

VARIAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE
Typhlops reticulatus (LINNAEUS, 1758) (SERPENTES:
TYPHLOPIDAE)

ARIANE AUXILIADORA ARAÚJO SILVA



Belém, Pará

2010



MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
MESTRADO EM ZOOLOGIA

Variação morfológica e molecular de *Typhlops reticulatus*
(Linnaeus, 1758) (Serpentes: Typhlopidae)

Ariane Auxiliadora Araújo Silva

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Curso de Mestrado, do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Zoologia.

Orientadora: Dra. Ana Lúcia Prudente (MPEG)

Co-orientador: Dr. Hussam Zaher (MZUSP)

Belém-PA

2010

MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
MESTRADO EM ZOOLOGIA

Varição morfológica e molecular de *Typhlops reticulatus*
(Linnaeus, 1758) (Serpentes: Typhlopidae)

Ariane Auxiliadora Araújo Silva

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Curso de Mestrado, do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Zoologia.

Orientadora: Dra. Ana Lúcia Prudente (MPEG)

Co-orientador: Dr. Hussam Zaher (MZUSP)

Belém-PA

2010

*Ao meu pai Luiz Carlos por todo amor,
carinho durante minha vida.*

*“Existe um prazer nos bosques virgens;
Existe um êxtase na costa solitária;
Existe a sociedade, onde ninguém penetra.
Pelo mar profundo e pela música que ruge:
Eu amo não menos o Homem, porém mais a Natureza....”*

Lord Byron

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer imensamente a todos que contribuíram para realização desse trabalho. A conclusão dessa dissertação é fruto da amizade e dedicação de muitas pessoas e se por ventura esquecer alguém, minhas sinceras desculpas.

Meus sinceros agradecimentos:

Á minha orientadora Ana Lúcia da Costa Prudente, pela paciência, atenção e disposição em ensinar. Sou muita grata por ter aceitado me orientar, mesmo sem me conhecer, pelas oportunidades que surgiram durante esse período.

Ao Hussam Zaher pela co-orientação, pela infraestrutura na realização das análises moleculares, pelo livre acesso a coleção herpetológica do MZUSP e por valiosas sugestões, que com certeza serviram para melhorar essa dissertação.

Ao professor Dr. Sandro Luís Bonatto por permitir o uso do laboratório de Biologia Genômica de Molecular da PUCRS.

Ao Darlan Tavares Feitosa pela amizade ao longo desses dois anos de mestrado, pela ajuda nos desenhos e também por toda paciência.

Á Roberta Graboski Mendes e Felipe Grazziotin por me apresentarem a biologia molecular, pela grande ajuda na parte de bancada, pela oportunidade em aprender coisas novas e por toda amizade. Sou muito grata por ter conhecido vocês.

Ao Adriano Maciel, Ângelo, João Carlos, Marcelo, Pedro e Gleomar pela ajuda na edição de figuras, confecção de mapas, fotografias e leitura crítica da dissertação.

Ao Wolmar Wosiacki pela leitura crítica e sugestões feitas deste trabalho.

Agradeço a Marinus Hoogmoed e Teresa Cristina Sauer Ávila Pires pelas contribuições ao trabalho e empréstimo de material bibliográfico.

Aos colegas do laboratório de herpetologia: Adriano Maciel, Alessandra, Alessandro Menks, Ângelo Dourado, Annelise, Darlan Tavares, Fabrício, Fernanda, Gleomar Maschio, Heriberto, Isabela, Jerriane, João Costa, Marcelo Sturaro, Marco Antônio, Marcélia, Paula Carolina, Pedro Peloso pela amizade, apoio e pelos momentos de alegria e descontração durante esse período. Valeu galera!!!

Ao Reginaldo Rocha (Rochinha) pela ajuda e acesso ao material da coleção e pela companhia durante os finais de semana que passei trabalhando no laboratório.

Á Carolina Limonge Cavlac, Marcos André de Carvalho e Ricardo “Anão” Kawashita Ribeiro pelas fotos e por me apresentarem a esse mundo fascinante da herpetologia. Seus ensinamentos estarão sempre comigo.

Á Annelise, Elinete (Lili), Ivã Barbosa, Marco Antônio, Maya e Narcisio, pela amizade e por tornar a vida longe de casa mais fácil.

Aos curadores das coleções: Dr. Francisco Luís Franco (Kiko-IB), Dr. Guarino Colli (UNB), Dr. Marcos André de Carvalho e Dra. Tami Mott (UFMT), Paulo Manzani (UNICAMP), Dr. Richard Vogt (INPA), Dr. Taran Grant (PUCRS), Dr. Hussam Zaher (MZUSP), Dr. Ronaldo Fernandes (MNRJ), Dr. Johnathan Losos (MCZ) pelo empréstimo de material e amostras de tecido.

Ao Philippe Kok (Royal Belgium Institute of Natural Sciences), Robert Murphy (Royal Ontario Museum), Donna Dittmann e [Robb Brumfield](#) (Lousiana State University), Vinicius Tadeu de Carvalho (INPA) e American Museum of Natural History pela doação das amostras de tecido.

Ao Dr. Toby Hibbits (Texas Cooperative Wildlife Collection) e Ronald de Ruiter (Rijksmuseum) pelas fotos do holótipo de *Typhlops minuisquamus* e do neótipo de *Typhlops reticulatus*, respectivamente.

Ao Dr. James R. Dixon por sempre estar disposto a ajudar e tirar dúvidas respeito do trabalho e pela ajuda na obtenção da fotografia do holótipo de *T. minuisquamus*.

Ás secretárias da Pós-graduação Dorotéia, Anete e Wanessa por todo o suporte e apoio durante a dissertação.

Á Capes pela concessão da bolsa

Ao PROCAD e PROF pelo financiamento a viagem a Porto Alegre e São Paulo para realização das análises moleculares.

Sou especialmente grata as minhas amigas: Suelen, Fernandinha, Ana Paula, Débora, Daniela, Alliany por mesmo estando longe estão sempre me apoiando e me dando forças para seguir em frente. Amo todas vocês!!

Aos meus amigos da UFMT: Rogério, Rafaela, Anão, Evanildo, Helder, Milene, Marla, Taís, Thaísa, Núbia, Carol, Narcisio, Joseana pelos bons momentos que passamos.

E minha família: minha querida mãe Maria Eunice, meus irmãos Aline, Luiz Henrique e Lucivânia pelo incentivo, compreensão e por ser meu alicerce nos momentos mais difíceis. Especialmente quero agradecer a meu pai Luiz Carlos que não está mais entre nós, mas que foi um exemplo de honestidade em minha vida.

Por fim, agradeço a todos que sempre estiveram comigo nos bons e maus momentos, sejam amigos, família ou simplesmente pessoas que conhecemos no caminho, obrigado a todos!

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	v
Sumário.....	ix
Resumo.....	xi
Abstract.....	xiii
Introdução geral.....	1
Referências bibliográficas.....	9
Capítulo I- artigo a ser submetido à revista Zootaxa.....	15
Resumo.....	16
Abstract.....	16
Introdução.....	17
Material e métodos.....	19
Resultados.....	22
Discussão.....	35
Agradecimentos.....	40
Literatura citada.....	40
Apêndice.....	55
Lista de figuras.....	60
Tabelas.....	74

Capítulo II- artigo a ser submetido à revista Zootaxa.....	78
Resumo.....	79
Abstract.....	79
Introdução.....	80
Material e métodos.....	81
Resultados.....	81
Comentários.....	88
Chave para identificação das espécies de <i>Typhlops</i> do Brasil.....	90
Agradecimentos.....	94
Literatura citada.....	92
Apêndice.....	95
Lista de figuras.....	99
Tabelas.....	107

RESUMO

As serpentes atuais são tradicionalmente divididas em dois grupos: Alethinophidia, taxonômica e ecologicamente mais diverso e Scolecophidia, grupo de serpentes fossoriais popularmente conhecidas como cobras-cegas, sendo Typhlopidae a família que possui maior número de espécies. Em função do hábito fossorial, os Typhlopidae são pouco representados em coleções científicas e a escassez de amostras de tecido tem sido um fator limitante para realização de estudos moleculares dessa família. Por isso aspectos da biologia evolutiva como modos de especiação, padrão de diversificação e estruturação geográfica que devido o hábito fossorial e a pouca diferenciação morfológica intra e interespecífica são ainda pouco entendidos. Esse trabalho teve como objetivo analisar a variação morfológica e molecular de *Typhlops reticulatus*. Para isso foram analisados 314 exemplares de *Typhlops*, sendo 192 de *T. reticulatus*. Para análise morfológica foram utilizados caracteres morfométricos, morfológicos (foliose, hemipênis e osteologia craniana). Nas análises moleculares foram sequenciados 21 amostras de *T. reticulatus* dos genes mitocondriais *Coi* e *Cyt b* de diferentes localidades. As árvores filogenéticas foram feitas usando os métodos de Máxima Parcimônia e Máxima Verossimilhança e as relações entre os grupos foram inferidos através de rede de haplótipos. Através da combinação de caracteres moleculares e morfológicos foi possível observar a presença de duas linhagens evolutivas distintas de *T. reticulatus*: uma ao norte do Rio Amazonas e outra ao sul, esta última descrita como nova espécie nesse trabalho. Durante a análise dos exemplares de *Typhlops* para esse trabalho foi possível identificar duas novas espécies: *Typhlops* sp nov. 1 presente no Estado do Maranhão e *Typhlops* sp nov. 2 proveniente de Manaus, Amazonas. Os resultados desse estudo corroboram a afirmação que espécies com ampla

distribuição geográfica podem apresentar diversidade críptica considerável e uma história evolutiva mais complexa do que se imagina.

Palavras-chave: Espécie críptica, filogeografia, morfologia, *Scolecophidia*, *Typhlops*

ABSTRACT

Snakes are traditionally divided in two infraorders: Alethinophidia, taxonomic and ecologically more diverse and Scolecophidia, a group of fossorial snakes known as blindsnakes. Among Scolecophidia, Typhlopidae is the most speciose family with 260 species. Due to the fossorial habitat, the Typhlopidae are poorly represented in scientific collections and the paucity of sample tissues has been an impediment to molecular studies. Therefore, many aspects of evolutionary biology including prevalent modes of speciation, patterns of diversification, and geographical structuring of population genetic diversity, are still poorly understood. The goals of this study are to analyze the morphological and molecular variation of *Typhlops reticulatus*, a fossorial snake. For the morphological analysis, 314 specimens of *Typhlops* (196 of *Typhlops reticulatus*) were used, morphometric, scalation, hemipenis and cranial osteology characters were analysed. We sequenced the mitochondrial genes *Coi* and *Cyt b* for 21 tissue samples of *T. reticulatus* from different localities. We used Maximum Parsimony and Maximum Likelihood to construct the phylogenetic trees and the relationships among the groups were inferred through haplotype network. Through molecular and morphological characters, we detected two different evolutionary lineages of *T. reticulatus* Amazon River; the last described as a new species in this study. Our analysis also identified two new species: *Typhlops* sp nov. 1 collected in Urbano Santos, Maranhão and *Typhlops* sp nov. 2 from Manaus, Amazonas. The results of this study support the previous idea that species with wide geographic distributions conceal cryptic diversity and have evolutionary histories more complex than previewed.

Key-words: Cryptic species, phylogeography, morphology, Scolecophidia, *Typhlops*.

1- INTRODUÇÃO GERAL

A subordem Serpentes apresenta cerca de 2.900 espécies, que variam em tamanho, desde espécies escavadoras diminutas, que se alimentam de cupins e alcançam até dez centímetros de comprimento, até as grandes constritoras, com quase dez metros de comprimento, que vivem em todos os tipos de habitats de todos os continentes (exceto Antártida) como também em muitas ilhas oceânicas (Heise *et al.* 1995; Pough *et al.* 2003; Townsend *et al.* 2004).

As serpentes viventes são tradicionalmente divididas nas Infraordens Scolecophidia Cope, 1864 e Alethinophidia Hoffstetter, 1955. Provavelmente por serem taxonômica e ecologicamente mais diversos que os Scolecophidia, os Alethinophidia despertam maior interesse científico entre os pesquisadores (Shine & Webb 1990; Vidal *et al.* 2007).

Scolecophidia é um grupo de serpentes fossoriais, popularmente conhecidas como cobras-cegas, presente na África, Américas, Ásia, Europa e Oceania. Essa infraordem diferencia-se dos Alethinophidia por apresentar corpo pequeno e cilíndrico, olhos reduzidos, escamas lisas e brilhantes, cauda curta, abertura limitada da boca, dieta a base de pequenas presas, fígado multilobulado, glândulas sebáceas na região dorsal da cabeça, presença na garganta do músculo *geniomucosalis* e fenestra ótica situada no osso frontal do crânio (McDowell 1974; Branch 1986; Kley 2003; Vidal *et al.* 2007).

A maioria dos trabalhos morfológicos e alguns moleculares apontam para o monofiletismo dos Scolecophidia (Haas 1964, 1968; Bellairs & Underwood 1951; Underwood 1967; Rieppel 1988; Estes *et al.* 1988; Cundall & Rossman 1993; Wallach & Gunther 1998; Lee & Scanlon 2000; Vidal & Hedges 2002; Apesteguía & Zaher 2006; Zaher *et al.* 2009; Vidal *et al.* 2010). McDowell e Bogert (1954) sugeriram que a família Typhlopidae estaria mais relacionada aos lagartos do grupo Diploglossa

(Anguidae, Xenosauridae e Aniellidae) do que as demais Serpentes; e que as serpentes típicas e os Leptotyphlopidae estariam mais relacionados aos lagartos do grupo Platynota (Varanidae, Helodermatidae, Dolichosauridae, Lanthanotidae, Aigialosauridae, Shinisauridae e Mosasauridae) do que aos Scolecophidia. Posteriormente, após as publicações de Haas (1964) e List (1966) sobre os Scolecophidia, MacDowell (1967) reviu suas análises e reconheceu o grupo como natural.

Embora Scolecophidia seja amplamente aceito como um grupo monofilético, ainda há dúvidas sobre as relações filogenéticas entre as famílias do grupo. Alguns autores sugeriram Anomalepididae como grupo-irmão do clado formado por Typhlopidae e Leptotyphlopidae (Rieppel 1979; Kluge 1991; Heise *et al.* 1995); enquanto que outros sugeriram Leptotyphlopidae como grupo-irmão do clado formado por Typhlopidae e Anomalepididae (Haas 1930, 1964, 1968; List 1966; Underwood 1967; McDowell 1987; Cundall & Rossmann 1993; Wallach & Gunther 1998; Lee & Scanlon 2000; Vidal & Hedge 2002). (Fig. 1).

Com aproximadamente 400 espécies, os Scolecophidia recentemente foram organizados, com base na análise molecular, em cinco famílias: Anomalepididae, Gerrhopilidae, Leptotyphlopidae, Typhlopidae e Xenotyphlopidae (Vidal *et al.* 2010). Estes autores sugerem Anomalepididae como grupo irmão do clado formado por Leptotyphlopidae e a superfamília Typhlopoidea que divergiram entre 155 e 129 milhões de anos. Dentro de Typhlopoidea, Gerrhopilidae é grupo-irmão do clado formado por Typhlopidae e Xenotyphlopidae que divergiram nos períodos Jurássico e Cretáceo entre 159 e 97 milhões de anos, na Gondwana (Fig. 2).

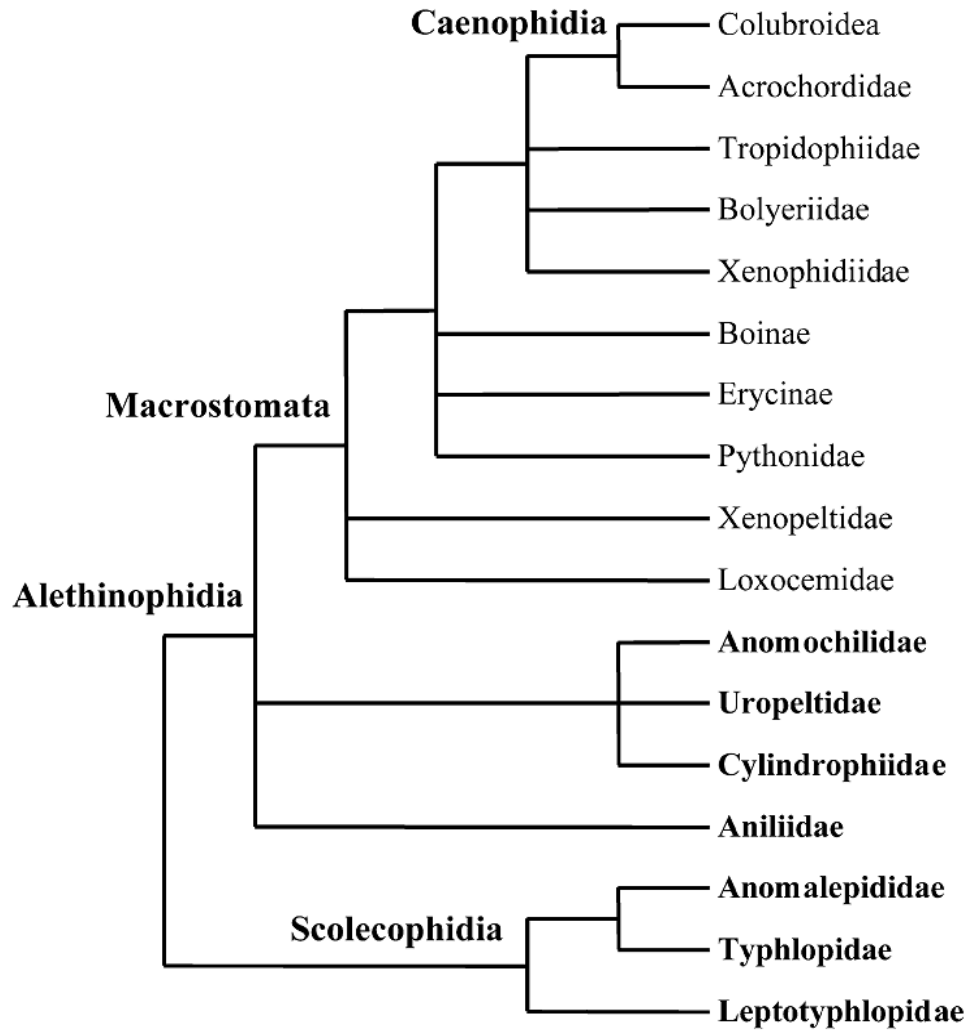


Figura 1. Hipótese filogenética das três famílias de Scolecophidia, propostas por Vidal & Hedges (2002).

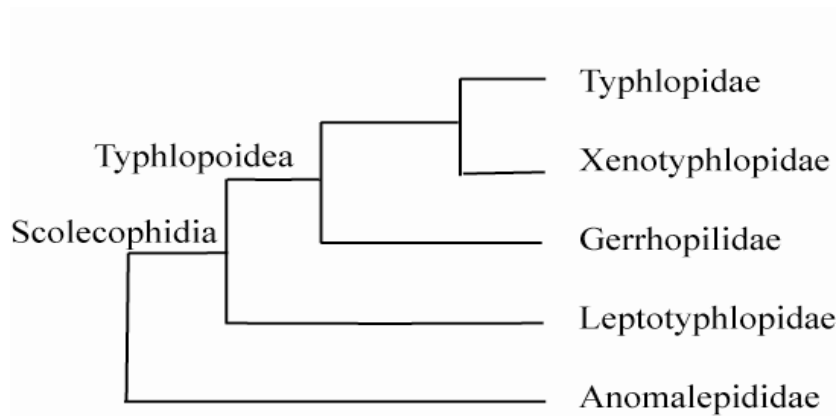


Figura 2. Parte da hipótese filogenética para os Scolecophidia modificado de Vidal *et al.*(2010).

Todas as cinco famílias ocorrem primariamente nos trópicos. Os Anomalepididae são restritos a região Neotropical. Leptotyphlopidae também ocorre na África, sul da América do Norte, Arábia e sudoeste da Ásia (Adalsteisson *et al.* 2009). Gerrhopilidae e Xenotyphlopidae são restritas ao Velho Mundo.

A família Typhlopidae é a maior e mais amplamente distribuída entre os Scolecophidia, incluindo quatro gêneros e aproximadamente 200 espécies presentes na África, sul da Europa, sul da Ásia, Austrália, Américas e oeste da Índia (Branch 1986; Greene 1997; Kley 2003; Vidal *et al.* 2010). Essa família caracteriza-se por apresentar dentes maxilares, vestígios de cintura pélvica reduzida a um par de ísquios e dentário reduzido e sem dentes (List 1966; Lee & Scanlon 2000). Vidal *et al.* (2010) apontaram a existência de quatro clados biogeograficamente coesos dentro da família Typhlopidae: o clado eurasiático (incluindo a irradiação australiana), o africano, o Malgache e o sul-americano. Esses clados divergiram-se entre 59-63 milhões de anos atrás, logo após as extinções do final do Cretáceo (Vidal *et al.* 2010).

Entre os Typhlopidae o gênero *Typhlops* Schneider 1801 é um dos mais diversificados, com mais de 150 espécies (Thomas & Hedges 2007) distribuídas em

todos os continentes, embora habitem primariamente as regiões tropicais (Dixon & Hendricks 1979; Rodrigues 1991; Rodrigues & Juncá 2002). Esse gênero pode ser caracterizado pela fusão entre as escamas prefrontal e nasal superior, contato entre frontal e nasal, ausência da escama loreal e retenção da artéria do palatino (List 1966; Rieppel 2008).

Em função do hábito fossorial, os Typhlopidae são pouco representados em coleções científicas e a escassez de amostras de tecido tem sido um fator limitante para realização de estudos moleculares dessa família. Além disso, a pouca diferenciação morfológica interespecífica e a escassez de dados ecológicos e de história natural têm dificultado o estudo dos padrões evolutivos desta família (Wynn & Leviton 1993; Rabosky *et al.* 2004).

Typhlops reticulatus (Linnaeus, 1758) é uma das espécies que apresenta a mais ampla distribuição geográfica entre os Typhlopidae sul-americanos, com registro em toda a floresta Amazônica, na porção setentrional da América do Sul ao leste dos Andes, incluindo Bolívia, Peru, Equador, Colômbia, Venezuela, Guianas, Suriname e Brasil (Fig. 3) (Dixon & Hendricks 1979; Cunha & Nascimento 1993; Rodrigues & Juncá 2002).

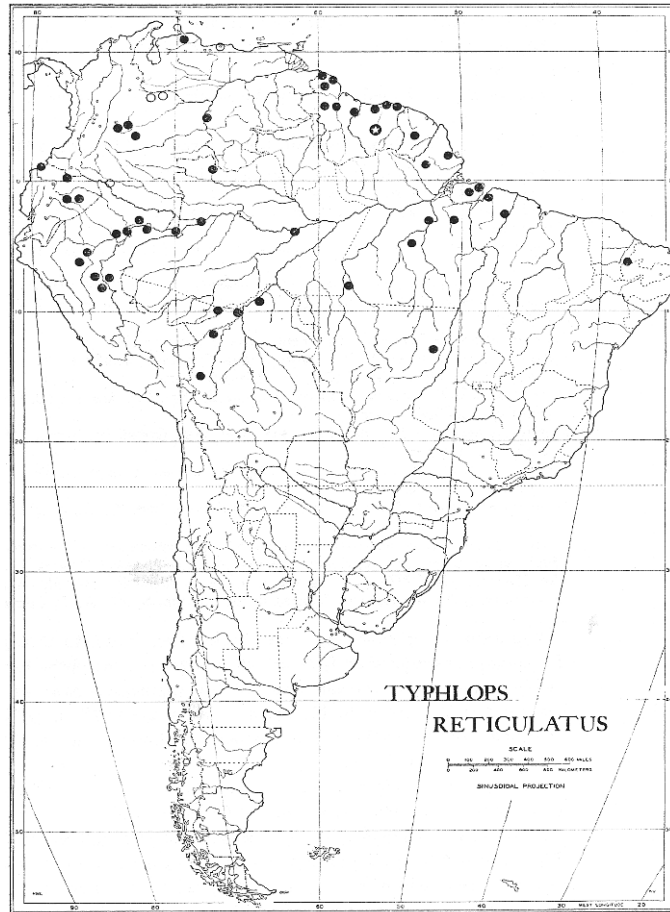


Figura 3: Distribuição geográfica de *Typhlops reticulatus* segundo Dixon & Hendricks (1979).

Histórico taxonômico de *Typhlops reticulatus*

Linnaeus (1758) descreveu *Anguis reticulatus* (= *Typhlops reticulatus*) a partir da descrição e ilustração de uma serpente de “duas-cabeças” feita por Scheuchzer (1735-1738) e de um anfisbenídeo apresentado por Gronovius (1756). A brevidade do texto descritivo publicado por Linnaeus (1758) foi provavelmente a fonte de posteriores e sucessivas interpretações equivocadas sobre a espécie.

Weigel (1782) descreveu *Anguis rostralis*, afirmando que as características de seu espécime não se encaixavam em nenhuma das espécies de *Anguis*, exceto pelo padrão de coloração. Na descrição, Weigel (1782) apresentou informações detalhadas sobre a coloração e a contagem das escamas subcaudais e ventrais.

Posteriormente, Gmelin (1789) rejeitando o nome sugerido anteriormente por Weigel (1782), propôs *Anguis nasutus* para substituí-lo, parafraseando a descrição de Weigel (1782). Schneider (1801), desconsiderando também o nome proposto por Weigel (1782) por estar associado à característica da região rostral comum a todas as demais espécies de Typhlopidae, sugeriu o nome *Anguis crocotatus* em referência a sua coloração ventral.

Daudin (1803), em seu livro sobre história natural dos répteis, cometeu um erro de grafia escrevendo *Anguis rostratus* ao invés de *Anguis rostralis*.

Merrem (1820) alocou *Anguis reticulatus* no gênero *Tortrix* e considerou *Anguis rostralis* uma espécie válida.

Duméril & Bibron (1844), baseados no exame das pranchas feitas por Scheuchzer (1735-1738) e do material-tipo das espécies propostas por Weigel (1782), Gmelin (1789), Schneider (1801) e Merrem (1820), alocaram *Anguis reticulatus* no gênero *Typhlops*, propondo uma nova combinação, *T. reticulatus*. Mais tarde, Gray (1845) alocou *T. reticulatus* no gênero *Argyrophis*, propondo uma nova combinação, *A. reticulatus*.

Duméril & Duméril (1851) descreveram *Ophthalmidion crassum*, que foi posteriormente sinonimizada por Jan (1864) com *Typhlops reticulatus*. Baseando-se na coloração do corpo e sem citar as localidades-tipo, Jan (1864) propôs três subespécies de *Typhlops reticulatus*: *T. r. troscheli* (com dorso oliva escuro ou marrom escuro e ventre amarelado), *T. r. nigrolactea* (com o dorso escuro e ventre amarelo pálido) e *T. r. flavescens* (com dorso amarelado). Posteriormente, essas subespécies foram sinonimizadas por Boulenger (1893), que reconheceu como válida apenas a espécie *Typhlops reticulatus*.

Dixon & Hendricks (1979) revisaram doze espécies de Typhlopidae Neotropicais, onde designaram um macho sub-adulto, procedente de Paramaribo no Suriname, como neótipo (RMNH 7660) de *Typhlops reticulatus*, uma vez que na descrição original da espécie feita por Linnaeus (1758) há apenas a ilustração de Scheuchzer (1735-1738). Com base no número de escamas dorsais, os autores sugeriram a existência de duas populações de *T. reticulatus*: uma a oeste da América do Sul, com representantes na Colômbia, Equador, Peru e Centro-Oeste do Brasil, cujos indivíduos apresentam elevado número de escamas dorsais e um aumento no número de dorsais da região noroeste para sudeste; e outra ao leste da América do Sul, com exemplares conhecidos para a Venezuela, Guyana, Guiana Francesa, Suriname e extremo Nordeste do Brasil, cujos espécimes possuem número de dorsais baixo com um aumento no número de dorsais em uma *clina* que se estende da região noroeste para o sudeste. As diferenças morfológicas foram tratadas por Dixon & Hendricks (1979) como uma variação clinal de *T. reticulatus*, uma vez que a proposição de novos táxons deveria, segundo eles, estar condicionada a uma análise da variação sexual dos caracteres.

Este trabalho tem o objetivo de verificar se existem diferenças morfológicas entre as populações de *Typhlops reticulatus* e analisar sua variabilidade genética. Os resultados estão organizados em dois capítulos, apresentados segundo as normas do periódico científico *Zootaxa*.

No primeiro capítulo foram analisadas as variações morfológica e genética de *Typhlops reticulatus*, considerando a dicotomia leste - oeste da América do Sul proposta por Dixon & Hendricks (1979). Para a análise da variação morfológica (caracteres morfométricos, foliose, osteologia, hemipênis, coloração e padrão de desenho) foram analisados 201 espécimes de *T. reticulatus* pertencentes a estes dois agrupamentos. Para a análise molecular foram sequenciados os genes mitocondriais *cytb* e *coi* de 21

amostras de tecido de *T. reticulatus* provenientes de localidades do leste e oeste da área de distribuição da espécie. Durante a análise morfológica foram identificadas duas novas espécies, que estão descritas no segundo capítulo. Estas espécies são provenientes dos municípios de Manaus no estado do Amazonas e de Urbano Santos no estado do Maranhão. Esse trabalho foi conduzido em colaboração com o Dr. Hussam Zaher e os alunos de Pós-Graduação Felipe Grazziotin e Roberta Graboski, do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, e o Dr. Sandro Bonatto, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Apesteguía, S. & Zaher, H. (2006) A cretaceous terrestrial snake with robust hindlimbs and sacrum. *Nature*, 440, 1037-1040.

Bellairs, A. & Underwood, G. (1951) The origin of snakes. *Biological Reviews*, 26, 193-237.

Boulenger, A. G. (1893) *Catalogue of snakes of the British Museum (Natural History)*. Lxiv, London, Taylor and Francis.

Branch, W. R. (1986) Hemipenial morphology of African snakes: A taxonomic review part 1. Scolecophidia and Boidae. *Journal of Herpetology*, 20/ 3, 285-299.

Cundall, D. & Rossman, D. A. (1993) Cephalic anatomy of the rare Indonesian snake *Anomochilus weberi*. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 109, 235-273.

Cunha, O. R. & Nascimento, F. P. (1993) Ofídios da Amazônia: As cobras da região leste do Pará. *Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi*, 9, 1-191.

Daudin, F. M. (1803) *Histoire Naturelle générale et particulière des reptiles*. Paris, F. Dufart, 7, 316 pp.

Dixon, J. R. & Hendricks, F. S. (1979) The wormsnakes (Family Typhlopidae) of the Neotropics, exclusive of the Antilles. *Zoologische Verhandelingen*, 173, 3-39.

Duméril, A. M. C. & Bibron, G. (1844) *Érpetologie générale ou histoire naturelle complète des reptiles*. Paris, Roret. 6, 262-279.

Duméril, M. C. & Duméril, A. (1851) *Catalogue Methodique de La Collection des Reptiles du Museum d' Histoire Naturelle*. Paris, Gide and Boudry, 4, 224 pp.

Estes, R.; De Queiroz, K.; Gauthier, J. A. (1988) Phylogenetic relationships within Squamata. In: R. Estes & G. Pregill. (Eds), *Phylogenetic Relationships of the Lizard Families*. Stanford University Press, Stanford, California, pp. 119-281.

Gmelin, J. F. (1756) *Caroli a Linné Systema Nature*. Tom. I Pars. III, 1035-1514.

Gray, J. E. (1845) *Catalogue of the specimens of lizards in the collection of the British Museum*. London, Trustees of the British Museum, 27, 289pp.

Greene, H. W. (1997) *Snakes: the evolution of mystery in nature*. University of California Press, California 337 pp.

Gronovius, L.T. (1756) *Musei ichthyologici tomus secundus sistens piscium indigenorum & nonnulorum exoticorum, quorum maxima pars in Museo Laurentii Theodori Gronovii, J.U.D. adservatur, Nec non quorundan in aliis Museis observatorum descriptions. Accedunt nonnullorum exoticorum Piscium icons aeri incisae, et Amphibiorum Animalium Historia Zoologica*. Vii, 88pp, ill. Leiden, Th.Haak.

- Haas, G. (1930) Über das Kopfskelett und die Kaumusculatur der Typhlopiden und Glauconiiden. *Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Anatomie*, 52, 1-94.
- Haas, G. (1964) Anatomical observations on the head of *Liotyphlops albirostris* (Typhlopidae, Ophidia). *Acta Zoologica*, 45, 1-62.
- Haas, G. (1968) Anatomical observations on the head of *Anomalepis aspinosus* (Typhlopidae, Ophidia). *Acta Zoologica*, 49, 63-139.
- 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, 259-265.
- Jan, G. (1864) *Iconographie générale des ophidiens. Première famille. Les Typhlopiens.* (Text), ii, Paris, Bailliére, 42pp.
- Kley, N. J. (2003) Blindsnakes (Typhlopidae), In: Grzimek's Animal life encyclopedia. Second edition. 7, 379-385.
- Kluge, A. G. (1991) Boinae snake phylogeny and research cycles. *Miscellany Publication Museum Zoology*, University of Michigan, 178, 1-58.
- Lee, M. S. Y. & Scanlon, J. D. (2000) Snake phylogeny based on osteology, soft anatomy and ecology. *Biological reviews*, 77, 333-401.
- Linnaeus, C. (1758) *Systemae Naturae per regna tria naturae secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus differentiis, synonymis, locis. Tomus I.* Editio Decima, reformata. 824 pp. Holmiae: Laurenti Salvii (Cura Societatis Zoologiae Germanicae iterum edita, 1894 Lipsiae: Wilhelm Engelmann).

List, J. C. (1966) Comparative Osteology of the snake families Typhlopidae and Leptotyphlopidae. *Illinois Biological Monographs*, 36, 1-112.

McDowell, S. B. (1974) A Catalogue of New Guinea and the Solomons, with special references to those in the Bernice P. Bishop Museum, Part I. Scolecophidia. *Journal of Herpetology*, 8/1, 1-57.

McDowell, S. B. (1987) Systematics. In: R.A. Siegel, J.T. Collins, and S.S. Novak (Eds.), Snakes: ecology and evolutionary biology. MacMillan Publ. Co, New York, pp, 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.

Merrem, B. (1820) *Versuch eines Systems der Amphibien*. Marburg, Johann Christian Krieger, 191pp.

Pough, F. V.; Janis, C. M.; Heiser, J. (2003) *A vida dos vertebrados*. Editora Atheneu. São Paulo 799 pp.

Rabosky, D. L.; Aplin, K. P.; Donnellan, S. C.; Hedges, S. B. (2004) Molecular phylogeny of blindsnakes (*Ramphotyphlops*) from western Australia and resurrection of *Ramphotyphlops bicolor* (Peters, 1857). *Australian Journal of Herpetology*, 52,531-548.

Rieppel, O. (1979) The braincase of *Typhlops* and *Leptotyphlops* (Reptilia: Serpentes). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 65, 161-176.

Rieppel, O. (1988) A review of the origin of snakes. *Evolutionary Biology*, 22, 37-130.

Rieppel, O. (2008) The braincase of *Typhlops* and *Leptotyphlops* (Reptilia: Serpentes) *Zoological Journal of Linnean Society*, 65/2, 161-176.

Rodrigues, M. T. (1991) Herpetofauna das dunas interiores do rio São Francisco: Bahia:Brasil. IV. Uma nova espécie de *Typhlops* (Ophidia, Typhlopidae). *Papéis Avulsos Zoologia*, 37/ 22, 343-346.

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.

Schneider, J. G. (1801) *Historiae amphibiorum naturalis et literariae, fasciculus secundus continens Crocodilos, Scincos, Chamaesaurus, Boas, Pseudoboas, Elapes, Angues, Amphisbaenas et Caecilians*, iv, 374 pp Jena: Fried Frommann.

Shine, R. & Webb, J. K. (1990) Natural history of Australian Typhlopidae snakes. *Journal of Herpetology*, 24/4, 357-363.

Thomas, R. & Hedges, S. B. (2007) Eleven new species of the genus *Typhlops* (Serpentes: Typhlopidae) from Hispaniola and Cuba. *Zootaxa*, 1400, 1-26.

Townsend, T. M.; Larson, A.; Louis, E.; Macey, R. J. (2004) Molecular Phylogenetics of Squamata: The Position of Snakes, Amphisbaenians, and Dibamids, and the Root of the Squamate Tree. *Systematic Biology*, 23/5,735-757.

Underwood, G. (1967) A contribution to the classification of snakes. *British Museum of Natural History*, London.

Vidal, N. & Hedges, S. B. (2002) Higher-level relationships of snakes inferred from four nuclear and mitochondrial genes. *C. R. Biologies*, 325, 977- 985.

Vidal, N.; Delmas, A. S.; David, P.; Cruaud, C.; Couloux, A.; Hedges, B. S. (2007) The phylogeny and classification of caenophidian snakes inferred from seven nuclear protein-coding genes. *Comptes rendus-Biologies*, 330, 182-187.

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 history on Gondwana. *Biology letters*, 1-4.

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.

Weigel, C. E. (1782) Beschreibung einer Schlange. *Schr.Ges.Naturf.Fr.Berlin*, 3, 190-193.

Wynn, A. H. & Levinton, A. E. (1993) Two new species of blind snake, genus *Typhlops* (Reptilia: Squamata: Typhlopidae), from the Philippine Archipelago. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 106, 34–45.

Zaher, H.; Apesteguía, S.; Scarfela, C. A. (2009) The anatomy of the upper cretaceous snake *Najash rionegrina* Apesteguía & Zaher, 2006, and the evolution of limblessness in snakes. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 156, 801-826.

Capítulo 1

Artigo a ser submetido à revista *Zootaxa*

VARIAÇÃO MORFOLÓGICA e DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Typhlops*
reticulatus (LINNAEUS, 1758) (Serpentes; Typhlopidae)

Ariane, A. A. Silva¹

¹ *Laboratório de Herpetologia, Museu Paraense Emílio Goeldi/CZO, CxP. 399, Av. Perimetral, 1901, Terra Firme, 66077-530 Belém, PA, Brasil.*

e-mail:

¹ aricaaraujo@yahoo.com.br

Resumo

A utilização de marcadores moleculares tem constituído uma importante ferramenta para o entendimento de aspectos da biologia evolutiva dos vertebrados fossoriais como modo de especiação, padrão de diversificação e estruturação geográfica que, devido o hábito fossorial e à pouca diferenciação morfológica intra e interespecífica, são ainda pouco entendidos. Nesse estudo foi analisada a variação morfológica e molecular de uma serpente fossorial, *Typhlops reticulatus*. Foram analisados caracteres morfométricos, de folidose, morfologia hemipeniana, osteologia craniana e sequenciados dois genes mitocondriais Coi e Cyt b. As análises moleculares e a morfologia hemipeniana mostraram que *Typhlops reticulatus* representa duas linhagens distintas. Uma ao norte e outra ao sul do Rio Amazonas, esta última descrita como nova uma espécie. Os resultados desse estudo corroboram a afirmação que espécies com grande distribuição geográfica podem apresentar uma diversidade considerável e uma história evolutiva mais complexa do que se imaginava.

Palavras-chave: Scolecophidia, filogeografia, espécies críptica, Typhlopidae.

Abstract

The use of molecular markers has been an important tool to understanding many aspects of evolutionary biology of fossorial vertebrates including prevalent modes of speciation, patterns of diversification, and geographical structuring of population genetic diversity, which due to the fossorial habitat and little intra and interspecific morphological variation are still poorly understood. In this study, we analyzed morphological variation and phylogeographic patterns of *Typhlops reticulatus*, a fossorial snake. We sequenced fragments of two mitochondrial genes Coi and Cyt b. Through molecular and morphological (hemipenis) characters, we observed two different evolutionary lineages

of *T. reticulatus*: one in the north of Amazon River and another in the south, the last described as new specie in this study. The results of this study corroborate the affirmative that species with great geographic distribution have considerable cryptic diversity and more complex evolutionary history features obscured by morphological similarity.

Introdução

Alguns aspectos da biologia evolutiva dos vertebrados fossoriais como modo de especiação, padrão de diversificação e estruturação geográfica da diversidade genética das populações são ainda pouco compreendidos (Albert *et al.* 2007; Daniels *et al.* 2009), embora estudos moleculares tenham recentemente demonstrado que esses animais apresentam uma forte estruturação geográfica e altos índices de divergência genética (Olson *et al.* 2004; Mulvaney *et al.* 2005; Crews & Hedin 2006; Avise 2009).

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). Esses estudos indicam ainda que muitas espécies que parecem representar uma única linhagem evolutiva com base na similaridade morfológica, sob uma abordagem molecular podem representar complexos de linhagens crípticas (Olson *et al.* 2004; Mulvaney *et al.* 2005; Crews & Hedin 2006; Avise 2009).

Os eventos evolutivos que levaram a diversificação de espécies ou linhagens são diretamente relacionados à fisionomia e alteração dos ecossistemas onde esses organismos habitam (Burbrink *et al.* 2008) . Várias hipóteses têm sido postuladas para explicar a alta diversidade de espécies na Floresta Amazônica. Uma dessas hipóteses,

referida como “hipótese dos rios como barreiras”, postula que a formação dos grandes rios amazônicos devido ao soergimento dos Andes há aproximadamente cinco milhões de anos (Hoorn *et al.* 1995; Campbell *et al.* 2001), fragmentou populações com distribuição contínua em unidades isoladas, onde teria ocorrido a diferenciação. O efeito de rios como barreiras geográficas pode ser maior em espécies fossoriais, devido à baixa vagilidade, o que pode promover estruturação geográfica ou até mesmo especiação (Avice 2009).

Dixon & Hendricks (1979), na revisão das espécies de Typhlopidae Neotropicais, sugeriram a existência de dois conjuntos de populações de *Typhlops reticulatus*, um limitado a oeste (Colômbia, Equador, Peru e Centro-Oeste do Brasil) e outro a leste da América do Sul (Venezuela, Guiana, Guiana Francesa, Suriname e extremo Nordeste do Brasil). Esses autores trataram as diferenças morfológicas entre estes dois agrupamentos como resultantes de uma variação clinal das espécies, não propondo novos táxons, uma vez que esses resultados poderiam estar relacionados à variação sexual.

A utilização de marcadores moleculares para estabelecer padrões filogeográficos constitui uma abordagem alternativa para espécies que possuem poucos caracteres morfológicos diagnosticáveis para inferir relações históricas, estruturação geográfica e limites específicos, como no caso das espécies de *Typhlops* (Avice 2000; Bonnet & Chippindale 2004; Nyári 2007).

Neste trabalho, analisamos alguns caracteres morfológicos e a variabilidade genética das populações de *Typhlops reticulatus* propostas por Dixon & Hendricks (1979), buscando elucidar algumas questões sobre a variação intraespecífica destas serpentes fossoriais.

Material e métodos

Extração do DNA, amplificação, sequenciamento e alinhamento. Foram sequenciados 21 indivíduos de *Typhlops reticulatus* provenientes de várias localidades (Apêndice) (Tab. 1). Foram usadas como grupo externo as seguintes espécies de *Typhlops amoipira*, *T. brongersmianus*, *T. yonenagae*, *T. minuisquamus*, *T. lumbricalis*, *T. platycephalus* e *T. ocellaris*. A extração do DNA e o sequenciamento foram realizados no laboratório de Biologia Genômica e Molecular da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. O DNA foi extraído do fígado, músculo e escamas através do método padrão de fenol/clorofórmio (Hillis *et al.* 1990). Fragmentos do genoma mitocondrial foram amplificados usando os seguintes primers: Citocromo b (Cyt b) 7474 5' TCAAAYATCTCAACCTGATGAAAYTTYGG 3' e 7575 5' GGCAAATAGGAAGTATCAYTCTGGYTT 3 (desenhado para este projeto). Para Citocromo oxidase subunidade I (Coi) foi usado 7580 5' GCATTYCCACGAATAAATAAYATRAG 3' e 7582 5' CCTGTTGGAAAYTGCRATRATTAT 3' (desenhado para este projeto). A amplificação foi realizada via PCR (Polimerase Chain Reaction) no termociclador MJ Research Inc. Watertown, MA, USA seguindo os seguintes protocolos: 35 ciclos de denaturação em 94°C por 30s, anelamento em 50°C por 1 min e extensão em 72°C por 1 min 30s para Cyt b e Coi. Foi realizada eletroforese em gel de agarose (1%) de uma pequena alíquota de cada reação para verificar a eficiência e qualidade da amplificação. Os produtos do PCR foram purificados usando as enzimas EXO/SAP. Os produtos das amplificações foram sequenciados no sequenciador automático MegaBACE 1000 (GE Healthcare) utilizando os kits de terminadores marcados da GE Healthcare de acordo com as

especificações do fabricante. Ambas as fitas de cada fragmento de um mesmo espécime foram sequenciados para assegurar a acurácia das sequências utilizadas.

Os *reads* foram previamente analisados no programa Chromas 2.0 (disponível em www.technelysium.com.au/chromas.html) e em seguida os *contigs* foram montadas gerando uma sequência consenso para cada indivíduo utilizando o programa Geneious v. 4.7 (Drummond *et al.* 2009). As sequências consenso foram automaticamente alinhadas utilizando as configurações padrão do algoritmo de alinhamento múltiplo implementado no programa Clustal W (Thompson *et al.* 1997), incluído 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 & Maddison 2009).

Tabela 1

Análises estatísticas e filogenéticas. Composição nucleotídica, número de sítios variáveis e filogeneticamente informativos foram calculados usando o programa MEGA v4. 1 (Tamura *et al.* 2007). As árvores filogenéticas foram construídas usando Máxima Parcimônia (MP) e Máxima Verossimilhança (ML). MP foi realizada no programa TNT (Goloboff *et al.* 2003) utilizando para a busca das árvores os algoritmos de “New technology” (tree drift, tree fusion, sectorial search, ratchet e SPR/TBR) através do comandi “xmult” com *driven search*, configurada no nível 15. As buscas foram interrompidas quando o consenso estabilizou por cinco vezes. O suporte dos nós foi avaliado com 1000 replicações de bootstrap não-paramétrico. ML foi realizada no programa PHYML 3.0 (Guindon & Gascuel 2003) com 1000 replicações de bootstrap. O programa PHYML foi usado, uma vez que estima simultaneamente os parâmetros do modelo evolutivo, os tamanhos dos ramos e a árvore. O modelo de substituição

utilizado para as reconstruções filogenéticas foi estimado no programa jModeltest (Posada 2008), utilizando o critério de Akaike. A rede de haplótipo foi construída com o algoritmo de *Median-joining* no programa Network 4.5.6 (Bandelt *et al.* 1999).

Análise morfológica. Foram examinados 314 de espécimes de *Typhlops* (sendo 196 de *T. reticulatus*; cinco de *T. amoipira*; 74 de *T. brongersmianus*; um de *T. minuisquamus*; 12 de *Typhlops* sp nov. 1; dois de *Typhlops* sp nov.2; 3 de *Typhlops* sp 3) das seguintes instituições: Coleção de Vertebrados da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá; Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília (CHUNB), Brasília; Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Maranhão (HUFMA), São Luís; Instituto Butantan (IB), São Paulo; Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus; Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ), Museu Paraense Emilio Goeldi (MPEG), Belém; Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC), Campinas; Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), São Paulo; Museum of Comparative Zoology of Harvard University (MCZ), Boston (Apêndice).

A terminologia dos escudos cefálicos seguiu as definições de Wallach (2003) e para os caracteres merísticos e morfométricos foram seguidas as propostas de Dixon & Hendricks (1979) e Thomas & Hedges (2007). As medidas dos espécimes, apresentadas em milímetros, foram aferidas usando régua plástica e paquímetro digital.

Os hemipênis fixados em formol 10% foram preparados segundo a proposta de Pesantes (1994), enquanto que para animais recém-mortos foi seguida a proposta de Zaher & Prudente (1999). O material analisado encontra-se listado no Apêndice. A terminologia utilizada seguiu Branch (1986) e Zaher (1999). As ilustrações foram feitas usando estereomicroscópio e câmara lúcida.

Para o estudo da osteologia craniana, a pele da cabeça foi removida e os tecidos amolecidos com hidróxido de potássio 10% (KOH) para posterior retirada dos músculos. Foram feitas ilustrações das regiões dorsal, ventral e lateral dos crânios, usando câmara clara acoplada ao microscópio estereoscópico. A terminologia usada para osteologia craniana seguiu List (1966). O material preparado e analisado encontra-se listado no Apêndice.

Para avaliar a normalidade da distribuição dos dados de morfometria e folidose, foi usado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Assumindo a normalidade da distribuição, foi empregada uma análise de covariância para investigar a presença ou não de dimorfismo sexual na amostra. Foi usado sexo como fator, comprimento total como covariante e comprimento da cauda, comprimento e largura e comprimento da cabeça, largura e comprimento da rostral, diâmetro do olho, distância interorbital, distância entre o olho e a narina, largura do meio do corpo e largura do meio da cauda como variáveis dependentes. Para os caracteres de folidose (dorsais, ventrais e subcaudais) e morfometria (comprimento total) foi usado o Teste T de Student. Foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) para avaliar a diferenciação entre os grupos sem que houvesse definição de nenhum grupo *a priori*.

Resultados

Varição informativa O tamanho das sequências amplificadas para os fragmentos dos genes Cyt b e Coi foi 645 e 320pb, respectivamente, totalizando 961 pb. A composição média das bases girou em torno de: A= 30.7, C= 29.4, G= 11.8, e T= 28.1 para Cyt b; A= 27.8, C= 27.2, G= 15.1 e T= 29.9 Coi; e o padrão de variação nas taxas de substituição seguiu uma variação gamma ($\alpha= 0.9769$), conforme o modelo evolutivo

selecionado pelo programa jModeltest (HKY+I+G). A taxa transição/tranversão (ti/tv) foi de 3.61. Foram observados 209 sítios variáveis sendo 128 informativos para parcimônia em Coi e 292 sítios variáveis, sendo 193 informativos para parcimônia em Cyt b. Quatorze haplótipos foram encontrados em *T. reticulatus*, com diversidade haplotípica (HD): 0.8952 e diversidade nucleotídica (π) 0.04806.

Análise filogenética. As árvores filogenéticas estimadas pelos métodos de MP e ML foram semelhantes, as diferenças estão na posição e no suporte estatístico em alguns clados (Fig. 1).

Em todas as árvores observa-se a presença de dois clados: um clado ao sul do Rio Amazonas, incluindo 9 haplótipos exclusivos da calha sul do Amazonas (Mato Grosso, Rondônia, sul do estado do Amazonas e nordeste do Pará); e um clado ao norte do Rio Amazonas, incluindo 5 haplótipos (norte do Amazonas, Roraima e Guianas). Esses clados são corroborados por elevados valores de Bootstrap da árvore (91% clado do sul; 95% clado do norte) para análise de verossimilhança, enquanto que, para parcimônia os mesmos clados apresentam bootstrap inferior a 50%. Dentro do clado ao sul do Rio Amazonas, o haplótipo 1 apresentou a maior frequência para as localidades amostradas, porém as relações dentro do clado não tiveram um bom suporte estatístico. Foram feitas duas redes de haplótipos uma para Coi e outra para Cyt b. O resultado foi semelhante, porém somente a rede de haplótipos de Coi foi apresentada em função da sua maior amostragem. A rede de haplótipos indicou 12 passos mutacionais entre os clados ao sul e ao norte do Rio Amazonas (Fig. 2) e as relações entre os haplótipos foram muito similares as obtidas nas análises utilizando métodos filogenéticos.

O clado *Typhlops reticulatus* e *Typhlops* sp nov. A aparece como grupo-irmão do clado formado por ((*T. yonenagae* *T. amoipira*) *T. brongersmianus*), embora, o valor de Bootstrap seja baixo (33 %) para análise de verossimilhança (Fig. 1)

Figura 1

Figura 2

Morfologia hemipeniana. Foram observadas diferenças significativas na morfologia dos hemipênis entre as populações ao norte e ao sul do Rio Amazonas, que serão descritas a seguir.

***Typhlops reticulatus* (norte do Rio Amazonas) (Fig 3).** Hemipênis simples e alongado, com sulco espermático simples. Presença de uma fileira lateral de 8 a 10 espinhos em forma de gancho, justapostos, no terço apical, sendo o quarto e quinto maiores que os demais (região basal para apical). Em ambas as faces estão presentes cálices lamelares de diferentes tamanhos, sendo os da região apical menores que os da região mediana. No terço basal, as lamelas são maiores e mais distantes umas das outras, e não estão presentes cálices. Na região mediana da face não sulcada, as bordas dos cálices lamelares expandem-se formando pequenas e arredondas cristas. Sulco espermático profundo, com bordas pronunciadas, estende-se até a altura do último espinho lateral, onde termina sem alcançar o ápice do lobo. Quando invertido o hemipênis alcança a sétima escama subcaudal. O músculo *penis magnum* insere-se na porção apical e lateral do hemipênis, e para acomodar-se na pequena cauda, juntamente com o hemipênis, dobra-se de forma convoluta.

***Typhlops reticulatus* (sul do Rio Amazonas) (Fig. 4).** Hemipênis simples e alongado, com sulco espermático simples. Presença de uma fileira lateral de 7-8 espinhos em forma de gancho, justapostos, no terço apical, sendo o terceiro e/ou quarto (da região basal para apical) maiores que os demais. Em ambas as faces, presença de lamelas

pouco pronunciadas na região basal. Na face não sulcada, na região mediana próximo à fileira de espinhos, estão presentes lamelas de diferentes tamanhos. Algumas lamelares fusionam-se formando pequenas e pronunciadas cristas. Sulco espermático profundo, com bordas pronunciadas, estende-se até a região apical onde termina próximo ao último espinho lateral (da região basal para apical). Na face sulcada, a borda o lobo expandem-se formando uma aba que se projeta em direção à fileira de espinhos, para constituir uma bolsa apical, onde desemboca o sulco espermático. Em ambas as faces, a região apical do lobo não apresenta ornamentação. Quando invertido o hemipênis alcança a oitava escama subcaudal. O músculo *penis magnum* insere-se na porção apical do hemipênis e acomoda-se na pequena cauda, juntamente com o hemipênis, de forma convoluta.

Figura 3

Figura 4

Baseado nos resultados moleculares, na morfologia hemipeniana e na distribuição disjunta, restringimos o conceito de *Typhlops reticulatus* para a população que ocorre ao norte do Rio Amazonas (neótipo designado por Dixon & Hendricks (1979) descrito para o Suriname, no escudo das Guianas) e descrevemos como nova a espécie presente ao sul do Rio Amazonas, antes identificada como *T. reticulatus*.

***Typhlops reticulatus* (Linnaeus, 1758)**

Anguis reticulata Linnaeus, 1758, localidade-tipo: “América”.

Anguis rostralis Weigel, 1782

Anguis nasutus Gmelin, 1789

Anguis crocotatus Schneider, 1801

Anguis rostratus Daudin, 1803: 316

Typhlops reticulatus - Duméril & Bibron 1844: 282

Agryrophis reticulatus - Gray, 1845: 137

Ophthalmidion crassum - Duméril in Duméril & Duméril, 1851: 202

Typhlops reticulatus troscheli Jan, in Jan & Sordelli, 1863: 11 (1860-1866)

Typhlops reticulatus flavescens Jan, in Jan & Sordelli, 1864: 4 (1860-1866)

Typhlops reticulatus nigrolactea Jan, in Jan & Sordelli, 1864: 4 (1860-1866)

Typhlops reticulatus - Boulenger, 1893: 27

Diagnose revisada. *Typhlops reticulatus* distingue-se das demais espécies do gênero por apresentar o seguinte conjunto de caracteres: dorso marrom ou negro, com a base das escamas creme-amareladas dando ao conjunto um aspecto reticulado; focinho creme amarelado; dorso da cauda negra ou marrom com manchas creme ou amarela; espinho terminal escuro; ventre amarelo ou creme, sem manchas; 20-20-18 escamas dorsais ao redor do corpo; 9-11 fileiras de escamas dorsais pigmentadas; hemipênis com uma fileira lateral de 8-10 espinhos e presença de cálices lamelares ao longo do corpo.

Typhlops reticulatus diferencia-se de *T. brongersmianus* por apresentar maior comprimento total (536 mm vs 325 mm), coloração marrom ou negra com a base das escamas creme-amareladas dando um aspecto reticulado (vs coloração marrom sem retículo) e zona de contato entre as regiões ventral e dorsal regular e uniforme (vs transição entre região dorsal e ventral irregular e não uniforme, ocupando uma ou duas escamas). Diferencia-se de *T. ampoipira*, *T. yonenagae* e *T. paucisquamus* por apresentar 20-20-18 (vs 18-18-18) e de *T. minusquamus* por apresentar 20-20-18 (vs redução que pode variar de 20-18-14 ou 18-18-14 ou 18-14-12). Distingue-se de *T. costaricensis*, *T. lehneri*, *T. microstomus*, *T. tenuis* e *T. trinitatus* por apresentar sutura nasal incompleta (vs sutura nasal completa).

Redescrição do neótipo (RMNH 7660) (Fig. 5). Macho. Comprimento rostro-cloacal 193 mm. Comprimento da cauda 7 mm. Largura da cabeça 6.31 mm. Comprimento da cabeça 6.61 mm. Altura da cabeça 4.01 mm. Diâmetro do meio do corpo horizontal 9.16 mm e vertical 7.74 mm. 224 ventrais. 225 dorsais. 11 subcaudais. 20-20-18 escamas ao redor do corpo. Um par de pós-oculares. Dois pares de parietais. Rostral mais longa que larga retangular em vista dorsal. Nasal parcialmente dividida, sutura nasal inicia-se na segunda supralabial e termina no terço posterior da escama nasal. Um par de pós-oculares, dois pares de parietais. O espécime foi fixado em estágio de troca de pele, por isso apresenta coloração do dorso cinza com uma mancha amarela na cauda, região rostral amarela e ventre amarelo.

Figura 5

Descrição geral e variação. Rostral retangular ou arredondada em vista dorsal, lateralmente em contato com as escamas nasais. Rostral seguida por frontal triangular, uma pós-frontal menor que a frontal e interparietal com a borda posterior mais arredondada que as demais. Nasal parcialmente dividida em pré-nasal e pós-nasal por uma sutura incompleta que se inicia na segunda supralabial e termina antes de alcançar a rostral. Um par de pós-oculares, dois pares de parietais. Escamas dorsais ao redor do corpo 20-20-18 (78.57%), podendo ocorrer 22-20-18 (1.76%), 20-20-20 (21.4%). Dorsais 221-270 (n= 35) em machos e 242-295 (n= 33) em fêmeas. Ventrais 217-256 (n= 35) em machos e 241-286 (n= 33) em fêmeas. Subcaudais 10-14 (n= 35) em machos e 9-11 (n= 33) em fêmeas. Comprimento rostro-cloacal 202-420 mm (\bar{x} = 302.45; SD= 265.65; n= 35) em machos e 243-525 mm (\bar{x} = 356.77; SD= 82.17; n= 33) em fêmeas. Comprimento da cauda 8–15 mm (\bar{x} = 10.77; SD= 11.17; n= 35) em machos e 7–15

mm (\bar{x} = 9.72; SD= 2.38; n= 33) em fêmeas. Comprimento da cabeça 10.01–15.68 mm (\bar{x} = 12.37; SD= 12.47; n= 35) em machos e 9.91-17.38 mm (\bar{x} = 12.81; SD= 2.40; n= 33) em fêmeas. Largura da cabeça 6.08–10.18 mm (\bar{x} = 7.78; SD= 1.27; n= 35) em machos e 6.06-11.73 mm (\bar{x} = 8.5; SD= 1.80; n= 33) em fêmeas. Comprimento da rostral 6.02- 10.58 mm (\bar{x} = 7.66; SD= 1.28; n= 35) em machos e 6.68 - 10.46 mm (\bar{x} = 8.23; SD= 1.46; n= 33) em fêmeas. Largura da rostral 1.85–3.35 (\bar{x} = 2.47; SD= 0.45; n= 35) em machos e 2.14-3.97 (\bar{x} = 2.76; SD= 0.56; n= 33) em fêmeas. Diâmetro do olho: 0.96-1.91 mm (\bar{x} = 1.35; SD= 0.29; n= 35) em machos e 1.07-1.91 mm (\bar{x} = 1.39; SD= 0.26; n= 33) em fêmeas. Distância interorbital 4.6-7.88 mm (\bar{x} = 5.7; SD= 0.98; n= 35) em machos e 4.6-8.26 mm (\bar{x} = 6.02; SD= 1.17; n= 33) em fêmeas. Distância entre o olho e a narina 2.65-4.88 mm (\bar{x} = 3.61; SD= 0.67; n= 35) em machos e 2.95-5.2 (\bar{x} = 3.86; SD= 0.69; n= 33) em fêmeas. Largura do meio do corpo 8.23-17.79 mm (\bar{x} = 12.74; SD= 2.81; n= 35) em machos e 10.71-21.44 (\bar{x} = 14.90; SD= 3.74; n= 33) em fêmeas. Largura do meio da cauda 5.89-12.12 (\bar{x} = 8.12; SD= 1,74; n= 35) em machos e 5.96-13.06 (\bar{x} = 8.32; SD= 2.25; n= 33) em fêmeas (Tab. 2).

Alguns caracteres merísticos (número de escamas dorsais e ventrais) e morfométricos (comprimento total, comprimento da cauda, comprimento da cabeça e distância entre olho e a narina) apresentaram diferenças significativas entre os sexos (Tab. 3).

Tabela 2

Tabela 3

Padrão de desenho e coloração (Fig. 6). Coloração marrom ou negra na região dorsal, com a base das escamas amareladas dando ao conjunto um aspecto reticulado. Região anterior aos olhos creme (cada escama possui as margens amareladas) e focinho creme

amarelado. Cauda negra ou marrom na parte dorsal, com manchas amarelas ou brancas variáveis no tamanho podendo ocupar quase toda a cauda ou apenas o meio da cauda. Espinho terminal marrom escuro. Região ventral do corpo amarelo uniforme, branco ou creme.

Figura 6

Osteologia craniana (Fig. 7). Não foram encontradas diferenças congruentes com o padrão de distribuição de *Typhlops reticulatus* e *Typhlops* sp nov. A , por isso apresentamos abaixo somente a descrição da osteologia craniana de *Typhlops reticulatus*. O complexo nasal é formado pelos ossos nasais, septomaxilares, vômeres, pré-frontais e o pré-maxilar. A abertura nasal está posicionada antero-ventralmente, sendo delimitada pelo pré-maxilar e pré-frontal lateralmente, pelo septomaxilar ventralmente e pelos nasais dorsalmente. *Nasais* com inflexão na região da sutura sagital; contato com o pré-frontal lateralmente e anteriormente com o pré-maxilar; com quatro forames na lâmina dorsal, que servem de passagem para o nervo *apicalis nasi* que tem função senso-receptora. *Septomaxilares* contactam lateralmente com o pré-frontal e com o pré-maxilar; processo vomeriano do pré-maxilar se insere entre as duas partes do septomaxilar; com os vômeres formam uma cápsula óssea que protege o órgão de Jacobson. Região anterior do *vômer* afilada, expandindo na região medial onde localizam dois forames vomeronasais; região posterior afila-se formando uma estrutura em forma de gancho que oclui o ducto do órgão de Jacobson. *Pré-maxilar* com processos transversos curtos e pontiagudos; contata com os nasais por um processo nasal curto e arredondado e com os vômeres por um processo em longo e pontiagudo no formato de um triângulo; com sete forames pré-maxilares. *Pré-frontais* em forma de concha; contata dorso-lateralmente com os nasais, dorso-posteriormente com os frontais e ventro-lateralmente com os septomaxilares.

O complexo órbito-temporal é formado pelos seguintes ossos: frontais, parietal e quadrados. *Frontais* localizam-se na região anterior, estendem-se ventralmente em direção oblíqua formando a parede lateral da caixa craniana e a parede interna da órbita; borda anterior com crista pronunciada, que participa da articulação entre o complexo nasal e os frontais. *Parietais* fusionados; em contato com os frontais anterodorsalmente, com o proótico postero-lateralmente e com o supraoccipital posteriormente; bordas laterais alargam-se na direção ventral onde entra em contato com o basiesfenóide, formando o teto e as paredes laterais do crânio; margem pósteroventral com uma concavidade que forma a borda anterior do forame do nervo trigêmeo. Extremidade posterior do *quadrado* pouco expandida conectando ao exoccipital; e extremidade anterior bifurcando-se em dois processos: um processo supracolumelar mais longo e outro articular mais curto.

O complexo ótico-occipital é formado pelos seguintes ossos: exoccipitais, proótico, supraoccipitais e basioccipital. *Exoccipitais* curva-se em direção ventral formando a parede lateral do forame magno; em contato com o basioccipital, separando a região posterior desse osso do proótico. *Supraoccipitais* retangular localizados na região pósterodorsal do crânio; presença de um forame próximo a sutura mediana que divide os supraoccipitais. *Proóticos* cobrem toda a região ótica; em contato com todos os três ossos da região occipital posteriormente e com o parietal e basiesfenóide anteriormente; presença de um forame entre o proótico e o parietal, que serve de saída dos ramos do maxilar e da mandíbula do nervo trigêmeo. *Basioccipital* em forma de triângulo invertido, com a base em contato com o basiesfenóide, lateralmente com os proóticos e posteriormente com a parte ventral dos exoccipitais; região posterior participa da formação do forame magno.

Basiesfenóide é o principal osso do teto do crânio; mais largo posterior do que anteriormente; região medial com duas pequenas expansões, que diminuem de tamanho gradualmente em direção anterior; extremidade anterior separada do vômer por uma vacuidade mediana; região latero-posterior com ou sem fenestra.

O arco palato-maxilar é formado pelos maxilares, pterigóides e palatinos. *Maxilares* em forma triangular, conectado dorsalmente ao pré-frontal e ao septomaxilar por um ligamento; curto processo articular, com presença de um sulco na região dorsal; três a cinco dentes pequenos e curvos. *Pterigóides* longos e finos; extremidade anterior bifurcada em dois processos: um processo externo mais longo que se articula com o vômer e outro interno que se articula com o palatino; extremidade posterior afilada e não faz contato com o quadrado. *Palatino* sem dentes; com três processos: o maxilar com extremidade arredondada e se articula com o osso do maxilar através de um forame localizado na sua região ventral; o vomeriano que é o mais longo e que tem a forma de um arco e faz contato com a lâmina posterior do vômer; e o processo pterigóide, o mais curto e achatado lateralmente, localiza-se na região medial e se articula com o pterigóide. *Mandíbula* arqueada, sendo as hemimandíbulas rigidamente conectadas. *Dentário* reduzido e sem dente, localizado na extremidade anterior da mandíbula contendo três forames. *Ossos compostos* com arqueamento dorsolateral; com um processo retroarticular na extremidade posterior; presença de um cótilo (um declive ósseo na extremidade posterior do osso composto) que se conecta com o quadrado; medial e anteriormente ao cótilo, existe uma fossa adutora muito profunda; forame supra-angular presente em uma depressão na região dorso lateral próximo ao coronóide. *Esplénio* bem desenvolvido; em forma triangular; em contato com o dentário anteriormente, com o osso composto medialmente e com o angular posteriormente. *Angular* forma triangular ou arredondado, podendo ser bem reduzido, quase imperceptível. *Coronóide*

forma triangular, com um vértice proeminente formando o processo coronóide que auxilia na sustentação do dentário.

Figura 7

Distribuição geográfica (Fig. 8). *Typhlops reticulatus* ocorre em toda porção setentrional da América do Sul incluindo a Venezuela, Colômbia, Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Brasil. No Brasil, a espécie está limitada à calha norte do Rio Amazonas, nos estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima. Dixon & Hendricks (1979) registraram a espécie para o Estado do Ceará com base na análise de um espécime (IB 20336). Entretanto, analisando esse material, concluímos que não se trata de *Typhlops reticulatus*, uma vez que não apresenta a base das escamas dorsais do corpo amareladas e o padrão de mancha típico da cauda. Desta forma, restringimos a ocorrência de *T. reticulatus* à calha norte do Rio Amazonas.

Figura 8

***Typhlops* sp nov. A**

Holótipo. Universidade Federal do Mato Grosso- UFMT 6225 coletado no município de Conquista D'Oeste, Mato Grosso, Brasil.

Parátipos. Ver apêndice.

Diagnose. *Typhlops* sp nov. A distingue-se das demais espécies de gênero por apresentar o seguinte conjunto de caracteres: dorso marrom ou negro, com a base das escamas creme-amareladas; focinho creme amarelado; dorso da cauda negra ou marrom com manchas creme ou amarela; espinho terminal escuro; ventre amarelo ou creme, sem manchas; 20-20-18 escamas dorsais ao redor do corpo; 9 fileiras de escamas

dorsais pigmentadas; hemipênis com 7-9 espinhos justapostos na região distal do corpo, presença de cálices lamelares na região mediana do corpo e região basal desnuda.

Typhlops sp nov. A diferencia-se de *T. brongersmianus* por apresentar maior tamanho corporal (tamanho total 525 mm vs 325 mm), coloração marrom ou negra com base das escamas amareladas, apresenta a zona de contato entre as regiões ventral e dorsal com coloração regular e uniforme (vs transição entre região dorsal e ventral ocupa uma ou duas escamas). Distingue-se de *T. reticulatus* por apresentar hemipênis com 7-8 espinhos justapostos na região distal do corpo, borda apical do lobo pronunciada para formar uma bolsa, ausência de cálices lamelares na região mediana do corpo e região basal com lamelas pouco pronunciadas (vs hemipênis com 8-10 espinhos justapostos na região medial, ausência de bolsa apical, presença de cálices lamelares ao longo do corpo e região basal com lamelas bem definidas). Diferencia-se de *T. ampoipira*, *T. yonenagae* e *T. paucisquamus* por apresentar 20-20-18 (vs 18-18-18) e de *T. minuisquamus* por apresentar 20-20-18 (vs redução que pode variar de 20-18-14 ou 18-18-14 ou 18-14-12). Difere-se de *T. costaricensis*, *T. lehneri*, *T. microstomus*, *T. tenuis* e *T. trinitatus* por apresentar sutura nasal incompleta (vs sutura nasal incompleta).

Descrição do Holótipo. UFMT 6225, Fêmea. Comprimento rostro-cloacal 461 mm. Comprimento da cauda 12 mm. Comprimento 13.51 mm e largura da cabeça no nível dos olhos 9.69 mm. Largura no meio do corpo 17.8 mm e largura do meio da cauda 9.81 mm. Comprimento 9.87 mm e largura da rostral 4.13 mm. Diâmetro do olho 1.91 mm. Distância interorbital 7.46 mm. Distância entre olho e narina 4.77 mm. 20-20-20 fileiras de escamas ao redor do corpo. 280 escamas dorsais entre a escama rostral e o espinho terminal. 290 ventrais, 8 subcaudais, 9 fileiras de escamas pigmentadas. Rostral oval,

mais longa que larga, se estende da região ventral até terço anterior da cabeça na região dorsal, ocupando aproximadamente um terço da largura da cabeça (Fig. 9).

Figura 9

Descrição geral e variação. A escama rostral pode ser retangular ou arredondada em vista dorsal e lateralmente em contato com as escamas nasais. Seguida por uma escama frontal triangular, uma pós-frontal menor que a frontal e interparietal com a borda posterior mais arredondada que as demais. Escama nasal parcialmente dividida em pré-nasal e pós-nasal por uma sutura incompleta que inicia na segunda supralabial e termina antes de alcançar a rostral. Um par de pós-oculares, dois pares de parietais. Escamas dorsais ao redor do corpo 20-20-18 (63.4%), podendo ocorrer 20-20-19 (6.08%), 20-20-20 (26.95%). Dorsais 228-292 (n= 35) em machos e 230-295 (n= 33) em fêmeas. Ventrals 219-277 (n= 35) em machos e 256-290 (n= 33) em fêmeas. Subcaudais 10-14 (n= 35) em machos e 8-14 (n= 33) em fêmeas. Comprimento rostro-cloacal 141-417 mm (\bar{x} = 322.09; SD= 69.40; n= 35) em machos e 130-525 mm (\bar{x} = 333.41; SD= 83.98; n= 33) em fêmeas. Comprimento da cauda 4–16 mm (\bar{x} = 11.03; SD= 2.40; n=35) em machos e 4–13 mm (\bar{x} = 9.5; SD= 2.39; n=33) em fêmeas. Comprimento da cabeça 7.02–15.14 mm (\bar{x} = 12.22; SD= 1.95; n= 35) em machos e 7.7-14.77 mm (\bar{x} = 12.26; SD= 1.78; n= 33) em fêmeas. Largura da cabeça 4.41–9.67 mm (\bar{x} = 7.86; SD= 1.40; n= 35) em machos e 4.31-10 mm (\bar{x} = 8.08; SD= 1.49; n= 33) em fêmeas. Comprimento da rostral 4.11- 11 mm (\bar{x} = 8.09; SD= 1.60; n= 35) em machos e 3.9 – 9.87 mm (\bar{x} = 7.72; SD= 1.47; n= 33) em fêmeas. Largura da rostral 1.53–3.42 (\bar{x} = 2.67; SD= 0.49; n= 35) em machos e 1.13-4.13 (\bar{x} = 2.73; SD= 0.65; n= 33) em fêmeas. Diâmetro do olho: 0.98-2.0 mm (\bar{x} = 1.52; SD= 0.31; n= 35) em machos e 0.8-1.97 mm (\bar{x} = 1.52; SD= 0.30; n= 33) em fêmeas. Distância interorbital 3.14-7.28 mm (\bar{x} = 5.83; SD= 0.96; n= 35) em machos e 2.1-7.46 mm (\bar{x} = 5.84; SD= 1.18; n= 33) em fêmeas. Distância entre

o olho e a narina 2.12-4.52 mm (\bar{x} = 3.59; SD= 0.62; n= 35) em machos e 1.82 – 4.77 (\bar{x} = 3.76; SD= 0.73; n= 33) em fêmeas. Largura do meio do corpo 5.49-15.73 mm (\bar{x} = 11.72; SD= 2.51; n= 35) em machos e 5.08-17.8 (\bar{x} = 12.46; SD= 3.34; n= 33) em fêmeas. Largura do meio da cauda 6.73-11.49 (\bar{x} = 9.88; SD= 1,37; n=35) em machos e 2.66 -10.52 (\bar{x} = 8.32; SD= 2.01; n= 33) em fêmeas (Tab. 3).

Tabela 3

Na análise do dimorfismo sexual, o número de subcaudais, comprimento da cauda e largura do meio da cauda apresentaram diferenças significativas (Tab. 4).

Tabela 4

Padrão de desenho e coloração (Fig. 10). Padrão de coloração semelhante ao de *T. reticulatus*, sendo a região dorsal marrom ou negra, com a base das escamas amareladas; focinho creme amarelado; cauda negra ou marrom na parte dorsal, com manchas amarelas ou brancas variáveis no tamanho; espinho terminal de cor escura; região ventral amarelo uniforme, branco ou creme.

Figura 10

Distribuição geográfica (Fig. 8). *Typhlops* sp nov. A está presente na calha sul do Rio Amazonas na Bolívia, Equador, Peru e Brasil. No Brasil está presente ao sul do Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, sul do Pará e Rondônia.

Existe a possibilidade dos nomes atribuídos a *Typhlops reticulatus* (*A. nasutus*, *A. crocotatus*, *O. crassum*, *T. troscheli*, *T. nigrolactea* e *T. flavescens*) serem aplicados a *Typhlops* sp nov. A . Esses táxons foram descritos sem a localidade-tipo, por isso faz-se necessário o exame desses tipos para o possível aproveitamento dos nomes para o uso da espécie da calha sul do rio Amazonas.

Discussão

O reconhecimento de espécies crípticas, detectadas pelo uso de estudos do DNA mitocondrial, tem aumentado ao longo dos anos (Avice *et al.* 1987; Slade & Moritz 1998; Bergmann & Russel 2007; Brown *et al.* 2009). O DNA mitocondrial tem a vantagem de ser não-recombinante e ter um pequeno tamanho efetivo, que leva a uma rápida coalescência, fixando os polimorfismos, mesmo quando outras características nucleares ainda não estão fixadas em espécies recentes (Wiens & Penkrot 2002; Hudson & Turelli 2003). Assim, estudos com DNA mitocondrial são úteis para estabelecer os limites específicos em diversos grupos (Mulcahy & Mendelson 2000; Dawood *et al.* 2002).

Da mesma forma, estudos com espécies que possuem grande distribuição geográfica têm revelado uma história evolutiva mais complexa do que comumente se imaginava (Joseph & Moritz 1994; Burbrink *et al.* 2008). Estas espécies ocupam uma variedade de habitats e o efeito destes, com histórias geológicas e processos de alterações fisiográficas e climáticas distintas, podem influenciar os cenários evolutivos, que levam a forte estruturação geográfica e, conseqüentemente, a especiação (Avice 1998, 2000). Porém, nem sempre a especiação é acompanhada de diferenciação morfológica. Espécies fossoriais, provavelmente, apresentam restrições seletivas para adaptação a vida subterrânea, as quais certamente limitam os polimorfismos morfológicos (Bickford *et al.* 2007).

Recentes estudos moleculares têm revelado diversos casos de linhagens geneticamente divergentes, mas morfológicamente crípticas (Kuch *et al.* 2005; Daniels *et al.* 2009).

Entretanto, mesmo antes do avanço das técnicas de sequenciamento de DNA, espécies já eram descritas com base em evidências moleculares. Hedges & Thomas

(1991), por exemplo, descreveram *Typhlops hypomethes* baseado no método de eletroforese de proteína e, recentemente, os mesmos autores (Thomas & Hedges, 2007) descreveram várias outras espécies de *Typhlops* das ilhas do Caribe, com base em evidências moleculares e caracteres morfológicos bem sutis, para separação de espécies.

De fato, diversos estudos moleculares mostram que complexos de espécies crípticas estão presentes em vários grupos de vertebrados, como os anfíbios (Austin *et al.* 2002; Stuart *et al.* 2006; Fouquet *et al.* 2007; Brown *et al.* 2009), lagartos (Daniels *et al.* 2009; Oliver *et al.* 2008), serpentes (Hedges & Thomas 1991; Feldman & Spicer 2002; Thomas & Hedges 2007) e aves (Omland *et al.* 2002).

Os resultados aqui obtidos apontam para o reconhecimento de duas espécies crípticas, anteriormente consideradas, por Dixon e Hendricks (1979), como populações de *Typhlops reticulatus*. As duas linhagens mitocondriais claramente distintas são corroboradas por caracteres da morfologia hemipeniana e pela distribuição alopátrica das duas espécies. Os elevados valores de bootstrap demonstram que os dois clados, na análise de Máxima Verossimilhança, são estáveis. Estes dados reforçam que a estruturação genética foi gerada por um evento cladogênico, provavelmente antigo, que se estendeu por tempo suficiente para ocorrer à separação completa dessas linhagens. No entanto, a estruturação interna das linhagens não apresentou um padrão facilmente identificável. A inclusão de mais amostras de outras localidades para cada linhagem, provavelmente levaria a uma melhor definição dos padrões de estruturação genética; assim como, o aumento da matriz molecular pela adição de um maior número de fragmentos gênicos, provavelmente aumentaria o suporte estatístico dentro dos dois clados.

Segundo Sites e Marshall (2004) e De Queiroz (2007) existem algumas suposições que apóiam o reconhecimento de espécies crípticas. Estas se baseiam na

necessidade de integrar diversos conjuntos de dados (morfológicos, moleculares, etc.) para inferir os limites específicos. Para Wiens e Penkrot (2002) a definição de espécies crípticas pode ser baseada apenas em estudos utilizando DNA mitocondrial, uma vez que haplótipos mitocondriais não podem ser compartilhados pelas supostas espécies. No estudo aqui apresentado, foi demonstrado que o reconhecimento de *Typhlops* sp nov. A se enquadra nesses dois casos.

O número de mutações (12) encontradas entre *T. reticulatus* e *Typhlops* sp nov. A, foi semelhante ao encontrado para duas linhagens de *Bothrops jararaca* (14 mutações; Grazziotin *et al.* 2006) e entre as subespécies de *Hypsiglena torquata* (12 mutações; Mulcahy 2008). Mulcahy (2008), associando os resultados moleculares às análises morfológicas, propôs algumas mudanças taxonômicas, elevando *Hypsiglena torquata*, *H. affinis*, *H. jani*, *H. chlorophaea* e *H. ochrorhyncha* a categoria específica.

Várias hipóteses têm sido propostas para explicar o padrão de distribuição das espécies da bacia Amazônica (Haffer 1969, 1997; Bush 1994; Moritz *et al.* 2000; Cheviron *et al.* 2005; Wuster *et al.* 2005a). Entre elas, a hipótese dos gradientes (Endler 1977; Mallet 1993), a paleogeográfica (Chapman 1917, Emsley 1965; Nores 1999), a dos rios como barreiras (Wallace 1852; Caparella 1988), a dos refúgios florestais (Haffer 1969; Simpson & Haffer 1978; Prance 1982a; Whitmore & Prance 1987) e dos distúrbios-vicariância (Colinvaux 1993; Colinvaux *et al.* 1996).

O padrão de distribuição de *Typhlops reticulatus* e *Typhlops* sp nov. A é congruente com os padrões encontrados em algumas espécies amazônicas de serpentes (*Atractus zidoki* e *A. hoogmoedi*, Prudente & Passos *no prelo*), 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 Amazonas pode representar uma barreira para a dispersão desses grupos.

Com base nessas evidências, a distribuição disjunta de *T. reticulatus* e *Typhlops* sp nov. A pode ter sido ocasionada pela reorientação da drenagem Amazônica no Mioceno, causada pelo soerguimento dos Andes e incursões marinhas, que pode ter sido um evento vicariante para o ancestral das duas espécies (Lovejoy *et al.* 1998, 2006).

Casos semelhantes, em que padrões de distribuição de vários pares de espécies de répteis podem ser explicados pela presença de um grande rio, 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 mais um par de espécies vicariantes presentes nas dunas do Rio São Francisco.

No entanto, alguns estudos ao longo do Rio Juruá, afluente do médio Amazonas, incluindo a análise da variação genética e morfológica de anfíbios (Gascon *et al.* 1996, 1998; Loughheed *et al.* 1999) e de pequenos mamíferos (Patton *et al.* 1994; Gascon 1996; Gascon *et al.* 2000), revelaram que os rios não representam barreiras para a dispersão desses organismos. Esse fato também foi observado por Maschio *et al.* (2009) que registraram a dispersão aquática de duas espécies amazônicas estritamente fossoriais (*Amphisbaena amazonica* e *A. alba*), na baía de Caxiuanã, baixo Amazonas.

Na hipótese filogenética dos Typhlopidae proposta por Vidal *et al.* (2010), *Typhlops reticulatus* apareceu como grupo-irmão de *Typhlops brongersmianus*, com tempo de divergência com cerca de 25 milhões de anos. Nos resultados aqui obtidos, *T. reticulatus* e *T. sp nov. A* formam um clado monofilético e irmão de ((*T. yonenagae* *T. amoipira*) *T. brongersmianus*). A provável proximidade entre *T. yonenagae* e *T. amoipira* (similaridade morfológica, preferências ecológicas e distribuição geográfica) já havia sido relatada por Rodrigues e Juncá (2002). A inclusão de mais amostras e

datação molecular dos táxons sul-americanos, assim como a análise dos caracteres morfológicos, será fundamental para obtenção de uma hipótese filogenética mais robusta, que possa explicar os reais eventos responsáveis pela atual distribuição das espécies de *Typhlops*.

Agradecimentos

Agradecemos Philippe Kok, Vinicius Tadeu de Carvalho e as seguintes instituições: Louisiana State University, Royal Ontário Museum e American Museum of Natural History pela doação de amostras de tecido. Marinus Hoogmoed pelas fotos e medidas do neótipo de *Typhlops reticulatus*. Agradecemos também Wolmar Wosiacki, Gleomar Maschio, João Costa e Pedro Peloso pela leitura crítica do manuscrito e ao Darlan Tavares Feitosa pelas ilustrações. A primeira autora foi financiada pela CAPES, PROCAD e PROF.

Literatura citada

Albert, E. M.; Zardoya, R.; García-París, M. (2007) Phylogeographical and speciation patterns in subterranean worm lizards of the genus *Blanus* (Amphisbaenia: Blanidae). *Molecular ecology*, 16, 1519 -1531.

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.

Austin, J. M.; Lougheed, S. C.; Neidrauer, L.; Chek, A. A.; Boag, P. T. (2002) Cryptic lineages in a small frog: the post-glacial of the spring peeper, *Pseudacris crucifer* (Anura: Hylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25/2, 316-329.

Avila-Pires, T. C. S. (1995) *Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata)*. Zoologische Verhandlungen Leiden 299, 1-706.

Avice, J. C. (1998) The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology*, 7, 771-779.

Avice, J. C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Avice, J. C. (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36, 1-15.

Avise, J. C.; Arnold, J.; Ball, R. M.; Bermingham, E.; Lamb, T.; Neigel, J. E.; Reeb, C. A.; Saunders, N. C. (1987) Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 489–522.

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

Bergmann, P. J. & Russel, A. P. (2007) Systematics and biogeography of the widespread Neotropical gekkonid genus *Thecadactylus* (Squamata), with the description of a new cryptic species. *Zoological journal of Linnean society*, 149, 339-370.

Bickford, D.; Lohman, D. J.; Sodhi, N. S.; Ng, P. N. L.; Meier, R.; Winker, K.; Ingram, K. K.; Das, I. (2007) Cryptic species as a window on diversity and conservation. [Trends in Ecology & Evolution](#), 22/3, 148-155.

Bonnet, R. M. & Chippindale, P. T. (2004) Speciation, phylogeography and evolution of life history and morphology in plethodontid salamanders of the *Eurycea multiplicata* complex. *Molecular ecology*, 13, 1189-1203.

Branch, W. R. (1986) Hemipenial morphology of African snakes: A taxonomic review part 1. Scolecophidia and Boidae. *Journal of Herpetology*, 20/ 3, 285-299.

Brown, R. M.; Siler, C. D.; Diesmos, A. C.; Alcala, A. C. (2009) Philippine frogs of the genus *Leptobrachium* (Anura: Megophryidae): Phylogeny based species delimitation, taxonomic review, and description of three species. *Herpetological monographs*, 23, 1-44.

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.

Bush, M. B. (1994) Amazonian speciation: a necessarily complex model. *Journal of Biogeography*, 21, 5–17.

Campbell, K. E.; Heizler, M.; Frailey, C. D.; Romero-Pittman, L.; Prothero, D. R. (2001) Upper Cenozoic chronostratigraphy of the southwestern Amazon basin. *Geology*, 29, 595–598.

Capparella, A. P. (1988) Genetic variation in Neotropical birds: implications for the speciation process. In *Acta XIX Congressus Internationalis Ornithologici. International Ornithological Congress*, Ottawa, pp. 1658–1664

Chapman, F. M. (1917) The distribution of bird-life in Colombia. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 36, 1–729.

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.

Colinvaux, P. A. (1993) Pleistocene biogeography and diversity in tropical forests of South America. In P. Goldblatt, *Biological relationships between Africa and South America*. Yale Univ. Press, New Haven, CT, pp. 473–499.

Colinvaux, P. A.; Oliveira, P. E.; Moreno, J. E.; Miller, M. C.; Bush, M. B. (1996) A long pollen record from lowland Amazonia: forest and cooling in glacial times. *Science*, 274, 85–88.

Crews, S. C. & Hedin, M. 2006 Studies of morphological and molecular phylogenetic divergence in spiders (Araneae: *Homalonychus*) from the American southwest, including divergence along the Baja California Peninsula. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38, 470- 487.

Daniels, S. R.; Heidman, N. J. L.; Hendricks, M. G. J. (2009) Examination of evolutionary relationships in the Cape fossorial skink species complex (Acontinae: *Acontias meleagris meleagris*) reveals the presence of five cryptic lineages. *Zoologica Scripta*, 38, 449-463.

Dawood, A.; Channing, A.; Bogart, J. P. (2002) A molecular phylogeny of the frog genus *Tomopterna* in Southern Africa: examining species boundaries with mitochondrial 12S Rrna sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22, 407–413.

De Queiroz, K. (2007) Species concepts and species delimitation. *Systematic biology*, 56, 879–886.

Dixon, J. R. & Hendricks, F. S. (1979) The wormsnakes (Family Typhlopidae) of the Neotropics, exclusive of the Antilles. *Zoologische Verhandelingen*, 173, 3-39.

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/>.

Emsley, M. G. (1965) Speciation in *Heliconius* (Lep. Nymphalidae): morphology and geographic distribution. *Zoologica*, 50,191–254.

Endler, J. (1977) *Geographic variation, speciation, and clines*. Monographs in Population Biology no. 10. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ.

Feldmann, C. R. & Spicer, G. S. (2002) Mitochondrial Variation in Sharp-Tailed Snakes (*Contia tenuis*): Evidence of a Cryptic Species. *Journal of herpetology*, 36/4, 648-655.

Fouquet, A.; Vences, M.; Salducci, M. D.; Meyer, A.; Marty, C.; Blanc, M.; Gilles, A. (2007) Revealing cryptic diversity using molecular phylogenetics and

phylogeography in frogs of the *Scinax rubber* and *Rhinella margaritifera* species groups. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43/2, 567-582.

Gascon, C. (1996) Amphibian litter fauna and river barriers in flooded and non-flooded Amazonian rain forest. *Biotropica*, 28, 136–140.

Gascon, C.; Loughheed, S.C.; Bogart, J.P. (1996) Genetic and morphological variation in *Vanzolinius discodactylus*: a direct test of the riverine barrier hypothesis. *Biotropica*, 28, 376–387.

Gascon, C.; Loughheed, S. C.; Bogart, J. P. (1998) Patterns of genetic population differentiation in four species of Amazonian frogs: a test of the riverine barrier hypothesis. *Biotropica*, 30, 104–119.

Gascon, C.; Malcolm, J. R.; Patton, J. L.; da Silva, M. N. F.; Bogart, J. P.; Loughheed, S. C.; Peres, C. A.; Neckel, S.; Boag, P. T. (2000) Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 13672–13677.

Guindon, S. & Gascuel, O. (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52/5, 696-704.

Grazziotin, F.G.; Monzel, M.; Echeverrigaray, S.; Bonatto, S. (2006) Phylogeography of the *Bothrops jararaca* Complex (Serpentes: Viperidae): past

fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology*, 15, 3969-3982.

Goloboff, P. J.; Farris, F.; Nixon, K. (2003) T.N.T.: Tree Analysis Using New Technology. Disponível em <http://www.zmuc.dk/public/phylogeny/tnt>.

Haffer, J. (1969) Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165, 131–137.

Haffer, J. (1997) Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodiversity and Conservation*, 6,451–476.

Hall, T. A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium*, 41, 95-98.

Hedges, B. & Thomas, R. (1991) Cryptic species of snakes (Typhlopidae: *Typhlops*) from the Puerto Rico bank detected by protein electrophoresis. *Herpetologica*, 47/4, 448-459.

Hillis, D. M.; Mable, B. K.; Moritz, C. (1990) Applications of molecular systematics. In: D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable (Eds), *Molecular Systematics*, pp. 515-544., Sinauer Ass. Inc, Sunderland, MA.

Hoorn, C.; Guerrero, J.; Sarmiento, G. A.; Lorente, M. A. (1995) Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. *Geology*, 23, 237–240.

Hudson, R. R. & Turelli, M. (2003) Stochasticity overrules the ‘threetimes rule’: genetic drift, genetic draft, and coalescence times for nuclear loci versus mitochondrial DNA. *Evolution*, 57, 182–190.

Joseph, L. & Moritz, C. (1994) Mitochondrial DNA phylogeography of birds in eastern Australian rainforests: first fragments. *Australian Journal of Zoology*, 42, 385–403.

Kuch, U.; Keogh, S. J.; Weigel, J.; Smith, L. A.; Mebs, D. (2005) Phylogeography of Australian king brown snake (*Pseudechis australis*) reveals Pliocene divergence and Pleistocene dispersal of a top predator. *Naturwissenschaften*, 92, 121–127.

List, J. C. (1966) Comparative Osteology of the snake families Typhlopidae and Leptotyphlopidae. *Illinois Biological Monographs*, 36, 1–112.

Lougheed, S. C.; Gascon, C.; Jones, D. A.; Bogart, J. P.; Boag, P. T. (1999) Ridges and rivers: a test of competing hypotheses of Amazonian diversification using a dart-poison frog (*Epipedobates femoralis*). *Proceedings of the Royal Society of London B*, 266, 1829–1835.

Lovejoy, N. R.; Bermingham, E.; Martin, A. P. (1998) Marine incursion into South America. *Nature*, 396, 421-422.

Lovejoy, N. R.; Albert, J. S.; Crampton, W. G. R. (2006) Miocene marine incursions and marine/freshwater transitions: Evidence from Neotropical fishes. *Journal of South American Earth Sciences*, 21/1-2, 5-13.

Maddison, W. P. & Maddison, D. R. (2009) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.72 <http://mesquiteproject.org>.

Mallet, J. (1993) Speciation, raiation, and color pattern evolution in *Heliconius* butterflies: evidence from hybrid zones. In R. G. Harrison, ed. *Hybrid zones and the evolutionary process*. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K., pp. 226– 260.

Maschio, G.; 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.

Mora, M. S.; Lessa, E. P.; Kittlein, M. J.; Vassalo, A. I. (2006) Phylogeography of the subterranean rodent *Ctenomys austrasalis* 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.

Mulcahy, D. (2008) Phylogeography and species boundaries of the western North American Night snake (*Hypsiglena torquata*): Revisiting the subspecies concept. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 46, 1095-1115.

Mulcahy, D. G. & Mendelson, J. R. III. (2000) Phylogeography and speciation of the morphologically variable, widespread species *Bufo valliceps*, based on molecular evidence from mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17, 173–189.

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*, 39/1, 118-124.

Nores, M. (1999) An alternative hypothesis for the origin of Amazonian bird diversity. *Journal of Biogeography*, 26, 475–485.

Nyári, A. S. (2007) Phylogeographic patterns, molecular and vocal differentiation, and species limits in *Schiffornis turdina* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44, 154-164.

Oliver, P. M.; Adams, M.; Lee, M. S. Y.; Hutchinson, M. N.; Doughty, P. (2008) Cryptic diversity in vertebrates: molecular data double estimates of species diversity in a radiation of Australian lizards (*Diplodactylus*, Gekkota). *Proceedings of Royal Society*, 1664/276, 1-7.

Olson, L. E.; Goodman S. M.; Yoder, A. D. (2004) Illumination of cryptic species boundaries in long-tailed shrew tenrecs (Mammalia: Tenrecidae: Microgale), with new insights into geographic variation and distributional constraints. *Biological Journal of Linnean Society* , 83, 1–22.

Omland, K. E.; Tarr, C. L.; Boarman, W. I.; Marzluff, J. M.; Fleischer, R. C. (2002) Cryptic genetic variation and paraphyly in ravens. *Proceedings of Royal Society of London Serie B*, 267, 2475-2482.

Patton, J. L.; Da Silva, M. N. F.; Malcolm, J. R. (1994) Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (Rodentia: Echimyidae) of the Amazon Basin: a test of the riverine barrier hypothesis. *Evolution*, 48, 1314–1323.

Pesantes, O. S. (1994) A method for preparing the hemipenis of preserved snakes. *Journal of Herpetology*, 28 /1, 93-95.

Posada, D. (2008). jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* ,25, 1253-1256.

Prance, G. T. (1982a) Forest refuges: evidence from woody angiosperms. *In G. T. Prance, ed. Biological diversification in the tropics*. Columbia Univ. Press, New York, pp. 137–156.

Prudente, A. L. C. & Passos, P. New cryptic species of *Atractus* (Serpentes: Colubridae) from Brazilian Amazon. *Copeia*, 2010 (*in press*).

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. & 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.

Simpson, B. B. & Haffer, J. (1978) Speciation patterns in the Amazonian forest biota. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, 9, 497–518.

Sites, J. W. & Marshall, J. C. (2004) Operational criteria for delimiting species. *Annual review of ecology evolution and systematics*, 35, 199–227.

Slade, R. W. & Moritz, C. (1998) Phylogeography of *Bufo marinus* from its natural and introduced ranges. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 265, 769–777.

Stuart, B. L.; Inger, R. F.; Voris, H. K. (2006) High levels cryptic species diversity revealed by sympatric lineages of southeast Asian forest frogs. *Biology Letters*, 2, 470-474.

Tamura, K.; Dudley, Y. J.; Nei, M.; Kumar, S. (2007) *MEGA4*: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-1599. (Publication PDF at <http://www.kumarlab.net/publications>).

Thompson, J. D.; Gibson, T. J.; Plewniack, F.; Jeanmougin, F.; Higgins, D. G. (1997) The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25/24, 4876-4882.

Thomas, R. & Hedges, S. B. (2007) Eleven new species of the genus *Typhlops* (Serpentes: Typhlopidae) from Hispaniola and Cuba. *Zootaxa*, 1400, 1-26.

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 history on Gondwana. *Biology letters*, 1-4.

Wallace, A. R. (1852) On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of Zoological Society of London*, 20,107–110.

Wallach, V. (2003) Scolecophidia Miscellanea. *Hamadryad*, 27/2,:227-245.

Whitmore, T. C. & Prance G. T. (1987) *Biogeography and Quaternary history in tropical America*. Oxford Monographs in Biogeography no. 3. Oxford Science Publications, Oxford, U.K.

Wiens, J. J. & Penkrot T. A. (2002) Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology*, 51, 69-91.

Wuster, W.; Ferguson, J. E.; Quijada-Mascarenãs, J. A.; Pook, C. E.; Salomão, M. G.; Thorpe, R. S. (2005a) Tracing an invasion: landbridges, refugia and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus durissus*). *Molecular Ecology*, 14, 1095–1108.

Zaher, H. (1999) Hemipenial morphology of the South American Xenodontinae snakes, with a proposal for a monophyletic Xenodontinae and a reappraisal of

colubroid hemipenes. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, New York, 240, 1-168.

Zaher, H. & Prudente, A. L. C. (1999) Intraspecific variation of the hemipenis in *Siphlophis* and *Tripanurgos*. *Journal of Herpetology*, 33/4, 698-702.

Apêndice

Espécimes analisados

Typhlops amoipira (n= 5) BRASIL: Sergipe: Aracaju Morro dos coqueiros (MZUSP 17464 – 17468).

Typhlops brongersmianus (n= 74) BOLIVIA: (UFMT 93, UFMT 1495). BRASIL: Espírito Santo: Linhares (ZUEC 1841). Maranhão: Nova vida (MPEG 15793) São José de Ribamar (UFMA 085), Urbano Santos (MPEG 20534-20536, UFMA 075). Mato Grosso: Alto Taquari (UFMT 6090, UFMT 6235), Araputanga (UFMT 4179, UFMT 5920- 5921), Aripuanã (ARI 973, ARI 1034, ARI 1036 – não catalogados; UFMT 970, UFMT 1732, UFMT 4241, UFMT 4245), Cáceres (UFMT 1832), Chapada dos Guimarães (UFMT 485-487 UFMT 1831, UFMT 1831-1841 UFMT 1843-1844, UFMT 5833), Lucas do Rio Verde (RGS 86, RGS 367, RGS 478, RGS 498-não catalogados; UFMT 1205), Nova Lacerda (UFMT 6236, UFMT 6239-6241), Poconé (UFMT 1845, UFMT 5946, UFMT 5948 -5949; ZUEC 893, ZUEC 1159), Porto Estrela (UFMT 925); São José do Rio Claro (UFMT 5876); Sapezal (UFMT 5896-5897) Vale de São Domingos (UFMT 6237-6238, UFMT 6242-6243). Pará: Bragança (MPEG 6344, MPEG 8459, MPEG 9972), Curuçá (MPEG 21483), Lago Caapiranga, Alter do Chão (INPA 10677-10683), Ourém (MPEG 1266), UHE Belo Monte, Vitória do Xingu (MPEG 19819), Tucuruí (MPEG 16804). Rio Grande do Sul: Arroio Teixeira (MCP 6723), Capão da Canoa (MCP 12079), Terra de Areia (MCP 12495), Tramandaí (MCP 974). SANTA CATARINA: Florianópolis (MCP 7722). Tocantins: Babaçulândia (MPEG 23641, MPEG 23643).

Typhlops minuisquamus (n= 1) BRASIL: Amazonas: Presidente Figueiredo (IB 51726)

Typhlops paucisquamus (n= 7) BRASIL: Paraíba: João Pessoa (MZUSP 8308-8315)

Typhlops reticulatus (n= 62) BRASIL: Amapá: (CHUNB 3801), Macapá (IB 24782, IB 25475), Oiapoque (IB 13768, MPEG 197), Serra do Navio (MPEG 19782, MPEG 22849). Amazonas: Boa Vista do Amanã (INPA 10425-10426), Costa do Marrecão (MZUSP 3718), Estrada para Balbina- Rio Negro (INPA 987), Itacoatiara (IB 44429), Lago Ayapuá - Rio Purus (INPA 13961-13962), Limoeiro - Rio Japurá (MZUSP 6599), Manaus (INPA 14847), Maraã (MZUSP 6587), Presidente Figueiredo (IB 52283), Rio Ituxi (MPEG 20349), Tapucuara - Vampes Rio Negro (IB 22152), Urucará (MPEG 23526). CEARÁ: Limoeiro do Norte (IB 20336). Pará: Monte Dourado (MPEG 21434-21463), Óbidos (IB 14752), Oriximiná (MNRJ 14949, MPEG 21709, MZUSP 13866), Roraima: PARNA Viruá (INPA 21663, INPA 25710). COLÔMBIA: Amazon Valley: Letícia (MCZ 48963), Villavicencio (IB 7207, IB 10163, MZUSP 5993). GUIANA: Courantyne Basin Orinocco River (MCZ 42360). SURINAME: Paramaribo (fotografia holótipo RMNH 7660). VENEZUELA: Carimagua- Meta (MCZ 141008), Falcon: Distrito Acosta, Paují (MCZ 49020-49021).

Typhlops sp nov. A (n= 130) BRASIL: Acre: Cruzeiro do Sul (MPEG 17598), Porto Walter (MZUSP 7364), Rio Branco (MPEG 18247). Maranhão: Humberto Campos (MNRJ 7851), Santa Luzia do Paruá (MPEG 10239, MPEG 12839), São José de Ribamar (UFMA 092), São Luís (MNRJ 16980-16981). Mato Grosso: (UFMT 4046-4048), Aripuanã (UFMT 5177), Campo Novo dos Parecis (UFMT 4570, UFMT 4577), Cláudia (UFMT 3758-3766), Colniza (UFMT 6233), Conquista D'Oeste (UFMT 6225), Juína (UFMT 5196), Nova Bandeirantes (UFMT 5973), Nova Ubiratã (UFMT 5344-5345, UFMT 5347, UFMT 5411), Paranaíta (IB 76949), Querência (MPEG 21732, MPEG 21977-21978, MPEG 21999), São José do Rio Claro (MZUSP 11329, MZUSP 16067), Sinop (UFMT 5790). Pará: (IB 18758, IB 18513), Acará (MPEG9353), Barcarena (MPEG 23640), Belém (IB 25429, MPEG 370, MPEG 373, MPEG 429,

MPEG 5452, MPEG 10096, MPEG 16694, MPEG 19704, MPEG 21080, MPEG 23470), Boa Vista Apeu (MPEG 10125), Chaves –Ilha do Marajó (MPEG 23681-23682), Colônia Nova (MPEG 7166), Curianópolis (MPEG 20738), Igarapé-Açu (MPEG 899), Ilha do Marajó (IB 14762, MPEG 18011), Itaituba - PARNA Amazônia (MPEG 21136), Juruti (MPEG 20423, MPEG 22552-22558), KM 220 BR 316 (MPEG 18445), Marabá (MPEG 16972, MPEG 23818), Novo Progresso (CHUNB 4059), Parauapebas (MPEG 23023-23024), Ourém (MPEG 3524, MPEG 4222, MPEG 4257, MPEG 5003, MPEG 5008), Rio Canindé Gurupi (MZUSP 426), Santa Barbara (MPEG 16428, MPEG 18474), Santa Rosa (MPEG 4612, MPEG 8480, MPEG 10095, MPEG 10127), Serra do Kukoinhokren (MZUSP 10979), Santo Antônio do Tauá (MPEG 1131, MPEG 3258), Tucuruí (IB 46621, IB 47030, MPEG 21341), Viseu (MPEG 6134, MPEG 8836, MPEG 10133). Rondônia: Espigão D'Oeste (INPA 12096), Guajará-Mirim (CHUNB 22044, IB 17115), Ji-Paraná (MPEG 16871), Jirau (JIR 059) Montenegro/Cacaulândia (MZUSP 12177), Pimenta Bueno (CHUNB 18346), Porto Velho (IB 52864, IB 52913, IB 53123, IB 53209, MPEG 17843, MPEG 17899, MPEG 17936, MPEG 17956-17958, MPEG 17992-17994, MPEG 18001-18004, ZUEC 809, 3 exemplares MZUSP não catalogados (M 478, M 449, M5H18).

Typhlops yonenagae (n= 5) BRASIL: Bahia: Santo Inácio (MZUSP 12497-12500, MZUSP 12502).

Typhlops sp nov. 1 (n= 12) BRASIL: Maranhão: São José de Ribamar (UFMA 104, UFMA 166, UFMA 168, UFMA 170, UFMA 206), Urbano Santos (MPEG 20532-20533, UFMA 006,UFMA 38, UFMA 104, UFMA 132, UFMA 145).

Typhlops sp nov. 2 (n= 2) BRASIL: Amazonas: Manaus (INPA 25715, MZUSP 8038).

Typhlops sp 3 (n=4) BRASIL: Amazonas: Jutai (MPEG 23826). Pará: Faro (MPEG 23085). Roraima: PARNA Viruá (INPA 25713-25714).

Hemipênis

Typhlops reticulatus (n= 3) Amazonas: Urucari (MPEG 23526). Pará: Almerim (MPEG 21460). Roraima: PARNA Viruá (INPA-H 21663)

Typhlops sp nov. A (n= 4) Mato Grosso: Campo Novo dos Parecis (UFMT 4570), Querência (MPEG 21777). Pará: Tomé-Açu (SCN 242)-não catalogado. Rondônia: Porto Velho (MPEG 17843).

Typhlops sp nov. 1 (n= 2) Maranhão: São José de Ribamar (UFMA 170), Urbano Santos (UFMA 38).

Typhlops sp nov. 2 (n= 1) Amazonas: Manaus (INPA 25715)

Crânio

Typhlops reticulatus (n= 2) BRASIL: Amapá: Serra do Navio (MPEG 19782). Pará: Porto Trombetas (MPEG 24011).

Typhlops sp nov. A (n= 4) BRASIL: Mato Grosso: Cláudia (UFMT 3760). Pará: Juruti (MPEG 22558), Parauapebas (MPEG 23023). Rondônia: Porto Velho (MPEG 17957).

Amostras de tecido

Typhlops amoipira - BRASIL: Sergipe: Aracaju (SEH 017)

Typhlops brongersmianus - BRASIL: Bahia: Ilhéus (TBR 001)

Typhlops lumbricalis - CUBA: Pinãr Del Rosa (KDK 1876)

Typhlops minuisquamus - GUIANA: Kaieteur Park (PK 1401)

Typhlops ocellaris – MADAGÁSCAR (amostra de tecido do AMHN não catalogada)

Typhlops platycephalus - **Genbank** AY099992.1

Typhlops reticulatus - BRASIL: Amazonas: Urucará (MPEG 23526). Roraima: Parna Viruá (Viruá 592). GUIANA: (AMNH 101396) Paramakatoi (ROM 28368), Genbank NC_010971. 1.

Typhlops yonenagae - BRASIL: Bahia: Santo Inácio (MTR 11148)

Typhlops sp nov. A – BRASIL: Amazonas: Rio Ituxi (H14015). Mato Grosso: Apiacás (UFMT 6929), Colíder (CTMZ 06279), Colniza (UFMT 6233), Itaúba (CTMZ 6082), São José do Rio Claro (CTMZ 05660), Sapezal (CTMZ 05229, 05636), Teles Pires (4T021) Pará: Barcarena (MPEG 23640), Belém (MPEG 23470, dois exemplares não catalogado do MPEG - PAB 023, PAB 044), Chaves (MPEG 23582), Novo Progresso (CHUNB 40084). Rondônia: Montenegro (CTMZ 00513).

Lista de Figuras

Figura 1. Árvore filogenética dos genes *Coi* e *Cyt b* concatenados de *Typhlops reticulatus* e grupo externo. Os valores acima dos ramos representam o bootstrap de Máxima Verossimilhança, abaixo de Máxima Parcimônia. Os asteriscos são valores de bootstrap da Parcimônia abaixo de 10%.

Figura 2. Rede de haplótipos mostrando os dois principais clados. Os círculos brancos representam o clado ao sul do Rio Amazonas e os círculos pretos o clado ao norte do Rio Amazonas. Cada círculo representa um haplótipo diferente que representa proporcionalmente a frequência relativa de cada haplótipo, os traços representam o número de substituições nucleotídica e os círculos vermelhos as sequências ancestrais hipotéticas não amostrados.

Figura 3. Hemipênis de *Typhlops reticulatus* (MPEG 23526, Município de Urucará, AM). (A) Vista lateral, com detalhe da fileira lateral de espinhos. (B) Face sulcada. (C) Face não sulcada. Escala: 5 mm.

Figura 4. Hemipênis de *Typhlops* sp nov. A (MPEG 17843, Porto Velho, RO). (A) Vista lateral, com detalhe da fileira lateral de espinhos. (B) Face sulcada. (C) Face não sulcada, em destaque as lamelas. Escala: 5 mm

Figura 5. Vista geral do néotipo de *Typhlops reticulatus* (RMNH 7660, Paramaribo, Suriname). (A) Vista dorsal. (B) Vista ventral. Escala: 50 mm.

Figura 6. Padrão geral de coloração de *Typhlops reticulatus*, procedente da Colômbia. Foto: Jairo Maldonado.

Figura 7. Crânio de *Typhlops reticulatus*. (A) Vista dorsal. (B) Vista ventral. (C) Vista lateral. (D) Mandíbula. Escala: 5 mm. Abreviaturas: An= angular, Bo= basioccipital,

Bs= basiesfenóide, cqm= cótilo de articulação quadrado-mandibular, D= dentário, Eo= exoccipital, Es= esplenial, F= frontal, fm= forame mentoniano, fsp= forame suprangular, ft= forame do nervo trigêmio, Mx= maxilar, N= nasal, OC= osso composto, P= parietal, Pal= palatino, proc= processo retroarticular do osso composto, Prf= pré-frontal, Pro= proótico, Ptg= pterigóide, Q= quadrado, Smx= septomaxilar, So= supraoccipital, V= vômere.

Figura 8. Distribuição geográfica de *Typhlops reticulatus* e *Typhlops* sp nov. A. Legenda: Círculos pretos= localidades de *T. reticulatus* analisados; círculos verdes= registros *T. reticulatus* de literatura; estrela= localidade-tipo de *T. reticulatus*; triângulos pretos= localidades de *Typhlops* sp nov. A.; triângulos verdes= registros de literatura *Typhlops* sp nov. A.; quadrado= localidade-tipo de *Typhlops* sp nov. A.

Figura 9. Vista geral do holótipo de *Typhlops* sp nov. A (UFMT 6225).

Figura 10. Padrão geral de coloração de *Typhlops* sp nov. A. (A) vista dorsal de um exemplar com coloração marrom (UFMT 5177). (B) Vista dorsal de um exemplar com coloração marrom (MPEG 23470).

Figura 1

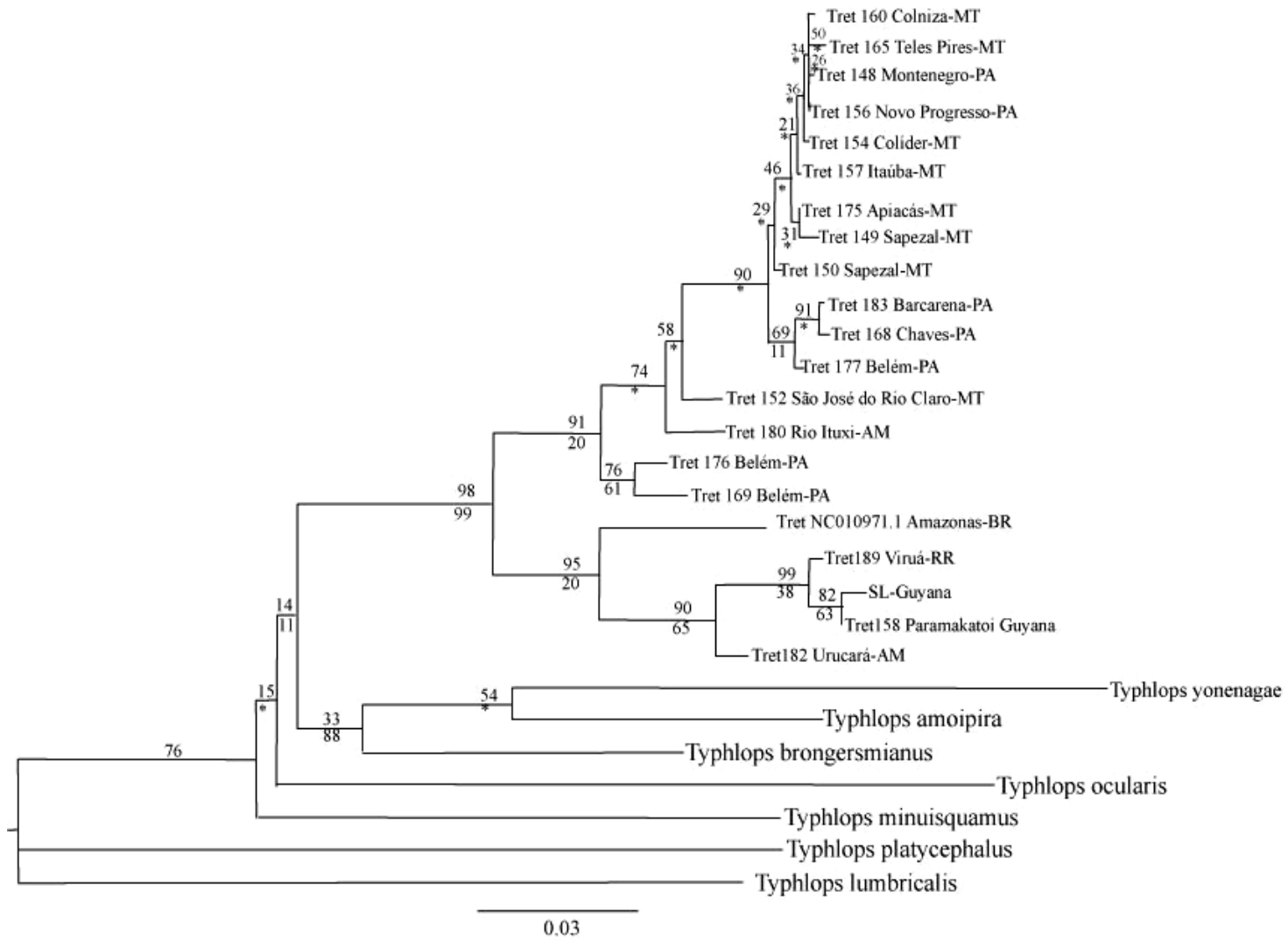


Figura 2

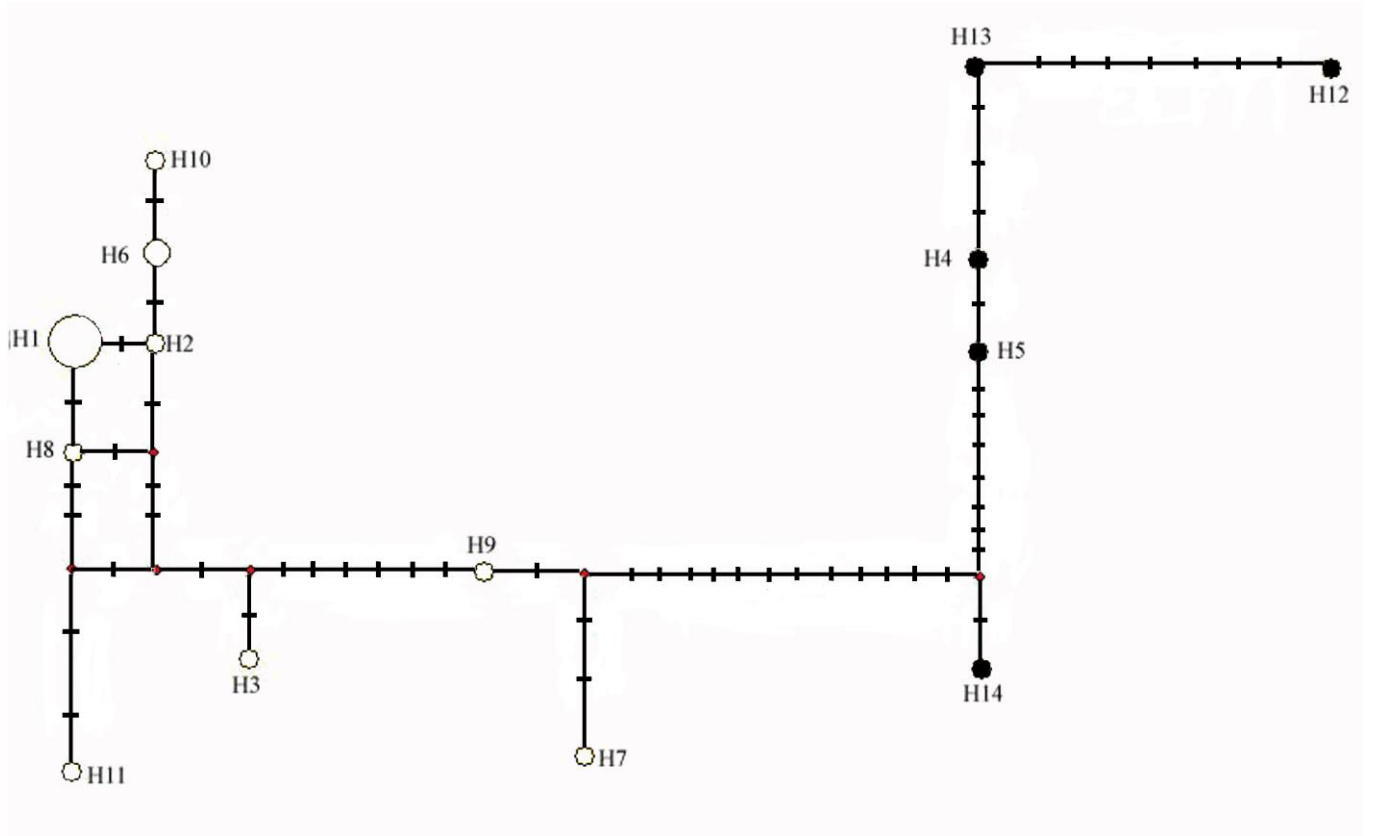


Figura 3

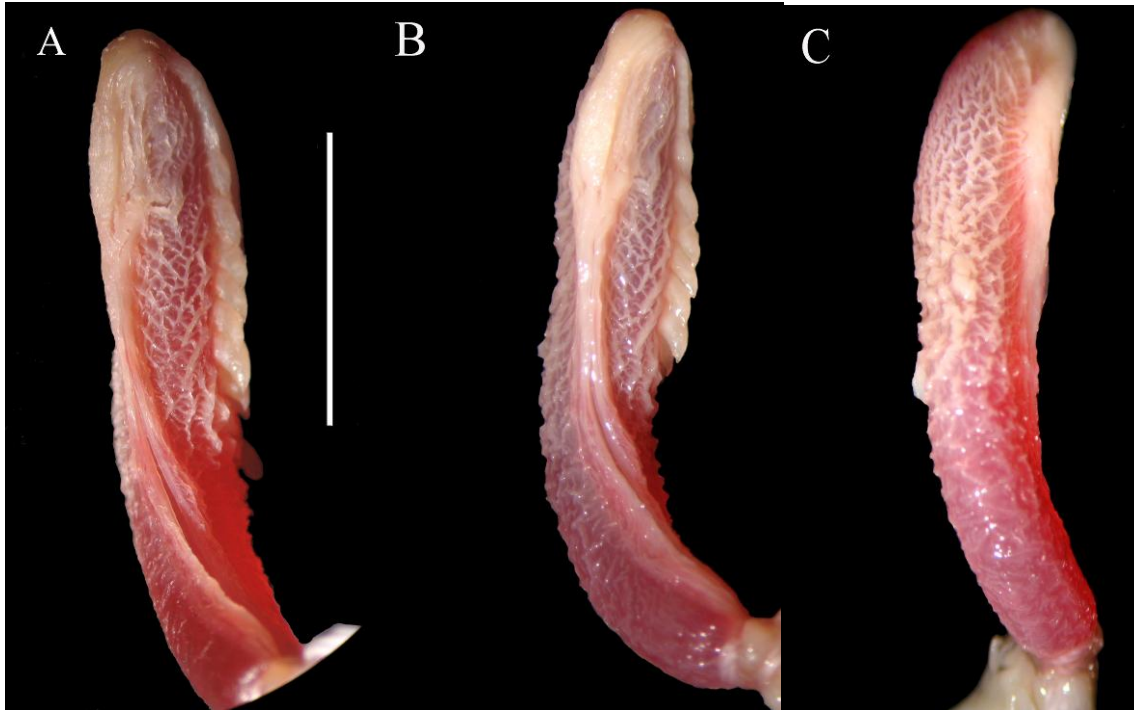


Figura 4



Figura 5

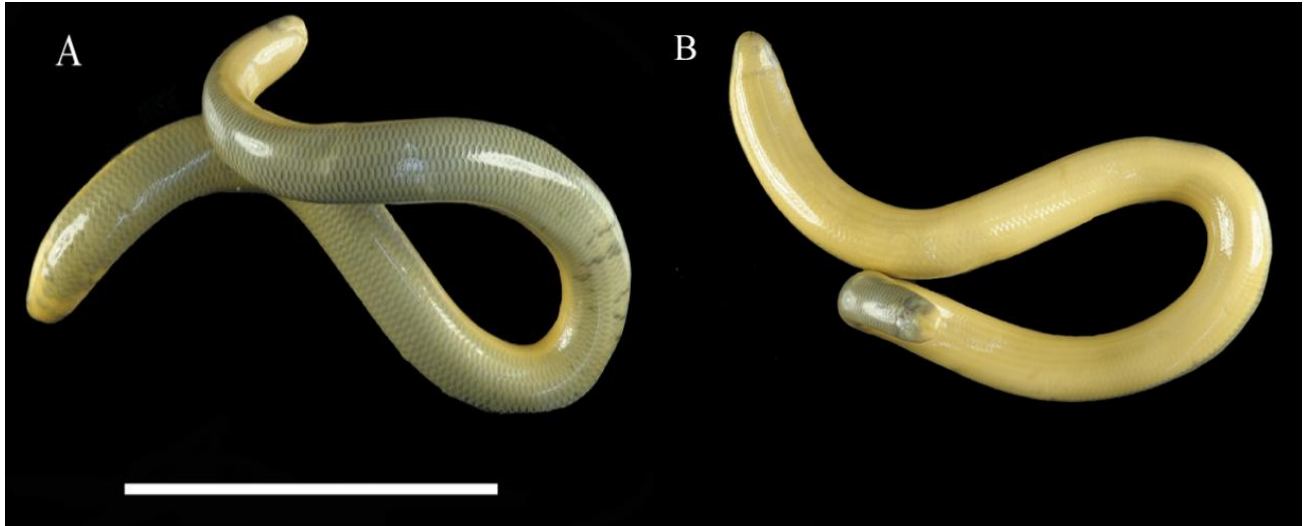
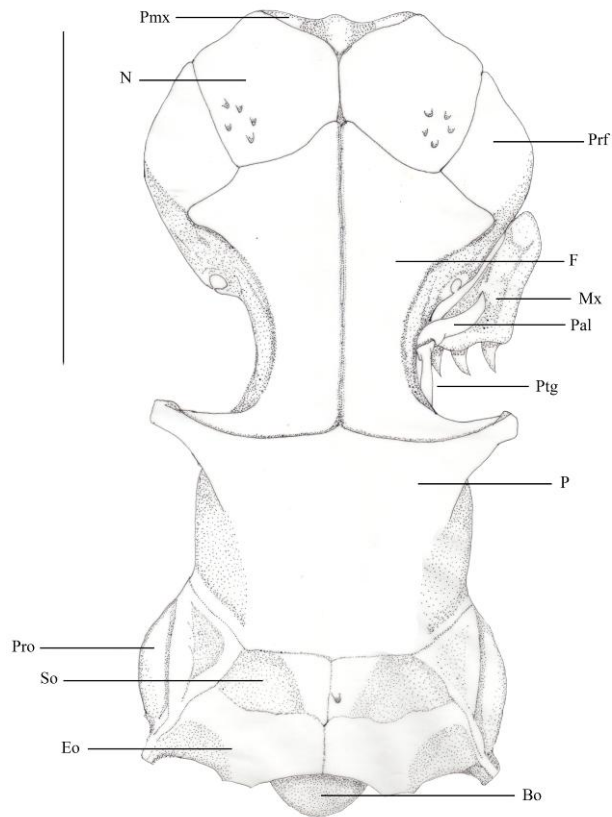


Figura 6

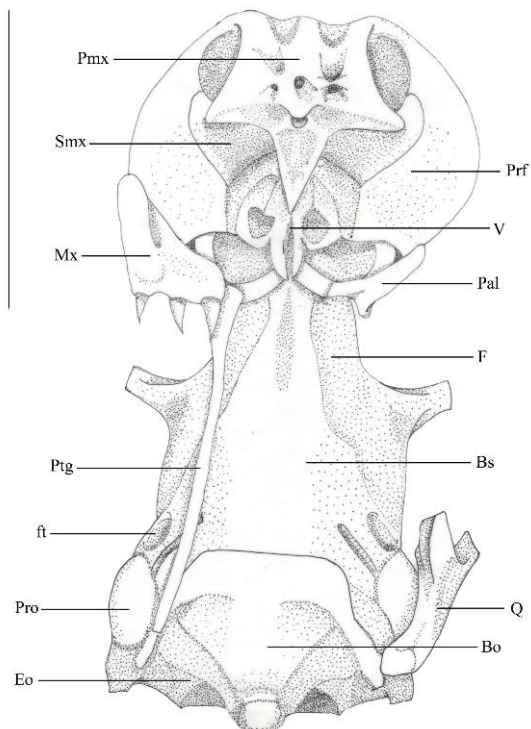


Figura 7

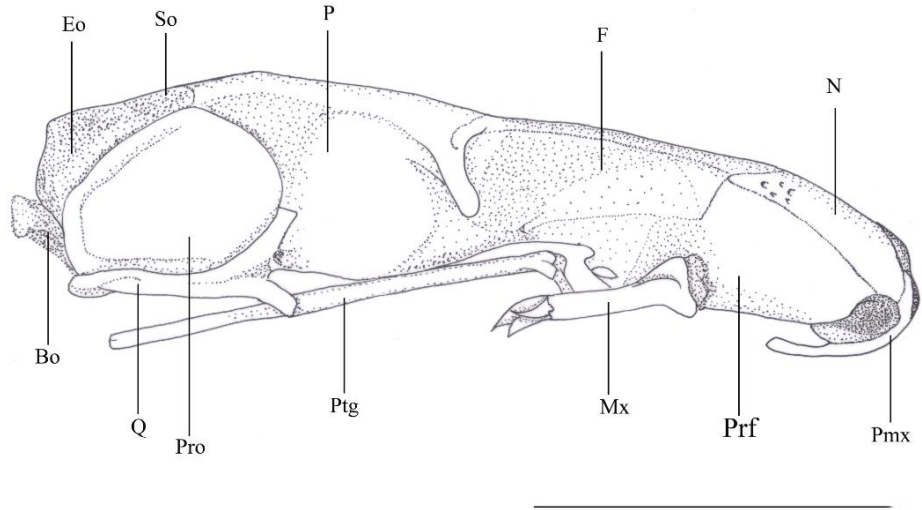
A



B



C



D

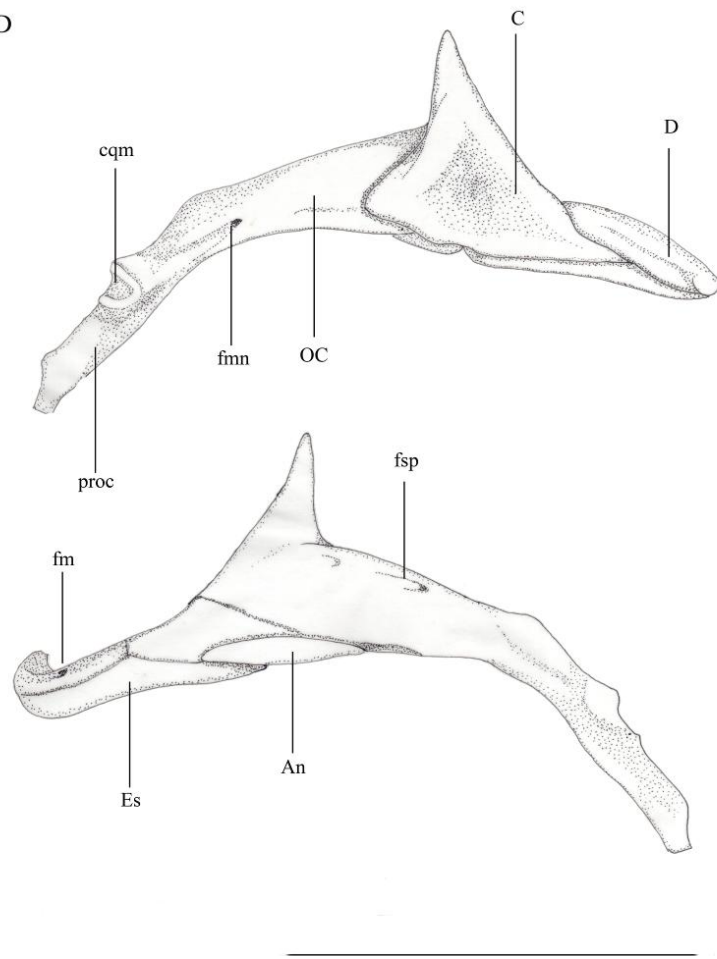


Figura 8

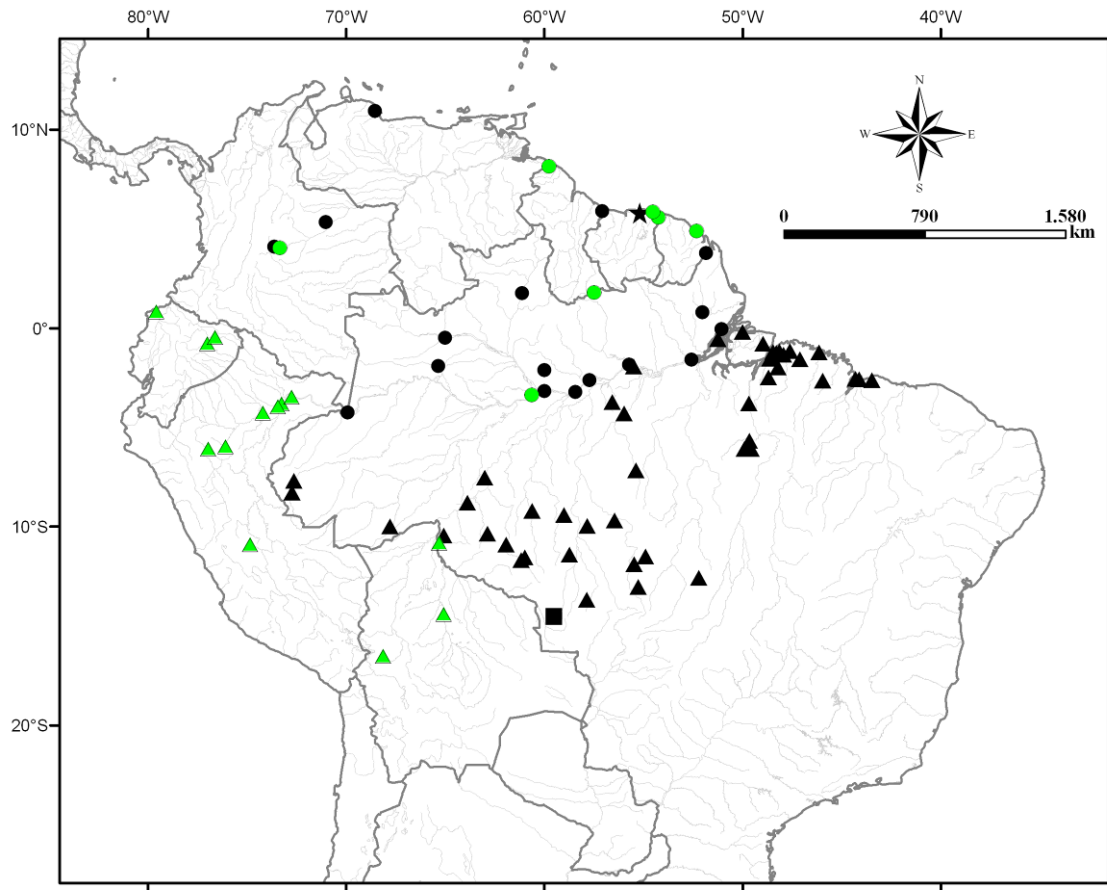


Figura 9



Figura 10



Tabela 1. Amostras de *Typhlops reticulatus* com os genes sequenciados e os respectivos haplótipos.

Amostras	localidades	genes	haplótipo
Ty 148	Montenegro-RO	Coi/Cyt b	H1
Ty 149	Sapezal-MT	Coi/Cyt b	H1
Ty 150	Sapezal-MT	Coi/Cyt b	H2
Ty 152	São José do Rio Claro -MT	Coi/Cyt b	H3
Ty 154	Colíder-MT	Coi	H1
Ty 156	Novo Progresso-PA	Coi/Cyt b	H1
Ty 157	Itaúba-MT	Coi/Cyt b	H1
Ty 158	Paramakatoi -Guyana	Coi/Cyt b	H4
Ty 160	Colniza-MT	Coi/Cyt b	H1
Ty 162	Guyana	Coi	H5
Ty 165	Teles Pires-MT	Coi/Cyt b	H1
Ty 168	Chaves-PA	Coi/Cyt b	H6
Ty 169	Belém-PA	Coi/Cyt b	H7
Ty 175	Apiacás-MT	Coi	H8
Ty 176	Belém-PA	Coi/Cyt b	H9
Ty 177	Belém-PA	Coi	H10
Ty 180	Rio Ituxi-AM	Coi/Cyt b	H11
Ty 182	Urucará-AM	Coi	H12
Ty 183	Barcarena-PA	Coi/Cyt b	H6
Ty 189	PARNA Viruá-RR	Coi	H13
NC 010971.1 (GenBank)	Amazonas_AM_	Coi/Cyt b	H14

Tabela 2. Variação de alguns caracteres externos de *Typhlops reticulatus* e *Typhlops* sp nov. A. Legenda: CT= comprimento total; Cd= comprimento da cauda; LCab= largura da cabeça; LCo= largura do meio do corpo; LR= largura da rostral; CR= comprimento da rostral; DOR= diâmetro da orbita ocular; DI= distância interorbital; DON= distância entre o olho e a narina; LCD= largura do meio da cauda.

Caráter	<i>Typhlops reticulatus</i>	<i>Typhlops</i> sp nov. A	Dixon & Hendricks (1979)
Dorsais	221-316	228-297	223-299
Subcaudais	6 – 14	8-14	7-15
CT	135 – 536	113-497	121 - 522
CC	3 – 15	4 – 16	3.4 – 15.7
LCAB	4.45 – 11.73	3.89 -10	3.9 – 13.0
LR	1.48 – 3.97	1.13 - 4.13	1.3 -5.5
CR	4.98 -10.47	3.9 -11	2.4 -7.3
DOR	0.28 -1.95	0.7 – 2.02	0.4 - 1.9
DI	3.26 – 8.26	2.1 – 7.46	2.4 - 8.0
DON	11.8 -5.2	1.74 – 5.73	1.7 - 4.8
LCo	5.67 -21.44	4.21 – 17.8	5.0 – 23.9
LCD	5.89 -13.06	2.66-11.49	3-14

Tabela 3. Análise dos resultados de dimorfismo sexual em relação à morfometria e folidose de *Typhlops reticulatus*. Legenda: Valores indicam as médias \pm desvio padrão, CT= comprimento total; CCab= comprimento da cabeça; LCab= largura da cabeça; Cd= comprimento da cauda; LCo= largura do meio do corpo; CR= Comprimento da rostral; LR= largura da rostral; DOR= diâmetro da órbita ocular; DI= distância interorbital; DON= distância entre olho e narina; LCd= largura do meio da cauda.

Caracteres	Machos n= 35	Fêmeas n= 33	Resultados
Dorsais	\bar{x} : 248.54 \pm 13.26	\bar{i} : 261.77 \pm 15.90	t= -2.701, P= 0, 027
Subcaudais	\bar{x} : 11.45 \pm 1.22	\bar{x} : 10.333 \pm 0.7	T = 1.835, P= 0.104
Ventrais	\bar{x} : 240.59 \pm 11.69	\bar{x} : 255.25 \pm 13.89	t= -3.342, P= 0.010
CT	313.22 \pm 276.29	366.5 \pm 88.33	t= -3.455, P= 0.009
CCab	12.37 \pm 12.47	12.81 \pm 2.40	f-ratio=12.485, P=0.001
LCab	7.78 \pm 1.27	8.5 \pm 1.80	f-ratio=3.359, P=0.077
Cd	10.77 \pm 2.40	9.72 \pm 2.38	f-ratio=8.926, P=0.006
LR	2.47 \pm 0.45	2.76 \pm 0.56	f-ratio=0.113, P=0.739
CR	7.66 \pm 1.28	8.23 \pm 1.46	f-ratio=2.213, P=0.148
DOR	1.35 \pm 0.29	1.41 \pm 0.25	f-ratio=-0.382, P=0.542
DI	5.7 \pm 0.98	6.2 \pm 1.17	f-ratio=3.500,P=0.072
DON	3.61 \pm 0.67	3.86 \pm 0.69	f-ratio=5.143,P=0.03
LCD	10 \pm 1,69	8.55 \pm 2.11	f-ratio=0.025, P=0.876
LCo	12.74 \pm 0.67	14.90 \pm 3.74	f-ratio=0.025, P=0.875

Tabela 4. Análise do dimorfismo sexual dos caracteres morfométricos e de folidose de *Typhlops* sp nov. A. Legenda: Valores indicam as médias \pm desvio padrão; CT= comprimento total; CCab= comprimento da cabeça; LCab= largura da cabeça; Cd= comprimento da cauda; LCo= largura do meio do corpo; CR= comprimento da rostral; LR= largura da rostral; DOR= diâmetro da órbita ocular; DI= distância interorbital; DON= distância entre olho e narina; LCd= largura do meio da cauda.

Caracteres	Machos n=35	Fêmeas n=33	Resultados
Dorsais	\bar{x} : 262.04 \pm 16.26	\bar{x} : 264,58 \pm 13.45	t=, -0.644, P= 0.526
Subcaudais	\bar{x} : 11.83 \pm 1.06	\bar{x} : 10,91 \pm 1.24	t= - 2. 577, P= 0, 017
Ventrais	\bar{x} : 253.2 \pm 14.73	\bar{x} : 256 \pm 14.30	t= -0.721, P= 0.478
CT	341.66 \pm 72.21	336,39 \pm 79.56	t= 0.192, P= 0.850
CCab	12.30 \pm 1.94	12.23 \pm 1.75	f-ratio=0.152, P=0.698
LCab	7.99 \pm 1.35	8.0 7 \pm 1.46	f-ratio=0.439, P=0.510
Cd	11.03 \pm 2.40	9.5 \pm 2.39	f-ratio=9.255, P=0.004
LR	2.71 \pm 0.53	2.70 \pm 0.63	f-ratio=0.045,P=0.834
CR	8.09 \pm 1.65	7.69 \pm 1.41	f-ratio=2.245,P=0.140
DOR	1.54 \pm 0.30	1.48 \pm 0.32	f-ratio=-1.173,P=0.284
DI	5.83 \pm 0.96	5.83 \pm 1.13	f-ratio=0.002,P=0.965
DON	3.63 \pm 0.60	3.76 \pm 0.70	f-ratio=3.445,P=0.069
LCd	9.88 \pm 1,37	8.32 \pm 2.01	f-ratio=6.117,P=0.019
LCo	11.93 \pm 2.31	12.49 \pm 3.19	f-ratio=2.253,P=0.131

]

Capítulo 2

Artigo a ser submetido a revista *Zootoxa*

Descrição de duas novas espécies de *Typhlops* do Brasil

(Serpentes: Typhlopidae)

Ariane A. A. Silva¹,

¹ *Laboratório de Herpetologia, Museu Paraense Emílio Goeldi/CZO, CxP. 399, Av. Perimetral, 1901, Terra Firme, 66077-530 Belém, PA, Brasil.*

e-mail:

¹ aricaaraujo@yahoo.com.br

Resumo

Duas novas espécies de *Typhlops* são descritas para os estados do Maranhão e Amazonas, Brasil, respectivamente. *Typhlops* sp nov. 1 diferencia-se das demais espécies por apresentar: 18-18-18 escamas ao redor do corpo, espinho terminal creme-amarelado e 11 fileiras de escamas pigmentadas. *Typhlops* sp nov. 2 diferencia-se das demais espécies por apresentar: 18-16-14 ou 20-18-16 escamas ao redor do corpo, espinho terminal amarelo e 9 fileiras de escamas pigmentadas.

Palavras-chave: Scolecophidia, *Typhlops* sp nov. 1, *Typhlops* sp nov. 2, fossorial

Abstract

Two new species of *Typhlops* are described from the states of Maranhão and Amazonas, Brazil, respectively. *Typhlops* sp nov. 1 is diagnosed by the following set of characters: 18-18-18 scales around body, terminal spine yellowish cream and 11 pigmented scale rows. *Typhlops* sp nov. 2 is diagnosed by the following characters: 18-16-14 or 20-18-16 scales around body, terminal spine yellow and 9 pigmented scale rows.

Key-words: Scolecophidia, *Typhlops* sp nov. 1, *Typhlops* sp nov. 2, fossorial

Introdução

As serpentes fossoriais do gênero *Typhlops* compreendem aproximadamente 150 espécies com distribuição cosmopolita com registros na África, sul da Europa, sul da Ásia, Austrália, Américas e oeste da Índia, embora sejam primariamente tropicais. A maioria das espécies tem porte pequeno (comprimento total de 100 a 1000 mm), corpo cilíndrico, escamas lisas e olhos reduzidos. Essas espécies apresentam hábitos fossoriais e alimentam-se principalmente de formigas, cupins e suas larvas (Breuil 1999; McDiarmid *et al.* 1999; Webb *et al.* 2001; Pough *et al.* 2003).

Entre as espécies Neotropicais, seis são registradas para o Brasil, sendo: *Typhlops brongersmianus* Vanzolini, 1972 descrita para Ilhéus no Estado da Bahia e presente em diversos biomas da América do Sul; *T. yonenagae* Rodrigues (1991) e *T. amoipira* Rodrigues e Juncá (2002) conhecidas apenas para as dunas do Rio São Francisco, Estado da Bahia e recentemente foi registrada *Typhlops amoipira* no município de Bonito de Minas, no estado de Minas Gerais (Fernandes *et al.* 2010) ; *T. minuisquamus* Dixon & Hendricks 1979 com ocorrência para as regiões central e ocidental da Amazônia; *T. paucisquamus* Dixon & Hendricks 1979 restrita à Mata Atlântica do Nordeste brasileiro; *T. reticulatus* Linnaeus 1758 com distribuição estritamente amazônica, ocorrendo em toda região setentrional do Brasil assim como em outros países da América do Sul (Cunha & Nascimento 1978, 1993; Dixon & Hendricks 1979; Rodrigues 1991; Rodrigues & Juncá 2002).

Durante a revisão das espécies de *Typhlops* do Brasil feita neste trabalho foram encontradas duas espécies cujas características não se encaixam entre as espécies já descritas. O objetivo desse trabalho é descrever formalmente essas duas novas espécies de *Typhlops* da região Amazônica.

Material e métodos

Foram examinados 314 espécimes de *Typhlops* das seguintes instituições: Coleção de Vertebrados da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá; Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília (CHUNB), Brasília; Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Maranhão (HUFMA), São Luís; Instituto Butantan (IB), São Paulo; Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus; Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ), Rio de Janeiro; Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), Belém; Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC), Campinas; Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), São Paulo; Museum of Comparative Zoology of Harvard University (MCZ), Boston.

A terminologia dos escudos cefálicos seguiu as definições de Wallach (2003). Para os caracteres merísticos e morfométricos seguiu-se as propostas de Dixon & Hendricks (1979) e Thomas & Hedges (2007). As medidas dos espécimes, em milímetros, foram tomadas usando régua plástica e paquímetro digital. As ilustrações foram feitas com o estereomicroscópio e câmara lúcida. Os mapas foram elaborados utilizando o programas ArcGis 9.0.

Typhlops sp nov. 1

Holótipo. Município de Urbano Santos, MPEG 20532, macho, dezembro de 2002, coletado por J. D. Lima e L. Dominici. **Parátipos.** Urbano Santos, MPEG 20533, dezembro de 2002, coletado por J. D. Lima e L. Dominici; UFMA 38, 25 janeiro de 2003; UFMA 104, 17 outubro de 2003; UFMA 132, 12 março de 2004; UFMA 145, 06 fevereiro de 2004; UFMA 216, 30 agosto de 2004; São José de Ribamar, UFMA 166,

21 março de 2004; UFMA 168, abril de 2005; UFMA 170, 5 março de 2004; UFMA 206; UFMA 104.

Diagnose. A nova espécie diferencia-se de *Typhlops reticulatus*, *T. sp nov.* A, *T. brongersmianus* e *T. minuisquamus* por apresentar 18-18-18 dorsais (vs 20-20-18; 20-20-18; 20-20-20; 18-16-14/20-18-16, respectivamente); de *T. costaricensis*, *T. lehneri*, *T. microstomus*, *T. tenuis* e *T. trinitatus* por apresentar sutura nasal incompleta e dorsal menor que 280 (vs sutura nasal completa e número de dorsais maior que 280). Em relação às demais espécies de *Typhlops* com 18 escamas dorsais ao redor do corpo a espécie nova difere de: *T. paucisquamus* por apresentar elevado (202-227) número de dorsais (vs 170-188); *T. yonenagae* pela ausência de linha vertebral escura e pelo baixo número de dorsais (vs presença de linha vertebral escura e 259-291 dorsais); e de *T. amoipira* por apresentar região dorsal e lateral da cabeça creme-amarelado e espinho terminal creme-amarelado (vs presença de *reticulum* na região cefálica, que corresponde a presença de pequenas manchas marrom escuras no centro escamas cefálicas).

Descrição do holótipo. MPEG 20532, Macho. Comprimento rostro-cloacal 185 mm. Comprimento da cauda 6 mm. Comprimento 7.63 mm e largura da cabeça no nível dos olhos 3.85 mm. Largura no meio do corpo 4.88 mm e largura do meio da cauda 2.56 mm. Comprimento 4.32 mm e largura da rostral 1.49 mm. Diâmetro do olho 0.94 mm. Distância interorbital 2.79 mm. Distância entre olho e narina 2.10mm. 18-18-18 fileiras de escamas ao redor do corpo. 227 escamas dorsais entre a escama rostral e o espinho terminal. 225 ventrais, 10 subcaudais, 11 fileiras de escamas pigmentadas. Rostral oval estende-se da região ventral até a margem anterior dos olhos, mais longa que larga, ocupa cerca de $\frac{1}{3}$ da largura da cabeça, sendo mais estreita no nível das narinas, margem anterior arredondada, enquanto que a margem posterior é pontiaguda. Rostral em contato com as nasais lateralmente e posteriormente com a frontal. Nasal

incompletamente dividida em pré e pós-nasal. Sutura incompleta que divide a nasal origina na segunda supralabial e segue até a borda lateral da escama rostral, sem contatá-la. Pré-nasal em contato com a primeira e a segunda supralabiais. Pós-nasal em contato com a segunda supralabial e margem anterior da pré-ocular. Pré-ocular em contato com a supraocular dorsalmente e com a ocular dorso-lateralmente, com a segunda e terceira supralabiais ventralmente, se sobrepondo a margem superior da terceira supralabial e se inserindo entre esta e a pós-nasal. Ocular mais estreita que a pré-ocular, em contato ventralmente com a terceira e quarta supralabiais, sendo que sua margem superior se sobrepõe a quarta supralabial. Pós-ocular mais longa que larga, dorsalmente em contato com a parietal. Olhos posicionados dorsolateralmente, localizados na sutura entre pré-ocular e ocular. Um par de supraoculares longas, diagonalmente orientadas separadas medialmente pela frontal, recobre a parte superior da ocular. Frontal ciclóide, tão longa quanto larga, em contato com a rostral e com as nasais. Seguidamente a frontal, a pós-frontal um pouco menor e a interparietal grande mais longa que larga. Apresenta quatro supralabiais: 4° duas vezes mais longa que a 3°. Escamas dorsais lisas, ciclóides, mais largas que longas (Fig. 1).

Figura 1

Padrão de coloração em álcool. Região anterior e lateral da cabeça (escamas rostral, parte das nasais, supralabiais e infralabiais) creme-amareladas, sendo o restante das escamas da cabeça marrom com base amareladas. Região sinfisial imaculada. Corpo marrom claro sendo o ápice das escamas marrom mais escuro, presença de 6-8 linhas marrom escuras, que seguem da cabeça até o final da cauda. Ventre creme-amarelado, apresentando transição entre as regiões dorsal e ventral com coloração regular e uniforme. Cauda marrom, sendo que o espinho terminal da cauda é branco; região ventral creme-amarelado (Fig. 2).

Figura 2

Hemipênis. Não foi possível everter o hemipênis devido ao tamanho diminuto (2mm), entretanto, através de um corte longitudinal em um dos lados do órgão, foi possível verificar as seguintes características: hemipênis simples e curto; ausência de ornamentações no corpo (espinhos ou lamelas); sulco espermático simples, com borda proeminente; e ausência de bolsa na região apical do lobo.

Variação. Os parátipos apresentam diferenças em relação às medidas e na contagem de algumas escamas, conforme segue: dorsais 202-227; ventrais 176-230; subcaudais 8-12; comprimento rostro-cloacal 68-213 mm; comprimento da cauda 2-6 mm; largura da cabeça no nível dos olhos 2.33-4.91 mm; comprimento da cabeça 4.48-8.66 mm; largura no meio do corpo 2.63-7.09 mm; largura do meio da cauda 2.06-3.88 mm; comprimento da escama rostral 3.74-5.09 mm; largura da rostral 1.02-1.49 mm; diâmetro do olho 0.60-0.90 mm; distância interorbital 1.68 -3.27 mm; distância entre o olho e a narina 0.90-2.37 mm (Tab. 1).

Tabela 1

Distribuição geográfica. *Typhlops* sp nov. 1 está presente nos municípios de Urbano Santos e São José de Ribamar, ambos no estado do Maranhão. Os espécimes de Urbano Santos foram coletados na Fazenda Santo Amaro, cerca de 270 km a sudoeste da ilha de São Luís e encontra-se geograficamente próximo ao limite sul da Amazônia legal. Esta área é constituída por um mosaico de floresta ripária, mesofítica, cultura de eucalipto e áreas abertas. O domínio vegetacional é Cerrado-típico, contendo fitofisionomias de Cerrado *sensu stricto* e Campo Cerrado (Lima 2003) (Figs. 3 e 4).

Figura 3

Figura 4

***Typhlops* sp nov. 2**

Holótipo. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, MZUSP 8038, coletado por Paulo Vanzolini em 11/11/1981 no campus do INPA, Manaus, Amazonas, Brasil.

Parátipo. Instituto Nacional de pesquisas da Amazônia, INPA 25515, coletado no ano de 1987 na Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, Amazonas, Brasil.

Diagnose. *Typhlops* sp nov. 2 difere-se de *Typhlops* sp nov A., *T. amoipira*, *T. brongersmianus*, *T. paucisquamus*, *T. reticulatus* e *T. yonenagae* por apresentar 18-16-14 escamas ao redor do corpo (vs 20-20-20/20-20-18; 18-18-18; 18-18-18; 20-20-18/20-20-20; 18-18-18, respectivamente). Diferencia-se de *T. costaricensis*, *T. lehneri*, *T. microstomus*, *T. tenuis* e *T. trinitatus* por apresentar sutura nasal incompleta e dorsais menor que 280 (vs sutura nasal completa e número de escamas dorsais maior que 280). Difere-se de *T. minuisquamus* por apresentar uma mancha na cauda amarelada, espinho terminal amarelo, baixo número de escamas dorsais (206-221 vs 221-253), 9 fileiras de escamas pigmentadas (vs 11 fileiras de escamas pigmentadas).

Descrição do holótipo (Fig. 5). Comprimento rostro-cloacal 195 mm, comprimento da cauda 9 mm, 18-16-14 escamas ao redor do corpo; 206 escamas dorsais entre a escama rostral e a ponta da cauda; subcaudais 12; 9 fileiras de escamas pigmentadas; largura da cabeça no nível dos olhos 5.35 mm; comprimento da cabeça 8.24; largura no meio do corpo 7.71 mm; comprimento da escama rostral 5.61 mm; largura da rostral 1.93 mm; largura do meio da cauda 4.31; diâmetro do olho 0.86 mm; distância interorbital 4.04 mm; distância entre o olho e a narina 2.21 mm. Rostral retangular estende-se da região ventral até o terço anterior da cabeça, terminando antes de alcançar o nível dos olhos. Mais estreita no nível das narinas, com margem anterior arredondada e margem posterior reta. Em contato com as escamas nasais lateralmente e posteriormente com a

escama frontal. Nasal incompletamente dividida em pré e pós-nasal. Sutura incompleta que divide a nasal origina na segunda supralabial e segue até a borda lateral da escama rostral, sem contatá-la, pré-nasal em contato com a 1° e 2° supralabiais, pós-nasal em contato com a 2° supralabial. Narinas dispostas lateroventralmente localizadas no meio da escama nasal. Pré-ocular mais estreita que a ocular em contato com a supraocular dorsalmente, com a ocular dorsolateralmente, com a segunda e terceira supralabiais ventralmente e se inserindo entre esta e a pós-nasal. Ocular em amplo contato com a supraocular dorsalmente, em contato com a terceira e quarta supralabiais ventralmente, sendo que sua margem inferior se sobrepõe a quarta supralabial. Posteriormente a ocular, lateralmente, em contato com uma pós-ocular mais longa que larga, dorsalmente em contato com uma escama parietal longa. Olhos posicionados dorsolateralmente, localizados entre a sutura pré-ocular e ocular. Um par de supraoculares alongadas, diagonalmente orientadas separadas medialmente pela frontal, recobre a parte lateral da ocular. Frontal trapezoidal, tão longa quanto larga, em contato com a rostral e com as nasais. Seguidamente a frontal, a pós-frontal um pouco menor e a interparietal grande sendo mais longa que larga. Apresenta quatro supralabiais. Escamas dorsais lisas, ciclóides, mais longas que largas.

Figura 5

Padrão de desenho e coloração em preservativo (Fig. 6). Região anterior e lateral da cabeça (escamas rostral, nasais, supralabiais e infralabiais) amarelas, sendo o restante das escamas da cabeça marrom-escuro com contornos amarelos. Região sinfisial imaculada. Dorso marrom avermelhado, ventre amarelo, apresentando transição entre as regiões dorsal e ventral com coloração regular e uniforme. Cauda marrom avermelhada com manchas amarelas na extremidade distal da cauda. Espinho terminal amarelo.

Região ventral da cauda amarela com transição entre região dorsal e ventral ocupando uma escama.

Figura 6

Hemipênis (Fig. 7). Hemipênis simples e curto, com sulco espermático simples. Na face sulcada, estão presentes dois espinhos em forma de gancho, localizados no terço apical, um de cada lado do sulco espermático. Sulco espermático profundo, com bordas proeminentes que vão desde a região basal e seguem em direção a face não sulcada, onde se fusionam delimitando uma região apical desnuda e com depressões. Em ambas as faces, estão presentes lamelas dispostas obliquamente em todo o corpo do hemipênis. Essas lamelas são pouco visíveis na região basal e pronunciadas região mediana do corpo. Quando invertido, o hemipênis alcança 5 escamas subcaudais e dispõe-se, juntamente com músculo *penis magnum*, de forma convoluta para acomodar-se na pequena cauda.

Figura 7

Varição. Não há variação no padrão de coloração entre o holótipo e o parátipo, apenas a coloração do corpo é mais escura no parátipo do que no holótipo. O parátipo apresenta os seguintes caracteres: 221 escamas dorsais entre a escama rostral e a ponta da cauda; ventrais 202; subcaudais 10; largura da cabeça no nível dos olhos 4.89 mm; comprimento da cabeça 7.74; largura no meio do corpo 6.63 mm; comprimento da escama rostral 5.37 mm; largura da rostral 1.76 mm; diâmetro dos olhos 1.01 mm; distância interorbital 3.56 mm; distância entre olho e narina 2.45 mm

Distribuição geográfica (Fig. 4). Os espécimes de *Typhlops* sp nov. 2 são conhecidos apenas em Manaus, município situado às margens do Rio Amazonas, no estado de Amazonas.

As comparações a respeito da foliose e comprimento total e comprimento da cauda das espécies de *Typhlops* que ocorrem no Brasil estão sumarizadas na Tabela 2.

Tabela 2

Comentários. O gênero *Typhlops* é pouco conhecido apesar de ser especioso e amplamente distribuído. Até recentemente as hipóteses de relacionamento inferidas para as espécies neotropicais do gênero eram baseadas em características da escutelação cefálica, dados merísticos, e morfométricos (Dixon & Hendricks 1979), e estudos filogenéticos do gênero estiveram concentrados em espécies africanas (Wallach & Gunther 1998).

Dixon & Hendricks (1979) postularam a existência de três grandes radiações de *Typhlops*: “Caribbean Arc Group”, inclui espécies das Bahamas, Cuba, Ilhas Caiman, norte da América do Sul, Granada, Trinidad e Tobago, que possuem sutura nasal completa e segunda e terceira supralabiais em contato com a pré-nasal; “Major Antillean Radiation” (MAR) grupo proposto por Thomas (1976) contendo as espécies antilhanas, que possuem sutura nasal completa e apenas a terceira supralabial em contato com a pré-nasal; “South American Group”, representado pelas espécies sul americanas que possuem sutura nasal incompleta e segunda e terceira supralabiais em contato com a pré-nasal.

Vidal *et al.* (2010), na filogenia dos Typhlopidae, propuseram o clado sul-americano como irmão do clado formado pelas espécies das Índias Ocidentais, que teriam se divergido no Cenozóico médio, a aproximadamente 33 milhões de anos. A separação dos clados africano e sul-americano é ainda mais antiga, tendo ocorrido há aproximadamente 63 milhões de anos. Em relação às espécies da América do Sul, *Typhlops reticulatus* aparece como grupo-irmão de *Typhlops brongersmianus*. No entanto, como somente essas duas espécies foram amostradas para o continente, não podemos estender muito nossos comentários sobre suas relações.

Typhlops sp nov. 1 e *Typhlops* sp nov. 2 podem ser incluídas no grupo sul-americano com base na presença da sutura nasal incompleta e por apresentarem segunda e terceira supralabiais em contato com a pré-nasal. *Typhlops* sp nov. 1 compartilha com *T. amoipira*, *T. paucisquamus* e *T. yonenagae* a presença de 18 escamas ao redor do corpo sem redução, embora apresente o corpo mais fino (4.9 mm) que *T. amoipira* e *T. paucisquamus* (5.6 mm e 6.1 mm, respectivamente) e não tenha linha vertebral escura presente em *T.yonenagae*.

Assim como *T. minuisquamus*, *Typhlops* sp nov. 2 apresenta redução das escamas ao redor do corpo (18-16-14) , porém apresenta número menor de dorsais (206-221 vs 221-253). *Typhlops brongersmianus* e *T. reticulatus* são as espécies que apresentam maior distribuição e maior comprimento total (320 mm e 525 mm, respectivamente vs 213mm em *Typhlops* sp nov. 1 e 195mm em *Typhlops* sp nov. 2). *Typhlops brongersmianus*, descrita originalmente para a Floresta Atlântica, ocorre por toda América do Sul e é simpátrica com *T. reticulatus* e *T. minuisquamus* na região amazônica. *Typhlops paucisquamus* parece ser a única espécie restrita a mata Atlântica nordestina. *Typhlops* sp nov. 1 ocorre em sintopia com *T. brongersmianus* no Maranhão, onde ambas foram coletadas na Fazenda Santo Amaro, municípios de Urbano Santos e de São José de Ribamar. *Typhlops* sp nov. 2 está restrita à Floresta Amazônica e ocorre em simpatria com *T. reticulatus* e *T. minuisquamus*, na Amazônia central.

Chave para identificação das espécies de *Typhlops* presentes no Brasil.

- 1-Fileiras de escamas dorsais 18-18-18, sem redução 2
- Fileiras de escamas dorsais, com redução: 20-20-20; 20-20-18; 20-18-16; 18-16-14.....5
- 2- Menos que 190 dorsais*Typhlops paucisquamus*
- Mais que 190 dorsais 3
- 3-Dorsais variando 258-274, presença de uma linha vertebral escura que se estende desde a cabeça até o espinho terminal*Typhlops yonenagae*
- Dorsais variando 202-2304

- 4- Região dorsal e lateral da cabeça e espinho terminal creme-amarelado; presença de 6-8 linhas marrom-escuras ao longo do corpo, que vão desde a cabeça e estendem-se até o final da cauda; ausência de linha vertebral escura; 176-225 ventrais *Typhlops* sp nov. 1
- Região dorsal da cabeça marrom-clara, com pequenas manchas marrom-escuras no centro das escamas cefálicas; ausência de linhas escuras ao longo do corpo; presença de uma linha vertebral escura em juvenis, que desaparece em direção a cauda; 200-235 ventrais *Typhlops amoipira*
- 5- Presença de 20-20-20 ou 20-20-18 escamas ao redor do corpo.....6
- Presença de 20-18-16 ou 18-16-14 escamas ao redor do corpo.....8
- 6- Padrão de coloração do corpo reticulado; ausência de manchas escuras na escama rostral; cauda marrom ou negra, com manchas creme-amareladas; dorso marrom, transição entre região dorsal e ventral uniforme7
- Padrão de coloração não-reticulado; escama rostral geralmente amarela com pequenas manchas marrons; transição entre região dorsal e ventral irregular e não uniforme, ocupando uma ou duas escamas *Typhlops brongersmianus*
- 7- Hemipênis com 7-8 espinhos na face não sulcada e com bolsa apical; 9 fileiras de escamas pigmentadas..... *Typhlops* sp nov. A
- Hemipênis com 8-10 espinhos na face não sulcada do hemipênis e ausência da bolsa apical; 9-11 fileiras de escamas pigmentadas..... *Typhlops reticulatus*

Agradecimentos

Agradecemos James Dixon e Tony Hibbits pelas fotos do holótipo de *Typhlops minuisquamus*. Agradecemos também Gleomar Maschio, João Costa, Pedro Peloso pela leitura crítica do manuscrito e Ângelo Dourado pelas fotografias dos espécimes. A CAPES, PROCAD e PROF, pela concessão de bolsa e apoio financeiro.

Referências bibliográficas

Breuil, M. (1999) Nouvelle espèce du genre *Typhlops*, (Serpentes, Typhlopidae) de l'île de Saint-Barthélemy, comparaison avec les autres espèces des Petites Antilles.

Bulletin Mensuel Société Linnéenne Lyon, 68, 30–40.

Cunha, O. R. & Nascimento, F. P. (1978) Ofídios da Amazônia X. As cobras da região leste do Pará. *Publicações Avulsas do Museu. Paraense Emílio Goeldi*, 31,1-218.

Cunha, O. R. & Nascimento, F. P. (1993) Ofídios da Amazônia: As cobras da região leste do Pará. *Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi* 9, 1-191.

Dixon, J. R. & Hendricks, F. S. (1979) The wormsnakes (Family Typhlopidae) of the Neotropics, exclusive of the Antilles. *Zoologische Verhandelingen*, 173, 3-39.

Fernandes, V.D.; Moura, M.R.; Dayrell, J.S.; Santana,D.J.; Lima, L.H.R. (2010) Reptilia, Squamata, Serpentes, Typhlopidae, *Typhlops amoipira* Rodrigues and Juncá, 2002: Range extension and new state record. *Checklist* , 6/2, 268-269.

Lima, J. D. (2003) *Composição e diversidade de serpentes em um mosaico de habitats no município de Urbano Santos, Maranhão*. 52 f. Dissertação (mestrado em Zoologia) – Universidade Federal do Pará, Pará.

McDiarmid, R.W.; Campbell, J. A.; Touré, T. A. (1999) *Snake Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference. Volume 1*. The Herpetologist's League, Washington, D.C. xi + 511 pp.

Pough, F. V.; Janis, C. M.; Heiser, J. (2003) *A vida dos vertebrados*. Editora Atheneu.

Rodrigues, M. T. (1991) Herpetofauna das dunas interiores do rio São Francisco: Bahia: Brasil. IV. Uma nova espécie de *Typhlops* (Ophidia, Typhlopidae). *Papéis Avulsos Zoologia*, 37/ 22, 343-346.

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.

Thomas, R. (1976) A new species of lesser Antillean *Typhlops* (Serpentes: Typhlopidae). *Occasional papers Museum Zoology St. Louis*, 46, 1-5.

Thomas, R. & Hedges, S. B. (2007) Eleven new species of the genus *Typhlops* (Serpentes: Typhlopidae) from Hispaniola and Cuba. *Zootaxa*, 1400, 1-26.

Vidal, N.; Marin, J.; Morini, M.; Donnellan, S.; Branch, W. R.; Thomas, R.; Vences, M.; Wynn, A.; Cruaud, C.; Hedges, B. S. (2010) Blindsnakes evolutionary trees reveals long history on Gondwana. *Biology letters*, 1-4.

Wallach, V. (2003) Scolecophidia Miscellanea. *Hamadryad* 27/2, 227-245.

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.; Shine, R. (2001) Dietary habits and reproductive biology of Typhlopidae snakes from Southern Africa. *Journal of Herpetology*, 35/4, 558-567.

Apêndice

Lista de material analisado

Typhlops amoipira (n= 5) BRASIL: Sergipe: Aracaju Morro dos coqueiros (MZUSP 17464 – 17468).

Typhlops brongersmianus (n= 74) BOLIVIA: (UFMT 93, UFMT 1495). BRASIL: Espírito Santo: Linhares (ZUEC 1841). Maranhão: Nova vida (MPEG 15793) São José de Ribamar (UFMA 085), Urbano Santos (MPEG 20534-20536, UFMA 075). Mato Grosso: Alto Taquari (UFMT 6090, UFMT 6235), Araputanga (UFMT 4179, UFMT 5920- 5921), Aripuanã (ARI 973, ARI 1034, ARI 1036 – não catalogados; UFMT 970, UFMT 1732, UFMT 4241, UFMT 4245), Cáceres (UFMT 1832), Chapada dos Guimarães (UFMT 485-487 UFMT 1831, UFMT 1831-1841 UFMT 1843-1844, UFMT 5833), Lucas do Rio Verde (RGS 86, RGS 367, RGS 478, RGS 498-não catalogados; UFMT 1205), Nova Lacerda (UFMT 6236, UFMT 6239-6241), Poconé (UFMT 1845, UFMT 5946, UFMT 5948 -5949; ZUEC 893, ZUEC 1159), Porto Estrela (UFMT 925); São José do Rio Claro (UFMT 5876); Sapezal (UFMT 5896-5897) Vale de São Domingos (UFMT 6237-6238, UFMT 6242-6243). Pará: Bragança (MPEG 6344, MPEG 8459, MPEG 9972), Curuçá (MPEG 21483), Lago Caapiranga, Alter do Chão (INPA 10677-10683), Ourém (MPEG 1266), UHE Belo Monte, Vitória do Xingu (MPEG 19819), Tucuruí (MPEG 16804). Rio Grande do Sul: Arroio Teixeira (MCP 6723), Capão da Canoa (MCP 12079), Terra de Areia (MCP 12495), Tramandaí (MCP 974). SANTA CATARINA: Florianópolis (MCP 7722). Tocantins: Babaçulândia (MPEG 23641, MPEG 23643).

Typhlops minuisquamus (n= 1) BRASIL: Amazonas: Presidente Figueiredo (IB 51726)

Typhlops paucisquamus (n= 7) BRASIL: Paraíba: João Pessoa (MZUSP 8308-8315)

Typhlops reticulatus (n= 62) BRASIL: Amapá: (CHUNB 3801), Macapá (IB 24782, IB 25475), Oiapoque (IB 13768, MPEG 197), Serra do Navio (MPEG 19782, MPEG 22849). Amazonas: Boa Vista do Amanã (INPA 10425-10426), Costa do Marrecão (MZUSP 3718), Estrada para Balbina- Rio Negro (INPA 987), Itacoatiara (IB 44429), Lago Ayapuá - Rio Purus (INPA 13961-13962), Limoeiro - Rio Japurá (MZUSP 6599), Manaus (INPA 14847), Maraã (MZUSP 6587), Presidente Figueiredo (IB 52283), Rio Ituxi (MPEG 20349), Tapucuara - Vampes Rio Negro (IB 22152), Urucará (MPEG 23526). CEARÁ: Limoeiro do Norte (IB 20336). Pará: Monte Dourado (MPEG 21434-21463), Óbidos (IB 14752), Oriximiná (MNRJ 14949, MPEG 21709, MZUSP 13866), Roraima: PARNA Viruá (INPA 21663, INPA 25710). COLÔMBIA: Amazon Valley: Letícia (MCZ 48963), Villavicencio (IB 7207, IB 10163, MZUSP 5993). GUIANA: Courantyne Basin Orinocco River (MCZ 42360). SURINAME: Paramaribo (fotografia holótipo RMNH 7660). VENEZUELA: Carimagua- Meta (MCZ 141008), Falcon: Distrito Acosta, Paují (MCZ 49020-49021).

Typhlops sp nov. A (n= 130) BRASIL: Acre: Cruzeiro do Sul (MPEG 17598), Porto Walter (MZUSP 7364), Rio Branco (MPEG 18247). Maranhão: Humberto Campos (MNRJ 7851), Santa Luzia do Paruá (MPEG 10239, MPEG 12839), São José de Ribamar (UFMA 092), São Luís (MNRJ 16980-16981). Mato Grosso: (UFMT 4046-4048), Aripuanã (UFMT 5177), Campo Novo dos Parecis (UFMT 4570, UFMT 4577), Cláudia (UFMT 3758-3766), Colniza (UFMT 6233), Conquista D'Oeste (UFMT 6225), Juína (UFMT 5196), Nova Bandeirantes (UFMT 5973), Nova Ubiratã (UFMT 5344-5345, UFMT 5347, UFMT 5411), Paranaíta (IB 76949), Querência (MPEG 21732, MPEG 21977-21978, MPEG 21999), São José do Rio Claro (MZUSP 11329, MZUSP 16067), Sinop (UFMT 5790). Pará: (IB 18758, IB 18513), Acará (MPEG9353), Barcarena (MPEG 23640), Belém (IB 25429, MPEG 370, MPEG 373, MPEG 429,

MPEG 5452, MPEG 10096, MPEG 16694, MPEG 19704, MPEG 21080, MPEG 23470), Boa Vista Apeu (MPEG 10125), Chaves –Ilha do Marajó (MPEG 23681-23682), Colônia Nova (MPEG 7166), Curianópolis (MPEG 20738), Igarapé-Açu (MPEG 899), Ilha do Marajó (IB 14762, MPEG 18011), Itaiatuba - PARNA Amazônia (MPEG 21136), Juruti (MPEG 20423, MPEG 22552-22558), KM 220 BR 316 (MPEG 18445), Marabá (MPEG 16972, MPEG 23818), Novo Progresso (CHUNB 4059), Parauapebas (MPEG 23023-23024), Ourém (MPEG 3524, MPEG 4222, MPEG 4257, MPEG 5003, MPEG 5008), Rio Canindé Gurupi (MZUSP 426), Santa Barbara (MPEG 16428, MPEG 18474), Santa Rosa (MPEG 4612, MPEG 8480, MPEG 10095, MPEG 10127), Serra do Kukoinhokren (MZUSP 10979), Santo Antônio do Tauá (MPEG 1131, MPEG 3258), Tucuruí (IB 46621, IB 47030, MPEG 21341), Viseu (MPEG 6134, MPEG 8836, MPEG 10133). Rondônia: Espigão D'Oeste (INPA 12096), Guajará-Mirim (CHUNB 22044, IB 17115), Ji-Paraná (MPEG 16871), Jirau (JIR 059) Montenegro/Cacaulândia (MZUSP 12177), Pimenta Bueno (CHUNB 18346), Porto Velho (IB 52864, IB 52913, IB 53123, IB 53209, MPEG 17843, MPEG 17899, MPEG 17936, MPEG 17956-17958, MPEG 17992-17994, MPEG 18001-18004, ZUEC 809, 3 exemplares MZUSP não catalogados (M 478, M 449, M5H18).

Typhlops sp nov. 1 (n= 12) BRASIL: Maranhão: São José de Ribamar (UFMA 104, UFMA 166, UFMA 168, UFMA 170, UFMA 206), Urbano Santos (MPEG 20532-20533, UFMA 006,UFMA 38, UFMA 104, UFMA 132, UFMA 145).

Typhlops sp nov. 2 (n= 2) BRASIL: Amazonas: Manaus (INPA 25715, MZUSP 8038).

Typhlops sp 3 (n= 4) BRASIL: Amazonas: Jutai (MPEG 23826). Pará: Faro (MPEG 23085). Roraima: PARNA Viruá (INPA 25713-25714).

Hemipênis

Typhlops reticulatus (n= 3) Amazonas: Urucará (MPEG 23526). Pará: Almerim (MPEG 21460). Roraima: PARNA Viruá (INPA-H 21663)

Typhlops sp nov. A (n= 4) Mato Grosso: Campo Novo dos Parecis (UFMT 4570), Querência (MPEG 21777). Pará: Tomé-Açu (SCN 242). Rondônia: Porto Velho (MPEG 17843).

Typhlops sp nov. 1 (n= 2) Maranhão: São José de Ribamar (UFMA 170), Urbano Santos (UFMA 38).

Typhlops sp nov. 2 (n= 1) Amazonas: Manaus (INPA 25715)

Lista de Figuras

Figura 1. *Typhlops* sp nov. 1. (A) Vista dorsal, (B) lateral e (C) ventral (MPEG 20532, holótipo). Escala: 10 mm.

Figura 2. *Typhlops* sp nov. 1 (MPEG 20532, holótipo). (A) Vista dorsal, (B) ventral, (C) cauda, e da (D) cabeça. Comprimento total: 191 mm. Escala: 5 mm

Figura 3. Distribuição geográfica de *Typhlops* sp nov. 1 e *Typhlops* sp nov. 2. Legenda: Triângulo= localidade-tipo de *Typhlops* sp nov. 1 (Município de Urbano Santos, Maranhão); círculo= localidade dos parátipos *Typhlops* sp nov. 1 (Município de São José de Ribamar, Maranhão); Estrela= localidade-tipo de *Typhlops* sp nov. 2 (Município de Manaus, Amazonas).

Figura 4. Vista geral da Fazenda Santo Amaro, ambiente onde foi coletado o holótipo, Município de Urbano Santos, estado do Maranhão. (A) Mata ciliar, (B) plantação de eucalipto e mata de terra firme.

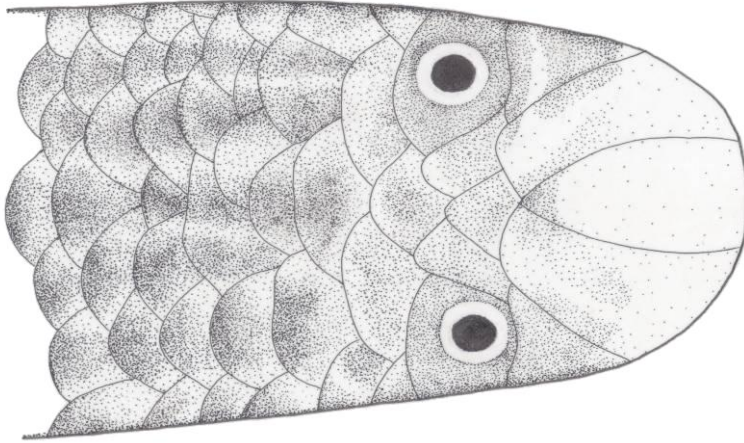
Figura 5. *Typhlops* sp nov. 2. (A) Vista dorsal, (B) lateral e (C) ventral (MZUSP 8038, holótipo). Escala: 10 mm.

Figura 6. *Typhlops* sp nov. 2 (MZUSP 8038, holótipo). (A) Vista dorsal , (B) ventral, (C) cauda, e da (D) cabeça. Comprimento total: 204 mm. Escala: 10 mm

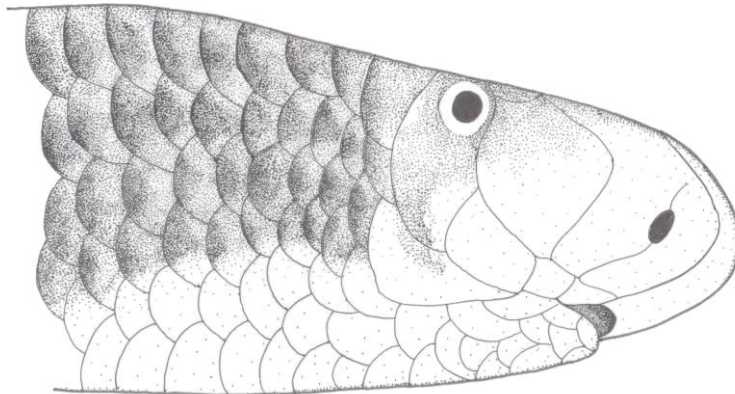
Figura 7. Hemipênis de *Typhlops* sp nov. 2. (A) Vista da face sulcada, (B) vista lateral e (C) vista da face não sulcada. Escala: 5 mm.

Figura 1

A



B



C

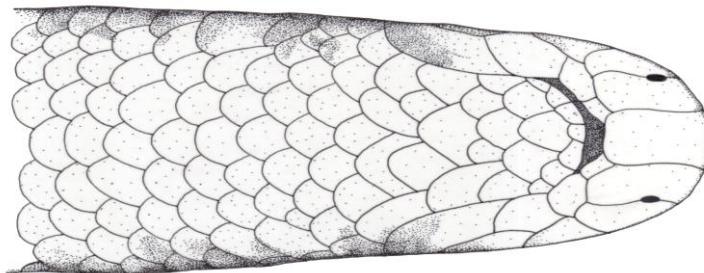
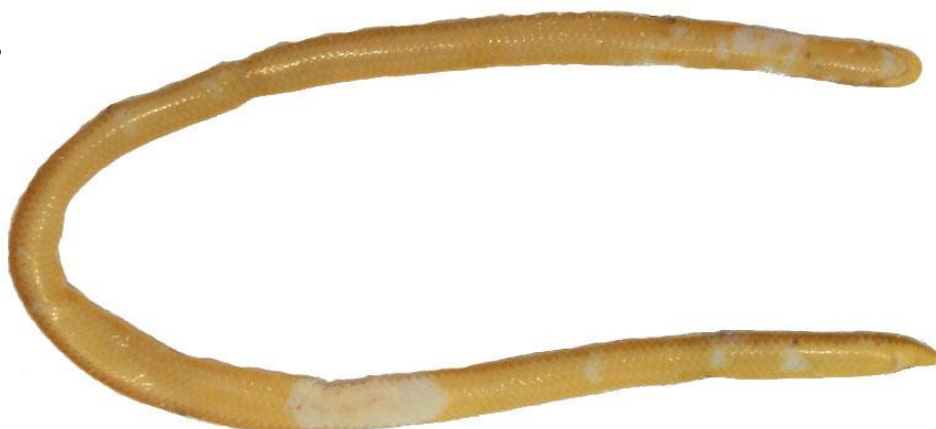


Figura 2

A



B



C



D



Figura 3

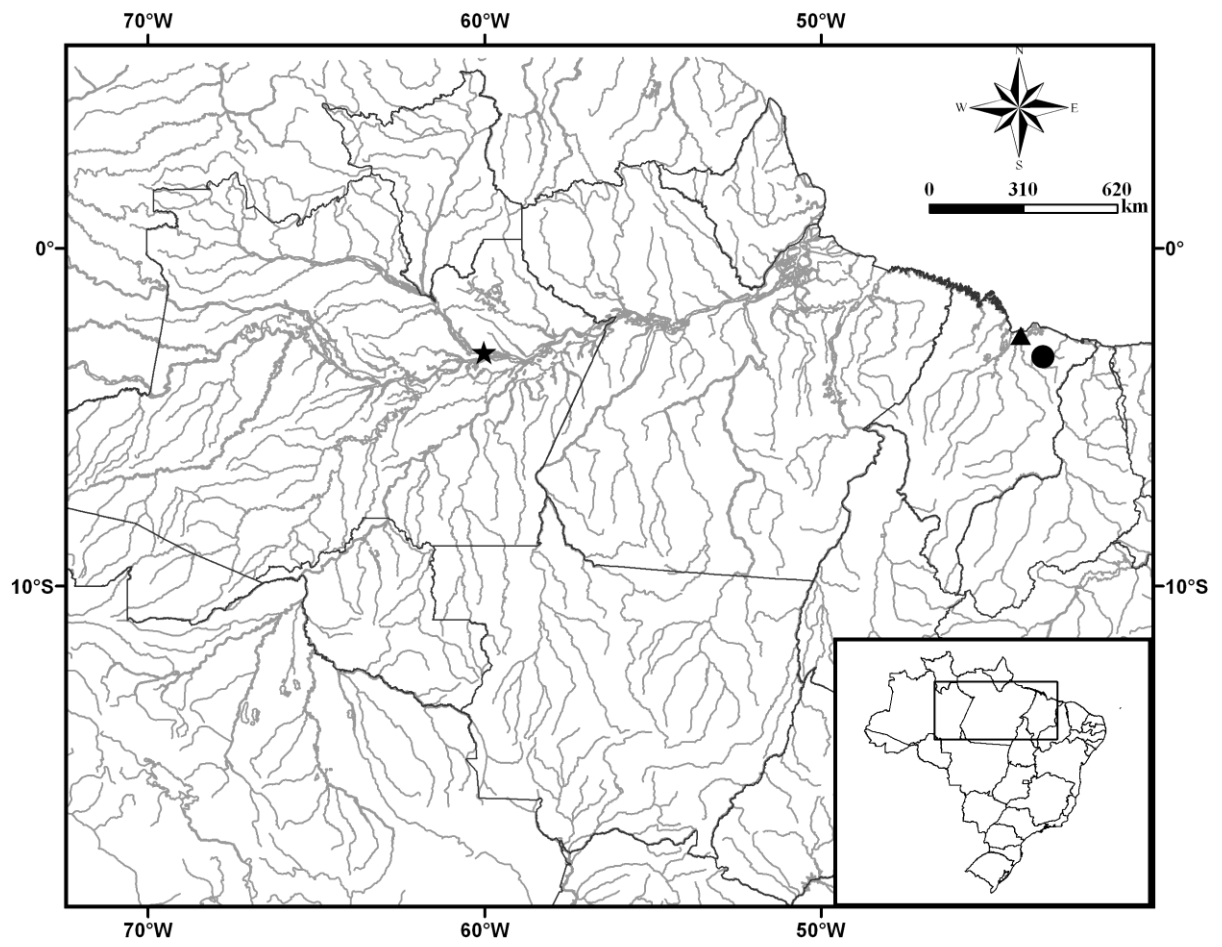


Figura 4



Figura 5

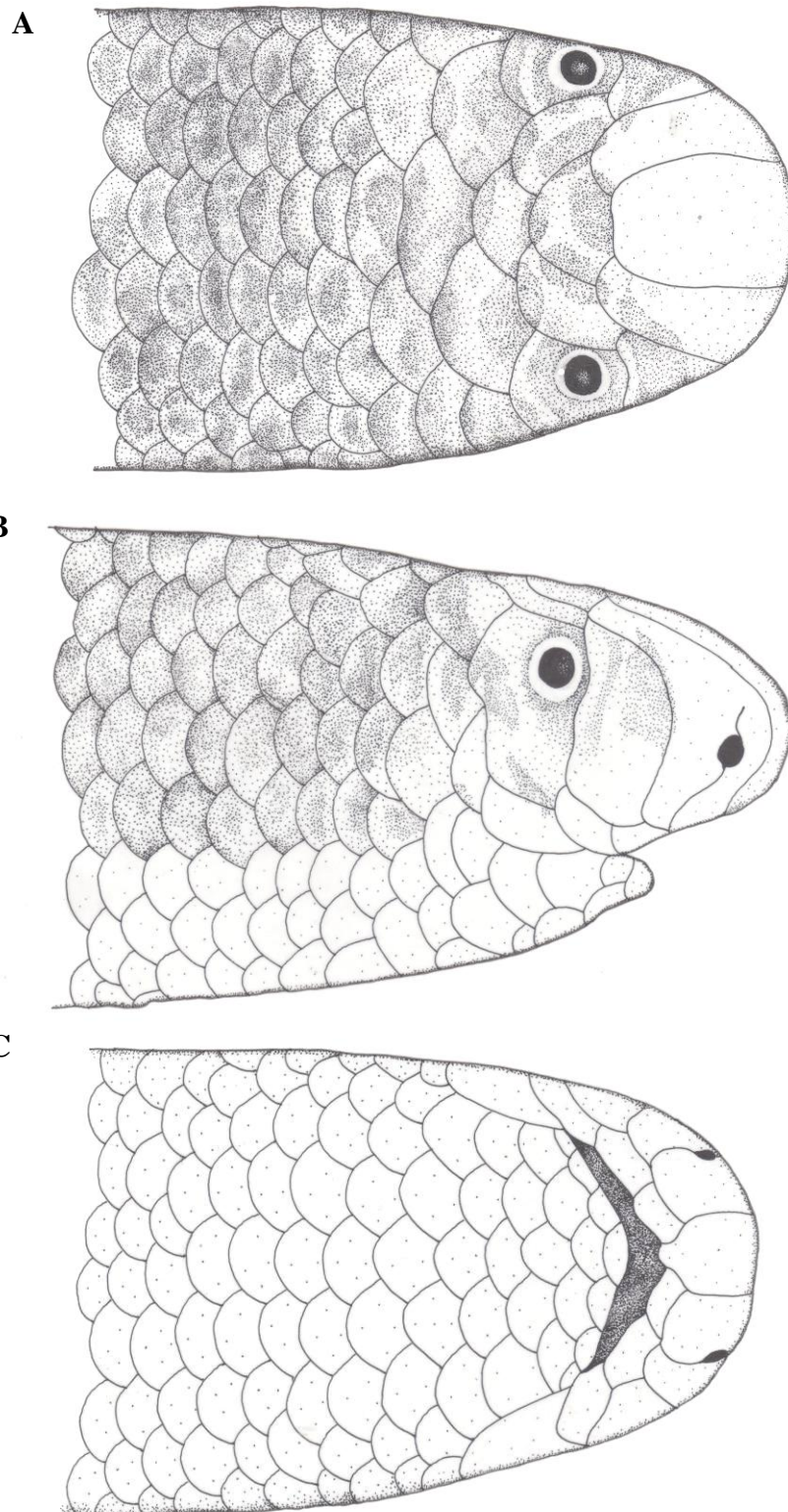


Figura 6

A



B



C



D



Figura 7

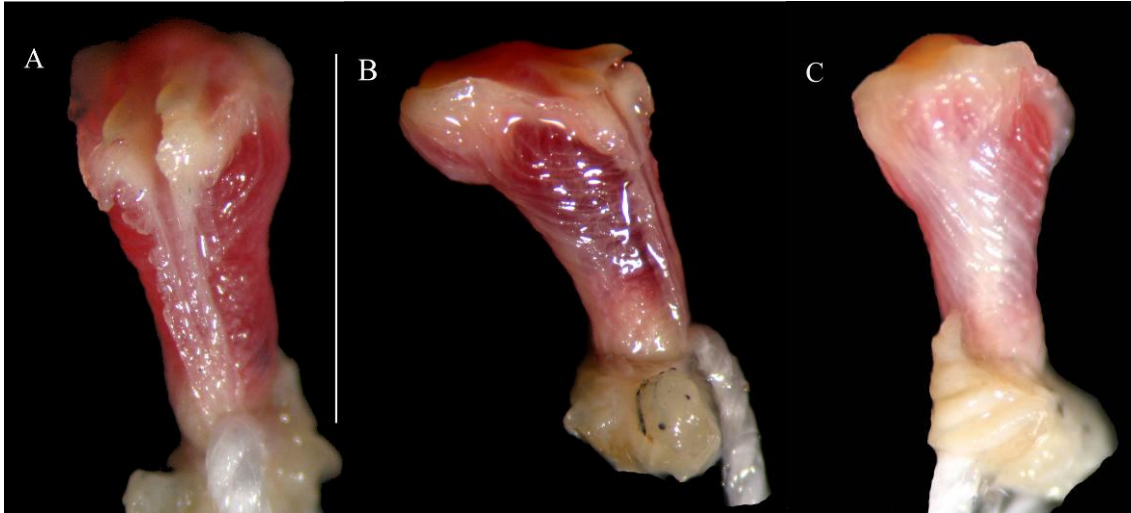


Tabela 1. Foliose e morfometria da série tipo de *Typhlops* sp nov. 1. Legenda: CT= comprimento total; Cd= comprimento da cauda; LCab= largura da cabeça; LCo= largura do meio do corpo; LR= largura da rostral; CR= comprimento da rostral; Dor= diâmetro da orbita ocular; DI= distância interorbital; DON= distância entre o olho e a narina; LCd= largura do meio da cauda; DO= dorsais; VE= ventrais; SC=subcaudais.

Nº de tombo	DO	VE	SC	CT	Cd	CCAB	LCAB	LR	CR	Dor	DI	DON	LCo	LMCd	Sexo
MPEG 20532	227	225	10	191	6	7.63	3.85	1.49	4.32	0.94	2.79	2.10	4.88	2.56	Macho
MPEG 20533	202	176	12	70	2	4.48	2.33	0.70	2.47	0.65	1.68	0.90	2.63	1.42	?
UFMA 38	226	205	12	170	5	6.69	3.66	1.20	4.04	0.85	2.95	1.87	5.04	3.16	Macho
UFMA104	227	230	10	150	4	6.33	3.12	1.22	4.15	0.60	2.37	1.69	4.6	2.80	Fêmea
UFMA132	219	208	12	139	4	6.18	3.26	1.13	4.69	0.77	2.21	1.59	4.22	2.42	Fêmea
UFMA145	218	210	12	145	5	7.06	3.27	1.22	5.34	0.64	2.49	1.63	4.39	2.87	Macho
UFMA166	217	205	10	218	5	8.17	4.91	1.46	4.13	0.87	3.26	2.21	7.09	3.88	Fêmea
UFMA168	210	193	10	156	6	7.18	3.93	1.15	4.15	0.82	3.02	2.08	4.9	3.34	Macho
UFMA170	209	202	10	166	5	7.07	3.84	1.23	4.04	0.96	2.88	1.94	5.67	3.99	Macho
UFMA216	219	201	12	150	5	6.96	3.32	1.02	3.74	0.83	2.52	1.78	4.35	2.06	Macho
UFMA104	226	218	11	152	5	5.91	3.53	1.11	3.79	0.80	2.59	1.73	4.59	2.86	Macho
UFMA206	218	202	8	187	5	8.66	4.56	1.54	4.88	0.87	3.23	2.37	6.62	3.79	Fêmea

Tabela 2. Comparação dos dados de foliose, comprimento total e comprimento da cauda das espécies de *Typhlops* que ocorrem no Brasil. Legenda: EAC= escamas ao redor do corpo; CT= Comprimento total; Cd= Comprimento da cauda; DO= dorsais; VE= ventrais; SC= subcaudais.

	EAC	DO	VE	SC	CT	Cd	n
<i>Typhlops</i> sp nov. 1	18-18-18	202-227	176-225	8-10	70 - 218	2-6	12
<i>Typhlops</i> sp nov. 2	18-16-14	206-221	202	10-12	194 - 204	9	2
<i>Typhlops amoipira</i>	18-18-18	205 - 230	200 - 235	10-12	73 - 208	2-4	5
<i>Typhlops brongersmianus</i>	20-20-20/ 20-20-18	195 - 287	198 - 267	8-14	84 -325	2-9	83
<i>Typhlops minuisquamus</i> (Dixon & Hendricks 1979)	20-14/18-14/18-12	221-253	225	6-11	152 -361	4-11	1
<i>Typhlops paucisquamus</i> (Dixon & Hendricks 1979)	18-18-18	171 - 188	171 - 188	8-11	133 -158	5	7
<i>Typhlops reticulatus</i>	20-20-18/ 20-20-20	221 - 525	213 - 292	8-14	145 - 536	3-16	66
<i>Typhlops yonenagae</i>	18-18-18	258 - 274	244 -270	8-12	96 - 101	2	5
<i>Typhlops</i> sp nov. A	20-20-18/20-20-20	228-295	219-290	8-14	130-525	4-16	125