mudança de nome. De *T. brongersmai* para *T. brongersmianus*.

Holótipo: MZUSP 5118, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.

Diagnose: Espécie relativamente grande, chegando a ter comprimento rostro cloacal de até 358,47 mm. Sua coloração na porção dorsal varia de marrom claro, marrom escuro e marrom avermelhado, Geralmente possui 11 escamas pigmentadas podendo variar para 13 escamas, o pigmento geralmente é localizado na parte central das escamas. O focinho apresenta coloração amarronzada ou com pequenas machas pigmentadas. Na porção ventral sua coloração varia de creme a creme amarelado. Possui a sutura nasal incompleta, que inicia na borda superior da segunda supralabial, passando pela narina, sem atingir a escama rostral.

Variação: Todos os exemplares analisados (n=219) possuem quatro supralabiais de cada lado, sendo que a quarta escama é maior que as outras. Possui três infralabiais de cada lado. As escamas ao redor do corpo, geralmente não possuem redução, 71, 94% dos exemplares apresentam 20-20-20 ou pouco frequentemente, 25,39% dos indivíduos, apresentam 20-20-18. Raramente podendo ocorrer com redução 20-20-19, 2,71% dos exemplares. As escamas ventrais variam de 193 – 274, as escamas dorsais variam de 193 – 269 e as escamas Subcaudais variam de 6 – 15 escamas. Como visto acima, *T. brongersmianus* possui dimorfismo sexual, com as fêmeas apresentando maior Comprimento rostro-cloacal e maior número de dorsais e ventrais e os machos apresentando um número maior de escamas subcaudais e tamanho da cauda.

Distribuição: Espécie amplamente distribuída no continente Sul-Americano, ocorrendo em todo o Brasil (em diversos Domínios Morfoclimáticos), Guiana, Paraguai e Norte/Nordeste da Argentina. Dixon e Hendrix (1979) encontram também exemplares provenientes da Bolívia, Suriname, Peru, Colômbia (Amazônia), Trinidad e Venezuela (espécimes não analisados neste trabalho devido ao difícil acesso de material) segundo esses autores, *T. brongersmianus* possui sua distribuição na porção Cis-Andina da América do Sul entre 11° Norte e 35° Sul. Esses autores também sugerem que possa existir uma localidade

possivelmente equivocada, um exemplar proveniente de Estancia Breyer, Patquia, La Rioja, Argentina, sendo esta localidade fora da distribuição conhecida para a espécie.

4.1.3. Novos Registros de Distribuição para *T. brongersmianus*

Foram encontrados novos registros ao longo da distribuição da espécie. Na região Sul do Brasil, foi registrado *T. brongersmianus* para o estado do Rio Grande do Sul, nos municípios de Arroio Teixeira, Capão da Canoa, Terra de Areia e Tramandaí. No estado de Santa Catarina foi registrado somente para o município de Florianópolis. Para a região Sudeste do Brasil, foram encontrados novos registros para o estado de São Paulo, nos municípios de Cachoeira de Emas, Indaiaporã, Perreira Barreto e Primavera; já para o estado do Espírito Santo a espécie foi encontrada em São Mateus e Vitória. Em Minas Gerais, foi registrado para os municípios de Januária e Resplendor,

Na região central do Brasil, *T. brongersmianus* encontra-se amplamente distribuída, foram encontrados registros para o estado do Mato Grosso nos municípios de Alto Taquari, Araputanga, Aripuanã, Cacéres, Campo Grande, Campos de Julio, Chapada do Guimarães, Cuiabá, Lucas do Rio Verde, Poconé, Porto Estrela, São José do Rio Claro, Sapezal, Tesouro, Vale de São Domingos e Vila Bela da Santíssima Trindade. No estado de Mato Grosso do Sul encontra-se nos municípios de Anaurilândia, Bataguacú, Brasilândia, Ribas do Rio Pardo e Santa Rita do Rio Pardo. No estado de Goiás encontram-se registros para os municípios de Iporá, Petrolina de Goiás, Serra da Mesa.

Na região Nordeste do Brasil, encontra-se registros para o estado da Bahia, nos municípios de Barra do Choça, Laje, Sapiranga, São Francisco do Conde, Trancoso e Uruçaca. No estado de Alagoas observaram-se registros nos municípios de Campo Alegre e Passo do Camaragibe, já para o estado do Piauí, foi registrado para os municípios de Tasso Fragoso e Uruçuí. No estado do Maranhão, foram encontrados novos registros para os municípios de Alcântara, Carolina, Estreito, São José do Ribamar e Urbano Santos. Na região Norte do Brasil, foram encontrados registros para o estado do Pará, nos municípios de Alter do Chão, Bragança, Curuçá, Ourém, Tucuruí e Vitória do Xingu, e no estado do Tocantins nos municípios de Aguiarnópolis, Babaçulândia, Guaraí, Lajeado, Mateiros e Palmas.

Em outros países, foi registrado somente na Argentina para a província de Corrientes, nos departamento de Curuzú Cuatiá e Santo Tomé, e província de Santa Fé, no departamento de General Obligado. Na Guiana, foi encontrado registro para Kaieteur National Park, na região de Potaro-Siparuni.

4.1.4. Variação Interespecífica

Para a variação interespecífica foram utilizadas as variáveis SVL, TL, D, V, SB e ERC (região anterior, mediana e posterior do corpo). Os resultados obtidos pela MANOVAnp indicam que as variáveis analisadas corroboram as unidades taxonômicas previamente conhecidas. Os valores de p são altamente significantes para machos e fêmeas ($p=1E^{-04}$), correspondendo à cerca de 62% do total de variação da amostra. Com base nas variáveis aqui analisadas foi possível separar as espécies pela MANOVAnp, porém observamos uma pequena sobreposição das variáveis para ambos os sexos. Os gráficos para machos e fêmeas estão representados na Figura 14. As estatísticas da MANOVAnp para as unidades taxonômicas encontram-se descritas na Tabela 10

Das oito espécies do gênero *Typhlops* que ocorrem na América do Sul, apenas duas, *T. trinitatus* e *T. lehneri*, apresentam sutura nasal dividida (Figura 15), enquanto as demais espécies apresentam sutura nasal incompleta. Para todos os exemplares de *Typhlops brongersmianus* analisados ($n=219$), assim como para todas as outras espécies analisadas, *T. amoipira* ($n=9$), *T. reticulatus* ($n=25$), *T. yonenagae* ($n=7$), *T. paucisquamus* ($n=39$) e *T. minuisquamus* ($n=19$) o número de escamas infralabiais e supralabiais é de 3/3 e 4/4, respectivamente. Desta forma, esses caracteres não são informativos para diferenciar as espécies.

As contagens de escamas dorsais e ventrais para cada espécie são respectivamente: 193 – 269 ($\bar{x}=219,81$; $n=219$) e 193 – 274 ($\bar{x}=222,5$; $n=219$) para *T. brongersmianus*, 180 – 239 ($\bar{x}=214,15$; $n=18$) e 186 – 243 ($\bar{x}=218,35$; $n=18$) para *T. minuisquamus*, 193 – 231 ($\bar{x}=212,44$; $n=9$) e 194 – 240 ($\bar{x}=220,6$; $n=9$) para *T. amoipira*, 211 – 273 ($\bar{x}=243,28$; $n=25$) e 219 – 273 ($\bar{x}=218,35$; $n=25$) para *T. reticulatus*, 151 – 197 ($\bar{x}=179,82$; $n=20$) e 169 – 204 ($\bar{x}=183$; $n=20$) para *T. paucisquamus*. A outra população de *T. paucisquamus*, proveniente de Areia/PB, apresentou maior número de dorsais e ventrais do que os demais indivíduos da espécie, com variação de 194 – 217 ($\bar{x}=204,52$; $n=19$) e 196 – 215 ($\bar{x}=206$; $n=19$) e finalmente, para *T. yonenagae* a variação foi de 246 – 265 ($\bar{x}=254,28$; $n=7$) e 247 – 270 ($\bar{x}=256$; $n=7$). A variação total das contagens de dorsais e ventrais está representada na Figura 16 e Figura 17, respectivamente.

O número de fileiras ao redor do corpo também é considerado um carácter diagnóstico para diferenciar as espécies. A variação dessas contagens para porção anterior, meio e posterior do corpo, são respectivamente: 20/20/20 ($n=159$), 20/20/19 ($n=4$) e 20/20/18 ($n=56$)

para *T. brongersmianus*, 20/20/20 (n= 6) e 20/20/18 (n= 19) para *T. reticulatus*, 18/18/18 para *T. amoipira* (n= 9), *T. yonenagae* (n=7) e *T. paucisquamus* (n=39). A espécie *T. minuisquamus*, distingui-se das demais espécies da América do Sul por apresentar a maior redução no número de fileiras dorsais, sendo observado 20/18/14 (n=6), 20/18/15 (n=3), 18/18/14 (n=8) e 18/16/14 (n=1). A variação das fileiras ao redor do corpo está representada na Figura 18. A comparação da variação da foliose entre as espécies que ocorrem na América do Sul encontra-se na Tabela 11.

4.2. ANÁLISES MOLECULARES

4.2.1. Diversidade Genética e Estruturação Populacional

Foram sequenciados aproximadamente 730 pb e 650 pb para os genes Citocromo b e Citocromo Oxidase I, respectivamente. Os fragmentos sequenciados apresentaram 92 e 101 sítios polimórficos para o gene *Col* e *Cyb*, respectivamente. Sendo que para o gene *Col* 51 sítios são informativos para parcimônia e 41 são autapomórficos, já o gene *Cyb* apresentou 40 sítios informativos para parcimônia e 61 autapomórficos. A rede de haplótipos para *Col* (Figura 19) apresentou 29 haplótipos, sendo que apenas 7 haplótipos são compartilhados: dois haplótipos entre indivíduos de localidades diferentes (CoIH1 e CoIH25) e cinco haplótipos entre indivíduos de mesma localidade (CoIH5, CoIH9, CoIH13, CoIH15 e CoIH21). A rede de haplótipos para o gene *Cyb* (Figura 20) apresentou 25 haplótipos, sendo que apenas oito haplótipos são compartilhados: um haplótipo entre indivíduos de localidades diferentes (CybH6) e sete haplótipos compartilhados por indivíduos de mesma localidade (CybH3, CybH8, CybH10, CybH14, CybH15, CybH19 e CybH20). A rede de haplótipos para os genes concatenados (Figura 21) apresentou 29 haplótipos, sendo que apenas três haplótipos são compartilhados por indivíduos de mesma localidade (CH3, CH12 e CH22). A rede de haplótipos para os genes individuais e para os genes concatenados formam os mesmos grupos, porém com uma resolução menor que os genes concatenados. Os haplótipos concatenados podem ser agrupados pela rede de haplótipos em dez grupos distintos: o primeiro grupo está representado pelos haplótipos CH1, CH2, CH3, CH4, CH5, CH6, CH22, CH23, CH27, provenientes de Ilhéus/BA, Novo Horizonte/SP, Passo do Camaragibe/AL e Barra do Choça/BA. O segundo grupo é formado pelos haplótipos CH18, CH25 e CH26 que são de Palmas/TO e Mateiros/TO. O terceiro grupo de haplótipos é representado por CH7, CH8, CH9 e CH10 que são todos de Sapezal/MT, o quarto grupo de é formado pelos haplótipos CH16 e CH17, os dois provenientes de Linhares/ES. O quinto grupo é representado pelos haplótipos CH11 e CH12 todos de Tesouro/MT, o sexto grupo é formado pelos haplótipos CH19 e CH21, de Uruçuí/PI e Januária/MG. O sétimo grupo é representado pelos haplótipos CH13 e CH28, provenientes de Campos de Júlio/MT e Cuiabá/MT, o oitavo grupo está representado pelo haplótipo CH29, que é de Santo Tomé, Corrientes, Argentina. O nono grupo está representado pelos CH14, CH15 e CH24, provenientes de Estreito/MA, Carolina/MA e Ubajara/CE. O décimo e último grupo é representado pelo haplótipo CH20, proveniente de Trancoso/BA, este haplótipo é altamente divergente, apresentando 38 mutações de diferença dos outros haplótipos. Ao representar os haplótipos no mapa (Figura

22, 23 e 24), observamos que os indivíduos parecem mais relacionados com os indivíduos de localidades próximas, formando pequenas unidades estruturadas geneticamente. Os haplótipos e suas localidades para cada gene e para os genes concatenados estão listados na Tabela 12.

Ao testar os três cenários de estruturação populacional a AMOVA indicou que os grupos definidos por domínios morfoclimáticos ou separados por rios não são uma boa representação da estruturação das diferenciações mitocondriais, uma vez que, a maior porcentagem da variância molecular resulta das comparações entre populações dentro dos grupos (Tabela 13). Por outro lado, a porcentagem da variância explicada pelos grupos formados nos cenários estabelecidos é baixa, apresentando da mesma forma valores de F_{CT} extremamente baixos.

Ao utilizar as barreiras sugeridas pela SAMOVA, observa-se que o agrupamento responsável pela maior porcentagem da variância é aquele onde as amostras encontram-se estruturadas em sete grupos ($K=7$) (Tabela 14). Este cenário apresenta 61,23% da variação explicada pela comparação entre os grupos, com altos valores de $F_{CT} = 0,61$, $F_{st}=0,85$ e $F_{sc}=0,63$, indicando a existência de forte estruturação genética e baixo fluxo gênico entre os grupos. O agrupamento das amostras resultante da SAMOVA para sete grupos encontra-se especificado na Tabela 15.

Os índices de diversidade genética foram semelhantes entre os fragmentos analisados. Os genes *CoI* e *Cytb* apresentaram uma diversidade haplotípica (Hd) de 0,930 e 0,970, respectivamente, enquanto a diversidade nucleotídica (π) foi de 0,020 para o *CoI* e de 0,023 para o *Cytb*. Para os dois fragmentos, todos os testes de neutralidade foram negativos e não significantes, com exceção do F_s de F_u que foi negativo (-8,69 para *CoI* e -8,70 para *Cytb*) e significativo ($p=0,01$). Para os genes concatenados o Hd foi de 0,98, enquanto que o π foi de 0,02. Os testes de neutralidade para os genes concatenados também foram negativos e não significantes, exceto para F_s de F_u (-7,34; $p=0,01$). Os índices de diversidade genética para cada gene e para os genes concatenados estão representados na Tabela 16. As análises de *mismatch distribution* apresentaram gráficos com distribuição multimodal, típicos de uma população que possui estruturação genética (Figura 25) enquanto o teste de Mantel para os dois genes apresentou uma forte correlação entre distância genética e distância geográfica (Figura 26 e 27), com $R=0,5170$ e $p=0,0009$ para o gene *CoI* e $R=0,55$ e $p=0,0009$ para o gene *Cytb*, o que sugere a presença de isolamento por distância.

4.2.2. Relações Filogenéticas

Os genes concatenados totalizaram aproximadamente 1390 pb analisados. O modelo de substituição de bases escolhido para as análises de IB foi GTR + I + G. As árvores filogenéticas, tanto MP, quanto IB possuem alguns clados bem resolvidos e esses apresentam alto valor de probabilidade posterior e *bootstrap* (Figura 28).

Typhlops brongersmianus tem como grupo irmão as espécies que ocorrem no nordeste do Brasil, apresentando um valor de probabilidade posterior e *bootstrap* de 1,0 e 96%, respectivamente. As espécies que ocorrem no nordeste do Brasil formam um clado fortemente suportado, com 1,0 de probabilidade posterior e 86% de *bootstrap*. Essas espécies estão divididas em dois clados: um formado por *T. amoipira* como grupo irmão de *T. paucisquamus*, com suporte de probabilidade posterior e *bootstrap* de 1,0 e 88%, respectivamente, e o outro clado é formado por *T. yonenagae*, que possui como grupo irmão *T. paucisquamus* provenientes de Areia/PB com valor de suporte de probabilidade posterior de 0.96. Já o clado formado por *T. brongersmianus* e as espécies de *Typhlops* provenientes do nordeste do Brasil, apresentam uma incongruência na relação com o seu grupo irmão. A análise IB apresenta *T. reticulatus* como grupo irmão, porém na análise de MP o grupo irmão é *T. minuisquamus*. Para as duas análises, as relações entre essas duas espécies possuem suporte de confiança abaixo de 70% para *bootstrap* e 0.85 de probabilidade posterior. Porém, os clados que definem cada uma dessas espécies apresentam valores de suporte altos (1,0 e 100%). As espécies que ocorrem na América do Sul têm como grupo irmão as espécies que ocorrem nas Antilhas, com um valor de 0,97 de probabilidade posterior e para o *bootstrap* o valor foi inferior a 70%. A topologia da árvore de IB para os 52 indivíduos de *T. brongersmianus* analisados indica a presença de nove possíveis agrupamentos, os quais se encontram também estruturados geograficamente (Figura 29). O primeiro grupo é representado somente pelo indivíduo de Trancoso/BA, o qual aparece como o indivíduo mais basal e divergente dentro da árvore de IB. O segundo grupo possui somente os indivíduos de Linhares/ES apresentando um suporte de probabilidade posterior de 1,0; o terceiro grupo é representado pelos indivíduos de Santo Thomé e General Obligado provenientes da Argentina com valor de 0,84 de probabilidade posterior. O quarto grupo é composto pelos indivíduos da Guiana e Sapezal/MT com valor 1,0 de probabilidade posterior; já o quinto grupo é representado pelos indivíduos de Cuiabá/MT e Campos de Júlio/MT apresentando 0,98 de probabilidade posterior; o sexto grupo possui indivíduos provenientes de Uruçuí-Una/PI, Januária/MG e Tesouro/MT, com valor 1,0 de probabilidade posterior. O sétimo grupo é

formado por indivíduos de Estreito/MA, Ubajara/CE, Tasso Fragoso/PI, Carolina/MA e Guaraí/TO. Este grupo não representa um clado monofilético na árvore, entretanto não existe suporte para a não monofilia do mesmo. O oitavo grupo é formado pelos indivíduos provenientes de Palmas/TO e Mateiro/TO com valor 1,0 de probabilidade posterior. Finalmente, o nono e último grupo é representado pelos indivíduos de Bataguaçu/MT, Ilhéus/BA, Novo Horizonte/SP, Campo Alegre/AL, Passo do Camaragibe/AL e Corrientes na Argentina. A maioria desses grupos apresenta alto valor de suporte de confiança, enquanto que a relação entre eles apresenta geralmente baixo suporte. Alguns agrupamentos possuem subclados com altos valores de confiança, os quais também apresentam ramos longos e poderiam ser considerados clados independentes. Entretanto, estes não foram delimitados como grupos, pois foi utilizado como critério de delimitação o contraste entre os clados e suas distribuições geográficas. O agrupamento sete coincidiu com os grupos formados na rede de haplótipos, contudo o baixo suporte da não monofilia desse grupo, bem como a reticulação apresentada na rede de haplótipos, indicam que o mesmo não representa um agrupamento bem resolvido pelas análises.

Para os tópicos de discussão da estruturação populacional foi dada prioridade aos resultados expressos nas análises de redes de haplótipos levando-se em conta a similaridade entre esses e os agrupamentos formados na árvore de IB. Da mesma forma os agrupamentos sugeridos pelo SAMOVA são concordantes em indicar grupos populacionais similares aos das análises filogenéticas.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

5.1. Distribuição Geográfica

A espécie *T. brongersmianus* possui ampla distribuição, ocorrendo em quase toda a América do Sul como observado por Dixon e Hendrix (1979). Martins *et al.* (2010) ampliou a distribuição de *T. brongersmianus* para sudeste do Brasil, com ocorrências no município de Iguaba Grande, Macaé, Niterói, São João da Barra e Restinga de Jurubatiba no estado do Rio de Janeiro; também registrou outras localidades para o estado do Espírito Santo, Municípios de Aracruz, Juerana e Linhares; e no município de Alvorada de Minas, Itapanhoacanga no estado de Minas Gerais. Loebmann (2008) e Santana *et al.* (2008) também ampliaram a distribuição de *T. brongersmianus* para o nordeste do Brasil para Ubajara no estado do Ceará e João Pessoa no estado da Paraíba, respectivamente. Como podem ser observados na Figura 2, estes trabalhos não amostraram diversas localidades observadas neste estudo, indicando que a espécie possui distribuição muito maior do que aquela descrita por esses autores ocorrendo em diversas regiões brasileiras.

Também foram observados novos registros para outros países tais como Argentina e Guiana, ao mesmo tempo em que Caicedo- Portilla (2009) também ampliou a distribuição de *T. brongersmianus* para Colômbia. Levando em conta esses resultados pode-se afirmar que a distribuição de *T. brongersmianus* ainda não é conhecida em sua totalidade, a qual provavelmente é muito mais ampla, e que muitos dos resultados que foram aqui obtidos podem ter sido influenciados pela carência de amostras em áreas sub-representadas. Entretanto, o fato de revelar uma aproximação mais realista da distribuição da espécie permite que novas interpretações dos dados genéticos e moleculares sejam feitas, uma vez que, uma espécie de distribuição tão ampla e com vagilidade tão baixa, teoricamente deve apresentar diversas subpopulações fortemente estruturadas. Esta estruturação ao longo da distribuição foi claramente recuperada nas análises genéticas, contudo as análises morfológicas contrastam com essas informações e indicam pouca variação dos caracteres analisados (ver abaixo).

5.2. Dimorfismo sexual

Shine e Webb (1990) analisaram cerca de 2000 exemplares de Typhlopideos e forneceram informações sobre biologia e história natural de 15 espécies Australianas. Neste trabalho observou-se que as fêmeas são maiores, tanto em tamanho quanto na contagem das escamas dorsais e ventrais, que os machos em todas as espécies. Roux-Estève (1975) estudando Typhlopideos africanos e Franzen e Wallach (2002) descrevendo uma nova espécie de *Rhinotyphlops* constataram que as fêmeas possuíam maior número de escamas dorsais que os machos, esses autores sugerem que isto pode estar relacionado a uma adaptação ao período de gestação, quando ocorre aumento do volume dos ovidutos com consequente distensão da pele. Corroborando estes estudos, os resultados aqui apresentados indicam claramente que *Typhlops brongersmianus* possuem dimorfismo sexual, com fêmeas apresentando maior número de contagens de escamas dorsais e ventrais, concordando com os resultados obtidos por diversos estudos.

O comprimento da cauda maior em machos foi comprovado por Ávila *et al.* (2006) para *Typhlops brongersmianus*, porém foram analisados somente 24 e 18 exemplares de machos e fêmeas, respectivamente, de uma única localidade no Mato Grosso do Sul. Essa característica também foi encontrada em espécies de *Typhlops* africanos (Webb *et al.*, 2001; Roux-Estève, 1975) e em outros gêneros da família Typhlopidae: *Acutotyphlops* (Wallach *et al.*, 2007), *Rhinotyphlops* (Franzen e Wallach, 2002) e *Ramphotyphlops* (Shine e Webb, 1990). De acordo com Shine (1993, 1999) a cauda dos machos é maior devido à necessidade de alocar o hemipênis e os músculos retratores, além de que machos com caudas longas possuem maior sucesso reprodutivo. Consequentemente, o número maior de escamas subcaudais nos machos é consequência da cauda também ser maior (Shine, 1993). Os resultados deste trabalho concordam com esses estudos, sendo que a contagem de escamas e o comprimento da cauda para *T. brongersmianus* são maiores em machos, com diferenças entre as médias altamente significantes, por isso, nas análises de variação morfológica os machos e as fêmeas foram analisados separadamente para evitar o viés do dimorfismo sexual. Cabe ressaltar que essa diferença acentuada entre machos e fêmeas foi um dos fatores limitantes do trabalho de Dixon e Hendricks (1979), onde os resultados apresentaram um grande viés amostral, como exemplificado na população proveniente da bacia do rio Paraná. Para essa população os autores relatam contagens de dorsais notadamente maiores, porém essa população possuía somente fêmeas (Dixon e Hendrix, 1979). Sendo assim, podemos inferir que os contrastes entre as conclusões do presente estudo em relação os resultados de Dixon e

Hendricks (1979) acerca da variação morfológica de *T. brongersmianus*, pode ser explicada pela diferença na proporção de machos e fêmeas analisados para ambos os estudos.

5.3. Estruturação Geográfica

Como já comentado, os resultados aqui apresentados suportam a divisão populacional proposta por Dixon e Hendricks (1979), isso ocorre somente para os dados morfológicos, que contrasta com a grande diversidade encontrada para os dados moleculares. Com base nas variáveis analisadas (D, V e SB) a MANOVAnp mostrou dois agrupamento diferenciados. Entretanto, quando as variáveis são analisadas em conjunto (SVL, TL, D, V, SB e ERC) os resultados também indicam esses agrupamentos, porém não existe um diagnóstico claro entre as populações do leste e oeste. Os agrupamentos formados pelas análises moleculares, sugeridos pela SAMOVA, demonstrou que os caracteres apresentam uma distribuição concordante e significativa apenas para os agrupamentos formados pelos machos. Esses dois conjuntos de dados apresentam uma porcentagem de variação baixa, mostrando gráficos com uma grande sobreposição de caracteres morfológicos entre os indivíduos ao longo de toda a distribuição. Isso provavelmente deve-se ao baixo número amostral formado por cada agrupamento. Desta forma, mesmo a espécie apresentando unidades genéticas bem estruturadas, estas análises demonstram uma evidente diferença entre o sinal molecular e o morfológico na estruturação da diversidade dentro de *T. brongersmianus*, uma vez que as unidades genéticas, apesar de fortemente estruturadas, não corroboram as populações definidas morfológicamente

Da mesma forma, Silva (2010) ao analisar molecularmente *Typhlops reticulatus*, observou que existe dois grupos distintos, porém nas análises de variação dos caracteres morfológicos externos, tais como foliose e caracteres morfométricos, não observou diferenças significativas entre esses dois grupos. Ao analisar os caracteres de morfologia hemipeniana, observou que esses dois grupos diferem significativamente no número de espinhos presentes no hemipênis, sendo que a espécie “A” apresentou uma fileira de 7-8 espinhos, enquanto que a outra espécie apresentou de 8-10 espinhos.

Condições ambientais extremas podem impor a estabilização sobre a seleção morfológica, reduzindo ou eliminando as alterações que podem acompanhar a especiação. Em geral, espécies com hábitos fossoriais apresentam restrições seletivas para adaptação a vida subterrânea, as quais certamente limitam a variação morfológica externa (Bickford *et al.*, 2006). Em um estudo com o lagarto fossorial africano, *Acontia meleagris meleagris*, utilizando dados moleculares, foram encontrados cinco linhagens divergentes que antes eram definidas em somente em dois grupos morfológicos (Daniels *et al.*, 2008). Adams *et al.* (2009) observou que as taxas de diversificação das espécies e a taxas de evolução morfológica não

são correlacionadas nas salamandras da família Pletodontidae, mostrando que clados com maior diversificação de espécies apresentam poucas mudanças morfológicas. Possivelmente a análise de caracteres de morfologia interna, tais como osteologia e morfologia hemipeniana em *T. brongersmianus* poderá indicar algum padrão congruente com os dados moleculares. Entretanto, até o momento o cenário que foi obtido é de uma grande variabilidade molecular, contrastando com uma evidente estase morfológica.

Os eventos evolutivos que levam a diversificação de espécies ou de linhagens podem também estar diretamente relacionados à fisionomia, tipo de habitat ou até mesmo a alteração dos ecossistemas (Burbrink *et al.*, 2008). Em animais fossoriais, alguns fatores podem estar relacionados com essa diversificação, tais como comunicação química (Zenuto *et al.*, 2004), tipo de solo e diferentes fitofisionomias podem ser diretamente responsáveis pela estruturação geográfica e populacional dessas espécies. O continente Sul-Americano apresenta uma diversidade grande de fitofisionomias, incluindo florestas tropicais e temperadas, campos e savanas. Como os diversos domínios morfoclimáticos afetam a estruturação genética de um vertebrado com ampla distribuição tem sido pouco explorada. A maioria dos estudos filogeográficos é focada em espécies que ocorrem exclusivamente em um bioma da América do sul: Amazônico (Cracraft e Prum, 1988; Bates, 2002) ou Atlântico (Grazziotin *et al.*, 2006; Thomé *et al.*, 2010; Pellegrino *et al.*, 2005; Carnaval, 2002; Carnaval e Bates, 2007). As análises aqui apresentadas não indicam valores significativos de F_{CT} , sugerindo que a estruturação genética de *T. brongersmianus* não está relacionada aos diferentes domínios morfoclimáticos. Por outro lado, a árvore filogenética e a rede de haplótipos sugerem que existe uma tendência a estruturação geográfica da diversidade genética.

Os resultados obtidos por Silva (2010) mostraram que existem duas linhagens mitocondriais dentro da espécie *T. reticulatus* que são nitidamente separada pela região da calha do rio Amazonas. Esse padrão é congruente com os padrões encontrados em algumas espécies amazônicas de serpentes (*Atractus zidoki* e *A. hoogmoedi*, Prudente e Passos, 2010) lagartos (*Plica umbra umbra* e *P. u. chrocollaris*, Ávila-Pires, 1995) e aves (*Lepidothrix coronata*, Cheviron *et. al.* 2005; *Capito niger*, *C. auratus* e *C. brunnei*, Armenta *et al.*, 2005), onde o rio poderia representar uma barreira significativa para a dispersão desses grupos. Casos semelhantes, onde padrões de distribuição de várias espécies de répteis podem ser explicados pela presença de grandes rios, foram relatados por Rodrigues (1993b) para as dunas do Rio São Francisco, no Estado da Bahia (*Amphisbaena hastata* e *A. ignatiana*; *Tropidurus amathites* e *T. divaricatus*; *Phimophis scriptorcibatus* e *P. chui*). Rodrigues e

Juncá (2002) ao descreverem *T. amoipira* e compararem com *T. yonenagae*, concluíram que se tratava de espécies vicariantes presentes nas dunas do Rio São Francisco. Este fenômeno de especiação é relatado também para outras espécies de vertebrados fossoriais, como roedores da família Soricidae (Brant e Ortí, 2003).

Entretanto, este cenário de especiação por rios, nem sempre ocorre em vertebrados fossoriais. Em um estudo com *Ctenomys australis* (Mora *et al.*, 2006) os resultados indicaram que os rios não afetam substancialmente o padrão de estruturação genética da espécie. Os resultados aqui apresentados obtidos pela AMOVA indicam valores de F_{CT} extremamente baixos para os diversos rios testados, mostrando que para *T. brongersmianus* os rios não são barreiras efetivas ao fluxo gênico, inclusive, a população que ocorre ao norte da calha do rio Amazonas não apresentou diferença significativa das demais populações. Estes resultados sugerem que indivíduos *T. brongersmianus* provavelmente cruzam até mesmo grandes rios (Amazonas, Paraná, São Francisco, entre outros.) mantendo o fluxo gênico entre as populações. Até o momento não existem relatos de indivíduos dessa espécie cruzando rios, contudo Maschio *et al.* (2009), descreve casos de indivíduos do gênero *Amphisbaena* atravessando rios da Amazônia. Esses autores relataram três casos: o primeiro caso foi de uma *Amphisbaena alba* atravessando a Baía de Caxiuanã, município de Portel/PA, que encontrava-se a 2,5 km de distância das margens. O segundo registro foi de uma *Amphisbaena amazonica*, atravessando o igarapé Marinaú, município de Portel/PA, encontrada a 15 metros da margem, e o terceiro registro também foi de uma *Amphisbaena amazonica*, atravessando o igarapé Curuá, município de Melgaço/PA, nadando em volta de algas macrófitas. Os motivos para que essa espécie, estritamente fossorial, seja encontrada na água são desconhecidos, os autores sugerem que em situações extremas, como escapar de um predador, elas utilizem essa alternativa. Contudo, este fato indica que essas espécies são capazes de dispersão e que os rios não são barreiras efetivas para as mesmas. Outro cenário que poderia explicar a falta de estruturação genética gerada pelos rios são as constantes presenças de ilhas de vegetação e solo que se desprendem de uma margem e podem alcançar facilmente a margem oposta (Houle, 1998; Jokiel, 1990). *Typhlos brongersmianus* por apresentar características exclusivamente fossoriais seria uma das espécies mais propensas a se dispersar através destas ilhas.

5.4. Variabilidade Genética e Cenários Evolutivos

Em geral, diferenciação local e limitado fluxo gênico são características esperadas para espécies com hábito fossorial (Alvarez-Castañeda e Patton, 2004; El Jundi e Freitas, 2004). Entre os vertebrados fossoriais, a estruturação genética pode ser resultado da combinação de um pequeno tamanho populacional e de uma limitada capacidade de dispersão, promovendo diferenciação por deriva genética e isolamento por distância (Mora *et al.*, 2006). Os resultados apresentados pelo teste de Mantel indicam que existe forte correlação entre a distância genética e a geográfica, sugerindo que *T. brongersmianus* ocorre em pequenas unidades fortemente estruturadas que possuem semelhanças genéticas com indivíduos mais próximos do que com indivíduos distantes geograficamente, possivelmente devido à baixa vagilidade da espécie. Como no caso mostrado pelo estudo filogeográfico do roedor fossorial, *Eospalax baileyi*, que possui fluxo gênico restrito, e um dos fatores responsáveis por isso é que esta espécie raramente emerge para a superfície, pois esta atividade tem um elevado risco de predação, devido a sua visão limitada e movimentação lenta, além de possuir uma área de distribuição restrita (Tang *et al.*, 2009)

Cabe ressaltar que alguns clados e agrupamentos populacionais de *T. brongersmianus* são compostos por amostras relativamente distantes geograficamente, o que parece contrastar em parte os resultados do teste de Mantel (e.g. amostras provenientes da Guiana agrupam-se com amostras de Mato Grosso; amostras de Alagoas agrupam-se com amostras de São Paulo).

Entretanto, o teste de Mantel indica o padrão geral da espécie, sendo que os casos de amostras distantes geograficamente, mas próximas geneticamente, podem ser equacionados nos cenários evolutivos de uma espécie de vagilidade baixa como *T. brongersmianus* com o seguinte raciocínio. Estes genes mitocondriais têm uma taxa evolutiva relativamente lenta, em especial em répteis, de menos de 2% de divergência por milhão de anos. Assim, a grande maioria das sequências geograficamente distantes, mas agrupadas, tem possivelmente mais de 100 mil anos de divergência.

Na Figura 30 encontra-se uma representação da árvore filogenética, a qual está sobreposta ao mapa de distribuição dos grupos definidos pelos principais clados. Nesta representação, percebe-se claramente que apesar das amostras geograficamente próximas formarem grupos filogenéticos, as relações entre os grupos não seguem um padrão de distanciamento geográfico.

A baixa diversidade genética tem um impacto negativo para a viabilidade de diversas espécies (Milot, 2007). A variabilidade genética em vertebrados fossoriais geralmente é alta, por exemplo, o lagarto fossorial, *Anniella pulchra*, apresentou cinco clados altamente divergentes (Parham e Papenfuss, 2009) e estudos com roedores fossoriais mostraram que gênero *Ctenomys* possui especiação do tipo explosiva, sendo o gênero de roedor mais especioso da América do Sul (Castillo *et.al.*, 2005). Os dois marcadores aqui analisados indicam grande diversidade genética, sendo *Cytb* mais variável que o gene *Col*. Os resultados deste trabalho mostraram que *T. brongersmianus* possui valores de diversidades haplotípica (98%) e nucleotídica (2%) alta em contraste com outros vertebrados fossoriais, como *Ctenomys australis* ($\pi= 0,5\%$ e $Hd= 83\%$) ou *Ctenomys torquatus* ($\pi= 0,1\%$ e $Hd= 67\%$), porém possui os índices de diversidade genética similares ao roedor fossorial, *Eospalax baileyi*, que possui fluxo gênico restrito e especiação alopátrica ($\pi= 5\%$ e $Hd= 96\%$).

A análise de *mismatch distribution* mostrou, para ambos os marcadores, uma distribuição bimodal, estatisticamente diferente do simulado para um gargalo seguido de expansão populacional (padrão unimodal), sugerindo que a espécie sofreu expansão populacional, mas com uma moderada redução populacional sem a perda de todas as linhagens mitocondriais. Os testes de neutralidade apresentaram resultados concordantes com o cenário acima, mostrando valores negativos e significantes para o F_s de F_u , porém não significantes para os outros. F_u (1997) sugere que o teste F_s é estatisticamente mais sensível para identificar expansão populacional do que outro teste, isso explicaria as diferenças na significância dos testes de neutralidade.

Typhlops brongersmianus apresentou um grande número de haplótipos, para ambos os marcadores, bem como redes de haplótipos fortemente estruturados, com haplótipos únicos para indivíduos de mesma localidade. Estes resultados contrastam com alguns vertebrados fossoriais, tal como *Ctenomys rionegrensis* e *Ctenomys australis*, em que a topologia da rede de haplótipos apresenta um formato do tipo estrela (*Starlike*), típica de populações que sofreu forte redução seguida de forte expansão populacional.

A distribuição de *T. brongersmianus* é ampla, e apesar do tamanho amostral do presente estudo limitar a extrapolação dos resultados de algumas análises, pode-se concluir que o cenário mais provável para a formação da diversidade da espécie é o de uma metapopulação formada por distintos processos de isolamento por distância, os quais teriam gerado a grande estruturação genética dentro da espécie. As linhagens formadas, mesmo sofrendo uma redução populacional no passado, mativeram certa variedade de haplótipos

ancestrais, os quais passaram por um evento de expansão populacional do qual deriva a atual diversidade molecular da espécie. Para inferir com maiores detalhes a história demográfica de *T. brongersmianus*, a inclusão de amostras de outras localidades ao longo da distribuição, bem como de outros loci são claramente necessários.

Por outro lado, todas as análises moleculares apontam para a alta divergência do indivíduo proveniente de Trancoso/BA. Tanto a rede de haplótipos, quanto a árvore filogenética, revelaram um haplótipo altamente divergente, contudo, os caracteres de foliose não o diferenciam de um *T. brongersmianus* típico. Esta região foi estabelecida como parte de um dos corredores de biodiversidade da costa leste do Brasil, que se estende de Linhares no Espírito Santo até Trancoso na Bahia (Rocha *et al.*, 2005). A maioria das planícies costeiras ao longo desse corredor é constituída por restingas. Esses corredores de biodiversidade compreendem em um mosaico de usos do solo conectando fragmentos de vegetação natural ao longo da paisagem e possivelmente as variações climáticas e mudanças nos níveis do mar que ocorreram no passado afetaram significativamente as extensões de areia desses sistemas costeiros. Provavelmente esses eventos foram responsáveis pelos processos evolutivos das espécies que ocorrem neste habitat, resultando na diferenciação dos vertebrados que ocorrem nessas áreas, afetando da mesma maneira as populações de *T. brongersmianus* distribuídas nessa localidade. Estas zonas extremas, que apresentam grande variação climática e fisiográfica representam áreas de eventos cladogenicos recorrentes, o que pode explicar a alta diversidade genética do exemplar proveniente de Trancoso/BA.

5.5. Relações Filogenéticas.

Considerando a grande diversidade de espécies dentro de Scolecophidia, pouco se sabe sobre as relações filogenéticas desse grupo, e trabalhos combinando dados morfológicos e moleculares ainda não foram realizados. Até então, somente três trabalhos foram desenvolvidos com um grande número de espécies desse grupo: O primeiro é uma tese de doutorado não publicada (Wallach, 1998), em que o autor analisa dados de anatomia interna e relaciona o posicionamento filogenético entre as espécies de três famílias de Scolecophidia. O segundo trabalho é baseado em dados moleculares, onde foram sequenciados nove genes, entre eles mitocondriais e nucleares (Adalsteinsson *et al.*, 2009). Este trabalho realizou a revisão taxonômica da família Leptotyphlopidae onde reconhecem duas subfamílias, cinco tribos, cinco subtribos e doze gêneros. O terceiro trabalho é também baseado em dados moleculares e é focado nas serpentes da família Typhlopidae (Vidal *et al.* 2010).

Segundo Vidal *et al.* (2010) os Typhlopidae que ocorrem nas Antilhas são considerados grupo irmão do clado representado pelas espécies Sul-Americanas. As análises filogenéticas aqui apresentadas corroboram esse resultado, mostrando que as espécies que ocorrem na América do Sul possuem como grupo irmão as espécies que ocorrem nas Antilhas. As relações filogenéticas das espécies que ocorrem na América do Sul não foram exploradas por Vidal *et al.* (2010), a filogenia apresentada por esses autores possui somente duas espécies que ocorrem neste continente: *T. reticulatus* e *T. brongersmianus*. Por outro lado, no presente trabalho foram analisados mais de um indivíduo por espécie para quase a totalidade de espécies que ocorrem na América do Sul. O presente trabalho apenas não possui representantes das espécies provenientes da Venezuela e Trinidad, *T. lehneri* e *T. trinitatus*, respectivamente, das quais o status taxonômico ainda é incerto, devido à pouca disponibilidade do material. Pouco se sabe sobre a variação molecular e morfológica das espécies do gênero *Typhlops* que ocorrem na América do Sul, além da falta de conhecimento sobre a diversidade. As variáveis analisadas na MANOVAnp auxiliaram na separação das espécies, contudo, ocorre uma pequena sobreposição entre os pontos. Foram observados esses agrupamentos para ambos os sexos, e provavelmente, o baixo número amostral para as demais espécies do gênero *Typhlops* provocou um viés nas estimativas. Entretanto, os polígonos na análise multivariada sustentam a diferenciação entre as espécies.

Diversos caracteres serviram como diagnose para as espécies distribuídas no continente Sul-Americano. As espécies *T. brongersmianus* e *T. reticulatus* apesar de possuírem contagens semelhantes, apresentam dimorfismo no tamanho e coloração, sendo que

a última apresenta comprimento total maior e coloração do dorso marrom escuro ou negro, com a base das escamas creme-amareladas focinho creme amarelado; dorso da cauda negra ou marrom possuindo manchas creme ou amarela, enquanto que *T. brongersmianus* possui coloração marrom no dorso, focinho pigmentado e sem manchas na cauda.

As espécies que ocorrem no nordeste do Brasil (*T. amoipira*, *T. paucisquamus* e *T. yonenagae*) diferem de *T. brongersmianus* por apresentar 18 escamas ao redor do corpo sem redução, enquanto que *T. brongersmianus* apresenta 20/20/20 – 20/20/19 ou 20/20/18. *Typhlops yonenagae* difere-se de *T. paucisquamus* e *T. amoipira* por apresentar maior número de dorsais (246 – 265) e ventrais (247 – 270). A espécie *T. amoipira* se diferencia de *T. paucisquamus* por possuir contagens de dorsais e ventrais maiores, além de possuir coloração castanha clara com uma linha marrom no dorso, enquanto que *T. paucisquamus* apresenta coloração marrom escuro a marrom claro sem linhas no dorso.

No Nordeste do Brasil foi identificada uma população situada na localidade de Areia na Paraíba que se diferencia das demais espécies que ocorrem nesta região. No início do trabalho esta população foi previamente identificada como pertencendo à espécie *T. paucisquamus*. Entretanto, esta população difere-se de *T. paucisquamus* por possuir um número maior de contagens de escamas dorsais e ventrais, bem como não forma um clado na árvore filogenética com *T. paucisquamus*. Freire (2001) coletou quatro exemplares de *T. paucisquamus* nos remanescentes de Mata Atlântica do estado de Alagoas/Brasil com contagens de escamas dorsais e ventrais que variam respectivamente em 189 – 202 e 173 – 194. Essas contagens são maiores das que Dixon e Hendrix (1979) encontraram para *T. paucisquamus*, mas a descrição foi baseada em apenas dois exemplares. Os espécimes analisados no presente estudo também possuem contagens maiores de escamas dorsais e ventrais para *T. paucisquamus*, porém, com contagens menores do que as encontradas para a população de Areia/PB. Considerando esses resultados, a população encontrada em Areia/PB provavelmente representa uma espécie Sul-Americana ainda não descrita para o gênero *Typhlops*. Na árvore filogenética, os indivíduos amostrados em Areia/PB são o grupo irmão da espécie *T. yonenagae*, enquanto *T. paucisquamus* e *T. amoipira* apresentam-se como espécies irmãs. Rodrigues e Juncá (2002) argumentaram que *T. amoipira* e *T. yonenagae* seriam espécies fortemente relacionadas, por possuírem similaridades morfológicas, preferências ecológicas e distribuição geográfica próximas, contudo nossos resultados não corroboram essa hipótese.

Não foi possível estimar os tempos de divergências entre as espécies, ou entre os clados intraespecíficos devido à saturação dos genes mitocondriais utilizados. Esta saturação ocorreu nas comparações interespecíficas, as quais representam as únicas possibilidades atuais de calibragem do relógio molecular. Os pontos de calibragem foram baseados nas datas estimadas por Vidal *et al.* (2010) em dois pontos: divisão entre Leptotyphlos e Typhlopoidea (153 milhões de anos) e nas espécies das Antilhas (35 milhões de anos) A saturação (múltiplas substituições em um mesmo sítio) dos genes é um problema para as datações moleculares quando usados genes que apresentam taxas de mutação elevadas ao longo do tempo, tais como no DNA mitocondrial (Wakeley, 1996). Por exemplo, Adalsteinsson (2009) usou diversos genes, entre eles mitocondriais e nucleares para datar os tempos de divergências entre as espécies da família Leptotyphlopidae, e observou que o gene *Cytb* se apresentou saturado, portanto esse gene foi retirado das estimativas de tempo de divergência. Diversos trabalhos testam a eficiência de diferentes genes para filogenia e avaliam as taxas de Ti/Tv para cada códon. Halanych e Robinson (1999) analisando as taxas de transição e transversão para espécies da família Leporidae, para o gene *Cytb*, observaram saturação nas três posições do códon, porém mais evidente na terceira posição, devido a isso o gene também foi retirado das análises. Os gráficos das Figuras 31 e 32 mostraram resultados semelhantes, tanto o gene *CoI*, como *Cytb* apresentaram saturação para as transições. O gene *CoI*, apresentou saturação para terceira posição do códon, enquanto que o *Cytb* apresentou saturação na primeira e na terceira posição do códon.

Uma das dificuldades para estimar as taxas de evolução molecular e datas de divergência entre as espécies é obter as estimativas confiáveis do número real de substituições nucleotídicas. Quando um gene apresenta-se saturado, essas estimativas geralmente são errôneas, ora subestimando, outra inflando os tempos de divergência entre as espécies. Para contornar esse problema genes nucleares de evolução mais conservada necessitam ser adicionados na análise.

6. CONCLUSÕES

6-CONCLUSÕES

Com base na variação morfológica e molecular da espécie *T. brongersmianus* e, em sua comparação com outras espécies do gênero foi possível concluir:

- As espécies de *Typhlops* que ocorrem na América do Sul possuem como grupo irmão as espécies que ocorrem nas Antilhas;
- A espécie *T. brongersmianus* tem como grupo irmão as espécies provenientes do Nordeste do Brasil (*T. amoipira*, *T. paucisquamus*, *T. paucisquamus* Areia/PB e *T. yonenagae*), essas relações são fortemente suportadas pelos valores de probabilidade posterior e *bootstrap*;
- As espécies que ocorrem em simpatria com *T. brongersmianus* na América do Sul apresentaram-se separadas para MANOVAnp. Apresentando valores de *p* altamente significativos, além de apresentar uma porcentagem da variância alta entre as unidades taxonômicas. Entretanto, as espécies apresentam alguns pontos de sobreposição, possivelmente o baixo número amostral para as algumas espécies influenciou nos resultados dessas análises;
- Tanto as análises moleculares como morfológicas mostraram a existência de uma nova espécie de *Typhlops* proveniente de Areia/PB;
- Os caracteres morfológicos mostraram que *T. brongersmianus* apresentou as subdivisões populacionais sugeridas por Dixon e Hendrix (1979) e também são concordantes com as unidades genéticas sugeridas pela SAMOVA. Entretanto, os gráficos mostram que existe grande sobreposição dos caracteres ao longo da distribuição, além de apresentar uma baixa porcentagem de variância entre os grupos.
- As análises de AMOVA mostraram que as bacias hidrográficas e os diferentes domínios morfoclimáticos não são barreiras efetivas para o fluxo gênico de *T. brongersmianus*. Porém a SAMOVA indica que a maior porcentagem da variância em *T. brongersmianus* é explicada pela formação de sete grupos;
- Tanto a rede de haplótipos como a árvore filogenética revelaram um indivíduo altamente divergente, proveniente de Trancoso/BA, entretanto os caracteres de foliose não o diferenciaram de um *T. brongersmianus* típico;

- Os índices de diversidade genética para *T. brongersmianus* são altos, porém a espécie sofreu um moderado gargalo populacional seguido de expansão. Entretanto, mesmo sofrendo redução populacional no passado as linhagens mantiveram linhagens divergentes de haplótipos;
- O teste de Mantel apresentou forte correlação entre a distância genética e geográfica, mostrando que *T. brongersmianus* ocorre em pequenas unidades genéticas, e que isso possivelmente deve-se a baixa vagilidade da espécie.

7. REFERÊNCIAS

7-REFERÊNCIAS

- AB'SABER, A. 1977. Os Domínios Morfoclimáticos da América do Sul: Primeira Aproximação. *Geomorfologia*, 52:1-21.
- ADALSTEINSSON, S.A.; BRANCH, W.R.; TRAPE, S.; VITT, L.J.; HEDGES, S.B. 2009. Molecular phylogeny, classification, and biogeography of snakes of the Family Leptotyphlopidae (Reptilia, Squamata). *Zootaxa*, 2244: 1-50.
- ADAMS, D.C.; BERNS, C.M.; KOZAK, K.H.; WIENS, J. 2009. Are rates of species diversification correlated with rates of morphological evolution? *Proceedings of the Royal Society*, 276(1668): 2729–2738.
- ALVAREZ-CASTAÑEDA, S.T. E PATTON J.L. 2004. Geographic genetic architecture of pocket gopher (*Thomomys bottae*) population in Baja California, Mexico. *Molecular Ecology*, 13: 2287-2301.
- ANDERSON, M.J. 2011. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26: 32-46.
- APESTEGUÍA, S.; ZAHER, H. 2006. A cretaceous terrestrial snake with robust hindlimbs and sacrum. *Nature*, (440): 1037-1040.
- ARMENTA, J.K.; WECKSTEIN, J.D.; LANE, D.F. 2005. Geographic variation in mitochondrial DNA sequences of an Amazonian nonpasserine: The black-spotted barbet complex. *The Condor*, 107: 527-536.
- ÁVILA, R.W.; FERREIRA, V.L.; SOUZA, V.B. 2006. Biology of the blindsnake *Typhlops brongersminus* (Typhlopidae) in a semideciduous forest from central, Brazil. *Herpetological Journal*, 16: 403-405.
- AVILA-PIRES, T.C.S. 1995. *Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata)*. *Zoologische Verhandelingen*, Leiden, 299: 1-706.
- BANDELT, H.J.; FORSTER, P.; RÖHL, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37-48.
- BATES, J.M. 2002. The genetic effects of forest fragmentation on five species of Amazonian birds. *Journal of Avian Biology*, 33:276-294.
- BELLAIRS, A.; UNDERWOOD, G. 1951. The origin of snakes. *Biological Reviews* 26: 193-

237.

- BEZY, R.R.L.; GORMAN, G.C.; YUNG, J.K.; WRIGHT, J.W. 1977. Chromosomal and genetic divergence in the fossorial lizards of the family Anniellidae. *Systematic Zoology*, 26: 57–71.
- BICKFORD, D.; LOHMAN, D.J.; SOHDI, N.S.; NG, P.K.L.; MEIER, R.; WINKER, K.; INGRAM, K.K.; DAS, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecology and Evolution*, 22(3):148-155.
- BRANT, S.V.; ORTÍ, G. 2003. Phylogeography of the Northern short-tailed shrew, *Blarina brevicauda* (Insectivora: Soricidae): past fragmentation and postglacial recolonization. *Molecular Ecology*, 12, 1435–1449.
- BURBRINK, F.T.; FONTANELLA, F.; PYRON, R.A.; GUIHER, T.J.; JIMENEZ, C. 2008. Phylogeography across a continent: The evolutionary and demographic history of the North American racer (Serpentes: Colubridae: *Coluber constrictor*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47: 274–288.
- 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: 73–84.
- CAICEDO-PORTILLA, J.R. Distribución de las serpientes ciegas del género *Typhlops* y variación en *T. reticulatus* (Scoleophidea: Typhlopidae) en Colombia. In: Congreso Latinoamericano de Herpetología, 8°. *Resumos*. Cuba, 2009. p. 224.
- CARNAVAL, A. C. O. Q. 2002. Phylogeography of Four Frog Species in Forest Fragments of Northeastern Brazil—A Preliminary Study. *Integrative and Comparative Biology*, 42:913–921.
- CARNAVAL, A. C.; BATES, J. M. 2007. Amphibian DNA shows marked genetic structure and tracks pleistocene climate change in northeastern Brazil. *Evolution*, 61(12): 2942–2957.
- CASTILLO, A.H.; CORTINAS, M.N.; LESSA, E.P. 2005. Rapid diversification of south american Tuco-Tucos (CTENOMYS: RODENTIA: CTENOMYDAE): Contrasting Mitochondrial and Nuclear intron sequence. *Journal of Mammalogy*, 86(1): 170-179.

- CHEVIRON, Z.A.; HACKETT, S.J.; CAPPARELLA, A.P. 2005. Complex evolutionary history of a Neotropical lowland forest bird (*Lepidothrix coronata*) and its implications for historical hypotheses of the origin of Neotropical avian diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 36: 338–357.
- COSTA, L. 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography*, v30(1): 71-86.
- CRACRAFT, J.; PRUM, R.O. 1988. Patterns and processes of diversification: speciation and historical congruence in some Neotropical birds. *Evolution*, 42:603-620.
- CUNDALL, D.; ROSSMAN, D. A. 1993. Cephalic anatomy of the rare Indonesian snake *Anomochilus weberi*. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 109: 235-273.
- CUTRERA, A.P.; LACEY, E.A.; BUSCH, C. 2005. Genetic structure in a solitary rodent (*Ctenomys talarum*): implications for kinship and dispersal. *Molecular Ecology*, 14: 2511–2523.
- DALY, J.C.; PATTON, J.L. 1990. Dispersal, gene flow and allelic diversity between local populations of *Thomomys bottae* pocket gophers in the coastal ranges of California. *Evolution*, 44:1283–1294.
- DANIELS, S.R.; HEIDEMAN, N.J.L.; HENDRICKS, M.G.J. 2009. Examination of evolutionary relationships in the cape fossorial skink species complex (*Acontinae: contias meleagris meleagris*) reveals the presence of five cryptic lineages. *Zoologica Scripta*, 38 (5): 449-463.
- DIXON, J.R.; HENDRICKS, F.S. 1979. The wormsnakes (Family Typhlopidae) of the neotropics, exclusive of the Antilles. *Zoologische Verhandelingen*, 173: 1-39.
- DRUMMOND, A. J.; ASHTON, B.; CHEUNG, M.; HELED, J.; KEARSE, M.; MOIR, R.; STONES-HAVAS, S.; THIERER, T.; WILSON, A. 2009. Geneious v. 4.7, Disponível em <http://www.geneious.com/> Acesso em Nov. 2010.
- DRUMMOND, A.J.; RAMBAUT, A. 2007. "BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees." *BMC Evolutionary Biology*, 7:214.
- DUPANLOUP, I.; SCHNEIDER, S.; EXCOFFIER, L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11(12):2571-2581.

- EIZIRIK E.; BONATTO S.L.; JOHNSON W.E. *et al.* 1998. Phylogeographic Patterns and Evolution of the Mitochondrial DNA Control Region in Two Neotropical Cats (Mammalia, Felidae). *Journal of Molecular Evolution*, 47:613–624.
- EI JUNDI, T.A.R.J.; FREITAS, T.R.O. 2004. Genetic and demographic structure in a population of *Ctenomys lami* (Rodentia-Ctenomyidae). *Hereditas*, 140:18-23.
- ESTES, R.; DE QUEIROZ, K.; GAUTHIER, J. A. 1988. Phylogenetic relationships within Squamata. In: Estes R.; Pregill, G. (Eds.). *Phylogenetic Relationships of the Lizard Families*. Stanford, California: Stanford University Press. p. 119-281.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H.E. L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.; QUATTRO, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes : application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39:783-791.
- FERNÁNDEZ-STOLZ, G.P.; STOLZ, J.F.B.; FREITAS, T.R.O. 2007. Bottlenecks and dispersal in the tuco-tuco-das dunas, *Ctenomys flamarioni* (RODENTIA: CTENOMYIDAE) in south Brazil. *Journal of Mammalogy*, 88: 935-945.
- FRAZEN, M.; WALLACH, V. 2002. A new *Rhinotyphlops* from Southeastern Turkey (Serpentes: Typhlopidae). *Journal of Herpetology*, 36(2): 176-184.
- FREIRE, E.M.X. 2001. *Composição, Taxonomia, Diversidade e Considerações Zoogeográficas sobre a fauna de lagartos e serpentes de remanescentes da mata atlântica do estado de alagoas, Brasil*. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro. 144p. (Tese de Doutorado).
- FU, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147: 915–925.
- FU, Y.X.; LI, W.H. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 133: 693–709.
- GEHLBACH, F.R.; WATKINS II, J.F.; KROLL, J.C. 1971. Pheromone Trail-Following Studies of Typhlopidae, Leptotyphlopidae, and Colubrid Snakes. *Behaviour*, 40 (3/4):

282-294.

- GOLOBOFF, P.; FARRIS, J.; NIXON, K. 2003. *T.N.T.: Tree Analysis Using New Technology*. Disponível em: www.zmuc.dk/public/phylogeny Acesso em Nov. 2010.
- GONÇALVES, G.L.; FREITAS, T.R.O. 2009. Intraspecific variation and genetic differentiation of the collared Tuco-tuco (*Ctenomys torquatus*) in Southern Brazil. *Journal of Mammalogy*, 90(4): 1020-1031.
- 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: 3969–3982
- GRUNDT, H.H.; KJOLNER, L.B; RIESEBERG, L.H.; BROCHMANN, C. 2006. High biological species diversity in arctic flora. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:972-975.
- HAAS, G. 1964. Anatomical observations on the head of *Liotyphlops albirostris* (Typhlopidae, Ophidia). *Acta Zoologica*, Stockholm, 45: 1-62.
- HAAS, G. 1968. Anatomical observations on the head of *Anomalepis aspinosus* (Typhlopidae, Ophidia). *Acta Zoologica*, Stockholm, 49: 63-139.
- HAAS, G. 1930a. Über das Kopfskelett und die Kaumusculatur der Typhlopiden und Glauconiiden. *Zoologische Jahrbucher, Abteilung für Anatomie* 52: 1-94.
- HALL, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95–98.
- HEISE, P.; J., MAXSON, L. R.; DOWLING, H. G.; HEDGES, S. B. 1995. Higher-level snake phylogeny inferred from mitochondrial DNA sequences of 12S rRNA and 16S rRNA genes. *Molecular Biology and Evolution*, 12 (2): 259-265.
- HEWITT, G.M. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405: 907–913.
- HIJMANS, R.J.; GUARINO, L.; ROJAS, E. 2002. DIVA-GIS: *A geographic information system for the analysis of biodiversity data*. Lima: International Potato Center. 73p.
- HILLIS, D.M.; MABLE, B.K.; MORITZ, C. 1996. Applications of molecular systematics. In: Hillis, D.M.; Moritz, C.; Mable, B.K. (Eds). *Molecular Systematics*. Sunderland, MA: Sinauer Ass. Inc. p. 515-544.

- HUELSENBECK, J.P.; RONQUIST, F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17, 754–755.
- HÜPPOP, K. 2001. How do cave animals cope with the food scarcity in caves? *In: Subterranean Ecosystems* (eds Wilkens, H.; Culver, D.; Humphreys, W.), pp 159-188. Elsevier, Amsterdam
- JOSSE, C.; NAVARRO, G.; COMER, P.; EVANS, R. FABER-LANGENDOEN, D.; FELLOWS, M.; KITTEL, G.; MENARD, S.; PYNE, M.; REID, M.; SCHULZ, K.; SNOW, K.; TEAGUE, J. 2003. *Ecological Systems of Latin America and the Caribbean: A Working Classification of Terrestrial Systems*. Arlington, VA: NatureServe.
- KING, R.B. 1989. Sexual dimorphism in snake tail length: Sexual selection, natural selection, or morphological constraint? *Biological Journal of the Linnean Society*, 38: 133-154.
- LACEY, E.A.; PATTON, J.L.; CAMERON, G.N. 2000. *Life Underground: the Biology of Subterranean Rodents*. Chicago, Illinois: University of Chicago Press.
- LARA, M.C.; PATTON, J.L. 2000. Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 130: 661–686.
- LEE, M.S.Y.; SCANLON, J.D. 2002. Snake phylogeny based on osteology, soft anatomy and ecology. *Biological Review*, 77: 333-401.
- LEFÉBURE, T.; DOUADY, C.J.; GOUY, M.; TRONTEL, P.; BRIOLAY, J.; GIBERT, J. 2006. Phylogeography of a subterranean amphipod reveals cryptic diversity and dynamic evolution in extreme environments. *Molecular Ecology*, 15: 1797:1806.
- LIST, J.C. 1966. Comparative Osteology of the snake families Typhlopidae and Leptotyphlopidae. *Illinois Biological Monographs*, 36: 1-112.
- LI-ZHOU TANG; LIU-YANG WANG; ZHEN-YUAN CAI; TONG-ZUO ZHANG; HAI-XIN CHEN; GONG-HUA LIN; JIAN-PING SU; JIAN-QUAN LIU. 2010. Allopatric divergence and phylogeographic structure of the plateau zokor (*Eospalax baileyi*), a fossorial rodent endemic to the Qinghai–Tibetan Plateau. *Journal of Biogeography*, 37: 657–668.
- LOEBMANN, D. 2008. Geographic distribution. *Typhlops brongersmianus*. Brazil: Ceará.

Herpetological Review, 32: 244-244.

- HALANYCH, K.M.; ROBINSON T.J. 1999. The utility of cytochrome b and 12S rDNA data for phylogeny reconstruction of leporid (Lagomorpha) genera. *Journal of Molecular Evolution*, 48: 369-379.
- HOULE, A. 1998. Floating Islands: A Mode of Long-Distance Dispersal for Small and Medium- Sized Terrestrial Vertebrates. *Diversity and Distributions*, 4(5/6): 201-216.
- JOKIEL, P.L. 1990. Long-distance dispersal by rafting: reemergence of an old hypothesis. *Endeavour*, 14: 66-73.
- MACEY, J.R.; PAPENFUSS, T.J.; KUEHL J.V.; FOURCADE, H.M; BOORE, J.L. 2004. Phylogenetic relationships among amphisbaenian reptiles based on complete mitochondrial genomic sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33: 22–31.
- MADDISON, W.P.; MADDISON, D.R. 2009. *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.72*. <http://mesquiteproject.org> Acesso em Nov. 2010.
- MALARD, F. e HERVANT, F. 1999. Oxygen supply and the adaptation of animals in groundwater. *Freshwater Biology*, 40: 1-30.
- MANLY, B.F. 2000. *Multivariate statistical methods*, 2.ed. Boca Ráton, Florida: Chapman and Hall/CRC.
- MANTEL, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209-220.
- MARTINS, A.R.; SILVEIRA, A.L.; BRUNO, S.F. 2010. New records of *Typhlops brongersmianus* (Serpentes:Typhlopidae) in southeastern Brazil. *Herpetology Notes*, 3:247-248.
- MARTINS, M.; OLIVEIRA, M.E. 1999 [datado 1998]. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. *Herpetological Natural History*, 6(2):78-150.
- MASCHIO,G.F.; PRUDENTE, A.L.C.; MOTT, T. 2009. Water dispersal of *Amphisbaena alba* and *Amphisbaena amazonica* (Squamata: Amphisbaenia: Amphisbaenidae) in Brazilian Amazonia. *Zoologia*, 26 (3): 567–570.
- MASSARINI, A.; MIZRAHI, D.; TIRANTI, S.; TOLOSA, A.; LUNA, F.; SCHLEICH, C. 2002. Extensive chromosomal variation in *Ctenomys talarum talarum* from the

- Atlantic coast of Buenos Aires Province, Argentina (Rodentia: Octodontidae). *Mastozoología Neotropical*, 9: 199–207.
- MCDIARMID, R.W.; CAMPBELL, J.A.; TOURÉ, T.A. 1999. *Snake species of the world: a taxonomic and geographic reference, Volume 1*. Washington: The Herpetologists' League. 511p.
- MCDOWELL, S.B. 1987. Systematics. In: Siegel, R.A.; Collins, J.T.; Novak, S.S. (Eds.). *Snakes: ecology and evolutionary biology*. New York: MacMillan Publ. Co. p. 3-50.
- MCDOWELL, S.B.; BOGERT, C. M. 1954. The systematic position of *Lanthanotus* and the affinities of the anguimorph lizards. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 105: 1-154.
- MILLER, M.P. 2005. Alleles in space: computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. *Journal of Heredity*, 96: 722–724.
- MILOT, E.; WEIMERSKIRCH, H.; DUCHESNE, P.; BERNATCHEZ, L. 2007. Surviving with low genetic diversity: the case of albatrosses. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274: 779–787.
- MORA, M.S.; LESSA, E.P.; KITTELEIN, M.J.; VASSALO, A.I. 2006. Phylogeography of the subterranean rodent *Ctenomys australis* in sand-dune habitats: evidence of population expansion. *Journal of Mammalogy*, 87(6): 1192–1203.
- MORITZ, C.; PATTON, J.L.; SCHNEIDER, C.J.; SMITH T.B. 2000. Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31: 533-563.
- MULVANEY, A.; CASTOE, T.A.; KYLE, G.A.; KENNETH, L.K.; PARKINSON, C.L. 2005. Evidence of population genetic structure within the Florida worm Lizard, *Rhineura floridana* (Amphisbaenia: Rhineuridae). *Journal of Herpetology*, 39: 118–124.
- NEVO, E. 1979. Adaptive convergence and divergence of subterranean mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 10: 269–308.
- NEVO, E.; HETH, G.; BEILES, A. 1982. Population structure and evolution in subterranean mole rats. *Evolution*, 36: 1283–1289.

- NYLANDER, J. A. A. 2004. *Mr Modeltest v2. Program distributed by the author.* Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- PARHAM, J.F.; PAPENFUSS, T.J. 2009. High genetic diversity among fossorial lizard populations (*Anniella pulchra*) in rapidly developing landscape (central California). *Conservation Genetics*, 10:169-176.
- PATTON, J.L.; SHERWOOD, S.W. 1983. Chromosome evolution and speciation in rodents. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 14: 139–158.
- PEARSE, D.E.; POGSON, G.H. 2000. Parallel evolution of the melanic form of the California Legless Lizard, *Anniella pulchra*, inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Evolution*, 54: 1041–1046.
- PELLEGRINO, K.C.M.; RODRIGUES, M.T.; WAITE, A.N.; MORANDO, M.; YASSUDA, Y.Y.; SITES J.R., J.W. 2005. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85: 13–26.
- PRUDENTE, A.L.C.; PASSOS, P. 2010. New cryptic species of *Atractus* (Serpentes:Dipsadidae) from Brazilian Amazonia. *Copeia*, 3: 397-404.
- PUORTO, G.; SALOMÃO, M.G.; THEAKSTON, D.G., *et al.* 2001. Combining mitochondrial DNA sequences and morphological data to infer species boundaries: phylogeography of lanceheaded pitvipers in the Brazilian Atlantic forest, and the status of *Bothrops pradoi* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 14: 527-538.
- RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A.J. 2007. *Tracer v 1.4*. Disponível em: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer> Acesso em Nov. 2010.
- REIG, O.; BUSCH, C.; ORTELLS, M.; CONTRERAS, J. 1990. An overview of evolution, systematics, population biology, cytogenetics, molecular biology and speciation in *Ctenomys*. In: Nevo, E.; Reig, O. (Eds). *Evolution of Subterranean Mammals at the Organismal and Molecular Levels* New York: A.R. Liss-Wiley. p. 71–96.
- RIBAS, C.C.; MIYAKI, C. 2004. Molecular systematics in Aratinga parakeets: species limits and historical biogeography in the ‘*solstitialis*’ group, and the systematic position of *Nandayus nenday*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30: 663-675.

- RICHMOND, N.D. 1965. A new species of Blind Snake, *Typhlops*, from Trinidad. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 78: 121-124.
- RIEPPPEL, O. 1979a. The braincase of *Typhlops* and *Leptotyphlops* (Reptilia : Serpentes). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 65: 161-176.
- RIEPPPEL, O. 1979b. The evolution of the basicranium in the Henophidia (Reptilia : Serpentes). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 66: 411-431.
- RIEPPPEL, O. 1979c. The perilymphatic system of the skull of *Typhlops* and *Acrochordus*, with comments on the origin of snakes. *Journal of Herpetology*, 14: 105-108.
- RIEPPPEL, O. 1988. A review of the origin of snakes. *Evolutionary Biology*, 22: 37-130.
- ROCHA, C.F.D; VAN SLUYS, M; BERGALLO, H.G.; ALVES, M.A.S. 2005. Endemic and threatened tetrapods corridors of Serra do Mar and Central da Mata Atlântica in eastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, Vol 65 n° 1.
- RODRIGUES, M.T. 1991d. Herpetofauna das dunas interiores do rio São Francisco: Bahia:Brasil. IV.Uma nova espécie de *Typhlops* (Ophidia, Typhlopidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, S.Paulo, 37 (22): 343-346.
- RODRIGUES, M.T. 1993b. Herpetofauna of Paleoquaternary sand dunes of the middle São Francisco River: Bahia: Brazil. VI. Two new species of *Phimophis* (Serpentes: Colubridae), with notes on the origin of psammophilic adaptations. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 38(11): 187-198.
- RODRIGUES, M. T. 1996. Lizards, snakes and amphisbaenians of the quaternary sand dunes of the Rio São Francisco: Bahia: Brazil. *Journal of Herpetology*, v. 30, n. 04, p. 513-523.
- RODRIGUES, M. T. 2002. Herpetofauna of the Quaternary sand dunes of the middle Rio São Francisco, Bahia, Brazil. VIII. *Amphisbaena arda* sp. nov., a fuliginosa-like checkered patterned *Amphisbaena* (Squamata, Amphisbaenidae). *Phyllomedusa*, v. 1, n. 2, p. 51-56.
- RODRIGUES, M. T.; JUNCÁ, F.A. 2002. Herpetofauna of the quaternary sand dunes of the middle Rio São Francisco: Bahia: Brazil. VII. *Typhlops amoipira* sp. nov., a possible relative of *Typhlops yonenagae* (Serpentes, Typhlopidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 42 (13): 325-333.

- ROUX, J. 1926. Notes d'erpétologie sudaméricaine. *Revue Suisse de Zoologie*, 33:291-299.
- ROUX-ESTÈVE, R. 1975. Recherches sur la morphologie, la biogeography et la phylogenie des Typhlopidae d' Afrique. *Bulletin de l' Institut Fondamental d' Afrique Noire*, 36: 428-508.
- ROZAS, J.; SÁNCHEZ-DE I.; BARRIO, J.C.; MESSEGUER, X.; ROZAS, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19: 2496–2497.
- SANTANA, G. G.; VIEIRA, W.L.S.; PEREIRA-FILHO, G.A.; DELFIM, F.R.; LIMA, Y.C.C.; VIEIRA, K.S. 2008. Herpetofauna em um fragmento de Floresta Atlântica no Estado da Paraíba, Região Nordeste do Brasil. *Biotemas*, 21 (1): 75-84.
- SHINE, R. 1993. Sexual dimorphism in snakes. In: Seigel, R. A.; Collins, J. T. (Eds). *Snakes: Ecology and Behavior*. New York: McGraw-Hill. p.49-86.
- SHINE, R. 1999. Why do males snakes have longer tails than females? *Proceedings of the Royal Society of London Biological Sciences*, 266:2147–215.
- SHINE, R.; WEBB, J.K. 1990. Natural history of Australian Typhlopidae snakes. *Journal of herpetology*, 24(4):357-363.
- SILVA, A.A.A. 2010. *Variação Morfológica e Molecular de Typhlops reticulatus (Linnaeus, 1758) (Serpentes: Typhlopidae)*. Belém, Pará: Museu Paraense Emilio Goeldi. 122p. (Dissertação de Mestrado)
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. 1995. *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*, 3. ed. New York: W. H. Freeman Company.
- STEINBERG, E.K.; PATTON, J.L. 2000. Genetic structure and the geographic speciation in subterranean rodents: opportunities and constraints for evolutionary diversification. In: Lacey, E.A. Patton, J.L.; Cameron, G.N. (Eds). *Life Underground: the Biology of Subterranean Rodents*. Chicago: University of Chicago Press. p. 301–331.
- TABERLET P.; FUMAGALLI, L.; WUST-SAUCY, A.G.; COSSON, J.F. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, 7: 453–464.
- TAJIMA, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetic*, 105: 437–460.

- TCHAICKA, L.; EIZIRIK, E.; OLIVEIRA, T.G.; CÂNDIDO, J.R.; FREITAS, T.R.O. 2007. Phylogeography and population history of the crab-eatingfox (*Cerdocyon thous*). *Molecular Ecology*, 16: 819–838.
- TCHERNOV, E.; RIEPPEL, O.; ZAHER, H.; POLCYN, M.J.; JACOBS, L.L. 2000. A fossil snake with limbs. *Science*, 287: 2010-2012.
- THOMÉ, M.T.C.; ZAMUDIO, K.; GIOVANELLI, J.G.R.; HADDAD, C.F.B.; BALDISSERA, 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.
- THOMPSON, J.D.; GIBSON, T.J.; PLEWNIAC, F.; JEANMOUGIN, F. 1997. The Clustal windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25: 4876–4882.
- TIPTON, B.L. 2005. *Snakes of the Americas: checklist and lexicon*. Malabar, Florida: Krieger Publishing Company. 477p.
- UNDERWOOD, G. 1967. *A Contribution to the Classification of Snakes*. London: British Museum (Natural History).
- VANZOLINI, P.E. 1972. *Typhlops brongersmai* spec. nov. from the coast of Bahia, Brasil (Serpentes, Typhlopidae) *Zoologische Mededelingen*, Leiden, 47 (3): 27-29.
- VANZOLINI, P.E. 1976. *Typhlops brongersmianus*, a new name for *Typhlops brongersmai* Vanzolini, 1972, preoccupied (serpents, typhlopidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 29(24): 247.
- VIDAL, N.; HEDGES, S.B. 2002a. Higher-level relationships of snakes inferred from four nuclear and mitochondrial genes. *Comptes Rendus de Biologies*, 325: 977 e endash; 985.
- VIDAL, N.; MARIN, J.; MORINI, M.; DONELLAN, S.; BRANCH, W.R.; THOMAS, R.; VENCES, M.; WYNN, A.; CRUAUD, C.; HEDGES, B.S. 2010. Blindsnakes evolutionary trees reveals long historu on Gondwana. *Biology Letters*, 1-4.
- VRIJENHOEK, R.C.; SCHUTZ, S. J.; GUSTAFSON, R. G.; LUTZ R. A. 1994. Cryptic species of deep-sea clams (Mollusca, Bivalvia, Vesicomidae) in hydrothermal vent and cold-seep environments. *Deep Sea Research II* 41: 1171-1189.

- WAKELEY, J. 1996. The excess of transitions among nucleotide substitutions: New methods of estimating transition bias underscore its significance. *Trends in Ecology and Evolution*, 11:158–163.
- WALLACH, V. 1998. *The visceral anatomy of Blindsnakes and Wormsnakes and its Systematic Implications (Serpentes: Anomalepididae: Typhlopidae: Leptotyphlopidae)*. Boston, Massachusetts: Northeastern University. 645p. (PhD These)
- WALLACH, V.; BROWN, R.M.; DIEMOS, A.C.; GEE, G.V.A. 2007. An enigmatic new species of blindsnake from Luzon Island, Northern Philippines, with a synopsis of the genus *Acutotyphlops* (Serpentes: Typhlopidae). *Journal of Herpetology*, 41(4): 690-702.
- WALLACH, V.; GÜNTHER, R. 1998. Visceral anatomy of the Malaysian snake genus *Xenophidion*, including a cladistic analysis and allocation to a new family. *Amphibia Reptilia*, 19 (4): 385-404.
- WEBB, J.K.; BRANCH, W.R.; SHINE, R. 2001. Dietary habits and reproductive biology of Typhlopidae snakes from Southern Africa. *Journal of Herpetology*, 35(4): 558-567.
- WEBB, J.K.; SHINE, R. 1992. To find an ant: trail-following in Australian blindsnakes (Typhlopidae). *Animal Behaviour*, 43:941-948.
- WEBB, J.K.; SHINE, R.; BRANCH, W.R.; HARLOW, P.S. 2000. Life-history strategies in basal snakes: reproduction and dietary habits of the African thread snake *Leptotyphlops scutifrons* (Serpentes: Typhlopidae). *Journal of Zoology*, London, 250: 321-327.
- ZAR, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. 4. ed. New Jersey: Prentice-Hall.
- ZENUTO, R.R.; FANJUL, M.S.; BUSCH, C. 2004. Use of chemical communication by the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (tucu-tuco) during the breeding season. *Journal of Chemical Ecology*, 30: 2111–2126.
- ZUG, G.R.; VITT, L.J.; CALDWELL, J.P. 1993. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. 2.ed. San Diego, California: Academic Press. 630p.

8. ANEXOS

8. ANEXOS

7.1. ANEXO I: Lista dos espécimes analisados, com suas localidades e Voucher.

Typhlops amoipira (n=9): Brasil - Ibiraba – BA (MZUSP 12299, 12300, 12301, 12303 **Parátipos**, MZUSP 12298 **Holótipo**); Aracajú – SE (MZUSP 17464, 17645, 17467, 17468).

Typhlops brongersmianus (n=219): Brasil - Ilha Solteira, SP (IB 33860, 33861, 36487, 36754, 38324, 38325); Aguiarnópolis, TO (IB 75304, 75305); Alcântara, MA (MZUSP 17221); Anaurilândia, MS (IB 63025, 63026); Araçatuba, SP (IB 8964); Aripuanã, MT (UFV 1429, 1430, 1440, 1441, 1689, 1690, 1691, *Field Number* ARI1034, 1036, 973, R 1732, 970, UFMT 4241, 4245); Florianópolis, SC (MCP 7722); Arroio Teixeira, RS (MCP 6723); Barretos, SP (IB 4753); Bataguacú, MS (MZUSP 11689, 11690, 11691, 11692, 11693, 11694, 11695, 11696, 11697, 11698); Brasilândia, MS (IB 62644); Cáceres, MT (MZUSP 11460, 11458, *Field Number* R1832); Campo Alegre, AL (MZUSP 17271, 17272); Campo Grande, MS (MZUSP 10100); Capão da Canoa, RS (MCP 12079); Corumbá, MS (MZUSP 4440, 4442, 4443); Cachoeira de Emas, SP (MZUSP 2455); Guaraí, TO (MZUSP 12682, 12683, 12684, 13867); Ilhéus, BA (MZUSP 5218 **Holótipo**, 14685, 14696, S14702, 14687, 14666, 14674); UHE Rio Corumbá (*Field Number* 11074) Indiaporã (IB 41837, 41842, 41847, 41851); João Pessoa, PB (MZUSP 10672); Mata do Buraquinho, João Pessoa, PB (UFPB 4470, 4471); Laje, BA (IB 74025); Linhares, ES (IB 76577, ZUEC 1841); Mateiros, TO (MZUSP 14978, 14979, 14980); Palmas, TO (MZUSP 11508, 11509, 11510, 11512); Passo do Camaragibe, AL (MZUSP 17729, 17730, 17731); PCH Mosquitão, GO (MZUSP 17675, 17676, 17677); PCH Santa Edwirges, GO (MZUSP 17776, 17777, 17778, 17779, 17780); Pereira Barreto, SP (IB 54106, 54107); Petrolina de Goiás, GO (MZUSP 12491, 12492, 12493); Primavera, SP (IB 63061); Reserva Biológica Guaribas, Rio Tinto, PB (*Field Number* RT 019, 020, 022, 025, 052, S/N); Resplendor, MG (UFV 1782); Ribas do Rio Pardo, MS (IB 74589, 74590); Rio Verde, GO (MZUSP 3850); Santa Rita do Pardo, MS (IB 64080, 64081, MZUSP 11675); São Francisco do Conde, BA (*Field Number* GGS 23, 24, 32); São Mateus, ES (MZUSP 11597); Sapiroanga, BA (IB 55110); Serra da Mesa, GO (MZUSP 11037, 11038); Tramandaí, RS (MCP 0974); Trancoso, BA (*Field Number* MTR 13542); Três Lagoas, MS (IB 75138, MZUSP 4401); Ubajara, CE (IB 76845, 76846, 76847); UHE Luiz Eduardo Magalhães, TO (MZUSP 14758, 14898, 14899, 14904, 14900, 14901, 14903); UHE Sérgio Motta, Rio Pardo, MS (MZUSP 13986); Uruçuca, BA (MZUSP16737), Vitória, ES (UFV 389); Volta Grande, MG (UFV 1291); Vila Bela da Santíssima Trindade, na Linha de

Transmissão Rio Madeira (*Field Number* N421); Alto Taquari, MT (UFMT 6090, 6235); Araputanga, MT (UFMT 5920, 5921, 4179); Babaçulândia, TO (MPEG 23641, 23643); Bragança, PA (MPEG 6344, 8459, 9972); Chapada dos Guimarães, MT (*Field Number* R 1831, 1834, 1835, 1836, 1844, 486, 1833, 1837, 1838, 1839, 1840, 1841, 1843, 484, 485, 487, UFMT 1842, 5833); UHE Manso, Chapada dos Guimarães (MZUSP 14797, 14795, 14785, 14778, 14813, 14786, 14972, 14772, 14812, 14767, 14781, 14814); Curuçá, PA (MPEG 21483); Lago Caapiranda-Alter do Chão, PA (INPA H 10682, 10677, 10678, 10679, 10681, 10682, 10683); Lucas do Rio Verde, MT (*Field Number* RGS 367, 478, 86, R1205); Nova Lacerda, MT (UFMT 6236, 6239, 6240, 6241); Ourém, PA (MPEG 1266); Poconé, MT (*Field Number* R1845, UFMT 5946, 5948, 5949, ZUEC 1159, 893); Porto Estrela, MT (*Field Number* R 925); São José de Ribamar, MA (UFMA 85); São José do Rio Claro, MT (UFMT 5876); Sapezal, MT (UFMT 5897, 5896); Terra de Areia, RS (MCP 12495); Tucuruí, PA (MPEG 16804); UHE Belo Monte, Vitória do Xingu, PA (MPEG 19819); Urbano Santos, MA (MPEG 20534, 20535, 20536, UFMA75); Vale de São Domingos, MT (UFMT 6237, 6238, 6242, 6243); Frutal, MG (2720). Paraguai – Baía de Assunción, Assunción (IB 10117, 10118, 10119).

Typhlops minuisquamus (n=18): Brasil – Manaus, AM (MZUSP 5233 **Parátipo**, 7638); Presidente Figueiredo, AM (IB 51726); Faro, PA (MPEG 23085, 23820, INPA 25712, 25713); Jutai, AM (MPEG 23826); Parque Nacional Viruá, Caracarái, RR (INPA H25713, 25714). Guiana - Sem Localidade definida, somente ponto GPS, (*Field Number* H12V6, H28V6, H37V6, H38V6, H61V6, H84V6, H92V6, H35V6).

T. paucisquamus (n=39): Brasil – Recife, PE (IB 17219 **Parátipo**); João Pessoa, PB (MZUSP 8309, 8310, 8311, 8312, 8914, 8915, 8980); Brejo Mata do Pau de Ferro, Areia, PB (*Field Number* GAP 232, 233, 238, 240, 242, 243, 244, 247, 252, 253, 254, 255, 258, 260, 266, 276, 275, 290, 299); Reserva Biológica Guaribas, Rio Tinto, PB (*Field Number* RT 008, 023, 027, 035, 040, 041, 050, 051); Campo Alegre, AL (MZUSP 17273, 17289, 17274); Caucaia, CE (IB 76985).

Typhlops reticulatus (n=25): Brasil - Porto Velho, RO (IB 52913, 53123); Barcarena, PA (MPEG 23640); Boa Vista Amanã, AM (INPA H10425, 1026); Campus INPA, Manaus, AM (INPA-H14847); Chaves, Ilha do Marajó, PA (MPEG23681, 23682); Curionópolis, PA (MPEG 20738); Fazenda Jaburu, Espigão D'Oeste, RO (INPA H12096); Humberto de Campos, MA (MNRJ 7851); Monte Dourado, Almerim, PA (MPEG21434, 21435, 21436,

21437, 21438); Nova Ubiratã, MT (UFMT 5345); Oiapoque, AP (MPEG 197); Parque Nacional Viruá, Caracaraí, RR (INPA H21663); Presidente Figueiredo, AM (MPEG 17738); São José de Ribamar, MA (UFMA 92); São Luís, MA (MNRJ 16980, 16981); Sinop, MT (UFMT 5790); Urucará, AM (MPEG 23526).

Typhlops yonenagae (n=7): Brasil - Santo Inácio, BA (MZUSP 10086 **Holótipo**, 10541, 12497, 12498, 12499, 12500, 12502).

7.2. ANEXO II: Tabelas.

Tabela 1: Latitude e Longitude em graus decimais dos exemplares que foram medidos e contados (folidose).

Espécie	Localidade	Estado	País	Latitude	Longitude
<i>T. amoipira</i>	Aracajú	Sergipe	Brasil	-10.9111	-37.0717
<i>T. amoipira</i>	Ibiraba	Bahia	Brasil	-10.7894	-42.8231
<i>T. brongersmianus</i>	Aguiarnópolis	Tocantins	Brasil	-6.5625	-47.4664
<i>T. brongersmianus</i>	Alcântara	Maranhão	Brasil	-2.4089	-44.4147
<i>T. brongersmianus</i>	Alter do Chão	Pará	Brasil	-2.5036	-54.9525
<i>T. brongersmianus</i>	Alto Taquari	Mato Grosso	Brasil	-17.8261	-53.2822
<i>T. brongersmianus</i>	Anaurilândia	Mato Grosso do Sul	Brasil	-21.2558	-52.0369
<i>T. brongersmianus</i>	Araçatuba	São Paulo	Brasil	-21.2089	-50.4328
<i>T. brongersmianus</i>	Araputanga	Mato Grosso	Brasil	-15.4711	-58.3531
<i>T. brongersmianus</i>	Aripuanã	Mato Grosso	Brasil	-10.1667	-59.4594
<i>T. brongersmianus</i>	Arroio Teixeira	Rio Grande do Sul	Brasil	-29.7456	-50.0097
<i>T. brongersmianus</i>	Babaçulândia	Tocantins	Brasil	-7.2047	-47.7569
<i>T. brongersmianus</i>	Baía de Assunción	Assunción	Paraguai	-25.2667	-57.6667
<i>T. brongersmianus</i>	Barretos	São Paulo	Brasil	-20.5572	-48.5678
<i>T. brongersmianus</i>	Bataguaçu	Mato Grosso do Sul	Brasil	-21.7142	-52.4222
<i>T. brongersmianus</i>	Bragança	Pará	Brasil	-1.0536	-46.7656
<i>T. brongersmianus</i>	Brasilândia	Mato Grosso do Sul	Brasil	-21.2558	-52.0369
<i>T. brongersmianus</i>	Cacéres	Mato Grosso	Brasil	-16.0706	-57.6789
<i>T. brongersmianus</i>	Cachoeira de Emas	São Paulo	Brasil	-21.91667	-47.35
<i>T. brongersmianus</i>	Campo Alegre	Alagoas	Brasil	-9.7819	-36.3508
<i>T. brongersmianus</i>	Campo Grande	Mato Grosso	Brasil	-20.4428	-54.6464
<i>T. brongersmianus</i>	Capão da Canoa	Rio Grande do Sul	Brasil	-29.7456	-50.0097
<i>T. brongersmianus</i>	Chapada dos Guimarães	Mato Grosso	Brasil	-15.4606	-55.7497
<i>T. brongersmianus</i>	Corumbá	Mato Grosso do Sul	Brasil	-19.0092	-57.6533
<i>T. brongersmianus</i>	Curuçá	Pará	Brasil	-0.7289	-47.8481
<i>T. brongersmianus</i>	Florianópolis	Santa Catarina	Brasil	-27.5967	-48.5492
<i>T. brongersmianus</i>	Guaraí	Tocantins	Brasil	-8.8342	-48.5103
<i>T. brongersmianus</i>	Ilha Solteira	São Paulo	Brasil	-20.4328	-51.3425
<i>T. brongersmianus</i>	Ilhéus	Bahia	Brasil	-14.7889	-39.0494
<i>T. brongersmianus</i>	Indiaporã	São Paulo	Brasil	-19.9800	-50.2897
<i>T. brongersmianus</i>	João Pessoa	Paraíba	Brasil	-7.1150	-34.8631
<i>T. brongersmianus</i>	Laje	Bahia	Brasil	-13.1822	-39.4250
<i>T. brongersmianus</i>	Linhares	Espírito Santo	Brasil	-19.3911	-40.0722
<i>T. brongersmianus</i>	Lucas do Rio Verde	Mato Grosso	Brasil	-13.0503	-55.9111
<i>T. brongersmianus</i>	Mateiros	Tocantins	Brasil	-10.5475	-46.4211
<i>T. brongersmianus</i>	Ourém	Pará	Brasil	-1.5519	-47.1144
<i>T. brongersmianus</i>	Palmas	Tocantins	Brasil	-10.2128	-48.3603
<i>T. brongersmianus</i>	Passo do Camaragibe	Alagoas	Brasil	-9.23833	-35.49333
<i>T. brongersmianus</i>	PCH Mosquitão	Goiás	Brasil	-16.3861	-51.5603
<i>T. brongersmianus</i>	PCH Santa Edwirges	Goiás	Brasil	-14.4878	-46.1131
<i>T. brongersmianus</i>	Pereira Barreto	São Paulo	Brasil	-20.6383	-51.1092
<i>T. brongersmianus</i>	Petrolina de Goiás	Goiás	Brasil	-16.0950	-49.3381
<i>T. brongersmianus</i>	Poconé	Mato Grosso	Brasil	-16.2567	-56.6228
<i>T. brongersmianus</i>	Porto Estrela	Mato Grosso	Brasil	-15.3244	-57.2275
<i>T. brongersmianus</i>	Primavera	São Paulo	Brasil	-21.9833	-49.9833
<i>T. brongersmianus</i>	Resplendor	Minas Gerais	Brasil	-19.3256	-41.2553
<i>T. brongersmianus</i>	Ribas do Rio Pardo	Mato Grosso do Sul	Brasil	-20.4431	-53.7592
<i>T. brongersmianus</i>	Rio Verde	Goiás	Brasil	-17.7977	-50.927
<i>T. brongersmianus</i>	Santa Rita do Pardo	Mato Grosso do Sul	Brasil	-21.2500	-52.8000

<i>T. brongersmianus</i>	São Francisco do Conde	Bahia	Brasil	-12.6275	-38.6800
<i>T. brongersmianus</i>	São José de Ribamar	Maranhão	Brasil	-2.5619	-44.0542
<i>T. brongersmianus</i>	São José do Rio Claro	Mato Grosso	Brasil	-13.4467	-56.7214
<i>T. brongersmianus</i>	São Mateus	Espírito Santo	Brasil	-18.7161	-39.8589
<i>T. brongersmianus</i>	Sapezal	Mato Grosso	Brasil	-12.9894	-58.7642
<i>T. brongersmianus</i>	Sapiranga	Bahia	Brasil	-29.6381	-51.0069
<i>T. brongersmianus</i>	Serra da Mesa	Goiás	Brasil	-14.1500	-48.0800
<i>T. brongersmianus</i>	Terra de Areia	Rio Grande do Sul	Brasil	-29.5853	-50.0708
<i>T. brongersmianus</i>	Tramandaí	Rio Grande do Sul	Brasil	-29.9847	-50.1336
<i>T. brongersmianus</i>	Trancoso	Bahia	Brasil	-16.5833	-39.0833
<i>T. brongersmianus</i>	Três Lagoas	Mato Grosso do Sul	Brasil	-20.7511	-51.6783
<i>T. brongersmianus</i>	Tucuruí	Pará	Brasil	-3.7661	-49.6725
<i>T. brongersmianus</i>	Ubajara	Ceará	Brasil	-3.8544	-40.9211
<i>T. brongersmianus</i>	UHE Luis Eduardo Magalhães	Tocantins	Brasil	-9.75083	-48.3577
<i>T. brongersmianus</i>	UHE Sérgio Motta (Rio Pardo)	Mato Grosso do Sul	Brasil	-21.704	-53.271
<i>T. brongersmianus</i>	Urbano Santos	Maranhão	Brasil	-3.2078	-43.4036
<i>T. brongersmianus</i>	Uruçuca	Bahia	Brasil	-14.5931	-39.2844
<i>T. brongersmianus</i>	Vale de São Domingos	Mato Grosso	Brasil	-15.2938	-59.06083
<i>T. brongersmianus</i>	Vitória	Espírito Santo	Brasil	-20.3194	-40.3378
<i>T. brongersmianus</i>	Vitória do Xingu	Pará	Brasil	-2.8800	-52.0100
<i>T. brongersmianus</i>	Vl. Bela da Santíssima Trindade	Mato Grosso	Brasil	-15.007	-59.950
<i>T. brongersmianus</i>	Volta Grande	Minas Gerais	Brasil	-21.7706	-42.5389
<i>T. minuisquamus</i>	-	-	Guiana	5.540274	-59.314358
<i>T. minuisquamus</i>	Caracarái	Roraima	Brasil	1.8161	-61.1281
<i>T. minuisquamus</i>	Faro	Pará	Brasil	-2.1714	-56.7450
<i>T. minuisquamus</i>	Jutaí	Amazonas	Brasil	-2.7467	-66.7667
<i>T. minuisquamus</i>	Manaus	Amazonas	Brasil	-3.1019	-60.0250
<i>T. minuisquamus</i>	Presidente Figueiredo	Amazonas	Brasil	-2.0344	-60.0250
<i>T. paucisquamus</i>	Rio Tinto	Paraíba	Brasil	-6.8031	-35.0806
<i>T. paucisquamus</i>	Areia	Paraíba	Brasil	-6.9633	-35.6917
<i>T. paucisquamus</i>	Campo Alegre	Alagoas	Brasil	-6.9633	-35.6917
<i>T. paucisquamus</i>	Caucáia	Ceará	Brasil	-3.7361	-38.6531
<i>T. paucisquamus</i>	João Pessoa	Paraíba	Brasil	-7.1150	-34.8631
<i>T. paucisquamus</i>	Recife	Pernambuco	Brasil	-8.0539	-34.8811
<i>T. reticulatus</i>	Barcarena	Pará	Brasil	-1.5058	-48.6258
<i>T. reticulatus</i>	Boa Vista de Amanã	Amazonas	Brasil	-2.5711	-60.99
<i>T. reticulatus</i>	Caracarái	Roraima	Brasil	1.8161	-61.1281
<i>T. reticulatus</i>	Chaves	Pará	Brasil	-0.16	-49.9883
<i>T. reticulatus</i>	Curionópolis	Pará	Brasil	-6.1017	-49.5981
<i>T. reticulatus</i>	Espigão D'Oeste	Rondônia	Brasil	-11.5833	-61.0128
<i>T. reticulatus</i>	Humberto de Campos	Maranhão	Brasil	-43.4611	-2.5983
<i>T. reticulatus</i>	Manaus	Amazonas	Brasil	-3.1019	-60.0250
<i>T. reticulatus</i>	Monte Dourado	Pará	Brasil	-0.8667	-52.5283
<i>T. reticulatus</i>	Nova Ubiratã	Mato Grosso	Brasil	-12.9906	-55.2547
<i>T. reticulatus</i>	Oiapoque	Amapá	Brasil	3.8431	-51.8350
<i>T. reticulatus</i>	Porto Velho	Rondônia	Brasil	-8.7619	-63.9039
<i>T. reticulatus</i>	Presidente Figueiredo	Amazonas	Brasil	-2.0344	-60.0250
<i>T. reticulatus</i>	São José de Ribamar	Maranhão	Brasil	-2.5619	-44.0542
<i>T. reticulatus</i>	São Luís	Maranhão	Brasil	-2.5297	-44.3028
<i>T. reticulatus</i>	Sinop	Mato Grosso	Brasil	-11.8642	-55.5025
<i>T. reticulatus</i>	Urucará	Amazonas	Brasil	-2.535833	-57.76
<i>T. yonenagae</i>	Santo Inácio	Bahia	Brasil	-11.1144	-42.7192

Tabela 2: Números de acessos das sequências retiradas do banco de dados NCBI para os genes Citocromo Oxidase I e Citocromo b

Espécie	Nº de Acesso do NCBI	
	<i>CoI</i>	<i>Cytb</i>
<i>Rena humilis</i>	AB079597	AB079597
<i>Typhlops platycephalus</i>	-	AY099992
<i>Gerrhopilus. mirus</i>	AM 236345	AM 236345
<i>Typhlops reticulatus</i>	NC010971	NC010971

Tabela 3: Latitude e Longitude em graus decimais das amostras biológicas sequenciadas neste trabalho.

Espécie	Localidade	Estado	País	Latitude	Longitude
<i>T. amoipira</i>	Aracajú	Sergipe	Brasil	-10.9111	-37.0717
<i>T. brongersmianus</i>	Campo Alegre	Alagoas	Brasil	-9.7819	-36.3508
<i>T. brongersmianus</i>	Passo do Camaragibe	Alagoas	Brasil	-9.23833	-35.49333
<i>T. brongersmianus</i>	Barra do Choça	Bahia	Brasil	-14.8811	-40.5794
<i>T. brongersmianus</i>	Ilhéus	Bahia	Brasil	-14.7889	-39.0494
<i>T. brongersmianus</i>	Trancoso	Bahia	Brasil	-16.5833	-39.0833
<i>T. brongersmianus</i>	Ubajara	Ceará	Brasil	-3.8544	-40.9211
<i>T. brongersmianus</i>	Curuzú Cuatiá	Corrientes	Argentina	-29.0666	-58.6166
<i>T. brongersmianus</i>	Santo Tomé	Corrientes	Argentina	-28.09439	-56.68665
<i>T. brongersmianus</i>	Linhares	Espírito Santo	Brasil	-19.3911	-40.0722
<i>T. brongersmianus</i>	Carolina	Maranhão	Brasil	-7.3328	-47.4694
<i>T. brongersmianus</i>	Estreito	Maranhão	Brasil	-6.5606	-47.4511
<i>T. brongersmianus</i>	Campos de Julio	Mato Grosso	Brasil	-13.8994	-59.1475
<i>T. brongersmianus</i>	Cuiabá	Mato Grosso	Brasil	-15.5961	-56.0967
<i>T. brongersmianus</i>	Sapezal	Mato Grosso	Brasil	-12.9894	-58.7642
<i>T. brongersmianus</i>	Tesouro	Mato Grosso	Brasil	-16.0792	-53.5525
<i>T. brongersmianus</i>	Bataguaçu	Mato Grosso do Sul	Brasil	-21.7142	-52.4222
<i>T. brongersmianus</i>	Januária	Minas Gerais	Brasil	-15.4881	-44.3617
<i>T. brongersmianus</i>	Tasso Fragoso	Piauí	Brasil	-8.4753	-45.7428
<i>T. brongersmianus</i>	Uruçuí	Piauí	Brasil	-7.2333	-44.5500
<i>T. brongersmianus</i>	Kaieteur National Park	Potaro-Siparuni	Guiana	3.833	-59.55
<i>T. brongersmianus</i>	General. Obligado	Santa Fé	Argentina	-28.7312	-59.45315
<i>T. brongersmianus</i>	Novo Horizonte	São Paulo	Brasil	-21.4681	-49.2208
<i>T. brongersmianus</i>	Guaraí	Tocantins	Brasil	-8.8342	-48.5103
<i>T. brongersmianus</i>	Mateiros	Tocantins	Brasil	-10.5475	-46.4211
<i>T. brongersmianus</i>	Palmas	Tocantins	Brasil	-10.2128	-48.3603
<i>T. minusquamus</i>	Faro	Pará	Brasil	-2.1714	-56.7450
<i>T. minusquamus</i>	-	-	Guiana	5.540274	-59.314
<i>T. minusquamus</i>	Kaieteur National Park	Potaro-Siparuni	Guiana	5.216667	-59.4166
<i>T. paucisquamus</i>	Areia	Paraíba	Brasil	-6.9633	-35.6917
<i>T. paucisquamus</i>	Campo Alegre	Alagoas	Brasil	-6.9633	-35.6917
<i>T. reticulatus</i>	Caracarái	Roraima	Brasil	1.8161	-61.1281
<i>T. reticulatus</i>	Colniza	Mato Grosso	Brasil	-9.4092	-59.0250
<i>T. reticulatus</i>	Manaus	Amazonas	Brasil	-3.1019	-60.0250
<i>T. reticulatus</i>	Montenegro	Mato Grosso	Brasil	-10.2944	-63.3253
<i>T. reticulatus</i>	Paramakatoi	Potaro-Siparuni	Guiana	3.833	-59.55
<i>T. yonenagae</i>	Santo Inácio	Bahia	Brasil	-11.1144	-42.7192

Tabela 4: Código das amostras sequenciadas e seus voucher

Espécie	Amostra	Voucher
<i>T. amoipira</i>	TAM 144	MZUSP 17464
<i>T. amoipira</i>	TAM 145	MZUSP 17467
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 001	MZUSP 14235
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 002	MZUSP 14236
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 003	MZUSP 14237
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 004	MZUSP 14238
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 005	MZUSP 14239
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 006	MZUSP 14240
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 007	MZUSP 14241
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 008	MZUSP 14242
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 023	<i>FieldNumber</i> R6766
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 057	MZUSP 14695
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 058	MZUSP 14696
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 059	MZUSP 14697
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 065	<i>FieldNumber</i> UHEJ034
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 066	<i>FieldNumber</i> UHEJ040
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 067	<i>FieldNumber</i> UHEJ062
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 068	<i>FieldNumber</i> UHEJ076
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 069	<i>FieldNumber</i> UHEJ087
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 070	<i>FieldNumber</i> TE 09
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 071	<i>FieldNumber</i> TE 67
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 072	<i>FieldNumber</i> TE 81
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 073	<i>FieldNumber</i> 1836
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 074	<i>FieldNumber</i> 1837
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 076	<i>FieldNumber</i> DIH 03
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 077	<i>FieldNumber</i> DIH 04
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 080	<i>FieldNumber</i> ESTR 02254
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 088	<i>FieldNumber</i> ESTR00119
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 089	<i>FieldNumber</i> ESTR 01975
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 090	<i>FieldNumber</i> MTR 12060
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 094	<i>FieldNumber</i> MTR 12129
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 095	Sem Número
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 096	<i>FieldNumber</i> MRT 1881
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 097	<i>FieldNumber</i> MTR 13542
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 098	<i>FieldNumber</i> MTJ 0038
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 099	<i>FieldNumber</i> MTR 12082
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 100	<i>FieldNumber</i> RSNP 0100
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 101	<i>FieldNumber</i> RSNP 0101
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 102	<i>FieldNumber</i> RSNP 0099
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 105	MZUSP 17729
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 106	MZUSP 17730
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 107	MZUSP 17731
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 108	<i>FieldNumber</i> MRT 7319
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 112	MZUSP 17271
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 114	IB 76845
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 116	CHUNB 14584
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 118	CHUNB 41101
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 125	<i>FieldNumber</i> RG01

<i>T. brongersmianus</i>	TBR 128	UFMT6867
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 131	AMNH 141880
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 139	<i>FieldNumber</i> 1940 (1973)
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 140	<i>FieldNumber</i> 2307 (2340)
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 141	<i>FieldNumber</i> 12472 (A2908)
<i>T. brongersmianus</i>	TBR 186	<i>FieldNumber</i> DS 102
<i>T. minuisquamus</i>	TMU 127	MPEG23085
<i>T. minuisquamus</i>	TMU 130	AMNH 140972
<i>T. minuisquamus</i>	TMU 147	<i>FieldNumber</i> PK1401
<i>T. paucisquamus</i>	TPA 113	MZUSP 17289
<i>T. paucisquamus</i>	TPA 109	<i>FieldNumber</i> GAP266
<i>T. paucisquamus</i>	TPA 110	<i>FieldNumber</i> GAP253
<i>T. reticulatus</i>	TRE 148	<i>FieldNumber</i> UNIBAN 1456
<i>T. reticulatus</i>	TRE 158	ROM 28368
<i>T. reticulatus</i>	TRE 160	UFMT6233
<i>T. reticulatus</i>	TRE 189	<i>FieldNumber</i> Virua592
<i>T. yonenagae</i>	TRE 179	<i>FieldNumber</i> MTR11148
<i>T. lumbricalis</i>	TRE 146	<i>FieldNumber</i> kdq 1876

Tabela 5: Lista dos Primers utilizados para amplificação dos genes Citocromo Oxidase I e Citocromo b.

Gene	Primer	Sequência	Referência
<i>Col</i>	7580	5' GCATTYCCACGAATAAATAAYATRAG 3'	Desenvolvido neste estudo
	7582	5' CCTGTTGGAAAYTGCRATRATTAT 3'	Desenvolvido neste estudo
<i>Cytb</i>	7474	5' TCAAAYATCTCAACCTGATGAAAYTTYGG 3'	Desenvolvido neste estudo
	7575	5' GGCAAATAGGAAGTATCAYTCTGGYTT 3'	Desenvolvido neste estudo

Tabela 6: Lista das populações formadas baseadas nos domínios morfoclimáticos para ser testados na Análise de Variância Molecular (AMOVA) para o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I com seus respectivos grupos e localidades das populações.

Cenários	Grupos	Populações
Domínios Morfoclimáticos (Ab'Saber, 1977)	G1: Pampas	General Obligado-SF/ARG e S.Tomé-CR/ARG
	G2: Cerrado	Sapezal-MT/BRA, C.Julio-MT/BRA, Cuiabá-MT/BRA, Tesouro-MT/BRA, Mateiros-TO/BRA, Palmas-TO/BRA, Guarai-TO/BRA, Estreito-MA/BRA, Carolina-MA/BRA e Uruçuí-PI/BRA.
	G3: Floresta Atlântica	Linhares-ES/BRA, Nov. Horizonte-SP/BRA, Ilhéus-BA/BRA, B. Choça-BA/BRA, Trancoso-BA/BRA, C.Alegre-AL/BRA e P.Camaragibe-AL/BRA.
	G4: Terras baixas da Guiana	Kaieteur National Park/ Potaro-Siparuni/Guiana
	G5: Caatinga	Januária-MG/BRA e Ubajara-CE/BRA
Domínios Morfoclimáticos (Josse <i>et al.</i> , 2003)	G1: Pampas	General Obligado-SF/ARG e S.Tomé-CR/ARG
	G2: Cerrado	Sapezal-MT/BRA, C.Julio-MT/BRA, Cuiabá-MT/BRA, Tesouro-MT/BRA, Mateiros-TO/BRA, Palmas-TO/BRA,

	Guaraí-TO/BRA, Estreito-MA/BRA, Carolina-MA/BRA e Uruçuí-PI/BRA.
G3: Floresta Atlântica	Linhares-ES/BRA, Nov. Horizonte- SP/BRA, Ilhéus- BA/BRA, B. Choça- BA/BRA, Trancoso- BA/BRA e P.Camaragibe- AL/BRA
G4: Terras baixas da Guiana	Kaieteur National Park/ Potaro- Siparuni/Guiana
G5: Caatinga	Januária-MG/BRA e C. Alegre-AL/BRA
G6: Amazônia	Ubajara-CE/BRA

Tabela 7: Lista das populações formadas baseadas nas bacias hidrográficas para ser testadas na Análise de Variância Molecular (AMOVA) para o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I com seus respectivos grupos e localidades das populações.

Cenários	Grupos	Populações
Rios como barreira ao fluxo gênico 7 grupos	G1: Norte do Rio Amazonas	Kaieteur National Park/ Potaro-Siparuni/Guiana
	G2: Ao sudoeste, entre os Rios Paraguai e Paraná	General Obligado-SF/ARG e S.Tomé-CR/ARG
	G3: Entre o Rio São Francisco e Tocantins	Mateiros-TO/BRA, Palmas-TO/BRA, Guaraí-TO/BRA, Estreito-MA/BRA, Uruçuí-PI/BRA, C.Alegre-AL/BRA, Ubajara-CE/BRA, Carolina-MA/BRA e P.Camaragibe-AL/BRA e Januária-MG/BRA
	G4: Rio Paraná.	N. Horizonte-SP/BRA
	G5: Sul do Rio Amazonas, entre os Rios Paraguai, Paraná e Tocantins.	Sapezal-MT/BRA, C.Julio-MT/BRA, Cuiabá-MT/BRA e Tesouro-MT/BRA
	G6: Entre o Rio Doce e Rio Jequitinhonha	Linhares-ES/BRA e Trancoso-BA/BRA
	G7: Entre Rio das Contas e Rio Pardo	Ilhéus-BA/BRA e B. Choça-BA/BRA
6 grupos	G1: Norte do Rio Amazonas	Kaieteur National Park/ Potaro-Siparuni/Guiana
	G2: Ao sudoeste, entre os Rios Paraguai e Paraná	General Obligado-SF/ARG e S.Tomé-CR/ARG
	G3: Entre o Rio São Francisco e Tocantins	Mateiros-TO/BRA, Palmas-TO/BRA, Guaraí-TO/BRA, Estreito-MA/BRA, Uruçuí-PI/BRA, C.Alegre-AL/BRA, Ubajara-CE/BRA, Carolina-MA/BRA e P.Camaragibe-AL/BRA e Januária-MG/BRA
	G4: Rio Paraná.	N. Horizonte-SP/BRA
	G5: Sul do Rio Amazonas, entre os Rios Paraguai,	Sapezal-MT/BRA, C.Julio-MT/BRA,

	Paraná e Tocantins.	Cuiabá-MT/BRA e Tesouro-MT/BRA
	G6: Entre o Rio das Contas e Rio Doce	Linhares-ES/BRA, Trancoso-BA/BRA, Ilhéus-BA/BRA e B. Choça-BA/BRA
5 grupos	G1: Norte do Rio Amazonas	Kaieteur National Park/ Potaro-Siparuni/Guiana
	G2: Ao sudoeste, entre os Rios Paraguai e Paraná	General Obligado-SF/ARG e S.Tomé-CR/ARG
	G3: Entre o Rio São Francisco e Tocantins	Mateiros-TO/BRA, Palmas-TO/BRA, Guaraí-TO/BRA, Estreito-MA/BRA, Uruçuí-PI/BRA, C.Alegre-AL/BRA, Ubajara-CE/BRA, Carolina-MA/BRA e P.Camaragibe-AL/BRA e Januária-MG/BRA
	G4: Sul do Rio Amazonas, entre os Rios Paraguai, Paraná e Tocantins	Sapezal-MT/BRA, C.Julio-MT/BRA, Cuiabá-MT/BRA e Tesouro-MT/BRA
	G5: Entre o Rio São Francisco e Rio Paraná	Linhares-ES/BRA, Trancoso-BA/BRA, Ilhéus-BA/BRA, B. Choça-BA/BRA e N. Horizonte-SP/BRA

Tabela 8: Localidades dos grupos morfológicos utilizados para a MANOVAnp, sugeridos pela SAMOVA (K=7).

Sexo	Grupo	Localidade
Fêmeas		
	G1 (n=27)	BRASIL: Ilhéus/BA, João Pessoa/PB, Laje/BA, Rio Tinto/PB, São Francisco do Conde/BA, Sapiranga/BA, Uruçuca/BA, Anaurilândia/MS, Araçatuba/SP, Barretos/SP, Bataguáçu/MS, Ilha Solteira/SP, Indiaporã/SP, Pereira Barreto/SP, Primavera/SP, Santa Rita do Rio Pardo/MA, Três Lagoas/MS, Rio Pardo/MS
	G2 (n=1)	BRASIL: Trancoso/BA
	G3	BRASIL: Mateiros/TO, Palmas/TO, UHE Luiz Eduardo Magalhães/TO
	G4 (n=3)	BRASIL: Lucas do Rio Verde/MT
	G5 (n=8)	BRASIL: Linhares/ES, Volta Grande/MG
	G6 (n=18)	BRASIL: Ubajara/CE, Aguiarnópolis/TO, Aripuanã/MT, Corumbá/MS, Guarai/TO, UHE Manso/MT. PARAGUAI: Baía de Assunción/Assunción
	G7 (n=15)	BRASIL: Campo Grande/MS, PCH Mosquitão/GO, PCH Santa Edwirges/GO, Petrolina de Goiás/GO, Ribas do Rio Pardo/MS, Rio Verde/GO, Serra da Mesa/GO, UHE Corumbá/GO
Machos		
	G1 (n=33)	BRASIL: Bataguáçu/MS, Brasilândia/MS, Santa Rita do Rio Pardo/MS, Três Lagoas/MS, Cachoeira de Emas/SP, Ilha Solteira/SP, Indiaporã/SP, Campo Alegre/AL, Passo do Camaragibe/AL, Ilhéus/BA, João Pessoa/PB, Rio Tinto/PB
	G2(n=0)	-
	G3 (n=6)	BRASIL: Mateiros/TO, Palmas/TO, UHE Luiz Eduardo Magalhães/TO
	G4 (n=2)	BRASIL: Sapezal/MT
	G5 (n=3)	BRASIL: São Matheus/ES, Vitória/ES, Resplendor/MG
	G6 (n=24)	BRASIL: Ubajara/CE, Aguiarnópolis/TO, Aripuanã/MT, Corumbá/MS, Guarai/TO, UHE Manso/MT, Cáceres/MT, Alcântara/MA, Arroio Teixeira/RS, Capão da Canoa/RS, Terra de Areia/RS, Florianópolis/SC. PARAGUAI: Baía de Assunción/Assunción
	G7 (n=15)	BRASIL: Petrolina de Goiás/GO, PCH Mosquitão/GO

Tabela 9: Valores estatísticos da MANOVA para os agrupamentos sugeridos por Dixon e Hendrix (1979) e pela SAMOVA.

Populações	Desvio Padrão	Soma dos Quadrados	F	R²	p
Populações sugeridas por Dixon e Hendrix (1979)					
Sexo	1,00000	70,13189	16,13313	0,1024	0,0001
Localidade	1,00000	30,98853	7,12860	0,0452	0,0001
Sexo/Localidade	1,00000	1,37169	0,31554	0,0020	0,8426
de					
Resíduos	134,00000	582,50789		0,8504	
Total	137,00000	685,00000		1,0000	
Grupos Sugeridos pela SAMOVA					
Fêmeas	5,0000	44,7216	1,5483	0,105	0,074
Resíduos	66,0000	381,2784		0,895	
Total	71,0000	426,0000		1,000	
Machos	5,0000	73,4069	2,5865	0,088	5e ⁻⁰⁴
Resíduos	134,0000	760,5931		0,912	
Total	139,0000	834,0000		1,000	

Tabela 10: Valores estatísticos da MANOVAmp para as unidades taxonômicas.

Sexo	Desvio Padrão	Soma dos Quadrados	F	R²	p
Fêmeas	6.0000	525.8953	28.5201	0.6382	1e ⁻⁰⁴
Resíduos	97.0000	298.1047		0.3618	
Total	103.0000	824.0000		1.0000	
Machos	5.0000	549.3135	35.4081	0.6382	1e ⁻⁰⁴
Resíduos	104.0000	322.6865		0.3618	
Total	109.0000	872.0000		1.0000	

Tabela 11: Comparação da variação dos valores de foliose para espécies do gênero *Typhlops* que possuem distribuição na América do Sul. (Medidas do SVL e CR em mm).

Espécie	N	Sutura Nasal	SL	IL	EV	ED	SC	SVL	TL	Referência
<i>T. amoipira</i>	9	Incompleta	4/4	3/3	194-240	193-231	8-11	126,1-212	3,38-5,31	Este Trabalho
<i>T. brongersmianus</i>	219	Incompleta	4/4	3/3	193-274	193-269	6-15	84,4-358,4	2,5-11,53	Este Trabalho
<i>T. minusquamus</i>	18	Incompleta	4/4	3/3	186-239	184-249	8-13	208-401	5-11,5	Este Trabalho
<i>T. paucisquamus</i>	20	Incompleta	4/4	3/3	169-204	151-202	8-13	105,53-187	3,21-6,1	Este Trabalho
<i>T. paucisquamus</i> (Areia/PB)	19	Incompleta	4/4	3/3	196-215	194-217	8-13	169,29-286,9	4,43-7,19	Este Trabalho
<i>T. reticulatus</i>	25	Incompleta	4/4	3/3	211-273	219-273	10-14	140-435	3-15	Este Trabalho
<i>T. yonenagae</i>	7	Incompleta	4/4	3/3	247-260	246-265	9-13	102-193	2,87-5,85	Este Trabalho
<i>T. trinitatus</i>	1	Completa	4/4	-	-	389	10	240	3	Dixon e Hendrix, 1979. Richmond, 1965
<i>T. lehneri</i>	11	Completa	4/4	-	-	289-337	7-14	115-185	1,4-2,0	Dixon e Hendrix, 1979. Roux, 1926.

Tabela 12: Lista de Haplótipos incluindo as amostras sequenciadas com suas respectivas localidades para os genes mitocondriais Citocromo Oxidase I, Citocromo b e genes concatenados.

ID	Localidades	H (CoI)	H (Cytb)	H Concatenados (CoI+Cytb)
Tbr 001	Ilhéus/BA	CoIH1	CybH1	C.H1
Tbr 002	Ilhéus/BA	CoIH1	CybH2	C.H2
Tbr 003	Ilhéus/BA	CoIH1	CybH3	C.H3
Tbr 004	Ilhéus/BA	CoIH1	CybH3	C.H3
Tbr 005	Ilhéus/BA	CoIH1	CybH3	C.H3
Tbr 006	Ilhéus/BA	CoIH1	CybH4	C.H4
Tbr 007	Ilhéus/BA	CoIH2	CybH3	C.H5
Tbr 008	Ilhéus/BA	CoIH1	CybH3	C.H3
Tbr 023	Bataguçu/MT	-	CybH5	-
Tbr 057	Ilhéus/BA	CoIH3	CybH6	C.H6
Tbr 065	Sapezal/MT	CoIH4	CybH7	C.H7
Tbr 067	Sapezal/MT	CoIH6	CybH8	C.H8
Tbr 068	Sapezal/MT	CoIH5	CybH9	C.H9
Tbr 069	Sapezal/MT	CoIH7	CybH8	C.H10
Tbr 070	Tesouro/MT	CoIH8	CybH10	C.H11
Tbr 071	Tesouro/MT	CoIH9	CybH10	C.H12
Tbr 072	Tesouro/MT	CoIH9	CybH10	C.H12
Tbr 074	Sapezal/MT	CoIH10	-	-
Tbr 076	Campos de Júlio/MT	CoIH11	CybH11	C.H13
Tbr 077	Campos de Júlio/MT	CoIH12	-	-
Tbr 080	Estreito/MA	CoIH13	CybH12	C.H14
Tbr 088	Carolina/MA	CoIH14	CybH13	C.H15
Tbr 089	Estreito/MA	CoIH13	-	-

Tbr 090	Linhares/ES	CoIH15	CybH14	C.H16
Tbr 094	Linhares/ES	CoIH16	CybH14	C.H17
Tbr 095	Palmas/TO	CoIH17	CybH15	C.H18
Tbr 096	Uruçuí/PI	CoIH18	CybH16	C.H19
Tbr 097	Trancoso/BA	CoIH19	CybH17	C.H20
Tbr 098	Januária/MG	CoIH20	CybH18	C.H21
Tbr 099	Linhares/ES	CoIH16	-	-
Tbr 100	Novo Horizonte/SP	CoIH1	CybH19	C.H22
Tbr 101	Novo Horizonte/SP	CoIH1	CybH19	C.H22
Tbr 102	Novo Horizonte/SP	-	CybH19	-
Tbr 105	Passo do Camaragibe/AL	-	CybH20	-
Tbr 106	Passo do Camaragibe/AL	CoIH21	-	-
Tbr 107	Passo do Camaragibe/AL	CoIH21	CybH20	C.H23
Tbr 108	Guaraí/TO	CoIH22	-	-
Tbr 112	Campo Alegre/AL	CoIH23	-	-
Tbr 114	Ubajara/CE	CoIH24	CybH21	C.H24
Tbr 116	Palmas/TO	CoIH25	CybH15	C.H25
Tbr 118	Mateiros/TO	CoIH25	CybH22	C.H26
Tbr 125	Barra do Choça/BA	CoIH1	CybH6	C.H27
Tbr 128	Cuiabá/MT	CoIH26	CybH23	C.H28
Tbr 131	Guiana	CoIH27	-	-
Tbr 139	Curuzú Cotiá/Corrientes/ARG	-	CybH24	-
Tbr 140	General Obligado/Santa Fé/ARG	CoIH28	-	-
Tbr 141	Santo Tomé/Corrientes/ARG	CoIH29	CybH25	C.H29

Tabela 13: Resultados da Análise de Variância Molecular (AMOVA) para o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I, apresentando para dois cenários testados: Domínios Morfoclimáticos e Bacias Hidrográficas.

Cénarios	Grupos (K)/População	Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	Porcentagem da Variância	Φ	<i>p</i>
Domínios Morfoclimáticos (Ab'Saber, 1977)	5 grupos/21 populações	Entre Grupos	4	54,41	12,64	$F_{CT}:0,12$	0,06
		Entre Populações/Grupos	17	150,16	71,29	$F_{ST}:0,83$	0,00
		Dentro das Populações	22	20,44	16,07	$F_{SC}:0,81$	0,00
(Josse <i>et al.</i> , 2003)	6 grupos/21 populações	Entre Grupos	5	55,24	8,17	$F_{CT}:0,08$	0,16
		Entre Populações/Grupos	16	149,33	75,48	$F_{ST}:0,83$	0,00
		Dentro das Populações	22	20,44	16,35	$F_{SC}:0,82$	0,00
Rios como Barreiras ao Fluxo Génico.	7 grupos/21 populações	Entre Grupos	6	83,34	1,5	$F_{CT}:0,01$	0,39
		Entre Populações/Grupos	15	121,23	81,70	$F_{ST}:0,83$	0,00

	Dentro das Populações	22	20,44	16,75	Fsc:0,82	0,00
6 Grupos/21 Populações	Entre Grupos	6	83,34	1,55	F _{CT} : 0,01	0,36
	Entre Populações/Grupos	15	121,23	81,70	Fst:0,83	0,00
	Dentro das Populações	22	20,44	16,75	Fsc:0,82	0,00
5 Grupos/21 Populações	Entre Grupos	4	57,77	6,74	F _{CT} : 0,06	0,19
	Entre Populações/Grupos	17	146,80	76,73	Fst:0,83	0,00
	Dentro das Populações	22	20,44	16,53	Fsc:0,82	0,00

Tabela 14: Resultados da Análise de Variância Molecular (AMOVA) para o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I para o agrupamento K=7 sugerido pela SAMOVA.

Cénarios	Grupos (K)/População	Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	Porcentagem da Variância	Φ	<i>p</i>
Grupos sugeridos pela SAMOVA (K=7)	7 Grupos/21 Populações	Entre Grupos	6	161,77	61,23	$F_{CT}: 0,61$	0,00
		Entre Populações/Grupos	15	46,67	24,52	$F_{ST}: 0,85$	0,00
		Dentro das Populações	24	20,48	14,25	$F_{SC}: 0,63$	0,00

Tabela 15: Lista das populações formadas baseadas nos agrupamentos sugeridos pela SAMOVA para o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I com seus respectivos grupos e localidades das populações.

Cenários	Grupos	Populações
SAMOVA (K=7)	K1	Ilhéus-BA/BRA, B. Choça-BA/BRA, P.Camaragibe-AL/BRA, C. Alegre-AL/BRA e N. Horizonte-SP/BRA
	K2	Trancoso-BA/BRA
	K3	Palmas-TO/BRA e Mateiros-TO/BRA
	K4	Sapezal-MT/BRA
	K5	Linhares-ES/BRA
	K6	C.Julio-MT/BRA, Cuiabá-MT/BRA, Kaieteur National Park/ Potaro-Siparuni/Guiana, General Obligado-SF/ARG, S.Tomé-CR/ARG, Ubajara-CE/BRA, Estreito-MA/BRA, Guarai-TO/BRA e Carolina-MA/BRA
	K7	Tesouro-MT/BRA, Januária-MG/BRA e Uruçuí-PI/BRA

Tabela 16: Índices de diversidade genética e resultados dos testes de neutralidade para os genes mitocondriais Citocromo Oxidase I, Citocromo b e genes concatenados.

Gene	H	pb	N	% π (SD)	% <i>Hd</i> (SD)	D de Tajima	D de Fu e Li	F de Fu e Li	Fs de Fu
<i>CoI</i>	29	476	44	2 (0,1)	94,6 (2,6)	- 1,17	- 1,31	- 1,51	- 8,69
<i>Cytb</i>	25	344	38	2 (0,2)	97 (1,4)	-1,19	- 1,69	- 1,82	- 8,70
Concatenados	29	857	34	2 (0,2)	98 (1,3)	-1,19	-1,84	-1,95	- 7,34

H: Número de Haplótipos, pb: Pares de Bases, N: Número de Indivíduos Sequenciados, π : Diversidade Nucleotídica, *Hd*: Diversidade Haplótipica. Valores marcados em negrito apresentam $p=0,01$

7.3: ANEXO III

Legenda das Figuras

Figura 1: Exemplos do gênero *Typhlops*. A) Exemplo de *Typhlops brongersmianus* (Foto: Rafael Balestrin) B) Exemplo de *Typhlops reticulatus*. (Foto: Ina Cavlac).

Figura 2: Distribuição de *Typhlops brongersmianus* segundo Dixon e Hendrix (1979) representada pelos triângulos na cor marrom. Os círculos em azul claro representam os pontos observados neste estudo.

Figura 3: Distribuição dos exemplos que foram utilizados para as análises morfológicas. Quadrado azul: *Typhlops brongersmianus*, círculo cinza: *Typhlops reticulatus*, círculo verde: *Typhlops minuisquamus*, círculo laranja: *Typhlops amoipira*, círculo marrom: *Typhlops paucisquamus* e círculo preto: *Typhlops yonenagae*.

Figura 4: Distribuição das amostras sequenciadas. Quadrado azul: *Typhlops brongersmianus*, círculo cinza: *Typhlops reticulatus*, círculo verde: *Typhlops minuisquamus*, círculo laranja: *Typhlops amoipira*, círculos marrom: *Typhlops paucisquamus* e círculo preto: *Typhlops yonenagae*.

Figura 5: Gráfico da relação TL x SVL para machos e fêmeas.

Figura 6: Gráfico da relação TL x SVL para população leste e oeste. A) Machos e B) Fêmeas.

Figura 7: *Boxplot* das contagens das escamas dorsais entre machos e fêmeas para as populações leste e oeste.

Figura 8: *Boxplot* das contagens das escamas ventrais entre machos e fêmeas para as populações leste e oeste.

Figura 9: *Boxplot* das contagens das escamas subcaudais entre machos e fêmeas para as populações leste e oeste.

Figura 10: Gráfico da relação do número de escamas dorsais x ventrais para população leste e oeste.

Figura 11: Representação dos agrupamentos formados com as amostras analisadas morfológicamente baseadas na sobreposição dos polígonos formados pela SAMOVA no mapa de distribuição. Os sete grupos formados estão indicados na figura.

Figura 12: Gráfico de dispersão 1^o Coordenada Principal x 2^o Coordenada Principal para as populações sugeridas por Dixon e Hendrix (1979). A) Fêmeas e B) Machos.

Figura 13: Gráfico de dispersão 1^o Coordenada Principal x 2^o Coordenada Principal para os agrupamentos sugeridos pela SAMOVA. A) Fêmeas e B) Machos. Cada símbolo (1-7) representa um grupo formado pela SAMOVA.

Figura 14: Gráfico de dispersão 1^o Coordenada Principal x 2^o Coordenada Principal para as unidades taxômicas. A) Machos e B) Fêmeas.

Figura 15: Sutura nasal de dois exemplares de *Typhlops*. A) sutura nasal completa (*Typhlops lehneri*) B) sutura nasal incompleta (*Typhlops brongersmianus*). Figura modificada de Dixon e Hendrix, 1979.

Figura 16: Gráfico de variação das contagens das escamas dorsais com as médias para as espécies analisadas.

Figura 17: Gráfico de variação das contagens das escamas ventrais com as médias para as espécies analisadas.

Figura 18: Representação do corpo das espécies, divididos em porção anterior, meio e posterior. As porcentagens representam as frequências dos indivíduos para cada classe de número de fileiras de escamas.

Figura 19: Rede de Haplótipos para o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I. Grupo 1: Preto, Grupo 2: Azul, Grupo 3: Vermelho, Grupo 4: Verde Oliva, Grupo 5: Azul Claro, Grupo 6: Laranja, Grupo 7: Verde, Grupo 8: Amarelo e Grupo 9: Rosa.

Figura 20: Rede de Haplótipos para o gene mitocondrial Citocromo b. Grupo 1: Preto, Grupo 2: Azul, Grupo 3: Vermelho, Grupo 4: Verde Oliva, Grupo 5: Cinza, Grupo 6: Azul Claro, Grupo 7: Laranja, Grupo 8: Verde, Grupo 9: Amarelo e Grupo 10: Rosa.

Figura 21: Rede de Haplótipos para os genes mitocondriais concatenados (Citocromo Oxidase I + Citocromo b). Grupo 1: Preto, Grupo 2: Azul, Grupo 3: Vermelho, Grupo 4:

Verde Oliva, Grupo 5: Marrom, Grupo 6: Azul Claro, Grupo 7: Laranja, Grupo 8: Verde, Grupo9: Amarelo e Grupo 10: Rosa.

Figura 22: Haplótipos do gene Mitocondrial Citocromo Oxidase I plotados no mapa. Grupo 1: Preto, Grupo 2: Azul, Grupo 3: Vermelho, Grupo 4: Verde Oliva, Grupo 5: Cinza, Grupo 6: Azul Claro, Grupo 7: Laranja, Grupo 8: Verde, Grupo9: Amarelo e Grupo 10: Rosa.

Figura 23: Haplótipos do gene Mitocondrial Citocromo b plotados no mapa. Grupo 1: Preto, Grupo 2: Azul, Grupo 3: Vermelho, Grupo 4: Verde Oliva, Grupo 5: Cinza, Grupo 6: Azul Claro, Grupo 7: Laranja, Grupo 8: Verde, Grupo9: Amarelo e Grupo 10: Rosa.

Figura 24: Haplótipos dos genes Mitocondriais concatenados plotados no mapa. (Citocromo b e Citocromo Oxidase I). Grupo 1: Preto, Grupo 2: Azul, Grupo 3: Vermelho, Grupo 4: Verde Oliva, Grupo 5: Marrom, Grupo 6: Azul Claro, Grupo 7: Laranja, Grupo 8: Verde, Grupo9: Amarelo e Grupo 10: Rosa.

Figura 25: *Mismatch distribution*. A) Gene Mitocondrial Citocromo Oxidase I. B) Gene Mitocondrial Citocromo b. C) Genes Mitocondriais concatenados (Citocromo Oxidase I e Citocromo b).

Figura 26: Gráfico da distância genética x distância geográfica para o gene Mitocondrial Citocromo Oxidase I.

Figura 27: Gráfico da distância genética x distância geográfica para o gene Mitocondrial Citocromo b.

Figura 28: Árvore Bayesiana dos genes concatenados com valores de suporte da probabilidade posterior (acima do clado) e *Bootstrap* (abaixo do clado) Clados marcados com * possuem suportes de probabilidade posterior inferiores a 0,85 e *Bootstrap* inferior a 70% e não são representados na figura. Clados com # não recuperou na parcimônia.

Figura 29: Árvore Bayesiana dos genes concatenados com valores de suporte da probabilidade posterior (acima do clado) Clados com suportes inferiores a 0,85 não são representados na figura. Grupo 1: Rosa, Grupo 2: Verde Oliva, Grupo 3: Verde, Grupo 4: Vermelho, Grupo 5: Laranja, Grupo 6: Azul Claro, Grupo 7: Amarelo, Grupo 8: Azul, Grupo 9: Preto.

Figura 30: Representação da árvore filogenética, a qual está sobreposta ao mapa de distribuição dos grupos definidos pelos principais clados. Grupo 1: Rosa, Grupo 2: Verde Oliva, Grupo 3: Verde, Grupo 4: Vermelho, Grupo 5: Laranja, Grupo 6: Azul Claro, Grupo 7: Amarelo, Grupo 8: Azul, Grupo 9: Preto.

Figura 31: Análise de Saturação: Gráfico mostrando as frequências de transições (vermelho) e transversões (azul) em relação a distância genética para o gene Citocromo Oxidase I. A) primeira posição do códon. B) segunda posição do códon. C) terceira posição do códon.

Figura 32: Análise de Saturação: Gráfico mostrando as frequências de transições (vermelho) e transversões (azul) em relação a distância genética para o gene Citocromo b. A) primeira posição do códon. B) segunda posição do códon. C) terceira posição do códon.



Figura 1



Figura 2

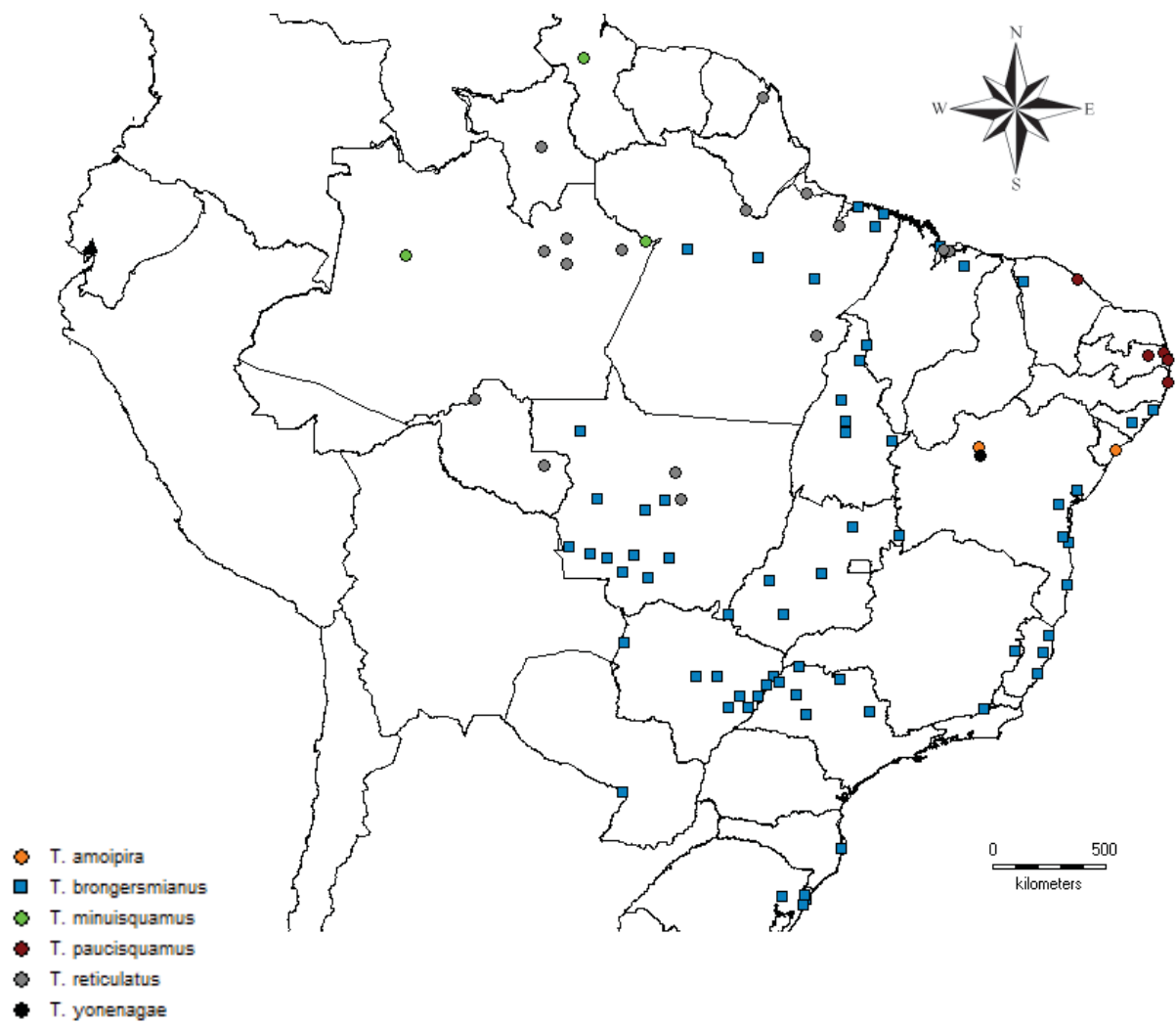


Figura 3

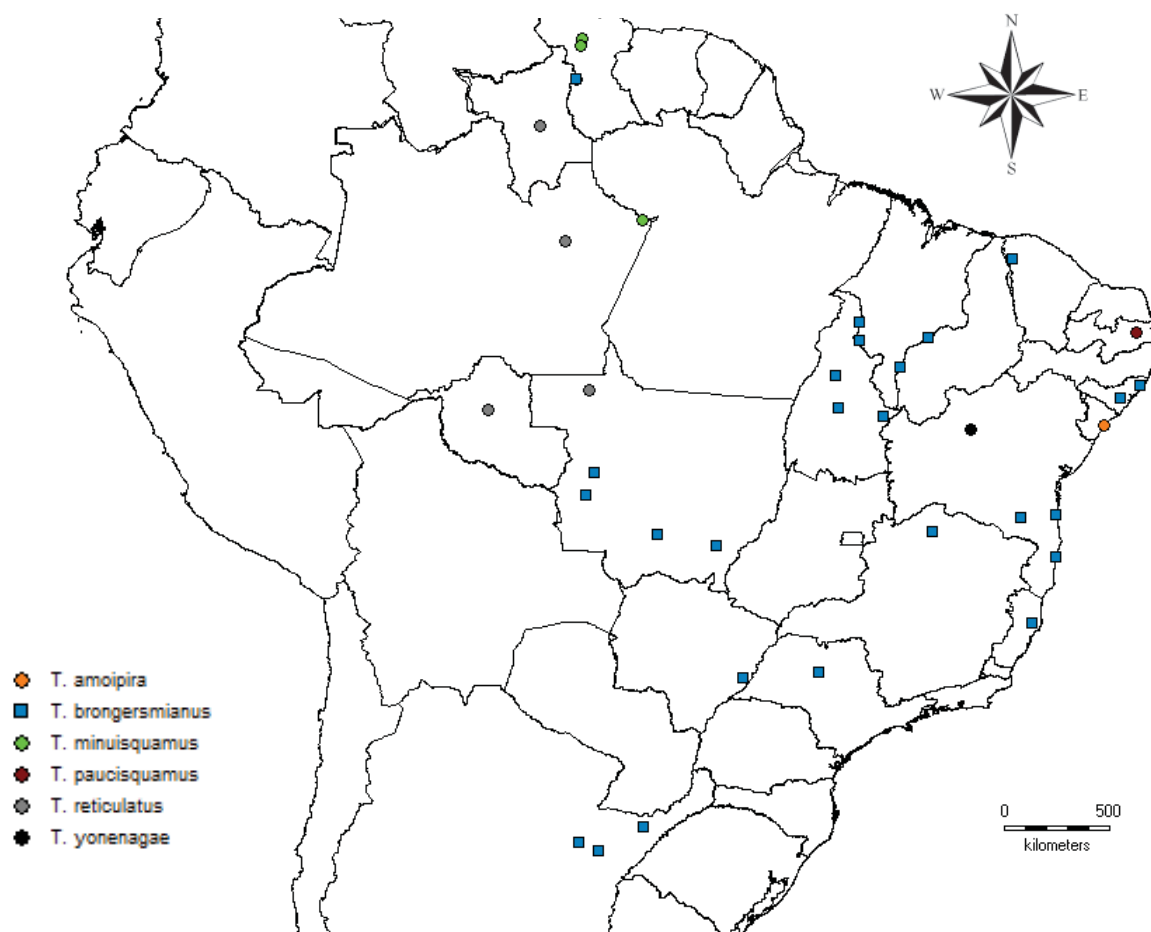
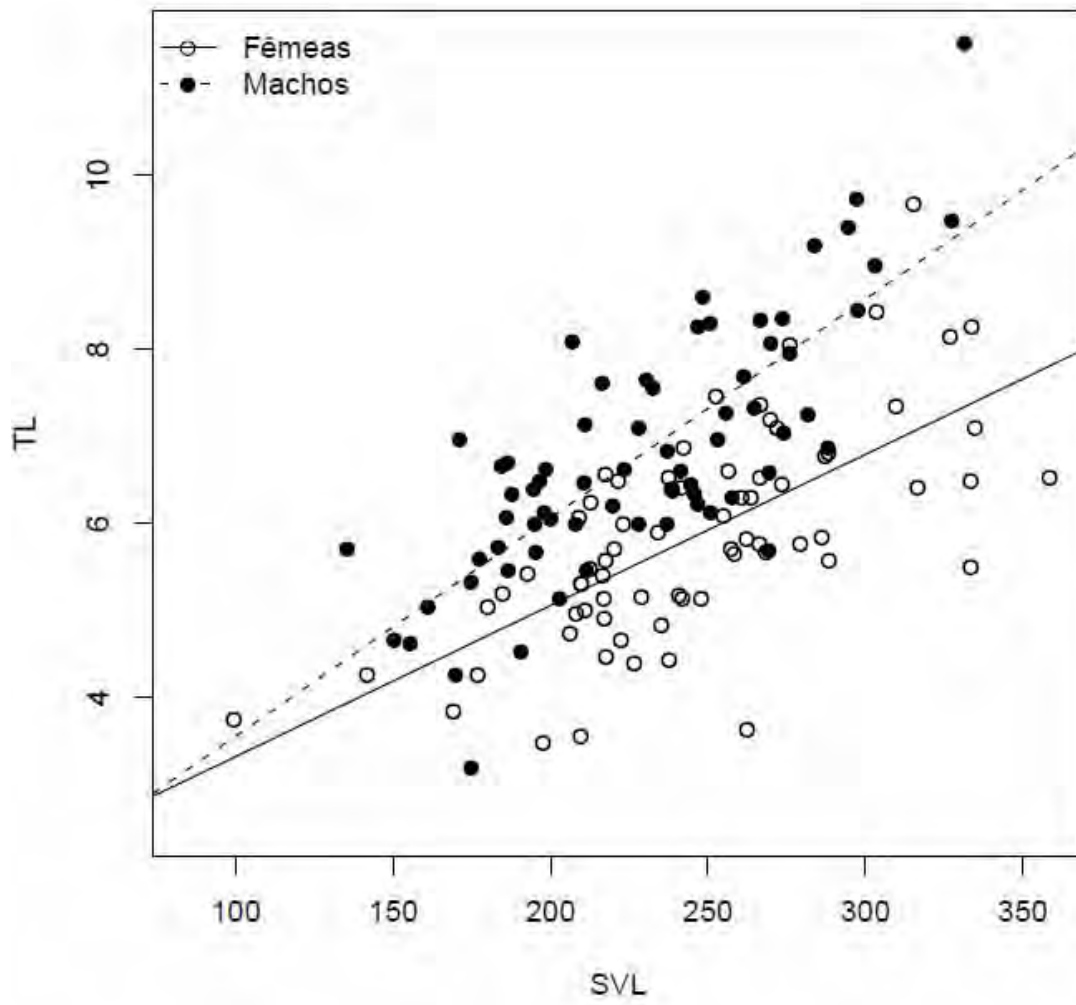
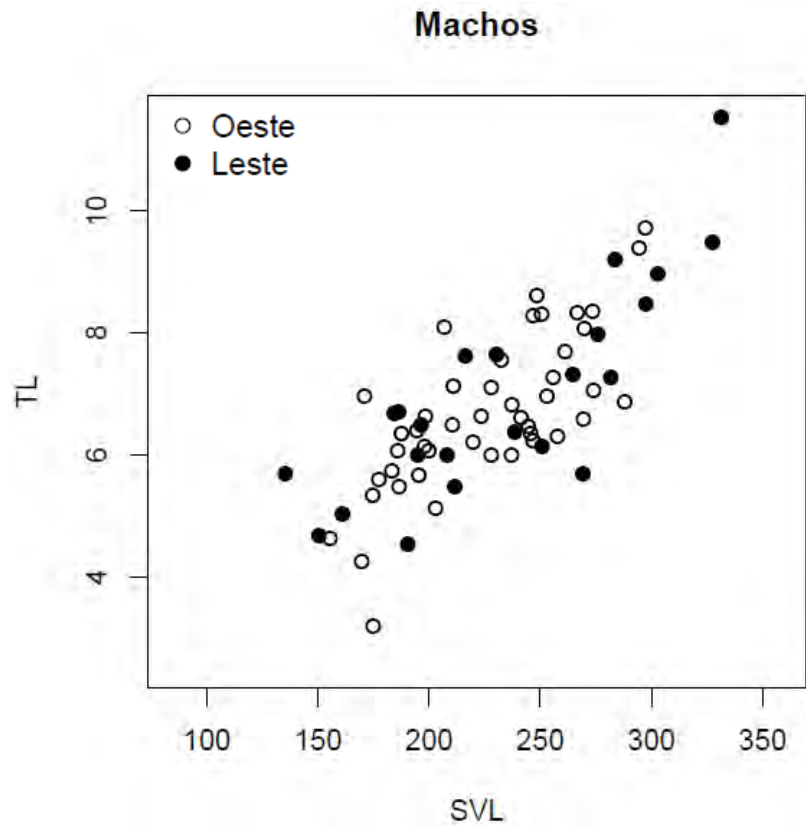


Figura 4

**Figura 5**

A



B

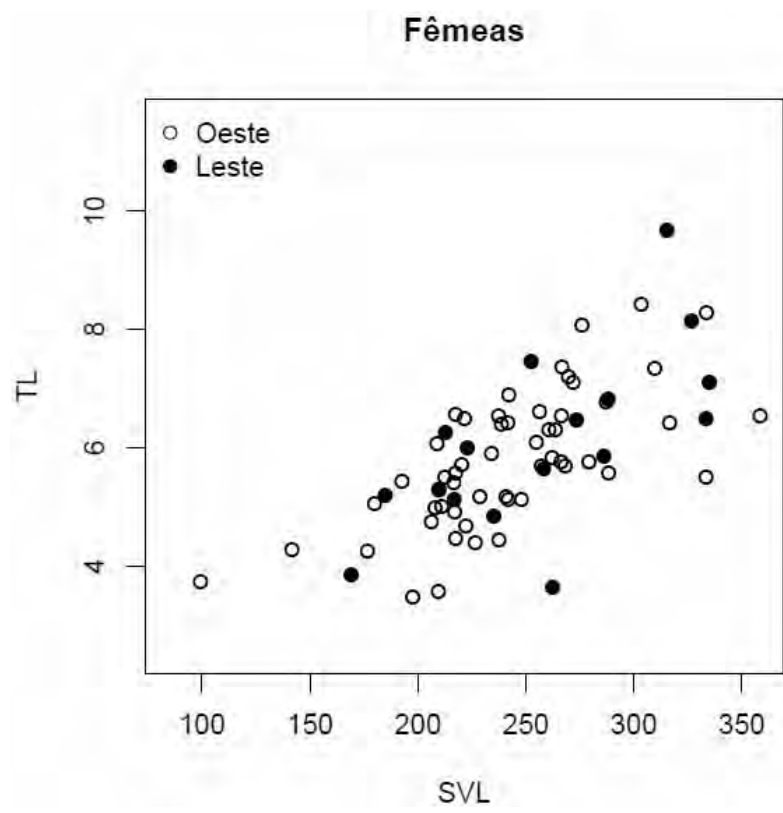


Figura 6

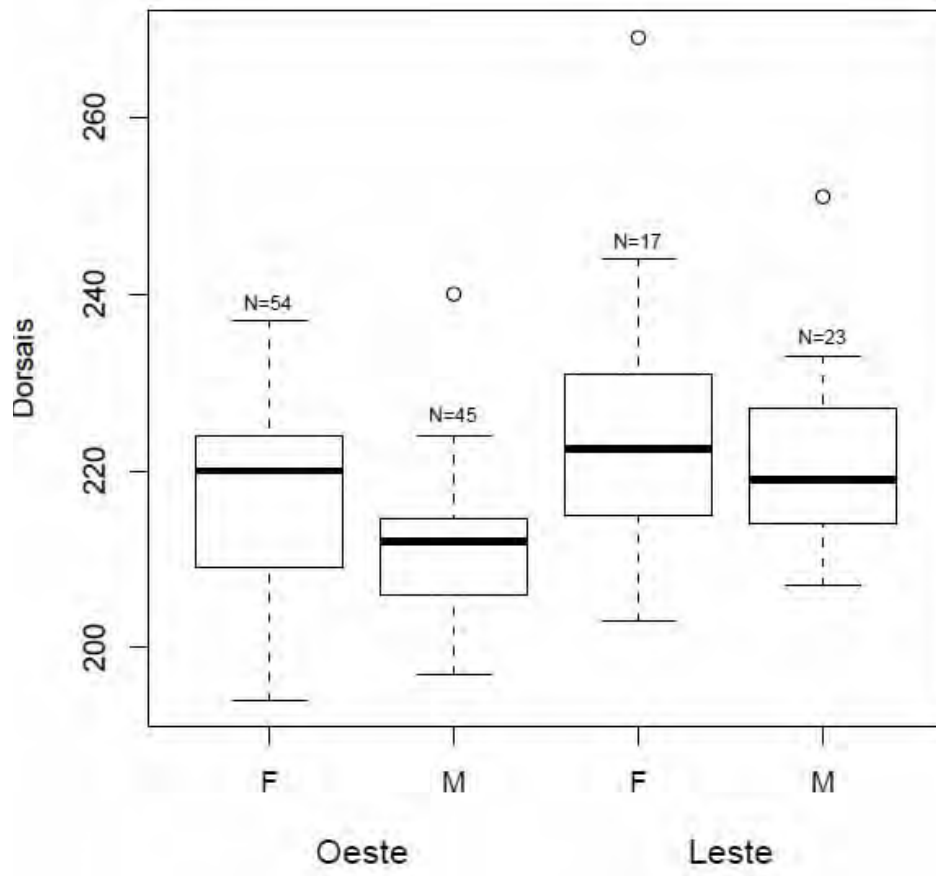


Figura 7

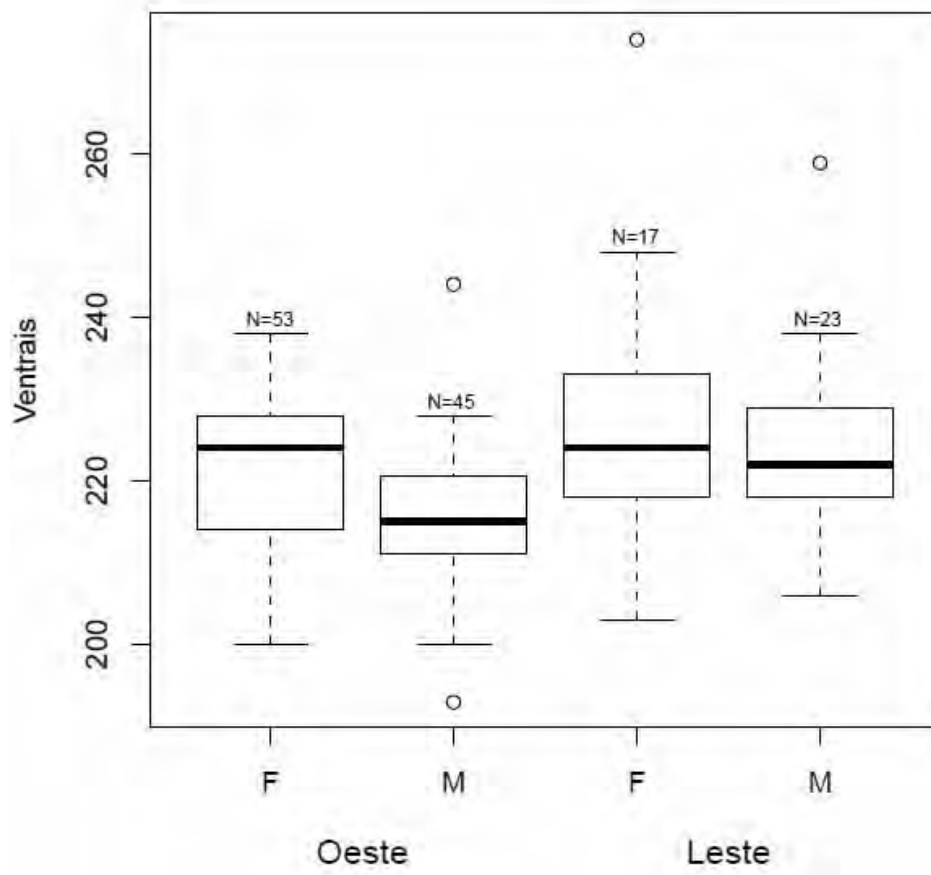


Figura 8

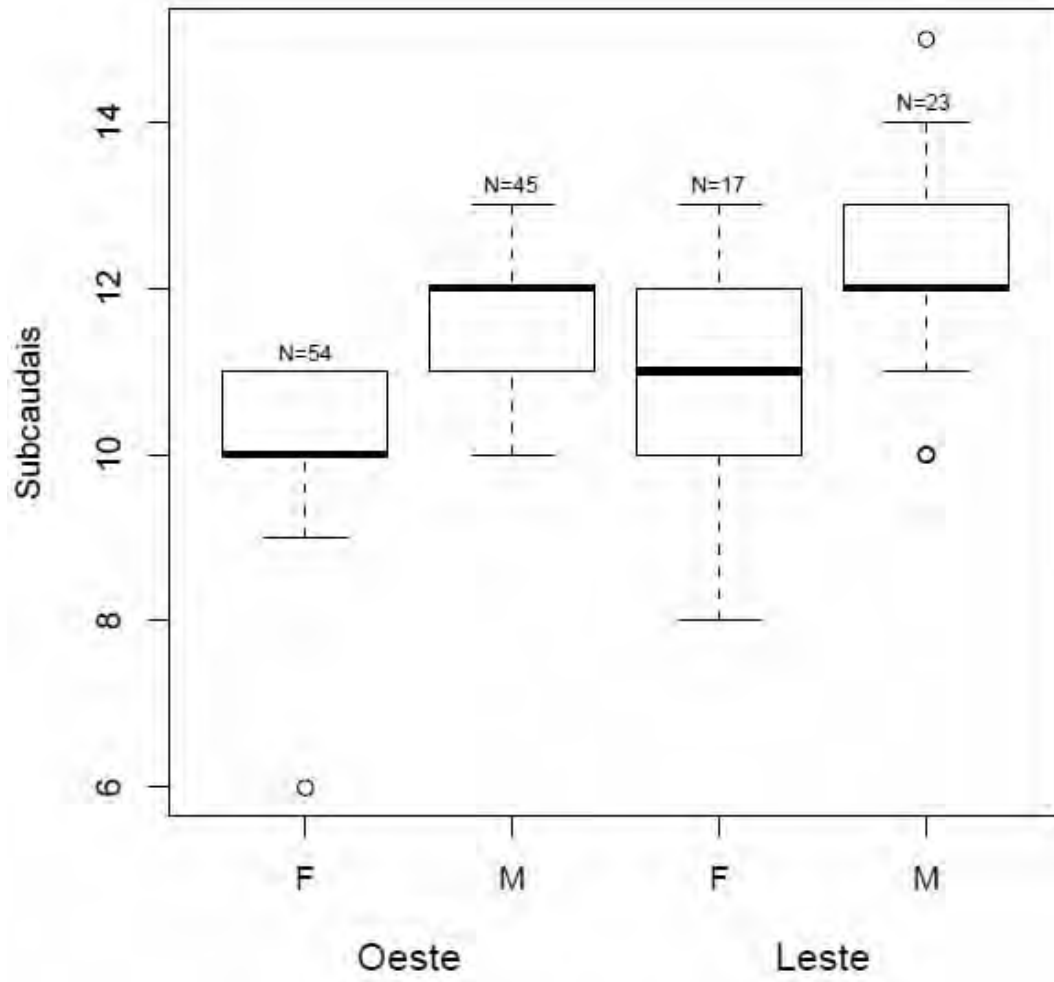


Figura 9

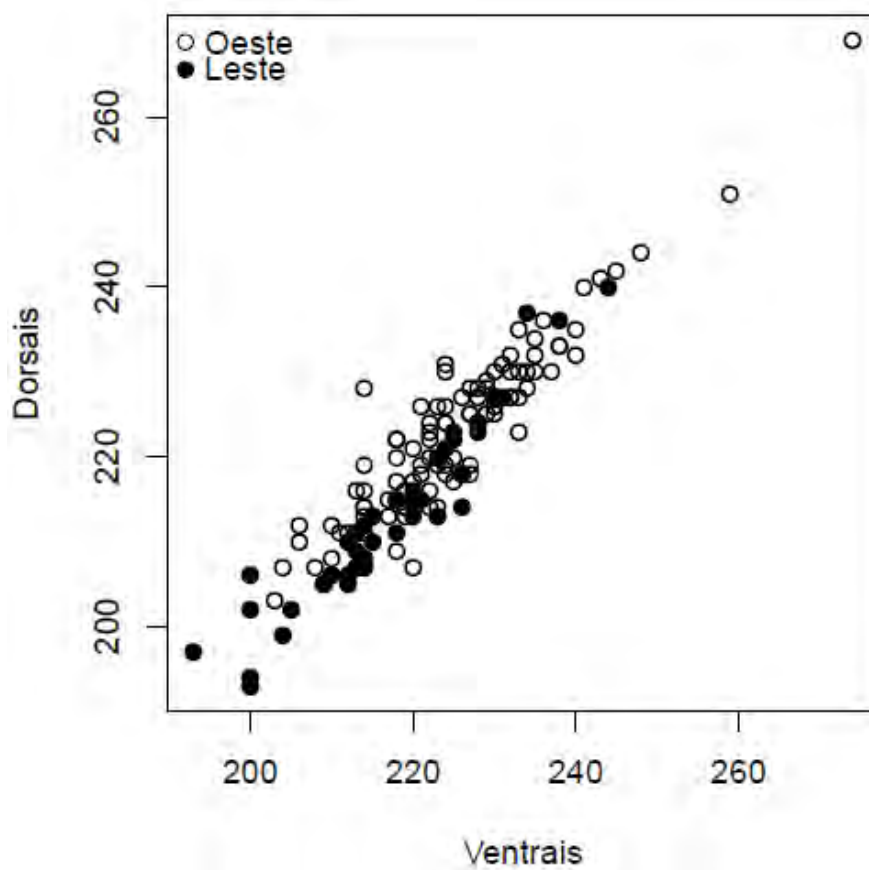


Figura 10

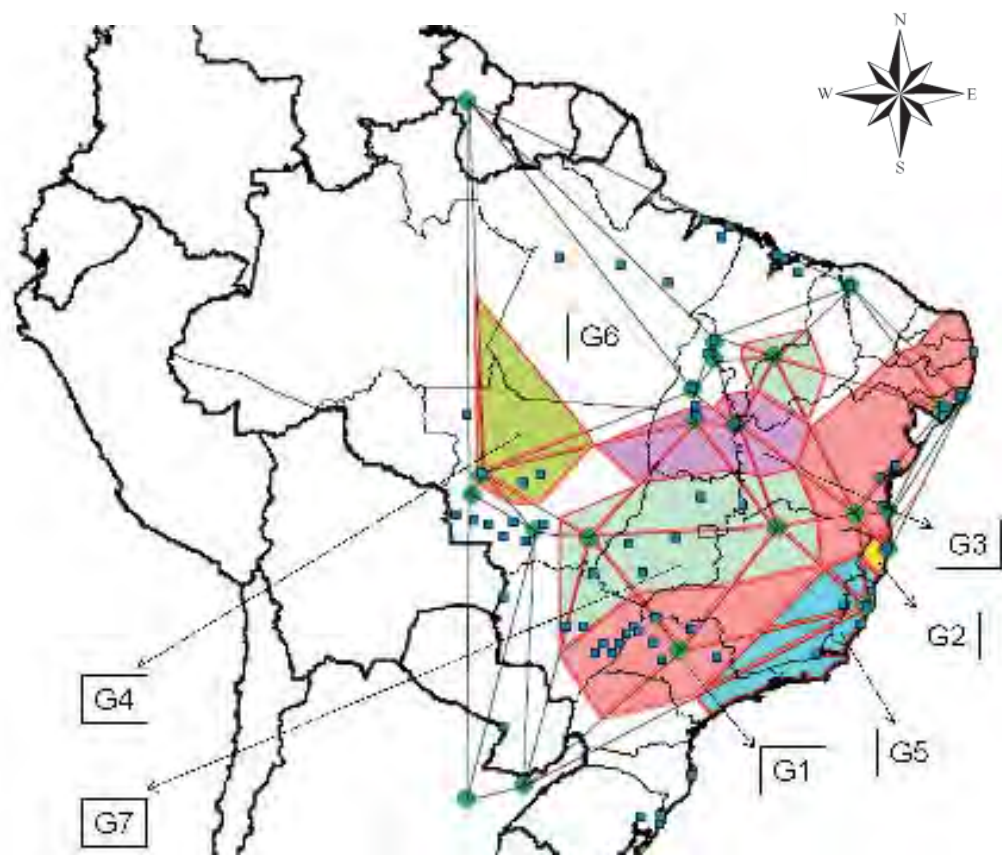


Figura 11

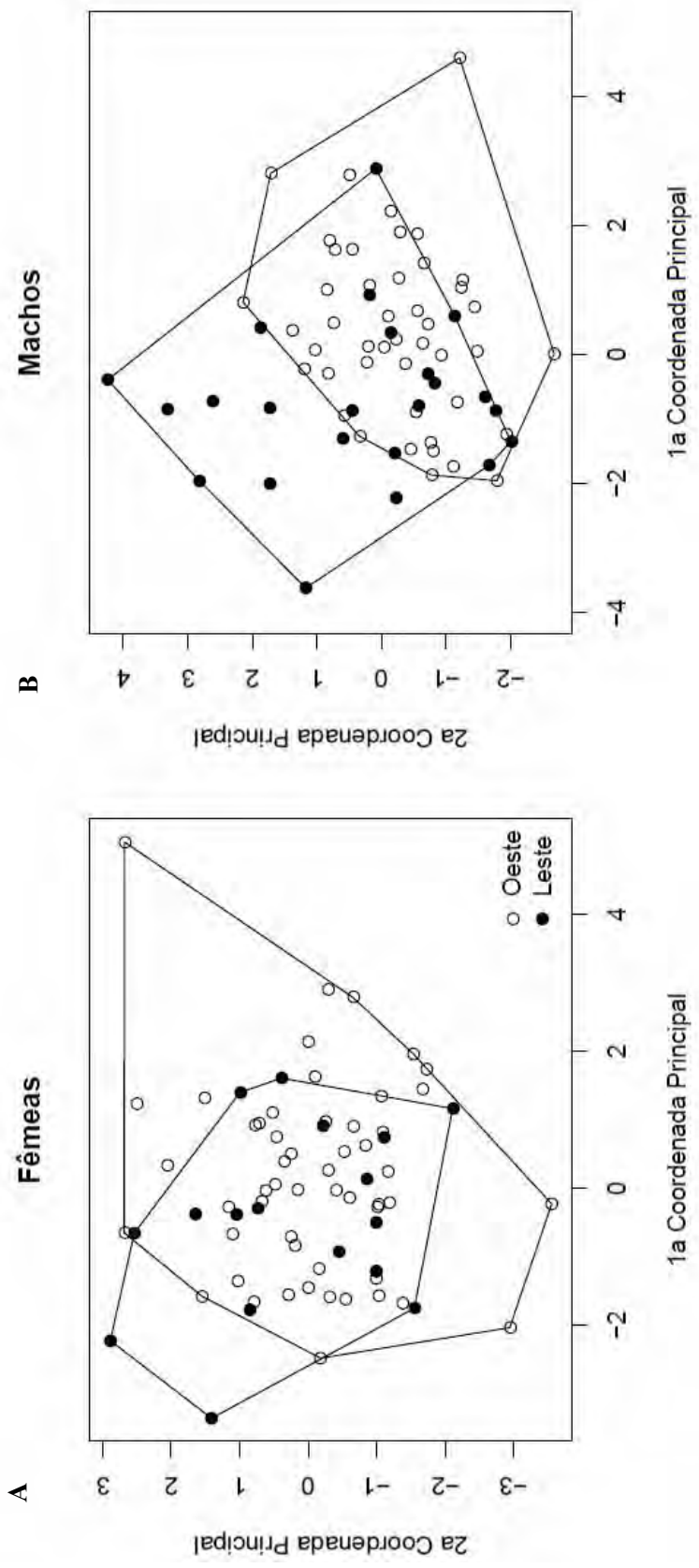


Figura 12

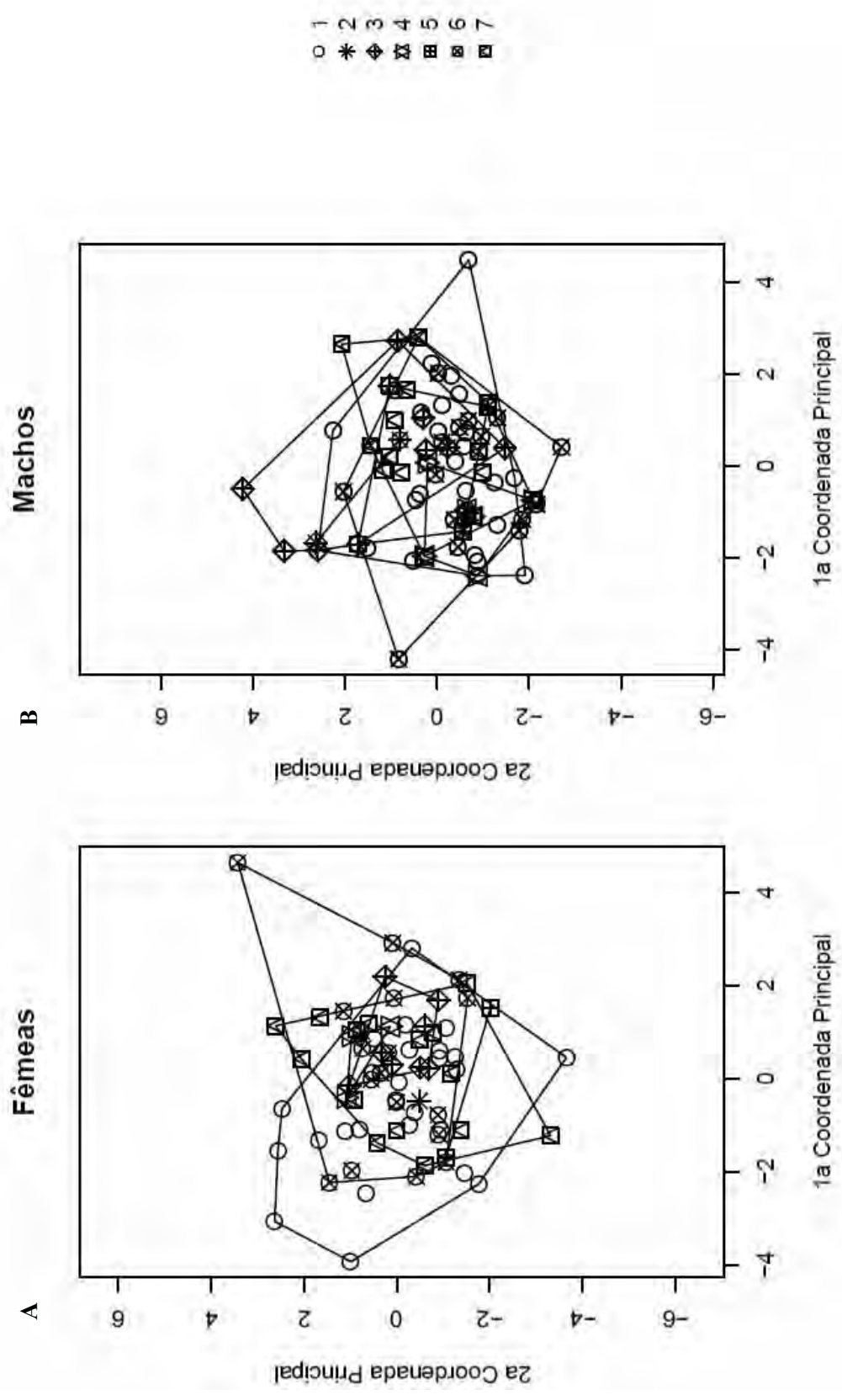


Figura 13

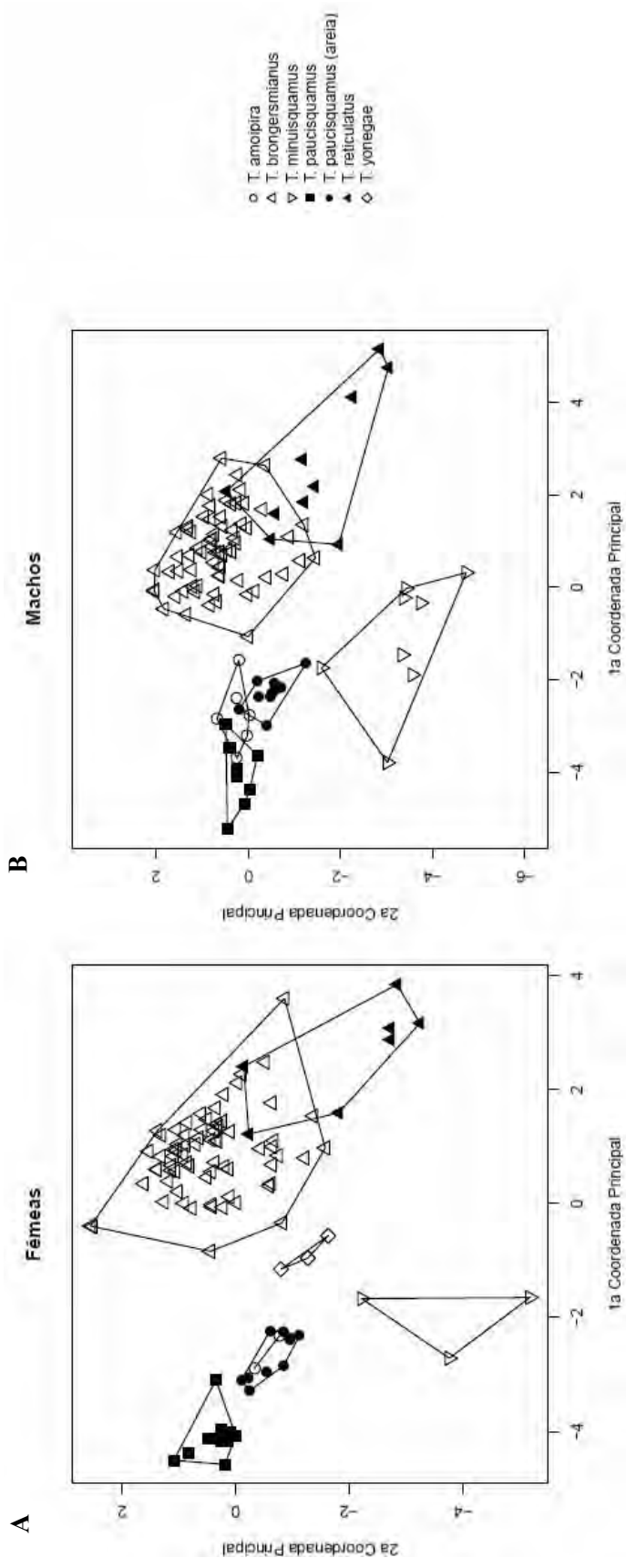
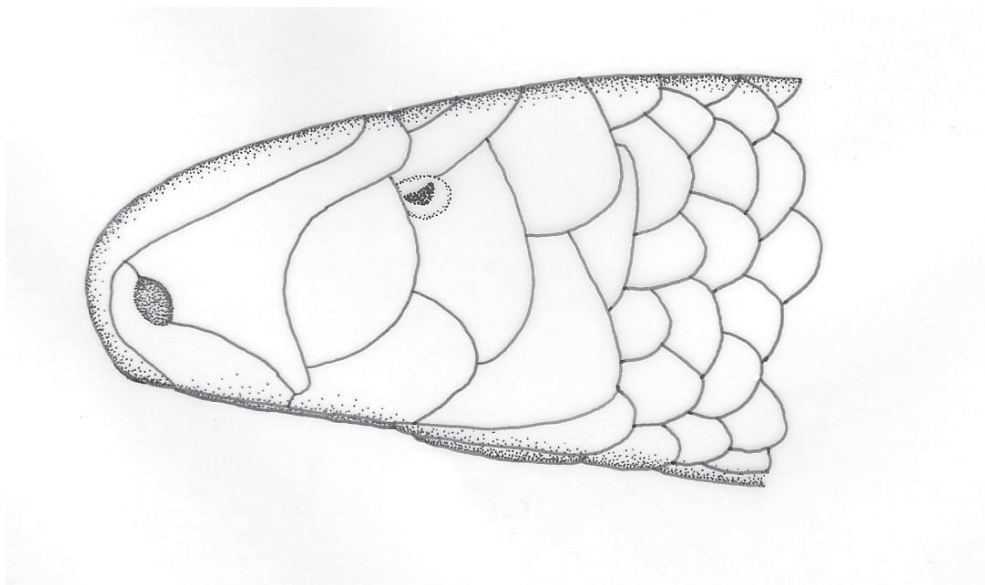


Figura 14

A



B

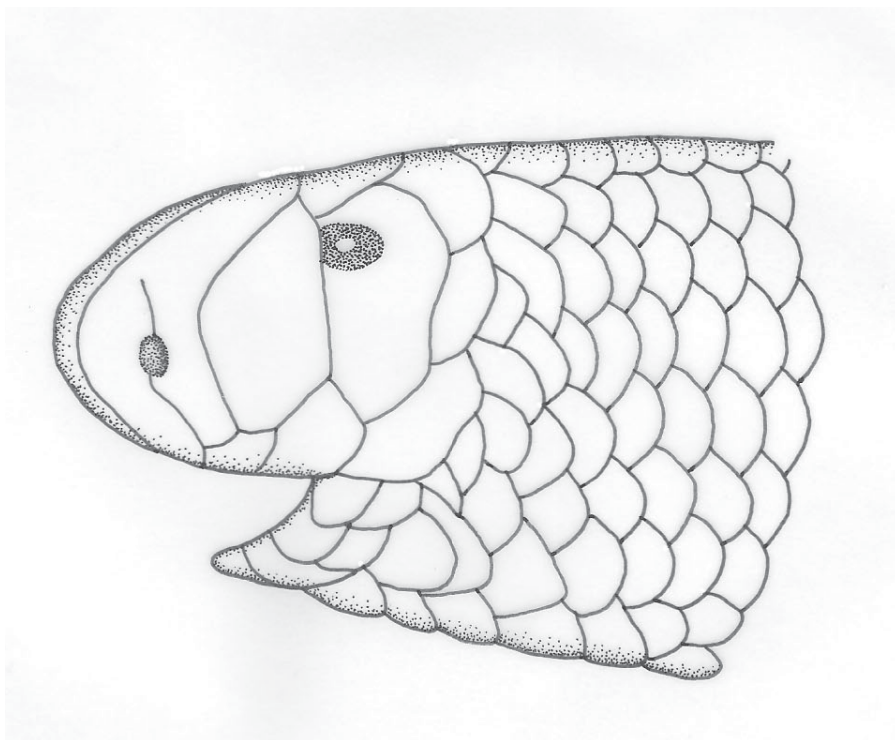


Figura 15

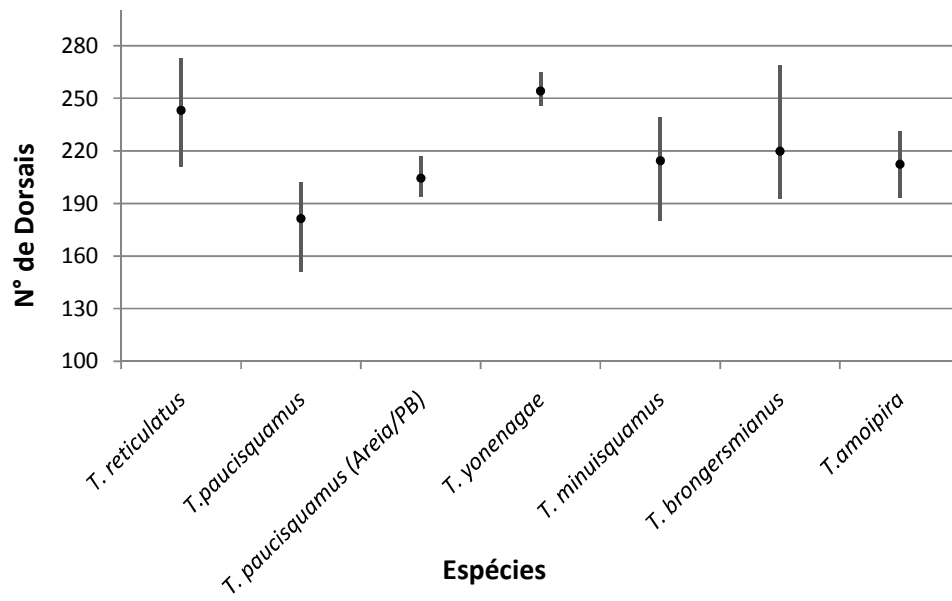


Figura 16

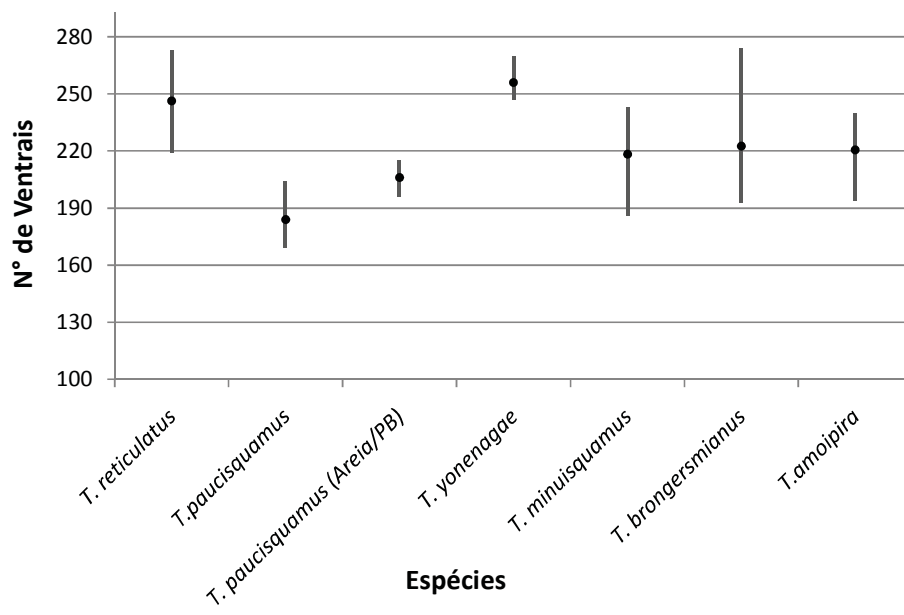


Figura 17

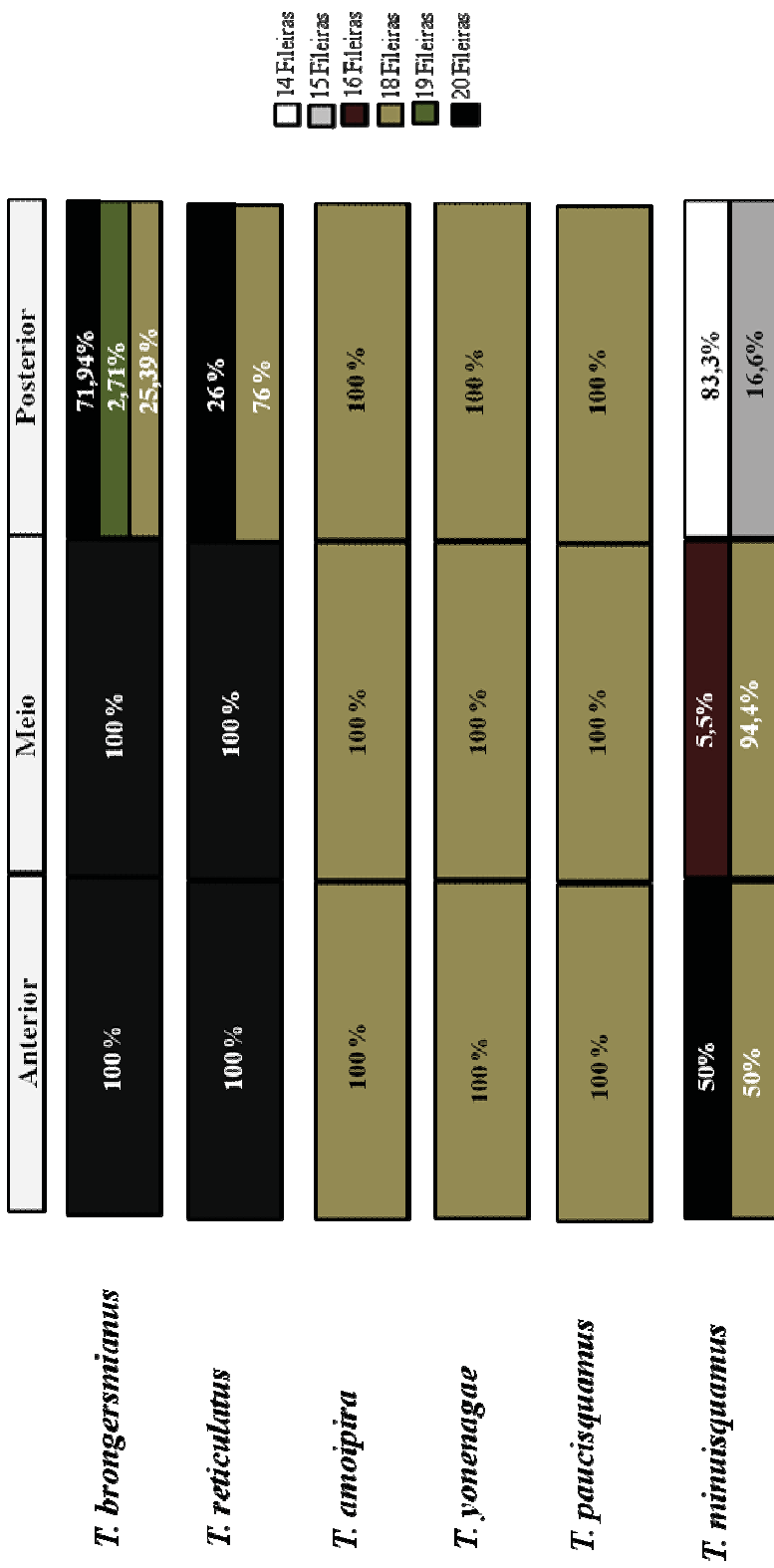


Figura 18

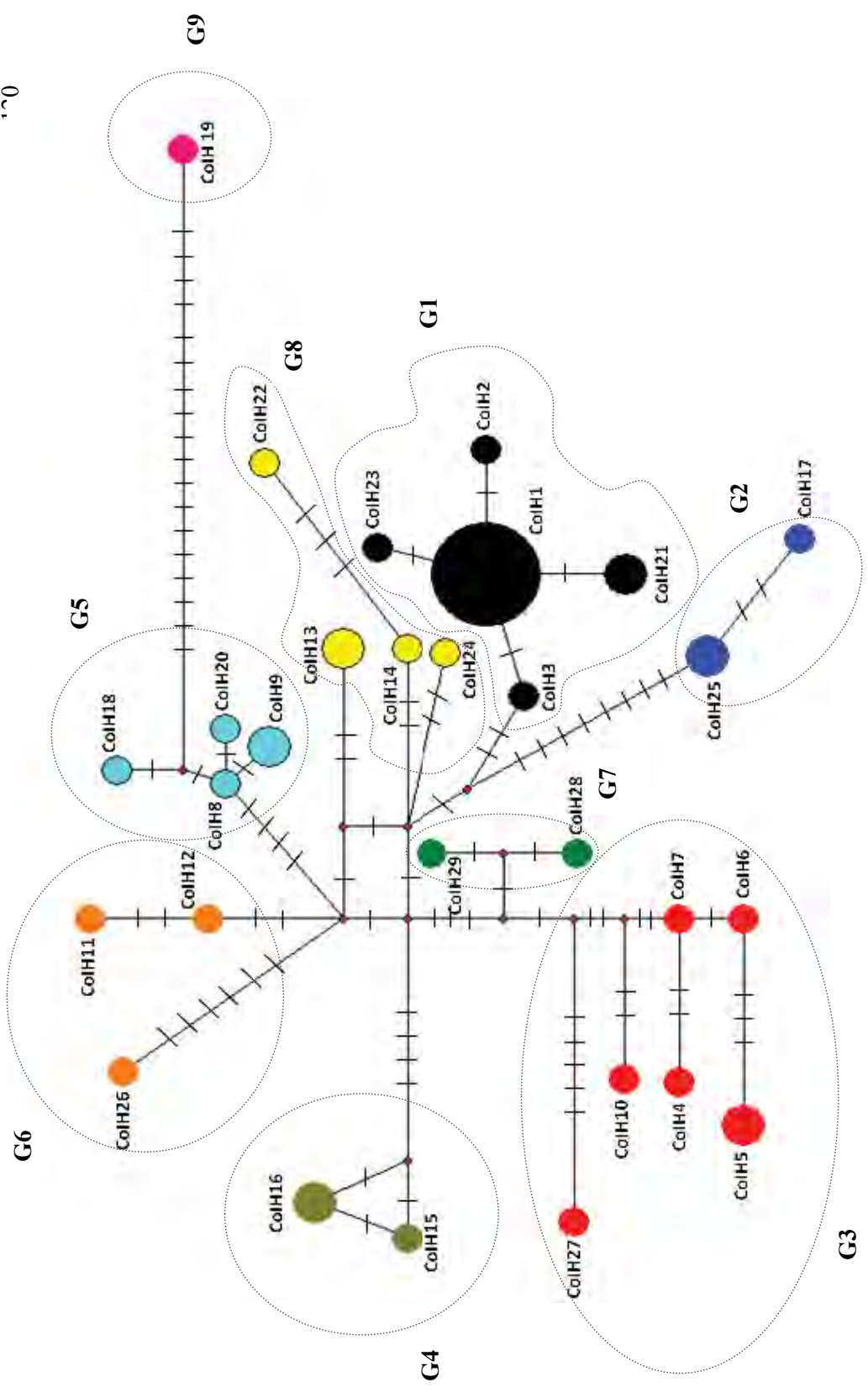


Figura 19

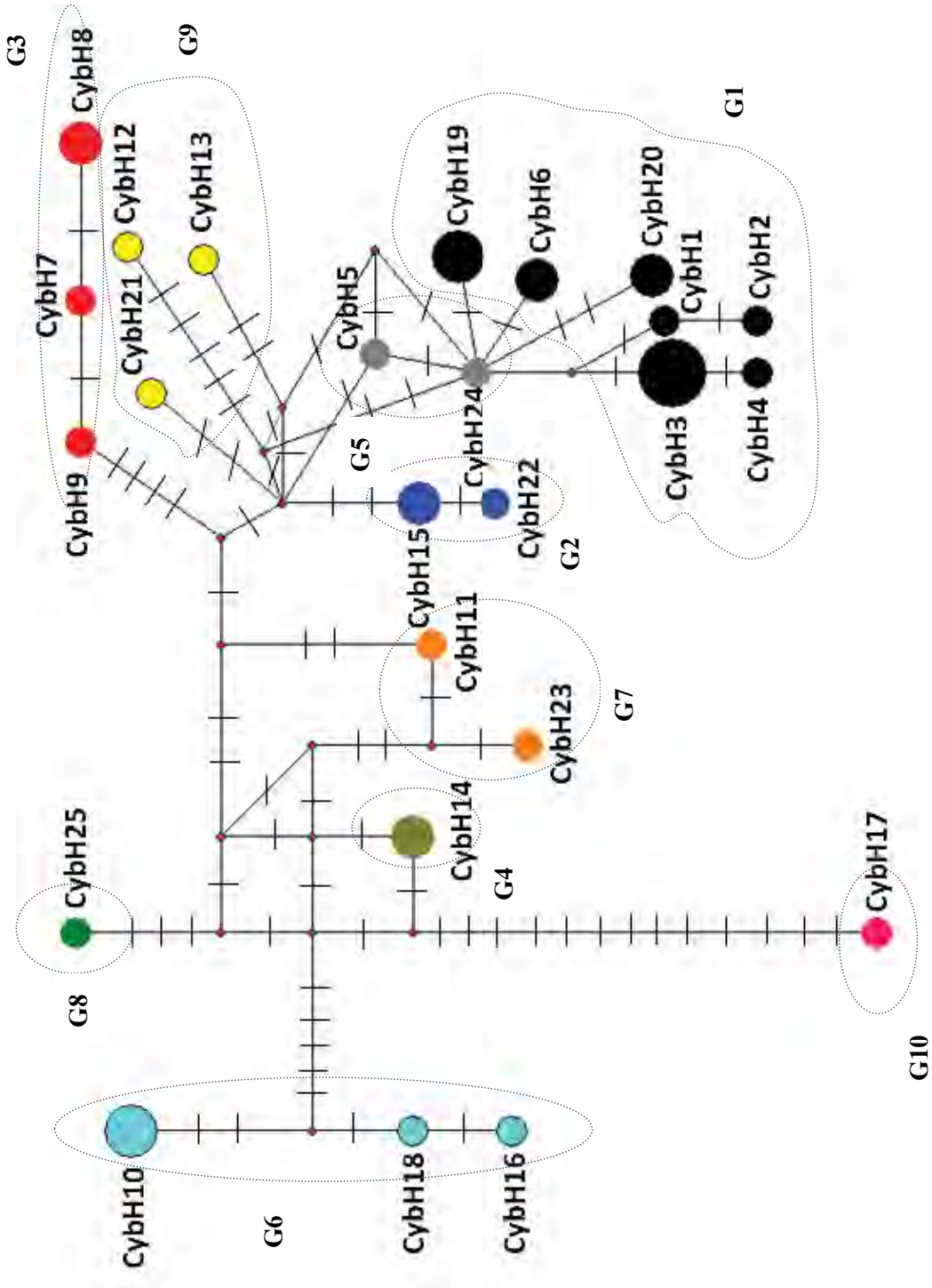


Figura 20

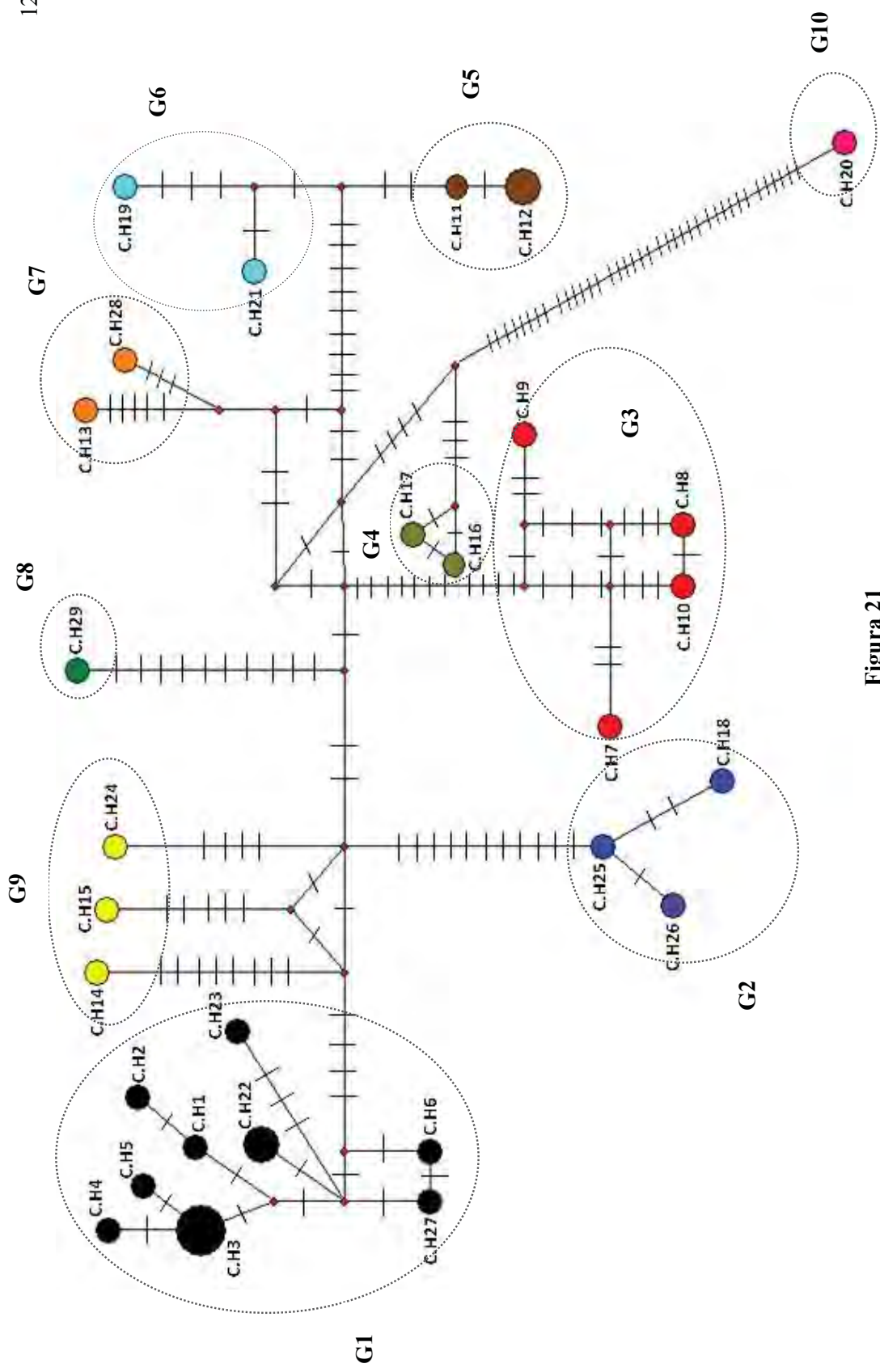


Figura 21

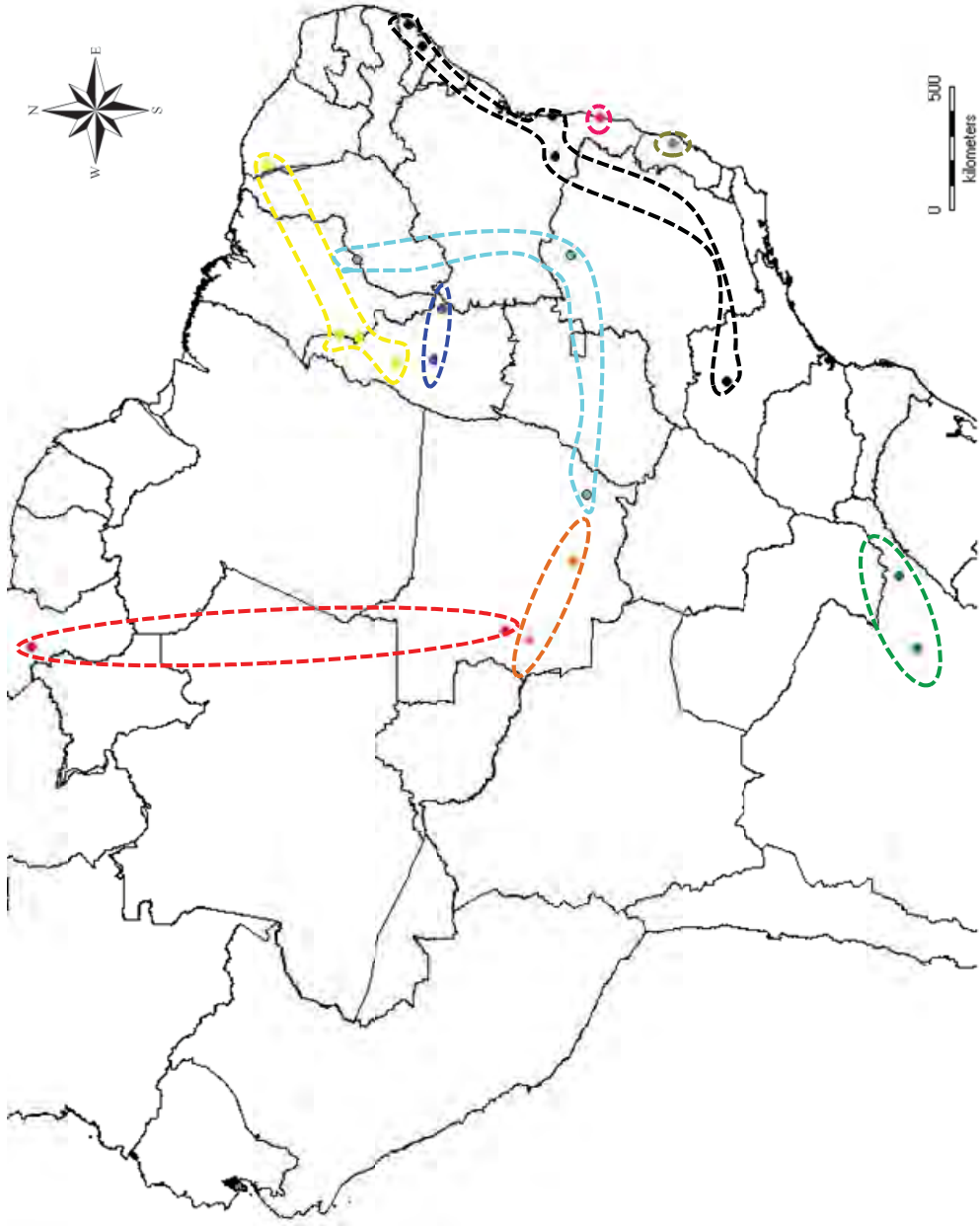


Figura 22

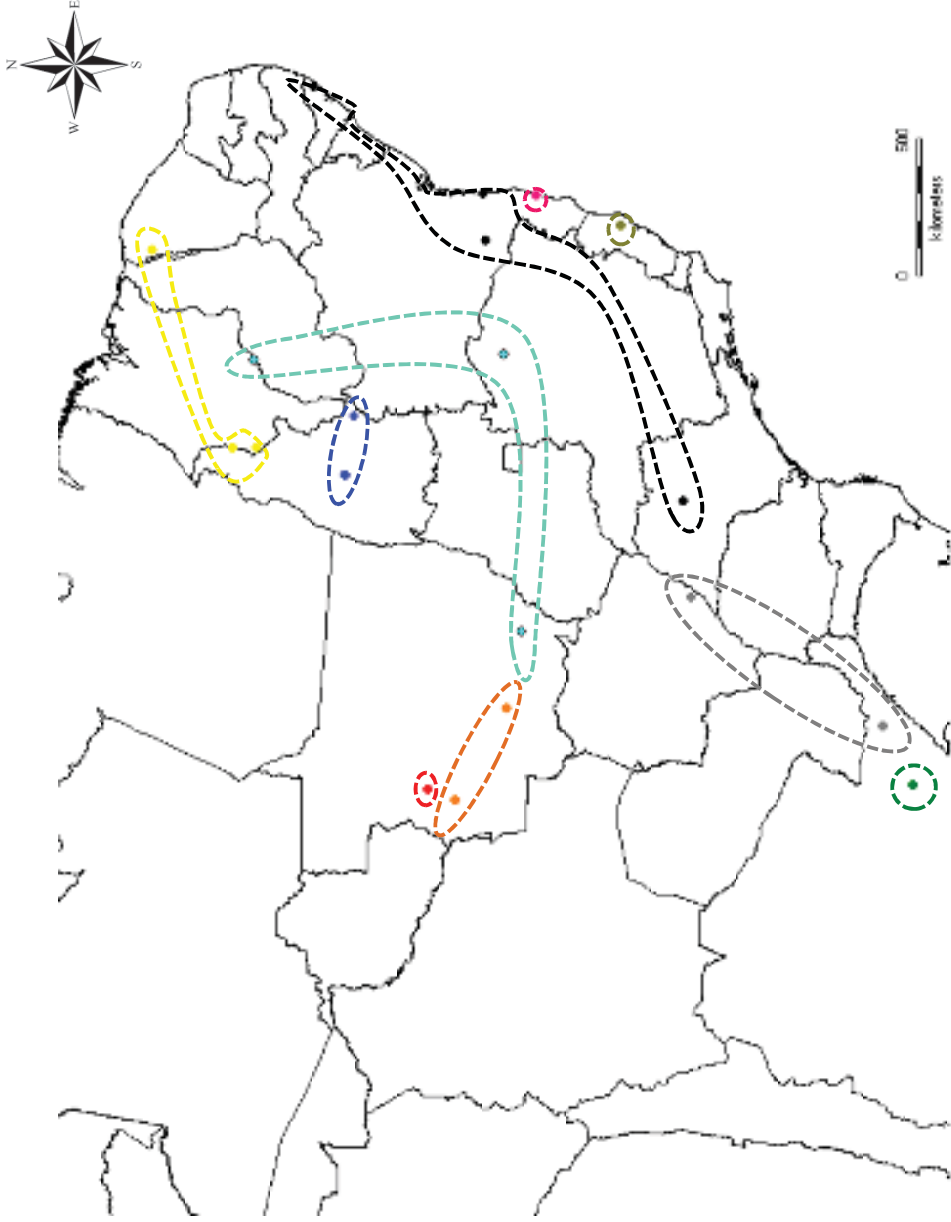


Figura 23

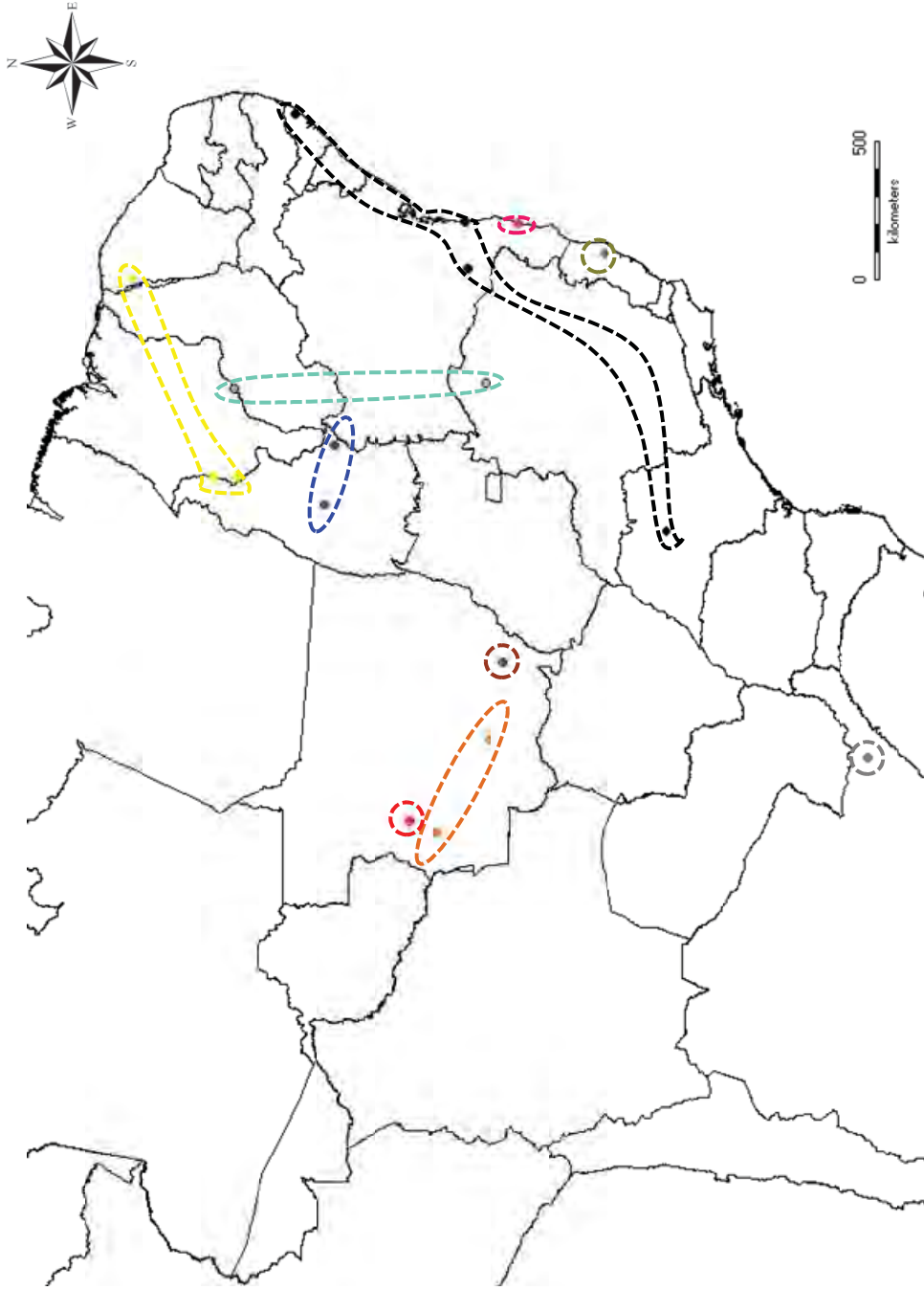
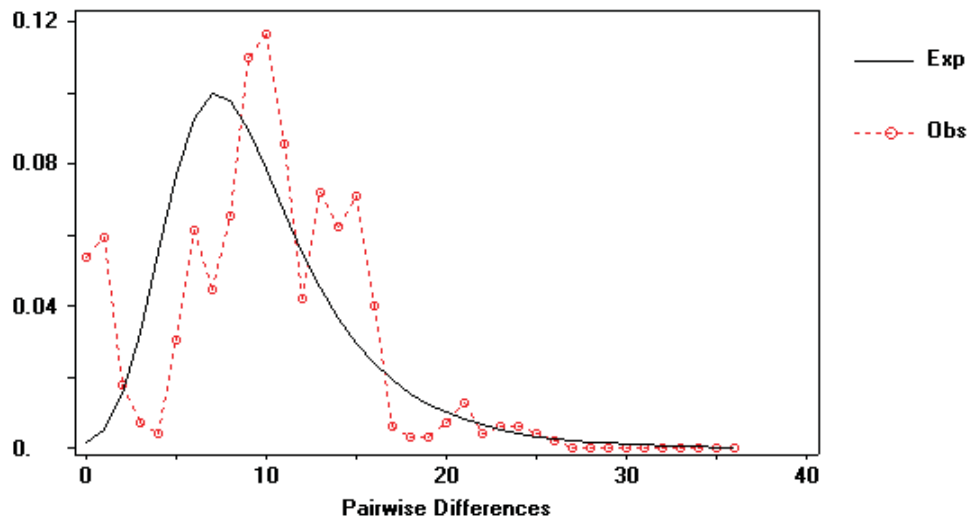
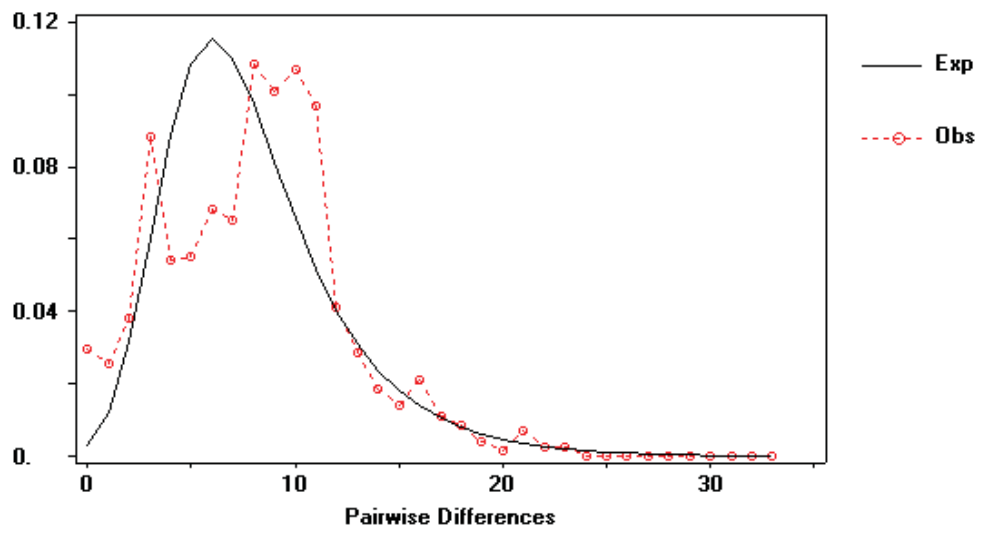


Figura 24

A



B



C

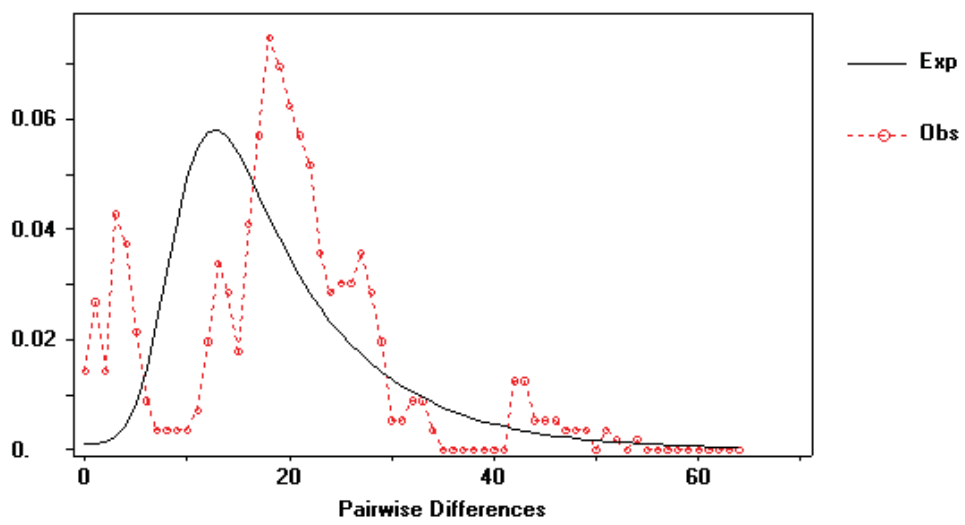


Figura 25

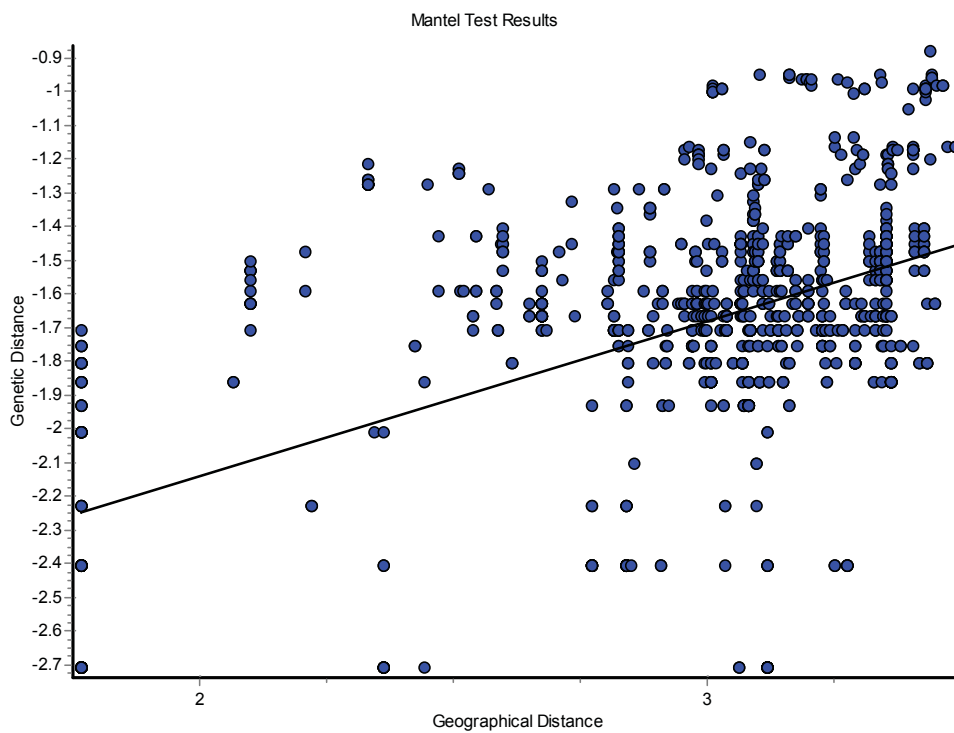


Figura 26

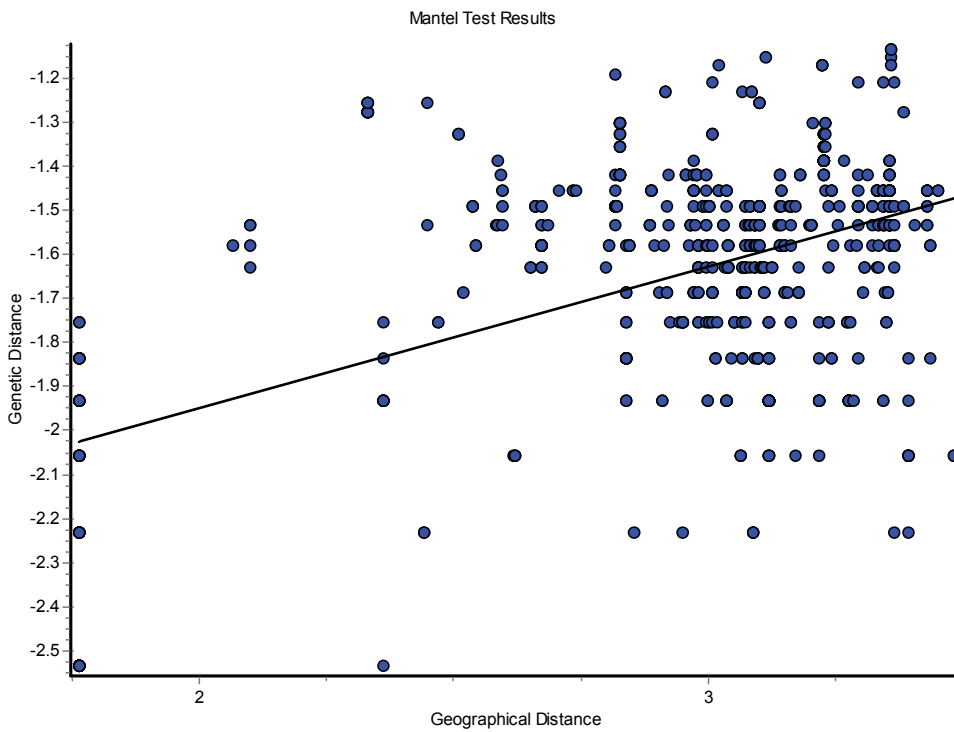


Figura 27

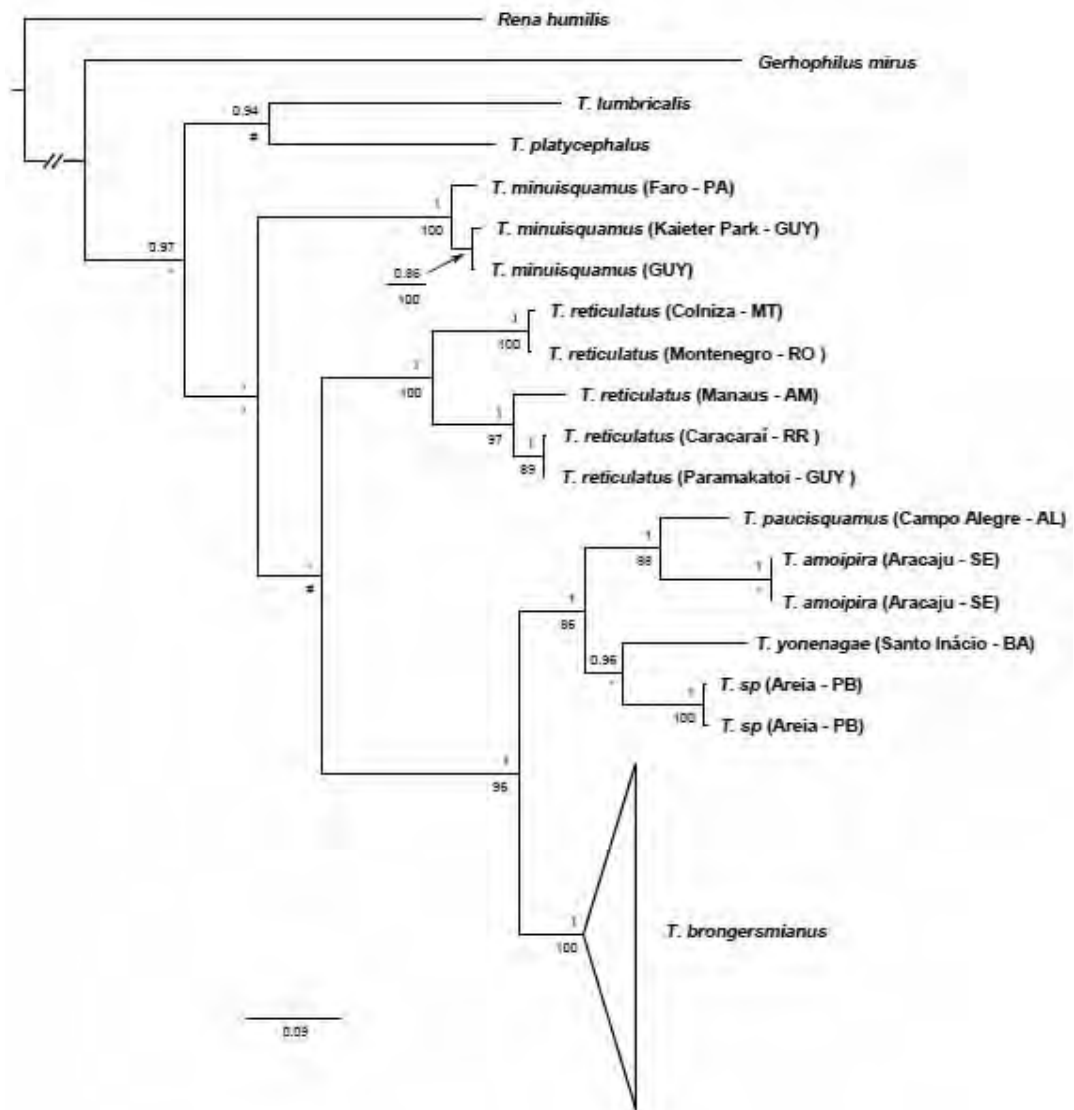


Figura 28

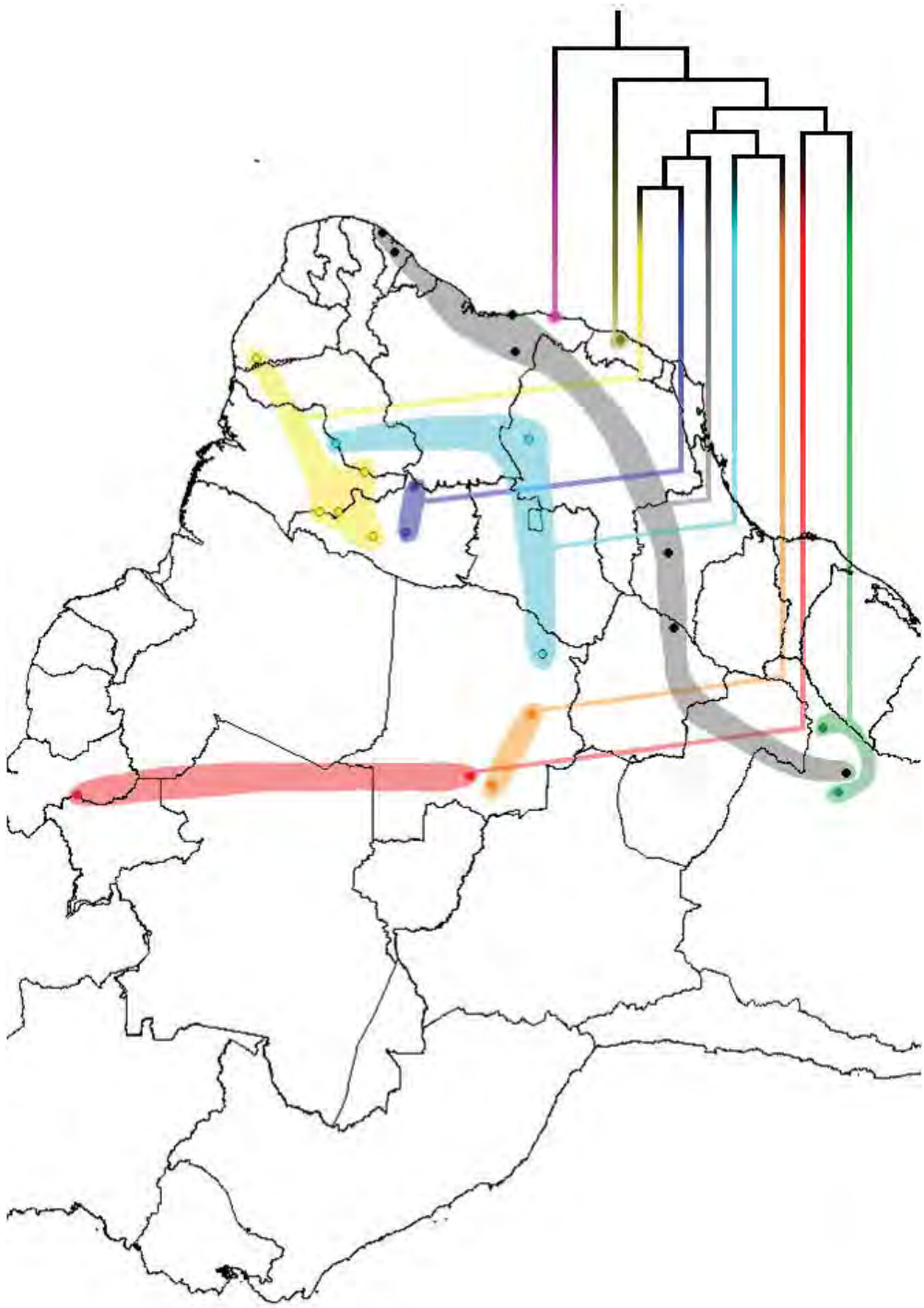
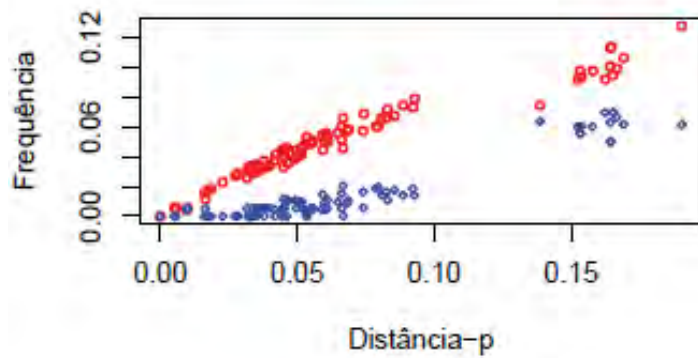
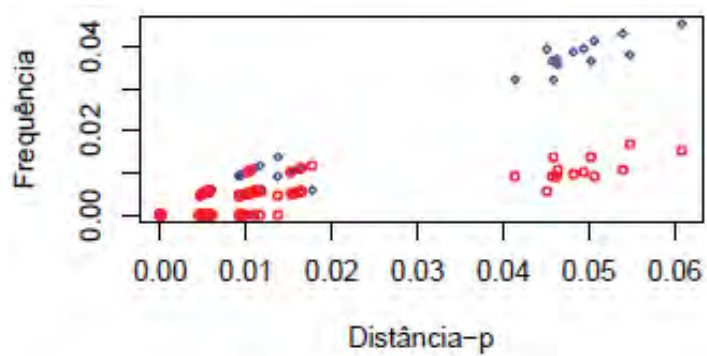


Figura 30

A



B



C

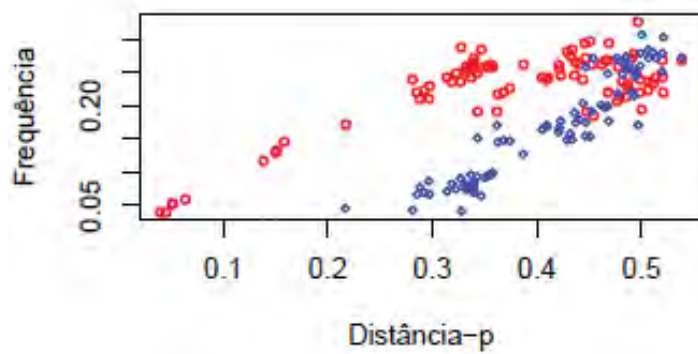
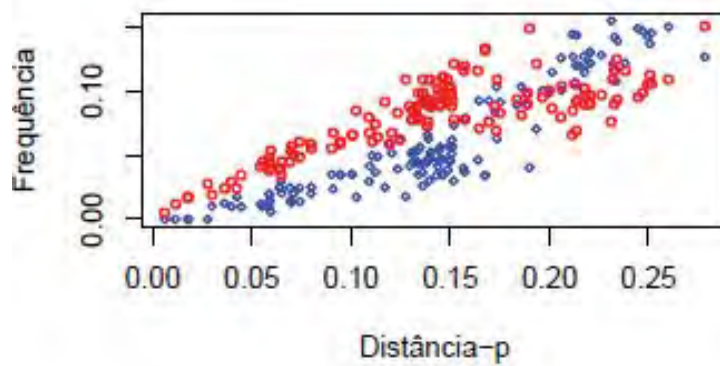
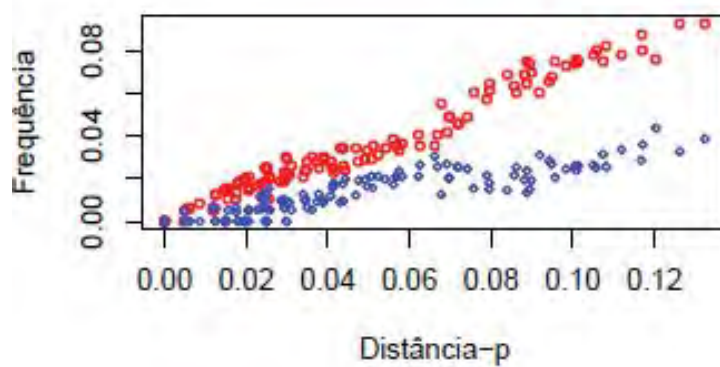


Figura 31

A



B



C

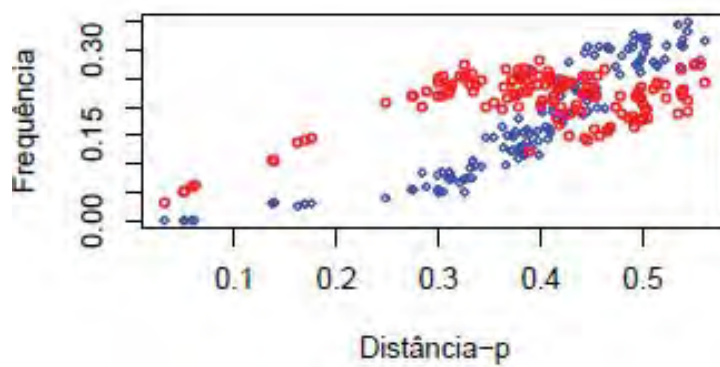


Figura 32