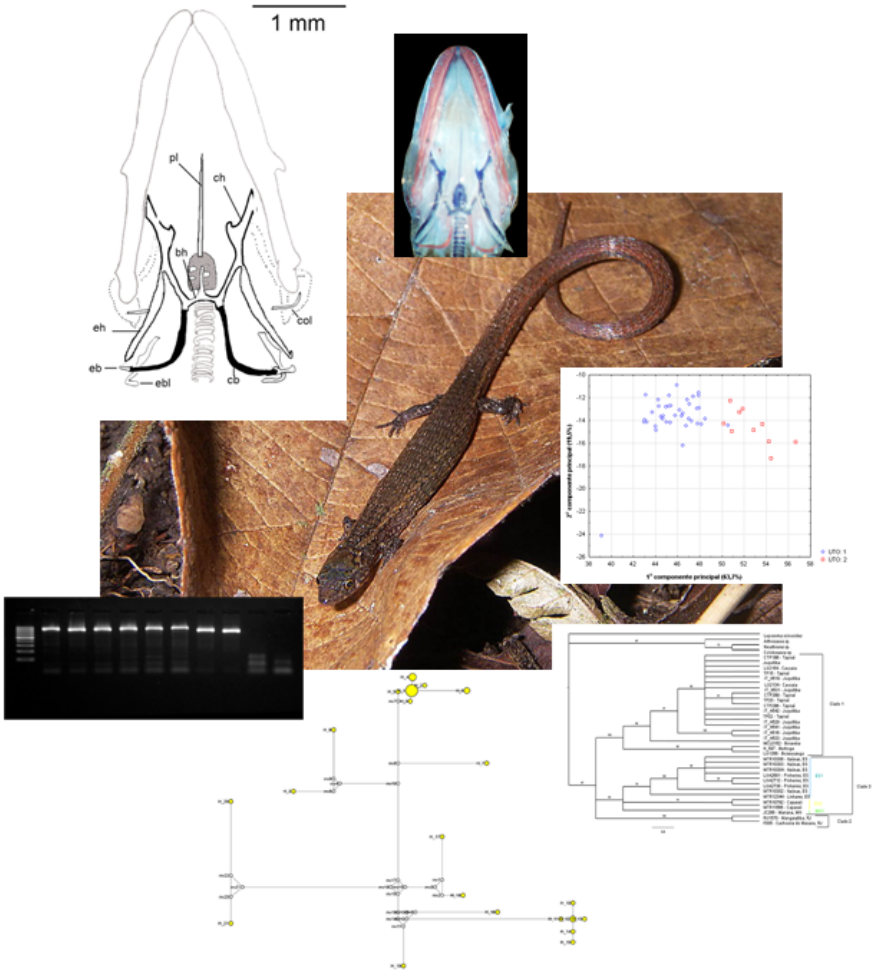
Daniel Michiute Carolino

Diferenciação geográfica de *Ecpleopus gaudichaudii* (Squamata, Gymnophthalmidae) baseada em caracteres morfológicos e moleculares, e considerações sobre a descrição osteológica.



2010

Daniel Michiute Carolino

Diferenciação geográfica de *Ecpleopus gaudichaudii* (Squamata, Gymnophthalmidae) baseada em caracteres morfológicos e moleculares, e considerações sobre a descrição osteológica.

Geographical differentiation of *Ecpleopus gaudichaudii* (Squamata, Gymnophthalmidae) based on morphological and molecular caracters, and considerations about the osteological decription.

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, na Área de Zoologia.

Orientador: Miguel Trefaut Rodrigues

São Paulo

2010

Carolino, Daniel Michiute
Diferenciação geográfica de *Ecpleopus gaudichaudii* (Squamata, Gymnophthalmidae) baseada em caracteres morfológicos e moleculares, e considerações sobre a descrição osteológica.
iv + 132 pp.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Zoologia.

1. Lacertilia 2. Gymnophthalmidae 3. *Ecpleopus* 4. Variação geográfica 5. Osteologia I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Zoologia.

Comissão Julgadora

_____ _____

Prof. (a) Dr. (a) Prof. (a) Dr. (a)

_____

Prof. Dr. Miguel Trefaut Rodrigues

(Orientador)

"A natureza parece gostar de variar o mesmo mecanismo de infinitas maneiras...ela só abandona uma categoria de produção após haver multiplicado seus indivíduos de todas as formas possíveis."

- **Denis Diderot**, *Pensées sur l'interpretation de la nature (1753)*

Dedicatória

À Anna Tatasciori Michiute,

Minha avó, a pessoa mais sábia que eu conheci,

Que me deu uma grande lição de vida,

E que, tenho certeza, me acompanha onde quer que esteja.

Agradecimentos

Esta dissertação foi feita com o auxílio de muitas pessoas e instituições, sem as quais ela não seria feita. Expresso minha mais sincera gratidão a todos que fizeram parte direta ou indiretamente dessa caminhada.

Ao Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, que me auxiliou com a logística e à todos os funcionários desta casa, sempre solícitos e prontos a atender.

Ao Prof. Miguel Trefaut Rodrigues que aceitou me orientar, mesmo eu dividindo o tempo com outra ocupação, sempre entusiasmado com o trabalho e pronto a atender em qualquer dúvida ou discussão. Sua disposição e, principalmente, conhecimento são estimulantes. Reitero aqui minha gratidão.

A FAPESP, que embora não tenha usufruído de bolsa, indiretamente possibilitou que muitos dos recursos utilizados nesse trabalho fossem realizados.

Aos pesquisadores, à curadoria e às diversas instituições que disponibilizaram material para o estudo. Agradeço especialmente ao Prof. Dr. Carlos Frederico D. Rocha (Universidade Estadual do Rio de Janeiro), Prof. Dr. Hélio Ricardo da Silva (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro), Prof Dr. Hussam Zaher (Museu Zoologia da Universidade de São Paulo), Prof. Ronaldo Fernandes (Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro), Prof. Dra. Valéria Fagundes Terra (Universidade Federal do Espirito Santo), Prof. Dr. Paulo Garcia (Universadade Federal de Minas Gerais), Prof. Dr. Francisco Luis Franco (Instituto Butantan, SP), Davor Vrcibradic (Universidade Estadual do Rio de Janeiro), Carolina Mello (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo), Eduardo Dias (Universidade Estadual do Rio de Janeiro), Dr. Marcelo Soares (Universidade Federal do Rio de Janeiro), Thais Condez (Instituto Butantan, SP).

Aos professores com quem tive mais contato esses anos, por suas dicas e ensinamentos, Prof. Dr. Antonio Carlos Marques, Profa. Dra. Elizabeth Höfling, Profa. Dra. Monica de Toledo-Piza Ragazzo.

Á Profa. Dra. Katia Cristina Pellegrino pela ajuda, orientação e idéias na realização do trabalho molecular. A Profa. Dr. Yatio Yonenaga-Yassuda pela utilização de seu laboratório na coleta de dados. A Maíra Concistré pela ajuda inestimável no trabalho de laboratório de biologia molecular.

Aos companheiros do terrário: Ao Felipe Franco Curcio por toda a ajuda com conselhos, discussões de idéias e na parte operacional sem a qual o trabalho não teria acontecido, e é claro, da sua companhia extremamente agradável e divertida. A Renata Cecilia Amaro por ter tido a paciência de me ensinar Biologia Molecular, por toda as dicas e disposição em ajudar. Ao Pedro Nunes, com a ajuda nas imagens e já trabalhando juntos desde a época do museu. A José Cassimiro pela discussão e troca de idéias durante o trabalho.

Aos demais integrantes do laboratório que de uma forma ou outra sempre ajudaram quando preciso: Vanessa Verdade, Agustin Camacho, Antoine Fouquet, José Mário Belotti Ghellere, Noraly Liou, Helena Nery, Juliana Roscito, Lilian Duarte,Mauro Teixeira Junior, Renata Moretti, Renato Recoder, Rodrigo Marques Santos, Silvia Geurgas e Tami Mott.

Aos amigos Fernando Kamitani, Daniela Almenara, Juliano Paccez, Fernando Domenico por todos os anos de companhia e ajuda mútua.

A Maria Cristina Cordeiro Reckevicius, Mara Regina Solis, pelo apoio e compreensão.

Ao Paulo, Marcos, Nélson, Amaury, Silvia, Fanny, Denise, Marly, Amarildo, Márcio, Simone, Cris, Léo, Carla, Julia, e a todos os outros amigos do SESI, SP.

Muitas outras pessoas contribuíram, de forma a não ser injusto com alguém não citando nominalmente, fica aqui o meu muito obrigado.

Finalmente à minha família, origem e responsável por ser eu hoje o que sou.

Aos meus tios, primos e a meu avô, Gervásio, sempre interessado em meu progresso.

À Cintia Cardena, logo Carolino, que descobri nela uma companheira pro resto da vida, por todo o apoio, compreensão e amor que temos compartilhado e que iremos compartilhar.

A minha irmã, Ana Paula, pela companhia nesses 25 anos, pelo apoio constante. É uma pessoa incrível e de quem eu tenho muito orgulho de dizer que sou irmão.

Em especial aos meus pais, Rubens e Sônia por todo o apoio, suporte e dedicação, sem contar o amor irrestrito, que tiveram, de forma que serei eternamente grato e em dívida. Agradeço todos os dias por tê-los como pais. Minha eterna gratidão e amor!

E a todos aqueles que eu possa deventura ter esquecido:

Muito Obrigado!

ÍNDICE

1. Introdução..... 1
2. Material e Métodos..... 13
2.1 Material Biológico..... 14
2.2 Estudo osteológico..... 15
2.3 Estudo morfológico..... 17
2.3.a Caracteres estudados..... 17
2.3.b Delimitação de UTOs..... 20
2.3.c Tratamento estatístico..... 20
2.4 Estudo molecular..... 22
3. Resultados e Discussão..... 27
3.1 Considerações gerais..... 28
3.2 Estudo osteológico..... 30
3.2.1 Crânio..... 30
3.2.1.a Padrão geral..... 30
3.2.1.b Caixa craniana..... 39
3.2.1.c Mandíbula..... 40
3.2.1.d Dentição..... 42
3.2.1.e Aparato hióide..... 43
3.2.2 Pós-crânio..... 44
3.2.3 Considerações sobre a osteologia..... 51
3.3 Estudo morfológico..... 54
3.3.1 Determinação das UTOs..... 55
3.3.2 Tratamento estatístico..... 57
3.3.2.a Dimorfismo sexual (ANOVA)..... 57

3.3.2.b Abordagem multivariada..... 60

3.4 Estudo molecular..... 62

3.5 Definição de unidades..... 68

3.6 Considerações filogenéticas e zoogeográficas..... 71

3.7 Perspectivas futuras..... 75

4. Conclusões..... 76

5. Resumo..... 78

6. *Abstract.*..... 80

7. Referências bibliográficas..... 82

Anexo..... 111

Apêndice..... 129

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A mata atlântica brasileira é um dos ambientes mais diversos e ameaçados do mundo. (Haddad, 1998; Mittermeier *et al.*, 1999; Myers *et al*., 2000; Rodrigues *et al.*, 2002a; Rodrigues *et al.*, 2005). Também descrita como Domínio Morfoclimático Tropical Atlântico (Ab´saber, 1970), se estendia originalmente por toda a costa leste do Brasil por cerca de 5.500 km entre as latitudes 6° a 30°, e cobrindo uma área total de aproximadamente 1.000.000 km^2 . Atualmente resta menos de 6% dessa área, o que coloca a mata atlântica como uma das cinco regiões de alta diversidade ("hot spots") mais ameaçadas do mundo.

Apesar da enorme exploração e da pouca área residual, ainda são descobertas e descritas várias novas espécies por ano, o que indica que o conhecimento de sua biodiversidade está longe de ser completo. A descoberta de novas espécies é de importância fundamental para o entendimento da filogenia de alguns grupos em particular e da própria história do desenvolvimento da floresta e de sua relação com os outros ecossistemas brasileiros e da América do Sul. (Rodrigues *et al*. 2002a).

Dentre os grupos cujo conhecimento da diversidade está, em grande parte, diretamente relacionado com o conhecimento da mata atlântica e dos processos que moldam sua história estão os lagartos microteídeos (Gymnophthalmidae).

Os Gymnophthalmidae são conhecidos como microteídeos por possuírem comprimento rostro cloacal entre 4 e 15 cm, em contraste com o que é considerado seu grupo irmão, os macroteídeos (Teiidae), que são bem maiores (alguns chegando a 1 metro de comprimento rostro cloacal) (Ruibal,

1952). Estes dois grupos compõem os Teiioidea, um grupo exclusivamente neotropical (Estes, de Queiroz & Gauthier, 1988; Schwenk, 1988; Evans & Barbadillo, 1997, 1998; Evans & Chure, 1998; Caldwell, 1999).

A história de sua classificação é longa e complexa. Pode-se traçar retrospectivamente sua história taxonômica ao trabalho de Boulenger (1885), que colocou os Gymnophthalmidae junto com os atuais Teiidae em uma única família (Teiidae) e estabeleceu quatro grupos distintos. O grupo I continha as formas de corpo relativamente grande, *Ameiva, Callopistes, Cnemidophorus, Crocodilurus, Dicrodon, Dracaena, Kentropyx, Teius a Tupinambis.* As espécies de pequeno porte, referidas posteriormente de forma conjunta como os 'microteídeos' por Ruibal (1952), foram distribuídas nos outros três grupos II, III e IV. Eles foram diagnosticados através do padrão de escamação da cabeça e morfologia dos dígitos (grupo II), e elongação corporal com redução ou perda dos membros, cinturas e aberturas timpânicas externas (grupos III e IV). (Boulenger, 1885).

Esse arranjo formou a base para os diversos tratamentos sistemáticos subseqüentes do grupo. (ex. Cope, 1900; Burt & Burt, 1931; Ruibal, 1952; MacLean, 1974; Presch, 1974a, 1980, 1983; Harris, 1985; Sullivan e Estes, 1997; Hoyos, 1998). O reconhecimento formal de duas categorias diferentes dentro do grupo, em Teiinae (grupo I do Boulenger) e Gymnophthalminae (grupos II, III e IV de Boulenger) foi feito de maneira independente por MacLean (1974) e Presch (1974a). Finalmente o reconhecimento de uma família independente, os Gymnophthalmidae, foi feito também de forma independente por Presch (1983, 1988), Estes (1983) e (Estes *et al.*, 1988) e tem sido seguido nos trabalhos sistemáticos mais recentes do grupo. (Estes *et*

al., 1988; Schwenk, 1988; Evans & Barbadillo, 1997, 1998; Evans & Chure, 1998; Lee, 1998; Caldwell, 1999, Pellegrino *et al.*, 2001, Castoe *et al.*, 2004, Doan & Castoe, 2005).

Os Gymnophthalmidae são muito diversificados e de maneira geral pouco conhecidos taxonomicamente em nível específico, genérico ou mesmo supra genérico. Ocorrem do Sul do México à Argentina, no Caribe e em ilhas continentais das América Central e do Sul. Apresentam atualmente aproximadamente 190 espécies descritas, distribuídas em 41 gêneros (Pellegrino *et al.*, 2001, Castoe *et al.*, 2004, Doan & Castoe, 2005, Rodrigues *et al.*, 2005 e 2007), sendo a maioria exclusivos da América do Sul. Os Gimnoftalmídeos ocorrem nos mais variados habitats, variando dos Andes às florestas tropicais úmidas. A complexa taxonomia do grupo é devida não só a raridade de vários táxons em coleções, mas também, devido à presença de inúmeras características morfológicas convergentes para habitats especializados (Pelegrino 2001).

Há poucos estudos detalhados sobre os Gymnophthalmidae em relação a sua anatomia. Alguns estudos foram publicados recentemente sobre a sistemática do grupo (Pellegrino, 2001; *Castoe et al.*, 2004), porém a maioria se concentra na revisão de gêneros. Embora alguns trabalhos recentes sobre a sistemática do grupo utilizaram dados moleculares (Pellegrino, 2001; *Castoe et al.*, 2004), a maioria das revisões genéricas abordou aspectos da morfologia externa (ex. Uzzell, 1959, 1966, 1969; Dixon, 1973, 1974a; Montanucci, 1973, Doan, 2003), e poucos caracteres de anatomia interna foram utilizados, como a morfologia peniana (Uzzell, 1965, 1969, 1970, 1973; Uzzell & Barry, 1971; Böhme, 1988) e da língua (Uzzell, 1969; Harris, 1985; Schwenk, 1988).

A literatura sobre osteologia craniana do grupo é extremamente limitada. O primeiro trabalho a fazer qualquer menção a aspectos da osteologia craniana em Gymnophthalmidae vem de Sinitsin (1928), que discutiu rapidamente as diferenças entre as porções anteriores dos crânios de teiídeos e gimnoftalmídeos. Ele apontou diferenças na contribuição relativa da pré-maxila ao nasal na borda da narina, bem como diferenças na arquitetura e posição relativa das septos-maxila em relação à cavidade nasal e ao órgão vomeronasal. MacLean (1974) incluiu a descrição da anatomia craniana em seu trabalho sobre mecanismos de alimentação. Poucas espécies do grupo possuem descrições do crânio publicadas. As descrições encontradas na literatura compreendem *Gymnophthalmus speciosus*, *Alopoglossus buckleyi, Proctoporus unicolor e Bachia bresslaui* (MacLean, 1974), *Iphisa elegans* (Dixon, 1974), *Cercosaura schreibersii* (Lopez & Cabrera, 1995), *Potamites ecpleopus* (Bell et al., 2003), *Euspondylus acutirostris* (Montero *et al.*, 2002), *Heterodactylus* (Soares, 2000), e *Bachia* (Jerez e Tarazona, 2009).

Em termos de caracteres gerais que definam sinapomorfias do grupo o trabalho de Estes (1983) listou uma série de caracteres que se mostraram variáveis em um trabalho do próprio autor e colaboradores (Estes *et al.* 1988), que porém tipificou 12 caracteres sinapomórficos, cinco do crânio e três do aparato hióideo. Finalmente alguns trabalhos tentaram estabelecer relações filogenéticas dentro do grupo utilizando caracteres ósseos (Presch, 1980; Hoyos, 1988).

Ainda existem alguns registros isolados sobre aspectos da anatomia óssea de algumas espécies de gimnoftalmídeos, incluindo um desenho de um crânio de *Bachia trisanale* (Presch, 1975), ilustrações do aparelho hióide de

Neusticurus rudis e *Tretioscincus bifasciatus*, uma breve discussão e ilustração do aparato hióide de *Neusticurus bicarinatus* (Richter, 1933) e ilustrações do aparelho hióide, mandíbula e do crânio articulado de *Iphisa elegans* (Dixon, 1974b). Alguns autores descreveram aspectos da dentição de algumas espécies como Dixon (1974a), Olson, Marx & Rome (1986) e Kizirian (1996). Montanucci (1973) registrou mudanças individuais na posição relativa de elementos ósseos do crânio de *Pholidobolus,* mas não encontrou caracteres consistentes que permitissem a diferenciação de espécie.

As relações filogenéticas dentro do grupo tem sido alvo de debate desde o começo da história da herpetologia, com os trabalhos de Gray (1827, 1838, 1839, 1845), Merrem (1820) e Wagler (1830). Porém foi Boulenger (1885) que realizou o primeiro trabalho taxonomicamente substancial, no qual reconheceu uma família (Teiidae) que dividiu em quatro grupos, a partir de dados de morfologia externa. Os microteídeos foram então divididos em três grupos. O trabalho de Boulenger ainda permanece como um dos mais completos estudos dessa família apesar de alguns trabalhos posteriores tentarem dividir esses grupos em clados monofiléticos menores (Presch, 1980; Rodrigues, 1991, 1995) ou colocar os microteídeos como uma subfamília independente ou mesmo uma família distinta dos Teiidae (MacLean, 1974, Presch, 1983; Estes, 1983; Presch, 1988; Estes *et al.*, 1988). Todos esses trabalhados foram baseados em caracteres morfológicos externos e internos.

Com o advento das técnicas de análise molecular, outros tipos de dados começaram a ser utilizados para tentar elucidar as relações dentro do grupo, entre eles alozimas, DNA mitocondrial e cromossomos, que serviram de base para uma série de trabalhos (Martins, 1997; Yonenaga-Yassuda *et al.*, 1995,

1996; Yonenaga-Yassuda, Pellegrino & Rodrigues, 1999; Pellegrino *et al.*, 1999; Kizirian & Cole, 1999). Atualmente trabalhos como os de Pelegrino (2001) e Castoe (2005) analisaram os táxons utilizando-se de caracteres moleculares, esclarecendo vários aspectos das relações filogenéticas do grupo. Nesses trabalhos foram erigidos alguns grupos entre os quais o dos Ecpleopodini, do qual faz parte o gênero *Ecpleopus* (Rodrigues *et al.,* 2009). Os dados moleculares têm-se mostrado muito úteis como uma ferramenta na tentativa de elucidação das relações entre grupos de seres vivos, em todos os níveis hierárquicos, em especial no nível populacional. Isso se deve às diferentes taxas de mutação que os vários genes apresentam, alguns muito conservados enquanto outros tem taxas mais altas. (Hillis *et al.*1996; Avise, 1998).

O gênero *Ecpleopus* Duméril & Bibron, 1839, compreende pequenos lagartos de folhedo que ocorrem ao longo da Mata Atlântica entre os estados da Bahia e Santa Catarina, com um registro isolado para o estado de Goiás (Uzzell, 1969, Eisemberg *et al.,* 2004).

Ecpleopus foi usado por Peters (1862) para agrupar uma série de subgêneros: *Ecpleopus* para *E. gaudichaudii, Aspidolaemus* para *E. affinis, Pholidobolus, Oreosaurus, Euspondylus, Argalia, Xestosaurus* e *Proctoporus* (*apud* Uzzell, 1969). Boulenger (1885) propôs uma mudança no conceito que Peters havia formulado para *Ecpleopus*, excluindo dele todos os subgêneros supracitados, menos *Ecpleopus* e *Aspidolaemus.*

O gênero foi revisto uma única vez por Uzzell (1969) que, com base em apenas 12 exemplares, o total disponível em coleções na altura de seu trabalho, sinonimizou vários táxons, entre eles um gênero, *Arthroseps*, e três

espécies (*Arthroseps werneri* Boulenger, 1898; *Alopoglossus gracilis,* Werner, 1913; *Arthroseps fluminensis,* Amaral, 1932) passando a reconhecer apenas uma espécie, *Ecpleopus gaudichaudii*. Desde então tem sido este o esquema utilizado na literatura.

Ecpleopus, originalmente descrito por Duméril & Bibron, 1839, pertence ao grupo II dos Teiidae (Boulenger, 1885), atual família Gymnophthalmidae, foi recentemente alocado dentro da subfamília Cercosaurinae, tribo Ecpleopodini, com base em caracteres moleculares (Pellegrino *et al.*, 2001; Rodrigues *et al.,* 2009). É caracterizado, por apresentar escamas dorsais quilhadas e alongadas arranjadas em fileiras diagonais e transversais; escamas ventrais lisas, também em fileiras diagonais e transversais; primeira superciliar alongada; primeira supraocular em contato com a frontonasal e a loreal; e séries superciliares incompletas de forma que somente a primeira e a quarta supraoculares são separadas das palpebrais. São lagartos de pequeno porte (comprimento rostro anal máximo 50mm) com coloração dorsal castanha e ventre amarelo claro, a parte ventral da cauda pode ser rosada; o corpo é alongado e os membros pentadáctilos pequenos. Uzzell (1969), em sua revisão, descreveu de forma detalhada a morfologia da língua, dos membros, do hemipênis e a coloração dos indivíduos que examinou. Não há, contudo, qualquer referência a descrições osteológicas e de séries ontogenéticas para o gênero.

A aparente raridade do gênero manteve-se até recentemente quando, a partir do emprego de armadilhas de interceptação e queda, verificou-se serem estes lagartos muito mais comuns do que até então se admitia. Embora todas as novas amostras provenham das regiões costeiras do sudeste do Brasil associadas à Mata Atlântica, o registro de Goiás sugere que a real distribuição

do gênero pode se estender bem mais para o norte e para oeste, sendo limitada pelas áreas de florestas úmidas do complexo amazônico, assim como ocorre com o gênero *Placosoma* (Uzzell, 1959, 1962).

A biologia da espécie é pouco conhecida. Ocorre geralmente em altitudes não muito elevadas, pouco acima do nível do mar, podendo chegar até 1000 m (Uzzell, 1969); supõe-se que apresenta uma ninhada com dois ovos, como os demais gimnoftalmídeos (Vitt, 1982), apesar de Uzzell (1969) e Perini e Butti (2008) sugerirem que apenas um ovo é depositado em cada ninhada.

O gênero *Ecpleopus,* de acordo com um trabalho recente baseado em dados morfológicos e moleculares está posicionado como gênero basal dos Ecpleopodini, recuperando *Leposoma, Arthrosaura, Colobosauroides, Dryadosaura e Anotosaura* como seqüencialmente derivados (Rodrigues *et al*., 2005). Nesta linhagem, sua similaridade maior é também com *Leposoma*, com quem compartilha a forma e tamanho do corpo assim como o habitat.

Estudos recentes mostraram que o gênero *Leposoma*, inicialmente representado por apenas uma espécie ao longo da Floresta Atlântica está dividido em diversas espécies diagnosticáveis por diferenças morfológicas sutis, corroboradas por caracteres cromossômicos e moleculares (Rodrigues, 1997; Rodrigues & Borges, 1997; Rodrigues *et al*., 2002 a, b). Estudos em andamento com o gênero *Leposoma* na Mata Atlântica indicam que os rios das bacias do leste parecem ter atuado como barreiras à especiação ao longo da história do gênero. Nos geconídeos do gênero *Gymnodactylus,* que também ocorrem ao longo da floresta atlântica, verificou-se a existência de pelo menos duas espécies crípticas e forte estruturação genética das populações,

intimamente relacionada ao sistema de rios da floresta atlântica (Pellegrino *et al.*, 2005), sugerindo, novamente, que um processo semelhante possa também estar ocorrendo com as populações de *Ecpleopus*.

A Mata Atlântica como um Domínio Morfoclimático vem sofrendo modificações ao longo de sua história e vários mecanismos que visam explicar o aumento da diversidade foram propostos ao longo dos anos. Haffer (1997) elenca algumas hipóteses, ou fatores, que tentam explicar a origem da grande diversidade de animais nas florestas tropicais. Esses fatores, históricos ou ecológicos, tentam explicar a separação espacial das populações, permitindo sua diferenciação em alopatria, de acordo com o modelo de especiação geográfica proposto por Mayr (1942, 1963). Ele lista seis fatores: (1) mudanças na distribuição de massas de terra e de água em função de movimentos tectônicos (hipótese paleogeográfica) (Emsley, 1965); (2) o efeito de barreira causado pelos rios (hipótese dos rios) (Sick, 1967; Capparella, 1988; Hershkovitz, 1977); (3) uma combinação do efeito dos rios e do mosaico vegetacional (hipótese dos rios e refúgios) (Ayres & Clutton-Brock, 1992; Capparella, 1991); (4) o isolamento de fragmentos de floresta nos períodos climáticos secos do Terciário e Quartenário (teoria dos refúgios) (Haffer, 1969, 1974; Colinvaux, 1993; Vanzolini *et al.*, 1970; Vrba, 1993); (5) interações com espécies invasoras e locais durante o Pleistoceno (hipótese de distúrbio-vicariância (Colinvaux, 1993); (6) especiação parapátrica devido ao gradiente ambiental, em clinas, sem que ocorra a separação de populações representativas (Endler, 1982). Essas hipóteses foram sugeridas inicialmente para explicação da diversidade do ecossistema amazônico, mas algumas delas

têm sido utilizadas para explicar também a diversidade da mata atlântica (Freire, 1998; Rodrigues, 1987; Pellegrino *et al.*, 2005; Carnaval, 2002).

Entre as hipóteses para explicar a origem da diversidade biológica nas florestas tropicais, a hipótese de os rios servirem como barreira é a mais antiga (Haffer, 1997). Ela foi relatada pela primeira vez no trabalho de Wallace (1853). Em suas viagens pela Amazônia notou que os nativos quando queriam buscar uma determinada espécie de primata, sempre se dirigiam a uma margem particular do rio, nunca tentando capturar a espécie em margem oposta. Em seus trabalhos de coleta de espécimes ele começou a notar que as espécies de primatas capturados eram correspondentes com o padrão de distribuição dos mesmos nas áreas entre os rios, não havendo sobreposição. (Wallace, 1852, 1876; Quammen, 1996; Colwell, 2000). Os rios podem servir como barreiras ao fluxo gênico, promovendo divergência genética das populações, sendo esta iniciada através da subdivisão da população original (vicariância) (Mayr, 1963) ou depois da colonização da área por uns poucos fundadores. (Colwell, 2000). Outros trabalhos apresentam padrões de distribuição semelhantes ao encontrado por Wallace na bacia amazônica (Remsen e Parker, 1983; Ayres e Clutton-Brock, 1992; Hershkovitz, 1977, Peres, Patton e Da Silva, 1996). Outros estudos vêm sendo feitos desde então procurando testar essa hipótese para diversos táxons e rios (Gascon *et al.*, 2000, Pellegrino *et al.*, 2005; Zhao, Daí e Fu, 2009). Esses trabalhos ora corroboram, ora não, o papel dos rios como barreiras efetivas ao fluxo gênico dos organismos, mostrando que ele não é uma regra, embora possa exercer forte influência nos padrões de distribuição e diversidade dos táxons em alguns casos. Em anfíbios os resultados são inconsistentes, Ryan, Rand & Weigt

(1996); Lampert *et al.* (2003) e Li *et al.,* (2009) conseguiram mostrar que há uma significativa barreira genética nos casos em que eles analisaram. Já Lougheed *et al.*(1999) e Gascon *et al.* (2000) mostraram em seus estudos que as espécies estudadas tinham seus padrões de diferenciação relacionados a outros fatores. Os pequenos lagartos apresentaram divergência em pelo menos alguns estudos (Pounds & Jackson, 1980; Pellegrino *et al.,* 2005), mostrando que os rios podem facilitar a diferenciação.

Diante do exposto, do pouco conhecimento que dispomos sobre o gênero *Ecpleopus*, da disponibilidade de material para estudos morfológicos e genéticos, do desconhecimento sobre os processos básicos que atuaram na origem da biodiversidade encontrada na Floresta Atlântica, e considerando a similaridade ecológica e a ampla sobreposição da distribuição de *Ecpleopus* com os padrões apontados por outras espécies é possível que os lagartos deste gênero tenham passado por processos similares e isto esteja refletido morfológica e molecularmente nas populações hoje existentes. Para tal é necessário uma análise detalhada da morfologia e da estruturação genética das populações ao longo de sua área de ocorrência.

Esse trabalho pretende preencher algumas destas lacunas através do estudo da diferenciação geográfica do gênero com base em caracteres morfológicos e moleculares. Para complementar a informação sobre o gênero, será feita também uma descrição osteológica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2. MATERIAL E MÉTODOS

2. 1. Material Biológico

O material utilizado no presente estudo compreende 183 espécimes, preservados em álcool, de *Ecpleopus gaudichaudii* ao longo de sua cobertura geográfica. O material totaliza 37 localidades que se encontram na Figura 01. Para as análises moleculares foram utilizados 32 amostras de tecidos preservados em álcool e em ultra freezer, representando a distribuição da espécie pelos estados do sudeste. Para o estudo de osteologia foram utilizados três espécimes que passaram pelo processo de diafanização e colorização diferencial segundo técnica modificada de Song & Parenti (1995). A lista de material utilizado, com suas respectivas localidades, encontra-se no apêndice.

O levantamento de coordenadas geográficas foi feito nos catálogos das instituições, em *gazetters* (Paynter Jr., 1982, 1985, 1995, 1997; Paynter Jr. & Traylor Tr., 1991) e mapas cartográficos, foram confirmados e complementados com base em dados obtidos em sites de indexamento (http://www.fallingrain.com/world/, http://www.glosk.com, http://www.tageo.com/index.htm) além do software *Google Earth.* Os espécimes examinados estão depositados nas seguintes instituições, seguidas dos acrônimos utilizados daqui em diante:

- Museu Nacional do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ (MNRJ);
- Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP (MZUSP);
- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ (RU);
- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG (UFMG);
- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG (UFV)

2.2. Estudo osteológico

Foi feita a diafanização e coloração diferencial dos espécimes MZUSP 79558, 93425 e 93424, seguindo método modificado de Song & Parenti (1995). Nesse método o tecido de composição óssea fica com coloração vermelha e o tecido de composição cartilaginosa fica corado de azul.

Esse método segue os seguintes passos:

(1) Desidratação do espécime com álcool etílico absoluto (P.A.) para que haja a penetração do corante azul de *alcian* colorindo a cartilagem;

(2) a coloração das cartilagens é feita mergulhando-se o exemplar em uma solução contendo 80% de álcool etílico absoluto (P.A.) e 20% de ácido acético glacial (P.A.);

(3) o espécime é então mergulhado por um dia em álcool absoluto para neutralizar a reação do ácido acético na calcificação óssea;

(4) ocorre então uma reidratação progressiva do espécime, mergulhando-o sucessivamente em soluções decrescentes de gradiente alcoólicos (70%, 50%, 30%) terminando em água destilada;

(5) Os tecidos então são digeridos com uma solução de pancreatina (60% água e 40% de solução saturada de bórax e pancreatina), sendo mantido nessa etapa a uma temperatura constante de 25ºC;

(6) a próxima etapa é colocar o espécime em uma solução alcalina de KOH a 0,5% para que ocorra o clareamento dos tecidos restantes e criando condições para a atuação do corante de alizarina, que possui afinidade por material calcificado;

(7) por fim o espécime é imerso em solução de KOH 0,5% contendo vermelho de alizarina para que haja a coloração dos ossos, então o espécime é

colocado em soluções de concentrações crescentes de glicerina e cristais de timol (25%, 50% e 75%), até que perca a flutuabilidade, sendo mantida posteriormente em glicerina pura.

Após esse procedimento o material pode ser analisado com o auxilio de lupa estereomicroscópica equipada com câmara clara (MOTIC) para identificação dos ossos e posterior desenhos de suas estruturas. Para isso um dos espécimes (MZUSP 93425) teve seu crânio parcialmente desarticulado, expondo os ossos da caixa craniana (condrocrânio), ao passo que outro espécime (MZUSP 79558) foi totalmente desarticulado para estudo e descrição individual dos ossos, permitindo também o exame de estruturas internas e suturas.

Devido ao tamanho reduzido da espécie, não foi utilizada a técnica de descarne e preparo a seco com o auxilio de larvas de besouros, pois o esqueleto perde muita informação durante o preparo.

A terminologia utilizada na descrição óssea segue a nomenclatura proposta por Romer (1956), Oelrich (1956), Jollie (1960), Presch, (1980), Estes *et al.* (1988), Soares (2000), Silva & Verrastro (2007). Segue uma lista com a terminologia dos ossos e abreviações utilizadas daqui em diante:

basihial (bh); ceratobranquial (cb); caixa craniana (cc); corno hióide (ch); columela (col); coronóide (cor); epibranquial (eb); epibranquial livre (ebl); epihial (eh); epipterigóide (ep); esplenial (es); esquamosal (esq); frontal (f); jugal (j); maxilar (mx); nasal (n); pré-maxilar (pmx); parietal (p); pré-frontal (pf); processo lingual (pl); pós-orbital (po); pós-frontal (ps); pterigóid (ptg) e quadrado (q).

2.3. Estudo morfológico

A contagem de escamas foi feita sob estereomicroscópio Leica ZOOM 2000 e Motic série K, com aumento de até 60 x. Foram feitas as seguintes contagens, de acordo com a nomenclatura proposta por Dixon (1973): escamas dorsais (d), ventrais (v), laterais (l), lamelas inferiores do dedo IV anterior (da), lamelas inferiores do IV dedo posterior (dp), escamas pré-cloacais (pc) e escamas em volta do meio do corpo (cintura) (c).

As medidas morfométricas foram tomadas com um paquímetro digital Starret 727 – 6/150 na escala de décimo de milímetro aproximado. Foram medidos: comprimento rostro cloacal (CRC), comprimento total (Ctot), comprimento entre os membros (Cim), comprimento da perna traseira (Cpt), comprimento da cabeça (Ccab) e largura máxima da cabeça (Lcab).

Foi feita também a sexagem dos animais através de observação direta.

2.3.a. Caracteres estudados

Segue abaixo a descrição dos caracteres levantados:

A) Caracteres morfométricos:

- Comprimento rostro-cloacal (CRC): tomado com paquímetro com precisão de décimo de milímetro desde a escama rostral até a margem posterior da escama cloacal. As medidas foram feitas diretamente. Em caso de animais enrijecidos e com o corpo flexionado, impedindo a tomada direta de dados, o comprimento foi tomado indiretamente, com o auxilio de uma linha estendida ao longo da porção medial do ventre, posteriormente medida com o paquímetro.

- Comprimento da cabeça (Ccab): tomado com paquímetro a partir da ponta da escama rostral até o nível da margem posterior das escamas parietais.

- Largura da cabeça (Lcab): tomada com paquímetro na região de maior largura da cabeça, imediatamente atrás dos olhos.

- Comprimento total (Ctot): tomado com o auxilio de linha a partir da ponta da escama rostral até a ponta da cauda, seguindo a linha mediana ventral do corpo. Foram tomadas medidas apenas dos animais que apresentavam a cauda integra.

- Comprimento entre os membros (Cim): tomado com paquímetro a partir da extremidade proximal das escamas situadas na sétima fileira ventral até a extremidade distal das escamas da fileira situada imediatamente antes da perna traseira. Em espécimes que se apresentavam rígidos e flexionados foi tomada medida indireta através de linha, sendo posteriormente medida com o paquímetro.

- Comprimento da perna traseira (Cpt): foram tomadas com paquímetro partindo da extremidade proximal da perna rente ao corpo, até a extremidade do calcâneo. Os animais que apresentavam as pernas dobradas e rígidas foram medidos com o auxilio de linha que posteriormente era medida com paquímetro.

B) Caracteres merísticos (folidose):

- Escamas dorsais (D): as escamas dorsais organizam-se em fileiras uniformes ao longo do corpo. Em raras ocasiões uma fileira se divide em duas na linha medial do corpo. O registro foi feito contando-se o número de fileiras

dorsais a partir da primeira fileira com escamas regulares após as escamas cefálicas até a fileira imediatamente acima dos membros posteriores.

- Escamas ventrais (V): as escamas ventrais organizam-se em fileiras uniformes ao longo do corpo. Foram contadas a partir da primeira fileira de escamas regulares após as escamas gulares até a fileira anterior as escamas cloacais.

- Escamas laterais (L): as escamas laterais organizam-se em fileiras muitas vezes não conspícuas próximas aos membros, com escamas irregulares e de tamanhos variados. Conforme o distânciamento do membro as escamas aumentam de tamanho, tornando-se regulares e organizando fileiras coincidentes com as fileiras dorsais. Foram registradas as fileiras que eram coincidentes com as escamas dorsais.

- Cintura (C): foram registradas as escamas em torno do corpo nas porções dorsal, ventral e laterais. As contagens foram realizadas na região mediana do corpo, eqüidistantes das cinturas.

- Lamelas do dedo IV (Lda): foi registrado o número de lamelas duplas localizadas na região apical do IV dedo, até a região do metacarpo. Sempre que possível foi utilizada a mão direita para o registro.

- Lamelas do artelho IV (Ldp): foi registrado o número de lamelas duplas da porção apical do IV artelho, até a região do metatarso. Sempre que possível foi utilizado o pé direito para o registro.

- Pré-cloacais (Pc): foi registrado o número de escamas pré-cloacais, localizadas na região imediatamente anterior a cloaca.

- Poros pré-cloacais (Ppc): foi registrado a quantidade de poros localizados nas escamas pré-cloacais externas.

C) Caracteres qualitativos

- Padrão das escamas parietais: foi analisada a forma das escamas parietais dos espécimes.

2.3.b. Delimitação de UTOs

Uma vez que a espécie *Ecpleopus gaudichaudii* é monotípica e não há registros de variações regionais na literatura que orientassem a categorização da amostra, as UTOs foram delimitadas principalmente com base nos dados brutos, de distribuição geográfica e de variação discreta de caracteres folidóticos. Os dados obtidos a partir da análise molecular também foram importantes para a separação das UTOs. O procedimento inicial foi separar as unidades que divergiam de forma clara na análise dos dados brutos. Posteriormente foram realizadas análises dentro dos grupos inicialmente reconhecidos para que verificasse o padrão de variação dentro dos grupos e se haviam outros agrupamentos com diferenças mais sutis.

2.3.c. Tratamento estatístico

O tratamento estatístico teve por objetivo testar se os dados merísticos corroboram as unidades taxonômicas operacionais previamente reconhecidas. Não se pretende aqui definir táxons com base nos resultados das análises estatísticas, mas sim usar estes resultados para traduzir as variações encontradas e compreender os padrões de distribuição espacial dos caracteres contínuos, auxiliando na caracterização e descrição final das unidades evolutivas.

O primeiro passo após a definição das UTOs consistiu na verificação da homocedasticidade (teste de Levene) e da distribuição normal das variáveis entre as amostras (teste de Kolmogorov-Smirnov). Não sendo confirmadas estas propriedades, recorre-se a procedimentos não-paramétricos como teste U de Mann-Whitney, correlação de Spearman e análise de Kruskal-Wallis (Sokal & Rohlf, 1995; Zar, 1999).

Numa segunda etapa, verificou-se a presença de dimorfismo sexual entre as amostras, revelado com base na distribuição das freqüências de números de escamas da cintura (Cin) e comprimento da cabeça (Ccab) / comprimento rostro cloacal (Crc) entre os dois sexos. Além da abordagem descritiva simples, empregou-se o método de análise de variância univariada (ANOVA) (Kachigan, 1986; Sokal & Rohlf, 1995; Zar, 1999). O ANOVA é um método que permite a comparação uma a uma entre as médias das variáveis tomadas de diferentes amostras, informando o grau de significância entre elas. Dos resultados destes testes dependem as abordagens multivariadas posteriores uma vez que, se detectado dimorfismo sexual, machos e fêmeas devem ser tratados separadamente nas análises estatísticas no intuito de evitar qualquer viés oriundo de diferenças morfológicas entre os sexos.

Os dados também foram submetidos à **análise de componentes principais** (PCA), que consiste no mapeamento de cada espécime da amostra no espaço multivariado de acordo com os caracteres estudados, sem pré-definição dos grupos (Jolicoeur & Mosimann, 1960; Dunn & Everitt, 1982).

A robustez das PCAs foi testada pelo método do *bootstrap* com 1000 pseudoreplicações. Os valores para as porcentagens de variação explicada por cada um dos componentes principais apresentados ao longo dos resultados

serão baseados neste número de pseudoreplicações. As análises foram realizadas através dos softwares *Statistica* (Statsoft, 2001) e *Matlab 4,2 cl for Windows* (Mathworks, 1994).

As variáveis consideradas nos procedimentos multivariados foram selecionadas de acordo com suas distribuições reveladas durante a tomada de dados, sendo utilizadas aquelas cuja variação se mostrou comparável entre as UTOs e que mostraram potencial de apresentar eventuais diferenças entre estas. São elas: 1) comprimento da cabeça (Ccab) / comprimento rostro cloacal (Crc); 2); largura da cabeça (Lcab) / comprimento da cabeça (Ccab); 3) comprimento da cabeça (Ccab) / comprimento entre os membros (Cim); 4) número de fileiras de escamas dorsais (D); 5) número de fileiras de escamas ventrais (V); 6) número de escamas da cintura (C); 7) número de lamelas do dedo IV (Lda); 8) número de escamas do artelho IV (Ldp).

O procedimento estatístico das PCAs consistiu de várias etapas. Primeiramente realizaram-se análises exploratórias incluindo as UTOs. Posteriormente, passou-se à análise dentro de uma mesma UTO, buscando eventuais diferenças e padrões dentro delas.

2.4. Estudo molecular

Os tecidos foram extraídos usando a técnica do acetato de amônia de acordo com o protocolo de Fetzner (1999). A técnica utilizada seguiu o seguinte protocolo: Os tecidos preservados em etanol foram secos em bomba de vácuo por 5 minutos ou até a eliminação completa do álcool, antes do procedimento de extração. Na extração de DNA total, o tecido de cada indivíduo foi macerado separadamente em um tubo eppendorf de 1,5 ml contendo 300 µl de solução

de lise. Após o maceramento foram acrescentados 3 μl de Proteinase-K (20mg/ml) e as amostras foram mantidas em estufa a 55 ºC overnight. Após o período de digestão, foram adicionados 4μl de RNAse (10mg/ml) e os tubos foram encubados por 1 hora em banho-maria a 37º C. Após as amostras atingirem temperatura ambiente, foram adicionados 300 μl de acetato de amônia e as amostras foram vortexadas e mantidas em gelo por 30 minutos. As amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante transferido para tubos novos. A esse sobrenadante foi adicionado 300 μl de isopropanol absoluto e os tubos foram mantidos -20 ºC overnight para ajudar na precipitação. Após centrifugação a 13.000 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado e foram adicionados 500μl de etanol 70%. Após 10 minutos de centrifugação, o etanol foi descartado e o tubo invertido para retirada do excesso de etanol. O DNA foi seco em bomba de vácuo por 10 minutos e ressuspendido em 25 a 200 μl de 1×TLE e estocado em geladeira (2 a 8 ºC) até a quantificação. A quantificação foi realizada em um espectofotômetro Ultrospec 1000, Pharmacia Biotech.

As análises moleculares focaram o DNA mitocondrial (mtDNA) na porção do citocromo B, obtidas através de amplificações pela reação em cadeia de polimerase (PCR). O protocolo de PCR utilizado foi o seguinte: 2,6 ng/l da amostra de DNA, betaína 1 M, 0,2 mM de cada dNTP, 1,5 mM de $MgCl^{2+}$, 0,5 μM de cada um dos iniciadores (*primers,* de cadeia leve e cadeia pesada), 0,01 unidade de Platinum Taq Polimerase (Invitrogen) e tampão fornecido juntamente com a enzima, para um volume final de 15 μl. O programa utilizado foi de um ciclo inicial de desnaturação inicial por cinco minutos a 94^{o}C, seguido de 40 ciclos com desnaturação a 90ºC por 40 segundos, anelamento a 45 ^{o}C

por 40 segundos e extensão a 72^{o}C por segundos, um ciclo final de elongação de 10 segundos a 72ºC e a finalização a 4ºC. Foi utilizada a combinação de iniciadores de fita leve *("light strand primers")*: CB1 (5'-CCATCCAACATCTCAGCATGATGAA-3'; Kocher *et al.,* 1989) e iniciadores de fita pesada (*"heavy strand primers"*): CB3 (5'-GGCAAATAGGAARTATCATTC-3'; Palumbi, 1996). Esses iniciadores e condições foram padronizados por Pellegrino *et al.* (2001).

Os produtos da amplificação foram caracterizados através de eletroforese em gel de agarose 2% (tampão TBE 1x), corado com *Blue Juice*.

As amostras individuais foram purificadas utilizando o *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP, 1u/µl) e Exonuclease I (10u/µl) (protocolo de EXO/SAP - "Gene Clean" – BIO 101, Inc. e *QIAquick PCR purification kit 250* (kit da Qiagen, Catálogo No. 28106) deixando a 37^{o}C por 50 minutos e aquecidas a 80^{o}C por 15 minutos.

Logo após a purificação as amostras foram submetidas ao processo de amplificação de Big Dye, utilizando o sistema de reagentes "Perkin Elmer ABI PRISM Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction" (PE Applied Biosystems), com a utilização de: 1,2 µl de produto de PCR purificado, 2µl de *BigDye*, 1µl de 5X Buffer, 1,3µl de primer 5µM e 4,5µl de H_2O, completando um volume de 10µl, seguindo o seguinte programa no termociclador: ciclo de aquecimento inicial a 96^{o}C por 30 segundos, seguidos de 25 ciclos de desnaturação a 96^{o}C por 10 segundos, anelamento a 50^{o}C por 10 segundos e extensão a 60^{o}C por 4 minutos e finalização a 4ºC. Para a precipitação do produto, foram adicionados 60 µl de isopropanol 100% e 20 µl de H_2O milliQ. Após incubação por 15 minutos à temperatura ambiente, a amostra foi

centrifugada por 25 minutos a 13.000 rpm. O sobrenadante foi retirado, e foi adicionado 250 μl de etanol 70%. O material foi centrifugado por 10 minutos a 13000 rpm e o sobrenadante descartado. As amostras foram secas à 90º C e armazenadas em freezer até o procedimento de seqüenciamento. O produto foi ressuspendido em 15 μl de tampão de seqüenciamento (TSR, *Template Suppression Reagent*, Applied Biosystems).

O seqüenciamento foi realizado em seqüenciador automático, modelo DNA ABI PRISM 377 (PE Applied Biosystems), do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

As seqüências obtidas foram editadas usando os programas CodonCode Aligner ® e Mega4®. Esses programas foram utilizados juntamente com a ferramenta BLAST (*Basic Local Alignement Search Tool*) para alinhamento, primeiro automático e depois manual.

As análises filogenéticas foram feitas no programa PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2003) utilizando diferentes métodos de análise de parcimônia. Na reconstrução por Máxima Parcimônia (MP), considerou-se o mesmo peso para todas as substituições. As reconstruções foram feitas por buscas heurísticas por *branch-swapping* utilizando o algortimo TBR, com as árvores iniciais obtidas por *stepwise addition* com adição simples de seqüência, após 1000 réplicas. As árvores consenso foram estimadas pela regra da maioria de 50% e a confiabilidade das árvores foi testada através de 1000 replicações de *bootstrap* (Felsenstein, 1985) por busca heurística rápida. As seqüências para o grupo externo foram obtidas do GenBank.

Também foi utilizado o programa MRBAYES v3.0b4 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) para as inferências Bayesianas. Cada análise foi

conduzida com 4.000.000 gerações, com as quatro cadeias de Markov amostradas a cada 100 gerações. A árvore consenso foi obtida após o descarte das primeiras 10.000 gerações. Foram considerados significativos ramos com probabilidade posterior superiores a 90%. Foi feita uma busca do modelo evolutivo pelo programa MRMODELTEST (Nylander *et al*, 2004) para cada gene estudado. O modelo de substituição de DNA apontado pelo programa e utilizado no estudo foi o HKY + I + G.

As distâncias genéticas par a par não corrigidas foram calculadas no programa software PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2003). Estes percentuais de variação nas seqüências podem ser utilizados para calcular o tempo de divergência de um clado seguindo as taxas de evolução em répteis Squamata, que é de 0,47% a 1,32% por milhão de ano (M.a.). Esses valores representam os pontos mais altos e mais baixos encontrados em uma revisão da divergência do mtDNA em Squamatas (Zamudio & Greene, 1997).

Para a análise das relações entre os haplótipos do gene citocromo b foi utilizado o programa NETWORK 4.5.1.6 (http://www.fluxus–engineering.com).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Considerações gerais

Foram examinados 182 espécimes sendo 118 fêmeas (64,8%), 50 machos (27,4%), 11 jovens (6%) e em 4 espécimes (2%) não foi possível determinar o sexo. Das fêmeas, 26 estavam ovadas e todas possuíam um único ovo em seus ovidutos (Tabela 01).

Tabela 01: Número absolutos e relativos de espécimes utilizados no estudo divididos por sexo.

Espécimes		Número de espécimes	Porcentagem em relação ao total (%)
Macho		50	27,47
Fêmea	sem ovo	91	50
	com ovo	26	14,28
Jovem		11	6,05
Indeterminado		4	2,20
Total		182	100,00

A biologia da espécie não foi alvo de estudo nesse trabalho, porém diante do material analisado podem-se fazer algumas considerações. Uzzell em sua revisão do gênero (Uzzell, 1969) sugere que o animal põe apenas um ovo por ninhada, contrariamente ao que normalmente é conhecido para os demais gimnoftalmídeos, que colocam dois ovos por ninhada (Vitt, 1982). Perini & Butti (2008) verificaram que sete espécimes coletados em Minas Gerais também apresentavam apenas um ovo. No material analisado há evidências que apóiam a sugestão feita por Uzzell (1969) e Perini & Butti (2008). Das 118 fêmeas analisadas, 26 apresentavam-se ovadas, e todas possuíam apenas um ovo desenvolvido em seus ovidutos. Todos os registros para a espécie apresentam o mesmo número de ovos, embora ainda não haja dados relativos a observações de ninhadas naturais ou em cativeiro. O fato é uma exceção para os gimnoftalmídeos, que apresentam dois ovos por ninhada como padrão.

Uzzell (1969) em sua revisão indicou que o gênero ocorria até 1000 m. de altitude. Entre os espécimes coletados neste estudo alguns estavam em localidades situadas em altitudes de até 1200 m, como Vale Verde, na serra do Caparaó. Assim há um aumento da amplitude altitudinal proposta para o gênero, podendo ocorrer pelo menos até 1200 m, ante os 1000 m propostos inicialmente.

A espécie tem sido descrita como rara em função de sua pouca representatividade nas coleções (Uzzell, 1969; Eisemberg *et al.* 2004), sendo relacionada em listas de espécies provavelmente ameaçadas (SMA-SP, 2003). Porém com o advento das armadilhas de interceptação e queda (conforme exemplo descrito por Werneck *et al.,* 2009) o número de espécimes coletados tem crescido consideravelmente nas coleções. Entre os locais que tem sido objeto de levantamento de fauna herpetológicas, como na Reserva do Morro Grande em Cotia, São Paulo, a espécie está entre os táxons coletados em maior quantidade, chegando a perfazer 54% dos espécimes coletados. (Catharino *et al.,* 1994; Dixo e Metzger, 2009). Assim sua suposta raridade parece dever-se a um efeito das técnicas de captura empregada antes do desenvolvimento das armadilhas de interceptação e queda, muito mais efetivas na captura de pequenos animais de folhedo, e às características ecológicas da espécie, do que a abundancia da espécie.

3.2. Estudo osteológico

3.2.1. Crânio

3.2.1.a. Padrão Geral (Figuras 2 e 3)

O crânio de *Ecpleopus gaudichaudii* é pequeno, com 7,3 mm de comprimento no exemplar diafanizado analisado (MZUSP 93424), o que indica tratar-se de um animal adulto. Possui órbitas grandes e rostro afilado. A fenestra temporal está aberta, embora seja estreita em boa parte de sua extensão. As barras pós-orbital e supra-temporal estão completas, conforme típico dos Teiidae (Romer, 1956). A caixa craniana é relativamente grande, com canais semicirculares conspícuos, como é comum em pequenos lagartos (Bell *et al.,* 2003). Os ossos do topo do crânio são mais robustos quando comparados com os ossos do palato mais delgados.

Apresenta-se abaixo a descrição do esqueleto cefálico:

Pré-maxila (Figura 4)

A pré-maxila é um osso único, pequeno e robusto situado na extremidade do rostro, delimitando toda a margem anterior da ponta do rostro. Ela é ligeiramente mais comprida do que larga. Seu processo nasal afila-se em direção ântero-posterior (alarga-se distalmente), terminando em uma ponta afilada. A porção anterior da pré-maxila é larga e arredondada com sua margem sendo levemente ondulada e em forma de semicírculo.

A pré-maxila faz contato com a maxila na sua porção anterior ventral. Seu processo nasal com os nasais sendo recobertos por eles na margem posterior que termina em forma de cunha.

A pré-maxila apresenta nove dentes, sendo um central na sua extremidade anterior e mais quatro de cada lado. A dentição é pleurodonte, homodonte.

Maxila (Figura 5)

A maxila é trirradiada, com processos anterior, orbital e facial e uma robusta camada horizontal medial. O processo anterior, que faz conexão com a pré-maxila é bifurcado, com um processo anterolateral robusto e um processo anteromedial mais estreito. O processo facial estende-se a partir da região anteromedial do comprimento ântero-posterior da maxila, onde circunda a margem inferior da órbita e encontrando-se com o pré-frontal na margem posterior e com a margem posterior inferior das narinas e o nasal na margem anterior. O processo orbital parte da porção posterior do processo facial e se estreita antero-posteriormente bifurcando-se em duas partes no contato com o jugal na margem posterior. Na superfície alveolar existe uma linha de foramens nutricionais, a borda alveolar possui 15 posições dentárias.

Acima da linha dentária, o processo horizontal da maxila varia no tamanho, em largura e comprimento, não possuindo bordas perfeitamente regulares, isso se devendo à estrutura da coana localizada em região medial a ele. Anteriormente ele é bem estreito na região que corresponde à abertura do órgão vômero-nasal. O processo então se expande encontrando sua largura máxima aproximadamente na região correspondente a dois terços de seu comprimento. Nesta região ele está justaposto ao vômer para encerrar a passagem da coana. Logo atrás desse ponto o processo torna-se afilado formando a margem anterior da fenestra suborbital.

A superfície dorsal do processo horizontal é marcada por foramens e superfícies de contato onde se destaca o grande forâmen do nervo trigêmeo. A maior e mais demarcada superfície de contato está na extremidade posterior do processo orbital, relacionada ao jugal. Logo na região imediatamente medial está uma pequena superfície de contato para a extremidade do ectopterigóide. Na parte mais aberta do processo há outra região de contato com o palatino. O processo descendente do pré-frontal também contata o maxilar, mas não deixa nenhuma marca aparente. O processo facial forma uma crista que cruza o osso. Ventralmente essa crista forma uma depressão que encapsula uma extensão larga e obtusa do saco nasal, sendo está uma característica de lagartos teióides e lacertídeos (Stebbins, 1948; Bell *et al.*, 2003).

Nasal

Os nasais são grandes, mais longos do que largos. São afilados nas extremidades anterior e posterior, possuindo uma forma geral de paralelogramo. Na sua porção medial são largos, tocando-se sutilmente em seus vértices internos. Eles fazem contato anteriormente e internamente com a margem posterior do processo nasal da pré-maxila. Sua margem anterior externa delimita a borda superior das cápsulas nasais. Sua margem posterior interna faz contato com a borda anterior do frontal, delimitando-o, e sua margem posterior externa faz contato com a margem interna antero - medial do pré-frontal.

Frontal (Figura 6)

O frontal apresenta-se fundido e é um osso robusto. Possui forma geral de ampulheta com sua extremidade posterior aproximadamente duas a três vezes mais larga que a extremidade anterior. Há uma forte constrição entre as órbitas. É um osso alongado, fazendo contato com os nasais na margem anterior, com o parietal na margem posterior, sendo que ele se sobrepõe em suas arestas de contato. Nas laterais margeia as órbitas delimitando sua borda superior. A extremidade anterior do osso quando articulado é pontiaguda, com a ponta inserindo-se entre os nasais, porém sem separá-los. A borda anterior do frontal se estende anteriormente por baixo dos nasais, aproximadamente até um terço da superfície ventral posterior destes. A margem posterior, que faz contato com o parietal é mais complexa, formando um traçado que lembra um W. Ele é estreito, alargando-se em sua extremidade posterior. Na sua porção ventral ele dobra suas laterais formando abas, alcançando sua maior expansão na porção médio anterior do eixo antero-posterior do osso. Essas abas iniciam-se na região mediana anterior e estendem-se até a região mediana posterior quando o osso começa a se expandir lateralmente.

Parietal (Figura 7)

O parietal compreende a região do topo da cabeça contatando o frontal em sua extremidade anterior, a caixa craniana em sua porção posterior. Lateralmente ele faz contato anteriormente até o último quarto com o jugal e no seu quarto posterior com o esquamosal. É um osso suavemente mais largo do que comprido, com um aspecto geral de uma cúpula quadrangular. Sua superfície dorsal é levemente abaulada, convexa. Sua margem anterior possui

abas que ficam sob a margem posterior do frontal. Na margem posterior existem dois prolongamentos afilados, que descem margeando a região occipital do crânio. A superfície ventral é suavemente côncava, e possui próximo a borda, na sua região mediana, dois processos que formam superfícies de contato com o epipterigóide.

Pré-frontal

É um osso pequeno. Pode ser dividido em duas porções, uma medial larga e côncava, que se encontra com a maxila e contribui para a formação da margem anterior da órbita, e um processo postero-dorsal delgado que contata o frontal. O corpo mediano é comprimido e possui na região anterior uma superfície de contato grande onde se encontra com a maxila. A margem posterior se dobra medialmente e contribui para a aba orbitonasal. Ventralmente, a margem orbital é estendida em um processo pequeno que se encontra com a superfície horizontal da maxila na sua porção média, bem como em uma também pequena aba lacrimal que se curva por sobre o ducto lacrimal. Não há nenhum osso lacrimal reconhecível individualmente nos espécimes analisados, e o forâmen lacrimal fica localizado entre o pré-frontal e a maxila.

Pós-frontal

O pós-frontal é um osso pequeno com forma triangular que se localiza na margem superior posterior da órbita. Ele recobre parcialmente a extremidade anterior do jugal. Faz contato com o frontal.

Pós-orbital

O pós-orbital é longo e estreito que se encontra com o jugal em articulação anteroventral muito fraca. Posteriormente termina junto ao esquamosal. Forma com o pós-frontal uma unidade intimamente ligada com uma ampla articulação estendendo-se posteriormente em vista lateral e em vista dorsal um pequeno processo se estende formando uma estrutura similar a uma braçadeira em relação ao pós-frontal.

Jugal

É um osso sigmóide com uma extremidade ventral mais larga e um processo pós-orbital mais estreito. A extremidade ventral entra em contato com o maxilar no seu processo orbital. A superfície ventrolateral possui duas superfícies de contato bem marcada, uma maior com o maxilar e uma menor, medial para o ectopterigóide. O processo pós-orbital é circular em secção transversal mas torna-se achatado dorsalmente onde o jugal se junta na margem ventral do pós-orbital.

Esquamosal

O esquamosal é um osso com forma de J, porém com a circunvolução mais obtusa e sutil, forma comum entre os lagartos escleroglossos. Não há processo dorsal comumente encontrado em teídeos (Estes *et al.,* 1988). A extremidade anterior encontra-se com o pós-orbital. Ele aproxima-se, porém sem contatar o jugal. Ventralmente em sua região posterior recurvada contata o supra-temporal. Sua extremidade ventral encontra-se com a crista timpânica do quadrado.

Supra-temporal

Ele se estende por dois terços do processo pós-parietal do parietal, emergindo em suas superfícies ventrolateral e ventromedial. Após essa articulação ele se curva em direção ventral, correndo junto à porção medial do esquamosal, indo encontrar a o côndilo superior do quadrado e o paraoccipital processo do otoccipital.

Epiterigóide

Liga-se aos tubérculos ventrais do parietal. É um osso comprido e estreito. Ocupa o espaço entre o pterigóide e o teto do crânio. Ventralmente está ligado por sua base ao pterigóide. Dorsalmente, encontra-se ligado à ponta do processo epipterigóide do parietal e à ponta do processo alar do proótico, estando imediatamente atrás dele.

Quadrado

É um osso robusto apoiado em um processo pleurooccipital. Na sua extremidade mais dorsal faz contato com o esquamosal mais anteriormente e com o supratemporal mais posteriormente. Possui sua superfície convexa voltada em direção anterior em relação ao eixo longitudinal da cabeça e é levemente rotacionado para o lado externo a lateral da cabeça. Contacta com o articular da mandíbula.

Vômer

O vômer é um osso estreito, duplo, com forma de agulha, parcialmente fundido em sua região medial. Articulam-se anteriormente com a pré-maxila e com o processo horizontal da maxila. Eles se expandem suavemente em direção posterior até se encontrarem com os palatinos. Sua superfície palatal é simples, sem ornamentação ou outras características distintivas. A superfície dorsal é dividida em duas regiões por uma aba transversal: a vomeronasal e nasal posterior. Logo anterior as abas, na margem lateral do osso, há entalhes marginais. Esses entalhes são separados por um processo muito estreito que se encontra com a superfície do processo horizontal maxilar para criar dois foramens, um anterior e outro posterior. De acordo com Oelrich (1956), baseado no iguanídeo *Ctenosaura*, o forâmen anterior é ocupado pelo duto vomeronasal e o forâmen posterior pelo duto lacrimal.

Septomaxilar

O septomaxilar é um osso extremamente delgado, curvado, côncavo medialmente, convexo lateralmente, possuindo a margem anterodorsal redonda. Está orientado obliquamente às narinas externas de forma que o aparato vomeronasal fique em posição ventral e medial a ele, e o aparato nasal na sua porção dorsal e lateral (Sinitsin, 1928). Um pequeno processo lateral confina a margem anterior da maxila, e sua borda inferior faz contato com o processo horizontal da maxila.

Palatino

O palatino é um osso de constituição delgada, livre anteriormente e articulado posteriormente com o pterigóide. A superfície dorsal é simples, sem

ornamentação ou outras características distintivas. Já a superfície ventral é cruzada no sentido anterolateral para o posteromedial por um sulco profundo, sendo esse sulco flanqueado por uma por fortes tabeiras ósseas. O sulco corre da abertura da coana, carregando o ducto coanal até aproximadamente sua metade. O palatino, anterolateralmente, possui um pequeno processo horizontal que se sobrepõe ao processo horizontal da maxila, e a extremidade medial do osso possui uma superfície de contato estreita para o vômer. A terminação anterior do osso é angulada dorsalmente e contata o processo descendente (*crista cranii*) do frontal, aprofundando a parte anterior da coana e formando uma aba órbito-nasal firme.

Pterigóide

O pterigóide é estreito e delgado, quando comparado com os ossos do teto do crânio. É formado por uma placa anterior articulada com o palatino, dobrando-se posterolateralmente em uma pequena aba pterigóide. A ponta dessa aba é defletida anterolateralmente em um processo que se unirá ao ectopterigóide. Visto dorsalmente, um esporão medial estreito do ectopterigóide estende-se ao longo da margem anterior da aba do pterigóide. O pterigóide articula-se posteriormente com um longo e estreito processo quadrado, que possui uma extremidade afilada e estreita. A superfície ventromedial desse processo é plana.

Ectopterigóide

O ectopterigóide se estende no eixo posteromedial ao anterolateral. A extremidade lateral contata tanto a maxila e o jugal, mas a superfície de contato é muito pequena e a articulação não é forte. A porção medial do osso é alongada, alocada dorsalmente dentro da aba do pterigóide.

3.2.1.b. Caixa Craniana (padrão geral)

Em vista dorsal, uma parte da caixa craniana é observada atrás do parietal. Como é comum em pequenos lagartos, os canais semicirculares são grandes e proeminentes (Bell *et al*., 2003). A caixa craniana é constituída por diversos ossos (Orbitoesfenóide, Esfenóide, Basioccipital, Supraoccipital, Proótico, Exooccipital e opistótico), que se apresentam fundidos nos animais adultos, formando uma caixa compacta. Esses ossos vão se fundindo gradualmente ao longo do desenvolvimento, primeiro fundem-se as laterais com aproximadamente 35% do tamanho máximo do animal, depois os outros elementos vão sendo fundidos gradualmente até que com 95% do comprimento máximo atingido, todos os ossos da caixa craniana estão fundidos (Bell *et al.,* 2003).

A columela faz contato com o condrocrânio (através do processo estapedial) e a abertura timpânica. Ela é um importante caráter, já que está associado a uma possível sinapomorfia dos Gymnophthalmidae, proposta por Estes *et al.* (1988). Os Teiidae possuem um processo interno conforme reportado por Wever (1978). Estes *et al.* (1988) propõe que os Gymnophthalmidae teriam perdido esse processo. Bell *et al*. (2003), porém sugere que não é possível fazer essa afirmação baseado em suas observações

sobre *Potamites ecpleopus*. Nos espécimes observados de *Ecpleopus* não é possível observar nenhum processo presente na columela.

3.2.1.c. Mandíbula

Dentário (Figura 8)

O dentário corresponde à parte anterior da mandíbula. Apresenta 15 dentes que variam suavemente de tamanho, o quinto e o sexto menores, localizados logo acima da fossa Meckeliana, que está fechada pela fusão de suas margens superiores e inferiores formando um tubo que se estende para trás até o nível da penúltima posição dos dentes. A margem alveolar do osso é reta, na qual a margem ventral e suavemente curvada. A superfície sinfisial é bem pequena e limitada à metade superior da superfície anterior da mandíbula. A superfície lateral do dentário possui uma série de quatro foramens nutricionais. Mais posteriormente, o osso é sobreposto por uma grande aba do coronóide, abaixo do qual ele se estende como um processo posteroventral que encontra o nível posterior do coronóide.

Coronóide

O coronóide é trirradiado em vista medial, com um processo dorsal (coronóide) estreito e uma bifurcação em dois fortes processos anteromedial e posteromedial. O processo coronóide e o posteromedial são ligados por uma crista que corre pela borda posterior do processo coronóide e então se alonga pela margem anterior do processo posteromedial. A crista delimita uma área escavada atrás dela pela inserção do músculo abdutor. O processo anteromedial também participa da margem anterior da fossa do abdutor, tendo

o desenvolvimento de um pequeno processo surangular. Lateralmente o coronóide possui um processo labial grande com forma de língua, que se estende pra frente até o nível da posição do terceiro dente a contar de trás. Os processos anteromedial e labial encerram a extremidade do dentário.

Surangular

É um osso robusto que forma a maior parte da superfície lateral da mandíbula, atrás do coronóide. Anterolateralmente, ele se encontra dentro de um recesso entre o coronóide, dorsalmente, e o dentário, ventralmente. Nesse local há em sua superfície lateral um grande forâmen, o forâmen surangular. Posteriormente, o surangular funde-se com o complexo articular/pré-articular. O osso é limitado ventralmente por uma crista forte e curvada que o delimita da região do pré-articular e marca a linha de inserção do músculo adutor superficial.

Angular

O angular é um osso delgado, confinado à margem ventral da mandíbula. Ele estende-se na região ventral e posterolateral, a última parte formando uma pequena cunha entre o dentário e a margem inferior da mandíbula.

Esplenial

É um osso pequeno, laminar, que fica na superfície medial da mandíbula, entre a parte terminal posterior da fossa Meckeliana e o coronóide. Posteriormente, ele se encontra além da metade do coronóide. Anteriormente, o osso é marcado por um forâmen grande na região inferior que está limitado

pela margem posterior da fossa Meckeliana. Um pequeno forâmen milohióide se abre anteriormente na região posteroventral.

Articular

O complexo articular/pré-articular forma a região posterolateral e terminal da mandíbula. O pré-articular está angulado de forma que sua borda dorsal está localizada mais medialmente do que a borda ventral. Isso se deve ao aumento da fossa adutora que está entre o pré-articular e o surangular, uma característica encontrada também em teídeos e lacertídeos (Estes *et al.,* 1988). Mais posteriormente, o pré-articular é quase horizontal em sua orientação. A angulação torna-se cada vez mais pronunciada posteriormente, até que o osso forma uma lamina orientada ventromedialmente. Esta superfície horizontal continua posteromedialmente dentro de um processo angular pronunciado. A superfície do articular voltada para o quadrado é pequena e redonda, mas a face anterior é quase vertical, limitando o movimento para frente do quadrado. O processo retro articular é relativamente delgado, com a ponta dobrando-se medialmente. É perfurado por um pequeno forâmen em que passa o ramo da corda timpânica do nervo facial.

3.2.1.d. Dentição

Os dentes possuem implantação do tipo pleurodonte, homodonte. Eles variam sutilmente em tamanho mantendo a mesma morfologia. São unicuspidados. O mesmo padrão se mantém na pré-maxila, na maxila e no dentário.

3.2.1.e. Aparato hióide (Figura 9)

A descrição do aparato hióide é baseada em espécime diafanizado (MZUSP 93424). A nomenclatura utilizada segue Camp (1923). O aparato hióide do *Ecpleopus gaudichaudii* consiste de um elemento central trirradiado, o basihial, que se estende anteriormente até passar a margem posterior da laringe, tornando-se progressivamente mais estreito até terminar em uma ponta. O processo lingual se localiza anteriormente ao basihial, separado dele, estrutura semelhante àquela observada por Presch, (1980), por uma distância de aproximadamente um quarto do comprimento do basihial. O processo lingual se estende anteriormente até aproximadamente o meio da mandíbula, na altura do dentário.

Dois elementos pareados surgem do processo posterolateral do basihial: o corno hióide e o ceratobranquial. O corno hióide é um elemento dirigido anteriormente e suavemente lateralizado, com um processo medial em forma de gancho. O corno hióide termina distalmente na altura do meio do angular, com sua borda se expandindo suavemente em forma de pé com uma extremidade lateralmente expandida. O epihial estende-se posterolateralmente a partir de uma articulação bem definida localizada no início do segundo terço do comprimento em sentido anterior na lateral externa do corno hióide. Ele se torna mais estreito distalmente, curvando-se anterodorsalmente em forma de gancho quando está na altura do processo retro articular, terminando logo após em uma ponta estreita.

O outro elemento que surge do basihial é o ceratobranquial, sendo o único elemento do hióide que é ossificado. Proximalmente, ele se articula com o basihial através de um revestimento cartilaginoso que envolve a porção final

do ceratobranquial. De forma geral é um elemento delgado em toda sua extensão. Primeiro ele se projeta diretamente em direção posterior, então angula fortemente lateralmente próximo ao nível do atlas. Ele termina no contato com o epibranquial que pode ser suavemente calcificado.

O ultimo elemento do aparelho hióide é uma cartilagem não calcificada de formato sigmóide, estreito que fica desconectada dos outros elementos do hióide na região lateral do pescoço. Em vista posterior ele forma um gancho com orientação dorso-medial, terminando em uma ponta livre. Em vista ventral nota-se que ele termina abaixo do epihial e do epibranquial. Esse elemento foi notado por MacLean (1974) para vários gimnoftalmídeos, porém descrito ligado ao epihial.

3.2.2. Pós-Crânio (Padrão geral)

O esqueleto pós-cranial de *Ecpleopus* é composto pela coluna vertebral, costelas, cinturas pélvica e escapular e membros. A coluna vertebral pode ser dividida em três regiões: pré-sacral, sacral e caudal (Romer, 1956), de acordo com as características de suas vértebras constituintes. A região pré-sacral ainda pode ser dividida em cervical e torácica (Krause, 1978). A coluna de *Ecpleopus* apresenta as divisões propostas.

A postura da coluna vertebral nos répteis não é a de uma linha crânio-caudal de posição horizontal, possuindo uma curvatura dorso-ventral. As vértebras do tronco, geralmente, formam um arco entre as regiões escapular e pélvica (Romer, 1956). Em *Ecpleopus* essa referida curvatura é muito tênue, de forma que a coluna não faz propriamente um arco, estando em uma posição quase horizontal.

Região Cervical

Ecpleopus apresenta 6 vértebras nessa região, todas anteriores à primeira vértebra possuindo costelas unidas ao esterno. As duas primeiras vértebras, atlas e axis, apresentam grande variação em relação às demais. Isso facilita um movimento independente da cabeça, característica importante em vertebrados terrestres (Romer & Parsons, 1977).

Atlas

É a primeira vértebra da região cervical. É formada por três elementos que lhe conferem formato anelar. Os dois elementos que constituem o arco neural não se unem dorsalmente não formando uma crista neural. O intercentro é peça ventral do atlas, possuindo uma hipapófise. Sua cavidade vertebral é dividida por um ligamento tranversal horizontal que a separa em duas cavidades: uma dorsal (canal neural) e uma ventral que recebe na porção anterior o côndilo occipital e na região posterior a apófise odontóide projetada do axis (Figura 10).

Axis

É a segunda vértebra da região cervical e a maior dessa região. Todos os seus elementos constituintes apresentam-se fusionados. Hoffsteter & Gasc (1969) ressaltam que se diferencia das demais por ser a maior e possuir a maior crista neural das vértebras da região cervical. Essa crista neural expandida serve para ancoragem dos músculos conectados a cabeça e a coluna vertebral. Romer (1956) também se refere à crista neural como uma

ampla área para inserção da musculatura occipital. Sobre e entre as suas zigapófises há uma depressão, o zigantro, que se articula com o zigosfeno da terceira vértebra. Ambas são estruturas planas que formam estruturas acessórias de articulação. Seu centro vertebral possui uma anteriormente uma grande apófise odontóide, que se articula com o atlas e, posteriormente, um côndilo que se articula com o cótilo da terceira vértebra cervical. Possui dois processos transversos, mas que não estão associados a costelas. Abaixo possui uma hipapófise, que se une ventralmente ao centro vertebral.

Demais vértebras cervicais

Possuem estrutura semelhante entre si, variando apenas na altura, comprimento e largura. Não há uma direção de aumento na altura das vértebras. Isso se deve a variação no tamanho das espinhas neurais, a terceira diminui de tamanho quando comparada com a crista do axis e, a partir dela, aumentam no comprimento e largura suavemente em direção posterior. O comprimento varia menos que a altura, também sem uma direção definida. A largura aumenta progressivamente em direção caudal.

Região dorsal (Figura 11)

Inclui as vértebras pré-sacrais restantes. As primeiras sete vértebras possuem suas costelas ligadas ao esterno. Alguns autores (Krause, 1978; Silva & Verrastro, 2007) as classificam como vértebras torácicas. Variam um pouco na largura, sendo a primeira mais larga e as demais um pouco mais estreitas, porem iguais entre si. As demais 12 vértebras possuem costelas livres, sendo chamadas de costelas pós-torácicas (Krause, 1978; Silva & Verrastro, 2007). A

morfologia é semelhante entre si, variando em altura, comprimento, largura e inclinação da crista neural. A altura varia sem definição de direção. O comprimento aumenta nas primeiras seis vértebras e depois diminui nas restantes. A largura, assim como a altura, varia sem direção definida. A última vértebra é a maior tanto em altura como em largura em relação às demais.

Região sacral

A região sacral é formada por duas vértebras fusionadas através de seus centros vertebrais, pós-zigapófises da primeira vértebra com as pré-zigapófises da segunda, e porções distais das pleurapófises. As espinhas neurais não são fusionadas, possuindo pleurapófises expandidas, sendo relativamente iguais nas duas vértebras. Apresentam dois foramens sacrais localizados entre as porções distais das pleurapófises e os centros vertebrais fusionados. Elas servem de apoio para o íleo, pertencente à cintura pélvica.

A estrutura mais robusta das vértebras dessa região deve-se a sua ligação com a cintura pélvica. O fusionamento das vértebras, as pleurapófises expandidas e os foramens permitem uma maior sustentação dos ossos da cintura e conseqüentemente e dos ossos dos membros posteriores.

Região caudal

As vértebras possuem a mesma morfologia entre si, diminuindo de tamanho posteriormente. Nos exemplares examinados a cauda havia se autotomizado, não sendo possível determinar o número de vértebras constituinte dessa região. As vértebras dessa região não estão associadas a costelas. Há a formação de “chevrons”, a partir da fusão ventral das costelas.

Costelas (Figura 11)

As costelas desempenham a função, nos répteis, de sustentação do tronco e no auxilio ao mecanismo respiratório. Elas podem se mover durante a respiração ou o deslocamento dos animais ou permanecerem imóveis suportando a parede corporal (Hoffsteter & Gasc, 1969). Romer (1956) observou que os sáurios possuem costelas holocéfalas, isto é, possuem uma única extremidade que se articula com a vértebra. Em *Ecpleopus* se observa também essa condição. As costelas variam de tamanho e forma dependendo da região do corpo. As cinco costelas cervicais são pequenas, aparecendo a partir da quarta vértebra pré-sacral. Aumentam em direção caudal. A última costela cervical é tão longa quanto a primeira costela dorsal. Um elemento distal curto, cartilaginoso e calcificado aparece nas três primeiras costelas, nas duas últimas um longo elemento estruturalmente parecido com as costelas esternais.

Na região torácica, as três primeiras costelas, costelas esternais, articulam-se com o esterno através de costelas cartilaginosas calcificadas a porção distal da costela se fundem ao esterno. *Ecpleopus* possui 3 pares de costelas esternais e 2 pares de costelas xifisternais. Esse é um caráter variável entre os lagartos como aponta Hoffsteter & Gasc (1969). As costelas esternais se conectam ao esterno através da sua margem caudo-lateral. As costelas xifisternais se unem nas barras xifisternais que se ligam a porção caudal do esterno. As outras costelas da região torácica são mais curtas, apresentando as suas extremidades distais livres. O primeiro par é o maior com os subseqüentes diminuindo gradativamente de tamanho e curvatura. Eles

possuem as extremidades não bifurcadas. Articulam-se nas sinapófises das vértebras.

Na região sacral as costelas dessa região fusionam-se com as vértebras sacrais formando o que é conhecido como processo transverso, ou pleurapófise, já que o termo processo transverso pode ser subentendido, segundo Hoffsteter & Gasc (1969), como um processo vertebral e não uma costela fusionada. As pleurapófises de *Ecpleopus* são fortemente expandidas e fusionadas em suas extremidades distais.

As costelas das vértebras caudais articulam-se ventralmente formando chevrons. Essas costelas vão diminuindo de tamanho na direção caudal.

Cintura escapular (Figura 12)

É formada por supra-escápulas, escapula-coracóide, epicoracóide, clavícula e interclavícula. O epicoracóide contata a extremidade e a região medial do coracóide, formando a borda proximal da fenestra coracóide anterior. Na sua extremidade anterior ele contata lateralmente a supra-escápulas. O coracóide possui duas fenestras, anterior e posterior. Na sua extremidade posterior possui também a fossa glenóide. O coracóide possui três processos: o metacoracóide, localizado na extremidade posterior contatando o epicoracóide e tendo sua margem externa livre; o mesocoracóide é um processo estreito que se localiza entre as duas fenestras; e o procoracóide que se estende entre a fenestra coracóide anterior e a fenestra escapulo-coracóide. A escápula está fusionada ao coracóide e faz contato com a supra-escapula em sua margem anterior. A fenestra escapulo-coracóide é definida em suas bordas pela escapula, pelo coracóide e pelo epicoracóide. A supra-escapula é

laminar e possui a maior parte de sua estrutura em posição dorso-lateral, na região ventral ela apresenta-se estreita. A clavícula é larga na porção medial afilando-se em sua extremidade distal. A borda anterior é côncava e a posterior é convexa, conferindo a ela uma estrutura falciforme. Entre as clavículas está a interclavícula, osso único, tetra-radiado, cruciforme. O processo anterior estende-se até a região entre as clavículas, é afilado em sua porção anterior e alarga-se posteriormente, onde o osso estende dois processos laterais, transversais que se afilam em direção distal, indo até a altura média da fenestra escapulo-coracóide. O processo posterior é mais largo que o anterior e estende-se até a região imediatamente anterior ao começo da fontanela esternal. O esterno possui uma grande fontanela esternal na sua porção médio-posterior. Na suas margens laterais-posteriores as costelas esternais se ligam, e na margem caudal as duas barras xifisternais.

Membro anterior

O úmero é curto. Possui a extremidade proximal expandida em um côndilo articular . A extremidade distal termina em um característico *capitulum* e uma tróclea. Uma concavidade circular encerra o forâmen epicondilar. O radio e a ulna são curtos, o olecrânon é alto. A mão consiste de cinco elementos carpais: ulnar, radial, central, carpais distais 3 e 4. Há a presença de sesamóides na região ventral. O metapodium consiste dos metacarpais V, IV, III, II e I. O metacarpal I sendo o mais curto e o III o mais longo. A fórmula falangeal é 2-4-3-3-2. As falanges proximais são largas e curtas e as distais cônicas.

Cintura pélvica (Figura 12)

A cintura pélvica é formada pelo íleo, ísquio e púbis. As duas metades da cintura pélvica são unidas através da sínfise pélvica. Possui um pré-ísquio estreito e com comprimento de aproximadamente um quinto da pelve. Há a presença de forâmen obturador e de um processo pectinado. O ílio se articula com a pleurapófise sacral. O acetábulo é pronunciado.

Membro Posterior

O fêmur é pequeno, entre 2 e 3 mm. em indivíduos adultos. Articula-se com a cintura pélvica através da fóvea da cabeça que se encaixa no acetábulo. Possui trocanter. Na extremidade distal se articula com a tíbia e a fíbula que são ossos pequenos de tamanho subigual ao do fêmur. Articulam-se com os elementos tarsais, sendo três proximais e cinco distais. O metatarso é composto por cinco elementos V, IV, III, II e I. O elemento I o menor e o elemento III o maior. A fórmula falangeal é 2-4-3-3-2. O artelho IV é o maior e o artelho I o menor.

3.2.3. Considerações sobre a descrição osteológica

O crânio dos gimnoftalmídeos não apresenta variação tão acentuada como o de outros grupos de lagartos (Presch, 1969, 1980). Em relação às características que os crânios de gimnoftalmídeos apresentam variação, em *Ecpleopus* pode-se ressaltar: (1) o frontal não forma um tubo enclausurando o trato olfatório como acontece em *Alopoglossus, Anadia, Cercosaura, Echinosaura, Euspondylus, Neusticurus, Potamites, Opipeuter, Pantodactylus, Proctoporus e Ptychoglossus*, sua condição se aproxima com aquela

encontrada em *Arthrosaura, Bachia, Gymnophthalmus, Heterodactylus, Iphisa e Leposoma*; (2) o complexo pós-frontal pós-orbital não se apresenta fundido como encontrado em *Alopoglossus* e *Ptychoglossus*; (3) não ocorre estreitamento da fenestra supra-temporal; (4) não foi visualizado um osso lacrimal, possivelmente tendo se fundido ao pré-frontal como ocorre em *Anadia, Cercosaura e Heterodactylus e Neusticurus*; (5) a estrutura do palato secundário tem a *fenestra exochoanalis* deslocada para o vômer e o palatino, como registrado por Presch (1980).

A dentição dos gimnoftalmídeos não foi alvo de estudo detalhado na literatura (Edmund, 1960; Presch, 1980), não sendo possível classificá-la pela estrutura como em iguanídeos (Hotton, 1955) ou macroteídeos (Presch 1974b). Os dentes de *Ecpleopus* são cônicos e pleurodontes, concordando com a caracterização geral do grupo apresentada por Presch (1980).

O aparelho hióide apresenta apenas um par de elementos ceratobranquiais, condição idêntica à encontrada em *Echinosaura, Leposoma, Neusticurus, Placosoma,Prionodactylus, Proctoporus, Opipeuter e Potamites* (Presch, 1980).

O número de vértebras pré-sacrais concorda com o padrão definido por Presch (1980) no qual o grupo de gimnoftalmídeos que não apresentam redução de membros possui um número fixo de 25 vértebras pré-sacrais. Os ligamentos entre as vértebras caudais segue o proposto no grupo IV por Etheridge (1965).

Na cintura escapular, a interclavícula também concorda com o padrão descrito por Presch (1980). Os membros de *Ecpleopus* seguem o padrão típico dos sáurios descrito por Romer (1956). Os sesamóides são elementos

associados aos tendões e ligamentos (Vickaryous & Olson, 2007). *Ecpleopus* apresenta dois sesamóides desenvolvidos. O pisiforme é um elemento constante na mão dos Squamatas (Renous-Lécuru, 1973), sendo considerado um sesamóide por sua associação com os tendões dos músculos *carpi ulnaris*, *flexor carpi ulnaris*, *flexor retinaculum* e *abductor digitorum* do dedo V (Zaaf *et al.,* 1999; Jerez & Tarazona, 2009). O sesamóide palmar está presente em todos os lagartos exceto em Gekkota. (Jerez & Tarazona, 2009). Esse caráter já foi proposto como uma possível sinapomorfia para os Squamata (Maisano, 2002), porém Vickaryous & Olson (2007) sustentam que esses elementos podem estar presentes em vários grupos, de acordo com as condições ambientais, biomecânicas, genéticas e de desenvolvimento a que estejam submetidos.

Presch (1980) fornece uma filogenia comparando os diversos caracteres osteológicos entre os gimnoftalmídeos reconhecendo em *Ecpleopus* características osteológicas próximas àquelas encontradas em *Anadia e Placosoma*. Essa sugestão não concorda com estudos posteriores baseados em caracteres moleculares que atribuem os gêneros a clados separados, aproximando *Ecpleopus* de *Leposoma, Arthrosaura, Colabosauroides* e *Anotosaura* (Pellegrino *et al.,* 2001; Castoe *et al.,* 2004). Existem poucos estudos de osteologia detalhada dos gêneros de gimnoftalmídeos, que permitam uma discussão mais aprofundada sobre as relações entre os grupos de forma comparativa com os resultados encontrados com base nos caracteres moleculares.

3.3. Estudo morfológico

Os espécimes utilizados nesse estudo provêm de 38 localidades, pertencentes a cinco estados: Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (Apêndice A – Tabelas 1 e 2) (Figura 01). A localidade mais ao norte foi a região de Jequitinhonha, estado de Minas Gerais e ao sul, a Serra Gigante, cidade de Ariri, estado de São Paulo. Essa distribuição compreende boa parte daquela atribuída ao gênero que está entre os estados da Bahia e Santa Catarina, com um registro isolado para o estado de Goiás (Uzzell, 1969, Eisemberg *et al.,* 2004). Uzzell (1969) não menciona a localidade no Estado da Bahia em que a espécie foi coletada, assim o registro em Jequitinhonha, MG (16°43'S, 41°00'W) é o registro mais ao norte confirmado. Em termos topográficos, *Ecpleopus* ocorre em um espectro topográfico com altitudes variando de 0 a 1000 metros (Uzzell, 1969). Os dados coletados nesse trabalho estão dentro dessa variação altitudinal. A área de distribuição abrange o bioma brasileiro da Mata Atlântica e áreas de restinga próximas ao litoral e em algumas ilhas do litoral fluminense, na região de Mangaratiba.

As UTOs foram definidas com base nas diferenças conspícuas apresentadas nos caracteres merísticos. A contagem dos espécimes utilizados por Uzzell (1969) em seu trabalho de revisão apresentava, nos espécimes da região fluminense, as mesmas diferenças que serviram de base para a separação das UTOs nesse estudo, porém talvez devido ao escasso número de exemplares utilizados (12), essa distinção não foi levada em conta.

3.3.1. Determinação das UTOs

A amostra analisada mostra um padrão homogêneo para a escutelação, tamanho total e coloração. As fileiras de escamas apresentam bastante variação individual, com exceção das escamas à volta do corpo, “cintura”, que se apresentam como a característica mais útil na determinação das UTOs, combinado com a procedência geográfica do espécime. Também foi notada uma diferença no padrão da escutelação cefálica, nas escamas parietais, que diferem entre os espécimes, o que levou ao reconhecimento de duas UTOs para o gênero *Ecpleopus.* Os números amostrais (N), bem como as medidas de tendência central [média (x)] e dispersão [desvio padrão (s)] para os dados de contagem são apresentados para cada uma delas. Segue a caracterização morfológica e distribucional das UTOs abaixo:

UTO 1 (figuras 13 a 15)

Apresentam coloração variando do marrom escuro (espécimes mais ao sul e da região de Jequitinhonha) ao marrom claro amarelado (espécimes mais ao norte, na Bahia) no dorso com duas faixas dorsolaterais longitudinais estreitas mais claras percorrendo o corpo da cabeça à cauda. O ventre é claro com coloração creme amarelada. A região da cauda apresenta-se rosada na superfície ventral, embora nos espécimes fixados, conforme o tempo passa, essa coloração vai esmaecendo e se perde. Estes exemplares ocorrem na área de distribuição original atribuída ao gênero, do sul de São Paulo ao norte na Bahia e Vale do Jequitinhonha, MG. Entre 151 exemplares examinados, o tamanho máximo encontrado foi de 119 mm. As seguintes informações indicam a tendência central e variação dos demais caracteres estudados: CRC: 18,05 –

41,33 mm (x = 32,32 mm e s = 4,61102); Ccab: 4,4 – 7,81 mm (x = 6,17 mm e s = 0,608201); Lcab: 2,6 – 4,76 mm (x = 3,93 mm e s = 0,414792); Ctot: 70,15 – 119 mm (x = 91,29 mm e s = 11,53689); Cim: 14,3 – 25,3 mm (x = 20,33 mm e s = 2,509484); Cpt: 4,3 – 7,8 mm (x = 5,89 mm e s = 0,748227); D: 26 – 32 (x = 29,45 e s = 1,059815); V: 21 – 28 (x = 24,88 e s = 1,191263); L: 15 – 24 (x = 19,12 e s = 1,729034); C: 27 – 35 (x = 31,49 e s = 2,170048); Lda: 6 – 12 (x = 9,18 e s = 1,136268); Ldp: 10 – 15 (x = 12,83 e s = 1,768028); Pc: 3; Ppc: 2.

As escamas parietais apresentam margens externas convexas em relação à linha medial da cabeça.

Há variação clinal nos caracteres (Figura 16), com os animais ao norte da distribuição apresentando um número maior de escamas na cintura, que diminui em localidades situadas mais ao sul. Os espécimes do clado 2 causam uma quebra evidente dessa clina, que volta ao padrão encontrado no clado 1.

UTO 2 (Figuras 17 e 18)

Apresentam coloração marrom escura com duas faixas dorsolaterais longitudinais mais claras percorrendo o dorso. O ventre é claro (creme amarelado), com a cauda rosada. Estão distribuídos no litoral do estado do Rio de Janeiro, na região de Mangaratiba e ilhas adjacentes. Para 26 exemplares examinados, o tamanho máximo registrado foi de 119,1 mm; os demais caracteres apresentam a seguinte variação: CRC: 31,7 – 42,5 mm (x = 36,80 mm e s = 2,854227); Ccab: 5,9 – 7,45 mm (x = 6,77mm e s = 0,346793); Lcab: 3,85 – 5,05 (x = 4,50mm e s = 0,333413); Ctot: 69,59 – 109,1 (N = 17; x = 95,97 mm e s = 14,23211); Cim: 19 – 26,41 (x = 22,88 mm e s = 2,060547); Cpt: 5,82 – 7,5 (x = 6,70 mm e s = 0,445307); D: 29 – 33 (x = 31 e s =

1,280024); V: 24 – 28 (x = 25,75 e s = 0,862911); L: 17 – 24 (x = 20,83 e s = 2,173972); C: 34 – 41 (x = 37,04 e s = 1,665949); Lda: 9 – 12 (x = 10,33 e s = 0,891843); Ldp: 13 – 17 (x = 15,12 e s = 1,019804); Pc: 3; Ppc:2

As escamas parietais apresentam margens externas côncavas em relação à linha medial da cabeça.

3.3.2. Tratamento estatístico

3.3.2.a. Dimorfismo sexual (ANOVA)

A presença de dimorfismo sexual foi investigada através do teste de análise de variância (ANOVA) das variáveis merísticas de contagem de escamas da cintura, de escamas ventrais, número de lamelas do 4º dedo e do 4º artelho, além das proporções corporais, comprimento de cabeça/comprimento rostro-cloacal, largura da cabeça/comprimento de cabeça. Diferenças significativas entre machos e fêmeas foram encontradas apenas com relação ao número de escamas ventrais (significativamente maior nas fêmeas; $F_{(1,\ 163)}$ =10,799, p<0,01) e à proporção entre comprimento da cabeça/comprimento rostro-cloacal (significativamente maior nos machos; $F_{(1,\ 163)}$ =13,892, p<0,01). Com base nesses dados machos e fêmeas foram tratados separadamente na abordagem multivariada entre as UTOs. Os dados descritivos de variação dos caracteres explorados na análise multivariada para todo o complexo *Ecpleopus gaudichaudii* apresentam-se nas Tabelas 2 e 3; já os dados descritivos referentes aos mesmos caracteres para cada uma das UTOs são apresentados nas Tabelas 4 a 7:

Tabela 2: Dados descritivos de variação para as fêmeas do complexo *Ecpleopus gaudichaudii*.

Variáveis	N	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Ccab/Crc	110	0,18	0,14	0,22	0,02
Lcab/Cpt	110	0,64	0,53	0,80	0,05
Ccab/Cim	110	0,30	0,23	0,39	0,03
D	110	29,84	26	33	1,05
V	110	25,30	22	28	1,05
C	110	32,39	27	39	2,87
Lpt	110	13,26	10	17	1,57
Lpa	110	9,45	7	12	1,09

Tabela 3: Dados descritivos de variação para os machos do complexo *Ecpleopus gaudichaudii*.

Variáveis	N	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Ccab/Crc	50	0,19	0,16	0,22	0,02
Lcab/Cpt	50	0,65	0,58	0,75	0,04
Ccab/Cim	50	0,31	0,27	0,35	0,02
D	50	29,40	27	33	1,53
V	50	24,66	21	28	1,29
C	50	32,58	29	41	2,84
Lpt	50	13,08	0	16	2,40
Lpa	50	9,30	7	12	1,28

Tabela 4: Dados descritivos de variação para as fêmeas da UTO 1:

Variáveis	N	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Ccab/Crc	85	0,18	0,14	0,22	0,02
Lcab/Cpt	85	0,64	0,53	0,80	0,05
Ccab/Cim	85	0,30	0,23	0,39	0,04
D	85	29,65	26	32	0,96
V	85	25,14	22	28	1,08
C	85	31,15	27	36	1,82
Lpt	85	12,82	10	16	1,45
Lpa	85	9,19	7	12	1,04

Tabela 5: Dados descritivos de variação para as fêmeas da UTO 2:

Variáveis	N	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Ccab/Crc	25	0,18	0,16	0,22	0,01
Lcab/Cpt	25	0,65	0,55	0,74	0,05
Ccab/Cim	25	0,31	0,26	0,37	0,03
D	25	30,48	29,00	33,00	1,12
V	25	25,84	24	27	0,75
C	25	36,60	34	39	1,38
Lpt	25	14,76	13	17	0,93
Lpa	25	10,32	9	12	0,75

Tabela 6: Dados descritivos de variação para os machos da UTO 1:

Variáveis	N	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Ccab/Crc	40	0,19	0,16	0,22	0,02
Lcab/Cpt	40	0,64	0,58	0,73	0,03
Ccab/Cim	40	0,31	0,28	0,35	0,02
D	40	28,90	27	32	1,13
V	40	24,35	21	28	1,17
C	40	31,43	29	36	1,47
Lpt	40	12,55	0	15	2,36
Lpa	40	9,03	7	12	1,21

Tabela 7: Dados descritivos de variação para os machos da UTO 2:

Variáveis	N	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Ccab/Crc	10	0,19	0,16	0,21	0,02
Lcab/Cpt	10	0,68	0,60	0,75	0,05
Ccab/Cim	10	0,30	0,27	0,33	0,02
D	10	31,40	30	33	1,26
V	10	25,90	25	28	0,99
C	10	37,20	34	41	2,25
Lpt	10	15,20	14	16	0,92
Lpa	10	10,40	9	12	0,97

3.3.2.b. Abordagem multivariada

O grupo apresenta-se muito homogêneo, apresentando diferença em apenas um caráter folidótico discreto, as escamas parietais. Assim, no intuito de verificar o grau de corroboração dos caracteres quantitativos, a abordagem estatística foi planejada no sentido de cobrir de forma mais completa a variação encontrada, sendo esta necessária para o reconhecimento da divergência encontrada entre as populações amostradas. As análises foram orientadas pelas evidências morfológicas que levaram à definição das UTOs.

A análise de PCA teve por intuito verificar a existência de grupos muito discrepantes da variação geral da amostra. (Tabela 8 e 9; Figura 19 e 20).

Tabela 8: Porcentagem da variação explicada por cada uma das variáveis ao longo dos dois primeiros componentes principais dos dados não-transformados para a amostra de machos das duas UTOs definidas para o complexo *Ecpleopus gaudichaudii*:

Variável	1º componente principal	2º componente principal
Ccab/Crc	0,0001	0,0012
Lcab/Cpt	0,0050	0,0015
Ccab/Cim	-0,0011	-0,0002
D	0,3162	-0,2893
V	0,1841	-0,1528
C	0,7603*	-0,4078
Lpt	0,4887	0,8500*
Lpa	0,2217	0,0640
% of Variância	63,7	19,5

(*) indica as variáveis mais relacionadas com o 1º e 2º componentes, respectivamente.

Tabela 9:.Porcentagem da variação explicada por cada uma das variáveis ao longo dos dois primeiros componentes principais dos dados não-transformados para a amostra de fêmeas das duas UTOs definidas para o complexo *Ecpleopus gaudichaudii*:

Variável	1º componente principal	2º componente principal
Ccab/Crc	0,0009	0,0039
Lcab/Cpt	0,0009	-0,0104
Ccab/Cim	0,0009	0,0113
D	0,1364	-0,3399
V	0,0774	-0,0304
C	0,8871*	-0,3679
Lpt	0,3758	0,7303*
Lpa	0,2172	0,4632
% of Variância	71,3	11,5

(*) indica as variáveis mais relacionadas com o 1º e 2º componentes, respectivamente.

Para os machos, o 1º componente respondeu por 63,7% da variação, enquanto que o 2º componente respondeu por 19,5% desta variação. As variáveis mais relacionadas com o 1º componente são respectivamente: o número de escamas da cintura (variável 6), o número de lamelas do IV dedo (variável 7) e o número de fileiras de escamas dorsais (variável 4). As variáveis mais relacionadas com o 2º componente principal são: o número de lamelas do dedo IV (variável 7) e o número de lamelas do artelho IV (variável 8).

No caso das fêmeas, os dois primeiros componentes respondem, respectivamente, por 71,3% e 11,5% da variação total. As variáveis mais relacionadas com o primeiro componente são, nesta ordem: o número de escamas na cintura (variável 6), o número de lamelas do dedo IV (variável 7) e o número de lamelas no artelho IV (variável 8). As variáveis mais relacionadas com o segundo componente são, nessa ordem: o número de lamelas do dedo IV (variável 7) e o número de lamelas no artelho IV (variável 8).

Como mostram as figuras 19 e 20, existe sobreposição das UTOs para ambos os sexos. Entre os machos se destacam claramente as duas UTOs. Entre as fêmeas, as UTOs estão separadas embora estejam mais próximas que os machos.

Comparando as médias encontradas na variação do número de escamas na cintura, através de um teste ANOVA, entre as duas UTOs, encontra-se o resultado mostrado na figura 21. Nesse caso machos e fêmeas foram tratados conjuntamente, pois nessa variável não foi demonstrado dimorfismo sexual. Essa variável mostra de forma clara que há uma diferença significativa ($F_{1, 163} = 275,80$, $p<0,01$, $N = 177$) entre as duas UTOs para essa variável.

Cabe ressaltar que entre as UTOs 1 e 2 existem ainda diferenças na folidose cefálica (parietais), na composição molecular (ver análise molecular) e na distribuição geográfica.

3.4. Estudo molecular

Foram analisados 32 espécimes dos quais foram retirados tecidos para a extração de DNA. O DNA foi submetido a amplificações de regiões do mtDNA e selecionados fragmentos pertencentes ao gene citocromo B.

A análise filogenética usando grupos externos múltiplos simultaneamente (não reconhecidos como monofilético em relação ao grupo interno) recupera *Ecpleopus gaudichaudii* como grupo monofilético, com vários níveis de suporte dependendo do método utilizado na reconstrução da árvore: alto na MP (BS = 87) e na análise Bayesiana (PP = 0,98). O gênero *Leposoma* foi reconhecido como grupo irmão de *Ecpleopus*, seguido dos outros gimnoftalmídeos relacionados mais distantemente: [*Arthrosaura (Neusticurus, Colobosaura)]*.

A análise de MP mostrou 56 reconstruções mais parcimoniosas com um comprimento total 581 passos (Figura 22). Foram reconhecidos três grupos maiores. O primeiro clado com alto suporte reúne populações encontradas no Estado de São Paulo, ao sul da área de distribuição (aqui referido como clado 1; BS = 100); o segundo refere-se aos espécimes encontrados no litoral do Rio de Janeiro (clado 2), também com alto suporte (BS = 100); e o terceiro (clado 3), recuperado com baixo suporte, representando os espécimes encontrados na porção norte da distribuição, entre os estados do ES e MG (BS = 60). Não

há uma definição da relação entre os clados encontrados e a arvore recuperada é polifilética nesse nível.

A análise Bayesiana apresentou uma topologia semelhante àquela recuperada na MP (Figura 23). Na base os clados recuperados permanecem polifiléticos, embora haja uma associação entre o clado 1 e 2 porém com baixa probabilidade posterior, que a principio pode ser desconsiderado. O clado 1 e o clado 2 permanecem sendo recuperados com altos valores de probabilidade posterior [(PP = 1,0) para ambos]. Os dois clados aparecem como grupo irmão, porém devido a sua baixa probabilidade posterior (PP = 0,6) isso pode não representar uma relação real entre eles. A topologia recuperada para o clado 3 é diferente daquela encontrada na análise de MP. O clado 3 na análise Bayesiana não forma um grupo monofilético, apresentando-se dividido em três grupos: (1) grupo formado por animais encontrados na região ao norte da área de distribuição compreendendo os espécimes encontrados no ES, especificamente de localidades situadas ao norte do Rio Doce (PP = 1,0), referido como ES_1; (2) recupera os espécimes encontrados na porção mais continental da distribuição, no estado de MG (PP = 0,71), referido como MG_1; (3) grupo formado pelos espécimes encontrados na região de Caparaó no estado do ES (PP = 0,7), aqui referido como ES_2.

As divergências de seqüências entre os três clados encontrados variam de 13,8% (entre os clados 2 e 3) a 14,5% (entre os clados 1 e 2). Foram calculados os tempos de divergência entre esses clados, considerando os tempos máximos (0,47%/M.a.) e mínimos (1,32%/M.a.) de divergência no mtDNA dos Squamatas. Os tempos aproximados variam de 10,45 a 29,36 M.a. entre os clados 2 e 3, e 10,98 a 30,85 entre os clados 1 e 2 (TABELA 10).

Tabela 10: Tempos máximos e mínimos estimados para divergencias entre os clados dentro de *Ecpleopus gaudichaudii*

Clados divergentes	Divergência de seqüência (%)	Taxa de divergência de mtDNA (%/M.a.)	Tempo estimado (M.a.) (maior e menor)
Entre Clado 1 e 2	14,50	0,47	30,85
		1,32	10,98
Entre Clado 1 e 3	14,00	0,47	29,78
		1,32	10,60
Entre Clado 2 e 3	13,80	0,47	29,36
		1,32	10,45

Taxas de divergência de mtDNA de acordo com Zamudio & Greene (1997)

As análises filogenéticas usando parcimônia e métodos baseados em modelos recuperaram três grupos distintos baseados em informações do citocromo B do mtDNA entre as populações existentes de *Ecpleopus*. O clado 1 corresponde ao grupo situado mais ao sul da distribuição compreendendo animais de planalto e próximos ao litoral do estado de São Paulo. O clado 2 recupera os animais situados próximo ao litoral do estado do Rio de Janeiro na região de Mangaratiba. O clado 3 corresponde às populações situadas ao norte da distribuição nos estados do ES e MG. Dentro desse clado 3 são reconhecíveis três grupos diferentes; o primeiro correspondente as populações de localidades acima do Rio Doce ES_1; o segundo corresponde população situados na região de Caparaó, ES_2; e o terceiro, MG_1, corresponde as populações do interior do estado de Minas Gerais, mais a oeste da distribuição e, portanto, mais distante do litoral. Esse padrão de estruturação geográfica coincide em maior ou menor escala com as grandes bacias fluviais encontradas na região, do rio Paraíba e Doce, indicando que estes sistemas de rios podem estar influenciando ou limitando o fluxo gênico entre as populações

desses grupos, em especial o grupo ES_1. O rio Doce particularmente já foi aventado como barreira importante no fluxo gênico entre populações (Pellegrino *et al.*, 2005).

O clado 1 apresenta estruturação interna apontando para um clado formado pelos espécimes do planalto e outro formado pelos espécimes coletados próximos ao litoral. O clado 3 também apresenta esse tipo de distribuição, formando populações separadas, como mostradas anteriormente.

Os clados apresentam acentuada divergência entre eles: 14,50% entre o clado 1 e 2; 14,00% entre os clados 1 e 3; 13,8 entre os clados 2 e 3. O gênero *Ecpleopus* apresenta, em relação ao seu grupo irmão, *Leposoma,* uma divergência entre 15,2% e 20,9%. Esse dado indica que em alguns casos a distância entre as populações de *Ecpleopus* está próxima daquela encontrada entre gêneros diferentes.

As estimativas de tempo baseadas em relógios moleculares trazem consigo inúmeros problemas, como um grande fator de erro (Graur & Martin, 2004) e a incerteza sobre quais taxas seriam mais adequados aos organismos em estudo na ausência de dados externos para a sua calibração (Pellegrino, *et al.,* 2005). Porém, as taxas de evolução adotadas nesse estudo são consideravelmente lentas (de 0,47% a 1,32%/M.a.) e os tempos de divergência obtidos fornecem aproximações de tempo de divergência que possibilitam desenvolver uma hipótese mais explicita sobre o estabelecimento dos grandes sistemas ligados aos rios do Domínio da Mata Atlântica. Os tempos de divergência relacionados ao estabelecimento do sistema do Rio Doce são aproximadamente os mesmos que os encontrados por Pellegrino em seu estudo sobre os lagartos do gênero *Gymnodactylus* (Pellegrino *et al.,* 2005).

Esses dados coincidem com o tempo inferido para a deposição da Formação Barreiras (Martin, Suguio & Flexor, 1993). A Formação Barreiras estende-se do Pará ao norte ao Rio de Janeiro no sudeste. A deposição de sedimentos no Neógeno ocorreu em um quadro semiárido com nível do mar abaixo do atual, entre o período Mioceno e Plioceno. As opiniões atuais sugerem que os rios teriam tomado seu curso atual somente no Plioceno em uma época bem mais úmida e que a partir daí teriam bidividido os depósitos da Formação Barreiras (Martin, Suguio & Flexor, 1993; Suguio & Nogueira, 1999). Isso pode explicar o isolamento dos clados 2 e 3 e sua proximidade maior em termos de divergência molecular. Embora essa hipótese seja sugestiva, não é possível afirmar de que esse tenha sido o processo principal de isolamento que levou à diversificação na área. A amostragem ainda é pequena para que haja um tratamento estatístico confiável sobre esse aspecto. A hipótese dos rios tem sido objeto de estudo desde Wallace (1852) e os resultados apresentados desde então são ambíguos, apoiando a hipótese em alguns casos (Ayres & Clutton-Brock, 1992; Lampert *et al.*,(2003); Pellegrino *et al.,* 2005; Li *et al.,* (2009) ao passo que em outros não apresentam topologia compatível com o isolamento causado pelos rios (Gascon, Lougheed & Bogart, 1998; Patton & da Silva, 1998; Lougheed *et al.,* 1999; Symula, Schulte & Summers, 2003). Nos casos relacionados aos rios da bacia amazônica, os rios são caracteristicamente meândricos o que pode torná-los pouco efetivos para atuar como uma barreira ao longo dos tempos. Na mata Atlântica os rios são geologicamente mais estáveis, suas regiões propensas a formar meandros foram cobertas pelo mar na última transgressão marinha (Vanzolini, 1973; Suguio & Nogueira, 1999), e assim podem atuar como barreiras mais efetivas.

Uma evidência clara de que os rios estão servindo de barreira é fornecida pelos estudos na bacia do Rio São Francisco conduzidos nas regiões de dunas nas margens dos rios (Rodrigues, 1996). Vários lagartos, cobras e anfisbenas endêmicas foram descobertas nessas regiões. Elas formam espécies irmãs de distribuição alopátricas vicariantes em margens opostas e dunas adjacentes (Rodrigues & Juncá, 2002).

Alguns rios em particular parecem atuar como uma forte barreira, limitando a distribuição de várias espécies de lagartos, como o Rio Doce, que limita a distribuição de *Strobilurus torquatus*, o Rio Jequitinhonha, que limita a distribuição de *Coleodactylus meridionalis*, e no caso dos gimnoftalmídeos as espécies *Stenolepis ridleyi* e *Dryadosaura nordestina* são limitadas pelo Rio São Francisco (Rodrigues, 1990). Vale aqui ressaltar que, embora durante vários anos as distribuições destas espécies foram utilizadas para exemplificar o papel dos rios citados como barreiras, informações recentes indicam que este pode não ser o caso para algumas destas espécies (Rodrigues, inf. pessoal).

O clado ES_2 representado aqui por dois espécimes de mesma localidade, apresenta diferença genética alta, de aproximadamente 4% entre eles, quando comparado às diferenças encontradas nas outras populações estudadas, sempre abaixo de 1%. Essa diferença pode ter como uma possível explicação o fato dessa região ser montanhosa, o que pode ter funcionado como barreira entre as populações locais. Regiões com gradientes latitudinais podem atuar como fator importante de diferenciação entre populações locais (Zhao *et al.*, 2009, Li *et al., 2009*). No clado 1, os espécimes coletados em localidades próximas ao litoral também apresentam uma divergência

relativamente alta (entre 3,8% e 8,2%). Essa divergencia também apresenta um componente altitudinal, somado a distância entre as localidades.

O grupo MG_1 está geograficamente distante dos outros grupos. Esse fato, isoladamente, pode servir como uma explicação para a divergência encontrada em relação aos outros grupos. Além disso, o número de amostras é muito pequeno (N = 1), que pode levar a um enviesamento dos dados.

A rede de haplótipos (Figura 24) mostra que entre os clados não existe compartilhamento. Fica evidenciada de forma mais clara a estruturação entre as populações do clado 1, 2 e 3. Dentro do clado 1, encontram-se haplótipos compartilhados entre populações diferentes, podendo indicar que há fluxo gênico entre essas populações.

3.5. Definição de unidades

As propostas taxonômicas, não importando o conceito adotado ou o método empregado na determinação precisa do *status* da espécie, são sujeitas a reconhecer um número maior ou menor de espécies do que aquele que de fato existe na natureza (Frost & Hillis, 1990). Também não há um conceito universal de espécie que pode ser utilizado universalmente, sendo aplicado aos diversos grupos existentes e as suas biologias particularmente diferentes. Assim, o caminho na delimitação de unidades evolutivas deve ser feito com base em uma abordagem pluralista e a definição de táxons em nível de espécies considerado caso a caso (Mishler & Donoghue, 1982). Os aspectos teóricos dos conceitos de espécies aparecem compilados de forma completa e atualizada nos trabalhos de Wheeler & Meier (2000) e Sites jr & Marshall (2004).

O gênero *Ecpleopus* tem sido apresentado como monotípico na literatura corrente (Uzzell, 1969). Essa conclusão baseou-se em uma análise com baixo número amostral e sem que estivesse bem representada a área de distribuição da espécie. De acordo com Curcio (2009) as evidencias de que duas linhagens podem apresentar fluxo gênico em uma determinada zona de parapatria devem ser sustentadas pelas delimitações mais precisas possíveis da abrangência geográfica de cada uma delas, excluindo a possibilidade de variação contínua ao longo de uma única área de distribuição. Assim um pequeno número de amostras, com sua abrangência geográfica deficitária, não permite verificar se esses espécimes variam de forma continua ou se há distinções claras entre populações.

O conceito de subespécie, apesar de ser reconhecido pelo *Código* (ICZN, 1999) vem perdendo sustentação com o advento do conceito filogenético de espécie, que se baseia nos padrões históricos de diferenciação das linhagens evolutivas (Curcio, 2009). Uma espécie filogenética representa-se pela menor população detectável com base em combinações únicas de caracteres (Rosen, 1978, 1979; Donoghue, 1985; Cracraft, 1983, 1987; Frost & Hillis, 1990). Se uma determinada linhagem apresentar uma diagnose objetiva, pode ser reconhecida como uma espécie distinta, mesmo que ocorra hibridação em áreas de parapatria (Cracraft, 1997; Silveira & Olmos, 2007).

O uso de subespécie pode ainda mascarar a real diversidade do grupo mantendo entidades evolutivas historicamente distintas sob a designação binomial de uma mesma espécie. E mesmo o argumento de que o trinômio tornaria claro o grau de parentesco entre os dois grupos irmãos, não

necessitando da representação gráfica do cladograma, não é suficiente para sustentar a utilização de subespécie (Curcio, 2009).

Assim, pelos motivos elencados acima e pelo alinhamento com as idéias propostas o presente estudo não considera subespécies em sua proposta de classificação. Linhagens com distinções claras em termos morfológicos, geográficos e moleculares, representadas por amostragem representativa de padrões bem definidos justificam a atribuição de *status* de espécie plena. No presente estudo foram identificados dois grupos, OTUs 1 e 2, claramente diferenciados por características morfológicas, moleculares e geográficas, que representam duas espécies distintas. As possíveis linhagens aqui sugeridas representam hipóteses de linhagens evolutivas, estando sujeitas a questionamentos e testes com abordagens metodológicas distintas e complementares a esse estudo.

As linhagens aqui reconhecidas com base em suas características morfológicas, geográficas e moleculares são:

1) a UTO 1 (Clados 1 e 3). O polimorfismo detectado confere a essa linhagem uma típica variação clinal em seus diversos caracteres morfológicos. Apresentam o número de escamas em volta da cintura variando entre 27-36 e escamas parietais convexas em sua margem externa. Distribuem-se em uma larga área, indo do estado de São Paulo, ao sul, ao vale do Jequitinhonha, MG, ao norte. Apresentam polimorfismo molecular, tendo sido identificado dois grandes clados, 1 e 3, sendo que o clado 3 pode ser dividido em três subgrupos: ES_1, ES_2 e MG_1.

2) a UTO 2 (Clado 2). Com diagnose baseada em seus caracteres meristicos distintos, principalmente em relação às escamas na região da cintura, (34 a 41) e no formato das escamas parietais côncavas em sua margem externa e a sua área geográfica restrita ao litoral do Estado do Rio de Janeiro. Molecularmente forma um grupo coeso.

3.6. Considerações filogenéticas e zoogeográficas

O gênero *Ecpleopus* está alocado dentro da tribo Ecpleopodini (Pellegrino *et al.,* 2001; Castoe *et al.,* 2004, Rodrigues *et al.,* 2009). Ele está na base desse grupo como grupo irmão de *Leposoma* e junto com *Arthrosaura, Colobosauroides* e *Anotosaura.* Foi revisado uma única vez por Uzzell (1969) que reconheceu em seu estudo apenas uma espécie *Ecpleopus gaudichaudii.* Nesse trabalho ele examinou apenas 12 espécimes, os conhecidos na época, não abrangendo a variação geográfica do gênero. Não há trabalhos enfocando a diversidade intra-específica após essa revisão. O gênero permaneceu monotípico desde então.

Nesse estudo há evidencias de que a taxonomia da espécie é bem mais complexa do que se supunha. Há pelo menos duas unidades evolutivas diferentes, identificáveis por caracteres morfológicos e apoiados por dados moleculares que indicam que essa diversidade pode ser ainda maior. Além da linhagem diferenciável por caracteres morfológicos, sustentada nos dados morfológicos, aqui tratada como UTO 2, a análise molecular mostra que a UTO 1 está dividida em pelo menos dois grupos distintos.

A UTO 1 apresenta, em relação à sua morfologia, um padrão de distribuição clinal. Isso contrasta fortemente com os dados moleculares que

separa a unidade em uma população ao sul da distribuição (clado 1), que possui alto suporte, e em três populações situadas ao norte da distribuição (incluídas no clado 3).

O clado 1 possui duas populações distintas, uma situada no planalto e outra contendo espécimes de localidades próximas ao litoral. A população de planalto apresenta uma coesão muito grande formando um grupo com suporte muito alto. O mesmo não acontece com as populações associadas a áreas de baixadas. A diferença altitudinal e distância geográfica podem estar atuando como um fator de segregação dessas populações.

O clado 3 apresenta uma topologia mais complexa, não apresentando monofiletismo e dividindo-se em três grupos com níveis variados de sustentação. A população acima do Rio Doce (ES_1) apresenta-se coesa com altos índices de suporte nas análises moleculares, embora não tenham sido encontrados caracteres morfológicos que sustentem essas diferenças.

Outra população, ES_2, está associada à região da Serra do Caparaó. Essa região e outras regiões montanhosas próximas, como a Serra do Espinhaço, são conhecidas por apresentarem um alto índice de espécies endêmicas (Rodrigues *et al.,* 2009; Vanzolini & Heyer, 1998; Cunha, 1966; Vanzolini, 1982; Sazima & Bockermann, 1983; Heyer, 1999; Rodrigues *et al.,* 2006; Lugli & Haddad, 2007 a, b). As montanhas dessa região apresentam um clima diferente das regiões adjacentes, sendo úmido e frio, ocorrendo geadas em determinadas épocas do ano (Safford, 1999). A isso se soma o fato de estarem nessa região três dos maiores picos do país, com altitudes muito elevadas. Esses fatores podem ter contribuído para a divergência encontrada entre essa população e as outras amostradas, e também entre os espécimes

dentro dessa população que chega a uma divergência molecular de mais de 4%.

Uma terceira população é separada do clado 3 representada pelo espécime de Mariana, MG. Por se tratar de apenas um espécime e considerando a distância geográfica entre ele e as outras populações, essa diferença pode ser devida a um viés de amostragem e separação geográfica.

A divisão em nível molecular do clado 3 e entre o clado 1 e 3, não é aparente na morfologia. A morfologia entre os grupos apresenta uma distribuição clinal e não tem nenhuma disjunção verificável, com exceção feita a linhagem do clado 2. Existe também uma lacuna amostral importante nas localidades entre os dois clados, principalmente nas localidades a oeste das serras que acompanham a faixa litorânea, exceção feita ao planalto paulista. Além disso, esse resultado foi obtido a partir do estudo de um único gene mitocondrial e seria de muita valia o estudo de outros genes, mitocondrial e nuclear para uma melhor clarificação da topologia encontrada.

A UTO 2 apresenta uma linhagem de animais encontrados próximos ao litoral do estado do Rio de Janeiro e de algumas ilhas próximas da região de Marambaia. É sabido que existe um importante efeito de ilha em populações que ficam isoladas em alopatria. (Carvalho *et al*, 2007, Brown & Lomolino, 2000; Inger & Voris, 2001, Quammen, 2008). Essa linhagem apresenta evidencias fortes de caráter morfológico e molecular de um isolamento em relação às outras populações. Ressalta-se que o grupo apresenta uma diferença significativa em pelo menos um caráter folidótico (escamas da cintura), na forma das escamas parietais e tem um alto suporte nos dados moleculares, tanto em análise de MP como em Bayesiana. É importante notar

que caso essa linhagem venha a ser confirmada, com a adição de mais dados e estudos, como uma unidade evolutiva independente, o nome *Ecpleopus gaudichaudii* deve ser a ela restrito pois a descrição do holótipo da espécie concorda com as características encontradas nessa linhagem e não com as dos demais clados.

Finalmente, *Ecpleopus* parece concordar com os padrões de distribuição de outros lagartos encontrados na mata atlântica, mostrando um padrão complexo em que há diversos fatores atuando na diversificação do grupo. A hipótese dos rios atuando como barreira parece influir ao menos no isolamento de uma população, que se encontra ao norte do Rio Doce, enquanto outros fatores como a altitude e o distanciamento geográfico parecem atuar de forma mais determinante nos outros casos. *Ecpleopus* desde sua última revisão é considerado monotípico, mas as evidências indicam que há uma complexidade muito maior na taxonomia do grupo como discutidas acima.

Mesmo que as evidências morfológicas e genéticas levem a pensar que um dos clados deva corresponder a uma espécie nova, não parece conveniente descrevê-la de imediato. Tomar essa posição agora, face à filogenia disponível, equivaleria a deixar o resto do gênero parafilético. Considerando que o elevado nível de divergência genética observado entre as demais populações sugere que mais unidades evolutivas podem estar envolvidas, parece-nos prematuro tomar qualquer decisão antes que disponhamos de uma filogenia com amostragem genética mais completa, que além de mais genes mitocondriais, inclua pelo menos um gene nuclear.

3.7. Perspectivas futuras

Os resultados obtidos indicam que *Ecpleopus* apresenta variação intra-específica e possivelmente interespecífica. Foi possível identificar duas linhagens distintas, com a possibilidade de existirem outras internas a essas linhagens.

Com o desenvolvimento de novas e mais eficientes formas de coleta o material disponível para estudo sobre a espécie tem crescido muito nos últimos anos. Com uma quantidade maior de espécimes e localidades, preenchendo as lacunas amostrais existentes, os padrões podem tornar-se mais claros.

Em relação às evidencias moleculares, o estudo de outros genes podem tornar as relações encontradas entre as diversas linhagens e populações amostradas mais claras e sustentadas. Para isso é necessário um esforço no sentido de conseguir novas amostras de novas localidades e complementar amostras de locais com poucos espécimes investigados. O estudo prosseguirá, com o seqüenciamento de pelo menos mais um gene mitocondrial e outro nuclear, na tentativa de recuperar uma informação mais conclusiva sobre a diversidade do grupo.

O estudo osteológico abre a possibilidade de comparar a diferenciação osteológica dos diversos grupos dentro dos Gymnophthalmidae de maneira que auxiliem no entendimento do desenvolvimento e das relações filogenéticas desse grupo.

4. CONCLUSÕES

4. CONCLUSÕES

- Os 183 espécimes analisados permitiram reconhecer duas linhagens distintas em *Ecpleopus gaudichaudii.*

- O estudo da morfologia sugere a existência de duas linhagens distintas, uma restrita ao litoral do Estado do Rio de Janeiro e a outra distribuída pelo restante da área de distribuição da espécie.

- A linhagem referente ao clado 2, possui características morfológicas, moleculares e geográficas distintas. As linhagens correspondentes aos clados 1 e 3 apresentam distinção molecular, mas morfologicamente a variação é clinal.

- Existe dimorfismo sexual em alguns caracteres em *Ecpleopus gaudichaudii*.

- A análise molecular apresenta pelo menos três grupos distintos: um ao sul, no estado de São Paulo, outro concordante com o grupo restrito ao estado Rio de Janeiro e um terceiro grupo localizado mais ao norte da área de distribuição.

- A espécie possivelmente apresenta uma taxonomia bem mais complexa do que a utilizada atualmente.

- A linhagem representada pelo clado 1 e 3 apresenta distribuição clinal. E a linhagem representada pelo clado 2 apresenta características diagnosticas próprias.

- O gênero é monofilético.

- As características osteológicas de forma geral concordam com as características descritas para a família dos Gymnophthalmidae.

5. RESUMO

5. RESUMO

Ecpleopus gaudichaudii (Squamata, Gymnophthalmidae) distribuída pelas áreas do Domínio da Mata Atlântica brasileira, é atualmente considerada monotípica. A espécie possui uma aparente homogeneidade morfológica e carece de estudos moleculares e osteológicos na literatura.

No presente estudo, faz-se uma análise aprofundada sobre a morfologia do grupo (caracteres quantitativos e qualitativos) e os padrões de variação exibidos através de sua distribuição. Também é feita uma análise das diferenças moleculares em relação ao gene mitocondrial citocromo B entre as diversas populações amostradas. E, por fim, é apresentada uma descrição óssea da espécie.

São reconhecidas duas linhagens diferentes com base em uma combinação dos dados morfológicos e moleculares. Os dados moleculares apontam ainda, que a real diversidade do grupo pode ser maior do que aquela demonstrada pelos caracteres morfológicos. Para a determinação da real complexidade taxonômica do grupo faz-se necessários novos testes e estudos de novos genes que permitam uma clarificação melhor das relações entre as populações e linhagens reconhecidas.

6. *ABSTRACT*

6. ABSTRACT

Ecpleopus gaudichaudii (Squamata, Gymnophthalmidae), distributed over areas of the Brazilian Atlantic Forest Domain, is the only species allocated in the genus. Despite its apparently homogeneous morphology, morphological and molecular studies approaching the several populations througout the distribution of this species are lacking in the literature.

In this study, we provide a thorough morphological analysis involving external features (quantitative and qualitative characters) and osteology of a sample including 183 specimens of *Ecpleopus gaudichaudii*, in order to assess the patterns of variation throughout its distribution. In addition, a preliminary analysis of molecular differences regarding mitochondrial cytochrome B gene among the populations is also provided.

Two different groups are recognized based on a combination of morphological and molecular data. The molecular data also indicate that the actual diversity of the group may be greater than that shown by morphological characters. The ellucidation of the relationships among the populations, as well as of the taxonomy of the group, depends on further studies of molecular approach focusing nuclear and more mithocondrial genes. The results of these studies may provide more solid grounds to future taxonomic reformulations.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ab'Saber, A. N. 1970. Províncias geológicas e domínios morfoclimáticos no Brasil. *Geomorfologia* 20:1-25.

Amaral, A. 1932. Estudos sobre lacertílios neotrópicos I. Novos gêneros e espécies de lagartos do Brasil. *Memórias Instituto Butantan* 7: 53-74.

Avise, J. C. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology* 7: 371-379.

Ayres, J. M. C. & T. H., Clutton-Brock. 1992. River boundaries and species range size in Amazonian primates. *American Naturalist* 140, 531-7.

Bell, C. J., S. E. Evans & J. A. Maisano, 2003. The skull of the gymnophthalmid lizard *Neusticurus ecpleopus* (Reptilia: Squamata). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 139: 283-304.

Böhme W. 1988. Zur Genitalmorphologie der Sauria: funktionelle und stammesgeschichtliche Aspekte. *Bonner Zoologische Monographien* 27**:** 1–176.

Boulenger, G. A. 1885. *Catalogue of the lizards in the collection of the British Museum II.* Taylor and Francis, London. 497 p., 24 pls.

Boulenger, G. A. 1898. Third report on additions to the lizard collection in the Natural History Museum. *Proceedings of Zoological Society of London*, 497 pp.

Brown, J. H. & M. V. Lomolino. 2000. Concluding remarks: historical perspective and the future of island biogeography theory. *Global Ecology and Biogeography* 9: 87-92.

Burt, C. E. & M. D. Burt. 1931. South American lizards in the collection of the American Museum of Natural History. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 61**:** 227–395.

Caldwell, M. W. 1999**.** Squamate phylogeny and the relationships of snakes and mosasauroids. *Zoological Journal of the Linnean Society* 125: 115–147.

Camp, L. C. 1923. Classification of the lizards. *Bulletin American Museum of Natural History*. 48: 289-481.

Capparella, A. 1988. Genetic variation in Neotropical birds: implication for the speciation process. *Acta XIX Congress International of Ornithology (Ottawa 1986)*, vol. 2, 1658-64.

Capparella, A. 1991. Neotropical avian diversity and riverine barriers. *Acta XX Congress International Ornithology (Aukland 1990)*, vol. 1, 307-16.

Carnaval, A. C. O. Q. 2002**.** Phylogeography of four frog species in forest fragments of northeastern Brazil – A preliminary study. *Integrative and Comparative Biology* 42: 913–921.

Carvalho, A. L. G., A. F. B. Araújo & H. R. Silva. 2007. Lagartos da marambaia, um remanescente insular de Restinga e Floresta Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Biota Neotropica* vol. 7, no. 2.

Castoe, T. A.; T. M. Doan & C. L. Parkinson. 2004. Data partitions and complex models in Bayesian analysis: the phylogeny of Gymnophthalmid lizards. *Systematic Biology* 53 (3): 448-469.

Catharino, E. L. M., J. P. Metzger & L. F. Alves. 2004. Plano de gestão emergencial da reserva florestal do Morro Grande: diagnóstico dos meios físico e biótico. Disponível em http://www.cotianet.com.br/Selva/item.htm, último acesso em 28/04/2010.

Colinvaux, P. (1993) Pleistocene biogeography and diversity in tropical forests of South America. *In* Goldblatt, P. (Ed.). *Biological Relationships between Africa and South America.* New Haven: Yale University Press. pp. 473-99.

Colwell, R. K. 2000. A barrier runs through it... or maybe just a river. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 97 (25): 13470-13472.

Cope E. D. 1900. The crocodilians, lizards, and snakes of North America. *Annual Report of the United States National Museum for 1898* **Part II:** 153–1294.

Cunha, O. R. 1966. Sobre uma nova espécie de lagarto do estado de Minas Gerais Placosoma cipoense *sp. n.* (Lacertilia, Teiidae). *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia* 61: 1–11

Dixo, M. & J. P. Metzger. 2009. Are corridors, fragment size and forest structure important for the conservation of leaf-litter lizards in a fragmented landscape? *Oryx* 43: 435-442.

Dixon ,J. R. 1973. Systematic review of the teiid lizard genus *Bachia* with remarks on *Heterodactylus* and *Anotosaura. University of Kansas Museum of Natural History, Miscellaneous Publications 57: 1-47*

Dixon J. R. 1974 a. Systematic review of the lizard genus A*notosaura* (Teiidae). *Herpetologica* **30:** 13-18.

Dixon JR. 1974 b**.** Systematic review of the microteiid genus *Iphisa*. *Herpetologica* **30:** 133–139.

Doan T. M. 2003. A new phylogenetic classification for the gymnophthalmid genera *Cercosaura*, *Pantodactylus* and *Prionodactylus* (Reptilia: Squamata). *Zoological Journal of the Linnean Society* 137: 101–115.

Doan, T. M. & T. A. Castoe. 2005. Phylogenetic taxonomy of the Cercosaurini (Squamata: Gymnophthalmidae), with new genera for species of

Neusticurus and Proctoporus. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 143: 405-416.

Duméril, A. M. C. & G. Bibron. 1839. *Erpétologie général ou histoire naturelle complète des reptiles, V.* Librairie Encyclopedique de Roret, Paris. 854 pp.

Dunn, G. & B. S. Everitt. 1982. *An Introduction to Mathematical Taxonomy.* Dover Publications, Inc. Mineola, New York. 152 pp.

Edmund, A. G. 1960. Tooth replacement phenomena in the lower vertebrates. *Contribution on Royal Ontario Museum* 52: 1-192.

Eisemberg, C. C., J. Cassimiro & J. Bertoluci. 2004. Notes on the diet of the rare gymnophthalmid lizard *Ecpleopus gaudichaudii* from southeastern Brazil. *Herpetological Review* 35(4):336-337.

Emsley, M. G. 1965. Speciation in Heliconius (Lep., Nymphalidae): Morphology and geographic distribution. *Zoologica* (N.Y.) 50, 191-254.

Endler, J. 1982. Pleistocene forest refuges: fact or fancy? *In*: Prance, G. T. (ed.) *Biological Diversification in the Tropics*. New York: Columbia University Press. 179-200 pp.

Estes, R. 1983. *Fossil lizards of the world. Handbuch der Palaoherpetologie, vol. 10.* Stuttgart: Gustoff Fisher Verlag.

Estes, R., K. de Queiroz, & J. Gauthier. 1988. Phylogenetic relationships within Squamata. *In*: Estes, R. & G. Pregill (Eds.). *Phylogenetic relationships of the lizard families.* Stanford: Stanford University Press, 119-281.

Etheridge, R. 1965. The abdominal skeleton of the lizards in the family Iguanidae. *Herpetologica* 21: 161-168.

Evans, S. E. & J. Barbadillo. 1997. Early Cretaceous lizards from Las Hoyas, Spain. *Zoological Journal of the Linnean Society* 119: 23–49.

Evans, S. E. & J. Barbadillo. 1998. An unusual lizard (Reptilia: Squamata) from the Early Cretaceous of Las Hoyas, Spain. *Zoological Journal of the Linnean Society* 124: 235–265.

Evans, S. E. & D. C. Chure. 1998. Paramacellodid lizard skulls from the Jurassic Morrison Formation at Dinosaur National Monument, Utah. *Journal of Vertebrate Paleontology* 18: 99–114.

Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenetics: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.

Fetzner, J. 1999. Extracting high–quality DNA from shed reptiles skins: a simplified method. *BioTechiniques* 26: 1052:1054.

Freire, E. M. X. 1998. Diferenciação geográfica em *Gymnodactylus darwinii* (Gray, 1845) (Sauria, Gekkonidae). *Papéis Avulsos de Zoologia, São Paulo* 40: 311–322.

Gascon, C. N., S. C. Lougheed & J. P. Bogart. 1998. Patterns of genetics population differentiation in four species of Amazonian frogs: a test of the riverine barrier hypothesis. *Biotropica* 30: 104-119.

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

Graur, D. e W. Martin. 2004. Reading the entrails of chickens: molecular timescales of evolution and the illusion of precision. *Trends in Genetics* 20: 80-86.

Gray, J. E. 1827. A synopsis of the genera of saurian reptiles, in which some new genera are indicated, and the others reviewed by actual examination. *Philosophical Magazine Annals, London* 2**:** 53-56.

Gray J. E. 1838. Catalogue of the slender-tongued saurians, with descriptions of many new genera and species. *Annals of Natural History* 1(43): 388-394.

Gray, J. E. 1839**.** Catalogue of the slender-tongued saurians, with descriptions of many new genera and species. *Annals of Natural History 2(38):* 274-283.

Gray, J. E. 1845. *Catalogue of the* specimens *of lizards in the collection of the British Museum.* London. Trustees of the British Museum.

Haddad, C. F. B. 1998. Biodiversidade dos anfíbios no estado de São Paulo. *In:* Castro, R. (Ed.). *Biodiversidade do estado de São Paulo, Brasil. Síntese do conhecimento ao final do século XX. 6. Vertebrados.* FAPESP, São Paulo, p.17-26.

Haffer, J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165, 131-7.

Haffer, J. 1974. *Avian speciation in tropical South America.* Publication Nuttall Ornithology Club 14, 390 pp.

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

Harris, D. M. 1985. Infralingual plicae: support for Boulenger's Teiidae (Sauria). *Copeia* 1985: 560–565.

Hershkovitz, P. 1977. *Living New World Monkeys (Platyrrhini), vol. 1.* Chicago: University of Chicago Press.

Heyer, W. R. 1999. A new genus and species of frog from Bahia, Brazil (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) with comments on the zoogeography of the Brazilian campos rupestres. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 112: 19–39.

Hillis, D. M., C. Moritz & B. K. Mable. 1996. *Molecular Systematics*. 2. ed. Sunderland, Sinauer. 655 pp.

Hofstetter, R. & J. P. Gasc. 1969. Vertebrae and Ribs of Moderna Reptiles, pp. 201-310. *In:* C. Gans (Ed.) *Biology of the Reptilia.* London, Academic Press, 373 pp.

Hotton, N. III. 1955. A survey of adaptative relationships of dentition to diet in North American Iguanidae. *American Midland Naturalist* 53: 88-114.

Hoyos, J. M. 1998. A reappraisal of the phylogeny of lizards of the family Gymnophthalmidae (Sauria, Scincomorpha). *Revista Espanola de Herpetologia* 12: *27-43*

Inger, R. F. & H. K. Voris. 2001. The biogeographical relations of the frogs and snakes of Sundaland. *Journal of Biogeography* 28(7):863-891.

Jerez, A. & O. A. Tarazona, 2009. Appendicular skeleton in *Bachia bicolor* (Squamata: Gymnophthalmidae): osteology, limb reduction and postnatal skeletal ontogeny. *Acta Zoologica (Stockholm)* 90: 42-50.

Jolicoeur, P. & J. E. Mosimann, 1960. Size and shape variation in the painted turtle: A principal component analysis. *Growth,* 24: 339-354.

Jollie, M. T. 1960. The head skeleton of the lizard. *Acta Zoologica* 41: 1-64.

Kachigan, S. K. 1986. *Statistical Analysis: An Interdisciplinary Introduction to Univariate & Multivariate Methods*. Radius Press, New York. 589 pp.

Kizirian D. A. 1996. A review of Ecuadorian *Proctoporus* (Squamata: Gymnophthalmidae) with descriptions of nine new species. *Herpetological Monographs* 10: 85–155.

Kizirian D. A & C. J. Cole. 1999. Origin of the unisexual lizard *Gymnophthalmus underwoodi* (Gymnophthalmidae) inferred from mitochondrial DNA nucleotide sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **11(3):** 393-400.

Kocher, T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V. Edwards, S. Pääbo, F. X. Villablanca & A. C. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 86: 6196-6200.

Krause, L. 1978. Osteologia pós-craniana de *Tupinambis teguixin* (L., 1758) *sensu* Boulenger, 1885. Parte I: Esqueleto axial (vértebras e costelas)

(Lacertilia, Scincomorpha, Teiidae). *Revista Brasileira de Biologia* 38 (2): 481-499.

Lampert, K. P., A. S. Rand, U. G. Mueller & M. J. Ryan. 2003. Fine-scale genetic pattern and evidence for sex-biased dispersal in the túngara frog, *Phisalaemus pustulosus. Molecular Ecology,* 12: 3325-3334.

Lee, M. S. Y. 1998. Convergent evolution and character correlation in burrowing reptiles: towards a resolution of squamate relationships. *Biological Journal of the Linnean Society* 65: 369–453.

Li, R., W. Chen, L. Tu & J. Fu. 2009. Rivers as barriers for high elevation amphibians: a phylogeographic analysis of the alpine stream frog of the Hengduan Mountains. *Journal of Zoology (London)* 277: 309-316.

López, A. M. & M. R. Cabrera. 1995. Osteología craneal de *Pantodactylus schreibersii schreibersii* (Wiegmann, 1834) y su contribución a la discusión de Gymnophthalmidae (Reptilia). *Anales Museo de Historia Natural, Valparaiso* 23: 53–62.

Lougheed, S. C., C. Gascon, D. A. Jones, J. P. Bogart & P. T. Boag. 1999. Ridges and Rivers: a test of competing hypothesis of Amazonian diversification using a dart-poison frog (*Epipedobates femoralis)*. *Proceedings Royal Society of London Serie B: Biological Sciences* 266: 1829-1835.

Lugli, L. & C. F. B. Haddad. 2007 a. A new species of Bokermannohyla (Anura, Hylidae) from central Bahia, Brazil. *Journal of Herpetology* 40: 7–15.

Lugli, L., and C. F. B. Haddad. 2007 b. A new species of the Bokermannohyla pseudopseudis group from Central Bahia, Brazil (Amphibia, Hylidae). *Herpetologica* 62: 453–462.

MacLean, W. P. 1974. Feeding and locomotor mechanisms of teiid lizards: functional morphology and evolution. *Papéis Avulsos de Zoologia, São Paulo* 27: 179–213.

Maisano, J. A. 2002. The potential utility of postnatal skeletal developmental patterns in squamate phylogenetics. *Zoological Journal of the Linnean Society* 136: 277–313.

Manly, B. F. 2000. *Multivariate Statistical Methods.* 2nd Edition. Chapman and Hall/CRC, Boca Raton, Florida. 224 pp.

Martin, L., K. Suguio e J. M. Flexor. 1993. As flutuações do nível do mar durante o Quaternário superior e a evolução geológica dos deltas brasileiros. *Boletim IGUSP, Publicação Especial* 15: 185 pp.

Martins, J. M. 1997. *Estudo alozímico de um grupo de lagartos gimnoftalmídeos (Squamata: Gymnophthalmidae).* Unpublished Ph.D. Thesis, Universidade de São Paulo, Brazil.

MathWorks. 1994. *MatLab for Windows 4.2c1.* MathWorks, Inc., Natick, Massachussets.

Mayr, E. 1942. *Systematics and the Origin of Species from the Viewpoint of a Zoologist.* New York: Columbia University Press.

Mayr, E. 1963. *Animal Species and Evolution.* Cambridge, MA: Harvard University Press.

Merrem, B. 1820. *Versuch eines systems der amphibien.* Marburg: Johann Christian Krieger.

Mittermeier, R. A., N. Myers, P. Robles Gil & C. G. Mittermeier. 1999. *Hotspots: earth biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions.* CEMEX. Agrupación Sierra Madre, Mexico. 430 pp.

Montanucci, R. R. 1973. Systematics and evolution of the andean lizard genus *Pholidobolus* (Sauria: Teiidae). *University of Kansas Museum of Natural History, Miscellaneous Publication* 59: 1-52.

Montero, R., S. A. Moro & V. Abdala. 2002. Cranial anatomy of *Euspondylus acutirostris* (Squamata: Gymnophthalmidae) and its placement in a modern phylogenetic hypothesis. *Russian Journal of Herpetology* 9: 215–228.

Myers, N., R. A. Mittermeier, C. Mittermeier, G. A. B. Fonseca & J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.

Nylander, J. A. A., F. Ronquist, J. P. Huelsenbeck & J. Nieves-Aldrey. 2004. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. *Systematic Biology* 53(1): 47-67.

Oelrich, T. M. 1956. The anatomy of the head of *Ctenosaura pectinata* (Iguanidae). *Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan* 94: 1-122.

Olson, R. E., B. Marx & R. Rome. 1986. Descriptive dentition morphology of lizards of Middle and North America, I: Scincidae, Teiidae, and Helodermatidae. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 22: 97–124.

Palumbi, S. R. 1996. Nucleic acids I: The polymerase chain reaction. *In*: Hillis D. M., Moritz C & B. K. Mable (Eds.). *Molecular Systematics. 2nd edition*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, 205-247.

Patton, J. L. e M. N. F. da Silva. 1998. Rivers, refuges and ridges: the geography of speciation of Amazonian mammals. In: Howard, D. J. e S. H. Berlocher (Eds.). *Endless forms: species and speciation.* New York: Oxford University Press, 202-212.

Pellegrino, K. C. M., M. T. Rodrigues & Y. Yonenaga-Yassuda. 1999. Chromosomal evolution in Brazilian lizards of genus *Leposoma* (Squamata, Gymnophthalmidae) from Amazon and Atlantic forests: banding patterns and FISH of telomeric sequences. *Hereditas* 131: 15-21.

Pellegrino, K. C. M., M. T. Rodrigues, Y. Yonenaga-Yassuda, and J. W. Sites JR. 2001. A molecular perspective on the evolution of microteiid lizards (Squamata, Gymnophthalmidae), and a new classification for the family. *Biological Journal of Linnean Society* 74 (3): 317-340.

Pellegrino, K. C. M., M. T. Rodrigues, A. N. Waite, M. Morando, Y. Yonenaga-Yassuda, e J. W. Sites JR. 2005. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structures coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of Linnean Society* 85: 13-26.

Peres, C. A., Patton, J. L. & da Silva, M. N. F. 1996. Riverine barriers and gene flow in Amazonian saddle-back tamarins. *Folia Primatologica* 67**:** 113–124.

Perini, F. A e M. Butti. 2008. *Ecpleopus gaudichaudii* (NCN). Reproduction. *Herpetological review* 39(2): 222.

Peters, W. H. C. 1862. Über *Cercosaura* und die mit dieser Gattung verwandten Eidechsen aus Südamerica. *Abhandlung der Akademie der Wissenschaften*. Berlin, 165-225.

Pounds, J. A. & J. F. Jackson. 1980. Riverine barriers to gene flow and the differentiation of fence lizard populations. *Evolution*, 35(3): 516-528.

Presch, W. 1974 a. Evolutionary relationships and biogeography of the macroteiid lizards (Family Teiidae, Subfamily Teiinae). *Bulletin of the Southern Californian Academy of Science* 73: 23–32.

Presch, W. 1974 b. A survey of the dentition of the macroteiid lizards (Teiidae: Lacertilia). *Herpetologica* 30: 344-349.

Presch, W. 1975. The evolution of limb reduction in the teiid lizard genus *Bachia*. *Bulletin of the Southern Californian Academy of Science* 74: 113–121.

Presch, W. 1980. Evolutionary history of the South American microteiid lizards (Teiidae: Gymnophthalminae). *Copeia* 1980: 36–56.

Presch, W. 1983. The lizard family Teiidae: is it a monophyletic group? *Zoological Journal of the Linnean Society* 77: 189–197.

Presch, W. 1988. Phylogenetic relationships of the Scincomorpha. *In*: Estes, R. & G. Pregill (Eds.). *Phylogenetic relationships of the lizard families.* Stanford: Stanford University Press. pp. 471–492.

Quammen, D. 1996. *The song of the dodo – Island biogeography in na age of extinctions.* Simon & Schuster.

Remsen, J. V., Jr., & Parker, T. A., III. 1983. Contribution of river-created habitats to bird species richness in Amazonia. *Biotropica* **15,** 223–231.

Richter, H. 1933. Das Zugenbein und seine Muskulatur bei den Lacertilia vera. *Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft* 66: 395–480.

Rodrigues, M. T. 1987. Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao sul do rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia* 31: 105–230.

Rodrigues, M. T. 1990. Os lagartos da floresta Atlântica Brasileira: distribuição atual e pretérita e suas implicações para estudos futuros. II. Simpósio de ecossistemas da costa sul e sudeste Brasileira. Estutura, função e manejo. *Academia de Ciências do Estado de São Paulo* 71: 404–410.

Rodrigues, M. T. 1991. Herpetofauna das dunas interiores do Rio São Francisco: Bahia, Brasil. III. *Procellosaurinus:* um novo gênero de microteídeos sem pálpebra, com a redefinição do gênero *Gymnophthalmus* (Sauria, Teiidae). *Papéis Avulsos de Zoologia, São Paulo* 27: 329-342.

Rodrigues, M. T. 1995**.** *Filogenia e historia geográfica de uma radiação de lagartos microteídeos (Sauria, Teiioidea, Gymnophthalmidae).* Unpublished Thesis. Universidade de São Paulo, Brazil.

Rodrigues, M. T. 1996. Lizards, snakes, and amphisbaenians from the Quaternary sand dunes of the middle Rio São Francisco, Bahia, Brazil. *Journal of Herpetology* 30: 513–523

Rodrigues, M. T. 1997. A new species of *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae) from the atlantic forest of Brazil. *Herpetologica* 53: 383-389.

Rodrigues, M. T. & D. M. Borges. 1997. A new species of *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae) from a relictual forest in semiarid northeastern Brazil. *Herpetologica* 53: 1-6.

Rodrigues, M. T., M. Dixo, & G. M. Accacio. 2002 a. A large sample of *Leposoma* (Squamata, Gymnophthalmidae) from the Atlantic Forests of Bahia, the status of *Leposoma annectans* Ruibal, 1952, and notes on conservation. *Papéis Avulsos Zoologia, São Paulo* 42(5):103-117.

Rodrigues, M. T., M. Dixo, D. Pavan & V. K. Verdade. 2002 b. A new species of *Leposoma* (Squamata, Gymnophthalmidae) from the remnant Atlantic forests of the state of Bahia, Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia, São Paulo* 42 (14): 335-350.

Rodrigues M. T. & F. A. Juncá. 2002. Herpetofauna of Quaternary sand dunes of the middle São Francisco river: Bahia: Brazil. VII. *Typhlops amoipira* sp. nov., a possible relative of *Typhlops yonenagae* (Serpentes, Typhlopidae). *Papéis Avulsos de Zoologia, São Paulo* 42: 323–331.

Rodrigues, M. T., E. M. X. Freire, K. C. M. Pellegrino & J. W. Sites Jr. 2005. Phylogenetic relationships of a new genus and species of microteiid lizard from the Atlantic Forest of north-eastern Brazil (Squamata, Gymnophthalmidae). *Zoological Journal of the Linnean Society.* 144: 543-557.

Rodrigues, M. T., M. A. Freitas, T. F. S. Silva, & C. E. V. Bertolotto. 2006. A new species of lizard genus Enyalius (Squamata, Leiosauridae) from the highlands of Chapada Diamantina, State of Bahia, Brazil, with a key to species. *Phyllomedusa* 5: 11–24.

Rodrigues, M. T., K. C. M. Pellegrino, M. Dixo, V. K. Verdade, D. Pavan, A. J. S. Argolo & J. W. Sites Jr. 2007. A new genus of microteiid lizard from the

Atlantic forests of State of Bahia, Brazil, with a new generic name for *Colobosaura mentalis*, and a discussion of relationships among the Heterodactylini (Squamata, Gymnophthalmidae). [*Alexandresaurus*] *American Museum Novitates* (3565): 1-27

Rodrigues, M. T., J. Cassimiro, D. Pavan, F. F. Curcio, V. K. Verdade & K. C. M. Pellegrino. 2009. A new genus of microteiid lizard from the Caparaó mountains, southeastern Brazil, with a discussion of relationships among Gymnophthalminae (Squamata). *American Museum Novitates* 3673: 1-27.

Romer, A. S. 1956. *Osteology of the Reptiles.* Chicago, University of Chicago Press, 771 pp.

Romer, A. S. e T. S. Parsons. 1977. *The vertebrate body.* Philadelphia, W. B. Saunders, 624 pp.

Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19(12): 1572-1574.

Ruibal, R. 1952. Revisionary studies of some South American Teiidae. *Bulletin Museum of Comparative Zoology Harvard College* 106 (11): 477-529.

Ryan, M. J., A. S. Rand & L. A. Weigt. 1996. Allozyme and advertisement call variation in the túngara frog *Physalaemus pustulosus. Evolution* 50: 2435-2453.

Safford, H. D. 1999. Brazilian Paramos I. An introduction to the physical environment and vegetation of the campos the altitude. *Journal of Biogeography* 26: 693–712.

Sazima, I. & W. C. A. Bokermann. 1983. Anfíbios da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. 5. Hylodes otavioi sp. n. (Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia* 42: 767–771.

Schwenk, K. 1988. Comparative morphology of the lepidosaur tongue and its relevance to squamate phylogeny. *In:* Estes R, Pregill G, (Eds.). *Phylogenetic relationships of the lizard families: essays commemorating Charles L. Camp*. Stanford: Stanford University Press, 569–598.

Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. 2003. *Lista de espécies provavelmente ameaçadas de extinção do Estado de São Paulo.* Imprensa Oficial.

Sick, H. 1967. Rios e enchentes na Amazônia como obstáculo para a avifauna. *Atas Simpósio sobre a Biota Amazônica*, vol. 5 (Zoologia), 495-520.

Silva, C. M. e L. Verrastro. 2007. Descrição do esqueleto axial de *Liolaemus arambarensis* Verrastro, Veronese, Bujes & Dias Filho (Iguania, Liolaemidae): regiões pré-sacral e sacral. *Revista Brasileira de Zoologia* 24(1): 1-11.

Sinitsin, D. T. 1928. The types of the skull in the family Teiidae. *Zoologische Anzeiger* 76: 232–236.

Sites Jr., J. W. & J. C. Marshall. 2004. Operational criteria for delimiting species. Annual Review Ecology Evolution and Systematic 35: 199–227.

Soares, M. 2000. Estudo do esqueleto cefálico de *Anotosaura* Amaral, 1933, *Bachia* Gray, 1845 e *Heterodactylus* Spix, 1825 (Squamata, Teiioidea, Gymnophthalmidae). *Boletim do Museu Nacional, Nova série, Zoologia* 426: 1–20.

Sokal, R. R. & F. J. Rohlf. 1995. *Biometry: The Principles and Pratice of Statistics in Biological Research.* 3rd Edition. W. H. Freeman Company. New York, New York. 797 pp.

Song, J. & Parenti, L. R. 1995. Clearing and staining whole fish specimens for simultaneous demonstration of bone, cartilage, and nerves. *Copeia*, 1995, (1): 114-118.

Statsoft, Inc. 2001. Statistica (data analysis software system), version 6.0 www.statsoft.com

Stebbins, R. C. 1948. Nasal structure in lizards with reference to olfaction and conditioning of the inspired air. *American Journal of Anatomy* 83: 183–221.

Suguio, K. & A. C. R. Nogueira. 1999. Revisão crítica dos conhecimentos geológicos sobre a formação (ou grupo?) Barreiras do Neógeno e o seu possível significado como testemunho de alguns eventos geológicos mundiais. *Geociências, S. Paulo* 18: 461-479.

Sullivan, R. M. & R. Estes. 1997. A reassessment of the fóssil Tupinambinae. *In:* Kay R. F., R. H. Madden, R. L. Cifelli & J. J. Flynn. (Eds.). *Vertebrate Paleontology in the Neotropics. The Miocene Fauna of La Venta, Colombia.* Washington and London: Smithsonian Institution Press, pp. 100-112.

Swofford, D. L. 2003. *PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods),* Version 4. Sunderlund, MA: Sinauer Associates.

Symula R., R. Schulte & K. Summers. 2003. Molecular systematics and phylogeography of Amazonian poison frogs of the genus *Dendrobates*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26: 452–475.

Uzzell, T. 1959. Teiid lizards of the genus *Placosoma*. *Occasional Papers of the Museum of Zoology*, University Michigan, 606: 1-16.

Uzzell, T. 1962. Additional notes on teiid lizards of the genus *Placosoma*. *Copeia* (4): 833-835.

Uzzell, T. 1965. Teiid lizards of the genus *Echinosaura*. *Copeia***:** 82–89.

Uzzell, T. M. 1966. Teiid lizards of the genus *Neusticurus* (Reptilia, Sauria). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 132(5): 277-328**.**

Uzzell, T. 1969. The status of the genera *Ecpleopus, Arthroseps* and *Aspidolaemus* (Sauria, Teiidae). *Postilla* 135: 1-23.

Uzzell, T. 1970. Teiid lizards of the genus *Proctoporus* from Bolivia and Peru. *Postilla* 142: 1–39.

Uzzell, T. 1973. A revision of lizards of the genus *Prionodactylus*, with a new genus for *P. leucostictus* and notes on the genus *Euspondylus* (Sauria, Teiidae). *Postilla* 159: 1–67.

Uzzell, T. & J. C. Barry. 1971. *Leposoma percarinatum*, a unisexual species related to *L. guianense*; and *Leposoma ioanna*, a new species from Pacific coastal Colombia (Sauria, Teiidae). *Postilla* 154: 1–39.

Vanzolini, P. E. 1973. Distribution and differentiation of animals along the coast and in continental islands of the state of S. Paulo, Brasil. I. Introduction to the area and problems. *Papéis Avulsos de Zoologia, São Paulo* 12: 281–294.

Vanzolini, P. E. 1982. A new Gymnodactylus from Minas Gerais, Brasil, with remarks on the genus, on the area and on montane endemisms in Brasil (Sauria, Gekkonidae). *Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)* 34: 403–413.

Vanzolini, P. E. & W. R. Heyer (Eds). 1988. *Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns.* Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências.

Vanzolini, P. E. & E. E. Williams. 1970. South American anoles: geographic diferentiation and evolution of the Anolis chrysolepis species group (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia (São Paulo)* 19: 1-298.

Vickaryous, M. K. & W. M. Olson. 2007. Sesamoids and ossicles in the appendicular skeleton. In Hall, B. K. (Ed.): *Fins Into Limbs: Evolution,*

Development, and Transformation Part III Transformation, Chapter 19. University of Chicago Press, Chicago.

Vitt, L. J. 1982. Sexual dimorphism and reproduction in the microteiid lizard, *Gymnophthalmus multiscutatus*. *Journal of herpetology* 16(3): 325-329.

Vitt, L. J. 1995. The ecology of tropical lizards in the caatinga of northeast Brazil. *Occasional Papers of the Oklahoma Museum of Natural History* 1: 1-29.

Vrba, E. S. 1993. Mammal evolution in the African Neogene and a new look at the Great American interchange. *In*: Goldblatt, P. (Ed.). *Biological Relationships between Africa and South America* New Haven: Yale University Press. pp. 393-432.

Wagler, J. G. 1830. *Natürliches System der Amphibien, mit vorangehender Classification der Säugthiere und Vögel.* München. Stuttgart und Tübingen: J. C. Cotta.

Wallace, A. R. 1853. *A narrative of travels on the Amazon and rio Negro, with an account of the native tribes, and observations on the climate, geology, and natural history of the Amazonian valley.* Londres: Reeve.

Wallace, A. R. (1876) *The Geographical Distribution of Animals* (Harper, New York), Vol. 1.

Werneck, F. P., G. R. Colli & L. J. Vitt. 2009. Determinants of assemblage structure in Neotropical dry Forest lizards. *Austral Ecology* 34, 97–115

Werner, F. 1913. Neue oder seltene Reptilien und Frösche des Naturhistorichen Museums in Hamburg. *Jahrbuch der Hamburgischen Wissenschaftlichen Anstalten* 30, Beiheft 2: 1-51.

Wever, E. G. 1978. *The reptile ear: its structure and function*. Princeton: Princeton University Press.

Wheeler, Q. D. & R. Meier. 2000. *Species Concepts and the Phylogenetic Theory: A Debate.* Columbia University Press. New York. 230 pp.

Yonenaga-Yassuda, Y., P. E. Vanzolini, M. T. Rodrigues & C. M. Carvalho. 1995. Chromosome banding patterns in the unisexual microteiid *Gymnophthalmus underwoodi* and in two related sibling species (Gymnophthalmidae. Sauria). *Cytogenetics and Cell Genetics* 70: 29-34.

Yonegaga-Yassuda, Y., L. Mori, T. H. Chu & M. T. Rodrigues. 1996. Chromosomal banding patterns in the eyelid-less microteiid radiation: *Procellosaurinus* and *Vanzosaura* (Squamata, Gymnophthalmidae). *Cytogenetics and Cell Genetics* 74: 203-210.

Yonenaga-Yassuda, Y., K. C. M. Pellegrino & M. T. Rodrigues. 1996. Diversidade cariotípica em um grupo monofilético de lagartos microteídeos (Squamata, Gymnophthalmidae) do Brasil. IV Congresso Latino Americano de Herpetologia, Santiago do Chile. *Libro de Resumenes* 214.

Zaaf, A. A., P. Herrel, & F. Aerts De Vree. 1999. Morphology and morphometrics of the appendicular musculature in geckos with different locomotor habits (Lepidosauria). *Zoomorphology* 119: 9–22.

Zamudio, K. & H. W. Greene. 1997. Phylogeography of the bushmaster (*Lachesis muta*: Viperidae): implications for neotropical biogeography, systematics, and conservation. *Biological Journal of the Linnean Society* 62: 421-442.

Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. 4th Edition. Prentice-Hall, New Jersey. 620 pp.

Zhao, S., Q. Daí e J. Fu. 2009. Do rivers function as genetic barriers for the plateau wood frog at high elevations? *Journal of Zoology* 279: 270-276.

ANEXO

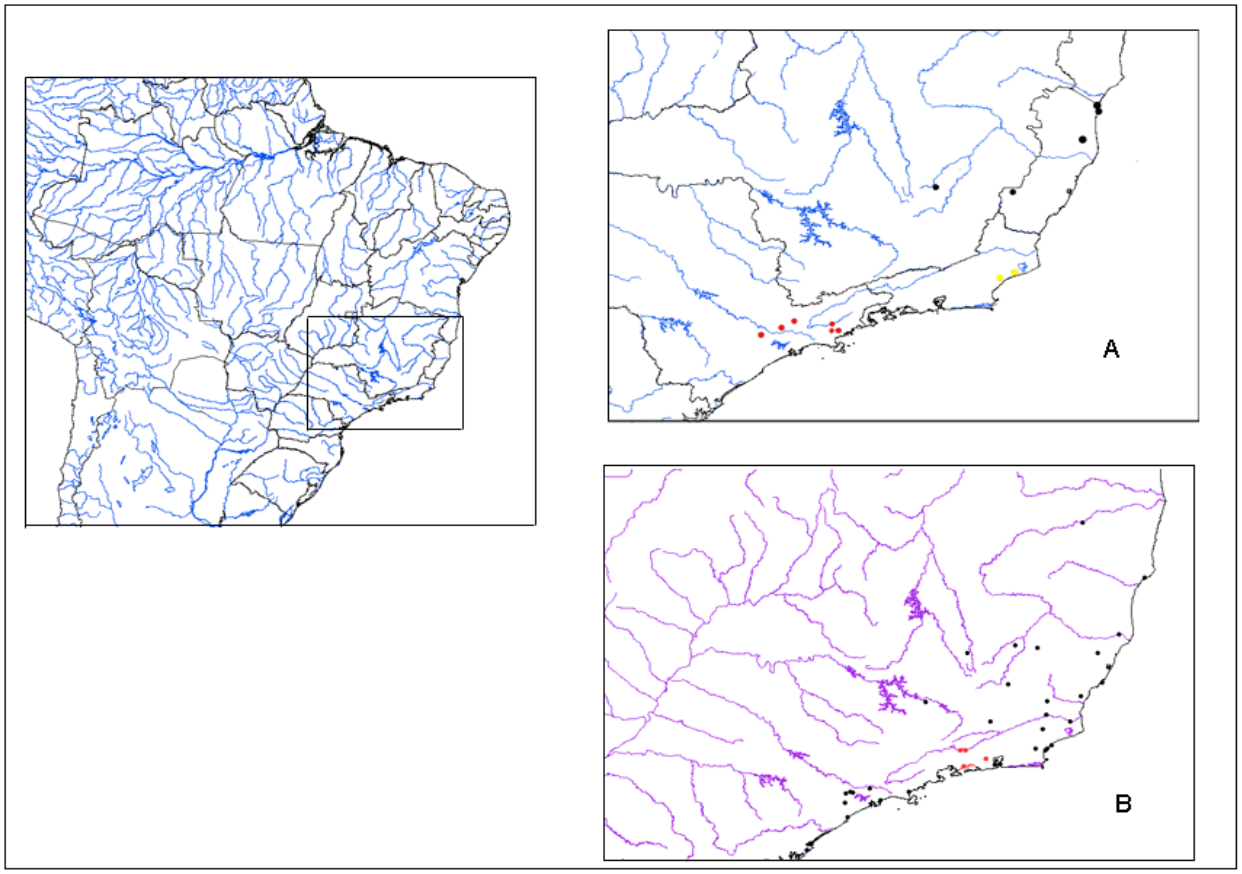


Figura 1 - Distribuição de *Ecpleopus gaudichaudii* com as localidades dos espécimes examinados: (A) localidades referentes aos espécimes com tecidos amostrados, vermelho (clado 1), amarelo (clado 2), preto (clado 3); (B) localidades com espécimes amostrados (UTO 1 – preto; UTO 2 – vermelho).

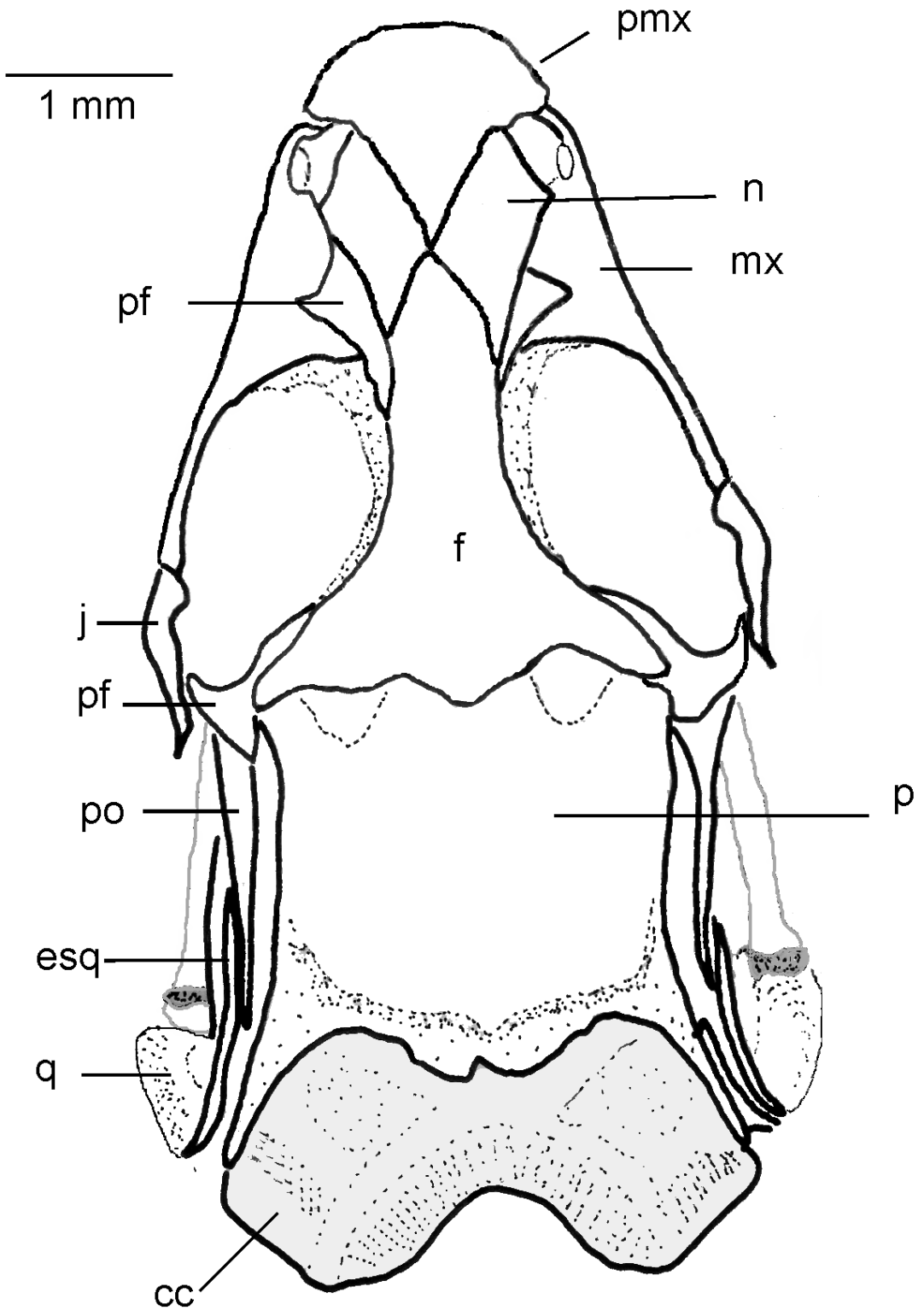


Figura 2 - Crânio de *Ecpleopus gaudichaudii* em vista dorsal.

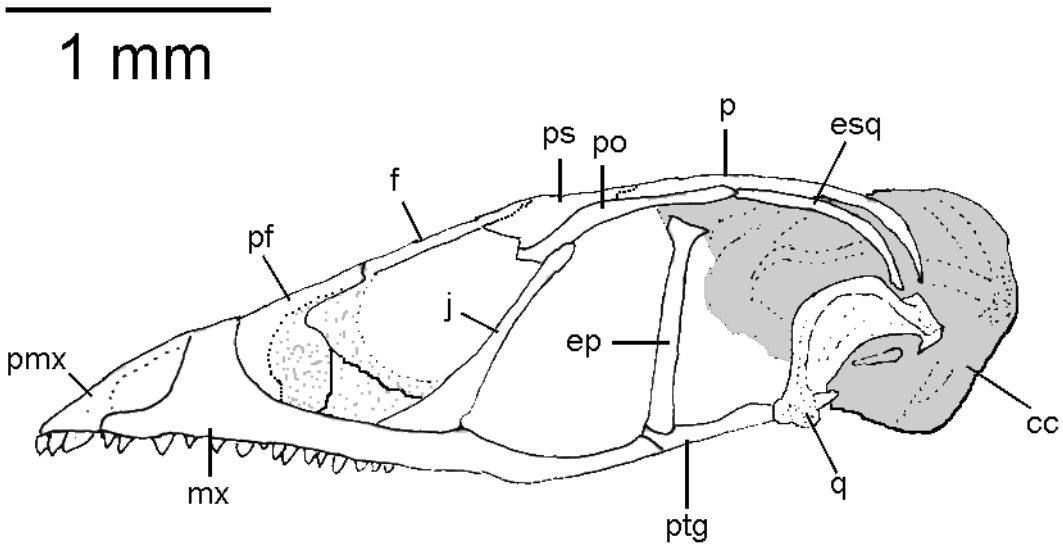


Figura 3 - Crânio de *Ecpleopus gaudichaudii* em vista lateral.

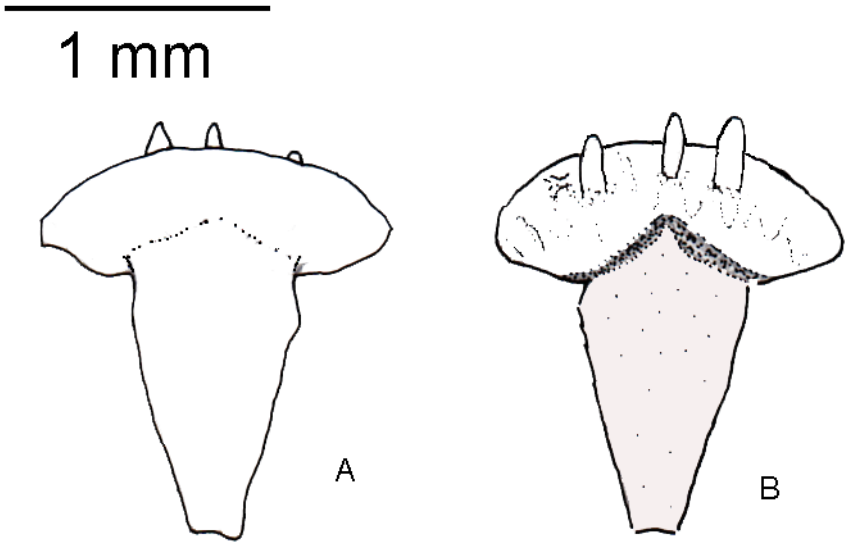


Figura 4 - Pré-maxila: (a) vista dorsal; (b) vista ventral.

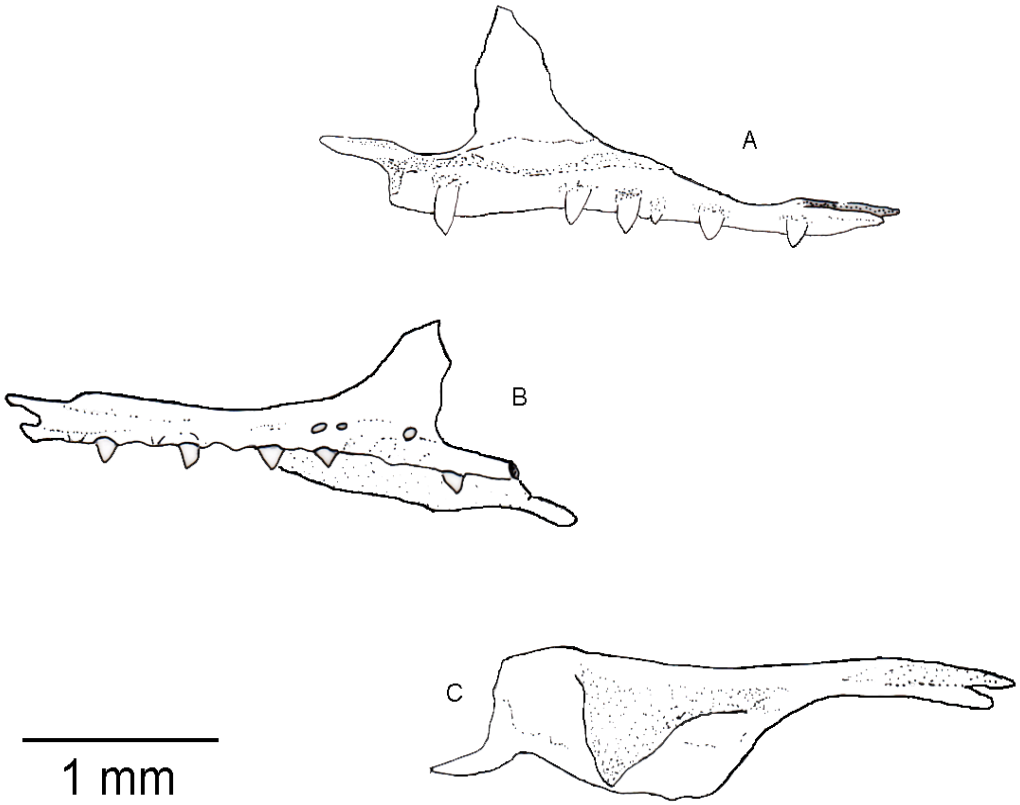


Figura 5 - Maxila: (a) vista lateral interna; (b) vista lateral externa; (c) vista dorsal.

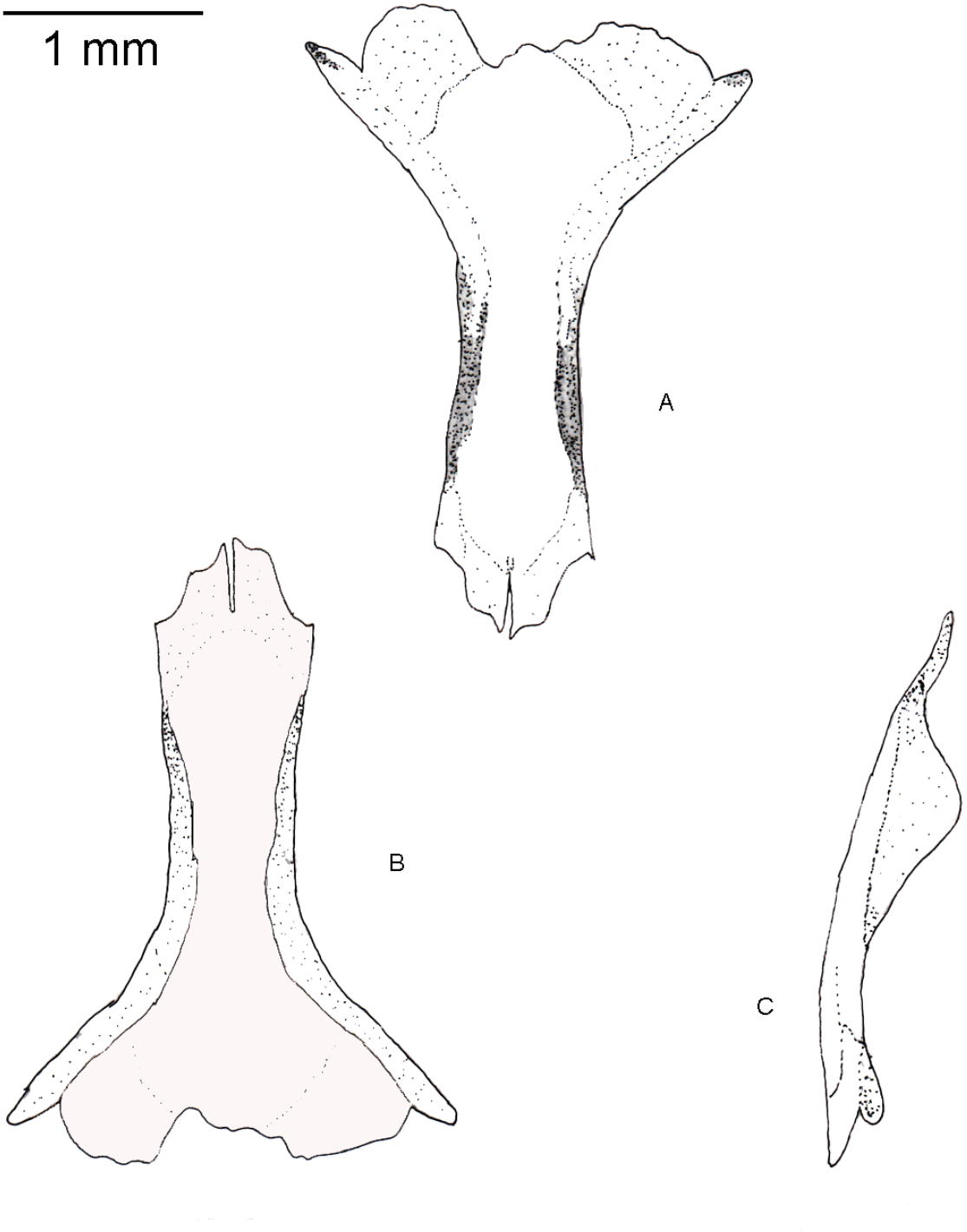


Figura 6 - Frontal: (a) vista dorsal; (b) vista ventral; (c) vista lateral.

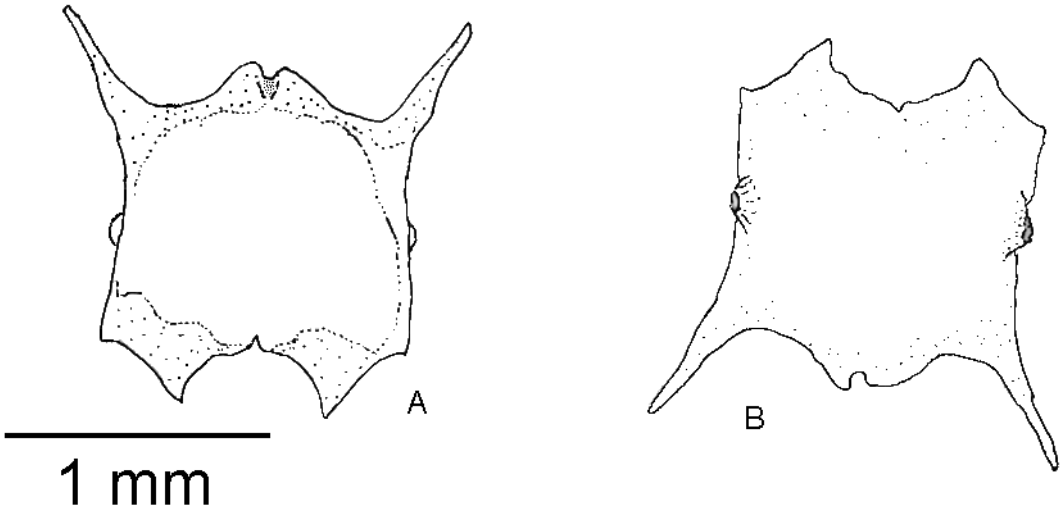


Figura 7 - Parietal: (a) vista dorsal; (b) vista ventral.

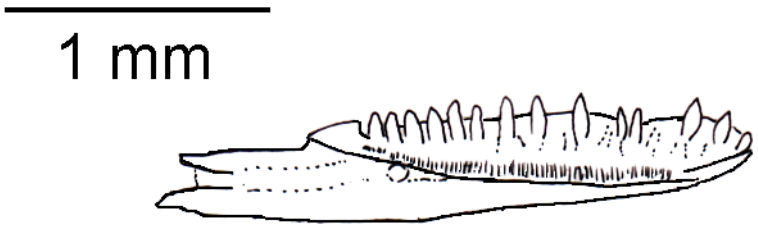


Figura 8 - Dentário em vista lateral interna.

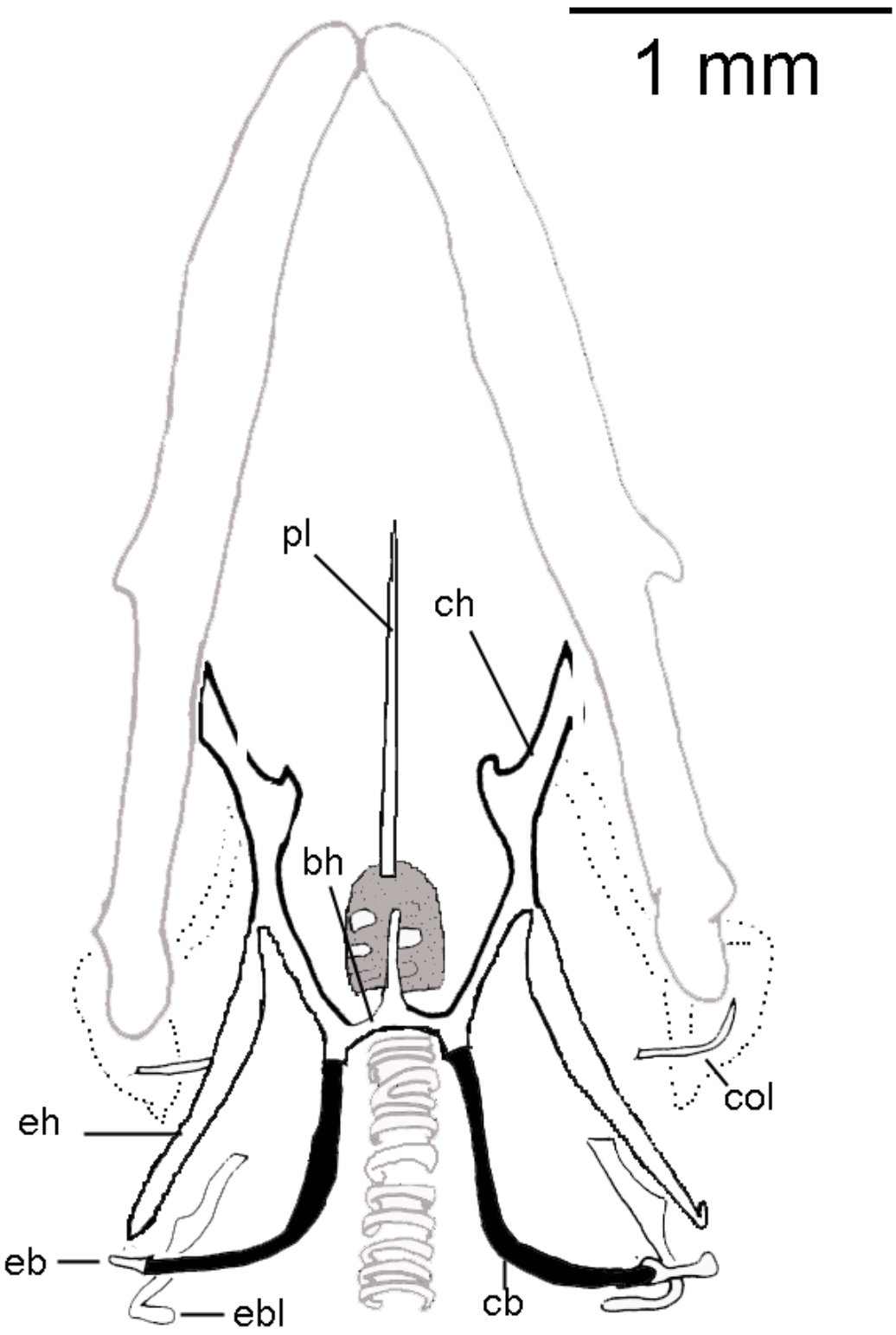


Figura 9 - Aparelho hióide em vista ventral. Os elementos da mandíbula e traquéia estão em segundo plano.

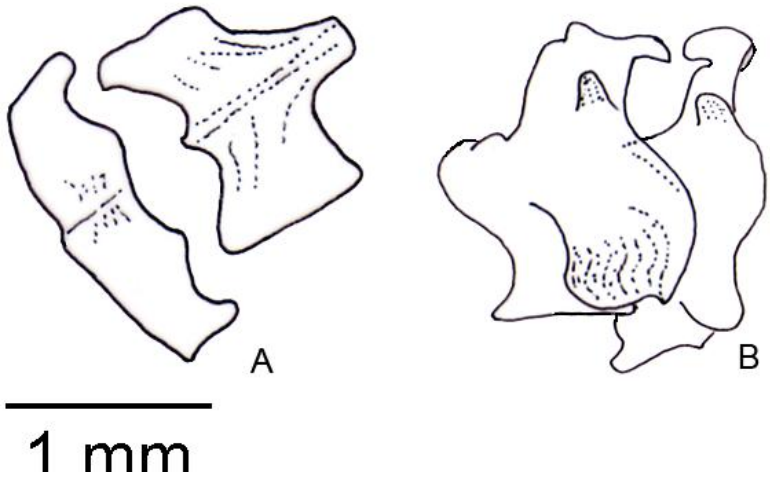


Figura 10 - (a) Vista dorsal do atlas e axis; (b) vista ventro-lateral da articulação entre o atlas e axis.

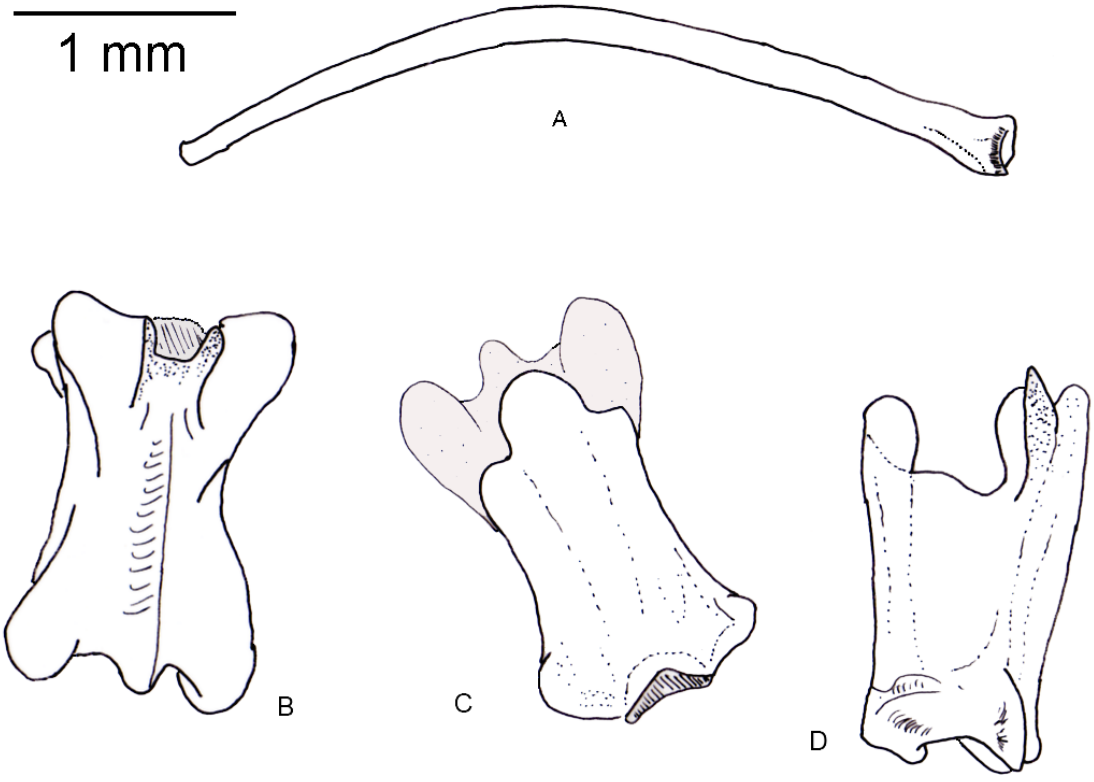


Figura 11 - (a) Costela dorsal em vista lateral; (b) vértebra dorsal em vista dorsal; (c) vértebra dorsal emvista ventral; (d) vértebra dorsal emvista lateral.

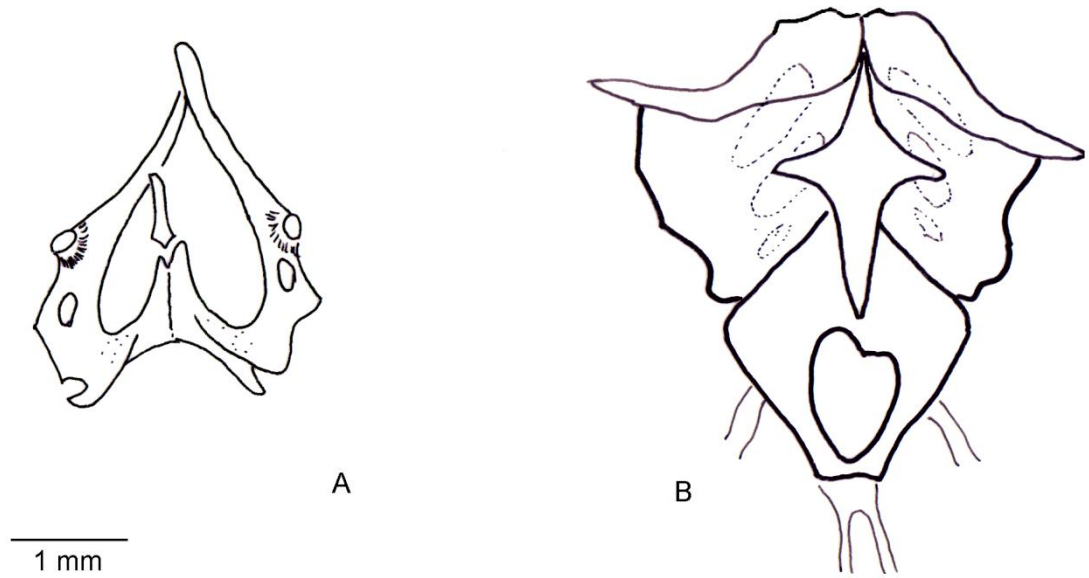


Figura 12 - (a) Cintura pélvica em vista ventral; (b) cintura escapular em vista ventral.

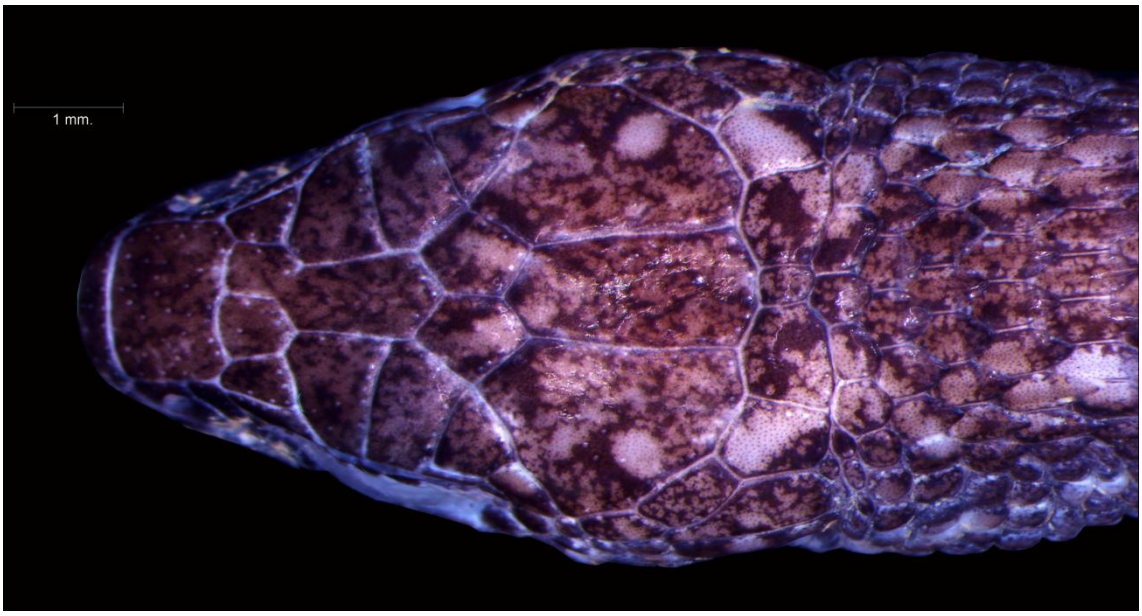


Figura 13 - Espécime pertencente à UTO 1 (MTR 17532 - Marliéria, MG)

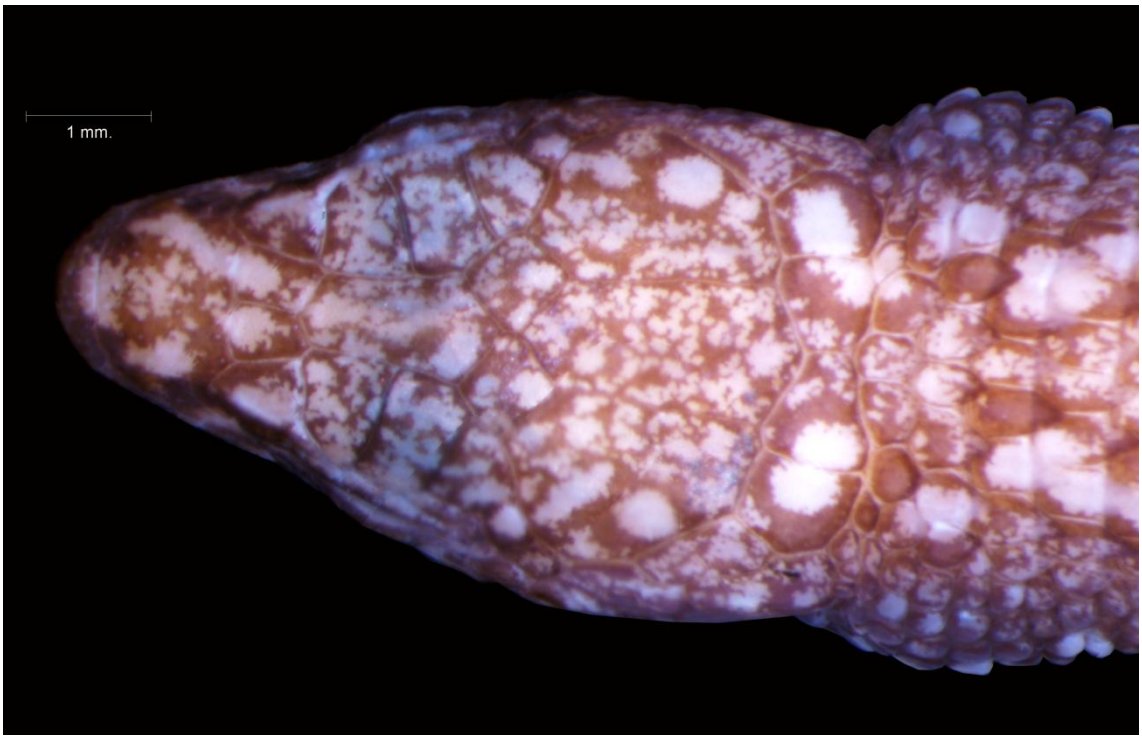


Figura 14 - Espécime pertencente à UTO 1 (NV 07 - Nova Viçosa, BA).

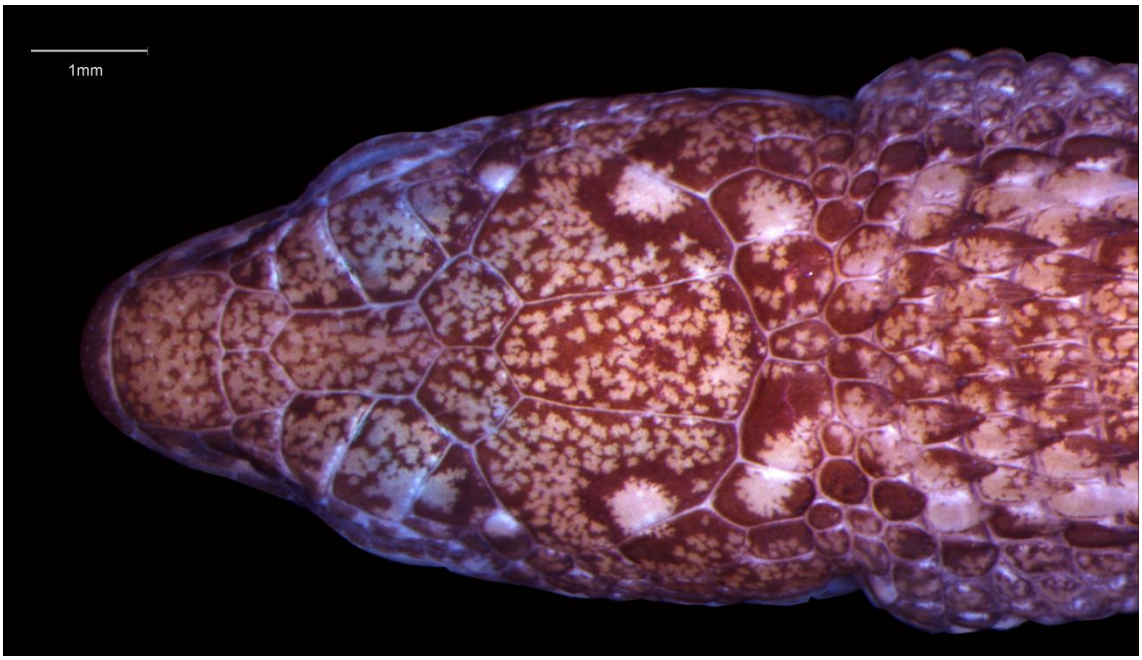


Figura 15 – Espécime pertencente à UTO 1(MZUSP 93438 - Caucaia (Reserva Florestal do Morro Grande), SP).

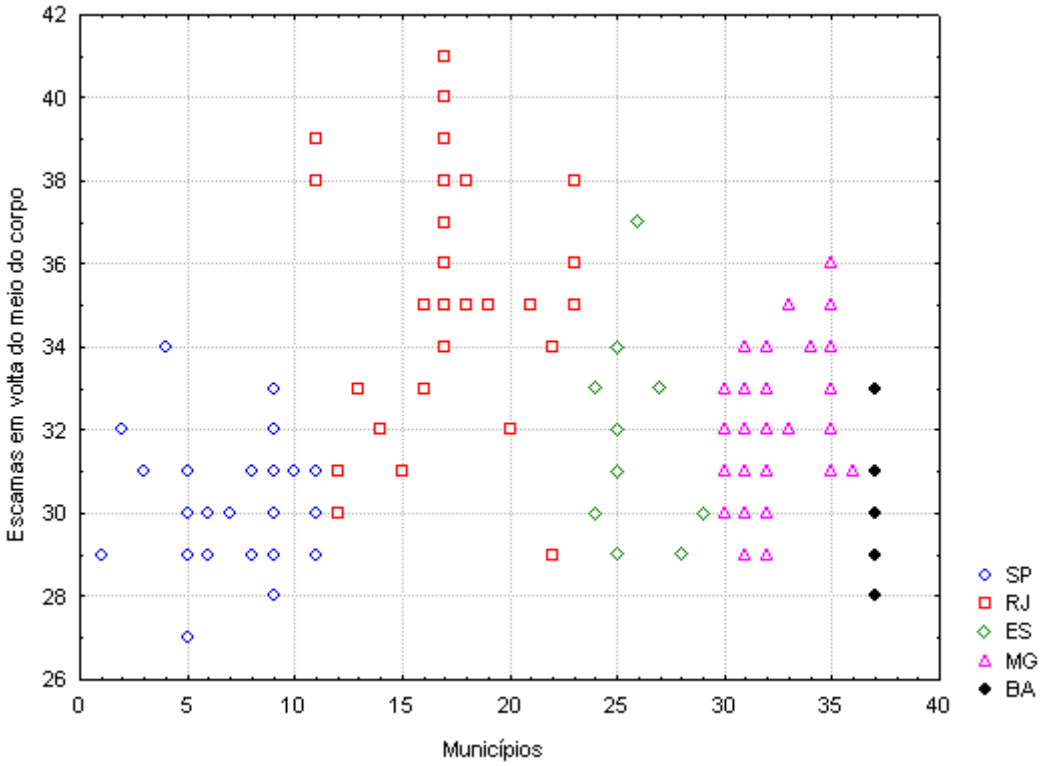


Figura 16 - Variação de escamas da cintura entre os espécimes de *Ecpleopus gaudichaudii,* através da distribuição pelos estados do sudeste e nordeste. Os números no eixo Y representam os seguintes municípios: (1) Ariri, SP; (2) Bertioga, SP; (3) Cananéia, SP; (4) Caraguatatuba; (5) Caucaia, SP; (6) Embu; (7) Peruíbe, SP; (8) Juquitiba, SP; (9) Reserva do Morro Grande, Cotia, SP; (10) São Paulo, SP; (11) Tapiraí, SP; (12) Cambuci, RJ; (13) Campos dos Goytacazes, RJ; (14) Casimiro de Abreu, RJ; (15) Itapeúna, RJ; (16) Macaé, RJ; (17) Mangaratiba, RJ; (18) Niterói, RJ; (19) Nova Iguaçu, RJ; (20) Pinheiral, RJ; (21) Rio das Ostras, RJ; (22) Santa Maria Madalena, RJ; (23) Volta Redonda, RJ; (24) Guarapari, ES; (25) Linhares, ES; (26) Presidente Kennedy, ES; (27) Restinga do Setila, Guarapari; (28) Santa Teresa, ES; (29) Sooretama, ES; (30) Belo Horizonte, MG; (31) Caratinga, MG; (32) Jequitinhonha, MG; (33) Juiz de Fora, MG; (34) Lavras, MG; (35) Marliéria, MG; (36) Viçosa, MG; (37) Nova Viçosa, BA;

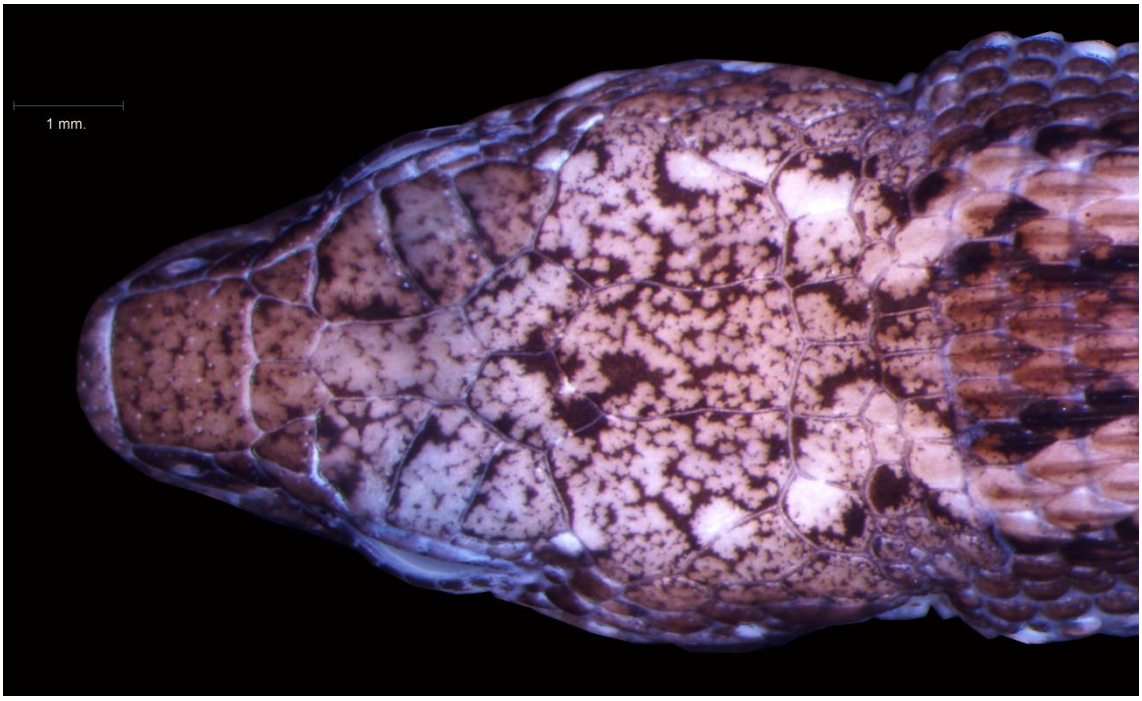


Figura 17 - Espécime pertencente à UTO 2 (Cachoeiras do Macacu, RJ).

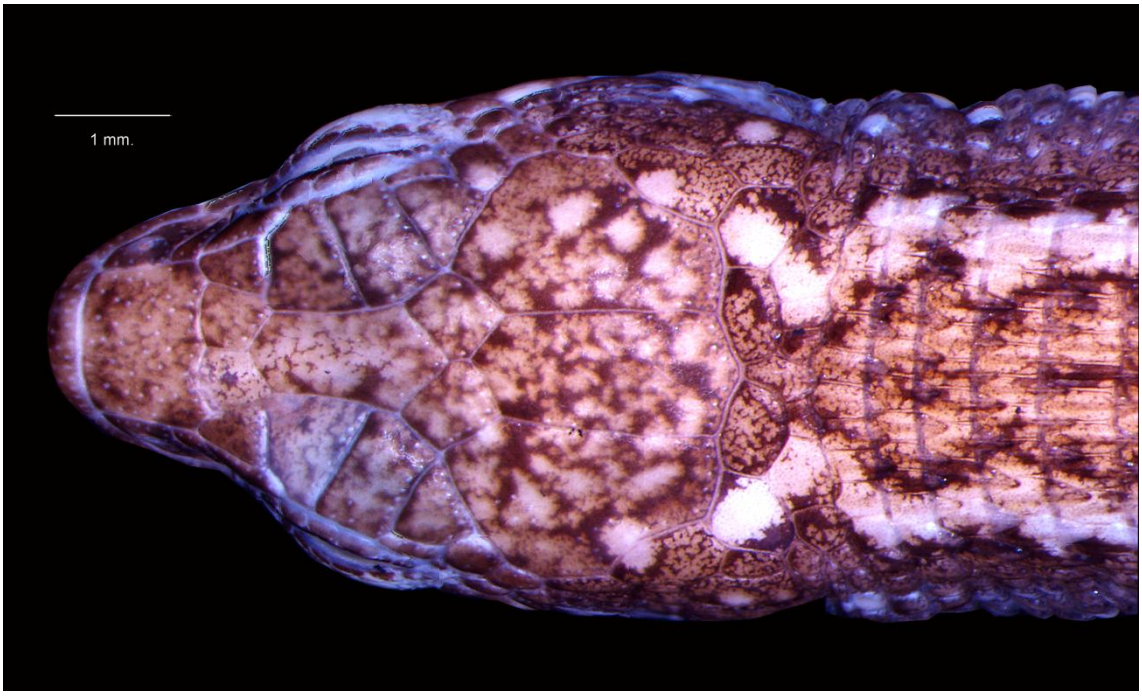


Figura 18 - Espécime pertencente à UTO 2 (RP18 - Mangaratiba, RJ)

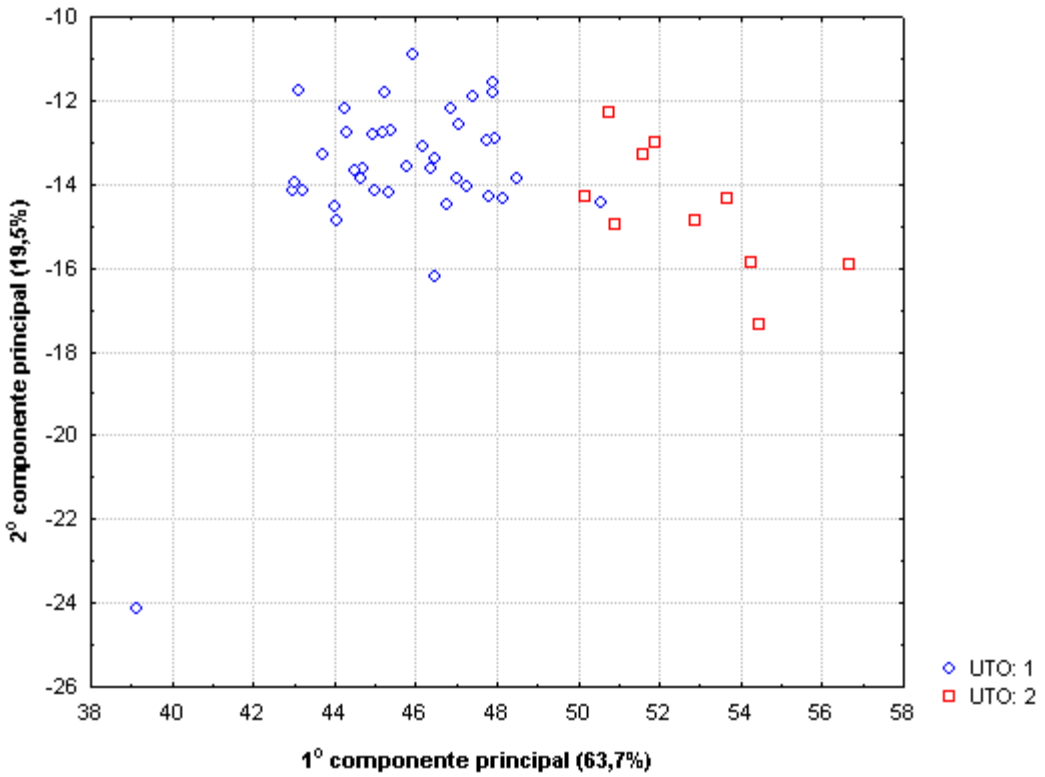


Figura 19 – Análise de componenetes principais comparando os machos das duas UTOs.

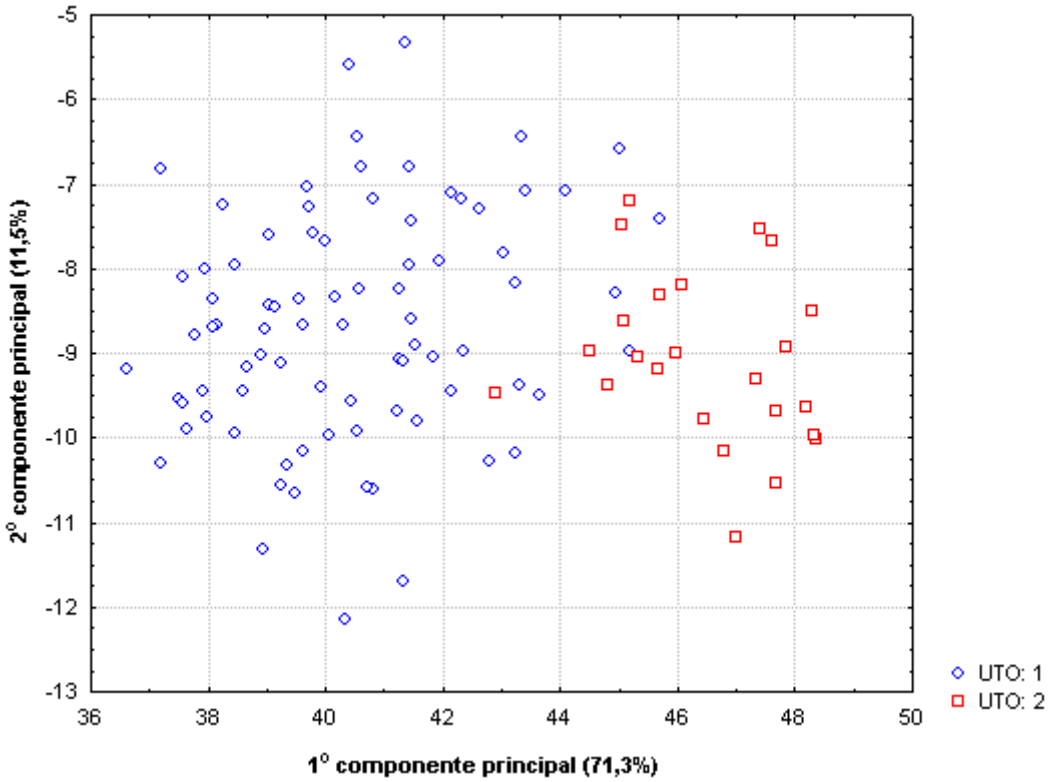


Figura 20 – Análise de componenetes principais comparando as fêmeas das duas UTOs.

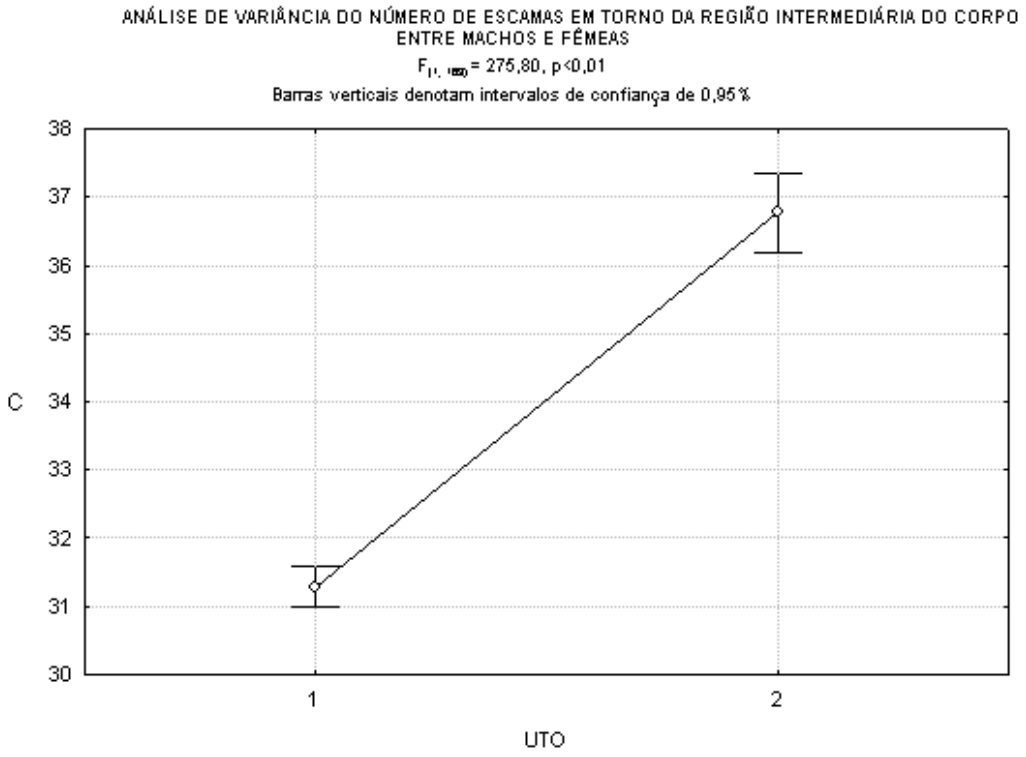


Figura 21 - Média e intervalo de confiança de 95% para o número de escamas da cintura de machos e fêmeas entre as duas UTOs do complexo *Ecpleopus gaudichaudii.*

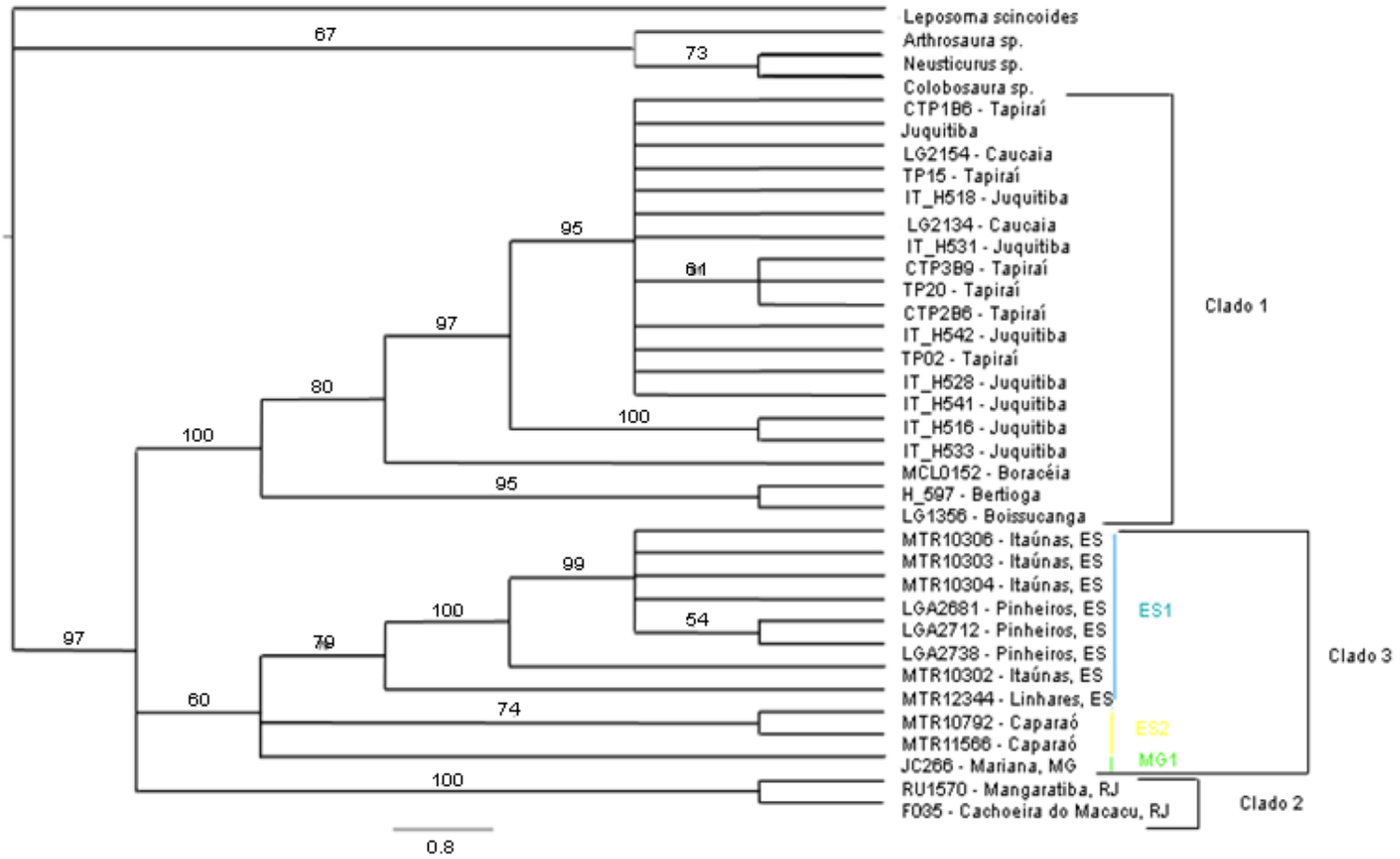


Figura 22 - Reconstrução filogenética obtida por Máxima Parcimônia: árvore de consenso de maioria de 50%, obtida por busca heurística por *branch-swapping* utilizando o algoritmo TBR, com as árvores iniciais obtidas por *stepwise addition* com adição randômica de seqüência; valores de *bootstrap* obtidos com 1000 réplicas apresentados acima dos ramos.

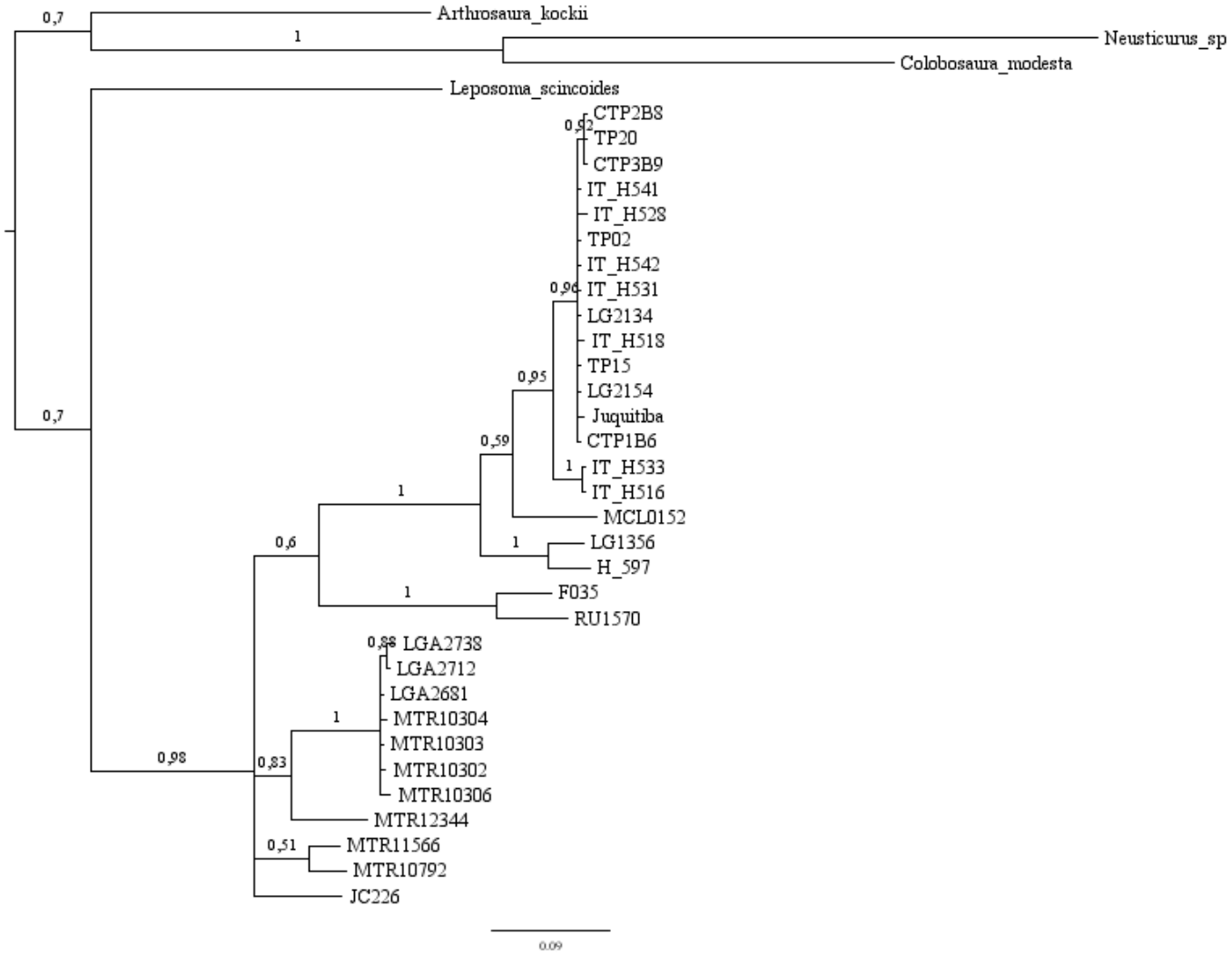


Figura 23 - Reconstrução filogenética obtida por análise Bayesiana: árvore de consenso de maioria de 50%; valores de probabilidade posterior apresentados acima dos ramos.

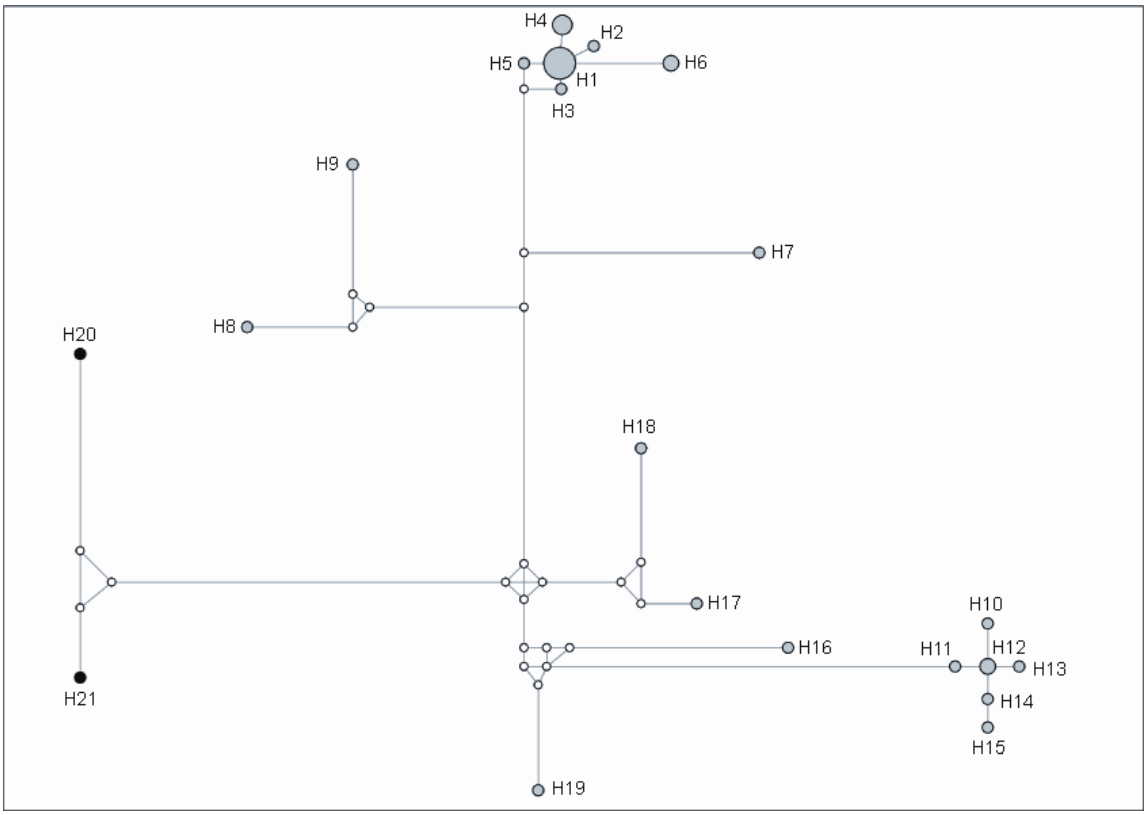


Figura 24 - Rede de haplótipos: clado 1, H1-H9; H10-H19 clado 3; H20-H21 clado 2 H_1: 8 [CTP1B6, LG2154, TP15, LG2134, IT_H531, IT_H542, TP02, IT_H541]; H_2: 1 [Juquitiba]; H_3: 1 [IT_H518]; H_4: 3 [CTP3B9, TP20, CTP2B8]; H_5: 1 [IT_H528]; H_6: 2 [IT_H516, IT_H533]; H_7: 1 [MCL0152]; H_8: 1 [H_597]; H_9: 1 [LG1356]; H_10: 1 [MTR10306]; H_11: 1 [MTR10302]; H_12: 2 [MTR10303, LGA2681]; H_13: 1 [MTR10304]; H_14: 1 [LGA2712]; H_15: 1 [LGA2738]; H_16: 1 [MTR12344]; H_17: 1 [MTR10792]; H_18: 1 [MTR11566]; H_19: 1 [JC226]; H_20: 1 [RU1570]; H_21: 1 [F035]

APÊNDICE

Tabela 1 - Espécimes de *Ecpleopus gaudichaudii* usados no estudo com suas respectivas localidades, coordenadas e altitude média da localidade.

Numero do espécime	Localidade	Coordenadas	Altitude média (m)
MNRJ 16648; MZUSP 98044-46; NV 01, 06, 07, 12, 19, 26, 28, 42, 43, 47, 48	Nova Viçosa, BA	17°54'S, 39°24'W	1
RU 4597; MZUSP 95292, 95593	Fazenda Carvale, Guarapari, ES	20°42'S, 40°30'W	0
MTR 12292, 12344; MZUSP 3202	Linhares, ES	19°41'S, 40°06'W	17
RU 5466	Presidente Kennedy, ES	21°08'S, 41°01'W	55
MZUSP 57251	Santa Teresa, ES	19°55'S, 40°36'W	708
UFMG 323, 796, 810, 870, 987	Belo Horizonte, MG	19°55'S, 43°56'W	875
UFMG 1094-1105, 1856-1861	Caratinga, MG	19°46'S, 42°08'W	900
MTR 17105-06; 17109, 17169, 17225, 17250, 17279-80, 17305, 17375-76, 17389, 17414, 17725	Jequitinhonha, MG	16°43'S, 41°00'W	250
MNRJ 4517	Juiz de Fora, MG	21°45'S, 43°21'W	695
MNRJ 2564	Lavras, MG	21°13'S, 45°00'W	938
MTR: 17532-33, 17589-91, 17748, 17756; UFMG 1659-61, 1663; MZUSP 95867	Marliéria, MG	19°42'S, 42°43'W	500
MNRJ 4516	Viçosa, MG	20°45'S, 42°54'W	654
F035	Cachoeira de Macacu, RJ	22°47'S, 41°54'W	148
RU 4434, 4502	Cambuci, RJ	21°34'S, 41°55'W	115
MNRJ 16433	Campos de Goytacazes, RJ	21°45'S, 41°18'W	1
MNRJ 15429	Casimiro de Abreu, RJ	22°28'S, 42°12'W	88
MNRJ 16368	Itaperuna, RJ	21°12'S, 41°54'W	141
MNRJ 10563, 14551	Macaé, RJ	22°22'S, 41°46'W	1
MNRJ 15262; RP 002, 004-07, 017-19, 021-22; RU 0745,1562,1570, 1620, 2053, 2469, 3350-51, 3360, 3375, 3528-30	Mangaratiba, RJ	22°58'S, 44°03'W	135
MNRJ 17339	Niterói, RJ	22°52'S, 43°05'W	17
MNRJ 16435	Nova Iguaçu, RJ	22°45'S, 43°27'W	120

MZUSP 95158	Pinheiral, RJ	22°30'S, 43°58'W	270
RU 5467	Rio das Ostras, RJ	22°31'S, 41°57'W	0
MZUSP 13320	Rio de Janeiro, RJ	22°54'S, 43°13'W	11
MNRJ 17319	Santa Maria Madalena, RJ	21 °57'S, 42°01'W	660
RU 0825-30	Volta Redonda, RJ	22°31'S, 44°07'W	300
MZUSP 81401	Serra Gigante, Ariri, SP	25°12'S, 48°02'W	25
MZUSP 95773	Praia da Boracéia, Bertioga, SP	23°51'S, 46°09'W	1
MTR 15304	Cananéia, SP	25°01'S, 47°57'W	20
MZUSP 78975	Fazenda Serra do Mar, Caraguatatuba, SP	23°37'S, 45°25'W	50
MZUSP 93427, 93430-61, 95110, 95112-13, 95298-302; MTR 10348, 10350-53; TP 15, 20, 31	Reserva Florestal do Morro Grande, Caucaia, SP	23°41'S, 47°02'W	915
MZUSP 95431, 95480	Embu, SP	23°39'S, 46°51'W	825
MZUSP 95435-36	Juquitiba, SP	23°55'S, 47°04'W	880
MZUSP 79654	Estação Ecológica da Juréia, Peruíbe, SP	24°19'S, 47°00'W	5
MZUSP 1966	São Paulo, SP	23°31'S, 46°25'W	660

1 - Unidades políticas do Brasi (na localidade): BA, Bahia; ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro; SP, São Paulo.
2 – Siglas utilizadas: MNRJ: Museu Nacional do Rio de Janeiro; MZUSP: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; NV: número de campo; RU: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; MTR: número de campo; UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais; F035: número de campo; RP: número de campo; TP: número de campo.

Tabela 2 - amostras de tecidos de *Ecpleopus gaudichaudii* utilizados no estudo com suas respectivas localidades e coordenadas.

Número de Campo	Localidade	Coordenadas
MTR 10302-04, 10306	Parque Estadual de Itaúnas, ES	18°41'S, 39°45'W
LGA 2681, 2712, 2738	Pinheiro, ES	18°24'S, 40°13'W
MTR 12292, 12344	Reserva da Companhia Vale do Rio Doce, Linhares, ES	19°41'S, 40°06'W
MTR 10792, 11566	Córrego do Calçado, PARNA Caparaó, MG	20°53'S, 41°56'W
JC 226	Mariana, MG	20°38'S, 43°41'W
RU 1570	Fazenda Bom Jardim, Mangaratiba, RJ	22°58'S, 44°03'W
F035	Cachoeiras de Macacu, RJ	22°47'S, 41°54'W
LG 2134, 2154	Reserva Florestal do Morro Grande, Caucaia, SP	23 °41'S, 47°02'W
H-597	Bertioga, SP	23 °51'S, 46°09'W
LG 1356	Boissucanga, SP	22 °25'S, 47°39'W
MCL 0152	Boracéia, SP	22 °40'S, 48°45'W
IT-H 0516, 0533, 0542, 0531, 0528, 0541, 0505, 0506, 0518, Alc 87	Juquitiba, SP	23 °55'S, 47°04'W
TP 15, 20, 02; CTP1 B6, CTP2 B8, CTP3 B9	Janzinho, Tapiraí, SP	23 °37'S, 46°56'W

Unidades políticas do Brasi (na localidade): ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro; SP, São Paulo.