

ÁREA TEMÁTICA: BIOGEOGRAFIA
SUBÁREA TEMÁTICA: AMPLIAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIE

AMPLIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE UMA ESPÉCIE DE COBRA-CEGA
***Amerotyphlops arenensis* Graboski, Pereira e Filho, Silva, Costa Prudente e Zaher, 2015**

Anny Caroliny Santos Loz¹, Tamí Mott¹

¹ Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Campus A. C. Simões.

E-mail (ACSL): annycsloz@gmail.com

E-mail (TM): tami.mott@icbs.ufal.br

INTRODUÇÃO

O gênero *Amerotyphlops* foi proposto por Hedges et al. (2014) para acomodar as 19 espécies descritas de serpentes com hábito fossorial, popularmente conhecidas como cobra-cegas (Hedges et al., 2014). Estas serpentes apresentam o corpo cilíndrico, cabeça não diferenciada do corpo, escamas dorsais indiferenciadas das ventrais (Bernarde, 2012), olhos vestigiais e tamanho diminuto (aproximadamente 100 - 1.000 mm) (Graboski, 2011). Dentre as 19 espécies de *Amerotyphlops*, 11 ocorrem em território brasileiro (Uetz et al., 2023), destas, *A. amoipira* (Rodrigues e Juncá, 2002), *A. arenensis* Graboski, Pereira e Filho, Silva, Costa Prudente e Zaher, 2015, *A. brongersmianus* (Vanzolini, 1976) e *A. paucisquamus* (Dixon, 1979) apresentam registro de ocorrência para o estado de Alagoas.

Amerotyphlops arenensis foi descrita com base em 28 espécimes coletados na Reserva Ecológica Mata do Pau Ferro, no município de Areia no estado da Paraíba, sua localidade tipo (Graboski et al., 2015). A espécie também é endêmica do Brasil, restrita a Caatinga e áreas de contato com a Mata Atlântica e Cerrado (Nogueira et al., 2020). Para Alagoas, há registro de ocorrência para o município de Quebrangulo (Reserva Ecológica de Pedra Talhada, Graboski et al., 2018). Esta espécie possui como fólido diagnóstico 204 - 225 escamas dorsais e 18/18/18 de escamas ao redor do corpo (Graboski et al., 2015). A coloração do dorso é marrom-escuro contrastando com o ventre creme claro. O focinho rosado, tanto na porção dorsal quanto na ventral, apresenta algumas manchas marrom-escuras, cobrindo tanto a escama rostral quanto as nasais (Graboski et al., 2015). Aqui registramos a ampliação da espécie aproximadamente 350 Km ao sul da sua localidade tipo e 90 Km ao sul de sua localidade mais próxima, contribuindo assim para reduzir o déficit wallaceano.

MATERIAL E MÉTODOS

Um espécime oriundo de Rio Largo, estado de Alagoas, estava identificado como *Amerotyphlops* sp. (MHN-UFAL15421) e através da integração de uma abordagem morfológica e molecular, sua identificação específica foi realizada. Para a abordagem morfológica, quatro caracteres discretos (merísticos) e 16 contínuos (morfométricos) foram aferidos com o auxílio de um paquímetro digital e um estereomicroscópio equipado com ocular milimetrada, seguindo Tomas e Hedges (2007) com adaptações de Brito e Freire (2011). A coloração dos espécimes foi observada e caracterizada seguindo Hedges et al. (2014) e Graboski et al. (2015).

Para a abordagem molecular, DNA genômico total da amostra foi extraído de tecido muscular ou hepático através do método de Fenol/Clorofórmio (Sambrook, 1989). Um espectrofotômetro nanodrop foi utilizado para quantificar e avaliar a pureza das extrações de DNA. Para a amplificação de um fragmento de 550 pares de base (pb) do gene mitocondrial 16S rRNA, foram realizadas reações em cadeia da Polimerase (PCRs) em um volume de 25µl utilizando os primers universais de Palumbi (2002) (forward primer 16Sar: CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT e reverse primer 16Sbr: CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T). A presença de amplicons foi verificada através de uma eletroforese em gel de agarose 1% corada com Sybr safe e visualizada em um transluminador com luz ultravioleta. As amostras funcionais foram purificadas com isopropanol e destinadas à empresa Mylles Biotecnologia para serem sequenciadas com o primer *forward*. As sequências obtidas foram editadas utilizando o software BioEdit 7 (Hall, 2011) e alinhadas com sequências obtidas no banco de dados genéticos

online Genbank utilizando o software Mafft (Rozewicki et al., 2019). No software MEGA-X (Tamura et al., 2021) foi calculada a distância genética interespecífica e intraespecífica utilizando o modelo Kimura-2-parâmetros. O grupo externo foi escolhido seguindo Graboski et al. (2018). O melhor modelo evolutivo e o melhor esquema de partição foram determinados no software PartitionFinder 2.1.1 (Lanfear et al., 2012). Em seguida, foi realizada uma inferência bayesiana utilizando o software MrBayes 3.2.7 (Ronquist et al., 2012). Um consenso de maioria (*majority consensus*) foi obtido para gerar uma topologia após o descarte de 25% das árvores iniciais (*burn-in*). A árvore gerada foi visualizada e analisada com o auxílio do software FigTree 1.3.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O espécime MHN-UFAL15421 apresentou folidose de 18 escamas ao redor do corpo sem redução e 203 escamas dorsais. Estas características se sobrepõem as de *A. paucisquamus*, entretanto, a coloração do espécime também demonstrou ser característico de *A. arenensis*, apresentando as escamas dorsais em marrom escuro, escamas ventrais em um tom de creme-amarelado e escamas cefálicas pigmentadas (Graboski et al., 2015).

A divergência genética desta sequência com as sequências topotípicas foi de 0,55% utilizando o modelo evolutivo Kimura-2-parâmetros. O modelo evolutivo mais adequado para o conjunto de dados moleculares foi GTR+G. A inferência bayesiana recuperou a sequência do espécime de Rio Largo juntamente com as sequências topotípicas de *A. arenensis* corroborando a identificação morfológica (Fig. 1).

Para *A. arenensis*, até então, o registro de ocorrência além da sua localidade tipo era Quebrangulo, Alagoas (Graboski et al., 2018). Com esse estudo, a distribuição foi ampliada em aproximadamente 350 Km ao sul da sua localidade tipo, 90 Km ao sul de sua localidade mais próxima, sendo o registro para Rio Largo o mais extremo sul de sua distribuição.

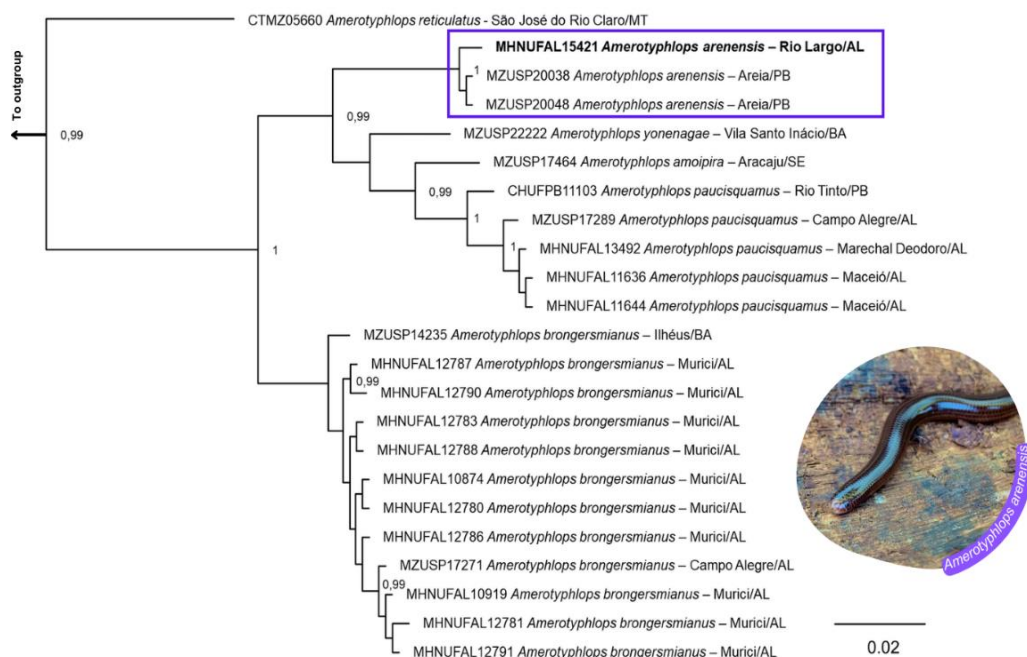


Figura 1. Relações filogenéticas de *Amerotyphlops* estimadas através de uma análise Bayesiana utilizando o modelo evolutivo GTR+G para um fragmento de 550 pares de base do gene mitocondrial 16S rRNA. Valores de probabilidades posteriores acima de 0,95 foram considerados altos e são apresentados na filogenia. Em destaque, o espécime MHN-UFAL 15421 (negrito) agrupado em um retângulo azul com os indivíduos da localidade tipo (Areia – Paraíba).

CONCLUSÕES

No estado de Alagoas há a ocorrência de no mínimo quatro espécies de *Amerotyphlops* (*A. amoipira*, *A. arenensis*, *A. brongersmianus* e *A. paucisquamus*). Este estudo amplia a distribuição de *A. arenensis* e contribui significativamente com o conhecimento sobre a distribuição geográfica deste gênero de serpentes fósseis, colaborando para reduzir o déficit Wallaceano.

REFERÊNCIAS

- Bernarde, Paulo Sérgio. Anfíbios e répteis: introdução ao estudo da herpetofauna brasileira. Anolis Books, 2012.
- Brito, P. S. Taxonomia e filogenia das serpentes do gênero *Typhlops* Opper, 1811 (Squamata: Typhlopidae) ocorrentes na Mata Atlântica brasileira. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2011.
- Dixon, J. R; Hendricks, F. S. The wormsnakes (family Typhlopidae) of the Neotropics, exclusive of the Antilles. *Zoologische Verhandlungen*, v. 173, n. 1, p. 3-39, 1979.
- Graboski, R. et al. A new species of *Amerotyphlops* from Northeastern Brazil, with comments on distribution of related species. *Zootaxa*, v. 3920, n. 3, p. 443-452, 2015.
- Graboski, R. et al. Molecular phylogeny and hemipenial diversity of South American species of *Amerotyphlops* (Typhlopidae, Scolecophidia). *Zoologica Scripta*, v. 48, n. 2, p. 139-156, 2019.
- Hall, T. BioEdit: an important software for molecular biology. *GERF Bull Bioscience*, v. 2, n. 1, p. 60-61, 2011.
- Hedges, S. B. et al. A taxonomic framework for typhlopoid snakes from the Caribbean and other regions (Reptilia, Squamata). *Caribbean Herpetology*, v. 49, p. 1-61. 2014.
- Lanfear, r. C. B.; ho, s. Y. E guindon, S. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, v. 29, n. 6, p. 1695-1701, 2012.
- Nogueira, C. C. et al. Atlas of Brazilian snakes: verified point-locality maps to mitigate the Wallacean shortfall in a megadiverse snake fauna. *South American Journal of Herpetology*, v. 14, n. sp1, p. 1-274, 2019.
- Ronquist, F. et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology*, v. 61, n. 3, p. 539-542, 2012.
- Rozewicki, J. et al. MAFFT-DASH: integrated protein sequence and structural alignment. *Nucleic acids research*, v. 47, n. W1, p. W5-W10, 2019.
- Sambrook, J. et al. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold spring harbor laboratory press, 1989.
- Tamura, K; Stecher, G; Kumar, S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.
- Uetz, P.; Freed, P.; Jirí Hošek (editores), *The Reptile Database*, <http://www.reptile-database.org>, acessado em 17.VIII.2023