

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO
DA NATUREZA

Carolina Lucas de Paiva

**Descrição e análise morfológica dos ossos do crânio em *Amphisbaena arda* e
Amphisbaena vermicularis (Squamata: Amphisbaenidae)**

Juiz de Fora

2024

Carolina Lucas de Paiva

**Descrição e análise morfológica dos ossos do crânio em *Amphisbaena arda* e
Amphisbaena vermicularis (Squamata: Amphisbaenidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação da Natureza. Área de concentração: Comportamento, Ecologia e Sistemática.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Caldeira Costa

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Christy Anna Hipsley

Juiz de Fora

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Paiva, Carolina Lucas de.

Descrição e análise morfológica dos ossos do crânio em *Amphisbaena arda* e *Amphisbaena vermicularis* (Squamata: Amphisbaenidae) / Carolina Lucas de Paiva. -- 2024.

67 p. : il.

Orientador: Henrique Caldeira Costa

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, 2024.

1. Anatomia craniana. 2. Morfometria geométrica. 3. Osteologia. 4. Tomografia computadorizada. I. Costa, Henrique Caldeira, orient. II. Título.

Carolina Lucas de Paiva

"Descrição e análise morfológica dos ossos do crânio em *Amphisbaena arda* e *Amphisbaena vermicularis* (Squamata: Amphisbaenidae)"

Dissertação apresentada ao Programa de Pós graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação da Natureza. Área de concentração: Comportamento, Ecologia e Sistemática

Aprovada em 22 de fevereiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Henrique Caldeira Costa - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Christy Anna Hipsley

University of Copenhagen

Profa. Dra. Angele dos Reis Martins

Universidade de Brasília

Profa. Dra. Ximena Maria Constanza Ovando

Autônoma

Juiz de Fora, 05/08/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Ximena Maria Constanza Ovando, Usuário Externo**, em 05/08/2024, às 09:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Henrique Caldeira Costa, Professor(a)**, em 05/08/2024, às 11:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Angele dos Reis Martins, Usuário Externo**, em 05/08/2024, às 12:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Christy Hipsley, Usuário Externo**, em 06/08/2024, às 08:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1901192** e o código CRC **63624950**.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Patrícia Paiva e Leudes Gonzaga, à minha avó Glorinha e à minha irmã Camilla, minha gratidão é imensurável. Obrigada por nunca deixarem de acreditar em mim, mesmo quando eu mesma duvidava. O apoio incondicional, amor e encorajamento de vocês foram alicerces fundamentais ao longo desta jornada acadêmica, me permitindo chegar aonde estou hoje. Nos momentos de incerteza, vocês sempre estiveram ao meu lado, me impulsionando a seguir em frente. Cada conquista alcançada é reflexo do apoio e dos valores que me transmitiram. Agradeço por serem minha fonte de inspiração, meu porto seguro, por estarem sempre presentes e por me darem forças para superar os desafios, compreendendo os momentos de ausência e ansiedade. Ao Toby, meu eterno companheirinho, é impossível não mencioná-lo aqui, que esteve ao meu lado até alguns dias antes do resultado oficial da minha aprovação no mestrado. Tobynho, você permanecerá sempre presente em minhas memórias e no meu coração. Agradeço por sempre transmitir paz e serenidade, agora no céu dos cachorrinhos, de alguma forma, estaremos sempre juntos.

Ao meu namorado, Vitor Hugo Nascimento, que mesmo chegando na minha vida ao final deste caminho desafiador da dissertação, foi o meu apoio constante. Sua compreensão, paciência e incentivo foram a luz nos dias mais sombrios. Obrigada por estar ao meu lado e por celebrar minhas conquistas como se fossem suas. Sua presença trouxe equilíbrio e conforto, tornando esta jornada mais leve e gratificante.

Ao meu orientador, Henrique Caldeira Costa, agradeço imensamente por ter acreditado em mim desde a minha graduação, ao perceber minha paixão pela anatomia e morfologia, me fazendo apaixonar pelos répteis mais fantásticos e curiosos, as anfisbêneas. Agradeço pela inspiração, pelas conversas enriquecedoras, pela confiança que depositou em mim e pelo estímulo contínuo para alcançar voos mais altos. Seu comprometimento foi fundamental para que eu pudesse estar aqui hoje. Obrigada por ser mais que um orientador, por ser um verdadeiro mentor e amigo ao longo desta jornada acadêmica.

À minha coorientadora, Christy Anna Hipsley, sua prontidão para ajudar à distância devido ao fuso horário, sua dedicação na orientação e sua constante parceria foram pilares essenciais para o sucesso deste trabalho. Seus ensinamentos, colaboração e contribuições foram inestimáveis, enriquecendo minha jornada acadêmica e reforçando ainda mais o meu amor pela morfologia e anatomia.

Expresso minha gratidão a toda a equipe do Laboratório de Herpetologia da UFJF, pela parceria, apoio constante e incentivo ao longo dessa jornada. Em especial, meu

agradecimento à Nathália Honório, Henrique Oliveira, Renato Garcia e Tatiane Ladeira (nossa membra honorária e Mão do Rei), pela confiança, amizade sincera e pelas conversas diárias. Vocês foram fundamentais para tornar esta jornada mais leve e enriquecedora. Agradeço a todos pela troca de conhecimento e pela atmosfera colaborativa que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos, em especial às amigas de longa data Rita Augusta e Larissa Theodoro, e aos grandes companheiros de jornada na biologia Cássio Magno, Leslie Altomari e Amanda Janiques, cuja amizade ilumina os dias mais sombrios. Agradeço por trazerem leveza aos dias difíceis e por acreditarem em mim mesmo nos momentos mais desafiadores da vida. Vocês são verdadeiros suportes em momentos de turbulência, desde conversas profundas até brincadeiras descontraídas (e expressei minha gratidão por tolerarem minhas longas conversas sobre as anfisbêneas).

A todos os integrantes do Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Prof. Dr. Renato Feio e aos amigos Letícia Fraga e Leandro Oliveira, pela acolhida afetuosa durante as disciplinas que frequentei como discente externa na UFV. Agradeço o companheirismo, por terem me recebido de braços abertos na cidade e por compartilharmos experiências incríveis no mundo herpetológico e além dele.

Ao Prof. Dr. Hussam Zaher, do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, pelo empréstimo do holótipo de *Amphisbaena arda* e pela parceria no primeiro capítulo desta dissertação. Ao Prof. Dr. Johannes Müller, do *Museum für Naturkunde – Berlin*, pela parceria e contribuição no primeiro capítulo desta dissertação. Ao Prof. Dr. Leonardo Carvalho pelo empréstimo dos espécimes de *Amphisbaena vermicularis*, depositados na Coleção de História Natural da Universidade Federal do Piauí, utilizados neste trabalho.

Aos docentes, secretárias e coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza – UFJF, por todo o apoio necessário ao longo do mestrado e pela dedicação em garantir a excelência contínua do PPG.

À Universidade Federal de Juiz de Fora por todo o suporte oferecido.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado, permitindo a dedicação integral a este trabalho.

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta dissertação. Seja por meio de apoio acadêmico, incentivo moral, compartilhamento de conhecimento ou qualquer forma de suporte, cada um de vocês teve um papel fundamental neste trabalho. Obrigada!

*"Como uma cientista mulher, eu ainda sou incomum,
mas em meu coração eu nunca fui outra coisa."
Hope Jahren*

RESUMO

As anfisbênias (*Amphisbaenia*) são répteis fossoriais com um crânio robusto e ossificado, ideal para a realização de movimentos que auxiliam na escavação do solo em diferentes níveis de compactação, formando galerias subterrâneas. As *Amphisbaenia* são um dos táxons menos estudados do clado Squamata. Como consequência, muitas descrições anatômicas estão restritas à morfologia externa, limitando o entendimento sobre a sua evolução e adaptações. Este é o caso das espécies *Amphisbaena vermicularis* e *Amphisbaena arda*, similares externamente, mas cuja morfologia craniana é pouco (*A. vermicularis*) ou nada conhecida (*A. arda*). *Amphisbaena vermicularis* ocorre ao longo da diagonal de áreas abertas no Brasil e Bolívia. Já *A. arda* é conhecida unicamente por seu holótipo, coletado nas paleodunas do Rio São Francisco, Bahia, Brasil. Utilizando tomografias computadorizadas em três dimensões (*CT-scan*), este estudo teve como objetivo a investigação da osteologia craniana de *A. arda* e *A. vermicularis*. No primeiro capítulo, descrevemos os ossos do crânio das duas espécies e avaliamos se a sua morfologia craniana difere. Nossos achados revelaram algumas diferenças entre as espécies, especialmente na crista sagital do osso parietal, no processo ascendente e na crista occipital transversal do complexo occipital. Também encontramos variação intraespecífica em *A. vermicularis*, com espécimes exibindo ossos cuja morfologia diferia de seus similares, mas não de *A. arda*. Essa variação intraespecífica em *A. vermicularis* não pode ser atribuída às características do solo, pois os espécimes estudados são da mesma localidade. O tamanho do espécime e as características do solo podem influenciar nas diferenças observadas entre *A. arda* e *A. vermicularis*, visto que o único exemplar de *A. arda* foi o maior da amostra, e o tipo do solo varia entre os locais de coleta das duas espécies. No segundo capítulo, testamos a existência de dimorfismo sexual na forma do crânio de *Amphisbaena vermicularis*. Nossos resultados revelam que não há evidências de dimorfismo sexual no crânio, pois tanto machos quanto fêmeas de *Amphisbaena vermicularis* aqui estudados apresentaram sobreposição na forma, apesar da tendência dos machos em possuírem crânios ligeiramente maiores e mais estreitos. Entretanto, foram observadas diferenças na forma dos crânios entre as populações. Analisando nossos resultados, constatamos que a estrutura óssea craniana de *A. vermicularis* é altamente preservada, com a maior parte das alterações acontecendo nos segmentos anterior e intermediário do crânio.

Palavras-chave: Anatomia craniana. Morfometria geométrica. Osteologia. Tomografia computadorizada.

ABSTRACT

Amphisbaenians (Amphisbaenia) are fossorial reptiles with a robust, ossified skull, ideal for making movements that help them excavate the ground at different levels of compaction while forming their underground galleries. Amphisbaenia are one of the least studied clades in the order Squamata. As a result, many anatomical descriptions are restricted to external morphology, limiting understanding of their evolution and adaptations. This is the case of the amphisbaenid species *Amphisbaena vermicularis* and *Amphisbaena arda*, which are similar externally, but whose cranial morphology is little known (*A. vermicularis*) or completely undescribed (*A. arda*). *Amphisbaena vermicularis* occurs along the diagonal of open areas in Brazil and Bolivia, while *A. arda* is known only from its holotype, collected in the paleodunes of the São Francisco River, Bahia, Brazil. Using three-dimensional computed tomography (CT) scans, this study aimed to investigate the cranial osteology of *A. arda* and *A. vermicularis*. In the first chapter, we described the skull bones of the two species and assess whether their cranial morphology differs. Our findings revealed some differences between the species, especially in the sagittal crest of the parietal bone, the ascending process and the transverse occipital crest of the occipital complex. We also found intraspecific variation in *A. vermicularis*, with specimens showing bones whose morphology differed from their conspecifics, but not from *A. arda*. This intraspecific variation in *A. vermicularis* cannot be attributed to soil characteristics, as the specimens studied are from the same locality. The size of the specimens and the characteristics of the soil may influence the differences observed between *A. arda* and *A. vermicularis*, since the only specimen of *A. arda* was the largest in the sample, and the type of soil varies between the collection sites of the two species. In the second chapter, we tested the existence of sexual dimorphism in the shape of the skull of *Amphisbaena vermicularis*. Our results revealed no evidence of sexual dimorphism in the skull, as both males and females of *Amphisbaena vermicularis* studied here showed overlap in shape, despite the tendency of males to have slightly larger and narrower skulls. However, differences in skull shape were observed between populations. We conclude that the cranial bone structure of *A. vermicularis* is highly preserved, with most of the changes occurring in the anterior and middle segments of the skull.

Keywords: Computerized tomography. Cranial anatomy. Geometric morphometry. Osteology.

RESUMO PARA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

As anfisbêneas, popularmente conhecidas como cobras-de-duas-cabeças, são répteis especializados em ambientes subterrâneos, apresentando um corpo cilíndrico, perda de membros locomotores e um crânio rígido adaptado para escavação. As anfisbêneas pertencem ao grupo dos Squamata, que inclui serpentes e lagartos, as anfisbêneas permanecem pouco exploradas cientificamente, com estudos limitados sobre sua evolução e adaptações. Este é o caso de duas espécies, *Amphisbaena vermicularis* e *Amphisbaena arda*, com uma morfologia externa semelhante, mas o crânio da *A. vermicularis* foi pouco estudado e enquanto o da *A. arda* é praticamente desconhecido. A *Amphisbaena vermicularis* é encontrada em áreas abertas no Brasil e Bolívia, já *A. arda* foi coletada nas paleodunas do Rio São Francisco, Bahia, Brasil e é conhecida unicamente pelo seu holótipo, exemplar único usado para descrever e nomear uma nova espécie. Através da utilização de tomografias computadorizadas em três dimensões, este estudo teve como objetivo examinar os ossos do crânio de *A. arda* e *A. vermicularis*. No primeiro capítulo da dissertação, descrevemos os ossos do crânio das duas espécies e realizamos uma comparação entre os ossos descritos para avaliar se a morfologia craniana apresenta diferenças. Com base em nossos resultados, identificamos diferenças interespecíficas, entre espécies distintas, e também diferenças intraespecíficas, dentro da mesma espécie. O tamanho dos animais e as características do solo onde foram encontradas podem influenciar nas diferenças observadas entre *A. arda* e *A. vermicularis* e o tipo do solo é diferente entre os locais de coleta das duas espécies. Já no segundo capítulo, testamos a existência de dimorfismo sexual, diferenças entre sexos, no crânio de *Amphisbaena vermicularis*. Nossos resultados revelaram que não existe dimorfismo sexual no crânio, apesar dos machos possuírem a tendência em apresentarem crânios maiores e mais estreitos do que as fêmeas, mas existem diferenças na forma dos crânios entre as populações. Com base em nossos resultados, constatamos que a estrutura óssea craniana de *A. vermicularis* é altamente preservada, com a maior parte das alterações acontecendo nos segmentos anterior e intermediário do crânio. Este estudo fornece novas informações sobre a morfologia e variações cranianas em anfisbêneas, destacando a necessidade de pesquisas adicionais para compreender melhor a evolução e as adaptações desses fascinantes répteis subterrâneos.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Tomografia computadorizada em 3D do crânio de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 - holótipo) em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista lateral esquerda, (D) vista anterior e (E) vista posterior. Barra de escala = 2 mm. Abreviações: co, complexo occipital; coc, côndilo occipital; cp, crista parietal; cs, crista sagital do parietal; cro, crista occipital; e, estribo; ecp, ectopterigóide; exc, extracolumela; f, frontal; m, maxila; n, nasal; oe, orbitoesfenoide (= tabuloesfenoide de Gans & Montero, 2008); oj, forame para o órgão de Jacobson; p, parietal; pal, palatino; pbs*, parabasisfenoide (fundido ao complexo occipital); pa, processo ascendente; pf, pré-frontal; pm, pré-maxila; pn, processo nasal; pt, pterigoide; q, quadrado; sm, septomaxila; v, vômer; x, elemento-x. A septomaxila não é visível, pois está localizada na cavidade nasal.....17

Figura 2 – Tomografia computadorizada em 3D das mandíbulas de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 - holótipo) em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista anterior, (D) vista posterior e (E) vista lateral esquerda. Barra de escala = 2 mm. Abreviações: a*, angular (fundido ao osso composto); c, coronóide; d, dentário; oc, osso composto; pa, processo anteroventral; pad, processo anterodorsal; ppv, processo posteroventral; pta, ponta anterior; sm, sulco de Meckel.....18

Figura 3 – Tomografia computadorizada em 3D do crânio de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 - holótipo) ao longo dos eixos (A) sagital, (B) dorsal e (C) ventral. Barra de escala = 2 mm. Abreviações: pao, processo alar do proótico; ecp, ectopetygoid; exc, extracolumella; f, frontal; cl, canal longitudinal; m, maxila; n, nasal; co, complexo occipital; oco, côndilo occipital; oe, osbitosphenoid (=tabuloesfenoide de Gans & Montero, 2008); cpo, cápsula ótica; pal, palatino; p, parietal; pf, pré-frontal; pm, pré-maxila; pbs, parabasisfenoide; pt, pterigoide; q, quadrado; csc, canais semicirculares; sm, septomaxila; est, massa estatolítica; v, vômer.....19

Figura 4 – A-F Crânio articulado de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 – holótipo – em azul) em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista lateral direita, (D) vista lateral esquerda, (E) vista anterior e (F) vista posterior. G-L Crânio articulado de fêmea de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0790 – em rosa) em (G) vista dorsal, (H) vista ventral, (I) vista lateral direita, (J) vista lateral esquerda, (K) vista anterior e (L) vista posterior. Barra de escala

= 1 mm. Consulte as Figuras 1, 2 e 3 para os ossos identificados.....20

Figura 5 – A-F Crânio articulado de macho de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0791 – em verde) em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista lateral direita, (D) vista lateral esquerda, (E) vista anterior e (F) vista posterior. G-L Crânio articulado de macho de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0792 – em amarelo) em (G) vista dorsal, (H) vista ventral, (I) vista lateral direita, (J) vista lateral esquerda, (K) vista anterior e (L) vista posterior. Barra de escala = 1 mm. Consulte as Figuras 1, 2 e 3 para os ossos identificados.....21

Figura 6 – Mandíbulas em vistas dorsal (A, G, M, S), ventral (B, H, N, T), lateral direita (C, I, O, U), lateral esquerda (D, J, P, V), anterior (E, K, Q, W) e posterior (F, L, R, X). A-F, *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638). G-L, fêmea de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0790 – em rosa). M-R, macho de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0791 – em amarelo). S-X, macho de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0792 – em verde). Barra de escala = 1 mm. Consulte a Figura 2 para a identificação dos ossos.....22

Figura 7 – Tomografia computadorizada em 3D do crânio de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 - holótipo), uma fêmea (CHUFPI 0790) e dois machos (CHUFPI 0791 e CHUFPI 0792) de *A. vermicularis* ao longo dos eixos sagital (A, D, G, J), dorsal (B, E, H, K) e ventral (C, F, I, L). Barra de escala = 1 mm. Consulte as Figs. 1, 2 e 3 para ver os ossos rotulados.....23

Figura 8 – Localidades de coleta dos espécimes de *Amphisbaena vermicularis* usados neste estudo. Cada ponto preto representa uma população: 1, Batalha; 2, José de Freitas; 3, Altos; 4, Teresina; 5, Timon; 6, Guadalupe; 7, Guaribas. Abreviações: BA, Bahia; CE, Ceará; MA, Maranhão; PE, Pernambuco; PI, Piauí. O mapa foi gerado no software QGis versão 3.30.2.....42

Figura 9 – Localizações dos marcos anatômicos de referência (*landmarks*) no crânio de *Amphisbaena vermicularis* em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista lateral esquerda, (D) vista anterior e (E) vista posterior. Barra de escala = 1 mm. Os círculos vazios

representam marcos de referência fixos e os círculos preenchidos representam semilandmarks deslizantes das curvas.....44

Figura 10 – Diagramas de caixa (*box plots*) apresentando a variação do comprimento rostro-cloacal (CRC) entre as populações de *Amphisbaena vermicularis*. Os pontos representam indivíduos.....47

Figura 11 – Relação entre a forma do crânio e o tamanho do centroide. Os pontos coloridos representam indivíduos de diferentes localidades, com as fêmeas demonstradas em círculos e os machos em triângulos. As formas cranianas nos extremos de menor e maior tamanho são mostradas ao longo do eixo x nas vistas dorsal (superior) e lateral esquerda (inferior).....48

Figura 12 – Gráfico de dispersão do primeiro par de componentes principais (PC1 vs. PC2), ilustrando a variação morfológica no crânio de *Amphisbaena vermicularis*. Os pontos coloridos representam indivíduos de diferentes localidades, com as fêmeas mostradas em círculos e os machos em triângulos. As formas cranianas nos extremos de cada eixo são mostradas por *wireframes* de marcos de referência em vistas dorsal e lateral. Nos *wireframes*, as linhas cinzas refletem a forma média, enquanto as variações ao longo do eixo são destacadas em azul.....49

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Diferenças observadas na osteologia craniana entre *Amphisbaena arda* (a) e três espécimes de *Amphisbaena vermicularis* (vf [fêmea], vm1 [macho 1] e vm2 [macho 2]).....31
- Tabela 2 – Informações sobre os espécimes de *Amphisbaena vermicularis* utilizados neste estudo. Abreviações: F, fêmea; M, macho; CRC, comprimento rostro-cloacal; MA, Maranhão; PI, Piauí.....43
- Tabela 3 – Descrição dos locais dos marcos de referência (*landmarks*). Os marcos de referência 45 a 61 representam curvas, com marcos de referência deslizantes.....45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	Três dimensões ou tridimensional
<i>A. arda</i>	<i>Amphisbaena arda</i>
<i>A. vermicularis</i>	<i>Amphisbaena vermicularis</i>
ANOVA	Análise de Variância
CHNUFPI	Coleção de História Natural da Universidade Federal do Piauí
CRC	Comprimento rostro-cloacal
CT-scan	Tomografia computadorizada
F	Estatística F
kV	Kilovolt
mm	Milímetros
MZUSP	Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo
p	Valor-p
PC	Componentes Principais
PCA	Análise de Componentes Principais
ply	Polygon File Format
s	Segundos
μ A	Microampère
μ m	Micrômetro

LISTA DE SÍMBOLOS

=	Igual
<	Menor
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. CAPÍTULO 1: OSTEOLOGIA CRANIANA COMPARATIVA DE <i>AMPHISBAENA ARDA</i> E <i>AMPHISBAENA VERMICULARIS</i> (SQUAMATA: AMPHISBAENIDAE).....	15
2.1 INTRODUÇÃO.....	15
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.3 RESULTADOS.....	24
2.3.1 Descrição do crânio e da mandíbula de <i>Amphisbaena arda</i> (holótipo, MZUSP 91638) (Fig. 4; Fig. 6; Fig. 7) e <i>A. vermicularis</i> (CHNUFPI 0790, CHNUFPI 0791, CHNUFPI 0792) (Fig. 3; Fig. 4; Fig. 5).....	24
2.3.2 Comparação da osteologia craniana entre <i>Amphisbaena arda</i> e <i>A. vermicularis</i> e variação intraespecífica em <i>A. vermicularis</i>.....	31
2.4 DISCUSSÃO.....	32
2.5 CONCLUSÃO.....	34
2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
3. CAPÍTULO 2: VARIAÇÃO CRANIANA INTRAESPECÍFICA EM UMA <i>ANFISBÊNIA SUL-AMERICANA</i>, <i>AMPHISBAENA VERMICULARIS</i> (SQUAMATA: AMPHISBAENIDAE).....	40
3.1 INTRODUÇÃO.....	40
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.2.1 Coleta de dados.....	41
3.2.2 Análises de morfometria geométrica.....	46
3.3 RESULTADOS.....	46
3.4 DISCUSSÃO.....	50
3.5 CONCLUSÃO.....	52
3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

1. INTRODUÇÃO GERAL

Considerado uma das estruturas mais enigmáticas e intrigantes da anatomia dos vertebrados, o crânio se apresenta filogeneticamente diverso, com uma grande heterogeneidade morfológica (Fish, 2019; Hanken & Thorogood, 1993). No decorrer da evolução, o crânio dos vertebrados foi modificado para atender às necessidades específicas de cada organismo, isto é, o crânio de uma determinada espécie está sujeito a pressões seletivas que podem variar de acordo com seu hábitat, locomoção, dieta e filogenia (Baab *et al.*, 2014; Dumont *et al.*, 2016; Herrel *et al.*, 2001). Este é o caso das anfisbênias (Amphisbaenia), popularmente conhecidas como cobra-de-duas-cabeças. Evolutivamente, o grupo passou por modificações no crânio como adaptação ao hábito fossorial, que dificulta sua amostragem e torna Amphisbaenia um dos grupos menos estudados entre os répteis Squamata (que também incluem lagartos e serpentes) (Andrade *et al.*, 2006; Navega-Gonçalves, 2009). Atualmente são conhecidas 201 espécies do grupo, distribuídas em seis famílias, sendo Amphisbaenidae a mais diversa, com 183 espécies, das quais 81 são listadas para o Brasil (Guedes *et al.*, 2023; Uetz *et al.*, 2023).

As anfisbênias se caracterizam pela utilização da cabeça na escavação do solo, apresentando um corpo cilíndrico e alongado, com tegumento formado por anéis de escamas, olhos reduzidos e ausência de membros locomotores (Costa & Garcia, 2019; Gans, 1974, 1978). O crânio robusto e altamente ossificado é uma das características mais marcantes desses animais, resultado das intensas pressões seletivas do solo sobre suas cabeças (Gans & Montero, 2008). Essa estrutura está diretamente ligada à capacidade de escavação, exercendo uma influência ecológica importante no nicho das espécies (Gans, 1974; Kearney, 2003; Navas *et al.*, 2004). Os diferentes formatos de cabeça das anfisbênias estão associados à forma do crânio, podendo ser classificados em quatro morfotipos: redondo, quilha, cunha e pá (Gans, 1968; Kearney, 2003). As formas das cabeças têm implicações funcionais na escavação, compactação do solo e na profundidade alcançada pelas espécies (Gans, 1968; Navega-Gonçalves & Benites, 2019). Anfisbênias com focinho arredondado, grupo mais diversificado, têm uma cabeça adequada para diferentes tipos de solo, embora alcancem menos profundidade, vivendo próximo à superfície (Gans, 1990; Gans & Montero, 2008; Vidal *et al.*, 2008). Já as espécies com cabeça em forma de pá, quilha e cunha atingem maiores profundidades e habitam solos mais compactados (Gans, 1969, 1974, 1990).

A morfologia craniana desempenha papel crucial na classificação taxonômica de famílias e gêneros de Amphisbaenia. Porém, tradicionalmente, a morfologia externa foi

priorizada em estudos de taxonomia de espécies, com pouca ênfase na descrição do crânio. No entanto, houve uma mudança nesse panorama, impulsionada pela adoção de tecnologias como a tomografia computadorizada (*CT-scan*). Uma vez que a maioria das espécies de *Amphisbaenia* é conhecida por poucos exemplares (Gans, 2005), o *CT-scan* permite a desarticulação digital sem danificar o espécime e fornece imagens de alta qualidade, superando algumas limitações associadas à preparação e análise morfológica do crânio (por exemplo, Dal Vechio *et al.*, 2016; Hipsley *et al.*, 2016; Teixeira Junior *et al.*, 2019). Essa inovação permitiu uma análise mais abrangente e detalhada do crânio, promovendo uma compreensão mais aprofundada das características anatômicas e facilitando avanços na taxonomia (por exemplo, Bolet *et al.*, 2014; Dal Vechio *et al.*, 2016; Hipsley *et al.*, 2016).

O Brasil, apesar de liderar em número de espécies de anfisbênias, apresenta uma escassez de descrições e estudos detalhados dos crânios desse grupo (veja Dal Vechio *et al.*, 2016; Gans & Montero, 2008; Montero & Gans, 1999; Ribeiro *et al.*, 2015; Vieira *et al.*, 1980). Isso resulta em muitas descrições anatômicas focadas apenas na morfologia externa, o que restringe nossa compreensão sobre a evolução e as adaptações desses táxons. Este é o caso de duas espécies semelhantes externamente, *Amphisbaena vermicularis* Wagler, 1824 e *Amphisbaena arda* Rodrigues, 2003 “2002”. *Amphisbaena vermicularis* é comumente encontrada ao longo das áreas abertas da América do Sul, no Brasil e na Bolívia, enquanto *A. arda* é conhecida apenas pelo holótipo coletado às margens do Rio São Francisco, povoado de Mocambo do Vento, município de Barra, Bahia (Guedes, Costa, & Moura, 2020; Rodrigues, 2003). A área de coleta do espécime de *A. arda* está sofrendo uma perda progressiva de habitat, levando o Ministério do Meio Ambiente do Brasil a classificar essa espécie como "em perigo" (ICMBio, 2018; MMA, 2022). As variações morfológicas externas entre as duas espécies são sutis, associadas principalmente ao padrão de cor. Além disso, a descrição de *A. arda* sugere diferenças miológicas e osteológicas em relação a *A. vermicularis* a partir do formato das escamas cefálicas (Rodrigues, 2003). Nesta dissertação, propomos a descrição e análise detalhada da osteologia craniana de *A. vermicularis* e *A. arda*, com os objetivos de: (i) avaliar se a morfologia craniana difere entre as espécies – Cap. 1: Osteologia craniana comparativa de *Amphisbaena arda* e *Amphisbaena vermicularis* (Squamata: Amphisbaenidae); (ii) testar se existe dimorfismo sexual na forma do crânio de *Amphisbaena vermicularis*, um indicativo de diferenças na capacidade de escavação e o uso de diferentes estratos do subsolo entre machos e fêmeas – Capítulo 2: Variação craniana intraespecífica em uma anfisbênia sul-americana, *Amphisbaena vermicularis* (Squamata: Amphisbaenidae).

2. CAPÍTULO 1: OSTEOLOGIA CRANIANA COMPARATIVA DE *AMPHISBAENA ARDA* E *AMPHISBAENA VERMICULARIS* (SQUAMATA: AMPHISBAENIDAE)¹

2.1 INTRODUÇÃO

As anfisbênias (*Amphisbaenia*) são répteis do clado Squamata que vivem no subsolo, desprovidos de membros e apresentando um crânio robusto e altamente ossificado, especializado para escavação do solo (Gans, 1974; Kearney, 2003). Diferentes formas de crânio evoluíram entre as 200 espécies de *Amphisbaenia* atualmente conhecidas (Gans, 1978; Uetz *et al.*, 2022), sujeitas a fortes pressões seletivas e convergência fenotípica (Gans, 1968; Kazi & Hipsley, 2018; Mott & Vieites, 2009). A anatomia do crânio é, portanto, de grande importância na sistemática das anfisbênias (Kearney, 2003; Montero & Gans, 1999), mas ainda é pouco explorada, provavelmente devido a seus tamanhos diminutos (comprimentos de crânio tipicamente < 2 cm) e à escassez de espécimes para a maioria das espécies. Avanços recentes em tecnologia, como a tomografia computadorizada (*CT-scan*) de raios X, reduzem algumas desvantagens relacionadas à preparação e à descrição da anatomia do crânio desses táxons (por exemplo, Dal Vechio *et al.*, 2016; Hipsley *et al.*, 2016; Kearney *et al.*, 2005; Maisano *et al.*, 2006; Teixeira Junior *et al.*, 2019), embora informações básicas sobre a morfologia do crânio ainda não tenham sido descritas para muitas espécies de anfisbênias (Gans & Montero, 2008), bem como a variação interespecífica e intraespecífica (Villa *et al.*, 2019). Como a morfologia do crânio das anfisbênias tem um impacto direto em sua capacidade de escavação, que, por sua vez, influencia seu nicho (Navas *et al.*, 2004), descrever a anatomia dos crânios de anfisbênias é fundamental para entender sua evolução, sistemática e ecologia.

O Brasil possui a maior riqueza de espécies de anfisbênias, com mais de 80 espécies descritas (Costa *et al.*, 2022), mas a maioria delas é negligenciada em termos de anatomia craniana (veja Vieira *et al.*, 1980; Montero & Gans, 1999; Gans & Montero, 2008; Dal Vechio *et al.*, 2016, Ribeiro *et al.*, 2015). Dentre as anfisbenas brasileiras, destacamos duas espécies externamente semelhantes, *Amphisbaena vermicularis* Wagler, 1824 e *Amphisbaena arda* Rodrigues, 2003 "2002". *Amphisbaena vermicularis* é uma espécie comum que ocorre principalmente ao longo da diagonal das áreas abertas da América do Sul no Brasil e na Bolívia (Guedes *et al.*, 2020), enquanto *A. arda* é conhecida apenas pelo holótipo, coletado na margem esquerda do Rio São Francisco no nordeste do Brasil (Rodrigues, 2003) dentro da

¹ Manuscrito (em inglês) aceito em janeiro de 2024 para publicação no periódico *Journal of Morphology*.

área de distribuição de *A. vermicularis*. Como um único espécime foi coletado desde então e sua localidade-tipo está sofrendo perda progressiva de habitat, *A. arda* é classificada como "ameaçada de extinção" pelo Ministério do Meio Ambiente do Brasil (ICMBio, 2018; MMA, 2022).

Externamente, a morfologia de *A. vermicularis* e *A. arda* é muito semelhante, divergindo principalmente no padrão de coloração, sendo que as "contagens tradicionais atualmente utilizadas para auxiliar na identificação de anfisbenas são inadequadas para distinguir essas duas espécies" (Rodrigues, 2003). Além disso, as escamas da cabeça de *A. vermicularis* apresentam sulcos na região occipital, sugerindo a existência de diferenças miológicas e osteológicas entre o crânio dessa espécie e o de *A. arda* (Rodrigues, 2003) - uma hipótese ainda não explorada.

Neste estudo, usamos tomografias computadorizadas para descrever a osteologia do crânio do holótipo de *A. arda*, comparando-o com três espécimes de *A. vermicularis*. Além de fornecer informações básicas sobre a anatomia do crânio dessas espécies, testamos a hipótese de Rodrigues (2003) de que existem diferenças osteológicas entre *A. arda* e *A. vermicularis*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

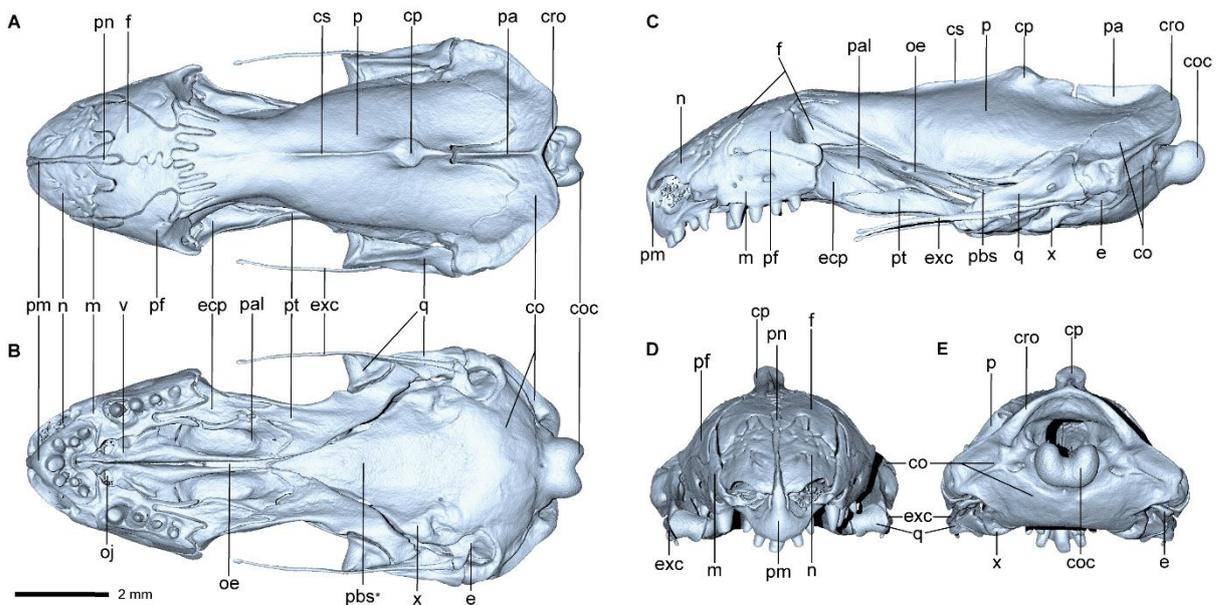
Baseamos nossas descrições em quatro espécimes adultos depositados no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), Brasil, e na Coleção de História Natural da Universidade Federal do Piauí (CHNUFPI), Brasil: o holótipo (e único espécime) de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638, em Mocambo do Vento, município de Barra, estado da Bahia, Brasil), e três espécimes de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0790, CHNUFPI 0791, CHNUFPI 0792, uma fêmea e dois machos, respectivamente, todos do município de Guadalupe, estado do Piauí, Brasil).

Antes da tomografia computadorizada, os espécimes foram removidos do etanol e inseridos em plástico bolha ou canudos de smoothie mantidos em um tubo Falcon para evitar movimentos. *A. arda* foi escaneada no *Museum für Naturkunde Berlin*, Alemanha, em um nanotom Phoenix|x-ray (*GE Sensing & Inspection Technologies GmbH*, Wunstorf, Alemanha) usando 70 kV, 250 μ A e tempo de exposição de 0,5 s em 800 imagens, com uma média de quadros de 3 e salto de imagem de 2. A reconstrução volumétrica foi feita no software *datos|x-reconstruction* (*GE Sensing & Inspection Technologies GmbH phoenix|x-ray*) para um tamanho de voxel de 9,7727 μ m. Os três espécimes de *A. vermicularis* foram escaneados por CT no Centro de Imagens 3D da Universidade Técnica da Dinamarca em uma Nikon XT H

225 usando 80 kV, 160 μ A e 1 s de tempo de exposição em 1572 imagens, com uma média de quadros de 3 e salto de imagem de 2. As imagens foram reconstruídas usando o software X-Tek CT Pro 3D (Nikon Metrology, Hertfordshire, Reino Unido) para um tamanho de voxel de 12,1703 μ m. Para todos os espécimes, o crânio e as mandíbulas foram separados do corpo e extraídos como malhas no VGStudio Max 3.1.2 (Volume Graphics, Heidelberg, Alemanha).

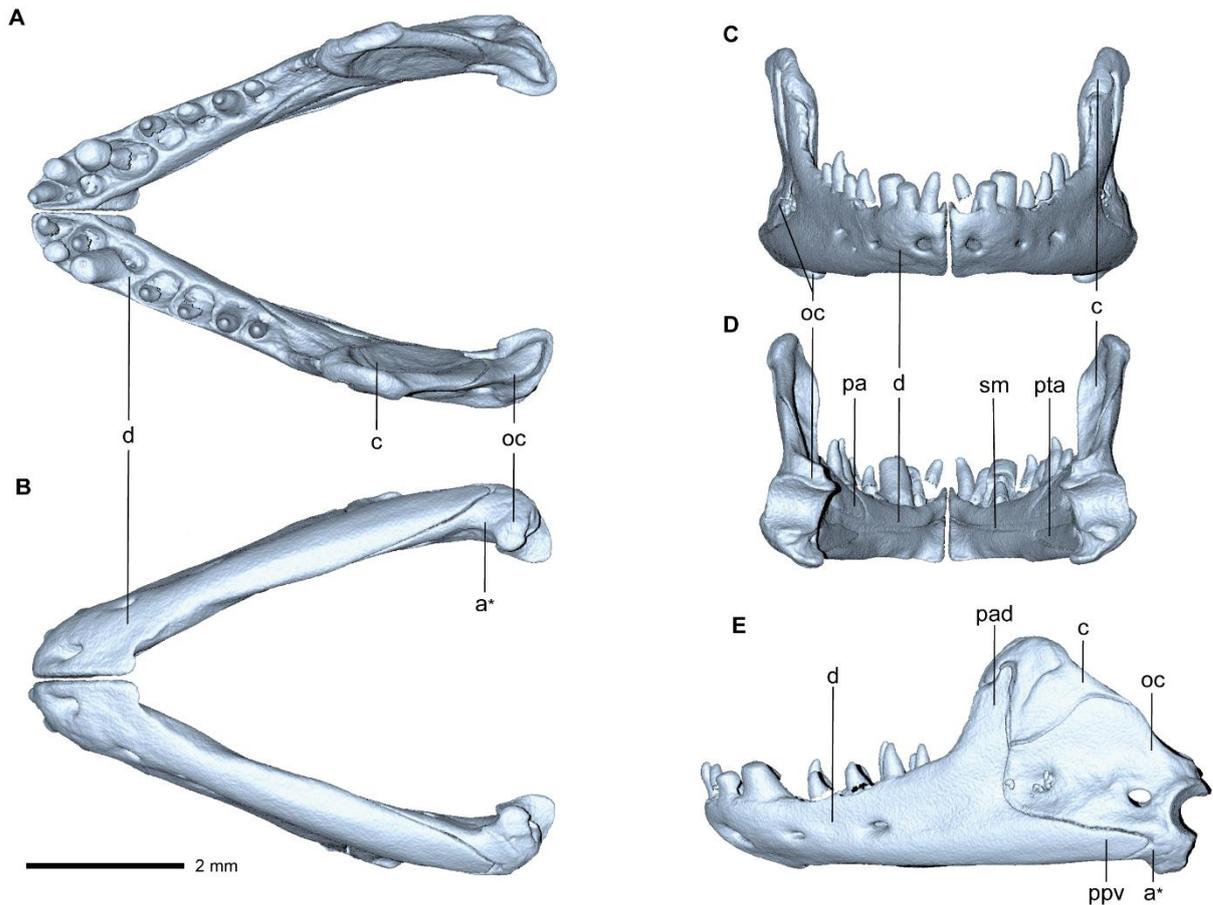
Examinamos os modelos 3D resultantes nos softwares VGStudio Max e MeshLab, versão 2022.02 (Cignoni *et al.*, 2008). Para comparações e descrições dos ossos do crânio, a terminologia osteológica segue principalmente a proposta por Montero & Gans (1999) e Gans & Montero (2008) – exceto, por exemplo, usando orbitoesfenóide em vez de tabuloesfenóide –, com termos adicionais usados por Villa *et al.* (2019) (Figura 1; Figura 2; Figura 3).

Figura 1 - Tomografia computadorizada em 3D do crânio de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 - holótipo) em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista lateral esquerda, (D) vista anterior e (E) vista posterior. Barra de escala = 2 mm. Abreviações: co, complexo occipital; coc, côndilo occipital; cp, crista parietal; cs, crista sagital do parietal; cro, crista occipital; e, estribo; ecp, ectopterigóide; exc, extracolumela; f, frontal; m, maxila; n, nasal; oe, orbitoesfenoide (= tabuloesfenoide de Gans & Montero, 2008); oj, forame para o órgão de Jacobson; p, parietal; pal, palatino; pbs*, parabasisfenoide (fundido ao complexo occipital); pa, processo ascendente; pf, pré-frontal; pm, pré-maxila; pn, processo nasal; pt, pterigoide; q, quadrado; v, vômer; x, elemento-x. A septomaxila não é visível, pois está localizada na cavidade nasal.



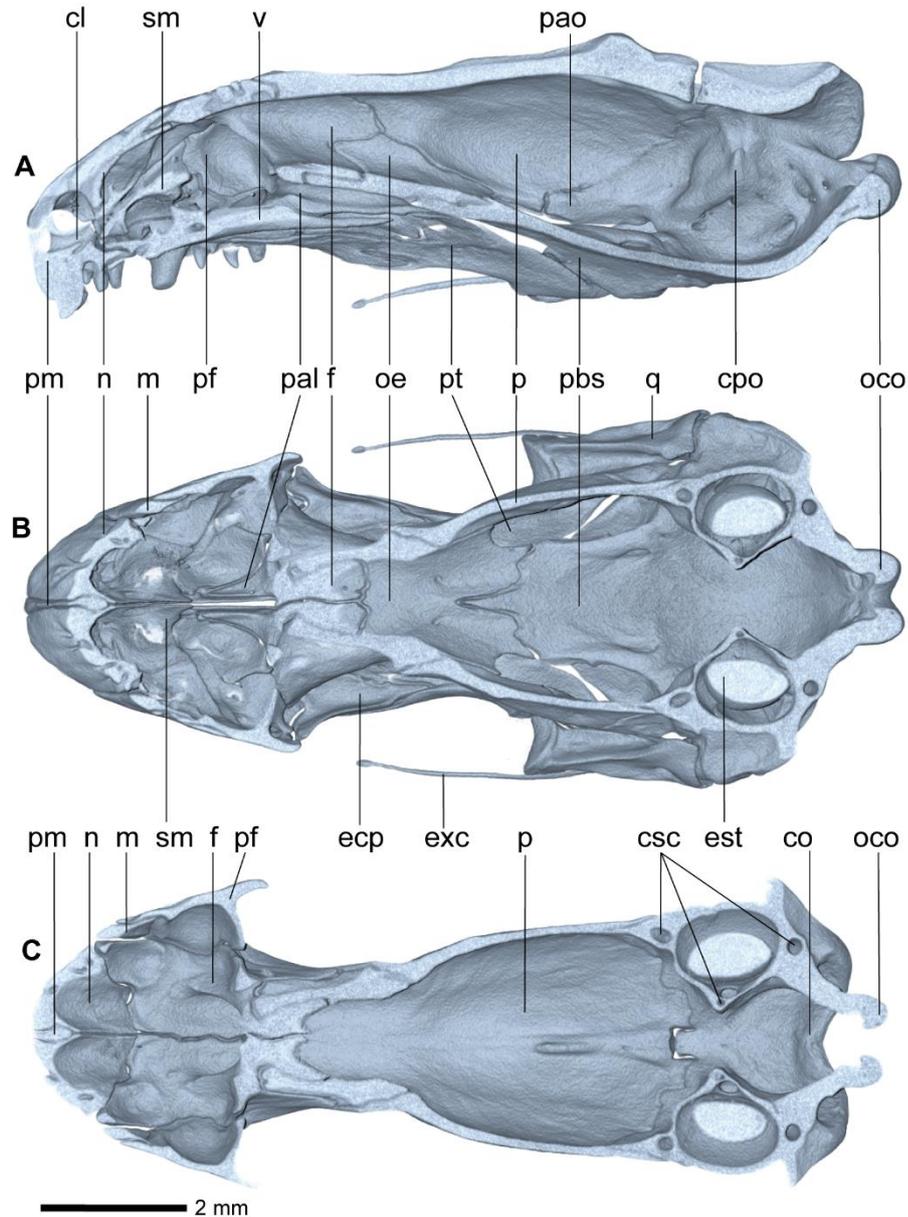
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 2 - Tomografia computadorizada em 3D das mandíbulas de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 - holótipo) em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista anterior, (D) vista posterior e (E) vista lateral esquerda. Barra de escala = 2 mm. Abreviações: a*, angular (fundido ao osso composto); c, coronóide; d, dentário; oc, osso composto; pa, processo anteroventral; pad, processo anterodorsal; ppv, processo posteroventral; pta, ponta anterior; sm, sulco de Meckel.



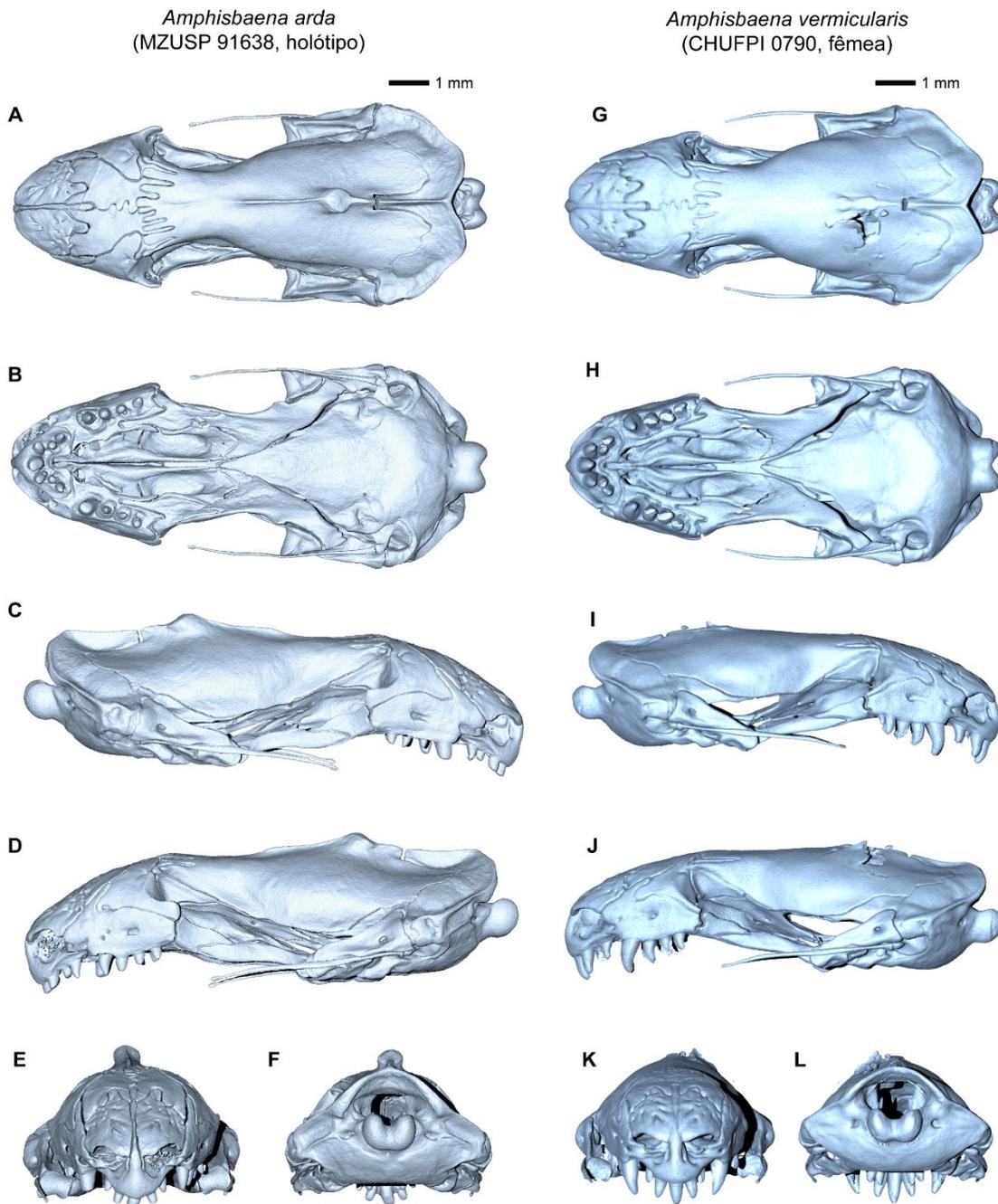
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 3- Tomografia computadorizada em 3D do crânio de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 - holótipo) ao longo dos eixos (A) sagital, (B) dorsal e (C) ventral. Barra de escala = 2 mm. Abreviações: pao, processo alar do proótico; ecp, ectopetygoid; exc, extracolumella; f, frontal; cl, canal longitudinal; m, maxila; n, nasal; co, complexo occipital; oco, côndilo occipital; oe, osbitosphenoid (=tabuloesfenoide de Gans & Montero, 2008); cpo, cápsula ótica; pal, palatino; p, parietal; pf, pré-frontal; pm, pré-maxila; pbs, parabasisfenoide; pt, pterigoide; q, quadrado; csc, canais semicirculares; sm, septomaxila; est, massa estatolítica; v, vômer.



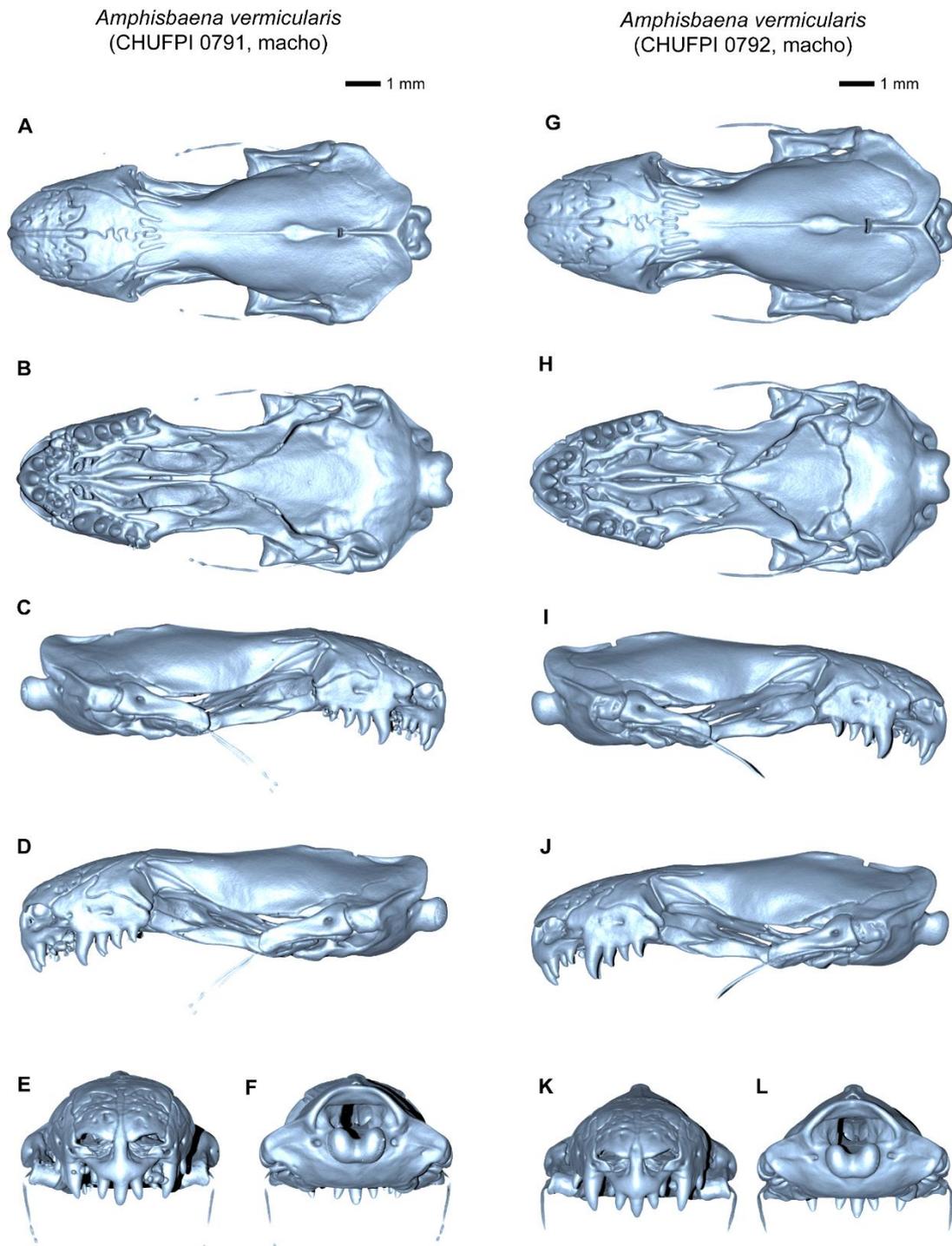
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 4 - A-F Crânio articulado de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 – holótipo – em azul) em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista lateral direita, (D) vista lateral esquerda, (E) vista anterior e (F) vista posterior. G-L Crânio articulado de fêmea de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0790 – em rosa) em (G) vista dorsal, (H) vista ventral, (I) vista lateral direita, (J) vista lateral esquerda, (K) vista anterior e (L) vista posterior. Barra de escala = 1 mm. Consulte as Figuras 1, 2 e 3 para os ossos identificados.



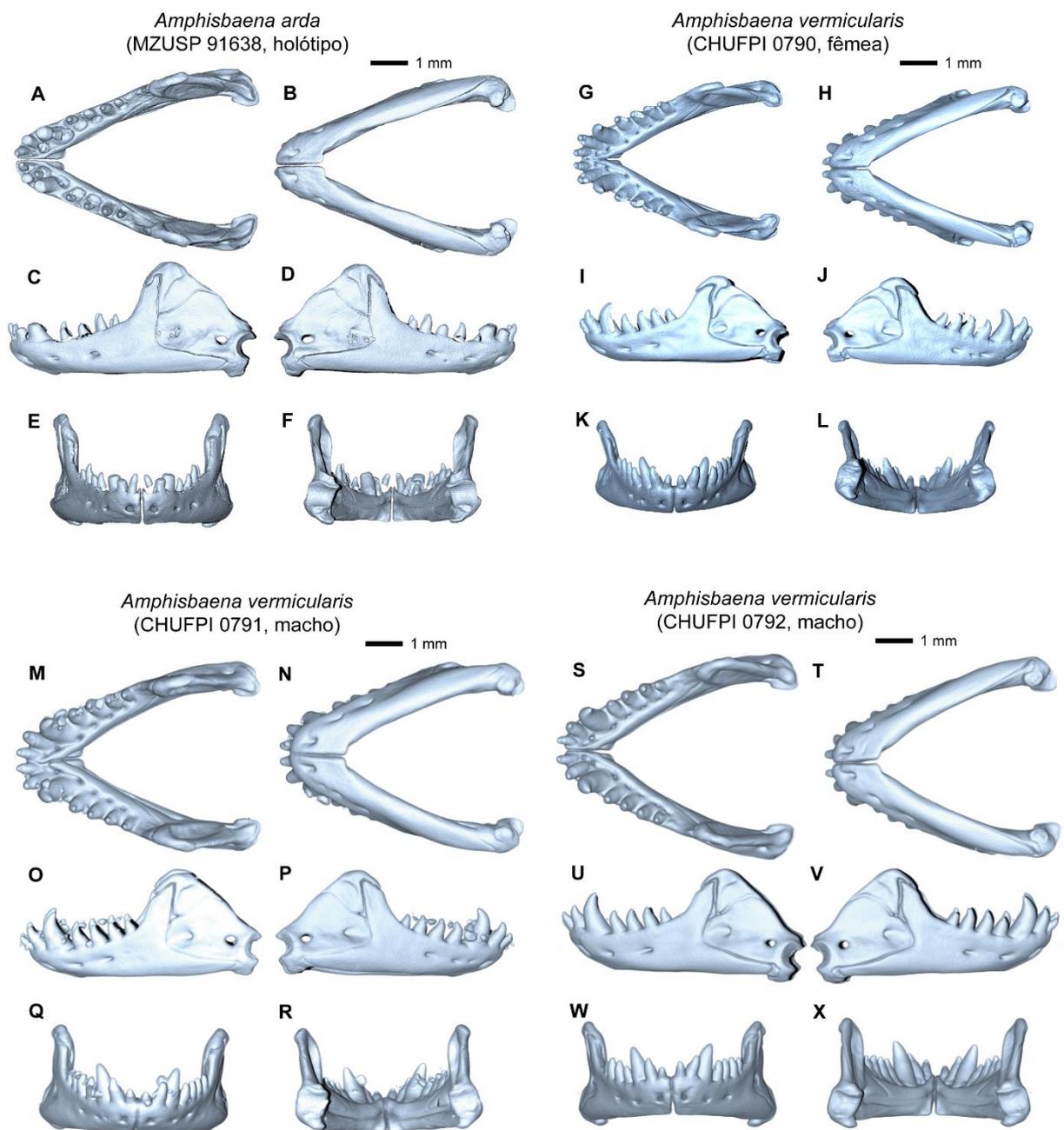
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 5 - A-F Crânio articulado de macho de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0791 – em verde) em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista lateral direita, (D) vista lateral esquerda, (E) vista anterior e (F) vista posterior. G-L Crânio articulado de macho de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0792 – em amarelo) em (G) vista dorsal, (H) vista ventral, (I) vista lateral direita, (J) vista lateral esquerda, (K) vista anterior e (L) vista posterior. Barra de escala = 1 mm. Consulte as Figuras 1, 2 e 3 para os ossos identificados.



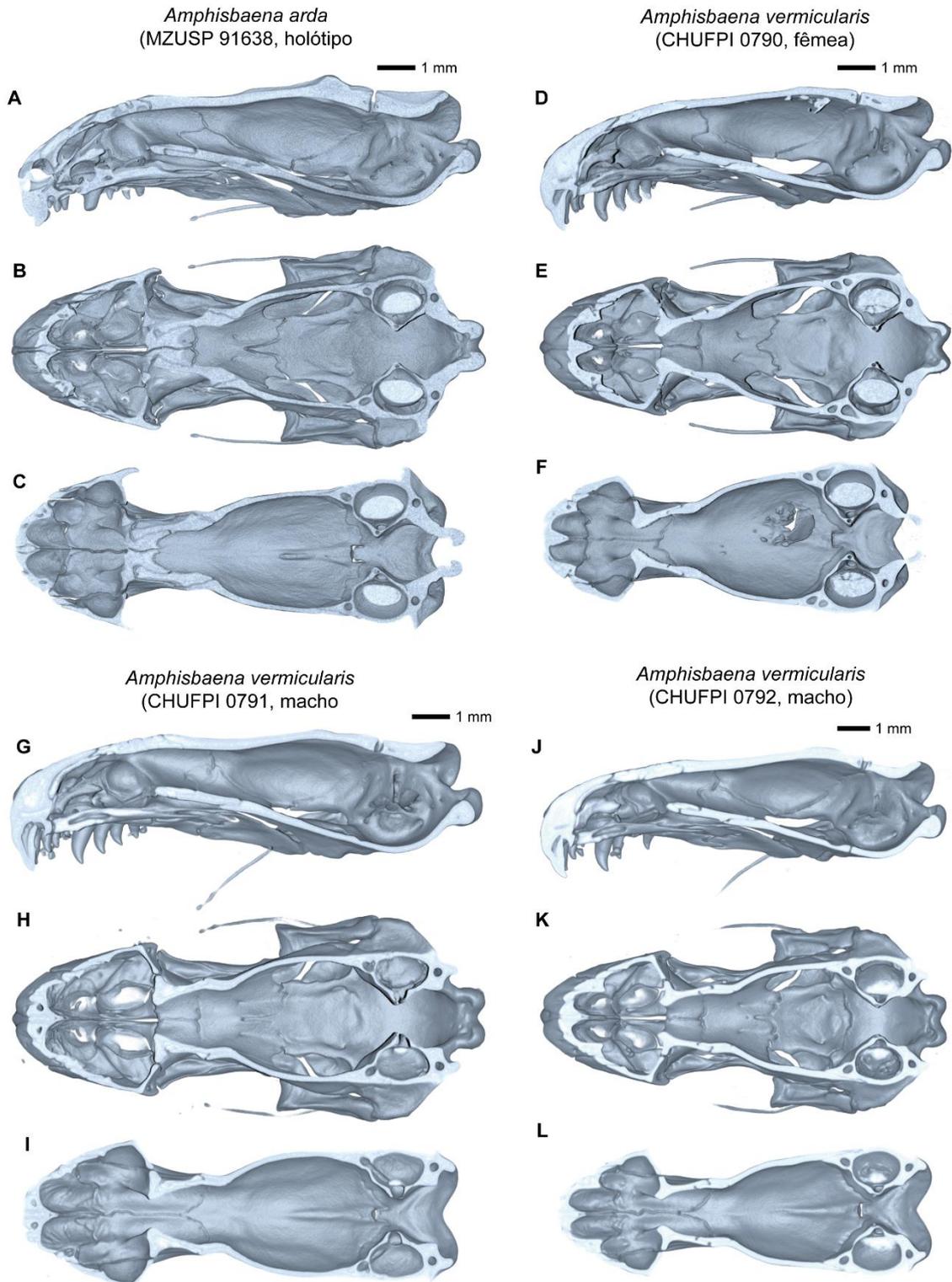
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 6 - Mandíbulas em vistas dorsal (A, G, M, S), ventral (B, H, N, T), lateral direita (C, I, O, U), lateral esquerda (D, J, P, V), anterior (E, K, Q, W) e posterior (F, L, R, X). A-F, *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638). G-L, fêmea de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0790 – em rosa). M-R, macho de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0791 – em amarelo). S-X, macho de *Amphisbaena vermicularis* (CHNUFPI 0792 – em verde). Barra de escala = 1 mm. Consulte a Figura 2 para a identificação dos ossos.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 7 - Tomografia computadorizada em 3D do crânio de *Amphisbaena arda* (MZUSP 91638 - holótipo), uma fêmea (CHUFPI 0790) e dois machos (CHUFPI 0791 e CHUFPI 0792) de *A. vermicularis* ao longo dos eixos sagital (A, D, G, J), dorsal (B, E, H, K) e ventral (C, F, I, L). Barra de escala = 1 mm. Consulte as Figs. 1, 2 e 3 para ver os ossos rotulados.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 **Descrição do crânio e da mandíbula de *Amphisbaena arda* (holótipo, MZUSP 91638) (Fig. 4; Fig. 6; Fig. 7) e *A. vermicularis* (CHNUFPI 0790, CHNUFPI 0791, CHNUFPI 0792) (Fig. 3; Fig. 4; Fig. 5).**

Diferenças entre ambas as espécies e entre os espécimes de *A. vermicularis* são citadas entre parênteses.

Forma geral do crânio. Crânio ligeiramente prognato, dividido em focinho, segmentos intermediário e occipital, segmento palatino e segmento mandibular. Vista dorsal em forma de ampulheta, nitidamente mais estreito no nível da sutura frontal-parietal do que na região parietal-occipital; as pontas posteriores da maxila e a crista occipital são as porções mais largas do crânio. Angulação craniofacial leve ($\sim 160^\circ$ em *A. arda*, $\sim 170^\circ$ em *A. vermicularis*). Região pós-orbital alongada. Superfícies ósseas lisas, exceto as nasais, que são rugosas. Órbita delimitada pela porção posterior do pré-frontal, porção lateral-posterior do frontal, orbitoesfenóide e margem dorsal do ectopterigóide, limitada ventralmente pelo processo posterior da maxila. Focinho composto por pré-maxilas, nasais, maxilas e a série palatina (vômitos, septomaxilas, palatinas, pterigóides e ectopterigóides), arredondado em vista dorsal, oblíquo em perfil. Narinas externas abertas ântero-lateralmente, com assoalho pela placa alveolar da pré-maxila. Margens das narinas delimitadas pela pré-maxila, maxila e nasais. Segmento intermediário composto por pré-frontal, frontal, parietal e orbitofenoide. Caixa craniana lateral fechada completamente pelo crescimento parietal e um processo anterolateral do complexo occipital. Segmento occipital composto por parabasisfenóide, elementos-X, estribo, quadrado e a fusão do basioccipital, exoccipital, supraoccipital e os ossos óticos (proótico, opistótico e laterosfenóide). Dentes, 15, quatro em cada maxila, sete na pré-maxila. Os dentes maxilares estão dispostos no mesmo nível, enquanto os dentes pré-maxilares estão dispostos para baixo, com o dente medial no nível inferior.

Segmento do Focinho

Pré-maxila. Ázigo, em contato com a maxila ventrolateralmente, nasais lateralmente, frontais posteriormente e septomaxila ventromedialmente. Processo nasal pré-maxilar ascendente longo e fino, separando os nasais e parcialmente separando os frontais. Margens anterior e lateral convexas; superfície lisa. Placa basal com sete dentes cônicos, cilíndricos e

monocúspides, sendo o dente medial maior. Dois forames ventrais ao processo nasal, representando passagens dos canais longitudinais. Processos laterais em forma de L, em contato com o vômer e maxila, com pequenos forames (forames nutritivos) vistos ao longo da área próxima aos dentes (ausentes em *A. vermicularis*).

Nasal. Pareados, mais longo do que largos, côncavo ventralmente, estendendo-se até as maxilas e pré-maxila. Contato com a maxila lateralmente, frontal posteriormente, pré-maxila medialmente e septomaxila anteroventralmente. O limite da narina externa e o canto lateral é ligeiramente convexo em vista dorsal e côncavo em vista frontal; formando uma pequena parábola. Aspecto áspero devido à presença de pequenos forames. Internamente, na folha medial, um ponto de contato com a septomaxila lateral ao processo nasal do pré-maxilar. Placa frontal com uma interdigitação de cada lado, em contato com os frontais; interdigitação quase do mesmo tamanho que a extremidade distal do processo nasal pré-maxilar (igual em tamanho em CHNUFPI 0791 e maior em CHNUFPI 0792).

Maxila. Pareados, mais longa do que larga, em forma de L com um processo frontal longo e fino composto por um único ramo que se dobra em direção à linha média entre o frontal e pré-frontal. Cada maxila contata um osso nasal anterodorsalmente, frontal e pré-frontal dorsalmente, pré-maxila anteroventralmente, ectopterigóide posteroventralmente e posterolateralmente, vômer medialmente, palatino posteriormente e septomaxila medialmente. Processo pré-maxilar plano, sobrepondo-se à pré-maxila e sendo sobreposto pela septomaxila; placa lateral levemente convexa; presença de 1 a 3 forames na superfície externa do osso. Placa palatal com quatro dentes cônicos monocúspides (diminuindo de tamanho do primeiro ao quarto dente) e em contato ventral com o processo anteromedial do ectopterigóide. Entalhe largo e profundo na frente do forame ventrolateral chamado de processo pré-maxilar. Placa lateral curta, terminando próxima à linha do último dente.

Segmento Palatino

Septomaxila. Pareado, dentro das narinas. As septomaxilas têm uma forma complexa, com uma superfície dorsal achatada e ligeiramente côncava e uma borda medial mais alta que a lateral. A septomaxila está acima do vômer, em contato com uma pequena porção do nasal medialmente e a maxila ventrolateralmente, além de contatar a pré-maxila. Processo lateral fino, sobrepondo-se ao processo lateral da pré-maxila e ao processo pré-maxilar da maxila. Bordas laterais suavemente arredondadas e ligeiramente elevadas em comparação com o centro da septomaxila.

Vômer. Pareado, mais longo do que largo. O vômer contata a pré-maxila anteriormente, a maxila lateralmente, o palatino posteriormente e as septomaxilas dorsalmente. Parte ventral junto com a pré-maxila e maxila envolvem a fenestra vômeronasal. Processo anterior longo e fino, ligeiramente curvado ventralmente, contatando a pré-maxila; expansão lateral do processo anterior perfurada por um forame do órgão de Jacobson e formando parte da borda anterior da fenestra vômeronasal. Uma crista é visível em vista dorsal ao longo da superfície medial, mais proeminente na região da asa lateral. A asa lateral se eleva anterodorsalmente (formando a parede posterior da câmara vômeronasal) e posterodorsalmente (contatando o palatino), tendo uma forma côncava em vista lateral; uma expansão ventral em forma de barbatana na asa lateral. Processos posteriores alongados e estreitos, com uma ponta aguda, separados um do outro na linha média por um recesso piriforme, contatando os palatinos dorsalmente.

Palatino. Pareado, com superfícies lisas, alongados anteroposteriormente, as bordas mediais separadas umas das outras por um recesso piriforme. Os palatinos contatam o ectopterigóide lateralmente, o pterigóide posteriormente, o vômer anteroventralmente, o frontal e orbitoesfenóide dorsalmente. Região central formando um arco alto (canal palatino) ventralmente côncava, mais rasa e achatada posteriormente. Processo posterior estendendo-se posteriormente na superfície pterigóide; canais na região posterior. Os palatinos contribuem para o assoalho da órbita e as paredes medial, dorsal e lateral do palato.

Pterigóide. Pareado, planos e subtriangulares em vista ventral, inclinados dorsalmente em direção à linha média; parte lateral se eleva formando uma crista dorsolateral. Contatando o ectopterigóide e palatino anteriormente e o quadrado posteriormente. Processo anterolateral interligado com os processos posterodorsal e posteroventral do ectopterigóide; também contatando o rostro do parabasiesfenóide. Processo anteromedial contatando o palatino. Processo posterior contatando o quadrado. Borda lateral irregular. Processo posterior estreito (largo em CHNUFPI 0791 e CHNUFPI 0792).

Ectopterigóide. Pareado, relativamente pequeno, bifurcado e medialmente côncavo em vista dorsal, com uma superfície medial lisa. Contatando a maxila anterodorsalmente, o pterigóide posteriormente e o palatino medialmente. Processo anteromedial fino, localizado em um sulco do processo palatino da maxila; processo anterolateral curto (ausente em CHNUFPI 0791 e CHNUFPI 0792), largo e truncado, contatando o processo posterior da maxila e o processo ventrolateral do pré-frontal. Processo posteroventral fino e longo (curto em CHNUFPI 0790).

Segmento Intermediário

Pré-frontal. Pareado, subtriangular em vista dorsal, com superfícies lisas e convexas, exceto pela presença de um forame próximo ao processo posteromedial. Contatos ventrais com a maxila, medial e posteriormente com o frontal, e posteroventralmente com o palatino. Face posterior côncava e lisa, contribuindo para a superfície facial e a parede interna da órbita, e penetrada ventrolateralmente pelo forame lacrimal. Processo posteromedial áspero (fino em *A. vermicularis*), terminando no final da placa maxilar lateral e contatando o orbitoesfenoide. Face posterior formando um ângulo de aproximadamente 90° dorsoventralmente.

Frontal. Pareado, mais longo que largo, liso e de forma irregular, contatando o parietal posteriormente (através de uma sutura interdigitada), nasal e pré-maxila anteriormente, maxila e pré-frontal lateroventralmente, orbitoesfenoide posteroventralmente. Placa dorsal levemente convexa. Um processo anterolateral contata a maxila e separando completamente os pré-frontais dos nasais. Um entalhe profundo na borda anterior média, entrado pelo processo frontal do nasal. Sutura medial formada por duas e três interdigitações, curta, larga e arredondada. Sulco curvo profundo entre a placa dorsal e o processo lateral, para o processo posteromedial do pré-frontal; processo lateral contatando pré-frontal e formando a parede anterior da órbita. Placa articular com três (frontal direito) e quatro (frontal esquerdo) interdigitações longas, finas e aproximadamente paralelas (três interdigitações em ambos os frontais em CHNUFPI 0790 e CHNUFPI 0791 e quatro interdigitações em ambos os frontais em CHNUFPI 0792), aumentando em comprimento do lado medial para o lateral. Processos ventrais em contato um com o outro na linha média ventral formando uma fenestra frontal contatando o orbitoesfenoide.

Parietal. Ázigo, mais longo do que largo e alto; em vista dorsal, alarga distalmente, embora com a constrição mais estreita é posterior à região de contato frontal-orbitoesfenoide-parietal; contata o frontal anteriormente através de sete (cinco em CHNUFPI 0790 e CHNUFPI 0791) interdigitações longas e finas, orbitoesfenoide lateroventralmente, área supraoccipital do complexo occipital posteriormente, e os processos anterolaterais do complexo occipital (= processo alar do proótico) posterolateralmente; internamente, o parietal contata o complexo occipital. A crista sagital da placa anterior até a incisura medial do parietal, onde apresenta uma faceta articular côncava (crista sagital baixa e pouco visível em CHNUFPI 0790); a crista é arredondada e afunila distalmente, alargando-se para um nódulo dorsal após o qual o parietal forma uma incisura medial profunda (crista em forma de gota elevando-se distalmente, alargando-se para a incisura medial parietal em CHNUFPI 0791 e

CNHUFPI 0792). Paredes laterais côncavas e formando uma aba acima da área de contato orbitoesfenoide; paredes laterais convexas posteriormente, com uma leve projeção horizontal na região de contato com os processos anterolaterais do complexo occipital; paredes laterais limitando o forame de Gasserian, através de uma borda relativamente curta.

Orbitoesfenoide. Ázigo, aproximadamente do mesmo comprimento que largura, com bordas irregulares, superfície lisa e bordas laterais côncavas; superfícies mediais estendidas lateralmente e anteriormente, superfícies periféricas estendidas posteriormente (superfícies periféricas pouco estendidas posteriormente em CHNUFPI 0791 e CNHUFPI 0792). O orbitoesfenoide contata frontais anterodorsalmente, palatino anteroventralmente, parietal anterolateralmente, e parabasisfenoide posteroventralmente. Superfície dorsal dos processos anterolaterais curta e estreita, separada por uma divisão em forma de U larga; superfície ventral dos processos anterolaterais larga, separada por uma divisão em forma de U curta. Borda posterior com uma margem livre côncava delimitando a borda mais anterior de cada forame de Gasserian, e uma incisura em forma de V medial repousando sobre o rostro do parabasisfenoide. A margem posterior possui um processo posterior relativamente longo. Dois forames ópticos no meio entre a linha média e a margem lateral, na parte mais anterior de cada processo posterior.

Segmento Occipital

Estribo. Pareado. Forma circular, cada estribo se encaixa em uma fenestra oval do complexo occipital. Uma coluna estapedial relativamente plana ascende perpendicularmente a partir do lado anterolateral do estribo, contatando o quadrado e articulando-se com a extracolumela cartilaginosa. Face articular da coluna estapedial orientada anteriormente.

Quadrado. Pareado. Longo e retangular, lateral ao neurocrânio. Articulado com o processo paraoccipital do complexo occipital (articulação proximal) e com o processo articular do osso composto (cabeça articular distal); cada quadrado contata o processo posterior de um pterigoide anteromedialmente e uma coluna estapedial posteriormente. Articulação proximal subcircular e fortemente côncava. Cabeça articular distal em forma de sela. Placa lateral larga e plana, mais alta posteriormente; placa lateral perfurada em sua base por um forame dorsal, cujo canal termina em um forame lateral no centro da placa lateral. Superfície dorsal plana e estreita. Superfície ventral com um corredor estreito ao longo do qual corre a extracolumela.

Parabasisfenoide. Ázigo. Largo, em forma triangular, côncavo lateralmente, sua superfície dorsal forma o assoalho do neurocrânio. Contatos anterodorsais com o

orbitoesfenoide, pterigoide lateralmente, e é fundido aos elementos-x lateroposteriormente e ao complexo occipital posteriormente (elementos-x não fundidos em CHNUFPI 0792). Face ventral se estendendo em placas laterais côncavas; lateralmente, as placas contatam os pterigoides; posteriormente, elas são fundidas ao elemento-x (não em CHNUFPI 0792).

Elemento-X. Pareado, fundido ao parabasisfenoide-occipital (elementos-x não fundidos ao parabasisfenoide-occipital em CHNUFPI 0792, têm forma triangular e superfície lisa, contatando o parabasisfenoide medialmente, complexo occipital posteriormente, e estribo dorso-posteriormente).

Complexo occipital. Em contato anteriormente com o parietal, anterolateralmente com os estribos, e articulado com o quadrado anterolateralmente. Placa dorsal mais fina anteriormente, entrelaçando-se com a porção posterior do parietal, cobrindo a parte posterior do neurocrânio e as cápsulas óticas. Processos anterolaterais da placa dorsal delgados, com sua borda ventral formando a borda dorsal do espaço pós-orbital e do forame de Gasserian. Processo ascendente alto (baixo em *A. vermicularis*), encaixando-se no entalhe medial do osso parietal, formando um contínuo com a crista sagital. Crista occipital transversal pronunciada (pouco demarcada em *A. vermicularis*), encontrando a borda posterior do processo ascendente, delimitando a porção dorsal do forame magno, e se estendendo lateralmente até a articulação com o quadrado. Processo paraoccipital comprimido dorsoventralmente, articulando-se com o quadrado e em contato o estribo. Placa basioccipital fundida ao parabasisfenoide anteriormente e aos elementos-x anteroventralmente (não fundida em CHNUFPI 0792). Posteriormente, a placa basioccipital é inclinada dorsalmente; a região medial se estende até o pescoço do côndilo occipital. Côndilo occipital com duas saliências, ventral ao forame magno, com formato faseolar em vista posterior. Forame jugular pareados, lateral à base do côndilo occipital.

Série mandibular

Dentário. Conectados entre si por uma articulação sinfisial. Entrando em contato com o coronoide, o osso composto e o angular. Ventralmente, os dentários se afastam um do outro na articulação sinfisial em um ângulo de quase 45°, seguindo em linha reta ao longo de seu comprimento. A borda posterior se bifurca em um ângulo de 90° em um processo posterodorsal e posteroventral, ambos longos e pontiagudos. Os processos posterodorsal e posteroventral são separados por uma cavidade na qual se encaixa o osso composto. A face posterior do processo posterodorsal é plana e não se curva posteriormente, entrando em contato com o coronoide no lado lateral. No lado medial, o processo posterodorsal é coberto

pelo coronoide e pelo osso composto, e o processo posteroventral é coberto pelo angular. Forames mentais (três à esquerda, quatro à direita) (três de cada lado em CHNUFPI 0792) alinham-se no lado labial de cada dentário. O sulco de Meckel corre horizontalmente ao longo de todo o comprimento do dentário. Sete dentes cônicos pleurodontes na borda dorsal de cada dentário, sendo os três primeiros maiores, separados dos últimos quatro dentes por um pequeno diastema. Os dentes dos dentários se encaixam nos do pré-maxilar e maxilares e são curvados medial e posteriormente. Os dentes I a III são os maiores ($III > II > I$). Os dentes IV a VII são aproximadamente do mesmo tamanho, com suas pontas aumentando em altura conforme a base do dentário se eleva posteriormente.

Coronoide. Plano (côncavo no lado lingual), relativamente retangular com bordas arredondadas. No lado labial da mandíbula, o coronoide é parcialmente coberto pelo dentário anteroventralmente e pelo osso composto posteroventralmente. No lado lingual da mandíbula, o coronoide é totalmente exposto, fazendo contato com o dentário anteriormente e o osso composto posteriormente. O processo anteroventral é fino e em forma de lança, estendendo-se até a linha do dente VI da mandíbula (último dente em CHNUFPI 0790); sua borda anterodorsal é reta, a borda anteroventral possui um estreitamento. Um sulco profundo no lado labial, onde se encaixa o processo posterodorsal do dentário.

Ossos compostos. Composto pela fusão do suprangular, articular, esplenial e pré-articular. Faz contato com o dentário anteroventralmente, o coronoide anterodorsalmente e o angular ventralmente (ao qual está fundido em *A. arda*). O processo dentário está inserido na cavidade posterior do dentário, em contato com os processos ventrais posteriores do dentário e com o angular; dorsomedialmente, o osso composto faz contato com o coronoide. Lado medial coberto pelo coronoide e angular. O processo articular é côncavo e curvado medialmente, articulando-se com o quadrado. A placa lateral é perfurada por dois forames (forame suprangular anterior e forame suprangular posterior).

Angular. Parcialmente fundido ao osso composto em *A. arda*, mas não em *A. vermicularis*. Delgado, principalmente visível no lado labial da mandíbula, fazendo contato com o dentário. Ponta anterior aguda. Um forame está presente no meio do angular. A face ventral entrelaçada do lado lingual para o lado labial da mandíbula.

Caixa Craniana

Anatomia interna do complexo óptico-occipital (Fig. 3; Fig. 7). A cavidade craniana tem formato de coração anteriormente, delimitada pelas frontais dorsalmente, lateralmente e em seu assoalho; posteriormente, é delimitada pelos complexos

orbitoesfenóide, parietal, parabasisfenóide e occipital. Os processos alares do osso proótico cobrem a caixa encefálica lateralmente e são mais estreitos no *A. vermicularis* do que no *A. arda*. A caixa craniana se estreita posteriormente devido à presença das cápsulas óticas. Dentro de cada cápsula ótica há uma massa estatolítica - um corpo ovoide calcificado - e três canais semicirculares (anterior, lateral e posterior). O côndilo occipital e o forame magno são posteriores às cápsulas óticas.

2.3.2 Comparação da osteologia craniana entre *Amphisbaena arda* e *A. vermicularis* e variação intraespecífica em *A. vermicularis*

Os crânios de *A. arda* e *A. vermicularis* são semelhantes, mas algumas diferenças podem ser observadas na angulação craniofacial (~160° em *A. arda*, ~170° em *A. vermicularis*) e em alguns ossos. Também observamos variação na osteologia craniana entre os três espécimes de *A. vermicularis* examinados. Um resumo das diferenças interespecíficas e intraespecíficas é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Diferenças observadas na osteologia craniana entre *Amphisbaena arda* (a) e três espécimes de *Amphisbaena vermicularis* (vf [fêmea], vm1 [macho 1] e vm2 [macho 2]).

Segmento	Ossos	Diferença	Espécimes
Forma Geral do Crânio		Angulação craniofacial ~160°.	a
		Angulação craniofacial ~170°.	vf, vm1, vm2
Segmento Nasal	Pré-maxila	Forames nutricionais na área próxima aos dentes.	a
		Forames nutricionais ausentes na área próxima aos dentes.	vf, vm1, vm2
	Nasal	Interdigitações quase tão longas quanto a extremidade distal do processo nasal pré-maxilar.	a, vf
		Interdigitações do mesmo tamanho que a extremidade distal do processo nasal pré-maxilar.	vm1
		Interdigitações mais longas do que a extremidade distal do processo nasal pré-maxilar.	vm2
Série Palatal	Ectopterigóide	Processo anterolateral, curto.	a, vf
		Processo anterolateral, ausente.	vm1, vm2
		Processo posteroventral, curto.	a, vf
		Processo posteroventral, longo.	vm1, vm2
Segmento Intermediário	Pré-frontal	Processo posteromedial, irregular.	a
		Processo posteromedial, fino.	vf, vm1, vm2
	Frontal	Placa articular com três (frontal direito) e quatro (frontal esquerdo) interdigitações longas.	a
		Placa articular com três interdigitações longas (frontal direito e esquerdo).	vf, vm1

Tabela 1 - Diferenças observadas na osteologia craniana entre *Amphisbaena arda* (a) e três espécimes de *Amphisbaena vermicularis* (vf [fêmea], vm1 [macho 1] e vm2 [macho 2]).

Segmento	Osso	Diferença	Espécimes	
		Placa articular com quatro interdigitações longas (frontal direito e esquerdo).	vm2	
		Parietal	Sutura parietal-frontal com sete interdigitações.	a, vm2
	Sutura parietal-frontal com cinco interdigitações.		vf, vm1	
	Crista sagital arredondada e alta.		a	
	Crista sagital baixa e mal visível.		vf	
	Crista sagital em formato de gota, de altura média.		vm1, vm2	
	Orbitoesfenoid e	Superfícies periféricas estendidas posteriormente.	a, vf	
		Superfícies periféricas pouco estendidas posteriormente.	vm1, vm2	
	Segmento Occipital	Parabasisfenoi de	Fusionado ao elemento-x e ao complexo occipital.	a, vf, vm1
			Não fusionado ao elemento-x e ao complexo occipital.	vm2
Elemento-X		Não fusionado ao complexo occipital e parabasisfenoide.	a, vf, vm1	
		Fusionado ao complexo occipital e parabasisfenoide.	vm2	
Complexo occipital		Processo ascendente, alto.	a	
		Processo ascendente, baixo.	vf, vm1, vm2	
		Crista occipital transversal pronunciada.	a	
		Crista occipital transversal levemente pronunciada.	vf, vm1, vm2	
		Processo alar do proótico estreito.	vf, vm1, vm2	
Série Mandibular		Angular	Parcialmente fundido ao osso composto.	a
	Não fundido ao osso composto.		vf, vm1, vm2	

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

2.4 DISCUSSÃO

Usando exames de tomografia computadorizada, exploramos a osteologia craniana de duas espécies de Amphisbaenia, *Amphisbaena arda* e *A. vermicularis*. Embora o crânio de *A. vermicularis* tenha sido ilustrado anteriormente (Dal Vechio *et al.*, 2016; Gans & Montero, 2008), ele não foi descrito detalhadamente. Em contraste, este estudo apresenta a primeira descrição detalhada do crânio de *A. arda*. Ambas as espécies têm um crânio levemente prógnato, com forma de ampulheta em vista dorsal, focinho arredondado e diferenças mínimas nos processos ósseos e interdigitações. Essa forma de focinho ("arredondado") é a mais comum dentro de Amphisbaenia, particularmente em Amphisbaenidae (Gans, 1968;

Gans & Montero, 2008), e é considerada plesiomórfica, com um mecanismo menos especializado de escavação (Gans, 1968).

Embora a posição filogenética de *A. arda* ainda seja desconhecida (Graboski *et al.*, 2022), é provável que compartilhe uma relação próxima com *A. vermicularis* devido a semelhanças na morfologia externa. Ambas as espécies pertenceriam a um clado de anfisbênias de grande porte, com uma sinapomorfia craniana identificada como a superfície externa do osso nasal com pequenos forames contínuos com uma abertura de canal posterodorsal na câmara nasal (Dal Vechio *et al.*, 2016). Segundo Rodrigues (2003), as escamas da cabeça de *A. vermicularis* são caracteristicamente intumescidas, com uma depressão occipital dorsomedial marcada por um sulco, em contraste com *A. arda*. Tais diferenças podem ser de origem osteológica e/ou miológica, e o exame dos crânios de ambas as espécies pode fornecer algumas pistas (Rodrigues, 2003). Nossos resultados mostram diferenças entre o crânio de *A. arda* e *A. vermicularis* na crista sagital do osso parietal, no processo ascendente e na crista occipital transversa do complexo occipital (Tabela 1). A altura da crista sagital, que é contígua ao processo ascendente occipital, seria responsável pela depressão occipital dorsomedial observada por Rodrigues, 2003 em *A. vermicularis*. Este é o local de fixação dos músculos adutores da mandíbula (Pregill, 1984; Rieppel, 1979), aumentando com a idade e tamanho em anfisbenídeos e outros táxons (Hawkins *et al.*, 2022). Em nossa amostra, o espécime com a crista sagital mais alta é o holótipo de *A. arda* (o maior espécime). Externamente, os três espécimes de *A. vermicularis* usados neste estudo não apresentam o sulco na região occipital, indicando que esse caractere é polimórfico dentro da espécie. O exame de espécimes adicionais de *A. vermicularis* será necessário para confirmar se os sulcos temporais, quando presentes, estão relacionadas a cristas sagitais mais altas.

A narina de *A. arda* é descrita como posicionada mais ventralmente do que em *A. vermicularis*, com a distância da narina à sutura nasal considerada maior do que a distância da narina à escala supralabial adjacente, o que também pode ser um indicativo de diferenças osteológicas/miológicas entre as espécies (Rodrigues, 2003). Do ponto de vista osteológico, o segmento do focinho em ambas as espécies difere na proporção de comprimento entre as interdigitações do osso nasal e o processo ascendente do pré-maxilar, bem como na presença ou ausência de forames nutricionais no pré-maxilar. No entanto, nenhuma dessas diferenças explicaria as disparidades na morfologia externa da narina apontadas por Rodrigues (2003).

Em outros aspectos, o crânio de *A. arda* difere do de *A. vermicularis* em pontos como a presença de forames nutricionais (ausentes em *A. vermicularis*), o processo posteromedial do pré-frontal robusto (fino em *A. vermicularis*), o número de interdigitações na placa

articular dos frontais e o grau de fusão entre o angular e o osso composto. Foram observadas diferenças entre os três espécimes de *A. vermicularis*, e, em alguns casos, um ou dois espécimes compartilham a mesma morfologia óssea com *A. arda*, mas não com os outros *A. vermicularis* (por exemplo, o comprimento das interdigitações nasais e o tamanho dos processos anterolateral e posteroventral do ectopterigoide) (Tabela 1). A variação craniana intraespecífica em anfisbênias é pouco estudada (Hawkins *et al.*, 2022; Hipsley *et al.*, 2016) e pode explicar diferenças relacionadas à ontogenia, dimorfismo sexual, ecologia trófica e características do solo (Gans, 1960, 1974; Hawkins *et al.*, 2022; Hipsley *et al.*, 2016). Todos os espécimes estudados aqui são adultos, embora diferindo ligeiramente no comprimento do focinho (MZUSP 91638: 284 mm; CHNUFPI 0790: 223 mm; CHNUFPI 0791: 255 mm; CHNUFPI 0792: 262 mm). O dimorfismo sexual nas escamas e na largura da cabeça é conhecido para *A. vermicularis* (Fraga *et al.*, 2022), embora nosso tamanho de amostra seja muito pequeno para permitir conclusões sobre o dimorfismo sexual na osteologia do crânio dessa espécie. Pelo menos em alguns casos em que a morfologia óssea é mais semelhante entre a fêmea e um dos dois espécimes machos de *A. vermicularis*, essa variação não pode ser atribuída ao dimorfismo sexual e pode ser simplesmente baseada no indivíduo (por exemplo, número de interdigitações na placa articular do frontal e na sutura frontoparietal). Essas diferenças intraespecíficas em *A. vermicularis* provavelmente não estão relacionadas às características do solo (Fraga *et al.*, 2022) porque os três espécimes vieram da mesma localidade (Guadalupe, Piauí, Brasil), cujos tipos de solo dominantes são argissolos (*acrisols*) e latossolos (*ferralsols*) (FAO *et al.*, 2012). Em contraste, o único espécime conhecido de *A. arda* foi coletado em arenossolos (*arenosols*) (FAO *et al.*, 2012), tornando possível que a estrutura do solo esteja relacionada às diferenças osteológicas entre *A. arda* e *A. vermicularis*.

2.5 CONCLUSÃO

O estudo da morfologia do crânio é importante para entender a sistemática dos Squamata, pois os seus caracteres constituem os elementos predominantes nas matrizes morfológicas dos escamados (Conrad, 2008; Dubke *et al.*, 2018; Gans & Montero, 2008; Gauthier *et al.*, 2012; Kearney, 2002, 2003; Westphal *et al.*, 2019). No entanto, apesar do recente progresso na taxonomia das anfisbênias, a anatomia do crânio desse grupo continua sendo pouco estudada. Investigar a anatomia craniana é vital para identificar homologies e avançar no conhecimento da história evolutiva do grupo, pois a evolução das formas da cabeça em *Amphisbaenia* é mais complexa do que se pensava anteriormente (Mott & Vieites,

2009). Graças à tomografia computadorizada, o exame dos crânios (geralmente pequenos) das anfisbênias se tornou mais rápido e acessível (por exemplo, Dal Vechio *et al.*, 2016; Hawkins *et al.*, 2022; Hipsley *et al.*, 2016; Villa *et al.*, 2019). Para entender melhor a variação entre *Amphisbaena arda* e *A. vermicularis*, é necessário um exame mais aprofundado de espécimes adicionais de *A. vermicularis*, especialmente de locais próximos à localidade-tipo de *A. arda*, já que não se conhecem outros espécimes de *A. arda* atualmente. Este trabalho ajuda a elucidar até que ponto a morfologia do crânio do *A. arda* está dentro da faixa de variação intraespecífica do *A. vermicularis*. Por fim, a integração de estudos sobre a osteologia e a musculatura do crânio, que são extremamente raros em *Amphisbaenia* até o momento (por exemplo, Kesteven, 1957; Navas *et al.*, 2004; Rieppel, 1979; Westphal, 2019), também será um passo importante para avançar nossa compreensão da evolução desse grupo.

2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cignoni, P., Callieri, M., Corsini, M., Dellepiane, M., Ganovelli, F., & Ranzuglia, G. (2008, July). Meshlab: an open-source mesh processing tool. In *Eurographics Italian chapter conference* (Vol. 2008, pp. 129-136).
- Conrad, J. L. (2008). Phylogeny and systematics of Squamata (Reptilia) based on morphology. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 2008(310), 1-182.
- Dal Vechio, F., Teixeira, M., Sena, M., Argôlo, A., Garcia, C., & Rodrigues, M. T. (2016). Taxonomic status and the phylogenetic placement of *Amphisbaena leucocephala* Peters, 1878 (Squamata, Amphisbaenidae). *South American Journal of Herpetology*, 11(3), 157-175.
- Dubke, M., Hipsley, C. A., & Müller, J. (2018). Comparative skull osteology and preliminary systematic revision of the African lizard genus *Heliobolus* (Squamata: Lacertidae). *African Journal of Herpetology*, 67(2), 160-197.
- FAO, IIASA, ISRIC, ISSCAS, & JRC. (2012). *Harmonized World Soil Database* (version 1.2).
- Fraga, R., P. Santos-Jr, A., P. Werneck, F., C. Costa, H., T. Guimarães, J., Perez, R., ... & Ribeiro, S. (2022). The overlooked underground diversity: physical and chemical edaphic

structure predict morphological variation in South American amphisbaenians (Squamata: Amphisbaenidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 1-13.

Gans, C. (1960). Studies on amphisbaenids (Amphisbaenia, Reptilia). 1, A taxonomic revision of the Trogonophinae, and a functional interpretation of the amphisbaenid adaptive pattern. *Bulletin of the AMNH*; v. 119, article 3.

Gans, C. (1968). Relative success of divergent pathways in amphisbaenian specialization. *The American Naturalist*, 102(926), 345-362.

Gans, C. (1974). *Biomechanics: An Approach to Vertebrate Biology*. Philadelphia: J. B. Lippincott & Co.

Gans, C. (1978). The characteristics and affinities of the Amphisbaenia. *The Transactions of the Zoological Society of London*, 34(4), 347-416.

Gans, C., & Montero, R. (2008). An atlas of amphisbaenian skull anatomy. *Biology of the Reptilia*, 21, 621-738.

Gauthier, J. A., Kearney, M., Maisano, J. A., Rieppel, O., & Behlke, A. D. (2012). Assembling the squamate tree of life: perspectives from the phenotype and the fossil record. *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History*, 53(1), 3-308.

Graboski, R., Grazziotin, F. G., Mott, T., & Rodrigues, M. T. (2022). The phylogenetic position of ridley's worm lizard reveals the complex biogeographic history of New World insular amphisbaenids. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 173, 107518.

Guedes, J. J., Costa, H. C., & Moura, M. R. (2020). A new tale of lost tails: Correlates of tail breakage in the worm lizard *Amphisbaena vermicularis*. *Ecology and Evolution*, 10(24), 14247-14255.

Guedes, T. B., Entiauspe-Neto, O. M., & Costa, H. C. (2023). Lista de répteis do Brasil: atualização de 2022. *Herpetologia Brasileira*, 12(1), 56-161.

Hawkins, R. K., Bell, C. J., Olori, J. C., & Stocker, M. R. (2022). Intraspecific variation in the cranial osteology of *Diplometopon zarudnyi* (Squamata: Amphisbaenia: Trogonophidae). *Journal of Morphology*, 283(10), 1359-1375.

Hipsley, C. A., Rentinck, M. N., Rödel, M. O., & Müller, J. (2016). Ontogenetic allometry constrains cranial shape of the head-first burrowing worm lizard *Cynisca leucura* (Squamata: Amphisbaenidae). *Journal of Morphology*, 277(9), 1159-1167.

ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade). (2018). *Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume IV – Répteis*. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Ministério do Meio Ambiente.

Kazi, S., & Hipsley, C. A. (2018). Conserved evolution of skull shape in Caribbean head-first burrowing worm lizards (Squamata: Amphisbaenia). *Biological Journal of the Linnean Society*, 125(1), 14-29.

Kearney, M. (2002) Appendicular Skeleton in Amphisbaenians (Reptilia: Squamata). *Copeia*, 2002, 719–738.

Kearney, M. (2003). Systematics of the Amphisbaenia (Lepidosauria: Squamata) based on morphological evidence from recent and fossil forms. *Herpetological Monographs*, 17(1), 1-74.

Kearney, M., Maisano, J.A. & Rowe, T. (2005). Cranial anatomy of the extinct amphisbaenian *Rhineura hatcherii* (Squamata, Amphisbaenia) based on high-resolution X-ray computed tomography. *Journal of Morphology*, 264, 1-33.

Kesteven, L. (1957). Notes on the skull and cephalic muscles of the Amphisbaenia. *The Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, 82, 109–116.

Maisano, J.A., Kearney, M. & Rowe, T. (2006). Cranial anatomy of the spade-headed amphisbaenian *Diplometopon zarudnyi* (Squamata, Amphisbaenia) based on high-resolution X-ray computed tomography. *Journal of Morphology*, 267, 70-102.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). (2022). *Portaria MMA no 148, de 7 de junho de 2022. Altera os Anexos da Portaria no 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria no 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria no 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Nacional de Espécies Am.* Diário Oficial da União, 108, 74–104.

- Montero, R., & Gans, C. (1999). The head skeleton of *Amphisbaena alba* Lineaus. *Annals of Carnegie Museum*, 68(1), 15-79.
- Mott, T., & Vieites, D. R. (2009). Molecular phylogenetics reveals extreme morphological homoplasy in Brazilian worm lizards challenging current taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51(2), 190-200.
- Navas, C. A., Antoniazzi, M. M., Carvalho, J. E., Chaui-Berlink, J. G., James, R. S., Jared, C., Kohlsdorf, T., Pai-Silva, M. D., & Wilson, R. S. (2004). Morphological and physiological specialization for digging in amphisbaenians, an ancient lineage of fossorial vertebrates. *Journal of Experimental Biology*, 207(14), 2433–2441. <https://doi.org/10.1242/jeb.01041>
- Pregill, G. (1984). Durophagous feeding adaptations in an amphisbaenid. *Journal of Herpetology*, 186-191.
- Ribeiro, S., Santos-Jr, A. P., & Zaher, H. (2015). A new species of *Leposternon* Wagler, 1824 (Squamata, Amphisbaenia) from northeastern Argentina. *Zootaxa*, 4034(2), 309-324.
- Rieppel, O. (1979). The external jaw adductor of amphisbaenids (Reptilia: Amphisbaenia). *Revue Suisse de Zoologie*, 86, 867–876.
- Rodrigues, M. T. (2002). Herpetofauna of the quaternary sand dunes of the middle Rio São Francisco, Bahia, Brazil: VIII. *Amphisbaena arda* sp. nov., a fuliginosa-like checkered patterned Amphisbaena (Squamata, Amphisbaenidae). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 1(2), 51-56.
- Teixeira Junior, M., Dal Vechio, F., Recoder, R., Cassimiro, J., De Sena, M. A., & Rodrigues, M. T. (2019). Two New Highland Species of *Amphisbaena* Linnaeus, 1758 (Amphisbaenia, Amphisbaenidae) from Bahia State, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 14(3), 213-232.
- Uetz, P., Freed, P., Aguilar, R. & Hošek, J. (2023). *The Reptile Database*. Recuperado de <http://www.reptile-database.org/>
- Vieira, M. I., Alves, M. L. M. & Fabian-Beurmann, M. E. (1980). Osteologia craniana de *Amphisbaena darwini trachura* Cope, 1885. (Lacertilia, Amphisbaenidae). *Iheringia Serie*

Zoologia, 1980, 107-120.

Villa, A., Kirchner, M., Alba, D.M., Bernardini, F., Bolet, A. & Luján, À.H. *et al.* (2019) Comparative cranial osteology of *Blanus* (Squamata: Amphisbaenia). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 185, 693–716.

Westphal, N., Mahlow, K., Head, J. J. & Müller, J. (2019). Pectoral myology of limb-reduced worm lizards (Squamata, Amphisbaenia) suggests decoupling of the musculoskeletal system during the evolution of body elongation. *BMC evolutionary biology*, 19, 1-23.

3. CAPÍTULO 2: VARIAÇÃO CRANIANA INTRAESPECÍFICA EM UMA ANFISBÊNIA SUL-AMERICANA, *AMPHISBAENA VERMICULARIS* (SQUAMATA: AMPHISBAENIDAE)

3.1 INTRODUÇÃO

Os répteis da ordem Squamata representam um dos grupos mais diversos de vertebrados do planeta, compreendendo aproximadamente 11.670 espécies descritas de lagartos, serpentes e anfisbênias (Uetz *et al.*, 2023). Os Squamata estão distribuídos por diferentes habitats, como ambientes marinhos, aquáticos, subterrâneos, terrestres e arbóreos, onde exibem uma ampla variedade de formas corporais, desde membros bem desenvolvidos até a ausência deles. Essa diversidade de adaptações morfológicas relacionadas a nichos ecológicos específicos se manifesta em sua estrutura corporal de forma geral, assim como na anatomia craniana (Palci *et al.*, 2020).

As anfisbênias (Amphisbaenia) são um clado peculiar dentro dos Squamata. Elas possuem corpos serpentiformes, com escamas dispostas em anéis, ausência de membros externos (exceto pelo gênero *Bipes*) e apresentam olhos reduzidos (Costa & Garcia, 2019; Gans, 1974a, 1978). As anfisbênias são encontradas em regiões tropicais e subtropicais da África, Europa, Caribe, América do Norte e América do Sul, atualmente conhecidas por englobar 201 espécies em todo o mundo (Longrich *et al.*, 2015; Uetz *et al.*, 2023). Por serem animais que utilizam a cabeça como principal instrumento de escavação, a anatomia craniana é crucial para a compreensão da sua biologia. A notável robustez e ossificação dos crânios das anfisbênias estão diretamente relacionadas aos seus ambientes subterrâneos, influenciando significativamente sua capacidade de escavação, moldando seu nicho ecológico (Gans, 1974b; Kearney, 2003; Navas *et al.*, 2004).

As Amphisbaenia apresentam diversos formatos de cabeça que refletem sua estrutura craniana subjacente, classificada em quatro morfotipos: redonda, quilha, cunha e pá (Gans, 1968; Kearney, 2003). Esses morfotipos surgiram de forma convergente na evolução do grupo, sugerindo pressões seletivas semelhantes que influenciam os crânios em diferentes cladogramas. Ainda não está claro como essas pressões seletivas e fatores como ontogenia e dimorfismo sexual impactam a diversificação, já que poucas espécies de anfisbênias foram investigadas quanto à variação intraespecífica no crânio (por exemplo, Hawkins *et al.*, 2022; Hipsley *et al.*, 2016; Hohl *et al.*, 2023).

Neste estudo, utilizamos a tomografia computadorizada de raios X, ou *CT-scan*, para gerar modelos cranianos 3D para análise de morfometria geométrica de espécimes de

Amphisbaena vermicularis Wagler, 1824, um membro da Amphisbaenidae. Embora essa espécie possua ampla distribuição, ocorrendo do nordeste do Brasil ao leste da Bolívia (Guedes, Costa & Moura, 2020), ainda é pouco estudada quanto a anatomia craniana. Análises morfológicas externas sugerem que os machos de *A. vermicularis* possuem cabeças proporcionalmente maiores do que as fêmeas (H. Costa, dados não publicados), mas isso ainda precisa ser determinado em uma estrutura geométrica. No Capítulo 1 desta dissertação, foram identificadas diferenças notáveis na anatomia craniana de três indivíduos de *A. vermicularis*. Essas diferenças foram particularmente evidentes entre machos e a única fêmea da amostra, mas também se destacaram ao comparar a fêmea com um dos machos analisados. O objetivo central do Capítulo 2 é, portanto, verificar se existe dimorfismo sexual no formato do crânio em *A. vermicularis*, explorando a variação intraespecífica na osteologia craniana, a partir de uma amostra maior de espécimes. Além do dimorfismo sexual, os resultados deste capítulo fornecerão uma compreensão mais abrangente da morfologia das anfisbênias, incluindo a diversidade em nível populacional.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

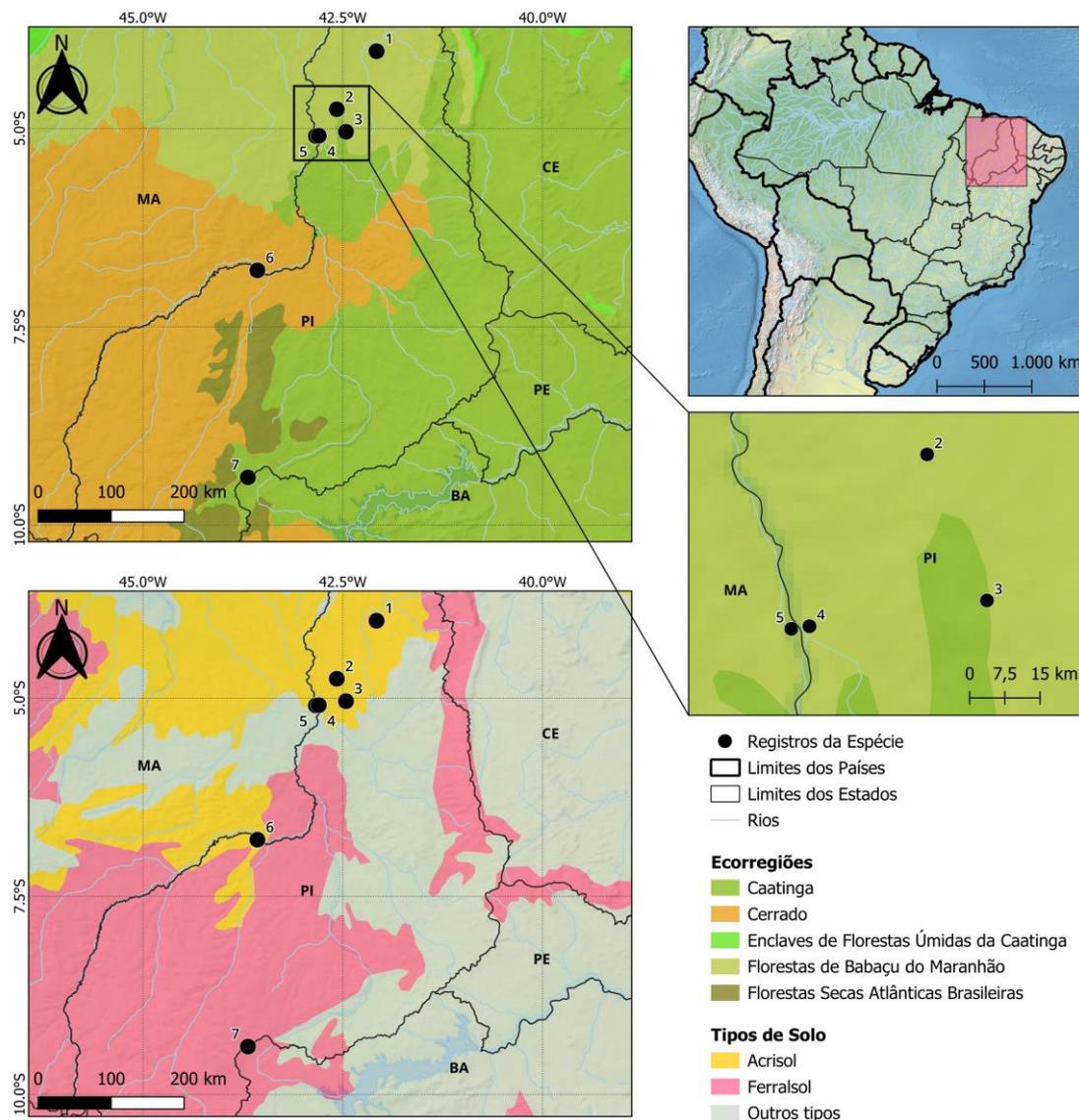
3.2.1 Coleta de dados

Examinamos 26 espécimes preservados de *Amphisbaena vermicularis* depositados na Coleção de História Natural da Universidade Federal do Piauí (CHNUFPI). Este conjunto incluía 10 fêmeas e 16 machos coletados em sete municípios nos estados do Piauí e Maranhão (Figura 6). Detalhes sobre local de coleta, sexo, comprimento rostro-cloacal (CRC) e identificação de voucher para cada espécime estão listados na Tabela 2. Quando os exemplares não foram preservados com hemipênis evertidos, foi feita uma pequena incisão na região ventral para determinação do sexo por meio do exame das gônadas. O CRC foi medido usando um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm.

As localidades que correspondem aos espécimes abrangem as ecorregiões (Dinerstein *et al.*, 2017) Caatinga e Cerrado. O Cerrado, situado em extensos planaltos de 500 a 1.700 metros de altitude, apresenta um cenário tropical sazonal com precipitação média anual entre 1.250 e 2.000 mm, e temperaturas variando de 20° a 26°C. Sua vegetação diversificada vai de campos abertos a densas florestas, proporcionando uma paisagem variada. A Caatinga, destacando-se como a maior região de floresta seca da América do Sul, mantém complexas fronteiras com o Cerrado, Mata Atlântica e Amazônia, promovendo um significativo

intercâmbio biótico. A vegetação heterogênea da Caatinga inclui desde arbustos baixos (até 1 metro) em solos arenosos rasos até florestas altas (25 a 30 metros) em solos eutróficos derivados de rochas básicas. O clima é quente e seco, com longos períodos de seca, registrando uma precipitação média anual entre 250 e 1.000 mm, e temperaturas médias anuais entre 24° e 26°C. Essas características distintas revelam a riqueza e complexidade desses ecossistemas, essenciais para a biodiversidade regional (Dinerstein *et al.*, 2017).

Figura 8 - Localidades de coleta dos espécimes de *Amphisbaena vermicularis* usados neste estudo. Cada ponto preto representa uma população: 1, Batalha; 2, José de Freitas; 3, Altos; 4, Teresina; 5, Timon; 6, Guadalupe; 7, Guaribas. Abreviações: BA, Bahia; CE, Ceará; MA, Maranhão; PE, Pernambuco; PI, Piauí. O mapa foi gerado no software QGis versão 3.30.2.



Fonte: Elaborado por Henrique J. Oliveira (2023).

Tabela 2 – Informações sobre os espécimes de *Amphisbaena vermicularis* utilizados neste estudo.

Abreviações: F, fêmea; M, macho; CRC, comprimento rostro-cloacal; MA, Maranhão; PI, Piauí.

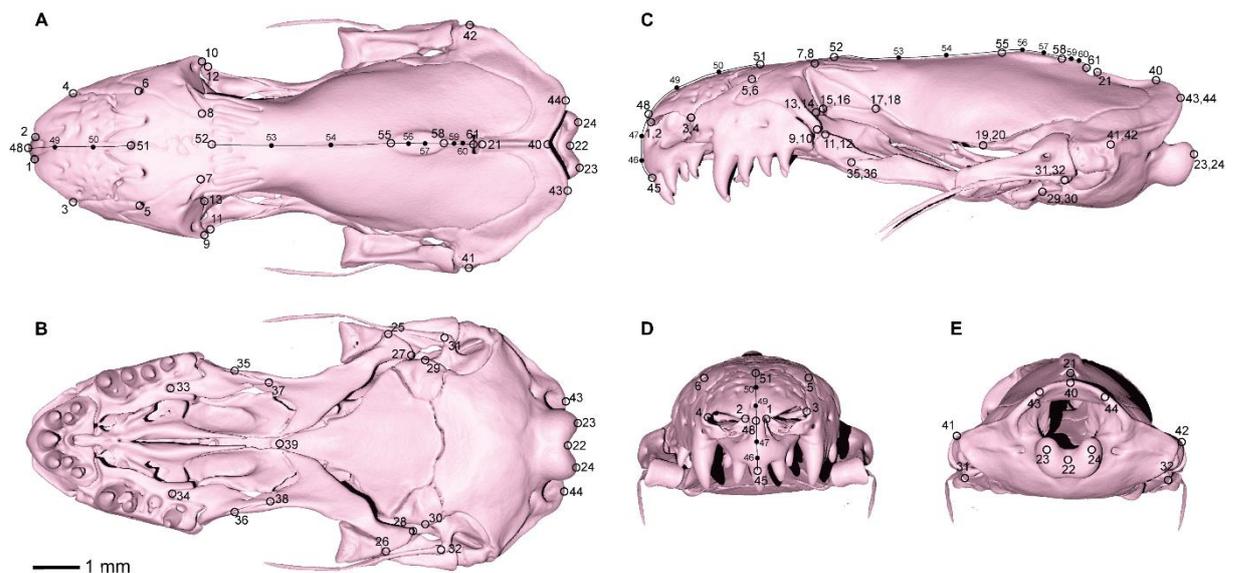
Espécime	Sexo	CRC (mm)	País	Estado	Município	Latitude	Longitude
CHNUFPI 0722	F	207	Brasil	PI	Batalha	-4,0239	-42,0778
CHNUFPI 0741	F	180	Brasil	MA	Timon	-5,0939	-42,8369
CHNUFPI 0745	F	193	Brasil	PI	José de Freitas	-4,7558	-42,5758
CHNUFPI 0746	M	220	Brasil	PI	José de Freitas	-4,7558	-42,5758
CHNUFPI 0747	M	227	Brasil	PI	Altos	-5,0389	-42,4608
CHNUFPI 0748	F	215	Brasil	PI	Altos	-5,0389	-42,4608
CHNUFPI 0766	M	211	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0767	M	257	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0769	F	250	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0770	M	245	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0771	F	220	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0772	M	253	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0773	M	217	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0774	M	227	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0775	M	212	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0776	F	195	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0777	F	236	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0778	F	217	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0779	M	235	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0780	M	238	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0781	M	250	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0790	F	223	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0791	M	255	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0792	M	262	Brasil	PI	Guadalupe	-6,7869	-43,5689
CHNUFPI 0797	M	215	Brasil	PI	Guaribas	-9,3978	-43,6869
CHNUFPI 0798	M	180	Brasil	PI	Teresina	-5,0889	-42,8019

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

As amostras foram removidas do etanol e colocadas em plástico bolha para aumentar a estabilidade durante a tomografia computadorizada. As varreduras foram realizadas no Centro de Imagens 3D da Universidade Técnica da Dinamarca, usando um sistema de TC de raios X Nikon XT H 225 com 90 kV, 260 μ A e tempo de exposição de 1 s em 1572 imagens. As imagens foram reconstruídas usando o software X-Tek CT Pro 3D (Nikon Metrology, Hertfordshire, Reino Unido) para obter um tamanho de voxel de 16,9-21,9 μ m. Para todos os espécimes, o crânio foi separado do corpo e extraído como um arquivo de malha *Polygon File Format* (ply) no VGStudio Max 3.1.2 (Volume Graphics, Heidelberg, Alemanha).

Para capturar adequadamente o formato do crânio das anfisbênias, usamos uma combinação de marcos anatômicos e curvas nas malhas 3D (Figura 7). Os marcos anatômicos correspondem a uma localização anatômica específica, enquanto as curvas criam uma série de pseudomarcos colocadas de forma equidistante ao longo da curva designada. Sessenta e um marcos (44 marcos anatômicas e 2 curvas de 7 e 10 marcos cada) foram colocadas digitalmente nos crânios no software Stratovan Checkpoint (Stratovan Corporation), totalizando 183 marcos em três dimensões (Figura 7; Tabela 3). Os dados finais dos marcos de referência foram exportados como coordenadas x, y e z, que foram usadas como variáveis brutas nas análises abaixo.

Figura 9 – Localizações dos marcos anatômicos de referência (*landmarks*) no crânio de *Amphisbaena vermicularis* em (A) vista dorsal, (B) vista ventral, (C) vista lateral esquerda, (D) vista anterior e (E) vista posterior. Barra de escala = 1 mm. Os círculos vazios representam marcos de referência fixos e os círculos preenchidos representam semilandmarks deslizantes das curvas.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Tabela 3 - Descrição dos locais dos marcos de referência (*landmarks*). Os marcos de referência 45 a 61 representam curvas, com marcos de referência deslizantes.

Landmark	Osso	Descrição
1	Nasal	Ponto anteromedial esquerdo
2	Nasal	Ponto anteromedial direito
3	Nasal	Ponto anterolateral esquerdo
4	Nasal	Ponto anterolateral direito
5	Maxila	Processo pósterodorsal da maxila esquerda
6	Maxila	Processo pósterodorsal da maxila direita
7	Pré-frontal	Processo pósterodorsal do pré-frontal esquerdo
8	Pré-frontal	Processo pósterodorsal do pré-frontal direito
9	Pré-frontal	Processo pósterolateral do pré-frontal esquerdo
10	Pré-frontal	Processo pósterolateral do pré-frontal direito
11	Ectopterigóide	Ponta anterodorsal do ectopterigóide esquerdo
12	Ectopterigóide	Ponta anterodorsal do ectopterigóide direito
13	Pré-frontal	Ponta pósterovernal do pré-frontal esquerdo
14	Pré-frontal	Ponta pósterovernal do pré-frontal direito
15	Frontal	Ponta pósterovernal do frontal esquerdo
16	Frontal	Ponta pósterovernal do frontal direito
17	Frontal	Processo pósterolateral do frontal esquerdo
18	Frontal	Processo pósterolateral do frontal direito
19	Complexo occipital	Ponta frontal esquerda
20	Complexo occipital	Ponta frontal direita
21	Complexo occipital	Ponta anterior do processo ascendente
22	Complexo occipital	Sulco medial do côndilo occipital
23	Complexo occipital	Elevação esquerda do côndilo occipital
24	Complexo occipital	Elevação direita do côndilo occipital
25	Pterigóide	Borda lateral esquerda do processo posterior
26	Pterigóide	Borda lateral direita do processo posterior
27	Pterigóide	Borda posterior esquerda do processo posterior
28	Pterigóide	Borda posterior direita do processo posterior
29	Elemento-X	Curvatura lateral esquerda máxima
30	Elemento-X	Curvatura lateral direita máxima
31	Estribo	Ponta ventral do processo esquerdo
32	Estribo	Ponta ventral do processo direito
33	Ectopterigóide	Processo anterior esquerdo
34	Ectopterigóide	Processo anterior direito
35	Pterigóide	Ponta do processo anterior esquerdo
36	Pterigóide	Ponta do processo anterior direito
37	Ectopterigóide	Processo posterior esquerdo
38	Ectopterigóide	Processo posterior direito
39	Parabasisfenóide	Processo anterior

40	Complexo occipital	Sulco medial
41	Complexo occipital	Curvatura máxima esquerda em vista dorsal
42	Complexo occipital	Curvatura máxima direita em vista dorsal
43	Complexo occipital	Curvatura posterior esquerda máxima em vista dorsal
44	Complexo occipital	Curvatura posterior direita máxima em vista dorsal
45-48	Pré-maxila	Dente medial até o processo ascendente no nível nasal
48-51	Pré-maxila	Processo ascendente no nível nasal até a ponta do processo nasal
51	Pré-maxila	Ponta do processo nasal
52-55	Parietal	Parte anterior à parte anterior da crista parietal
55-58	Parietal	Parte anterior até a parte posterior da crista parietal
58-61	Parietal	Parte posterior da crista parietal até a parte posterior
61	Parietal	Parte posterior da crista parietal

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

2.2.2 Análises de morfometria geométrica

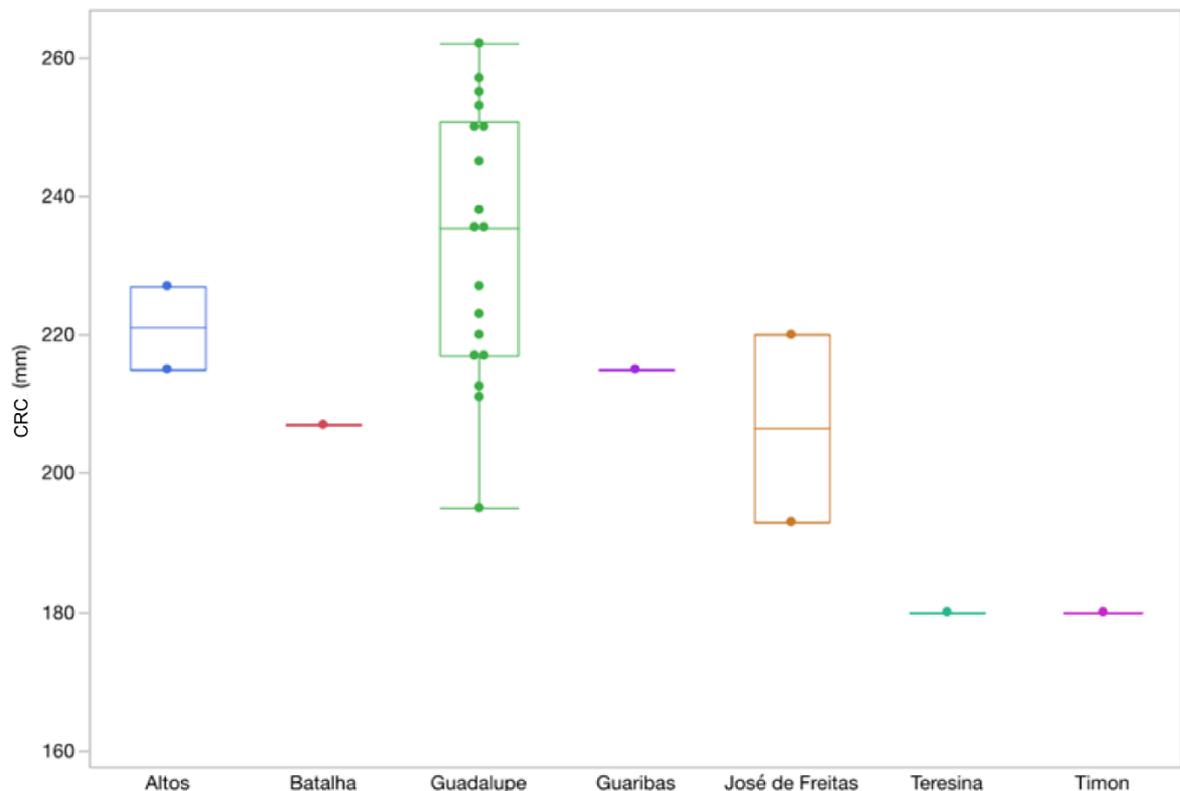
Todas as análises foram realizadas no software MorphoJ (Klingenberg, 2011). Primeiramente, os dados foram padronizados através do ajuste generalizado de Procrustes, removendo assim a variação de escala, localização e orientação entre os espécimes (Klingenberg *et al.*, 2002). O efeito do tamanho na forma craniana individual foi testado por meio de regressão linear, com o tamanho do centroide, estimado como a raiz quadrada das distâncias quadradas somadas de cada ponto de referência a partir do centroide de sua configuração, usado como indicador do tamanho da cabeça. A variação geral do crânio foi visualizada usando a análise de componentes principais (PCA). Os efeitos do sexo e da localidade sobre o formato do crânio foram testados usando uma ANOVA de Procrustes. Para todos os testes estatísticos, foram executadas 10.000 permutações para estimar a significância.

3.3 RESULTADOS

O comprimento rostro-cloacal (CRC) variou entre as localidades (análise de variância unidirecional (*one-way ANOVA*) df 6, $F=3.08$, $p=0.028$), sendo os indivíduos de Guadalupe os maiores e os de Teresina e Timon os menores (Figura 8). O tamanho do centroide foi fortemente correlacionado com o CRC ($R^2=0.881$, $p<0.001$), o que significa que 88% da variação no tamanho do centroide pode ser prevista pelo comprimento corporal. No entanto, a

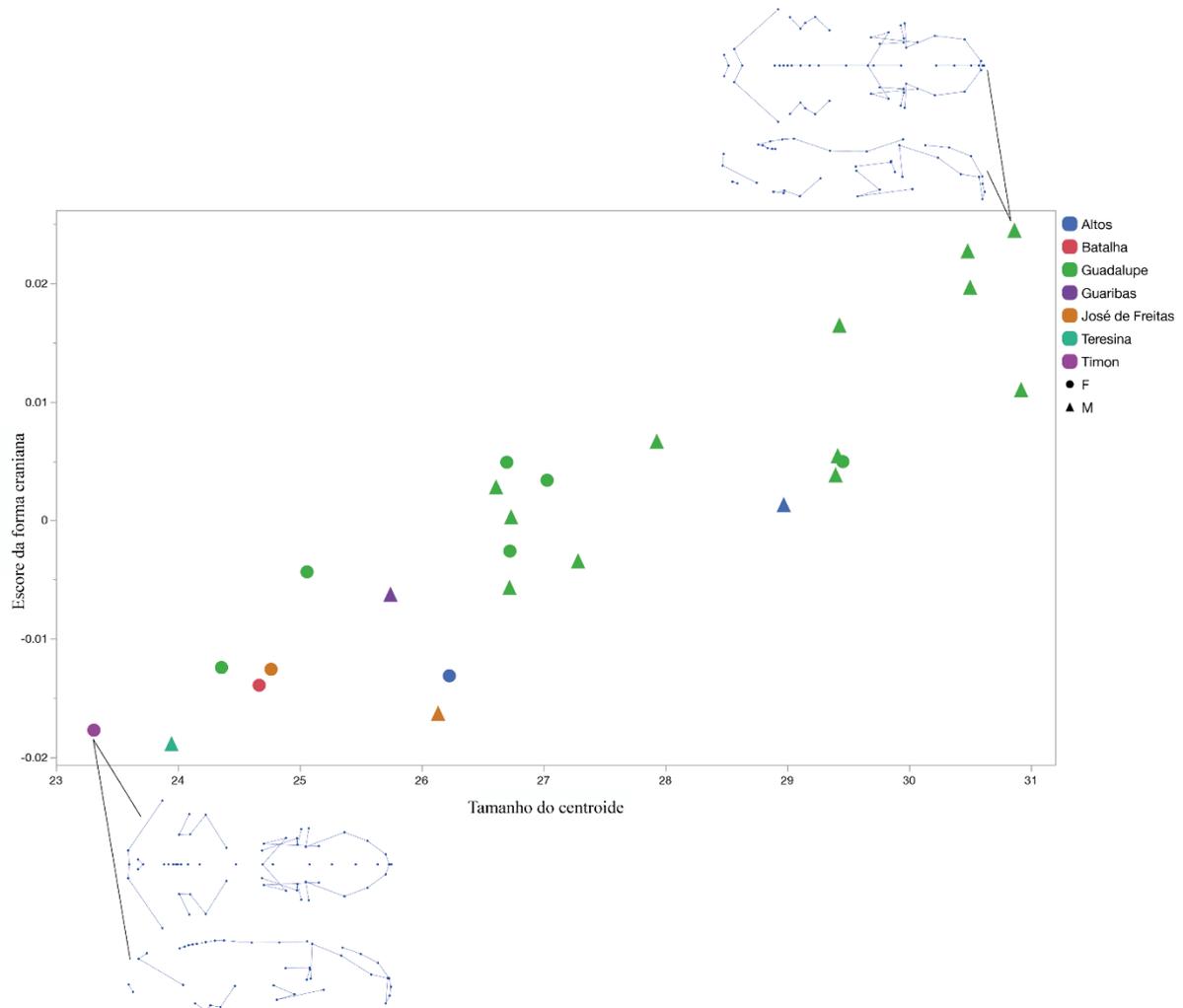
forma craniana foi apenas moderadamente correlacionada tanto com o CRC ($R^2=0.106$, $p=0.0009$) quanto com o tamanho do centroide ($R^2=0.113$, $p<0.0005$). Os machos e as fêmeas se sobrepõem na forma do crânio, embora os machos tendam a ser maiores e, portanto, tenham crânios mais longos e mais estreitos (Figura 9). As alterações na forma, relacionadas ao tamanho, impactam principalmente as regiões anterior e medial do crânio. Conforme os crânios se alongam em comprimento, observa-se um estreitamento lateromedial nessas regiões. Nos machos, a parte anterior do focinho tende a se prolongar, enquanto nas fêmeas essa região, especialmente nos ossos da pré-maxila, maxila e nasal apresentam um comprimento menor. Na vista lateral, o osso parietal parece mais plano ao observar o crânio na menor extremidade dos eixos, no entanto, ao analisá-lo na maior extremidade dos eixos, a parte média do crânio tende a estreitar em vista anterodorsal (Figura 9).

Figura 10 – Diagramas de caixa (*box plots*) apresentando a variação do comprimento rostro-cloacal (CRC) entre as populações de *Amphisbaena vermicularis*. Os pontos representam indivíduos.



Fonte: Elaborado por Christy A. Hipsley (2023).

Figura 11 - Relação entre a forma do crânio e o tamanho do centroide. Os pontos coloridos representam indivíduos de diferentes localidades, com as fêmeas demonstradas em círculos e os machos em triângulos. As formas cranianas nos extremos de menor e maior tamanho são mostradas ao longo do eixo x nas vistas dorsal (superior) e lateral esquerda (inferior).

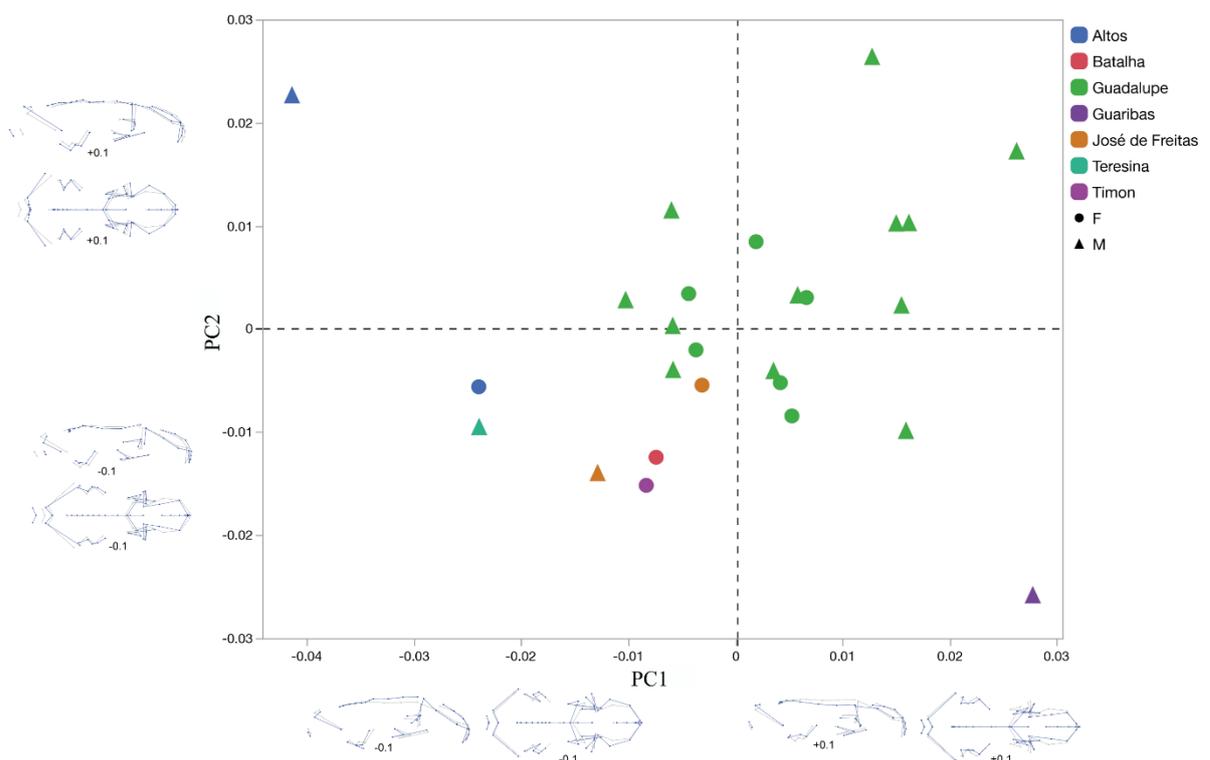


Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Mais da metade da variação total na forma do crânio foi explicada pelos quatro primeiros eixos de componentes principais (PC), com PC1 explicando 22,8% e PC2 13,4%. As fêmeas de *A. vermicularis* tendem a se agrupar no centro do morfoespaço PC1-PC2, enquanto os machos são mais dispersos (Figura 10). As pontuações de PC1 dos espécimes não foram correlacionadas com o tamanho do centroide ($R^2=0,10$, $p=0,112$), enquanto as pontuações de PC2 foram ($R^2=0,512$, $p<0,001$). A variação ao longo da PC1 mostra uma transição de crânios mais largos para crânios mais estreitos, do lado negativo para o lado positivo do eixo. As amostras com escores negativos tenderam a ter o focinho e a região occipital mais largos, bem como uma região média do crânio mais alta na vista lateral,

especialmente no osso parietal e no osso frontal. Por outro lado, as amostras com escores positivos tenderam a ter um crânio mais estreito, especialmente nas regiões do focinho e do osso parietal (Figura 10). A variação ao longo do eixo PC2 mostra uma transição de crânios mais estreitos para crânios mais largos, do lado negativo para o lado positivo do eixo. As amostras com escores negativos tendem a ter crânios longos e estreitos, enquanto as amostras com escores positivos tendem a ter crânios mais curtos e mais largos, especialmente nas regiões do focinho como um todo também na região occipital (Figura 10).

Figura 12 – Gráfico de dispersão do primeiro par de componentes principais (PC1 vs. PC2), ilustrando a variação morfológica no crânio de *Amphisbaena vermicularis*. Os pontos coloridos representam indivíduos de diferentes localidades, com as fêmeas mostradas em círculos e os machos em triângulos. As formas cranianas nos extremos de cada eixo são mostradas por *wireframes* de marcos de referência em vistas dorsal e lateral. Nos *wireframes*, as linhas cinzas refletem a forma média, enquanto as variações ao longo do eixo são destacadas em azul.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Os espécimes da localidade de Guadalupe estão agrupados principalmente no lado positivo do PC1, com o único indivíduo de Guaribas situado mais positivamente ao longo do PC1, porém mais negativamente no PC2. Os espécimes das outras cinco localidades estão principalmente no quadrante negativo tanto de PC1 quanto de PC2, com exceção de um

espécime macho de Altos situado no lado positivo de PC2. Esse macho está distante no morfoespaço da fêmea da mesma localidade, mais próxima do macho (e único indivíduo da amostra) de Teresina. As três localidades restantes (Batalha, José de Freitas e Timon) formam um agrupamento próximo ao centro inferior do morfoespaço craniano (Figura 10).

A ANOVA de Procrustes mostrou que o tamanho do centroide, usado como indicador do tamanho do crânio, foi significativamente diferente entre os sexos ($F=5,53$; $p=0,0272$), enquanto a forma do crânio não foi ($F=1,17$; $p=0,1195$). Por outro lado, o tamanho do centroide não diferiu significativamente entre as populações ($F=2,12$; $p=0,0980$), enquanto o formato do crânio diferiu ($F=1,46$; $p<0,0001$). Os tamanhos das amostras dentro das populações eram muito baixos para realizar comparações entre pares; portanto, testamos as diferenças entre os indivíduos da população de Guadalupe ($n=18$) e todos os outros ($n=8$). A ANOVA de Procrustes revelou diferenças estatísticas no tamanho do centroide ($F=10,19$; $p=0,0039$) e no formato do crânio ($F=3,25$; $p<0,0001$) entre esses agrupamentos.

3.4 DISCUSSÃO

O estilo de vida fossorial das anfisbênias exige adaptações em toda a sua estrutura corporal, incluindo especializações cranianas para escavação do solo, influenciando o nicho ecológico da espécie (Gans, 1974a; Kearney, 2003; Navas *et al.*, 2004). Apesar da estrutura osteológica do crânio fornecer muitos dos traços morfológicos usados na classificação dos Squamata (por exemplo, Conrad, 2008; Gauthier *et al.*, 2012), ainda há uma lacuna considerável de conhecimento sobre a variação intraespecífica nos crânios das anfisbênias, o que limita nossa compreensão de suas relações evolutivas e ecologia. Utilizando exames tridimensionais de tomografia computadorizada, verificamos a variação na forma do crânio de *Amphisbaena vermicularis*, para identificar diferenças relacionadas ao dimorfismo sexual e à variação associada às localidades de coleta.

Nossos resultados revelam que não há evidências de dimorfismo sexual no crânio, pois tanto os espécimes machos quanto as fêmeas de *Amphisbaena vermicularis* aqui estudados apresentaram sobreposição na forma, apesar da tendência dos machos em possuírem crânios ligeiramente maiores e mais estreitos. Entretanto, foram observadas diferenças na forma do crânio entre espécimes de localidades distintas, conforme indicado pela PCA e ANOVA de Procrustes. Com base em nossos resultados, concluímos que a osteologia craniana de *A. vermicularis* é altamente conservada, com a maioria das alterações ocorrendo nos segmentos anterior e intermediário. A variação dentro da espécie mostrou uma correlação significativa

com a localização geográfica, principalmente quando comparamos os indivíduos de Guadalupe com os das outras seis localidades analisadas.

A configuração craniana é notavelmente uma das características mais dimórficas em lagartos (Olsson *et al.*, 2002), sendo que os machos geralmente apresentam crânios maiores, associados a um maior sucesso na competição entre indivíduos do mesmo sexo (Anderson & Vitt, 1990; Vitt & Cooper, 1985). Nas anfisbênias, o segmento anterior do crânio, ou segmento do focinho, destaca-se como a região mais variável devido ao seu papel crucial no processo de escavação (Gans & Montero, 2008). No entanto, as evidências de dimorfismo sexual em anfisbênias, conforme discutido por Hipsley *et al.* (2016), são diversas. As observações mostram que os machos podem ser maiores do que as fêmeas, as fêmeas maiores do que os machos ou os sexos podem apresentar tamanhos semelhantes, tanto no corpo quanto no crânio. Um estudo anterior cita a ausência de dimorfismo sexual no CRC em *A. vermicularis* (Costa, 2018 [dados não publicados]), mas encontrou dimorfismo sexual em 16 medidas morfométricas na cabeça, com machos apresentando valores maiores, incluindo o comprimento e a largura da cabeça *A. vermicularis* (Costa, 2018 [dados não publicados]). Embora os espécimes em nosso estudo exibam sobreposição na forma do crânio entre machos e fêmeas, foi observado que os machos possuíam um crânio mais estreito lateralmente e mais comprido.

Enquanto o crânio mais comprido dos machos concorda com os dados disponíveis sobre eles terem maior comprimento cefálico (Costa, 2018 [dados não publicados] [dados não publicados]), o crânio mais estreito lateralmente, especialmente na região do osso parietal, pode indicar a presença de maior massa muscular adutora da mandíbula (Rieppel, 1979), o que seria um indício de diferenças no nicho alimentar dos dois sexos. Porém, isso deve ser visto com cautela e será necessário testar se os machos de *A. vermicularis* apresentam maior massa muscular no segmento occipital do crânio. Por outro lado, o focinho mais estreito dos machos pode ser atribuído a uma provável maior eficiência da escavação do solo, uma vez que a força de penetração no solo diminuiu à medida em que o focinho se estreita e acumina (Bergmann & Berry, 2021).

Em contraste com o dimorfismo sexual, encontramos diferenças significativas no formato do crânio entre espécimes de diferentes localidades. Nossas observações, porém, foram baseadas em amostras relativamente limitadas de indivíduos por localidade, exceto em Guadalupe. Os espécimes dessa região se agruparam principalmente no lado positivo do PC1, juntamente com o único indivíduo de Guaribas. A variação nos tipos de solo entre essas localidades pode contribuir para as diferenças nas formas cranianas, conforme discutido por

Gans (1968, 1974), Hipsley *et al.* (2016), Kazi e Hipsley (2018) e outros. Com exceção de Guaribas, as localidades de ocorrência dos espécimes analisados são caracterizadas por argissolos (*acrisols*) (FAO *et al.*, 2012), que se distinguem pela presença de uma camada de argila de baixa capacidade de retenção de nutrientes (Gardi *et al.*, 2014). A localidade mais ao sul de Guaribas é caracterizada por latossolos (*ferralsols*), com altas concentrações de óxidos metálicos, especialmente ferro e alumínio. Isso culmina em um solo abundantemente argiloso, caracterizado por estruturas granulares. Como resultado, exibe uma textura mais densa em comparação com os argissolos (FAO *et al.*, 2012; Gardi *et al.*, 2014; ISRIC, 2023; Santos *et al.*, 2018). Guadalupe, a localidade mais meridional da nossa amostra, está na fronteira entre esses dois tipos de solo (Figura 6).

Apesar dos exemplares amostrados procederem de localidades com dois tipos distintos de solo (argissolos e latossolos), nessas áreas a textura da camada mais superficial do solo tende a ser média, variando entre franco arenosa (*sandy loam*) a franco argiloso arenosa (*sandy clay loam*) (FAO *et al.*, 2012). Contudo, é provável que a razão argila/areia difira entre as localidades com predominância de argissolo e latossolo. Essa e outras características físicas do solo próximo à superfície influenciam na largura da cabeça e dos escudos pré-frontais e frontais – associados com os segmentos anterior e intermediário do crânio – em algumas *Amphisbaenia*, incluindo *A. vermicularis* (Fraga *et al.*, 2022). Assim, nossos resultados sugerem que em regiões onde as camadas superiores do solo têm maior proporção de argila, há uma tendência de *A. vermicularis* apresentar um crânio mais estreito, especialmente no segmento anterior, potencialmente aumentando a pressão exercida sobre o solo e facilitando a escavação.

3.5 CONCLUSÃO

Apesar dos avanços recentes na taxonomia das anfisbênias, ainda há uma lacuna significativa nos estudos sobre a anatomia craniana desse grupo. O uso do *CT-scan* tornou as análises dos crânios desses répteis mais acessíveis, pois eles são tipicamente pequenos e difíceis de dissecar (por exemplo, Dal Vechio *et al.*, 2016; Hawkins *et al.*, 2022; Hipsley *et al.*, 2016; Hohl *et al.*, 2023; Villa *et al.*, 2019). Essas investigações podem fornecer informações valiosas sobre a ecologia e a biologia desses animais. Aqui apresentamos a primeira evidência de variação intraespecífica no formato do crânio em *Amphisbaena vermicularis*, mostrando diferenças de tamanho e forma entre os sexos e as populações, respectivamente. Embora nossas análises sejam baseadas em um número limitado de

espécimes, nosso estudo demonstra o valor da abordagem de morfometria geométrica para detectar diferenças intraespecíficas sutis, especialmente em espécies com morfologia conservada. A exploração da variação na estrutura craniana de outras anfisbênias enriquecerá ainda mais nossa compreensão de suas obscuras ecologias fossoriais, contribuindo para nosso conhecimento da diversidade morfológica em *Amphisbaenia* e fortalecendo as hipóteses funcionais e filogenéticas do grupo (Hawkins *et al.*, 2022; Hipsley *et al.*, 2016; Hohl *et al.*, 2023).

3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson, R. A., & Vitt, L. J. (1990). Sexual selection versus alternative causes of sexual dimorphism in teiid lizards. *Oecologia*, 84, 145-157.

Bergmann, P. J., & Berry, D. S. (2021). How head shape and substrate particle size affect fossorial locomotion in lizards. *Journal of Experimental Biology*, 224(11), jeb242244.

Conrad, J. L. (2008). Phylogeny and systematics of Squamata (Reptilia) based on morphology. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 2008(310), 1-182.

Costa, H. C. (2018). Ensaio sobre a sistemática de *Amphisbaenia* Neotropicais (Tese de doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Costa, H., & Garcia, P. (2019). Quem são as anfisbênias? *Revista da Biologia*. <https://www.revistas.usp.br/revbiologia/article/view/157716>

Dal Vechio, F., Teixeira, M., Sena, M., Argôlo, A., Garcia, C., & Rodrigues, M. T. (2016). Taxonomic status and the phylogenetic placement of *Amphisbaena leucocephala* Peters, 1878 (Squamata, Amphisbaenidae). *South American Journal of Herpetology*, 11(3), 157-175.

Dinerstein, E., Olson, D., Joshi, A., Vynne, C., Burgess, N. D., Wikramanayake, E., Hahn, N., Palminteri, S., Hedao, P., Noss, R., Hansen, M., Locke, H., Ellis, E. R., Jones, B., Barber, C. V., Hayes, R., Kormos, C., Martin, V., Crist, E., Sechrest, W., Price, L., Baillie, J. E. M., Weeden, D., Suckling, K., Davis, C., Sizer, N., Moore, R., Thau, D., Birch, T., Potapov, P., Turubanova, S., Tyukavina, A., de Souza, N., Pintea, L., Brito, J. C., Llewellyn, O. A., Miller, A. G., Patzelt, A., Ghazanfar, S. A., Timberlake, J., Klöser, H., Shennan-Farpón, Y., Kindt, R., Lillesø, J. P. B., van Breugel, P., Graudal, L., Voge, M., Al-Shammari, K. F., & Saleem,

M. (2017). An ecoregion-based approach to protecting half the terrestrial realm. *BioScience*, 67(6), 534-545.

FAO, IIASA, ISRIC, ISSCAS, & JRC. (2012). *Harmonized World Soil Database* (version 1.2).

Fraga, R., P. Santos-Jr, A., P. Werneck, F., C. Costa, H., T. Guimarães, J., Perez, R., ... & Ribeiro, S. (2022). The overlooked underground diversity: physical and chemical edaphic structure predict morphological variation in South American amphisbaenians (Squamata: Amphisbaenidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 1-13.

Gans, C. (1968). Relative success of divergent pathways in amphisbaenian specialization. *The American Naturalist*, 102(926), 345-362.

Gans, C. (1974a). New Records of Small Amphisbaenians from Northern South America. *Journal of Herpetology*, 8(3), 273.

Gans, C. (1974b). *Biomechanics: An Approach to Vertebrate Biology*. Philadelphia: J. B. Lippincott Company.

Gans, C. (1978). The characteristics and affinities of the Amphisbaenia. *The Transactions of the Zoological Society of London*.

Gans, C., & Montero, R. (2008). An atlas of amphisbaenian skull anatomy. *Biology of the Reptilia*, 21, 621-738.

Gardi, C., Angelini, M., Barceló, S., Comerma, J., Cruz Gaistardo, C., Encina Rojas, A., ... & Brefim, M. D. L. M. S. (2014). Atlas de suelos de América Latina y el Caribe.

Gauthier, J. A., Kearney, M., Maisano, J. A., Rieppel, O., & Behlke, A. D. (2012). Assembling the squamate tree of life: perspectives from the phenotype and the fossil record. *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History*, 53(1), 3-308.

Guedes, J. J., Costa, H. C., & Moura, M. R. (2020). A new tale of lost tails: Correlates of tail breakage in the worm lizard *Amphisbaena vermicularis*. *Ecology and Evolution*, 10(24), 14247-14255.

Hawkins, R. K., Bell, C. J., Olori, J. C., & Stocker, M. R. (2022). Intraspecific variation in the cranial osteology of *Diplometopon zarudnyi* (Squamata: Amphisbaenia: Trogonophidae). *Journal of Morphology*, 283(10), 1359-1375.

Hipsley, C. A., Rentinck, M. N., Rödel, M. O., & Müller, J. (2016). Ontogenetic allometry constrains cranial shape of the head-first burrowing worm lizard *Cynisca leucura* (Squamata: Amphisbaenidae). *Journal of Morphology*, 277(9), 1159-1167.

Hohl, L. D. S., Azorit, C., Vassallo, A. I., Casinos, A., Machado, A. S., Lopes, R. T., & Rocha-Barbosa, O. (2023). Ontogenetic skull variation in a shovel-headed amphisbaenian species. *Journal of Morphology*, 284(11), e21643.

ISRIC - World Soil Information. 2023. Ferralsols. Recuperado de <https://www.isric.org/explore/world-soil-distribution/ferralsols>

Kazi, S., & Hipsley, C. A. (2018). Conserved evolution of skull shape in Caribbean head-first burrowing worm lizards (Squamata: Amphisbaenia). *Biological Journal of the Linnean Society*, 125(1), 14-29.

Kearney, M. (2003). Systematics of the Amphisbaenia (Lepidosauria: Squamata) based on morphological evidence from recent and fossil forms. *Herpetological Monographs*, 17(1), 1-74.

Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources*, 11(2), 353-357.

Klingenberg, C. P., Barluenga, M., & Meyer, A. (2002). Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution*, 56(10), 1909-1920.

Longrich, N. R., Vinther, J., Pyron, R. A., Pisani, D., & Gauthier, J. A. (2015). Biogeography of worm lizards (Amphisbaenia) driven by end-Cretaceous mass extinction. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1806), 20143034.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). (2024). *Relatório Parametrizado - Unidade de Conservação. Unidade de Conservação: Parque Nacional Serra dos Órgãos*. Secretária de Biodiversidade e Florestas.

<https://sistemas.mma.gov.br/cnuc/index.php?ido=relatorioparametrizado.exibeRelatorio&relatorioPadrao=true&idUc=146>

Navas, C. A., Antoniazzi, M. M., Carvalho, J. E., Chaui-Berlink, J. G., James, R. S., Jared, C., Kohlsdorf, T., Pai-Silva, M. D., & Wilson, R. S. (2004). Morphological and physiological specialization for digging in amphisbaenians, an ancient lineage of fossorial vertebrates. *Journal of Experimental Biology*, 207(14), 2433–2441. <https://doi.org/10.1242/jeb.01041>

Olsson, M., Shine, R., Wapstra, E., Ujvari, B., & Madsen, T. (2002). Sexual dimorphism in lizard body shape: the roles of sexual selection and fecundity selection. *Evolution*, 56(7), 1538-1542.

Palci, A., Caldwell, M. W., Hutchinson, M. N., Konishi, T., & Lee, M. S. (2020). The morphological diversity of the quadrate bone in squamate reptiles as revealed by high-resolution computed tomography and geometric morphometrics. *Journal of anatomy*, 236(2), 210-227.

Rieppel, O. (1979). The external jaw adductor of amphisbaenids (Reptilia: Amphisbaenia). *Revue Suisse de Zoologie*, 86, 867–876.

Santos, H. G., Jacomine, P. K. T., Anjos, L. H. C., Oliveira, V. A., Lumbreras, J. F., Coelho, M. R., Almeida, J. A., Araujo Filho, J. C., Oliveira, J. B., Cunha, T. J. F. (2018). *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. (5ª ed.). Brasília: Embrapa Solos.

Uetz, P., Freed, P., Aguilar, R. & Hošek, J. (2023). *The Reptile Database*. Recuperado de <http://www.reptile-database.org/>

Villa, A., Kirchner, M., Alba, D. M., Bernardini, F., Bolet, A., Luján, À. H., ... & Delfino, M. (2019). Comparative cranial osteology of *Blanus* (Squamata: Amphisbaenia). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 185(3), 693-716.

Vitt, L. J., & Cooper Jr, W. E. (1985). The evolution of sexual dimorphism in the skink *Eumeces laticeps*: an example of sexual selection. *Canadian Journal of Zoology*, 63(5), 995-1002.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo morfológico, exploramos a anatomia craniana de *Amphisbaena arda* e *Amphisbaena vermicularis*. Apesar de ilustrações anteriores do crânio de *A. vermicularis* já existirem (Dal Vechio *et al.*, 2016; Gans & Montero, 2008), não houve uma descrição minuciosa da osteologia dessa espécie. Em contrapartida, este estudo apresenta a primeira descrição minuciosa do crânio de *A. arda*. Ademais, é a primeira vez que a morfometria geométrica em três dimensões é empregada para analisar o dimorfismo sexual no crânio de *A. vermicularis*.

Adicionalmente, nosso estudo revelou algumas diferenças entre as descrições das espécies, além de variação intraespecífica dentro de *A. vermicularis*, com alguns espécimes exibindo ossos cuja morfologia diferia de seus similares, mas não de *A. arda*. É plausível que o tamanho dos espécimes e as particularidades do solo possam influenciar as diferenças observadas entre *A. arda* e *A. vermicularis*. Isso se deve ao fato de o único exemplar de *A. arda* na nossa amostra ser o maior, além das variações no tipo de solo entre os locais de coleta das duas espécies. No entanto, a variação intraespecífica notada em *A. vermicularis* não parece estar ligada às características do solo, uma vez que todos os espécimes provêm da mesma localidade.

Ademais, constatamos que a osteologia craniana de *Amphisbaena vermicularis* é bastante conservada. Nossos resultados indicam a ausência de evidências de dimorfismo sexual no crânio, já que tanto os machos quanto as fêmeas de *A. vermicularis* estudados aqui demonstraram uma sobreposição na forma, apesar da inclinação dos machos em terem crânios um pouco maiores e mais estreitos. No entanto, observamos variações na forma dos crânios entre as diferentes populações. Essas variações podem estar associadas à dieta, ao tipo de solo e eficiência na escavação do solo.

A condução de estudos morfológicos adicionais, unindo a osteologia craniana à análise miológica, pode contribuir para elucidar em que medida a morfologia craniana de *Amphisbaena arda* se relaciona com a variação intraespecífica observada em *Amphisbaena vermicularis*. Além de mais estudos envolvendo mais espécimes de diferentes localidades em *A. vermicularis*. Estudos envolvendo tomografia computadorizada, tem se tornados mais rápidos e acessíveis para o preenchimento de lacunas quanto à ecologia, biologia e taxonomia das anfisbênias. Mesmo com esses avanços recentes na taxonomia das anfisbênias, a anatomia craniana desse grupo permanece pouco explorada. A investigação detalhada da anatomia craniana é crucial para identificar homologias e aprofundar a compreensão da história

evolutiva desse conjunto, já que a evolução das formas de cabeça em *Amphisbaenia* revela-se mais complexa do que se supunha anteriormente. Os resultados aqui apresentados contribuem para suprir a escassez de informações morfológicas das espécies aqui estudadas, *A. arda* e *A. vermicularis*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade, D., Nascimento, L., & Abe, A. (2006). Habits hidden underground: a review on the reproduction of the *Amphisbaenia* with notes on four neotropical species. *Amphibia-Reptilia*, 27(2), 207-217.

Baab, K. L., Perry, J. M., Rohlf, F. J., & Jungers, W. L. (2014). Phylogenetic, ecological, and allometric correlates of cranial shape in Malagasy lemuriforms. *Evolution*, 68(5), 1450–1468.

Bolet, A., Delfino, M., Fortuny, J., Almecija, S., Robles, J. M., & Alba, D. M. (2014). An amphisbaenian skull from the European Miocene and the evolution of Mediterranean worm lizards. *PLoS One*, 9(6), e98082.

Costa, H., & Garcia, P. (2019). Quem são as anfisbêneas? *Revista da Biologia*. <https://www.revistas.usp.br/revbiologia/article/view/157716>

Dal Vechio, F., Teixeira, M., Sena, M., Argôlo, A., Garcia, C., & Rodrigues, M. T. (2016). Taxonomic status and the phylogenetic placement of *Amphisbaena leucocephala* Peters, 1878 (Squamata, Amphisbaenidae). *South American Journal of Herpetology*, 11(3), 157-175.

Dinerstein, E., Olson, D., Joshi, A., Vynne, C., Burgess, N. D., Wikramanayake, E., ... & Saleem, M. (2017). An ecoregion-based approach to protecting half the terrestrial realm. *BioScience*, 67(6), 534-545.

Dumont, M., Wall, C. E., Botton-Divet, L., Goswami, A., Peigné, S., & Fabre, A. C. (2016). Do functional demands associated with locomotor habitat, diet, and activity pattern drive skull shape evolution in musteloid carnivorans?. *Biological Journal of the Linnean Society*, 117(4), 858-878.

Fish, J. L. (2019). *Evolvability of the vertebrate craniofacial skeleton* (Vol. 91). Academic Press.

- Gans, C. (1968). Relative success of divergent pathways in amphisbaenian specialization. *The American Naturalist*. <https://doi.org/10.1086/282548>
- Gans, C. (1969). Los anfisbenios, interesante grupo de reptiles minadores. *Endeavour*, 28, 146-151.
- Gans, C. (1974). New Records of Small Amphisbaenians from Northern South America. *Journal of Herpetology*, 8(3), 273. <https://doi.org/10.2307/1563187>
- Gans, C. (1978). The characteristics and affinities of the Amphisbaenia. *The Transactions of the Zoological Society of London*. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1978.tb00376.x>
- Gans, C. (1990). Patterns in amphisbaenian biogeography: a preliminary analysis. *Vertebrates in the Tropics. Alexander Koenig Zoological Research Institute and Zoological Museum, Bonn*, 133-143.
- Gans, C. (2005). Checklist and bibliography of the Amphisbaenia of the world. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 2005(289), 1-130.
- Gans, C., & Montero, R. (2008). An atlas of amphisbaenian skull anatomy. *Biology of the Reptilia*, 21, 621-738.
- Guedes, J. J., Costa, H. C., & Moura, M. R. (2020). A new tale of lost tails: Correlates of tail breakage in the worm lizard *Amphisbaena vermicularis*. *Ecology and Evolution*, 10(24), 14247-14255.
- Guedes, T. B., Entiauspe-Neto, O. M., & Costa, H. C. (2023). Lista de répteis do Brasil: atualização de 2022. *Herpetologia Brasileira*, 12(1), 56-161.
- Hanken, J., & Thorogood, P. (1993). Evolution and development of the vertebrate skull: The role of pattern formation. *Trends in Ecology & Evolution*, 8, 9–15.
- Herrel, A., Damme, R. V., Vanhooydonck, B., & Vree, F. D. (2001). The implications of bite performance for diet in two species of lacertid lizards. *Canadian Journal of Zoology*, 79(4), 662-670.

Hipsley, C. A., Rentinck, M. N., Rödel, M. O., & Müller, J. (2016). Ontogenetic allometry constrains cranial shape of the head-first burrowing worm lizard *Cynisca leucura* (Squamata: Amphisbaenidae). *Journal of Morphology*, 277(9), 1159-1167.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (2018). *Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume IV - Répteis*. In Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (Org.), Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Brasília: ICMBio.

Kearney, M. (2003). Systematics of the Amphisbaenia (Lepidosauria: Squamata) based on morphological evidence from recent and fossil forms. *Herpetological Monographs*, 17(1), 1–74.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). (2022). *Portaria MMA no 148, de 7 de junho de 2022. Altera os Anexos da Portaria no 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria no 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria no 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Nacional de Espécies Am*. Diário Oficial da União, 108, 74–104.

Navas, C. A., Antoniazzi, M. M., Carvalho, J. E., Chaui-Berlink, J. G., James, R. S., Jared, C., Kohlsdorf, T., Pai-Silva, M. D., & Wilson, R. S. (2004). Morphological and physiological specialization for digging in amphisbaenians, an ancient lineage of fossorial vertebrates. *Journal of Experimental Biology*, 207(14), 2433–2441. <https://doi.org/10.1242/jeb.01041>

Navega-Gonçalves, M. E. C., & de Almeida Benites, J. P. (2019). Amphisbaenia: Adaptações para o modo de vida fossorial. *Revista Brasileira de Zoociências*, 20(2), 1-30.

Navega-Gonçalves, M.E.C. (2009). Anatomia visceral comparada de Amphisbaenidae (Squamata, Amphisbaenia). *Zoologia*, 26(3), 511-526.

Rodrigues, M. T. (2002). Herpetofauna of the quaternary sand dunes of the middle Rio São Francisco, Bahia, Brazil: VIII. *Amphisbaena arda* sp. nov., a fuliginosa-like checkered patterned *Amphisbaena* (Squamata, Amphisbaenidae). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 1(2), 51-56.

Teixeira Junior, M., Dal Vechio, F., Recoder, R., Cassimiro, J., De Sena, M. A., & Rodrigues, M. T. (2019). Two New Highland Species of *Amphisbaena* Linnaeus, 1758 (Amphisbaenia,

Amphisbaenidae) from Bahia State, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 14(3), 213-232.

Uetz, P, Freed, P, Hošek, J. 2023. *The Reptile Database*. Disponível em: <http://www.reptile-database.org/>. Acesso em: 23 de junho de 2023.

Vidal, N., Azvolinsky, A., Cruaud, C., & Hedges, S. B. (2008). Origin of tropical American burrowing reptiles by transatlantic rafting. *Biology letters*, 4(1), 115-118.