

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO

ISAELLY CAROLINA MARTINS SILVA

**DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR E FISIOLOGIA TÉRMICA  
DAS COBRAS-CORAIS DE ALAGOAS (*Micrurus ibiboboca* MERREM, 1820)**

MACEIÓ

2022

ISAELLY CAROLINA MARTINS SILVA

**DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR E FISIOLOGIA TÉRMICA  
DAS COBRAS-CORAIS DE ALAGOAS (*Micrurus ibiboboca* MERREM, 1820)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Tamí Mott

Coorientador: Dr. Lywouty Nascimento

MACEIÓ

2022

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S586d Silva, Isaelly Carolina Martins.  
Diversidade morfológica e molecular e fisiologia térmica das cobras-  
corais de Alagoas (*Micrurus ibiboboca* MERREM, 1820) / Isaelly Carolina  
Martins Silva. – 2022.  
48 f. : il. color.

Orientadora: Tamí Mott.

Coorientador: Lywouty Nascimento.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas:  
Bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências  
Biológicas e da Saúde. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 38-40.

Apêndices: f. 41-48.

1. Cobras corais. 2. *Micrurus ibiboboca* - Alagoas. 3. Taxonomia  
integrativa. 4. Morfologia externa. 5. Fisiologia térmica. I. Título.

CDU: 57: 598.12 (813.5)

# FOLHA DE APROVAÇÃO

ISAELLY CAROLINA MARTINS SILVA

## DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR E FISIOLOGIA TÉRMICA DAS COBRAS-CORAIS DE ALAGOAS (*Micrurus ibiboboca* MERREM, 1820)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

### Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 TAMI MOTT  
Data: 04/01/2023 13:12:24-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Orientadora: Profa. Dra. Tamí Mott  
(Universidade Federal de Alagoas)

Documento assinado digitalmente  
 JESSIKA MARIA DE MOURA NEVES  
Data: 04/01/2023 14:37:25-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Examinadora: Dra. Jessika Maria de Moura Neves  
(Universidade Federal de Alagoas)

Documento assinado digitalmente  
 JOAO ALBERTO FARINELLI PANTALEAO  
Data: 04/01/2023 16:59:27-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Examinador: Prof. Dr. João Alberto Farinelli Pantaleão  
(Universidade Federal de Alagoas)

*Aos os meus pais, Cícera e Aldo,  
por me incentivarem a seguir meus sonhos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Cícera e Aldo, por sempre colocarem minha educação em primeiro lugar, além de me permitirem ser quem eu quisesse ser. Eu não estaria aqui sem todo o esforço e o apoio de vocês.

Aos meus tios, Maria e Josivaldo, por me acolherem e me tratarem como uma filha. A generosidade de vocês me permitiu alcançar voos mais altos.

À minha irmã, Yasmim, por sempre ser minha fiel companheira, me mandando vídeos engraçados ou me ligando em horários inconvenientes.

Aos meus primos, Janine e Rodrigo, por sempre me apoiarem e me tratarem como uma irmã mais nova.

Às minhas amigas de graduação, Aminye, Camila, Carla Britto, Carla Moura, Grazielle, Luciana, Roberta, Talita e Thaila, pela amizade, companhia e apoio em todos esses anos.

À minha orientadora, Tamí Mott, pela oportunidade de ingressar no LABI e por todas as outras oportunidades que vieram depois disso. Sou muito grata por todos os aprendizados nos últimos cinco anos.

Ao meu coorientador, Lywouty Nascimento, por ter aceitado embarcar nessa jornada e por ter me ensinado tanto sobre o mundo das cobras-corais.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Biologia Integrativa: Aline, Anny, Karen e Matheus, a ajuda de vocês durante esse trabalho foi essencial, muito obrigada. Bruna, Jessika, João, Marcos, obrigada por todas as vezes que me ajudaram e/ou pararam para me ensinar algo desde que eu entrei no LABI. Sou grata por tudo que vivi e aprendi nesse período.

À Ma. Selma Torquato, curadora da Coleção Herpetológica do Museu de História Natural da UFAL, por sempre ser tão gentil e solícita no empréstimo dos espécimes e nas visitas à coleção.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas, pela bolsa concedida quando fui aluna de Iniciação Científica.

À Universidade Federal de Alagoas, pelo ensino gratuito e de qualidade. Tive incontáveis oportunidades nos meus anos de graduação.

A todos que contribuíram para minha formação, muito obrigada!

*Na ciência, cada resposta faz surgir novas perguntas.*

*- Edward O. Wilson*

## RESUMO

As cobras-corais do Novo Mundo são as únicas representantes da família Elapidae nas Américas. *Micrurus* é o gênero mais especioso, com 80 espécies. *Micrurus ibiboboca* é uma espécie endêmica do Brasil, distribuída por todo o Nordeste, sendo considerada um complexo de espécies. Com esta imprecisão taxonômica, o status de conservação e o quanto que as mudanças climáticas podem impactar esta serpente não puderam ser analisados. Neste estudo, dados morfológicos e moleculares foram utilizados para avaliar a diversidade dentro de *M. ibiboboca* em Alagoas, e a fisiologia térmica da espécie foi descrita. Cento e trinta espécimes de *M. ibiboboca* de 21 municípios de Alagoas foram analisados morfolologicamente. Foram realizadas Análises de Componentes Principais (PCA) para verificar a formação de morfogrupos e Análises de Variância Uni e Multivariadas (ANOVA e MANOVA) para verificar a existência de dimorfismo sexual e variação intraespecífica. Dois hemipênis foram preparados e descritos. Dezesete amostras de tecido muscular ou hepático tiveram o DNA genômico total extraído, e um fragmento do gene mitocondrial ND4 foi amplificado e sequenciado. As sequências foram utilizadas para gerar uma hipótese filogenética através da inferência bayesiana. Para a fisiologia térmica, a temperatura preferencial ( $T_{pref}$ ), temperaturas voluntárias mínima e máxima ( $V_{tmin}$  e  $V_{tmax}$ ), temperaturas críticas mínima e máxima ( $C_{tmin}$  e  $C_{tmax}$ ) foram aferidas e a margem de segurança térmica de dez indivíduos de *M. ibiboboca* foi calculada. Foram identificados dois morfotipos baseados na morfologia externa. Nas PCAs das fêmeas, os morfotipos foram recuperados com segregação no morfoespaço, mas para os machos, não houve segregação entre os morfotipos. O Morfotipo 1 apresentou valores significativos entre machos e fêmeas para sete dos caracteres analisados. O Morfotipo 2 apresentou valores significativos entre machos e fêmeas para dois dos caracteres analisados. As fêmeas apresentaram valores significativos para dois dos caracteres analisados. Os machos apresentaram valores significativos para três dos caracteres analisados. Os hemipênis são curtos e bilobados, ornamentados com espinhos. As diferenças dos hemipênis entre os morfotipos foram a quantidade e formato dos espinhos. *Micrurus ibiboboca* de Alagoas foi recuperada monofilética utilizando os dados moleculares. Os morfotipos não foram recuperados em clados separados na filogenia. Um espécime identificado apenas como *Micrurus* sp. foi recuperado próximo de um indivíduo que se encaixa na diagnose de outra espécie de cobra-coral, *M. potyguara*, sendo o primeiro registro da espécie para o estado de Alagoas. Os indivíduos de *M. ibiboboca* apresentaram  $T_{pref}$  de 23°C,  $V_{tmin}$  e  $V_{tmax}$  de 21°C e 25,3°C, respectivamente e margem de segurança térmica de 4,3°C. A  $C_{tmin}$  foi de 11,2°C e  $C_{tmax}$ , 41°C. Foi possível observar que a espécie pode se tornar vulnerável caso o aquecimento da temperatura terrestre seja de 4,5°C. Os resultados deste estudo ajudam a compreender a diversidade de *M. ibiboboca* em Alagoas e apresentam a primeira descrição da fisiologia térmica da espécie.

Palavras-chave: taxonomia integrativa, serpentes, hemipênis, mudanças climáticas.

## ABSTRACT

New World coral snakes are the only representatives of the Elapidae family in the Americas. *Micrurus* is the most speciose genus, with 80 species. *Micrurus ibiboboca* is an endemic species of Brazil, distributed throughout the Northeast, being considered a complex of species. With this taxonomic imprecision, the conservation status and how much climate change could impact this snake could not be analyzed. In this study, morphological and molecular data were used to assess diversity within *M. ibiboboca* in Alagoas, and the thermal physiology of the species was described. One hundred and thirty specimens of *M. ibiboboca* from 21 municipalities in Alagoas were morphologically analyzed. Principal Component Analyzes (PCA) were performed to verify the formation of morphogroups and Univariate and Multivariate Analyzes of Variance (ANOVA and MANOVA) to verify the existence of sexual dimorphism and intraspecific variation. Two hemipenes were prepared and described. Seventeen samples of muscle or liver tissue had their total genomic DNA extracted, and a fragment of the mitochondrial ND4 gene was amplified and sequenced. The sequences were used to generate a bayesian inference. For thermal physiology, the preferred temperature (T<sub>pref</sub>), minimum and maximum voluntary temperatures (V<sub>tmin</sub> and V<sub>tmax</sub>), minimum and maximum critical temperatures (C<sub>tmin</sub> and C<sub>tmax</sub>) were measured and the thermal safety margin of ten individuals of *M. ibiboboca* was calculated. Two morphotypes based on external morphology were identified. In the female PCAs, the morphotypes were recovered with morphospace segregation, but for males there was no segregation between morphotypes. Morphotype 1 showed significant values between males and females for seven of the analyzed characters. Morphotype 2 showed significant values between males and females for two of the analyzed characters. Females showed significant values for two of the analyzed characters. Males showed significant values for three of the analyzed characters. The hemipenes are short and bilobed, ornamented with spines. The differences between the morphotypes were the number and shape of the spines. *Micrurus ibiboboca* from Alagoas was recovered monophyletic using molecular data. The morphotypes were not recovered in separate clades in the phylogeny. One specimen identified only as *Micrurus* sp. was recovered close to an individual that fits the diagnosis of another species of coral snake, *M. potyguara*, being the first record of the species for the state of Alagoas. Individuals of *M. ibiboboca* presented T<sub>pref</sub> of 23°C, V<sub>tmin</sub> and V<sub>tmax</sub> of 21°C and 25.3°C, respectively, and a thermal safety margin of 4.3°C. C<sub>tmin</sub> was 11.2°C and C<sub>tmax</sub> 41°C. It was possible to observe that the species can become vulnerable if the terrestrial temperature rise by 4.5°C. The results of this study help to understand the diversity of *M. ibiboboca* in Alagoas and present the first description of the thermal physiology of the species.

Keywords: integrative taxonomy, snakes, hemipenis, climate change.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Mapa do estado de Alagoas destacando as localidades cujos espécimes de *Micrurus ibiboboca* foram analisados. 1 = Atalaia; 2 = Barra de Santo Antônio; 3 = Campo Alegre; 4 = Coruripe; 5 = Craíbas; 6 = Flexeiras; 7 = Japaratinga; 8 = Jequiá da Praia; 9 = Maceió; 10 = Marechal Deodoro; 11 = Murici; 12 = Paripueira; 13 = Passo de Camaragibe; 14 = Penedo; 16 = Piranhas; 17 = Quebrangulo; 18 = Rio Largo; 19 = São José da Tapera; 20 = Satuba; 21 = Teotônio Vilela. Mapa: Brian Falcão Farias. Inset Mapa da América do Sul destacando os biomas no Brasil. Em negrito está o estado de Alagoas ..... 21
- Figura 2 - Demonstração de alguns dos caracteres externos merísticos e morfométricos aferidos nos espécimes de *Micrurus ibiboboca* de Alagoas utilizados neste estudo. **A)** porção cranial do dorso; **B)** porção cranial do ventre; **C)** destaque da cauda em vista ventral ..... 23
- Figura 3 - Representantes dos morfotipos de *Micrurus ibiboboca* identificados para o estado de Alagoas. (A) Morfotipo 1 - LABI674, macho, coletado em Maceió - AL; (B) Morfotipo 2 – LABI2211, fêmea, coletado em Maceió – AL ..... 28
- Figura 4 - Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando cinco caracteres merísticos e 19 caracteres morfométricos para os indivíduos fêmeas e machos de *Micrurus ibiboboca* do estado de Alagoas. Em rosa estão os espécimes identificados como Morfotipo 1 (N total=114; N fêmeas=52; N machos=62), e em azul, Morfotipo 2 (N total=16, N fêmeas=12, N machos=4)..... 29
- Figura 5 - Hemipênis direito de *Micrurus ibiboboca* (MHN-UFAL13838), proveniente de Maceió - Alagoas. Espécime identificado como Morfotipo 1. A) Face sulcada. B) Face não sulcada. Comprimento rostro-cloacal= 540 milímetros; Comprimento da cauda: 13 milímetros..... 31
- Figura 6 - Hemipênis direito de *Micrurus ibiboboca* (LABI2232), proveniente de Maceió – Alagoas. Espécime identificado como Morfotipo 2. A) Face sulcada. B) Face não sulcada. Comprimento rostro-cloacal= 640 milímetros; Comprimento da cauda= 42 milímetros..... 32
- Figura 7 - Relações filogenéticas de *Micrurus* spp. estimadas através de uma análise de inferência Bayesiana utilizando um fragmento de 524 pares de base do gene mitocondrial ND4. Valores de probabilidades posteriores acima de 0,95 foram considerados altos e são apresentados na filogenia. Os espécimes em negrito foram sequenciados neste estudo (em

marrom, espécimes próximos a *M. potyguara*; em preto, espécimes identificados como Morfotipo 1; em azul, espécimes identificados como Morfotipo 2 ..... 35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de espécimes de <i>Micrurus ibiboboca</i> analisados por município do estado de Alagoas, Brasil.....	22
Tabela 2 - Comparação entre os valores encontrados neste estudo e os da literatura para os caracteres merísticos de <i>Micrurus ibiboboca</i> e <i>Micrurus potyguara</i> . EV= escamas ventrais; ESC= escamas subcaudais; TriC= tríades no corpo; TriCa= tríades na cauda.....	27
Tabela 3 - Distância genética p intraespecífica para as espécies do gênero <i>Micrurus</i> utilizadas na filogenia apresentada neste estudo. Distância calculada a partir de um fragmento de 524 pares de base do gene mitocondrial ND4. As outras espécies com sequências incluídas neste estudo não estão presentes na tabela por apresentarem apenas uma sequência .....	33
Tabela 4 - Distância genética p interespecífica para algumas das espécies do gênero <i>Micrurus</i> utilizadas na filogenia apresentada neste estudo. Distância calculada a partir de um fragmento de 524 pares de base do gene mitocondrial ND4. Os nomes em negrito representam as sequências geradas neste estudo .....	34
Tabela 5 - Valores em Celsius (°) da Temperatura Preferencial (Tpref), Temperatura Voluntária Mínima (Vtmin), Temperatura Voluntária Máxima (Vtmax), Temperatura Crítica Mínima (Ctmin), Temperatura Crítica Máxima (Ctmax) e Margem de Segurança Térmica de <i>Micrurus ibiboboca</i> .....	35
Tabela 6 - Valores em Celsius (°) da Temperatura Preferencial (Tpref), Temperatura Voluntária Mínima (Vtmin), Temperatura Voluntária Máxima (Vtmax), Temperatura Crítica Mínima (Ctmin), Temperatura Crítica Máxima (Ctmax) e Margem de Segurança Térmica dos Morfotipos 1 e 2.....	36

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ABAPT - Comprimento do anel branco anterior da primeira tríade

ABATM - Comprimento do anel branco anterior à tríade média

ABPPT - Comprimento do anel branco posterior da primeira tríade

ABPTM - Comprimento do anel branco posterior à tríade média

ANOVA - Análise de Variância

APAPT - Comprimento do anel preto anterior da primeira tríade

APATM - Comprimento do anel preto anterior à tríade média

APMPT - Comprimento do anel preto médio da primeira tríade

APMTM - Comprimento do anel preto médio da tríade média

APPPT - Comprimento do anel preto posterior da primeira tríade

APPTM - Comprimento do anel preto posterior à tríade média

AVAPT - Comprimento do anel vermelho anterior da primeira tríade

AVATM - Comprimento do anel vermelho anterior à tríade média

AVPPT - Comprimento do anel vermelho posterior à primeira tríade

AVPTM - Comprimento do anel vermelho posterior à tríade média

CC - Comprimento da cauda

CCa - Comprimento da cabeça

CFP - Distância do focinho até a região anterior do primeiro anel preto

CRC - Comprimento rostro-cloacal

Ctmax - Temperatura crítica máxima

Ctmin - Temperatura crítica mínima

ESC - Número de escamas subcaudais

EV - Número de escamas ventrais

KOH - Hidróxido de potássio

LABI - Laboratório de Biologia Integrativa

MANOVA - Análise de Multivariada de Variância

MHN-UFAL - Museu de História Natural da Universidade Federal de Alagoas

ND4 - NADH desidrogenase subunidade 4

LCa - Largura da cabeça

TC - Número de tríades no corpo

TCa - Número de tríades na cauda

PCA - Análise de Componentes Principais

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PP - Presença ou ausência de pontos pretos no primeiro anel branco do corpo

Tpref - Temperatura preferencial

Vtmax - Temperatura voluntária máxima

Vtmin - Temperatura voluntária mínima

## LISTA DE APÊNDICES

- Apêndice A - Espécimes de *Micrurus ibiboboca* utilizados nos experimentos de fisiologia térmica. LABI= Número do acervo biológico do Laboratório de Biologia Integrativa. MHN-UFAL= acrônimo da Coleção Herpetológica do Museu de História Natural.....41
- Apêndice B - Valores obtidos para os caracteres merísticos de espécimes de *Micrurus ibiboboca* utilizados neste estudo. LABI= Número do acervo biológico do Laboratório de Biologia Integrativa. MHN-UFAL= acrônimo da Coleção Herpetológica do Museu de História Natural. M= machos, F= fêmeas. Os detalhes das siglas de características são mencionados na seção Material e métodos.....41
- Apêndice C - Valores obtidos para os caracteres morfométricos dos espécimes fêmeas (N total=64; N Morfotipo 1=52; N Morfotipo 2=12) de *Micrurus ibiboboca* utilizados neste estudo. Valores estão expressos em milímetros. Os detalhes das siglas de características são mencionados na seção Material e métodos.....44
- Apêndice D - Valores obtidos para os caracteres morfométricos dos espécimes machos (N total=66; N Morfotipo 1=62; N Morfotipo 2=4) de *Micrurus ibiboboca* utilizados neste estudo. Valores estão expressos em milímetros.....45
- Apêndice E - Resultados das Análises de Variância (ANOVA) e Multivariância (MANOVA), realizadas a partir de quatro variáveis merísticas e 19 variáveis morfométricas utilizando o sexo como fator em espécimes de *Micrurus ibiboboca* (Morfotipo 1 n=114, fêmeas=52, machos=62; Morfotipo 2 n=16, fêmeas=12, machos=4) do estado de Alagoas. Valores significativos de *P* (<0,05) estão destacados em negrito. Os valores utilizados para determinar a forma do corpo (MANOVA) foram corrigidos pelo tamanho e a análise foi feita com os resíduos de uma PCA.....46
- Apêndice F - Resultados das Análises de Variância (ANOVA) e Multivariância (MANOVA), realizadas a partir de quatro variáveis merísticas e 19 variáveis morfométricas utilizando o morfotipo como fator em espécimes de *Micrurus ibiboboca* (fêmeas n=64, machos=66) do estado de Alagoas. Valores significativos de *P* (<0,05) estão destacados em negrito. Os valores

utilizados para determinar a forma do corpo (MANOVA) foram corrigidos pelo tamanho e a análise foi feita com os resíduos de uma PCA ..... 46

Apêndice G – Lista das sequências de um fragmento do gene mitocondrial ND4 provenientes do GenBank utilizadas para estimar as relações filogenéticas do gênero *Micrurus* neste estudo..... 47

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
<b>2.1. Objetivo geral</b> .....	<b>20</b>
<b>2.2. Objetivos específicos</b> .....	<b>20</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1. Material analisado</b> .....	<b>21</b>
<b>3.2. Abordagem morfológica</b> .....	<b>22</b>
3.2.1. Morfologia externa .....	22
3.2.2 Morfologia hemipeniana .....	24
<b>3.3. Abordagem molecular</b> .....	<b>24</b>
<b>3.4. Fisiologia térmica</b> .....	<b>25</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>4.1. Abordagem morfológica</b> .....	<b>27</b>
4.1.1 Morfologia externa .....	27
4.1.2. Morfologia hemipeniana .....	30
<b>4.2. Abordagem molecular</b> .....	<b>32</b>
<b>4.3. Fisiologia térmica</b> .....	<b>35</b>
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	<b>37</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>38</b>
<b>APÊNDICES</b> .....	<b>41</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A região Neotropical abriga uma biodiversidade ímpar e possui um alto nível de endemismo (Myers et al., 2000; Roll et al., 2017). Entretanto, estudos com modelagens preditivas revelaram que a diversidade é ainda subestimada (Mora et al., 2011) e existe um elevado potencial para novas espécies de répteis (dentre os vertebrados) serem descobertas nos Neotrópicos (Moura & Jetz, 2021).

Atualmente, 11.940 espécies de répteis (todos os répteis, exceto Aves) já foram descritas (Uetz et al., 2022) e as serpentes representam aproximadamente 34% dessa diversidade (com aproximadamente 4.038 espécies). Dentre as famílias que compõem esse grupo, Elapidae se destaca por ser um clado de 390 espécies (cerca de 10% da diversidade de serpentes atuais) e possuir 61 gêneros de serpentes peçonhentas terrestres e marinhas (Uetz et al., 2022) que se distribuem por áreas tropicais e subtropicais das Américas, África, Ásia, Austrália e nos oceanos Índico e Pacífico (Keogh, 1998; Castoe et al., 2007). Todas as espécies da família apresentam importância médica (Lee et al., 2016), e se caracterizam pela dentição proteróglifa, que consiste na presença de dois dentes fixos canaliculados na porção anterior do maxilar, e a ausência de escama loreal (McCarthy, 1985).

As cobras-corais do Novo Mundo são as únicas representantes da família Elapidae no continente americano (Brazil, 1987). Oitenta e cinco espécies atuais estão alocadas em três gêneros: *Leptomicrurus* Schmidt, 1937, *Micruroides* Schmidt, 1928 e *Micrurus* Wagler, 1824 (Silva Jr., 2016). *Leptomicrurus* conta com quatro espécies, que ocorrem na Bolívia, Peru, Equador, Colômbia, sul da Venezuela, sul das Guianas e norte do Brasil (Acre, Amapá, Amazonas, Roraima e Pará) (Silva Jr., 2016). *Micruroides*, que é monotípico, está restrito aos Estados Unidos (Arizona, Novo México e Texas) e norte do México (Silva Jr., 2016). *Micrurus* é o gênero mais especioso, abrangendo atualmente 80 espécies (Uetz et al., 2022), que são encontradas desde o sudoeste dos Estados Unidos até o sul da Argentina (Slowinski, 1995; Campbell & Lamar, 2004). Muitas das espécies deste gênero são politípicas e os limites taxonômicos são insuficientemente definidos na maioria delas (Di-Bernardo et al., 2007). Essas serpentes são difíceis de serem encontradas na natureza, principalmente pelo seu hábito semifossorial, o que dificulta estudá-las de forma apropriada. Somado a isso, esse grupo exibe um conservadorismo de suas características morfológicas. A junção de todos esses fatores resulta em instabilidades taxonômicas (Slowinski, 1995; Roze, 1996; Campbell & Lamar, 2004).

Campbell & Lamar (2004) propuseram quatro grupos morfológicos dentro do gênero *Micrurus*, baseados no padrão de coloração e na morfologia do hemipênis:

- a) Grupo monadal da América Central e do Sul: espécies com um único anel preto separando os anéis brancos e vermelhos e hemipênis longo, delgado e fortemente bilobado, com um espinho apical no formato de gancho (exemplo: *Micrurus corallinus* Merrem, 1820);
- b) Grupo bicolor da América Central e do Sul: espécies com anéis vermelhos ou brancos separados por anéis pretos e hemipênis delgado, bilobado e lóbulos distintos da base (exemplo: *Micrurus multifasciatus* Jan, 1858);
- c) Grupo triadal da América Central: espécies com três anéis pretos separados por anéis brancos entre os anéis vermelhos e hemipênis delgado fortemente bilobado, possui muitas semelhanças com o grupo monadal (exemplo: *Micrurus laticollaris* Peters, 1870);
- d) Grupo triadal da América do Sul: coloração semelhante ao grupo da América Central, com hemipênis curto e bilobado (exemplo: *Micrurus ibiboboca* Merrem, 1820).

No Brasil, há registros de 37 espécies do gênero *Micrurus* (Uetz et al., 2022). Destas, 25 pertencem ao grupo triadal da América do Sul. Uma dessas espécies é *M. ibiboboca*. A espécie é endêmica do Brasil sendo distribuída nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Rio de Janeiro e Sergipe. Tem como localidade-tipo a boca do rio Belmonte, na Bahia (Silva Jr., 2016). O número de escamas ventrais varia de 188 a 254 e de escamas subcaudais varia de 17 a 36. As tríades do corpo e da cauda variam de 7 a 15 e 1/3 a 1+2/3, respectivamente. É uma espécie de médio porte, com comprimento máximo já descrito de 1.470 milímetros. (Silva Jr., 2016)

Uma avaliação realizada em 2016 pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade revelou que *M. ibiboboca* se trata de um complexo de pelo menos três espécies, distribuídas no nordeste brasileiro, predominantemente na Caatinga e Mata Atlântica. Apesar da distribuição atual abranger todo o Nordeste, as supostas espécies podem ocorrer em áreas mais restritas e sob diferentes graus de ameaça. Desse modo, *Micrurus ibiboboca* foi classificada como Dados Insuficientes (DD) até que seu *status* taxonômico possa ser elucidado. No entanto, estudos de cunho taxonômico e que visem a conservação das cobras-corais na região Nordeste ainda são necessários.

A incerteza de quantas espécies de cobras-corais existem afeta diretamente os esforços direcionados para a conservação. Essa imprecisão constitui o chamado déficit lineano, que pode

ser definido como a diferença entre o número de espécies existentes e aquelas formalmente descritas pela ciência (Moura et al., 2018). Uma ferramenta que pode auxiliar a descrever essa biodiversidade ainda não conhecida é a taxonomia integrativa, que consiste na delimitação das espécies a partir de perspectivas múltiplas e complementares (Dayrat, 2005).

Além disso, um outro problema ameaça os répteis como um todo: as mudanças climáticas. O panorama preditivo mais atual prevê um aumento de 1,5°C a 4,5°C na temperatura global até 2100 (IPCC, 2021). Animais ectotérmicos, como as serpentes que dependem da fonte externa de calor para regular sua temperatura e atividades metabólicas, são sensíveis às variações térmicas e, portanto, são ainda mais vulneráveis frente ao aquecimento global (Diele-Viegas, Vilela & Rocha, 2021). Estudos visando a compreensão da fisiologia térmica dessas espécies e como isso se relaciona com os habitats em que elas ocupam tem se tornado uma demanda e são primordiais para estimar as implicações das mudanças climáticas nesses animais (Diele-Viegas, Vilela & Rocha, 2021; Loz, Mott & Diele-Viegas, 2022). Apesar disso, ainda são poucos os estudos nesta área.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Investigar o complexo de espécies *Micrurus ibiboboca* no estado de Alagoas através da taxonomia integrativa, analisando a variação morfológica externa e hemipeniana, a diversidade molecular e a fisiologia térmica.

### **2.2 Objetivos específicos**

Analisar a morfologia externa e hemipeniana dos espécimes identificados como *M. ibiboboca* do estado de Alagoas;

Verificar a presença de dimorfismo sexual e variações intraespecíficas nos caracteres morfológicos externos analisados;

Reconstruir uma hipótese filogenética através de uma inferência bayesiana utilizando caracteres moleculares;

Analisar se há congruência entre as abordagens morfológica e molecular;

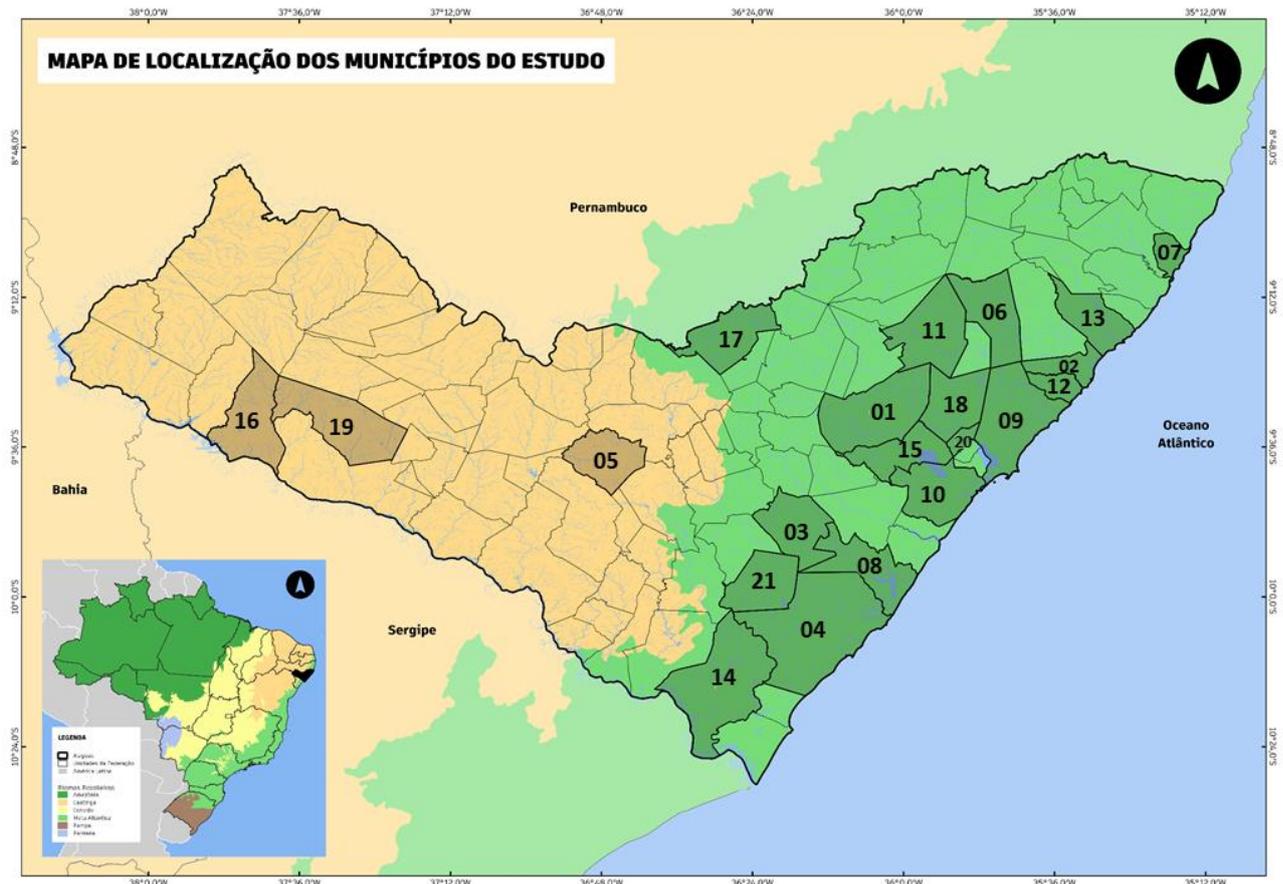
Determinar a temperatura preferencial, as temperaturas críticas mínima e máxima e a margem de segurança térmica de *M. ibiboboca*.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Material analisado

Os espécimes e tecidos analisados estão depositados na Coleção Herpetológica e Banco de Tecidos do Museu de História Natural da Universidade Federal de Alagoas (MHN-UFAL) e no acervo do Laboratório de Biologia Integrativa (LABI) do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFAL. Foram analisados 130 espécimes previamente identificados como *Micrurus ibiboboca*, provenientes de 21 municípios do estado de Alagoas (**Figura 1 e tabela 1**). Foram utilizadas 17 amostras hepáticas ou musculares dos espécimes analisados morfologicamente.

**Figura 1.** Mapa do estado de Alagoas destacando as localidades cujos espécimes de *Micrurus ibiboboca* foram analisados. 1 = Atalaia; 2 = Barra de Santo Antônio; 3 = Campo Alegre; 4 = Coruripe; 5 = Craíbas; 6 = Flexeiras; 7 = Japaratinga; 8 = Jequiá da Praia; 9 = Maceió; 10 = Marechal Deodoro; 11 = Murici; 12 = Paripueira; 13 = Passo de Camaragibe; 14 = Penedo; 16 = Piranhas; 17 = Quebrangulo; 18 = Rio Largo; 19 = São José da Tapera; 20 = Satuba; 21 = Teotônio Vilela. Mapa: Brian Falcão Farias. Inset Mapa da América do Sul destacando os biomas no Brasil. Em negrito está o estado de Alagoas.



**Tabela 1.** Número de espécimes de *Micrurus ibiboboca* analisados por município do estado de Alagoas, Brasil.

<b>Município</b>	<b>N<sub>total</sub></b>	<b>N<sub>machos</sub></b>	<b>N<sub>fêmeas</sub></b>
Atalaia	5	3	2
Barra de Santo Antônio	3	1	2
Campo Alegre	1	0	1
Coruripe	4	2	2
Craíbas	1	1	0
Flexeiras	3	2	1
Japaratinga	1	0	1
Jequiá da Praia	1	0	1
Maceió	77	39	38
Marechal Deodoro	12	9	3
Murici	5	3	2
Paripueira	3	2	1
Passo de Camaragibe	1	0	1
Penedo	1	1	0
Pilar	1	0	1
Piranhas	2	1	1
Quebrangulo	1	0	1
Rio Largo	3	2	1
São José da Tapera	1	0	1
Satuba	1	0	1
Teotônio Vilela	3	0	3
Total	130	66	64

### 3.2 Abordagem morfológica

#### 3.2.1 Morfologia externa

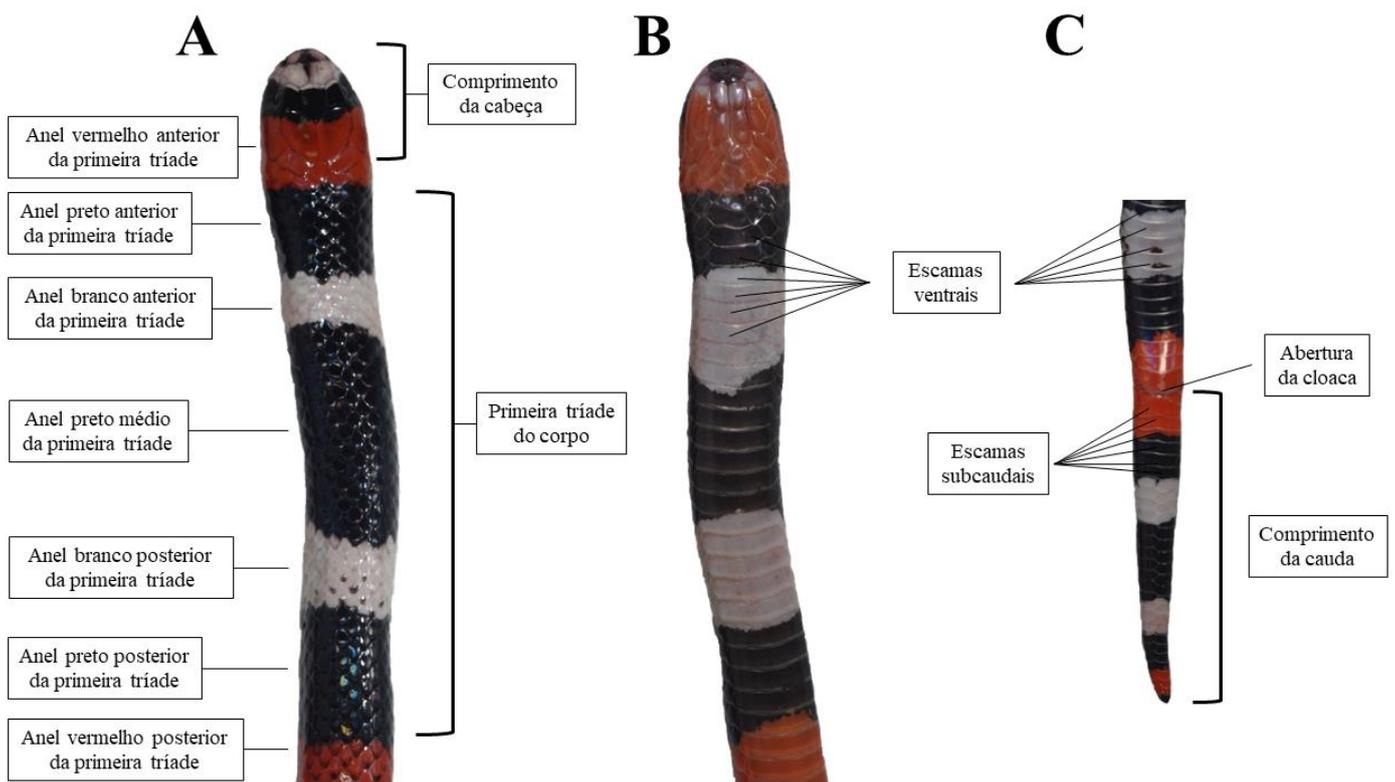
- **Dados merísticos**

Os espécimes foram previamente sexados através de uma inspeção gonadal. Cinco caracteres merísticos foram aferidos, quatro destes seguindo Dowling (1951) e Silva Jr. & Sites (1999): número de escamas ventrais (EV), número de escamas subcaudais (ESC), número de tríades no corpo (TC) e número de tríades na cauda (TCa). Além disso, a presença ou ausência de pontos pretos no primeiro anel branco do corpo (PP) foi adicionada como um caráter (**Figura 2**).

- **Dados morfométricos**

Foram aferidos 19 caracteres morfométricos com o auxílio de uma fita métrica e um paquímetro digital (precisão de 1 mm). Onze dos caracteres seguiram Silva Jr. & Sites (1999): comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento da cauda (CC), comprimento da cabeça (CCa), largura da cabeça (LCa), comprimento do anel vermelho anterior à tríade média (AVATM), comprimento do anel preto anterior à tríade média (APATM), comprimento do anel branco anterior à tríade média (ABATM), comprimento do anel preto médio da tríade média (APMTM), comprimento do anel branco posterior à tríade média (ABPTM), comprimento do anel preto posterior à tríade média (APPTM) e comprimento do anel vermelho posterior à tríade média (AVPTM). Além desses, mais oito caracteres foram adicionados: distância do focinho até a região anterior do primeiro anel preto (CFP), comprimento do anel vermelho anterior da primeira tríade (AVAPT), comprimento do anel preto anterior da primeira tríade (APAPT), comprimento do anel branco anterior da primeira tríade (ABAPT), comprimento do anel preto médio da primeira tríade (APMPT), comprimento do anel branco posterior da primeira tríade (ABPPT), comprimento do anel preto posterior da primeira tríade (APPPT) e comprimento do anel vermelho posterior à primeira tríade (AVPPT) (**Figura 2**).

**Figura 2.** Demonstração de alguns dos caracteres externos merísticos e morfométricos aferidos nos espécimes de *Micrurus ibiboboca* de Alagoas utilizados neste estudo. **A)** porção cranial do dorso; **B)** porção cranial do ventre; **C)** destaque da cauda em vista ventral. Os caracteres citados na imagem são morfométricos, com exceção das escamas ventrais e subcaudais, que são merísticos.



- **Análise estatística dos dados**

Para verificar se há formação de morfogrupos, uma Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada. Para verificar possíveis variações intraespecíficas, foram realizadas Análises de Variância Uni e Multivariadas (ANOVA e MANOVA). Em caso de haver morfogrupos, também foram realizadas ANOVAs e MANOVAs dentro de cada um. Todas as análises foram feitas separadamente para machos e fêmeas e para os caracteres merísticos e morfométricos. Uma regressão linear para remover o efeito do tamanho foi feita antes das análises a partir dos caracteres morfométricos, utilizando adultos e jovens. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* R (R Core Team, 2021).

### 3.2.2. Morfologia hemipeniana

Foram preparados dois hemipênis, de dois espécimes distintos, um proveniente do acervo do LABI e o outro proveniente da Coleção Herpetológica do MHN-UFAL, seguindo o protocolo de Manzani & Abe (1988), com modificações propostas por Pesantes (1994) e Zaher & Prudente (2003). Os hemipênis utilizados estavam previamente evertidos e foram removidos através de um corte próximo à abertura da cloaca. Após a remoção, foram imersos por alguns segundos em uma solução de hidróxido de potássio (KOH), para amolecer o tecido enrijecido pelo formol utilizado na fixação dos espécimes. Em seguida, foram preenchidos com uma mistura de parafina e vaselina. Após isso, foram mergulhados por alguns minutos em alizarina para que as estruturas fossem coradas e melhor observadas posteriormente. E por fim, foram preservados em álcool etílico a 70%. Os hemipênis foram depositados na Coleção Herpetológica do MHN-UFAL.

Os hemipênis foram fotografados com o auxílio de um microscópio estereoscópio com máquina fotográfica acoplada, da marca Opticam. A terminologia da morfologia hemipeniana e ornamentação seguiu Slowinski (1995) e Zaher (1999).

### 3.4. Abordagem molecular

O DNA genômico total foi extraído de 17 amostras hepáticas ou musculares, utilizando o método Fenol/Clorofórmio (Sambrook et al., 1989). As extrações de DNA foram quantificadas e avaliadas quanto a sua pureza utilizando um espectrofotômetro *nanodrop*. Reações em Cadeia da Polimerase (PCRs) foram realizadas para a amplificação de um fragmento do gene mitocondrial NADH desidrogenase subunidade 4 (ND4), utilizando os *primers* desenvolvidos por Arévalo (1994) (*forward primer*: CAC CTA TGA CTA CCA AAA e *reverse primer* CAT

TAC CTT TTC CTT GGA). Para o protocolo da PCR, foram utilizados 20,5 µl de PCR MasterMix, 0,5 µl de primer *forward* (ND4), 0,5 µl de primer *reverse* (LEU), 2 µl de DNA e 0,5 µl de Taq DNA polimerase. A presença de *amplicons* foi aferida através de uma eletroforese em gel de agarose 1% corada com Sybr safe e visualizada em um transluminador com luz ultravioleta. As amostras funcionais foram purificadas com isopropanol e destinadas para serem sequenciadas com o primer *forward*. As sequências obtidas foram editadas utilizando o software BioEdit 7 (Hall, 2011) e alinhadas com sequências obtidas no banco de dados genético online GenBank utilizando o software Mafft (Rozewicki et al., 2019). No software MEGA (Tamura et al., 2021), as sequências foram traduzidas em aminoácidos para verificar a existência de *stop códons*, pois o gene em questão é codificador de proteínas. Ainda no mesmo software, foi calculada a distância genética p intraespecífica e interespecífica. O melhor modelo evolutivo e o melhor esquema de partição foram determinados no software PartitionFinder 2.1.1 (Lanfear et al., 2012). A sequência da espécie *Elapsoidea nigra* foi utilizada para enraizar a árvore. A análise bayesiana foi realizada no software Mr. Bayes 3.2 (Ronquist et al., 2012) com duas análises independentes, com um milhão de gerações cada. Um consenso de maioria (*majority consensus*) foi obtido para gerar uma topologia após o descarte de 25% das árvores iniciais (*burn-in*). A árvore gerada foi visualizada e analisada com o auxílio do software FigTree 1.3.1.

### 3.5. Fisiologia térmica

Dez indivíduos de *Micrurus ibiboboca* foram analisados para determinar as temperaturas preferenciais, críticas e a margem de segurança térmica. Os indivíduos foram coletados no período entre maio e setembro de 2022, em encontros ocasionais nas cidades de Barra de Santo Antônio (N=2) e Maceió (N=5), Alagoas, e durante expedição de campo em Coruripe (N=1), Alagoas e São José da Coroa Grande (N=2), Pernambuco, Brasil. Apesar dos indivíduos de cobras-corais serem provenientes de quatro municípios diferentes, todos experimentam as mesmas condições climáticas e pertencem à mesma ecorregião de Mata Atlântica. Este estudo foi autorizado pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (SISBio/ICMBio 32920 e CEUA 15-2021 respectivamente). Os animais ficaram acondicionados temporariamente em potes plásticos com furos para circulação do ar e um pote com água / papel toalha umedecido para manter a umidade, sem ultrapassar 24 horas.

Para a coleta dos dados termais, foi criado um gradiente variando de 15°C a 35°C utilizando uma caixa de papelão com aproximadamente 1 metro de comprimento, 45 centímetros de largura e 35 centímetros de altura, com gelo em uma extremidade e um fogareiro elétrico na outra. Antes de iniciar os experimentos, os animais passaram por um período de aclimação de 30 minutos dentro do gradiente. Após esse período, as medidas foram feitas a cada minuto durante uma hora, totalizando 60 medições por indivíduo. A temperatura corpórea foi aferida no primeiro terço do corpo do animal, utilizando um termômetro digital infravermelho (Diele-Viegas et al., 2018).

A Temperatura Preferencial ( $T_{pref}$ ) foi considerada como a média dos valores obtidos nas medições a cada minuto; o primeiro quartil é a temperatura voluntária mínima ( $V_{tmin}$ ) e o terceiro quartil é a temperatura voluntária máxima ( $V_{tmax}$ ). Para a margem de segurança térmica, foi considerada a diferença entre a  $V_{tmax}$  e a  $V_{tmin}$ .

Para a coleta de dados da temperatura crítica mínima ( $C_{tmin}$ ), cada indivíduo teve sua temperatura corpórea diminuída em uma câmara de resfriamento e a aferição foi realizada no momento em que o animal atingiu a paralisação temporária de suas funções motoras (Diele-Viegas et al., 2018). E para a coleta de dados da temperatura crítica máxima ( $C_{tmax}$ ), a temperatura corpórea de cada indivíduo foi aumentada através de uma câmara de aquecimento, criada com um depósito de plástico e um fogareiro elétrico. O recipiente com o animal foi mantido à uma distância de aproximadamente 30 centímetros do fogareiro e foi movido durante esse tempo para que fosse aquecido de maneira uniforme, até que o animal atingisse a paralisação temporária das funções motoras e a temperatura corpórea foi aferida nesse momento.

Os indivíduos ficam mais comprometidos após a  $C_{tmax}$  e precisam de um tempo maior para recuperação (Diele-Viegas, 2018) e por isso, a  $C_{tmin}$  foi aferida primeiro. Todos os valores obtidos foram organizados em planilhas e os cálculos foram realizados no *software* Microsoft Office Excel.

Após cada experimento, os animais foram eutanasiados utilizando o procedimento preconizado pela Diretriz Brasileira para o Cuidado e Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (SISBio/ICMBio 32920 e CEUA-UFAL 15-2021). Todos os espécimes foram depositados na Coleção Herpetológica do Museu de História Natural da UFAL. O **apêndice A** traz as informações sobre os números tombo e a localidade dos espécimes utilizados.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Morfologia externa

Os valores dos caracteres merísticos e morfométricos encontrados nos espécimes examinados neste estudo estão dentro do intervalo de dados já descritos na literatura para *M. ibiboboca* (Pires et al., 2014; Silva Jr. et al., 2016). A **tabela 2** mostra uma comparação entre os valores obtidos para os caracteres merísticos neste estudo e na literatura. Os valores para todos os indivíduos analisados encontram-se nos **apêndices B, C e D**.

**Tabela 2.** Comparação entre os valores encontrados neste estudo e os da literatura para os caracteres merísticos de *Micrurus ibiboboca*. EV= escamas ventrais; ESC= escamas subcaudais; TriC= tríades no corpo; TriCa= tríades na cauda.

Espécie	Referência	Sexo	EV	ESC	TriC	TriCa
<i>M. ibiboboca</i>	Este estudo	♂	209-253	10-30	6-9	1/3 - 1
		♀	207-251	15-37	6-11	2/3 - 1+1/3
	Pires et al, 2014	♂	198-247	17-33	7-13	2/3 - 2
		♀	188-254	16-34	7-12	2/3 - 1+2/3
	Silva Jr. et al, 2016	♂	198-257	17-36	7-14	1/3 - 1+2/3
		♀	188-254	16-34	6-15	1/3 - 1+2/3

Com base no caráter da presença ou ausência de pontos pretos no primeiro anel branco, os espécimes foram separados em dois grupos: Morfotipo 1 (N=114) e Morfotipo 2 (N=16). Os morfotipos diferem principalmente na coloração dos anéis brancos da primeira tríade do corpo e na forma como os anéis são dispostos nas tríades, especialmente a primeira.

Os indivíduos classificados como Morfotipo 1 apresentam os dois primeiros anéis brancos do corpo imaculados, ou seja, sem pontos pretos. Além disso, o anel preto do meio da tríade é mais largo que os anéis pretos das extremidades; e os anéis brancos são mais estreitos que os anéis pretos. Quanto aos indivíduos classificados como Morfotipo 2, os primeiros anéis

brancos do corpo são maculados, ou seja, possuem pontos pretos; e os anéis pretos e brancos da tríades são de tamanhos semelhantes. (**Figura 3**).

**Figura 3.** Representantes dos morfotipos de *Micrurus ibiboboca* identificados para o estado de Alagoas. (A) Morfotipo 1 - LABI674, macho, coletado em Maceió - AL; (B) Morfotipo 2 – LABI2211, fêmea, coletado em Maceió - AL.



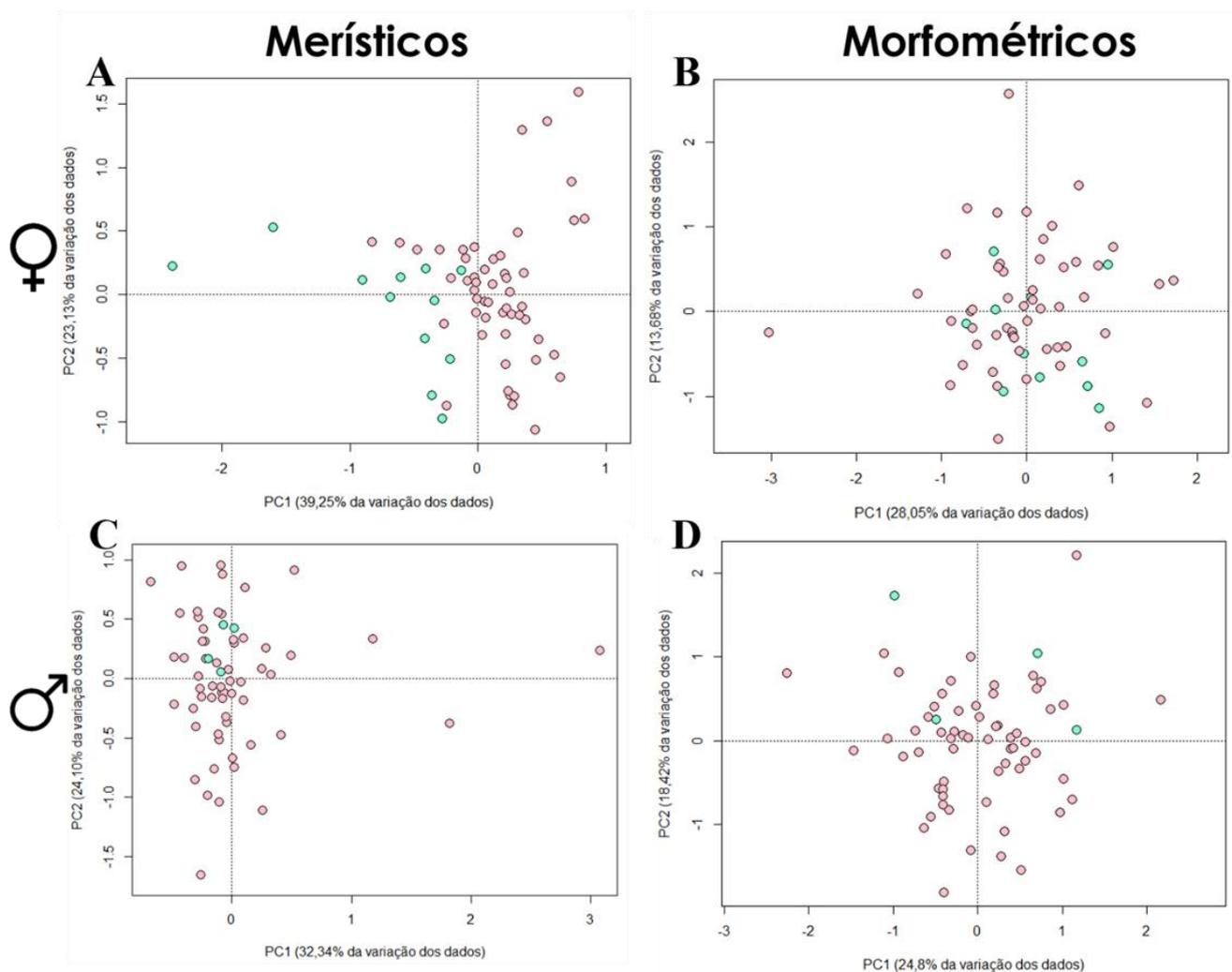
A PCA realizada utilizando os caracteres merísticos das fêmeas (N=64) revelou uma segregação entre os indivíduos, formando dois morfogrupos no espaço do gráfico. Entretanto, para os caracteres morfométricos, essa diferenciação não foi evidente (**Figura 4A e 4B**).

Em relação às PCAs realizadas utilizando os espécimes machos (N=66), não houve nenhuma separação entre os indivíduos em nenhum dos conjuntos de dados, os morfotipos ficaram sobrepostos (**Figura 4C e 4D**). Esse resultado pode ter sido influenciado pelo baixo número amostral dos machos do Morfotipo 2, que foi de apenas quatro indivíduos.

Os caracteres merísticos e morfométricos dentro do gênero *Micrurus* apresentam uma sobreposição e natureza conservativa (Pires et al., 2014). Devido a isso, as delimitações a nível específico obtidas pelas análises estatísticas são muitas vezes insuficientes. Esse fenômeno já foi demonstrado por Silva Jr. & Sites (1999), Di-Bernardo et al. (2007) e Feitosa et al. (2007) em estudos feitos com espécies de tríades da América do Sul, *M. frontalis*, *M. silviae* e *M.*

*filiformis*, respectivamente, utilizando caracteres morfométricos. Além disso, Pires et al. (2014) relataram o mesmo fato nas análises feitas a partir dos dados de morfometria de *M. brasiliensis*, *M. carvalhoi*, *M. ibiboboca* e *M. potyguara*, que apesar de serem espécies válidas, apresentam sobreposição dos caracteres merísticos e morfométricos.

**Figura 4.** Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando cinco caracteres merísticos e 19 caracteres morfométricos para os indivíduos fêmeas e machos de *Micrurus ibiboboca* do estado de Alagoas. Em rosa estão os espécimes identificados como Morfotipo 1 (N total=114; N fêmeas=52; N machos=62), e em azul, Morfotipo 2 (N total=16, N fêmeas=12, N machos=4). Rosa: Morfotipo 1; Azul: Morfotipo 2.



Os resultados das ANOVAs e MANOVAs são fornecidos nos **apêndices E e F**. As análises para verificar dimorfismo sexual foram feitas separadamente para machos e fêmeas do Morfotipo 1 e machos e fêmeas do Morfotipo 2. O Morfotipo 1 apresentou valores significativos no número de escamas subcaudais (ANOVA,  $F_{1,113} = 16,31$ ;  $P = >0,001$ ), comprimento da cabeça (ANOVA,  $F_{1,113} = 4,86$ ;  $P = 0,03$ ), comprimento da cauda (ANOVA,

$F_{1,113} = 2,51$ ;  $P = 0,04$ ), comprimento do anel preto médio da primeira tríade (ANOVA,  $F_{1,113} = 8,68$ ;  $P = 0,003$ ), comprimento do anel preto posterior da primeira tríade (ANOVA,  $F_{1,113} = 4,93$ ;  $P = 0,04$ ), comprimento do anel preto médio da tríade média (ANOVA,  $F_{1,113} = 8,13$ ;  $P = 0,005$ ) e comprimento do anel preto posterior da tríade média (ANOVA,  $F_{1,113} = 4,09$ ;  $P = 0,04$ ). Todos os valores foram maiores nos espécimes machos, com exceção do comprimento do anel preto posterior da primeira tríade, que foi maior nas fêmeas.

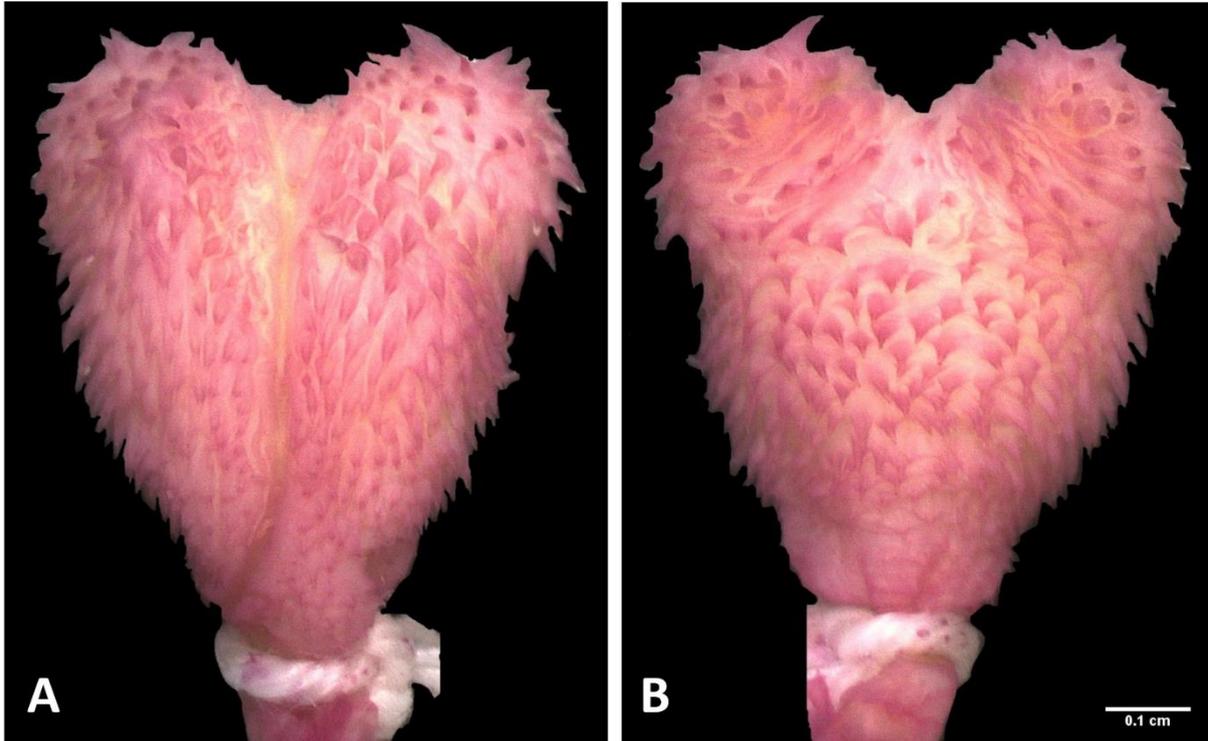
O Morfotipo 2 apresentou valores significativos para apenas duas variáveis, sendo estas o comprimento do anel preto médio da primeira tríade (ANOVA,  $F_{1,15} = 7,19$ ;  $P = 0,01$ ) e o comprimento do anel preto posterior da primeira tríade (ANOVA,  $F_{1,15} = 4,93$ ;  $P = 0,04$ ). Em ambos os caracteres, os valores maiores foram nos espécimes machos.

As análises para verificar variação intraespecífica foram feitas utilizando as fêmeas dos Morfotipos 1 e 2 separadamente e depois utilizando os machos dos Morfotipos 1 e 2 separadamente. As fêmeas dos dois morfotipos apresentaram diferenças significativas no número de escamas subcaudais (ANOVA,  $F_{1,63} = 16,6$ ;  $P = >0,001$ ) e no número de tríades no corpo (ANOVA,  $F_{1,63} = 5,21$ ;  $P = 0,02$ ). Em todos os caracteres, os valores maiores foram nas fêmeas do Morfotipo 2. Os machos apresentaram valores significativos no comprimento do anel vermelho posterior da primeira tríade (ANOVA,  $F_{1,65} = 6,16$ ;  $P = >0,01$ ), no comprimento do anel vermelho anterior da tríade média (ANOVA,  $F_{1,65} = 7,46$ ;  $P = 0,008$ ) e no comprimento do anel vermelho posterior da tríade média (ANOVA,  $F_{1,65} = 5,7$ ;  $P = 0,01$ ). Assim como nas fêmeas, todos os caracteres foram maiores no Morfotipo 2.

#### 4.2. Morfologia hemipeniana

A **figura 5** mostra o hemipênis esquerdo do MHN-UFAL13838, classificado como Morfotipo 1. O hemipênis é curto e bilobado. O sulco espermático bifurca-se na altura da divisão dos lóbulos, que são curtos e recobertos por espinhos irregulares. Na face sulcada, os espinhos são delgados. Na face não sulcada, os espinhos são mais curtos e de um formato irregular. A base contém espinhos diminutos.

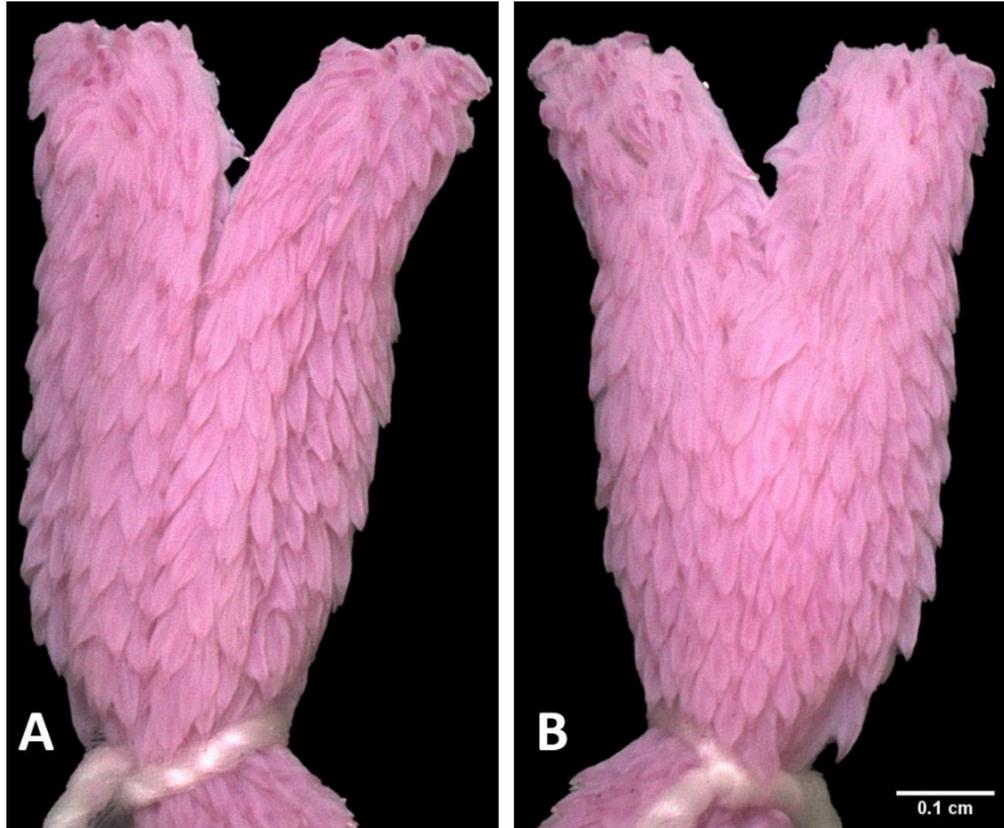
**Figura 5.** Hemipênis direito de *Micrurus ibiboboca* (MHN-UFAL13838), proveniente de Maceió - Alagoas. Espécime identificado como Morfotipo 1. A) Face sulcada. B) Face não sulcada. Comprimento rostro-cloacal= 540 milímetros; Comprimento da cauda: 13 milímetros.



A **figura 6** mostra o hemipênis direito de LABI2232, classificado como Morfotipo 2, porém, apresenta algumas características distintas do anterior. O hemipênis é curto e bilobado. O sulco espermático bifurca-se apenas na divisão dos lóbulos, que são curtos. Os espinhos recobrem todo o órgão e em ambas as faces. A base também possui espinhos.

A maior variação entre os hemipênis é na bifurcação dos lóbulos, que vai desde uma divisão mais sutil (MHN-UFAL13838, que tem lóbulos muito curtos), até uma bifurcação bem evidente (LABI2232, que tem lóbulos bem definidos). Os espinhos estão presentes nos dois, variando apenas no tamanho e formato. Além disso, o hemipênis de LABI2232 é mais alongado e delgado do que o hemipênis de MHN-UFAL13838. O hemipênis de *M. ibiboboca* descrito por Pires et al. (2014) possui lóbulos curtos e espinhos pequenos em pouca quantidade espalhados pelo órgão, com uma base também ornamentada com espinhos curtos. O hemipênis do espécime MHN-UFAL13838 (Morfotipo 1) se assemelha com essa descrição.

**Figura 6.** Hemipênis direito de *Micrurus ibiboboca* (LABI2232), proveniente de Maceió – Alagoas. Espécime identificado como Morfotipo 2. A) Face sulcada. B) Face não sulcada. Comprimento rostro-cloacal= 640 milímetros; Comprimento da cauda= 42 milímetros.



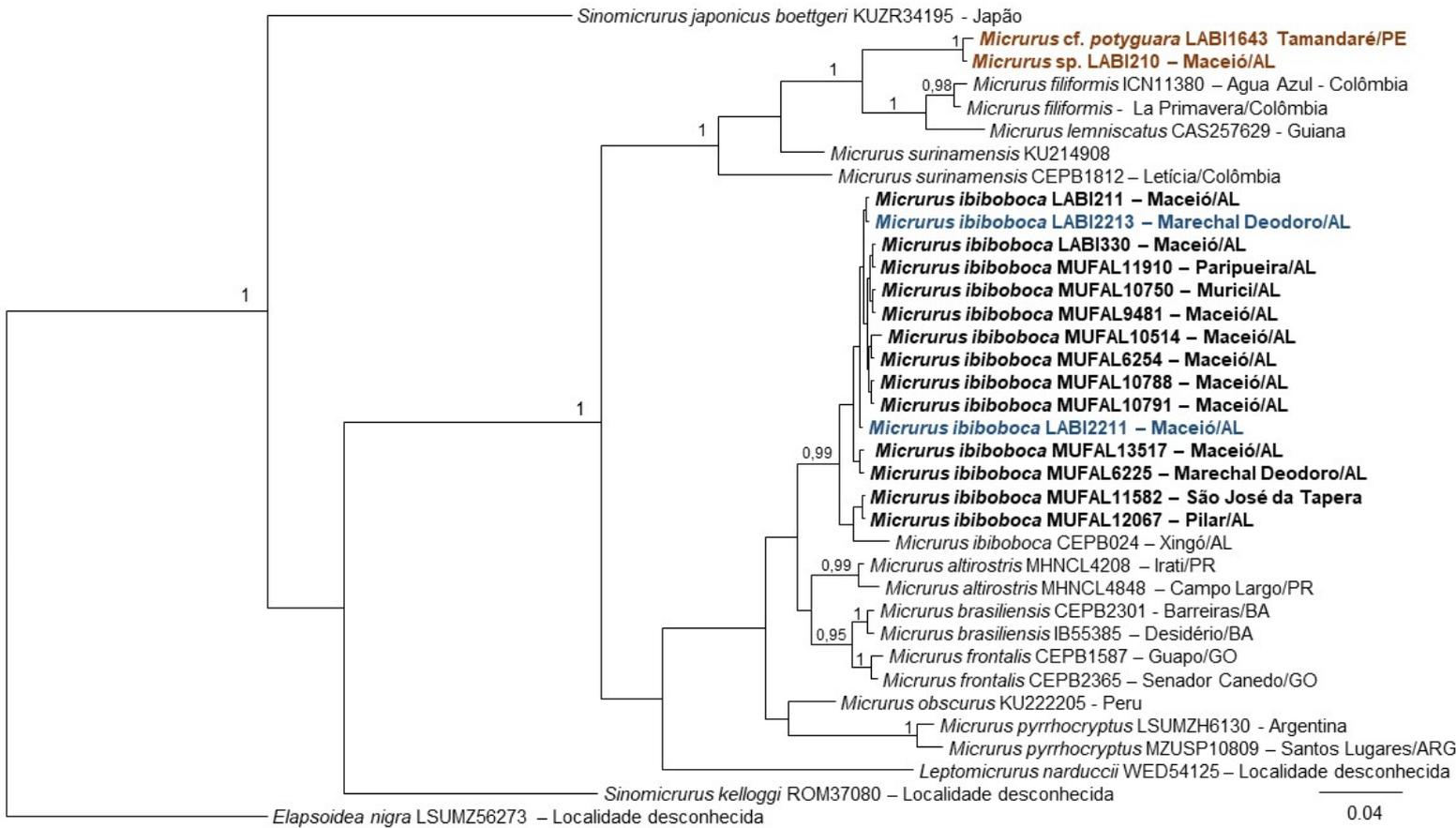
#### 4.2. Abordagem molecular

Dezessete amostras de tecido tiveram um fragmento de 524 pares de base do gene ND4 amplificado com sucesso. Dessas, 13 são do Morfotipo 1, duas são do Morfotipo 2 e as outras duas são de espécimes que não se encaixam em nenhum dos morfotipos identificados. As sequências obtidas neste estudo foram alinhadas com outras 19 sequências de congêneres e espécies da família Elapidae disponíveis no GenBank (**apêndice G**) sendo a árvore enraizada com *Elapsoidea nigra*. O melhor modelo de particionamento dos dados foi por posição de códon, sendo estimado um modelo evolutivo para cada posição: posição 1 = TIM+G, posição 2 = TRN+G e posição 3 = HKY+G.

A filogenia é apresentada na **figura 7**. *Micrurus ibiboboca* de Alagoas foi recuperada monofilética, com um suporte de 99%. As duas sequências do Morfotipo 2 ficaram agrupadas com indivíduos do Morfotipo 1, não havendo uma separação genética entre os dois grupos identificados pela morfologia. A distância genética entre os dois morfotipos foi de apenas 0,2% (**tabela 3**), um valor próximo ao encontrado dentro de outras espécies, como *M. brasiliensis* (0,3%) e *M. filiformis* (0,7%).

A distância entre as sequências dos espécimes do Morfotipo 1 foi de 0,4%, compatível com o encontrado dentro de outras espécies, (Tabela 4). Já para as sequências dos espécimes do Morfotipo 2, a distância intraespecífica foi de 0%.

**Figura 7.** Relações filogenéticas de *Micrurus* spp. estimadas através de uma inferência Bayesiana utilizando um fragmento de 524 pares de base do gene mitocondrial ND4. Valores de probabilidades posteriores acima de 0,95 foram considerados altos e são apresentados na filogenia. Os espécimes em negrito foram sequenciados neste estudo (em marrom, espécimes próximos a *M. potyguara*; em preto, espécimes identificados como Morfotipo 1; em azul, espécimes identificados como Morfotipo 2).



**Tabela 3.** Distância genética p intraespecífica para as espécies do gênero *Micrurus* utilizadas na filogenia apresentada neste estudo. Distância calculada a partir de um fragmento de 524 pares de base do gene mitocondrial ND4. As outras espécies com sequências incluídas neste estudo não estão presentes na tabela por apresentarem apenas uma sequência.

Espécies	Distância p intraespecífica
Morfotipo 1 (N=13)	0,4%
Morfotipo 2 (N=2)	0%
<i>Micrurus cf. potyguara</i> (N=2)	0%
<i>Micrurus altirostris</i> (N=2)	1,2%

<i>Micrurus brasiliensis</i> (N=2)	0,4%
<i>Micrurus filiformis</i> (N=2)	0,8%
<i>Micrurus frontalis</i> (N=2)	0,6%
<i>Micrurus pyrrhocryptus</i> (N=2)	1,7%

**Tabela 4.** Distância genética p interespecífica para algumas das espécies do gênero *Micrurus* utilizadas na filogenia apresentada neste estudo. Distância calculada a partir de um fragmento de 524 pares de base do gene mitocondrial ND4. Os nomes em negrito representam as sequências geradas neste estudo.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>M. filiformis</i> (1)								
<i>M. lemniscatus</i> (2)	3,7							
<i>M. surinamensis</i> (3)	10	10						
<b><i>Micrurus</i> sp. LABI210 (4)</b>	7,8	7,8	11					
<b><i>M. cf. potyguara</i> LABI1643 (5)</b>	8,3	8,2	11,5	0,4				
<b>Morfotipo 2 (6)</b>	15,4	15,1	13,3	14,7	15,2			
<b>Morfotipo 1 (7)</b>	15,4	15,1	13,3	14,7	15,1	0,2		
<i>M. brasiliensis</i> (8)	14,0	14,6	12,7	12,7	13,2	4,8	4,7	
<i>M. altirostris</i> (9)	13,6	14,1	12,7	12,8	13,2	5,6	5,7	5,6

As duas sequências provenientes dos espécimes que não se encaixaram em nenhum dos morfotipos identificados em *M. ibiboboca* revelaram um dado interessante. O espécime LABI1643, que foi coletado no município de Tamandaré, estado de Pernambuco, se encaixa na descrição de *Micrurus potyguara*, uma outra espécie de cobra-coral de tríades endêmica do Nordeste e com distribuição atual apenas para os estados de Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco. E o espécime LABI210, previamente identificado apenas como *Micrurus* sp., foi recuperado bem próximo de LABI1643 na filogenia e a distância genética p entre as duas sequências é de 0%. Além disso, esse espécime também se encaixa na descrição de *M. potyguara*. Tudo isso provavelmente indica que o indivíduo LABI210 se trata de *M. potyguara*, o que seria o primeiro registro da espécie para o estado de Alagoas. Vale ressaltar que nenhum dos dois espécimes foi incluído nas análises morfológicas; o espécime LABI210 se mostrou muito diferente dos demais indivíduos identificados como Morfotipo 1 ou 2 de *M. ibiboboca* e não pôde ser classificado; e o espécime LABI1643 é proveniente de Pernambuco e as análises morfológicas abrangeram apenas o estado de Alagoas.

### 4.3. Fisiologia térmica

Ambos os morfotipos foram utilizados nos experimentos. Os cálculos foram feitos primeiramente considerando todos os espécimes como *Micrurus ibiboboca*. A  $T_{pref}$  dos 10 indivíduos testados foi de 23°C, com temperaturas  $V_{tmin}$  e  $V_{tmax}$  de 21°C e 25,3°C, respectivamente, o que indica que a temperatura mínima que a população pode experimentar sem entrar em uma zona de estresse fisiológico é de 21°C e a máxima de 25,3°C. A margem de segurança térmica obtida foi de 4,3°C, o que nos sugere a amplitude de variação térmica que a população consegue suportar. O panorama preditivo em relação às mudanças climáticas prevê um aumento de 1,5°C a 4,5°C na temperatura global até 2100 (IPCC, 2021). Dessa forma, caso o aquecimento seja o máximo previsto, *M. ibiboboca* pode sofrer impactos e se tornar vulnerável. Porém, mais estudos são necessários para uma melhor avaliação dessa vulnerabilidade potencial, principalmente por se tratar de uma espécie semifossorial. As temperaturas  $C_{tmin}$  e  $C_{tmax}$  foram de 11,2°C e 41°C, respectivamente (**Tabela 5**).

**Tabela 5.** Valores em graus Celsius (°) da Temperatura Preferencial ( $T_{pref}$ ), Temperatura Voluntária Mínima ( $V_{tmin}$ ), Temperatura Voluntária Máxima ( $V_{tmax}$ ), Temperatura Crítica Mínima ( $C_{tmin}$ ), Temperatura Crítica Máxima ( $C_{tmax}$ ) e Margem de Segurança Térmica de *Micrurus ibiboboca*.

$T_{pref}$	$V_{tmin}$	$V_{tmax}$	$C_{tmin}$	$C_{tmax}$	Margem de segurança térmica
23	21	25,3	11,2	41	4,3

Fitzgerald, Shine & Lemckert (2003) descreveram a fisiologia térmica de *Hoplocephalus stephensii*, um elapídeo endêmico da Austrália e que habita florestas densas. A  $T_{pref}$  dos indivíduos monitorados por telemetria foi de 24 °C, valor próximo ao que foi encontrado neste estudo. Loz, Mott & Diele-Viegas (2022) apresentaram a fisiologia térmica de *Epictia borapeliotes*, uma serpente fossorial da família Leptotyphlopidae, endêmica do Brasil e distribuída pela Caatinga. A  $T_{pref}$  encontrada foi de 29,8 °C, com  $V_{tmin}$  e  $V_{tmax}$  de 28,6 °C e 30,8 °C e margem de segurança térmica de 2,2 °C. Os valores foram mais altos que os encontrados para *M. ibiboboca*, porém, é importante ressaltar que as espécies em questão ocupam diferentes ecorregiões e conseqüentemente, estão sujeitas a diferentes temperaturas no ambiente.

Para o Morfotipo 1, o N amostral foi de sete indivíduos. Nestes espécimes, a Tpref foi de 23°C, com Vtmin e Vtmax de 20,4°C e 26°C, respectivamente. A Ctmin foi de 9,5°C e a Ctmax foi de 43,4°C. A margem de segurança térmica foi de 3,8°C (**Tabela 6**).

Para o Morfotipo 2, o N amostral foi de três indivíduos. A Tpref foi de 25,3°C, com Vtmin e Vtmax de 24,4°C e 25,9°C, respectivamente. A Ctmin foi de 15,1°C e a Ctmax foi de 38°C. A margem de segurança térmica foi de 1,5°C (**Tabela 6**).

**Tabela 6.** Valores em Celsius (°) da Temperatura Preferencial (Tpref), Temperatura Voluntária Mínima (Vtmin), Temperatura Voluntária Máxima (Vtmax), Temperatura Crítica Mínima (Ctmin), Temperatura Crítica Máxima (Ctmax) e Margem de Segurança Térmica dos Morfotipos 1 e 2.

	Tpref	Vtmin	Vtmax	Ctmin	Ctmax	Margem de segurança térmica
Morfotipo 1	23	20,4	26	9,5	43,4	3,8
Morfotipo 2	25,3	24,4	25,9	15,1	38,8	1,5

Os valores encontrados para cada morfotipo separadamente tiveram variações em quase todas as medidas, com exceção da Vtmax. Usando como exemplo a diferença na margem de segurança térmica, os impactos das mudanças climáticas podem ser diferentes nos dois morfotipos, tendo em vista a variação de 2,3°C. Um problema enfrentado foi o N amostral pois o número mínimo indicado para estudos de fisiologia térmica é 10 indivíduos. Neste estudo, Morfotipo 2 foi representado por apenas três indivíduos, e Morfotipo 1, o N foi de sete indivíduos.

E todos esses fatores nos mostram a dificuldade em manejar espécies que possuem um status taxonômico incerto e ressaltam a importância de pesquisas voltadas para a taxonomia, de forma a auxiliar na delimitação das espécies e na criação de estratégias para a conservação desses animais.

## 5 CONCLUSÕES

Em Alagoas há dois grupos morfológicos chamados de *Micrurus ibiboboca* que diferem quanto a coloração do primeiro anel branco, no tamanho dos anéis da primeira tríade do corpo e na morfologia hemipeniana. Estes morfogrupos também diferem quanto a fisiologia térmica. Entretanto, estes grupos não foram recuperados utilizando um fragmento do gene mitocondrial ND4.

Foi identificado um registro de *Micrurus potyguara* em Alagoas, ampliando a distribuição da espécie em 260 km ao sul de sua localidade mais próxima em Pernambuco.

Estudos que integram diferentes abordagens são necessários para determinar os limites específicos das cobras-corais e conseqüentemente auxiliar na avaliação quanto ao seu status de conservação.

## REFERÊNCIAS

- AREVALO, E; DAVIS, S. K.; SITES JR, J. W. Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Phrynosomatidae) in central Mexico. **Systematic Biology**, v. 43, n. 3, p. 387-418, 1994.
- BARNOSKY, A. D.; MATZKE, N.; TOMIYA, S.; WOGAN, G. O.; SWARTZ, B.; QUENTAL, T. B.; MARSHALL, C.; MCGUIRE, J. L.; LINDSEY, E. L.; MAGUIRE, K. C.; MERSEY, B.; FERRER, E. A. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? **Nature**, v. 471, n. 7336, p. 51-57, 2011.
- BRAZIL, O. V. Coral snake venoms: mode of action and pathohisiology of experimental envenomation. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 29, n. 3, p. 119-126, 1987.
- CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. The venomous reptiles of western hemisphere. **Cornell University Press**, v. 1, p.135-233, 2004.
- CASTOE, T. A.; SMITH, E. N.; BROWN, R. M. & PARKINSON, C. L. Higher-level phylogeny of Asian and American coralsnakes, their placement within the Elapidae (Squamata), and the systematic affinities of the enigmatic Asian coralsnake *Hemibungarus calligaster*. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 151, n. 4, p. 809-831, 2007.
- DAYRAT, B. Towards integrative taxonomy. **Biological journal of the Linnean society**, v. 85, n. 3, p. 407-417, 2005.
- DI-BERNARDO, M; BORGES-MARTINS, M; SILVA JR, N. J. A new species of coralsnake (*Micrurus*: Elapidae) from southern Brazil. **Zootaxa**, v. 1447, n. 1, p. 1-26, 2007.
- DIELE-VIEGAS, L. M.; VILELA, B; ROCHA, C. F. D. Mudanças Climáticas e Lepidosauria: Uma avaliação Global. In: Felipe Toledo. (Org.). **Herpetologia Brasileira Contemporânea**. 1ed.: Sociedade Brasileira de Herpetologia, v. III, p. 139-151, 2021.
- DOWLING, H. G. A proposed standard system of counting ventrals in snakes. **British Journal of Herpetology**, v. 1, p. 97-99, 1951.
- FEITOSA, D. T; PASSOS, P. P; PRUDENTE, A. L. C. Taxonomic status and geographic variation of the slender coralsnake, *Micrurus filiformis* (Günther, 1859) (Serpentes, Elapidae). **South American Journal of Herpetology**, v. 2, n. 3, p. 149-156, 2007.
- FITZGERALD, M.; SHINE, R.; LEMCKERT, F. A reluctant heliotherm: thermal ecology of the arboreal snake *Hoplocephalus stephensii* (Elapidae) in dense forest. **Journal of Thermal Biology**, v. 28, n. 6-7, p. 515-524, 2003.
- HALL, T. BioEdit: an important software for molecular biology. **GERF Bulletin of Biosciences**, v. 2, n. 1, p. 60-61, 2011.
- IPCC 2021: MASSON-DELMOTTE, V. et al. Climate Change 2021: The Physical Science Basis. **Contribution Of Working Group I To The Sixth Assessment Report Of The Intergovernmental Panel On Climate Change**, v. 2, 2021.
- KEOGH, J. S. Molecular phylogeny of elapid snakes and a consideration of their biogeographic history. **Biological journal of the Linnean Society**, v. 63, n. 2, p. 177-203, 1998.

- LANFEAR, R.C.B.; HO, S.Y.; GUINDON, S. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. **Molecular Biology and Evolution**, v. 29, n. 6, p. 1695-1701, 2012.
- LEE, M. S.; SANDERS, K. L.; KING, B.; PALCI, A. Diversification rates and phenotypic evolution in venomous snakes (Elapidae). **Royal Society open science**, v. 3, n. 1, p. 150277, 2016.
- LOZ, A. C. S.; MOTT, T.; DIELE-VIEGAS, L. M. Fisiologia térmica de *Epictia borapeliotes* (Vanzolini, 1996). **Herpetologia Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 47-51, 2022.
- MANZANI, P. R.; ABE, A. S. Sobre dois novos métodos de preparo do hemipênis de serpentes. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 50, n. 1, p. 15-20, 1988.
- MCCARTHY, C. J. Monophyly of elapid snakes (Serpentes: Elapidae). An assessment of the evidence. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 83, n. 1, p. 79-93, 1985.
- MORA, C.; TITTENSOR, D. P. ADL. S.; SIMPSON, A. G.; WORM, B. How many species are there on Earth and in the ocean? **PLoS biology**, v. 9, n. 8, p. e1001127, 2011.
- MOURA, M. R.; COSTA, H. C.; PEIXOTO, M. A.; CARVALHO, A. L.; SANTANA, D. J.; VASCONCELOS, H. L. Geographical and socioeconomic determinants of species discovery trends in a biodiversity hotspot. **Biological Conservation**, v. 220, p. 237-244, 2018.
- MOURA, M. R.; JETZ, W. Shortfalls and opportunities in terrestrial vertebrate species discovery. **Nature Ecology and Evolution**, v. 5, n. 5, p. 631-639, 2021.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B. & KENTE, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.
- PESANTES, O. S. A method for preparing the hemipenis of preserved snakes. **Journal of Herpetology**, v. 28, n. 1, p. 93-95, 1994.
- PIRES, M. G.; SILVA JR., N. J.; FEITOSA, D. T.; PRUDENTE, A. L. C.; FILHO, G. A. P.; ZAHER, H. A new species of triadal coral snake of the genus *Micrurus* Wagler, 1824 (Serpentes: Elapidae) from northeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 3811, n. 4, p. 569-584, 2014.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. 2021.
- ROLL, U. *et al.* The global distribution of tetrapods reveals a need for targeted reptile conservation. **Nature Ecology & Evolution**, v. 1, n. 11, p. 1677-1682, 2017.
- RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN, M.P.; AYRES, D.L.; DARLING, A.; HÖHNA, S.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic biology**, v. 61, n. 3, p. 539-542, 2012.
- ROZE, J. A. et al. Coral snakes of the Americas: biology, identification, and venoms. **Krieger Publishing Company**, 1996.
- ROZEWICKI, J.; LI, S.; AMADA, K. M.; STANDLEY, D. M.; KATOH, K. MAFFT-DASH: integrated protein sequence and structural alignment. **Nucleic acids research**, v. 47, n. W1, p. W5-W10, 2019.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. Molecular cloning: a laboratory manual. **Cold spring harbor laboratory press**, n. 2, 1989.

SILVA JR., N.J.; SITES JR., J.W. Revision of the *Micrurus frontalis* complex (Serpentes: Elapidae). **Herpetological Monographs**, v. 13, p. 142–194, 1999

SILVA JR., N.J., PIRES, M.G.; FEITOSA, D.T. Diversidade das Cobras-corais do Brasil *In*: Silva Jr., N.J. (Ed.), *As Cobras-corais do Brasil. Vol. 01. Biologia, Taxonomia, Venenos e Envenenamentos*. PUC/GO Ed., Goiás, pp. 79–167, 2016.

SLOWINSKI, J. B. A phylogenetic analysis of the New World coral snakes (Elapidae: *Leptomicrurus*, *Micruroides*, and *Micrurus*) based on allozymic and morphological characters. **Journal of Herpetology**, p. 325-338, 1995.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular biology and evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

UETZ, P.; FREED, P.; AGUILAR, R.; HOŠEK, J. (eds.) The Reptile Database. 2022. Disponível em <<http://www.reptile-database.org>>. Acesso em 2022.

ZAHER, H. Hemipenial morphology of the South American xenodontine snakes: with a proposal for a monophyletic Xenodontinae and a reappraisal of colubroid hemipenes. **Bulletin of the American Museum of Natural History**; n. 240, p. 1-168. 1999.

ZAHER, H.; PRUDENTE, A. L. C. Hemipenes of *Siphlophis* (Serpentes, Xenodontinae) and techniques of hemipenial preparation in snakes: a response to Dowling. **Herpetological review**, v. 34, n. 4, p. 302-306, 2003.

## APÊNDICES

**Apêndice A** - Espécimes de *Micrurus ibiboboca* utilizados nos experimentos de fisiologia térmica. LABI= Número do acervo biológico do Laboratório de Biologia Integrativa. MHN-UFAL= acrônimo da Coleção Herpetológica do Museu de História Natural.

Voucher	Localidade	Estado	Data de coleta
LABI2058	São José da Coroa Grande	PE	14/05/2022
LABI2114	São José da Coroa Grande	PE	17/05/2022
LABI2157	Coruripe	AL	23/05/2022
LABI2212	Maceió	AL	20/07/2022
LABI2231	Maceió	AL	22/08/2022
LABI2232	Maceió	AL	13/09/2022
LABI2236	Maceió	AL	29/09/2022
MHN-UFAL17299	Maceió	AL	30/09/2022
MHN-UFAL17317	Barra de Santo Antônio	AL	25/09/2022
MHN-UFAL17318	Barra de Santo Antônio	AL	15/09/2022

**Apêndice B** - Valores obtidos para os caracteres merísticos de espécimes de *Micrurus ibiboboca* utilizados neste estudo. LABI= Número do acervo biológico do Laboratório de Biologia Integrativa. MHN-UFAL= acrônimo da Coleção Herpetológica do Museu de História Natural. M= machos, F= fêmeas. Os detalhes das siglas de características são mencionados na seção Material e métodos.

Voucher	Localidade	Sexo	EV	ESC	TC	TCa	PP
LABI031	Maceió	F	237	25	7	1	não
LABI035	Maceió	M	230	27	8	1	não
LABI037	Maceió	M	227	24	8	1	não
LABI038	Maceió	M	229	24	7	1	não
LABI047	Maceió	F	232	21	9	1	não
LABI051	Maceió	F	237	26	8	1	não
LABI061	Maceió	M	227	25	8	1	não
LABI210	Maceió	F	249	32	9	1	sim
LABI211	Maceió	M	226	27	7	1	não
LABI221	Maceió	M	213	20	8	1	não
LABI226	Maceió	M	231	21	8	1	não
LABI311	Maceió	F	215	22	8	1	não
LABI330	Maceió	F	235	24	8	1	não
LABI335	Maceió	M	221	27	6	1	não
LABI348	Marechal Deodoro	M	229	30	8	1	não
LABI351	Barra de Santo Antônio	F	237	20	8	1	não
LABI381	Maceió	M	222	21	8	2/3	não
LABI458	Marechal Deodoro	M	221	27	9	1	não
LABI674	Maceió	M	238	26	8	1	não

LABI720	Maceió	M	235	27	9	1	não
LABI775	Maceió	F	238	21	9	1	não
LABI776	Maceió	M	240	24	7	1	não
LABI777	Maceió	F	209	23	8	1	não
LABI1587	Maceió	M	234	25	8	1	não
LABI1588	Maceió	F	221	20	8	2/3	não
LABI1594	Quebrangulo	F	231	21	8	1	sim
LABI1619	Maceió	M	222	24	8	1	não
LABI1754	Craíbas	M	224	23	8	1	não
LABI1796	Maceió	F	230	22	9	1	sim
LABI1837	Maceió	F	226	23	8	1	não
LABI1850	Murici	F	323	21	9	1	não
LABI1909	Maceió	F	216	25	7	1	não
LABI1910	Maceió	F	228	21	7	2/3	não
LABI1911	Maceió	M	229	21	7	1	não
LABI1912	Maceió	F	233	23	7	1	não
LABI2157	Coruripe	M	222	26	8	1	sim
LABI2210	Maceió	M	231	25	9	1	não
LABI2211	Maceió	F	220	27	7	1	sim
LABI2212	Maceió	F	232	22	7	1	não
LABI2213	Marechal Deodoro	F	228	24	9	1	sim
LABI2214	Maceió	M	233	16	9	2/3	não
LABI2231	Maceió	F	229	19	8	2/3	não
LABI2232	Maceió	M	228	25	8	1	sim
LABI2233	Maceió	M	238	28	8	1	não
LABI2236	Maceió	F	232	26	7	1	sim
MHN-UFAL326	Rio Largo	F	246	15	8	2/3	não
MHN-UFAL356	Maceió	F	226	20	8	1	não
MHN-UFAL357	Penedo	M	209	22	8	1	não
MHN-UFAL388	Maceió	M	231	25	7	1	não
MHN-UFAL2154	Maceió	M	221	22	7 1/3	1	não
MHN-UFAL2269	Murici	M	217	26	7	1	não
MHN-UFAL2461	Maceió	M	222	24	7	1	não
MHN-UFAL4104	Atalaia	M	226	26	8	1	não
MHN-UFAL4105	Atalaia	F	239	19	7	1	não
MHN-UFAL4158	Atalaia	M	231	22	7	1	sim
MHN-UFAL4187	Marechal Deodoro	M	226	23	8	1	não
MHN-UFAL4853	Atalaia	M	240	23	9	1	não
MHN-UFAL4856	Marechal Deodoro	M	229	23	9	1	não
MHN-UFAL5986	Marechal Deodoro	M	253	29	8	1	não
MHN-UFAL6101	Maceió	M	220	26	8	1	não

MHN-UFAL6104	Flexeiras	F	207	24	8	1	sim
MHN-UFAL6105	Flexeiras	M	227	25	8	1	não
MHN-UFAL6106	Flexeiras	M	228	24	8	1	não
MHN-UFAL6107	Marechal Deodoro	M	220	20	9	1	não
MHN-UFAL6108	Maceió	M	226	24	8	1	não
MHN-UFAL6109	Maceió	M	228	23	8	1	não
MHN-UFAL6110	Maceió	F	235	23	8	1	não
MHN-UFAL6112	Piranhas	M	223	19	9	1	não
MHN-UFAL6113	Maceió	M	232	24	8	1	não
MHN-UFAL6114	Maceió	F	229	19	8	1	não
MHN-UFAL6117	Maceió	F	22	18	8	1	não
MHN-UFAL6118	Maceió	M	227	27	8	1	não
MHN-UFAL6225	Marechal Deodoro	M	238	24	8	1	não
MHN-UFAL6254	Maceió	F	236	21	9	2/3	não
MHN-UFAL6489	Coruripe	M	221	24	8	1	sim
MHN-UFAL6490	Coruripe	F	233	22	10	1	não
MHN-UFAL6664	Maceió	F	234	21	9	1	não
MHN-UFAL6707	Teotônio Vilela	F	223	24	8	1	não
MHN-UFAL7074	Maceió	M	229	20	7	1	não
MHN-UFAL7076	Maceió	M	216	21	7	1	não
MHN-UFAL7078	Piranhas	F	233	19	8	1	não
MHN-UFAL7198	Atalaia	F	244	27	6	1	não
MHN-UFAL7199	Teotônio Vilela	F	238	21	8	1	sim
MHN-UFAL7221	Teotônio Vilela	F	231	22	9	1	sim
MHN-UFAL7222	Campo Alegre	F	218	21	8	1	sim
MHN-UFAL7504	Passo de Camaragibe	F	245	34	10	1	sim
MHN-UFAL9453	Maceió	F	236	24	9	1	não
MHN-UFAL9481	Maceió	M	230	20	9	1	não
MHN-UFAL10425	Japaratinga	F	231	21	7	1	não
MHN-UFAL10514	Maceió	M	231	24	8	1	não
MHN-UFAL10598	Maceió	F	240	16	8	1	não
MHN-UFAL10784	Rio Largo	M	230	22	8	1	não
MHN-UFAL10788	Maceió	M	224	19	8	1	não
MHN-UFAL10791	Maceió	M	233	28	9	1	não
MHN-UFAL10804	Maceió	F	241	22	8	1	não
MHN-UFAL11027	Murici	M	227	22	8	1	não
MHN-UFAL11028	Murici	M	221	24	7	1	não
MHN-UFAL11414	Maceió	F	214	25	7	1	não
MHN-UFAL11582	São José da Tapera	F	225	21	9	1	não
MHN-UFAL11621	Paripueira	M	223	22	7	1	não
MHN-UFAL11643	Maceió	M	228	24	8	1	não

MHN-UFAL11857	Maceió	F	207	23	7	1	não
MHN-UFAL11858	Maceió	F	208	22	8	1	não
MHN-UFAL11910	Maceió	M	227	26	7	1	não
MHN-UFAL12067	Pilar	F	217	17	8	1	não
MHN-UFAL12100	Maceió	F	217	25	7	1	não
MHN-UFAL12210	Maceió	M	233	25	7	1	não
MHN-UFAL12211	Maceió	F	220	18	7	1	não
MHN-UFAL12212	Maceió	F	213	18	8	1	não
MHN-UFAL13336	Jequiá da Praia	F	232	21	8	1	não
MHN-UFAL13439	Marechal Deodoro	M	222	26	8	1	não
MHN-UFAL13454	Marechal Deodoro	F	232	19	8	1	não
MHN-UFAL13517	Marechal Deodoro	F	234	23	8	1	não
MHN-UFAL13703	Satuba	F	235	19	9	1	não
MHN-UFAL13747	Barra de Santo Antônio	M	226	24	7	1	não
MHN-UFAL13971	Barra de Santo Antônio	F	243	20	8	2/3	não
MHN-UFAL13837	Maceió	M	224	27	7	1	não
MHN-UFAL13838	Maceió	M	223	14	7	1	não
MHN-UFAL13839	Maceió	F	228	24	8	1	não
MHN-UFAL14302	Paripueira	M	233	25	8	1	não
MHN-UFAL14335	Marechal Deodoro	M	220	22	8	1	não
MHN-UFAL15041	Coruripe	F	225	18	8	1	não
MHN-UFAL15042	Maceió	F	215	18	7	1	não
MHN-UFAL15043	Maceió	F	221	26	9	1	não
MHN-UFAL15044	Rio Largo	M	225	26	8	1	sim
MHN-UFAL15045	Maceió	F	221	21	8	1	não
MHN-UFAL15046	Maceió	M	240	10	8	1/3	não
MHN-UFAL16175	Paripueira	F	237	19	8	1	não
MHN-UFAL16339	Murici	F	234	27	9	1	sim
MHN-UFAL17093	Maceió	F	251	37	11	1 1/3	sim

**Apêndice C** - Valores obtidos para os caracteres morfométricos dos espécimes fêmeas (N total=64; N Morfotipo 1=52; N Morfotipo 2=12) de *Micrurus ibiboboca* utilizados neste estudo. Valores estão expressos em milímetros. Os detalhes das siglas de características são mencionados na seção Material e métodos.

♀	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO
<b>CRC</b>	489,19	194,55	210	1004
<b>CCabeça</b>	10,75	2,80	7,09	17,12
<b>LCabeça</b>	8,39	2,50	5,11	15,12
<b>CCauda</b>	27,77	13,82	8,02	64,02
<b>CFP</b>	13,33	4,05	5,03	22,03
<b>AVAPT</b>	6,55	3,02	1,21	19,15

<b>APAPT</b>	8,50	2,94	3,12	16,13
<b>ABAPT</b>	5,71	2,07	2,12	12,20
<b>APMPT</b>	14,57	5,92	5,15	33,12
<b>ABPPT</b>	7,23	2,94	3,12	17,20
<b>APPPT</b>	10,63	4,53	2,20	27,14
<b>AVPPT</b>	16,22	7,83	5,03	39,01
<b>AVATM</b>	14,69	8,27	2,32	42,11
<b>APATM</b>	10,68	4,97	3,12	32,11
<b>ABATM</b>	7,04	3,08	2,71	19,02
<b>APMTM</b>	12,44	5,79	4,02	35,01
<b>ABPTM</b>	6,94	2,98	2,03	19,03
<b>APPTM</b>	10,59	5,01	3,02	30,02
<b>AVPTM</b>	14,25	7,58	3,11	37,45

**Apêndice D** - Valores obtidos para os caracteres morfométricos dos espécimes machos (N total=66; N Morfotipo 1=62; N Morfotipo 2=4) de *Micrurus ibiboboca* utilizados neste estudo. Valores estão expressos em milímetros.

♂	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO
<b>CRC</b>	554,14	209,82	210	1000
<b>CCabeça</b>	12,08	3,28	7,11	21,03
<b>LCabeça</b>	9,49	3,30	1,05	18,12
<b>CCauda</b>	32,95	17,06	4,06	68,24
<b>CFP</b>	14,71	3,81	7,02	24,12
<b>AVAPT</b>	6,76	2,27	2,01	13,02
<b>APAPT</b>	9,43	3,11	3,01	17,09
<b>ABAPT</b>	6,15	2,12	1,02	11,13
<b>APMPT</b>	18,85	7,49	4,02	39,01
<b>ABPPT</b>	8,05	2,92	1,22	16,14
<b>APPPT</b>	12,91	4,62	3,02	25,12
<b>AVPPT</b>	18,15	7,45	5,05	37,13
<b>AVATM</b>	15,89	9,26	3,09	55,35
<b>APATM</b>	12,61	5,39	3,11	27,08
<b>ABATM</b>	8,04	3,82	1,22	22,5
<b>APMTM</b>	16,38	7,63	3,12	39,11
<b>ABPTM</b>	8,09	3,84	1,21	24,61
<b>APPTM</b>	12,73	5,77	3,11	30,55
<b>AVPTM</b>	16,51	9,66	3,61	47,2

**Apêndice E** - Resultados das Análises de Variância (ANOVA) e Multivariância (MANOVA), realizadas a partir de quatro variáveis merísticas e 19 variáveis morfométricas utilizando o sexo como fator em espécimes de *Micrurus ibiboboca* (Morfotipo 1 n=114, fêmeas=52, machos=62; Morfotipo 2 n=16, fêmeas=12, machos=4) do estado de Alagoas. Valores significativos de *P*

(<0,05) estão destacados em negrito. Os valores utilizados para determinar a forma do corpo (MANOVA) foram corrigidos pelo tamanho e a análise foi feita com os resíduos de uma PCA.

	Morfotipo 1		Morfotipo 2	
	F <sub>1,113</sub>	P	F <sub>1,15</sub>	P
EV	0,07	0,78	0,46	0,5
ESC	16,31	> <b>0,001</b>	0,21	0,65
TriCorpo	0,55	0,45	1,86	0,19
TriCauda	0,94	0,33	0,31	0,58
PP	2,51	0,11	0	0
CCabeça	4,86	<b>0,03</b>	2,32	0,15
LCabeça	3,1	0,08	3,9	0,06
CCauda	2,51	<b>0,04</b>	0,09	0,76
CFP	2,73	0,1	2,79	0,11
CRC	2,51	0,11	2,11	0,16
AVAPT	0,91	0,34	0,01	0,91
APAPT	2,8	0,09	0,91	0,35
ABAPT	0,89	0,34	0,43	0,51
APMPT	8,68	<b>0,003</b>	7,19	<b>0,01</b>
ABPPT	1,25	0,26	3,88	0,06
APPPT	4,46	<b>0,04</b>	4,93	<b>0,04</b>
AVPPT	1,44	0,23	4,15	0,06
AVATM	0,46	0,49	2,46	0,13
APATM	3,7	0,05	1,77	0,2
ABATM	1,66	0,2	4,42	0,05
APMTM	8,13	<b>0,005</b>	3,52	0,08
ABPTM	2,44	0,12	3,88	0,06
APPTM	4,09	<b>0,04</b>	1,78	0,2
AVPTM	1,77	0,18	3,6	0,07
Formato do corpo			2,91	0,07

**Apêndice F** - Resultados das Análises de Variância (ANOVA) e Multivariância (MANOVA), realizadas a partir de quatro variáveis merísticas e 19 variáveis morfométricas utilizando o morfotipo como fator em espécimes de *Micrurus ibiboboca* (fêmeas n=64, machos=66) do estado de Alagoas. Valores significativos de P (<0,05) estão destacados em negrito. Os valores utilizados para determinar a forma do corpo (MANOVA) foram corrigidos pelo tamanho e a análise foi feita com os resíduos de uma PCA.

	Fêmeas		Machos	
	F <sub>1,63</sub>	P	F <sub>1,65</sub>	P
EV	0,45	0,5	0,11	0,73
ESC	16,6	> <b>0,001</b>	0,14	0,7
TriCorpo	5,21	<b>0,02</b>	0,09	0,75
TriCauda	3,28	0,07	0,18	0,67
PP	92,49	> <b>0,001</b>	17,98	> <b>0,001</b>

<b>CCabeça</b>	0,05	0,82	0,89	0,34
<b>LCabeça</b>	0,04	0,85	2,02	0,15
<b>CCauda</b>	1,91	0,17	0,08	0,77
<b>CFP</b>	0	0,99	2,77	0,1
<b>CRC</b>	0,08	0,77	1,6	0,2
<b>AVAPT</b>	2,43	0,12	0,44	0,5
<b>APAPT</b>	0,41	0,52	0,77	0,38
<b>ABAPT</b>	0,26	0,6	0,009	0,92
<b>APMPT</b>	0,63	0,42	0,2	0,65
<b>ABPPT</b>	0,16	0,68	1,92	0,17
<b>APPPT</b>	1,52	0,22	0,67	0,41
<b>AVPPT</b>	0,44	0,5	6,16	<b>0,01</b>
<b>AVATM</b>	1,45	0,23	7,46	<b>0,008</b>
<b>APATM</b>	0,15	0,69	0,71	0,4
<b>ABATM</b>	0,08	0,76	2,99	0,08
<b>APMTM</b>	0,05	0,81	0,22	0,63
<b>ABPTM</b>	0,04	0,83	1,86	0,17
<b>APPTM</b>	0,06	0,79	0,58	0,44
<b>AVPTM</b>	1,3	0,25	5,7	<b>0,01</b>
<b>Formato do corpo</b>				

**Apêndice G** - Lista das sequências de um fragmento do gene mitocondrial ND4 provenientes do GenBank utilizadas para estimar as relações filogenéticas do gênero *Micrurus* neste estudo.

<b>Espécie</b>	<b>Nº de acesso GenBank</b>	<b>Voucher</b>	<b>Localidade</b>
<i>Sinomicrurus japonicus boettgeri</i>	MW788956	KUZR34195	Japão
<i>Sinomicrurus kelloggi</i>	EF137409	ROM37080	Localidade desconhecida
<i>Micrurus filiformis</i>	MW662061		La Primavera, Colômbia
<i>Micrurus filiformis</i>	MW662060	ICN11380	Água Azul, Colômbia
<i>Micrurus lemniscatus</i>	MK534179	CAS257629	Guiana
<i>Micrurus surinamensis</i>	AF228444	CEPB1812	Letícia, Colômbia
<i>Micrurus surinamensis</i>	JF308709	KU214908	Peru
<i>Micrurus ibiboboca</i>	AF228440	CEPB024	Xingó, AL
<i>Micrurus pyrrhocryptus</i>	AF228434	MZUSP10809	Santos Lugares, Argentina
<i>Micrurus pyrrhocryptus</i>	JF308705	LSUMZH6130	Argentina
<i>Micrurus altirostris</i>	AF228430	MHNCL4208	Irati, PR, Brasil
<i>Micrurus altirostris</i>	AF228429	MHNCL4848	Campo Largo, PR, Brasil
<i>Micrurus brasiliensis</i>	AF228428	IB55385	Desidério, BA, Brasil
<i>Micrurus brasiliensis</i>	AF228427	CEPB2301	Barreiras, BA, Brasil
<i>Micrurus frontalis</i>	AF228426	CEPB2365	Senador Canedo, GO, Brasil
<i>Micrurus frontalis</i>	AF228425	CEPB1587	Guapo, GO, Brasil
<i>Micrurus obscurus</i>	JF308708	KU222205	Peru

---

<i>Leptomicrurus narducci</i>	EF137404	KU202955	Localidade desconhecida
<i>Elapsoidea nigra</i>	AY058975	LSUMZ56273	Localidade desconhecida

---