

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**ANÁLISE FILOGENÉTICA DE GYMNOPTIONA MÜLLER, 1832
(AMPHIBIA)**

Camila Camargo de Souza

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

Av. Ipiranga 6681 - Caixa Postal 1429

Fone: (051) 320-3500

CEP 90619-900 Porto Alegre - RS

Brasil

2016

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**ANÁLISE FILOGENÉTICA DE GYMNOPHIONA MÜLLER, 1832
(AMPHIBIA)**

Camila Camargo de Souza

Orientador: Dr. Santiago Castroviejo-Fisher

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PORTO ALEGRE - RS - BRASIL

2016

Sumário

Agradecimentos.....	IV
Resumo.....	V
Abstract.....	VII
Introdução.....	1
Material e Métodos.....	7
Grupo externo.....	7
Grupo interno.....	7
Dados fenotípicos.....	7
Dados moleculares.....	9
Evidência total.....	10
Análise filogenética.....	11
POY.....	11
TNT.....	13
Suporte.....	13
Resultados e Discussão.....	14
Caeciliidae.....	26
Chikilidae.....	27
Dermophiidae.....	27
Herpelidae.....	28
Ichthyophiidae.....	29
Indotyphlidae.....	29
Rhinatreumatidae.....	31
Scolecophoridae.....	31
Siphonopidae.....	32

Typhonectidae.....	32
Conclusões.....	33
Referências bibliográficas.....	36
Apêndices.....	44

Relação de Figuras

- Figura 1.** Esquema das topologias atribuídas a Gymnophiona, baseada em alguns estudos anteriores.....**5**
- Figura 2.** Relações filogenéticas de Gymnophiona, e grupo externo, inferidas por parcimônia com base em caracteres fenotípicos e sequências de DNA sobre Otimização Direta do alinhamento por árvore.....**16**
- Figura 3.** Relações filogenéticas de Gymnophiona, e grupo externo, inferidas por parcimônia com base em caracteres fenotípicos e sequências de DNA, a partir do alinhamento por similaridade.....**19**
- Figura 4.** Relações filogenéticas de Gymnophiona, e grupo externo, inferidas por parcimônia com base em sequências de DNA.....**22**
- Figura 5.** Consenso estrito, ao nível de família, das análises de parcimônia realizadas a partir do alinhamento por árvores, executadas no POY e do alinhamento por similaridade, no TNT.....**25**

Agradecimentos

Agradeço aos representantes das instituições que disponibilizaram amostras de tecido de DNA: Prof. Márcio Borges Matins e Diego J. Alvares (Universidade Federal do Rio Grande do Sul), Fernando Rojas (Museo de Historia Natural La Salle) e Isabel Rey Fraile (Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid).

Agradeço ao Prof. Santiago Castroviejo Fisher, à Gláucia M. Pontes Funk e aos colegas da herpetologia: Andres F. Jaramillo, Fernando Rojas, Fidélis Marra, Mauricio Rivera Correa, Marco Rada, Pedro Ivo Simões, Raíssa Furtado e Ronaldo Libardi.

Agradeço à Profa. Carla S. Fontana e aos colegas da ornitologia, especialmente Christian Beier, Graziela Dotta e Martin S. Perez.

Agradeço ao Prof. Roberto E. Reis e aos colegas da Ictiologia: Alejandro L. Burbano, Bárbara Calegari, Débora Antonetti e Maria Laura Delapieve.

Agradeço aos colegas de outros laboratórios Ludimila C. Pinheiro e Miguel Machado.

Agradeço a toda Comissão do Programa de Pós-Graduação da PUCRS.

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida.

E reforço um agradecimento muito especial à **Bárbara Calegari**, ao **Pedro Ivo Simões** e à **Gláucia M. Pontes Funk**.

Resumo

Gymnophiona Müller, 1832 é a ordem menos estudada dentro de Amphibia, com 206 espécies conhecidas. As relações filogenéticas do grupo permaneceram instáveis por muito tempo, sofrendo com mudanças no número de famílias, devido à constante presença de táxons parafiléticos. Uma crescente de estudos com produção de evidências moleculares e morfológicas tem formado um arcabouço de informações sobre as relações evolutivas do grupo. Mesmo assim, uma classificação filogenética de toda a ordem não representava uma tarefa fácil. Em 2011, foi proposta uma classificação ao nível de família, onde os gêneros foram distribuídos em nove famílias supostamente monofiléticas. Essa proposta não foi baseada em uma análise filogenética, mas sim em um consenso do entendimento das relações filogenéticas inferidas em estudos prévios, sendo muitos deles discordantes, tanto em tipos de análises, quanto em resultados. Apenas um estudo incluiu um táxon fóssil, que apesar de ser pouco representativo em quantidade, representa uma fonte válida de evidência. Devido ao grande esforço para gerar dados e obter informações acerca dos Gymnophiona, existem inúmeros caracteres hereditários disponíveis. Dessa forma, percebe-se uma importância em unir todos esses dados (genomas mitocondriais completos, sequências de genes nucleares, caracteres fenotípicos dos táxons viventes e fóssil) para compor uma nova proposta filogenética com o maior poder explicativo. Assim, o objetivo principal deste estudo foi inferir as relações evolutivas da ordem Gymnophiona em um contexto de evidência total, sob análises de parcimônia e homologia dinâmica e avaliar a taxonomia atual de Gymnophiona com base na(s) árvore(s) mais parcimoniosa(s). Adicionalmente, avaliar o efeito de diferentes tipos de alinhamento, a influência de caracteres fenotípicos em um *dataset* dominado por dados genéticos e o efeito de codificar os *indels* como dados faltantes. Para isso foram compilados caracteres morfológicos de estudos prévios, sequências disponíveis no GenBank, referentes a 47 genes (nucleares e mitocondriais) de todas as espécies disponíveis, além da produção de 42 novas sequências. Comparando os resultados gerados a partir do alinhamento por árvore (POY) e do alinhamento por similaridade (TNT) encontramos Rhinatrematidae como grupo-irmão de Ichthyophiidae + Teresomata. Dentro de Rhinatrematidae, *Epicrionops* foi recuperado parafilético em todas as análises e as relações dentro de Ichthyophiidae são uma politomia. A análise do POY não recupera Scolecomorphidae como táxon-irmão dos demais Teresomata, e sim Typhlonectidae + Caeciliidae. *Caecilia* é parafilética a *Osaecilia*, assim como *Typhlonectes* com relação a *Potamotyphlus*. Na análise via TNT, Herpelidae foi recuperada parafilética, com *Herpele squalostoma* agrupado com Chikilidae. Na análise do TNT, Siphonopidae não foi recuperada monofilética. A família Indotyphlidae foi não-monofilética em ambas as análises e *Idiocranium* foi recuperado como o táxon-irmão de Dermophiidae. *Dermophis* surge parafilético na análise do POY, enquanto que pelo TNT tanto *Dermophis* quanto *Gymnopsis* surgem parafiléticos. A topologia da árvore construída apenas com sequências de DNA, mostrou-se altamente semelhante ao consenso gerado pelo TNT, embora com alguns poucos clados melhor resolvidos, principalmente em Indotyphlidae. Já a análise unicamente morfológica restringiu-se a uma politomia total, o que pode ser justificado pela falta de caracteres morfológicos úteis, e que também pode ser um reflexo da falta de conhecimento acerca deste tipo de evidência. Quanto à codificação de *indels* como quinto estado ou como dados faltantes, não foi observada vantagem sobre nenhum dos testes em relação à topologia do consenso estrito. As principais conclusões derivadas dos resultados obtidos são: (i) o tipo de alinhamento das sequências de DNA tem um impacto evidente nas hipóteses filogenéticas; (ii) a aparente resolução da história

evolutiva dos atuais táxons supraespecíficos de Gymnophiona e sua monofilia, apresentada em outros estudos, dependem da exclusão de evidência relevante das análises ou da apresentação parcial das hipóteses ótimas; (iii) só a análise de evidência total permitiu descobrir casos potenciais de parafilia ou identificação errada de terminais; (iv) os dados fenotípicos atualmente usados no estudo das relações evolutivas de Gymnophiona têm altos níveis de informação não congruente e não são suficientes para a inclusão do táxon fóssil *Eocaecilia micropodia* dentro de Gymnophiona. O presente estudo revela a necessidade de uma revisão detalhada da taxonomia e filogenética de Gymnophiona.

Palavras chave: cecílias, sistemática filogenética, parcimônia, alinhamento por árvore, alinhamento por similaridade, evidência total.

Abstract

Gymnophiona Müller, 1832—with 206 currently recognized species—is the least studied order within Amphibia. The phylogenetic relationships among its members have been historically unstable, with frequent taxonomic changes at the family level due to the recurrent presence of paraphyletic taxa. However, an increase of studies based on morphological and molecular data has built a scaffold of information about the evolutionary relationships among caecilians; even though, a phylogenetic classification of the order has remained a challenge. In 2011 a new taxonomy of Gymnophiona was proposed, where genera were arranged in nine families supposedly monophyletic. This taxonomy was not based on a phylogenetic analysis but on a consensus of the understanding of the evolutionary relationships of the group as inferred by previous studies. However, important conflicts exist among the results and type of analyses performed on these studies. Furthermore, only one study has included the known fossil taxon of Gymnophiona, which despite being fragmented is a valid source of evidence. Due to several and continuous efforts to generate data on caecilians, there is a wealth of hereditary characters available for phylogenetic studies. Thus, it has become crucial to perform a combined analysis of all these data (complete mitochondrial genomes, nuclear DNA sequences, phenotypic characters of extant and fossil taxa) to obtain a phylogenetic hypothesis that maximizes explanatory power. The objective of this study is to infer the evolutionary relationships of Gymnophiona based on a total evidence analysis using parsimony and dynamic homology to evaluate the current taxonomy of the group. Additionally, we also evaluate the effect of different types of alignment (tree versus similarity approaches), the influence of phenotypic characters on a dataset dominated by molecular characters, and the effect of coding indels as missing data. We compiled previously published phenotypic characters, DNA sequences available from GenBank of 47 nuclear and mitochondrial genes of all available taxa, and produced 42 new sequences. When comparing the results obtained from the tree-alignment analysis in POY with those of the similarity alignment in TNT, both recover Rhinatrematidae as sister of Ichthyophiidae + Teresomata. Within Rhinatrematidae, *Epicrionops* is paraphyletic in all analyses and the relationships within *Ichthyophis* are unsolved (a polytomy in the strict consensus). POY does not recover Scolecomorphidae as the sister taxon of all other Teresomata but Typhlonectidae + Caeciliidae. *Caecilia* is paraphyletic with respect to *Oscacaecilia* and *Typhlonectes* in relationship to *Potamotyphlus*. Scolecomorphidae is sister of Herpelidae + Chikilidae. The results of TNT recover a paraphyletic Herpelidae, with *Herpele squalostoma* sister of Chikilidae. Also, Siphonopidae is non-monophyletic. Indotyphlidae is non-monophyletic in both analyses and *Idiocranium* is consistently recovered as sister taxon of Dermophiidae. *Dermophis* is recovered as paraphyletic in the POY analysis, while both *Dermophis* and *Gymnopsis* are paraphyletic in the TNT analysis. The strict consensus of the molecular dataset is highly congruous with that of the total evidence dataset; however, the former is better resolved (less polytomies), mainly within Indotyphlidae. The analysis of the phenotypic data alone resulted in a complete polytomy, illustrating the need of more research in this avenue. Coding indels as missing data did not cause important topological changes. The main conclusions derived from this study are: (i) the type of alignment of DNA sequences have an evident impact on the phylogenetic hypotheses of Gymnophiona; (ii) the apparent resolution on the evolutionary relationships of the extant supraspecific taxa of Gymnophiona and their monophyly presented in other studies are dependent on the exclusion of relevant evidence—taxa and characters—or the partial presentation of the optimal hypotheses; (iii) only a total evidence analysis

allowed us to discover some of the potential cases of paraphyly or misidentification of vouchers; (iv) the phenotypic data currently used in the study of the evolutionary relationships of Gymnophiona contain important levels of non-congruent information and are not sufficient to place the fossil *Eocaecilia micropodia* within caecilians. This study reveals the need of detailed revision of the taxonomy and phylogeny of Gymnophiona

Key-words: caecilians, phylogenetic systematics, parsimony, tree-alignment, similarity-alignment, total evidence.

Título: Análise Filogenética de Gymnophiona Müller, 1832 (Amphibia)

Responsabilidade e Execução: Camila Camargo de Souza e Santiago Castroviejo-Fisher

Introdução

Atualmente, são conhecidas 206 espécies de cecílias (Gymnophiona Müller, 1832), distribuídas em 32 gêneros e 10 famílias. Trata-se da ordem menos estudada dentro de Amphibia, possivelmente, devido a seus hábitos fossoriais, que dificultam seu encontro (Nussbaum & Wilkinson 1989; Zhang & Wake 2009; San Mauro *et al.* 2014). São conhecidas de grande parte da região tropical e algumas zonas subtropicais (Sudeste da Ásia, África, América Central e do Sul) (Zhang & Wake 2009; Wilkinson *et al.* 2011; Frost 2016).

Estudos sobre as relações filogenéticas do grupo, com variação no número de famílias reconhecidas (três-dez), começaram a ser realizados a partir de 1968, com um grande incremento na década de 80, inicialmente baseados em caracteres morfológicos (p.e., Taylor 1968, 1969; Nussbaum 1977, 1979; Laurent 1984; Wake 1985, 1986; Duellman & Trueb 1986; Lescure *et al.* 1986; Nussbaum & Wilkinson 1989). Enquanto alguns se mantinham conservadores sobre a filogenia do grupo, Laurent (1984) e Lescure *et al.* (1986) eram criticados por utilizarem, nas suas análises, caracteres não hereditários, como biogeografia e distribuição. Nussbaum & Wilkinson (1989) revisaram todas as propostas filogenéticas da década e optaram por utilizar uma classificação de seis famílias de cecílias. O maior problema dessa classificação foi Caeciliidae (*sensu* Nussbaum & Wilkinson 1989) ser parafilética com respeito a Typhlonectidae (Nussbaum 1979).

A partir do ano 2000, houve uma crescente de estudos baseados em evidências moleculares sobre a diversificação de Amphibia (p.e., San Mauro *et al.* 2005; Frost *et al.* 2006; Roelants *et al.* 2007; Pyron & Wiens 2011) que, juntamente com estudos morfológicos e/ou moleculares focados unicamente nas gymnophionas (p.e., San Mauro *et al.* 2004, 2014; Zhang & Wake 2009; Gower *et al.* 2011; Kamei *et al.* 2012; Maddin *et al.* 2012a,b; Nishikawa *et al.* 2012), ajudaram a formar um arcabouço de informações sobre as relações evolutivas do grupo. Entretanto, segundo Wilkinson & Nussbaum (2006), mesmo quando muitas das relações inferidas fossem congruentes entre os

diferentes estudos, a tradução em uma classificação filogenética de toda a ordem não representava uma tarefa fácil, principalmente por causa da não-monofilia de Caeciliidae.

Nussbaum & Wilkinson (1989) e Wilkinson & Nussbaum (2006), em suas revisões de filogenias, se depararam com situações de parafilia de algumas famílias (p.e., Caeciliidae com Typhlonectidae, Caeciliidae com Typhlonectidae e Scolecomorphidae, e Ichthyophiidae com Uraeotyphlidae), mas optaram por mantê-las até que se adquirisse um maior conhecimento filogenético que pudesse resolver tais problemas. Outros autores preferiram atualizações taxonômicas que refletissem monofilia nos grupos (p.e., Hedges 1993; Frost *et al.* 2006). Wilkinson *et al.* (2011) propuseram uma nova classificação das cecílias, ao nível de família, onde 34 gêneros foram reconhecidos e distribuídos em nove famílias supostamente monofiléticas. Essa nova taxonomia não foi baseada em uma análise filogenética, mas em um consenso do entendimento das relações filogenéticas e da diversidade do grupo inferida por estudos prévios (p.e., San Mauro *et al.* 2004, 2005; Frost *et al.* 2006; Roelants *et al.* 2007; Zhang & Wake 2009; Gower *et al.* 2011; Pyron & Wiens 2011), mesmo que algumas das relações entre tais estudos fossem mutuamente excludentes (ver exemplos na Fig. 1) e com importantes diferenciais em relação a aspectos como amostragem de táxons e caracteres, tipo de alinhamento de sequências de DNA e critério de otimização. Posteriormente, Kamei *et al.* (2012) descreveram uma nova família, incrementando a proposta de Wilkinson *et al.* (2011). Atualmente, também existem evidências da não-monofilia de alguns gêneros, como por exemplo, *Epicrionops*, *Ichthyophis* e *Caecilia* (Pyron & Wiens 2011; San Mauro *et al.* 2014).

Os fósseis são fontes válidas de evidência, e assim, aprimoram as hipóteses filogenéticas (Gauthier *et al.* 1988; Donoghue *et al.* 1989). Isso foi ilustrado por Maddin *et al.* (2012a) que estudou detalhadamente o crânio de *Eocaecilia micropodia* e realizou uma análise filogenética no contexto das relações dos anfíbios com Temnospondyli e Lepospondyli. Com exceção de Maddin *et al.* (2012a), nenhum dos estudos realizados incorporou táxons fósseis de Gymnophiona (i.e. *Eocaecilia micropodia* Jenkins & Walsh 1993) nas análises. Wilkinson *et al.* (2011) consideram que, por existirem poucos fósseis disponíveis, e em grande parte constituídos apenas por vértebras isoladas, estes não representam evidência suficiente para que sua posição filogenética fique resolvida, mesmo ao nível de família.

Durante os últimos 50 anos, uma grande riqueza de caracteres filogenéticos fenotípicos e genéticos, como morfologia cranial, estratégias reprodutivas e sequências

de DNA do genoma mitocondrial completo e mais de 10 marcadores nucleares, foram acumulados. Entretanto, nenhum estudo abordou as relações filogenéticas das cecílias em um contexto de evidência total abrangente. Kluge (1989) propôs que as análises filogenéticas deveriam incorporar todas as evidências avaliáveis nas hipóteses filogenéticas em uma análise conjunta e denominou esta estratégia como “evidência total”. Isso significa construir uma matriz que inclua todos os caracteres disponíveis à avaliação (p.e., morfológicos, moleculares, comportamentais, fisiológicos, etc.), juntamente com todos os táxons envolvidos (sejam eles, viventes ou fósseis) e que todas essas evidências sejam analisadas de forma conjunta (Kluge 1989, 1998).

O objetivo da sistemática filogenética é investigar as relações evolutivas entre as espécies e expressar tais relações em forma de árvores filogenéticas e grupos monofiléticos (Hennig 1966). Isto permite descrever o mais fielmente possível, as relações cladísticas e patrísticas dos organismos, pois elas são os componentes das hipóteses filogenéticas (Farris 1967). Na inferência filogenética, três métodos são comumente utilizados. Dois deles baseiam-se em modelos e probabilidade (máxima verossimilhança e inferência Bayesiana), enquanto o método da parcimônia considera a congruência de caracteres.

O princípio teórico da parcimônia explana processos evolutivos com poucas suposições. A parcimônia cladística é um programa de pesquisa que tenta maximizar os princípios científicos do poder explanatório e a severidade do teste. As justificativas para usar a parcimônia como um critério de otimização na cladística foram propostas por Farris (1983) e discutidas por Goloboff (2003), Goloboff & Pol (2005) e Kluge & Grant (2006) entre outros. O entendimento da filogenética como uma ciência estritamente ideográfica e histórica sugere que a minimização dos eventos de transformação, postulados para explicar os estados de caracteres do táxon terminal e o uso de pesos iguais nas análises de parcimônia, maximiza o poder explanatório da hipótese (Kluge & Grant 2006). Em adição, a aplicação de parcimônia filogenética em análise de pesos iguais, minimiza o número total de hipóteses de transformação requerida para explicar a variação hereditária observada entre espécies e como tal, o cladograma mais parcimonioso representa objetivamente a teoria filogenética ótima (Grant & Kluge 2004).

O requerimento para a evidência total é que a informação seja relevante para a inferência. Sua relevância é considerada se tiver um efeito positivo ou negativo sobre

uma dada conclusão. Na sistemática filogenética, uma abordagem de evidência total é relevante porque contabiliza um arsenal inteiro de evidências.

Por ser um grupo relativamente pequeno e por haver, nas últimas décadas, um esforço grande para gerar dados e obter informações acerca dos Gymnophiona, existem inúmeros caracteres disponíveis. Dessa forma, percebe-se uma importância em unir todos esses dados (genomas mitocondriais completos, sequências de genes nucleares, caracteres fenotípicos e ainda, informações morfológicas do fóssil de *Eocaecilia micropodia*) para compor uma nova proposta filogenética com o maior poder explicativo. Isso é fundamental e necessário porque nenhum dos trabalhos realizados com gymnophionas até o momento sugeriu uma análise filogenética baseada em evidência total. Mesmo que diferentes estudos baseados em diferentes evidências e critérios de otimização tenham recuperado clados compatíveis entre membros de Gymnophiona, ainda existem diferenças importantes (Fig. 1). É, portanto, de extrema importância testar esses resultados com um método que maximiza o poder explicativo, minimizando o número de eventos de transformação necessários para explicar o estado do caráter dos táxons terminais como hipóteses de homologia.

Assim, o objetivo principal deste estudo foi inferir as relações evolutivas da ordem Gymnophiona em um contexto de evidência total (compilação de caracteres gênicos disponíveis no GenBank, caracteres fenotípicos disponíveis em literatura, inclusive de um táxon fóssil e produção de novas sequências de DNA) sob análises de parcimônia e homologia dinâmica e avaliar a taxonomia atual de Gymnophiona com base na(s) árvore(s) mais parcimoniosa(s). Adicionalmente, neste estudo, se avalia o efeito que diferentes tipos de alinhamento têm nos resultados, a influência de caracteres fenotípicos em um *dataset* dominado pelos dados genéticos e o efeito de codificar os *indels* “-” como dados faltantes “?”, temas que têm sido intensamente debatidos (p.e., De Sá *et al.* 2014; Padial *et al.* 2014; Peloso *et al.* 2016).

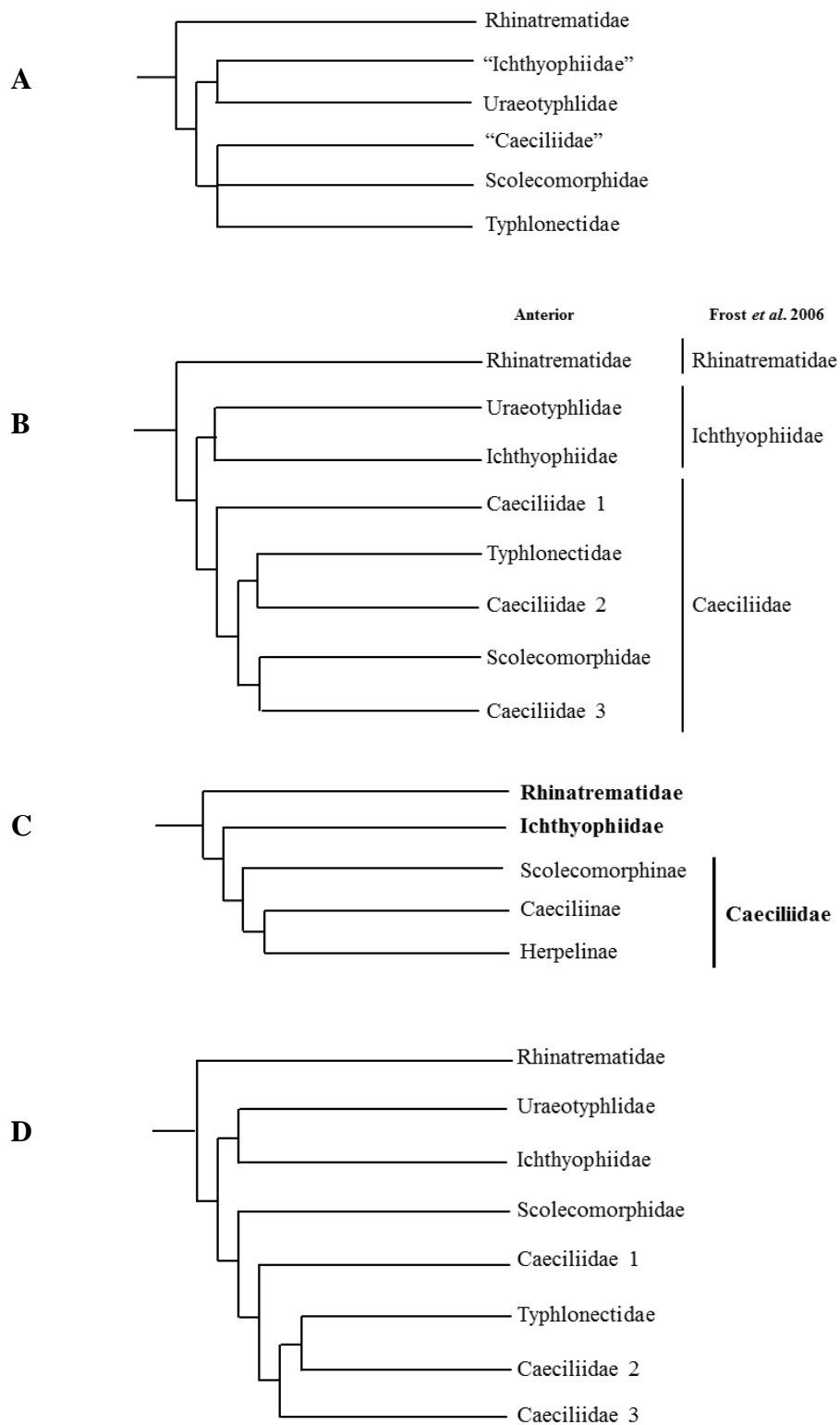


Figura 1. Esquematização das topologias atribuídas a Gymnophiona, baseada em estudos anteriores. A. Nussbaum & Wilkinson (1989) e Wilkinson & Nussbaum (2006); B. Frost *et al.* (2006); C. Roelants *et al.* (2007) e Pyron & Wiens (2011); D. Zhang & Wake (2009); E. Wilkinson *et al.* (2011) e Maddin *et al.* (2012b – análise Bayesiana); F. Maddin *et al.* (2012b – Parcimônia); G. Kamei *et al.* (2012) e San Mauro *et al.* (2014). Continua na próxima página.

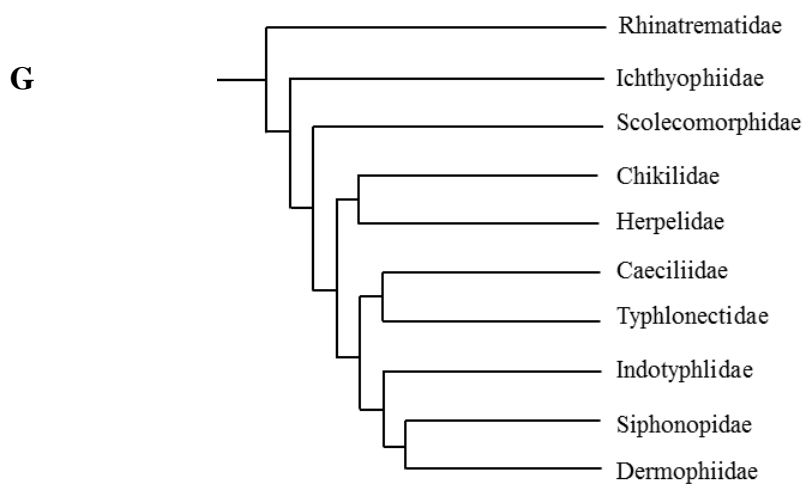
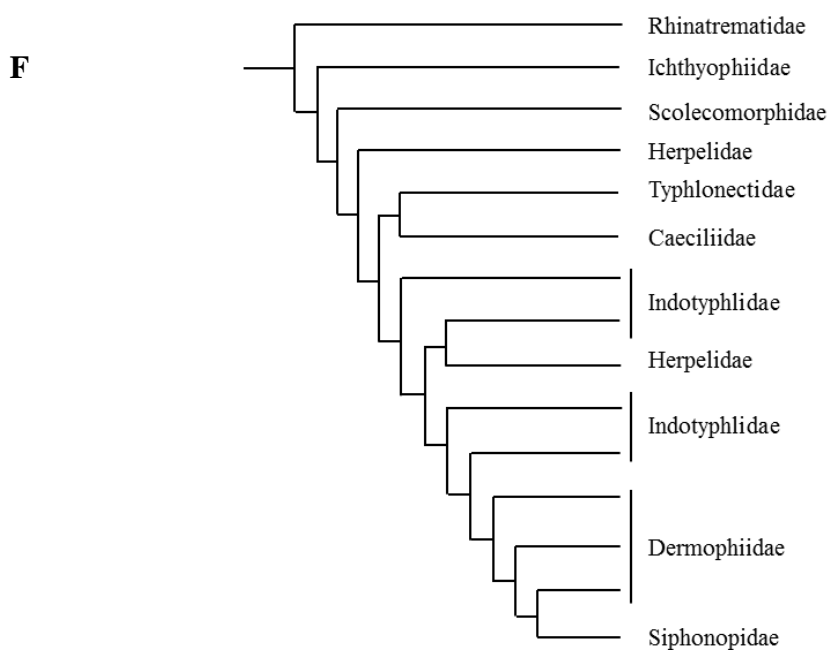
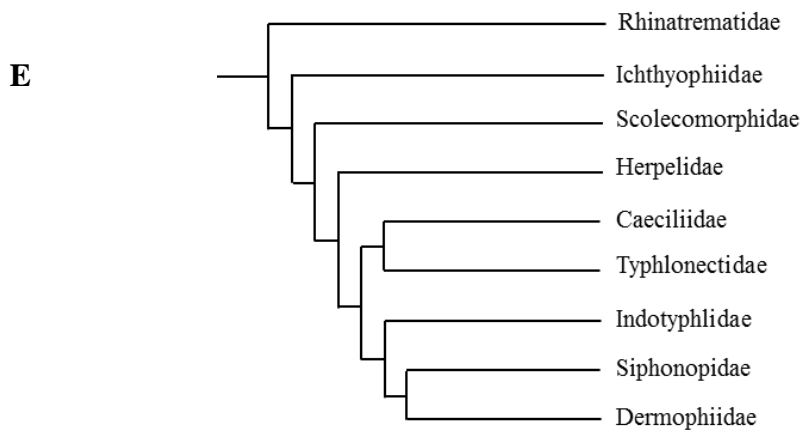


Figura 1. Continuação.

Material e métodos

Grupo externo. O grupo externo foi selecionado tentando abranger o maior número de sequências homólogas do GenBank, além de caracteres fenotípicos amostrados por Maddin *et al.* (2012a,b). Trabalhos sobre sistemática filogenética com Gymnophiona também auxiliaram na definição do grupo externo (Frost *et al.* 2006; Roelants *et al.* 2007; Pyron & Wiens 2011; Zhang *et al.* 2013; San Mauro *et al.* 2014).

O grupo externo é constituído por 27 táxons do grupo irmão de Gymnophiona, Batrachia (15 Anura + 12 Caudata), mais sete táxons de outros cinco grupos de tetrápodes (Ave, Crocodilia, Mammalia, Squamata e Testudines) e um representante de Dipnoi como raiz. O Apêndice 1 lista os terminais do grupo externo e seus respectivos códigos de acesso ao GenBank.

Grupo interno. Foram incluídos 27 dos 32 gêneros da ordem, os quais representam todas as famílias atuais, seguindo a taxonomia utilizada em Frost (2016), mais um táxon fóssil. A escolha dos táxons utilizados no grupo interno foi com base em todos que possuíssem algum tipo de informação disponível para ser analisada. O Apêndice 2 lista os terminais do grupo interno e seus respectivos códigos de acesso ao GenBank.

Dados fenotípicos. Caracteres morfológicos foram compilados a partir das matrizes desenvolvidas por Maddin *et al.* (2012a,b; as matrizes foram obtidas por cortesia dos autores). Além dos dados morfológicos, foram utilizados os caracteres associados à história de vida, investigados por San Mauro *et al.* (2014).

Maddin *et al.* (2012a) desenvolveram uma matriz (64 táxons não-amniotas e 308 caracteres) com base nas matrizes de Anderson *et al.* (2008), modificada por Maddin & Anderson (2012) e Maddin *et al.* (2012b). Assim, abrangeram táxons fósseis e vivos e fizeram o primeiro teste extensivo das afinidades filogenéticas de *Eocaecilia micropodia* (táxon fóssil). Exemplos fósseis de Gymnophiona estão restritos a apenas seis registros, cinco deles baseados em amostras constituídas apenas por vértebras e somente um representado por partes substanciais do esqueleto craniano e pós-craniano de *Eocaecilia micropodia* (ver Estes & Wake 1972; Evans *et al.* 1996; Hecht & LaDuke 1997; Wake *et al.* 1999; Rage & Pickford 2011; Jenkins & Walsh 1993; Evans & Sigogneau-Russell 2001; Jenkins *et al.* 2007).

A evolução de caracteres associados à história de vida de Gymnophiona foram investigados por San Mauro *et al.* (2014) a partir da análise do genoma mitocondrial e

consequente filogenia. Os autores inferiram estados de caráter ancestral e associaram correlação sobre larvas de vida-livre, viviparidade e dentes vernais ou pré-adultos especializados. No referido trabalho foram atribuídas duas codificações alternativas (liberal e conservadora) para cada um dos três caracteres binários, baseado na literatura ou em observações não publicadas. A codificação mais liberal reduziu dados faltantes de 22% a 4%, entretanto foi baseada em inferências, quando na ausência de observações diretas. A codificação denominada conservadora foi baseada exclusivamente nas observações diretas dos estágios de desenvolvimento relevantes e é esta a pontuação utilizada neste trabalho.

San Mauro *et al.* (2014) assumiu os estados “–” e “+” para ausente e presente, respectivamente, e “O” e “V” para oviparidade e viviparidade, respectivamente. Nós assumimos os estados “0” e “1” conforme detalhado abaixo:

1. Estágio larval de vida-livre

Ausente (0): condicionada à observação de fetos não larvais, recém-nascidos ou filhotes.

Presente (1): dependente de observação ou relato de amostras de larvas ou metamorfose com traços de características larvais (linha lateral, dobras labiais, espiráculos, cauda).

2. Modo reprodutivo

Oviparidade (0): condicionada à observação de desovas estabelecidas.

Viviparidade (1): condicionada à observação de fetos ou parto.

3. Dente vernal

Ausente (0): condicionada à observação de espécimes muito jovens, apenas com dentição adulta.

Presente (1): condicionada à observação direta de dente vernal.

Compilados os dados, a matriz de caracteres morfológicos foi organizada da seguinte maneira:

Os táxons foram dispostos ao nível específico. A partir da matriz de Maddin *et al.* (2012b)—112 caracteres, 31 táxons do grupo interno + três táxons do grupo externo, sendo excluída a raiz—foram acrescentados os caracteres disponíveis em Maddin *et al.* (2012a), os quais incluem cinco novos caracteres e 53 dos 219 de Anderson *et al.* (2008), além do táxon fóssil. Foram adicionados ainda, mais três caracteres e 16 táxons provenientes de San Mauro *et al.* (2014). Seis dos 51 táxons foram duplicados, para que a informação fenotípica pudesse ser concatenada com a informação gênica, quando exemplares distintos identificados como membros da mesma espécie, apresentavam

divergências importantes nas sequências homólogas do gene mitocondrial 16S (uncorrected p-distance >2%). Sendo assim, a matriz fenotípica totaliza 173 caracteres e 57 táxons terminais. Alguns caracteres de Anderson *et al.* (2008) foram excluídos (Apêndice 3) da análise devido à redundância com outros caracteres de Maddin *et al.* (2012b), por não serem aplicados aos táxons do grupo interno ou aplicáveis apenas ao táxon fóssil, além dos caracteres que são constantes em todas as espécies avaliadas.

Os táxons da matriz de Maddin *et al.* (2012a) estão identificados ao nível de família, deste modo, todos os caracteres exibidos tiveram seus estados distribuídos, correspondentemente, entre as espécies já utilizadas anteriormente por Maddin *et al.* (2012b). Com isso, o caráter A78 ficou como multiestado para algumas espécies. O mesmo foi feito para táxons do grupo externo. Os estados atribuídos por Maddin *et al.* (2012a) a Caudata foram distribuídos igualmente para *Andrias davidianus* (Blanchard) e *Hynobius formosanus* Maki, enquanto que os estados atribuídos a Anura foram aplicados a *Ascaphus truei* Stejneger. Essas atribuições foram feitas apenas para os caracteres utilizados por Maddin *et al.* (2012a) provenientes de Anderson *et al.* (2008), caracteres de denominação iniciada pela letra A, já que os caracteres provenientes de Maddin *et al.* (2012b), com inicial M, foram atribuídos às espécies nominais e não a grandes grupos (p.e., Caudata e Anura).

Dados moleculares. Em março de 2014, iniciou-se o processo de obtenção de todas as sequências de DNA disponíveis no GenBank. Inicialmente foram 4.325 sequências de DNA (mitocondrial e nuclear) representando estudos anteriores com cecílias (p.e., Gower *et al.* 2002; San Mauro *et al.* 2004; Frost *et al.* 2006; Loader *et al.* 2011). Alguns critérios foram adotados a fim de excluir redundâncias.

A primeira filtragem eliminou genes e táxons com pouca representatividade (p.e., Hoxa-13 disponível apenas para *Gymnopsis multiplicata* Peters). Assim, mantiveram-se sequências de 47 genes (mitocondriais e nucleares): sendo 12S rRNA, 16S rRNA, rRNA, tRNAAla, tRNAArg, tRNAAsn, tRNAAsp, ATP6, ATP8, COI, COII, COIII, tRNACys, Cytb, D-loop, tRNAGln, tRNAGlu, tRNAGly, tRNAHis, tRNAIle, L-strand, tRNALeu-CUN, tRNALeu-UUR, tRNALys, tRNAMet, ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5, ND6, tRNAPhe, tRNAPro, tRNASer-AGY, tRNASer-UCN, tRNAThr, tRNATrp, tRNATyr e tRNAVal, os mitocondriais e 28S, CXCR4, H3a, NCX1, RAG1, Rodopsina, SIA, SLC8A3, os nucleares.

Foram produzidas 42 novas sequências (ver Apêndice 4) representando seis genes (16S, COI, CXCR-4, NCX1, RAG-1 e SLC8A3) provenientes de 13 espécimes

correspondentes a oito espécies. Os tecidos foram doados pelas coleções de tecidos das seguintes instituições: Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brasil, Museu Nacional de Ciências Naturais de Madrid (MNCN), Espanha e Museu de História Natural La Salle (MHNLS), Venezuela. Em todos os casos, o DNA total foi extraído utilizando DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen), seguindo seu protocolo de extração.

Fragmentos moleculares foram amplificados pela Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction- PCR). O volume total da reação era de 25 ul composto por DNA (2,0–4,0 ul), primers (1,25 ul), Master Mix (8,0–12,5 ul) e água livre de nucleasse (Milli-Q, 12,5–6,0 ul). Os valores são correspondentes a fragmentos de DNA mitocondriais e nucleares, respectivamente. Os primers utilizados e os ciclos de amplificação estão listados nos Apêndices 5 e 6.

Foi feita eletroforese em uma amostra do produto de PCR (3,0 ul), onde foram colocados em gel agarose, juntamente de 1,0 ul de Blue Juice com Gel Red (Invitrogen). Quando expostos a luz ultravioleta, os fragmentos luminescentes eram comparados à banda padrão exposta pelo 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen), para garantir, ou não, o sucesso da amplificação de DNA. Os produtos de PCR foram sequenciados pela MacroGen Inc. (Coreia).

Forward e *Reverse* foram agregados e editados, utilizando o programa Sequencher 4.1.4 (GeneCodes Corporation). As sequências de cada gene foram alinhadas utilizando o algoritmo MUSCLE (Edgar 2004), conforme parâmetros implementados pelo programa Aliview v. 1.14 (Larsson 2014).

Primeiramente, realizou-se apenas o sequenciamento do gene mitocondrial 16S. Conforme as sequências obtidas resultassem em alta identidade com sequências já disponíveis no GenBank para tais espécies ($\leq 98\%$), os demais sequenciamentos restringiam-se apenas a genes e/ou espécies ainda não disponíveis. Das 42 sequências obtidas, 32 foram utilizadas nas análises e 10 foram excluídas a fim de evitar redundância. Todas as sequências serão depositadas no GenBank.

Evidência total. Para incorporar a evidência fenotípica para os espécimes julgados coespecíficos, mas codificados separadamente para dados genotípicos seguimos Grant *et al.* (2006), duplicando os dados fenotípicos para cada terminal molecular, pois assim minimizam-se otimizações ambíguas devido a entradas perdidas. Mantendo as entradas idênticas, nós corroboramos com o objetivo da análise de

evidência total que é permitir que todos os dados interajam simultaneamente para identificar a hipótese que melhor explica todas as evidências (Grant *et al.* 2006).

A matriz de sequências de DNA e a matriz fenotípica foram combinadas em uma única matriz usando o POY 4.1.1 (Varón *et al.* 2009). Por fim, obtivemos uma matriz composta por 178 táxons terminais, sendo 35 deles correspondentes ao grupo externo e 143 ao grupo interno e 31.270 caracteres.

Análise filogenética. Foi escolhido o critério da parcimônia (Kluge & Farris 1969), pois conforme definido por diversos autores, trata-se de um método científico conservador em relação às inferências filogenética e seus pressupostos (Sober 1988). Por não ser estatística nem paramétrica, a parcimônia minimiza suposições acerca dos processos e número de eventos evolutivos que explicam os dados, selecionando como ótima, a última hipótese refutada e que exige menor número de eventos de transformação para explicar a evidência (Wiley 1975; Farris 1983; Eernisse & Kluge 1993; Farris *et al.* 2001; Kluge 1999, 2001, 2009; Kluge & Grant 2006; Grant & Kluge 2009; Padial *et al.* 2014).

Como métodos de alinhamento, foram utilizados tanto o alinhamento por árvore (Sankoff 1975; Sankoff & Rousseau 1975; Sankoff *et al.* 1976; Wheeler 1996) quanto o alinhamento por similaridade. O alinhamento por árvore infere o número mínimo de eventos de transformações necessários para explicar as diferenças observadas nas sequências de DNA (Grant & Kluge 2004; 2009; Kluge & Grant 2006; Wheeler *et al.* 2006; Grant & Kluge 2009; Padial *et al.* 2014) e foi executado via POY 5.1 (Wheeler *et al.* 2014) em uma única análise, juntamente da busca por árvores mais parcimoniosas. O alinhamento por similaridade foi feito utilizando o algoritmo Muscle, seguido de uma busca, no TNT (Goloboff *et al.* 2008), pelas árvores mais curtas, consequentes deste alinhamento. Com o intuito de avaliar os efeitos de diferentes abordagens, foram comparadas as topologias e o tamanho das árvores geradas através de alinhamento por árvore e alinhamento por similaridade associados à parcimônia.

POY. Na homologia dinâmica (alinhamento por árvore), os eventos de inserção/deleção (*indels*) são eventos inferidos e usados como informação junto com substituições de bases (Wheeler *et al.* 2006). Essa aproximação gera explicações mais eficientes da variação da sequência (árvore ótima), do que quando comparado a alinhamentos múltiplos por similaridade mais procura de soluções (i.e., árvores) ótimas (Wheeler 1996; Ford & Wheeler 2015). Aplicar a homologia dinâmica garante um critério explícito de otimização na geração de alinhamentos de sequência enquanto

também elimina a subjetividade de correções manuais. Neste trabalho, transições, transversões, inserções e deleções terão os mesmos valores, seguindo os argumentos de Kluge & Grant (2006) e Grant & Kluge (2009).

Para poder incorporar, no alinhamento por árvore, todas as sequências de DNA homólogas (tendo elas diferentes comprimentos devido à perda de dados), cada marcador foi pré-alinhado (alinhamento por similaridade), independentemente, e foi dividido em seções supostamente homólogas, conforme Wheeler *et al.* (2006). Esse passo inicial foi feito no programa Aliview, utilizando parâmetros padrões implementados pelo algoritmo Muscle. Posteriormente a este alinhamento por similaridade, algumas interferências foram feitas manualmente, a fim de evitar que o fim e/ou o início de fragmentos mais curtos dentro de um gene fossem colocados na extremidade correspondente ao início e/ou fim do alinhamento como um todo, e não na extremidade correspondente à respectiva sequência; e, a fim de eliminar as extremidades dos sequenciamentos dos táxons do grupo externo, quando essas ultrapassavam o comprimento máximo das sequências do grupo interno, já que esses dados não agregariam informação relevante à análise em foco.

Ainda utilizando o Aliview, os alinhamentos para cada gene, foram divididos em fragmentos que não apresentassem dados faltantes, restringindo as diferenças de comprimento entre as sequências. Desse modo, dados faltantes foram eliminados, mantendo apenas inserções e/ou deleções de nucleotídeos, o que é um requisito para o alinhamento por árvore no POY (Wheeler *et al.* 2006). As partições foram feitas em regiões mais conservadas, evitando gaps e mutações.

Inicialmente, o critério de Otimização Direta (OD: Wheeler 1996) foi utilizado para analisar as sequências de DNA, seguindo o comando *search*, que inclui busca por árvores ótimas (p.e., árvores Wagner), rearranjos por *Tree Bisection and Reconnection* (TBR), *Parsimony Ratchet* (Nixon 1999) e *Tree-fusing* (Goloboff 1999) como algumas possibilidades dentro do tempo estipulado. Foram armazenadas as árvores mais curtas de cada busca, permitindo que processadores paralelos permutassem árvores e adicionassem o conjunto de melhores árvores selecionadas para as interações subsequentes do comando (Varón *et al.* 2009). Foram feitas cinco buscas consecutivas de 48 horas, cada, seguidas de uma busca final de mais 240 horas, o que totalizou em 480 horas de busca, em paralelo com o American Museum of Natural History Cluster Enyo, o qual utilizou 32 processadores.

A árvore considerada mais curta foi submetida à otimização por *Iterative Pass* (IP, Sankoff *et al.* 1976; Wheeler 2003), mas devido a limitações computacionais (depois de 10 dias a análise não finalizou) os resultados não são apresentados. Entretanto, o alinhamento ótimo obtido pelo OD foi convertido em uma matriz de dados que foi analisada no TNT (Goloboff *et al.* 2008; custos iguais para todas as transformações e *gaps* considerados como quinto estado), já que foi observado por Castroviejo-Fisher *et al.* (2015) que o POY não reporta todas as árvores igualmente parcimoniosas.

TNT. O alinhamento por similaridade foi empregado para a análise de parcimônia de matrizes estáticas. Os mesmos fragmentos analisados no POY foram concatenados em um único arquivo com SequenceMatrix (Vaidya *et al.* 2011) e fusionados com os dados fenotípicos usando o POY. A série de dados de evidência total foi submetida a uma busca por árvores através de *New Technology* ao nível 99 — que implementa uma combinação de algoritmos que incluiu *Sectorial search*, *Tree Drifting* e *Tree-fusing* (Goloboff 1999) — com a árvore ótima recuperada um mínimo de 10 vezes. Além das buscas considerando *indels* e dados faltantes, realizou-se uma busca onde todos os *gaps* foram considerados como dados faltantes. Para avaliar o efeito dos dados fenotípicos na hipótese de evidência total, os dados moleculares e fenotípicos foram analisados, independentemente, usando a mesma estratégia de busca descrita previamente. Um consenso estrito das árvores mais parcimoniosas foi feito com o objetivo de resumir as hipóteses filogenéticas encontradas, para cada estratégia de busca.

Suporte. Para mensurar o grau de suporte relativo dos clados, utilizaram-se dois índices. Suporte de Goodman-Bremer (GB) (Goodman *et al.* 1982; Bremer 1988; Grant & Kluge 2008) para avaliar a otimização relativa das hipóteses. E frequência Jackknife (JK) (Farris *et al.* 1996) como um indicador de quantidade relativa de evidência favorável e contraditória para cada grupo presente na topologia ótima.

Pelo fato das técnicas de reamostragem serem, no mínimo, problemáticas no contexto da homologia dinâmica (Wheeler 2012) e o cálculo dos índices de suporte de otimização relativa serem computacionalmente muito custosos, o suporte foi calculado apenas para a análise de evidência total do *dataset* com o alinhamento por similaridade. O suporte GB foi calculado para cada clado suportado no TNT, usando os parâmetros especificados no bremer.run macro (disponível em <http://www.zmuc.dk/public/phylogeny/tnt/>) que iniciou uma busca por árvores N passos mais longa que a ótima (10 RAS mais TBR, salvando duas árvores por réplica) para

árvores subótimas usando restrições inversas para cada nó da árvore mais parcimoniosa. A permutação de cada busca restrita foi limitada a 20 minutos e as buscas restritas foram reparadas 100 vezes, e não três conforme especificado como padrão no bremer.run macro. A frequência Jackknife foi calculada a partir de 1.000 pseudoréplicas, pesquisadas conforme as estratégias descritas anteriormente, para encontrar a árvore mais curta. Gaps foram tratados como um quinto estado e probabilidade de remoção de 0,36 ($\sim e^{-1}$) que, supostamente, torna valores de Jackknife e de Bootstrap comparáveis (Farris *et al.* 1996).

Resultados e discussões

As buscas por árvores realizadas no POY, e posteriormente recuperadas no TNT, correspondem a 116 árvores igualmente parcimoniosas (222.706 passos), sendo o consenso estrito apresentado na Fig. 2. O alinhamento implicado contém uma série de 46.445 transformações moleculares que combinada à matriz de 173 caracteres fenotípicos, forma um conjunto de dados estáticos de 46.618 transformações.

As buscas do alinhamento por similaridade, feitas via TNT, encontraram 189 árvores mais parcimoniosas (248.100 passos), com a estratégia que considera *indels* e dados faltantes (consenso apresentado na Fig. 3). Na busca que considera ambos como dados faltantes, foram recuperadas 179 árvores igualmente parcimoniosas (222.642 passos). Ambas apresentaram praticamente a mesma topologia na árvore consenso. O resultado de codificar *indels* como dados faltantes, diferiu apenas na disposição interna de Caeciliidae [(*O_ochrocephala* ((*C_volcani* (*O_sp_CC12* (*C_sp_UMMZ_190_146* *C_sp_KR_2007*)))(*C_gracilis* (*C_tentaculata* *C_sp_CC08*))))]. Embora o número de passos seja, logicamente, maior na análise onde os *indels* são considerados como um quinto caráter, este resultado de uma topologia quase idêntica, é um tanto inesperado, tendo em vista que vários estudos indicam que os *indels* contêm informação filogenética que influencia nas hipóteses cladísticas (Simmons & Ochoterena 2000; Denton & Wheeler 2012; Peloso *et al.* 2016).

A análise dos dados fenotípicos, cedidos por Maddin *et al.* (2012a,b), no TNT resultou em 193 árvores ótimas (395 passos), entretanto foi observada uma politomia total no consenso estrito (não representado aqui). A baixa resolução da hipótese filogenética inferida pelos dados fenotípicos neste estudo contrasta fortemente com as árvores apresentadas em Maddin *et al.* (2012b). Maddin *et al.* (2012b) apresentaram o consenso de maioria 50% (Fig. 1F), enquanto neste estudo os resultados de diferentes

hipóteses filogenéticas igualmente ótimas são apresentadas como consenso estrito. A escolha de usar o consenso estrito está fundamentada no princípio de que a hipótese filogenética é suportada pela evidência se ela não for contradita por outra hipótese igualmente ótima. Este princípio é independente da frequência dos clados no conjunto das árvores ótimas.

Avanços tecnológicos têm facilitado a confecção de grandes conjuntos de dados de sequenciamento e a série de dados resultantes de maneira rápida e acessível acaba representando muito mais, quantitativamente, do que estudos morfológicos são capazes de retribuir (De Sá *et al.* 2014). Quando os dados moleculares foram analisados independentemente (158 árvores mais parcimoniosas, com 247.672 passos. Fig. 4) dos dados fenotípicos, a resolução da árvore aumentou em comparação à hipótese inferida na evidência total (Fig. 2 e 3). Este resultado indica que os dados fenotípicos usados, até então, para avaliar as relações evolutivas de Gymnophiona, representam uma fração muito pequena de informação e que contêm informações contraditórias. Mesmo assim, eles não devem ser excluídos das análises filogenéticas, pois o conhecimento sobre a evolução dos caracteres fenotípicos é tão importante quanto o conhecimento sobre a evolução dos caracteres genotípicos (Love 2003). Além disso, somente é possível explicar os dados (p.e., distribuição dos caracteres nos táxons), se os mesmos forem incluídos em uma análise, e também porque a relevância da evidência somente é considerada se existir um efeito positivo ou negativo sobre uma dada conclusão.

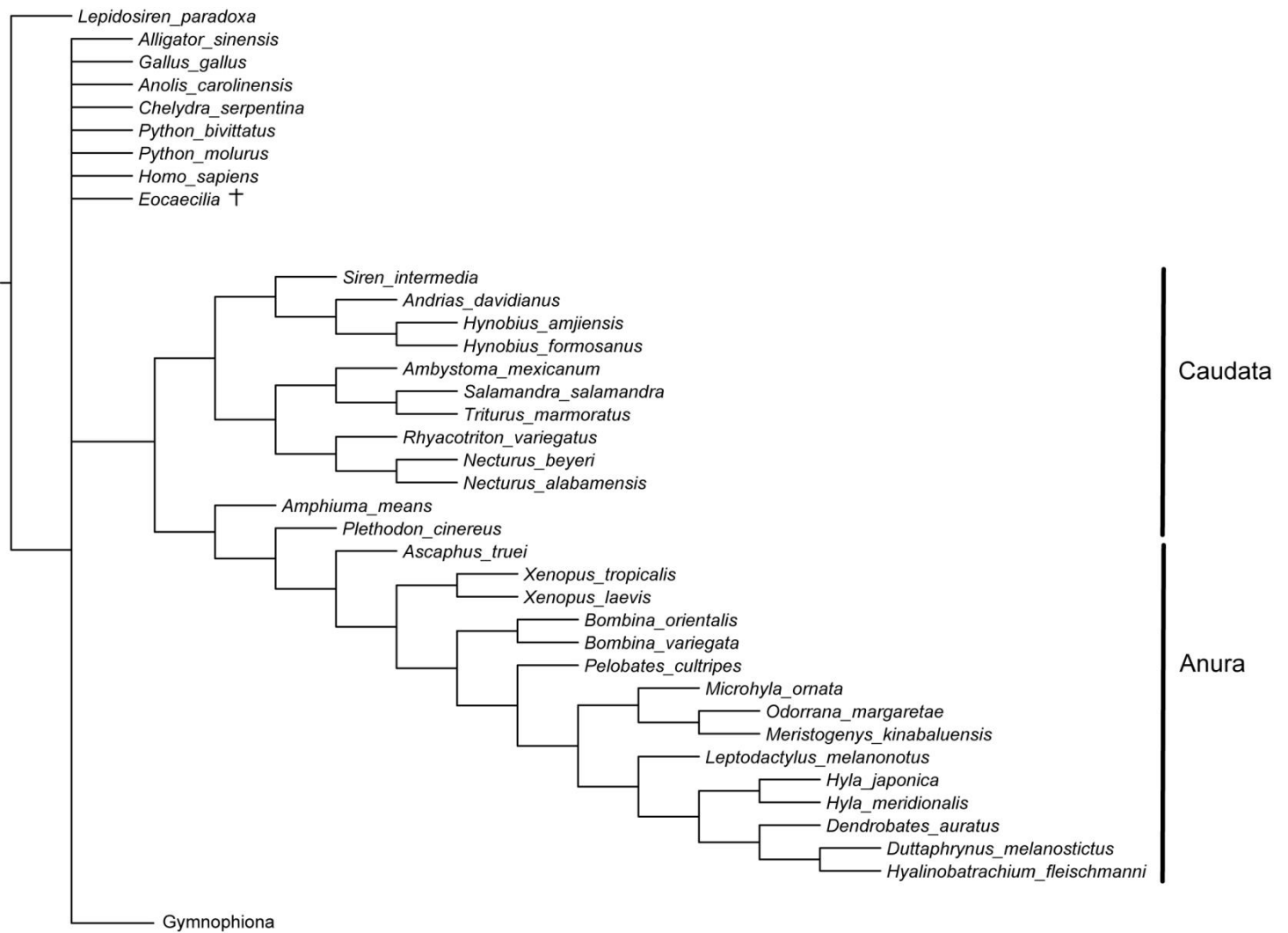


Figura 2. Relações filogenéticas de Gymnophiona, e grupo externo, inferidas por parcimônia com base em caracteres fenotípicos e sequências de DNA sobre Otimização Direta no POY. Esta topologia representa o consenso estrito das 116 árvores mais parcimoniosas (222.706 passos). “*” indicam terminais que apresentam apenas dados fenotípicos. Ramos coloridos visam atentar para casos de parafilía. Continua na próxima página.

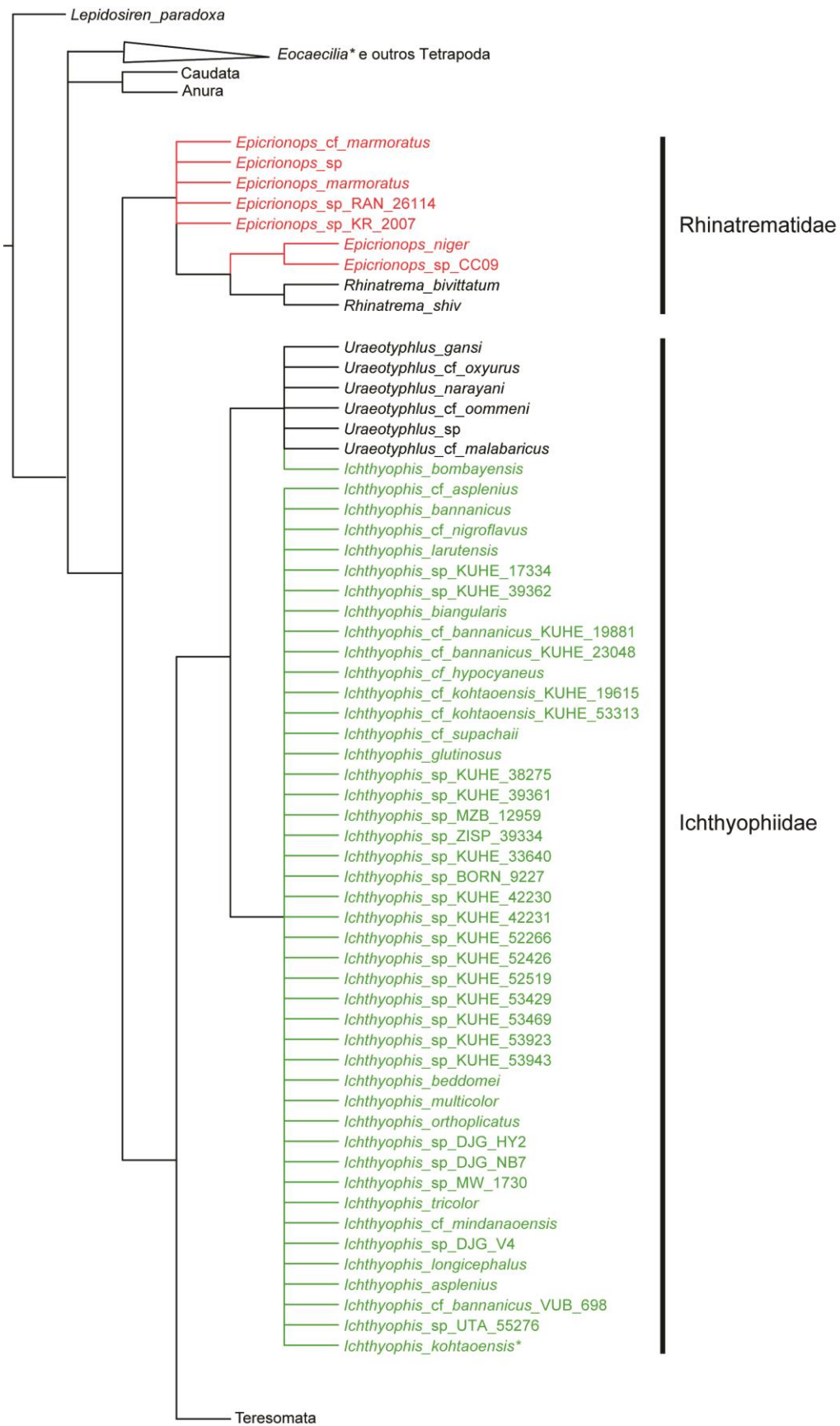


Figura 2. Continuação.



Figura 2. Continuação.

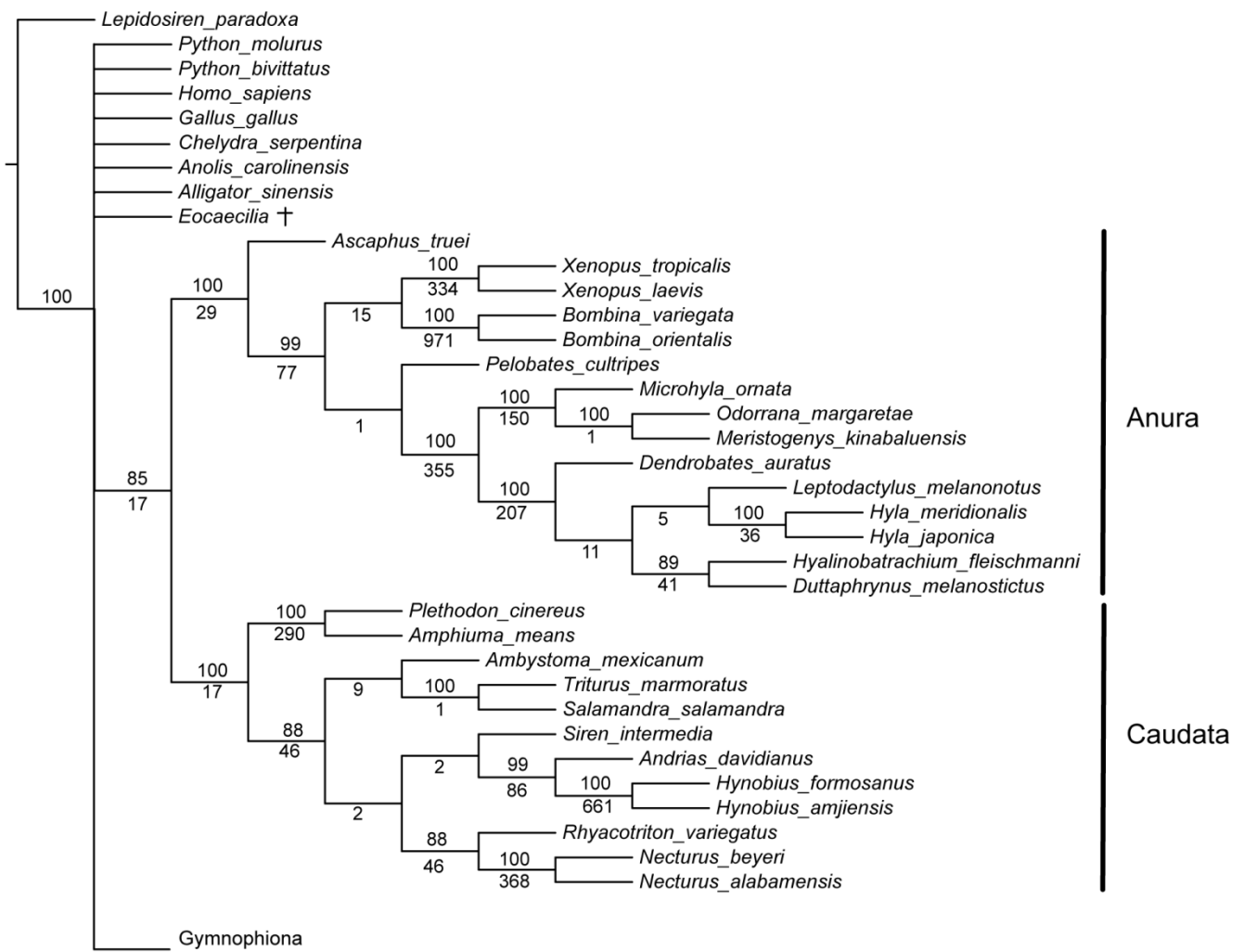


Figura 3. Relações filogenéticas de Gymnophiona, e grupo externo, inferidas por parcimônia com base em caracteres fenotípicos e sequências de DNA no TNT. Esta topologia representa o consenso estrito das 189 árvores mais parcimoniosas (248.100 passos). Números acima e abaixo dos ramos indicam valores Jackknife (apenas valores a partir de 70) e Goodman-Bremer, respectivamente. “*” indicam terminais que apresentam apenas dados fenotípicos. Ramos coloridos visam atentar para casos de parafilia. Continua na próxima página.

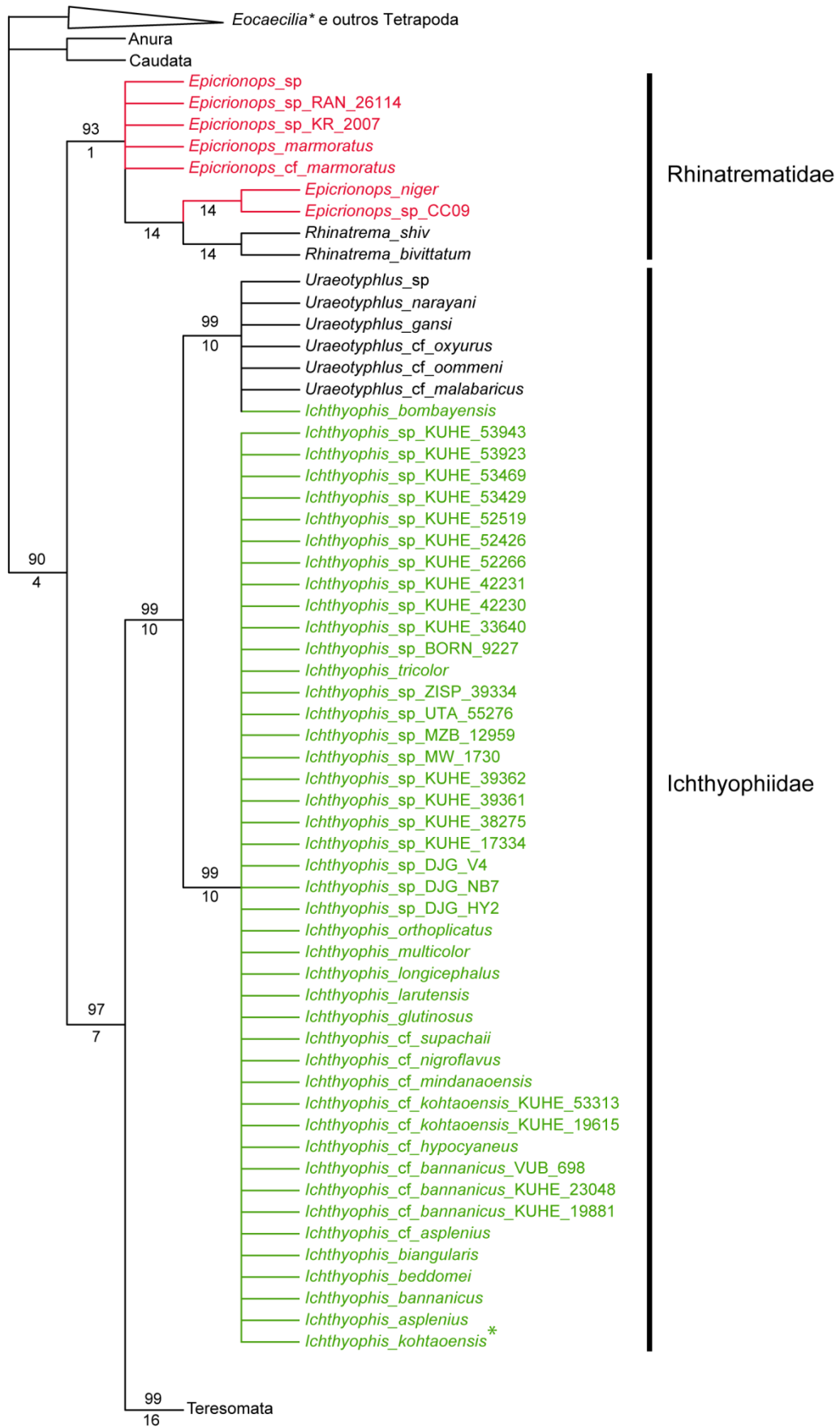


Figura 3. Continuação.

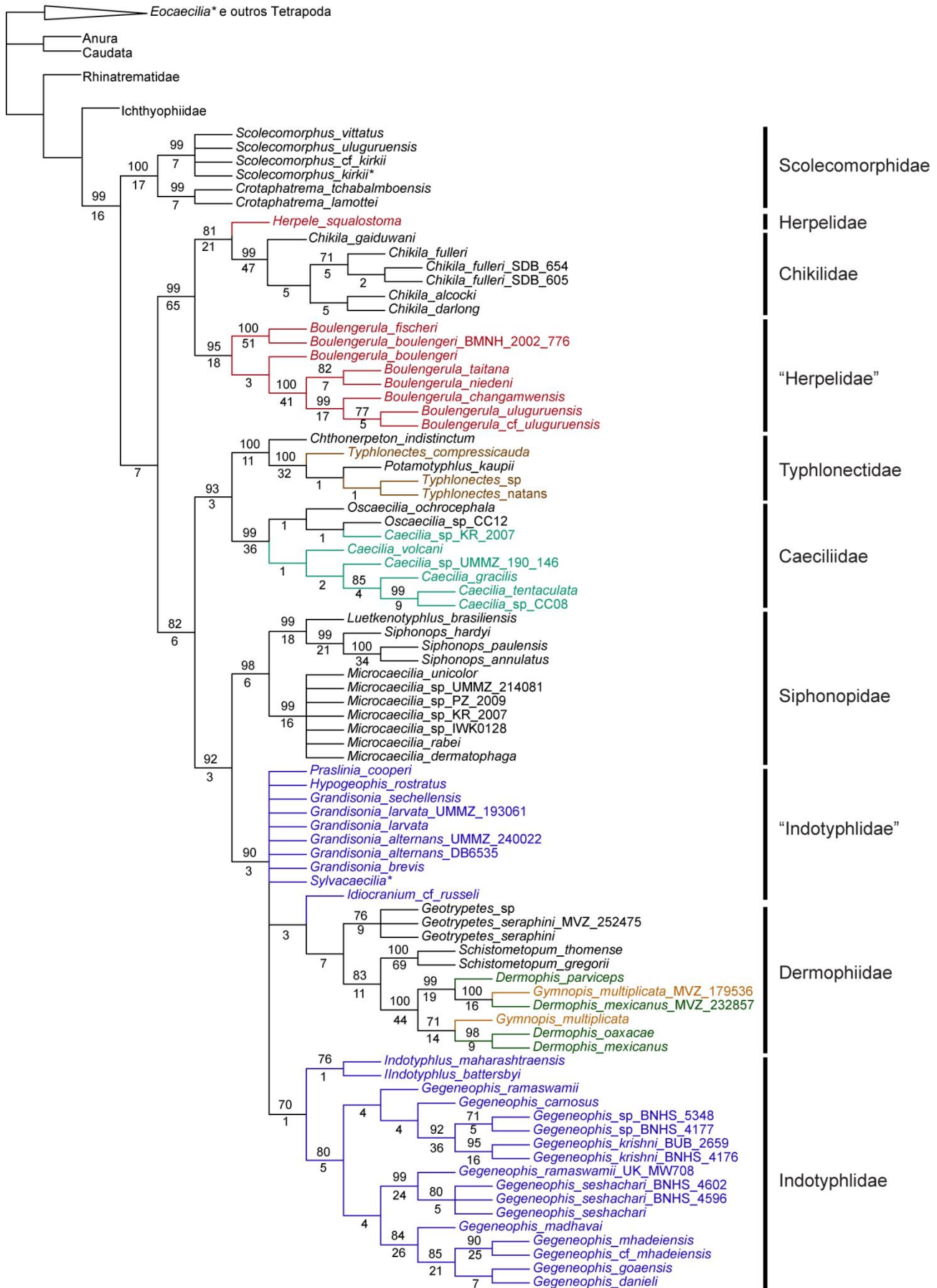


Figura 3. Continuação.

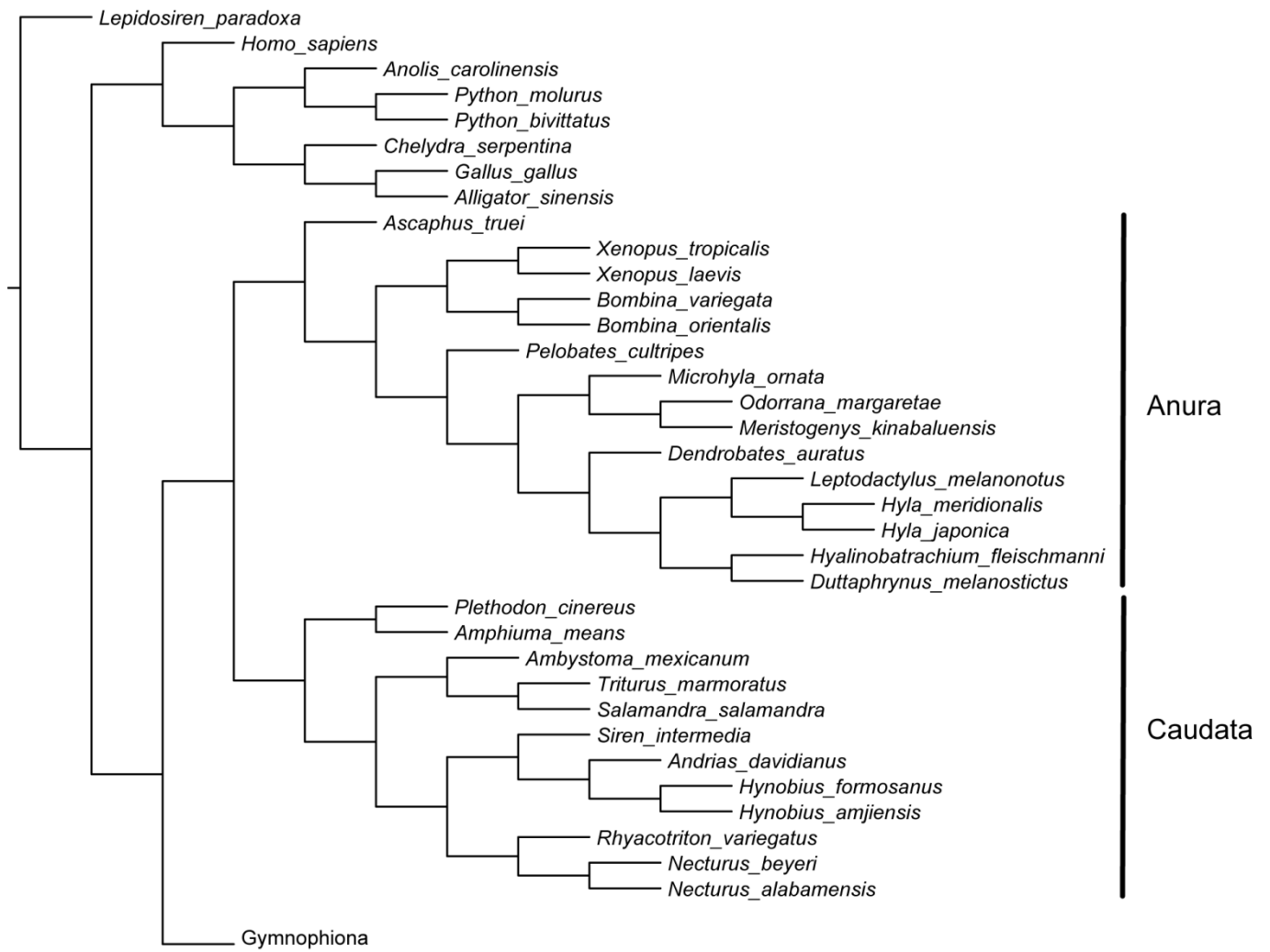


Figura 4. Relações filogenéticas de Gymnophiona, e grupo externo, inferidas por parcimônia com base em sequências de DNA, apenas. Esta topologia representa o consenso estrito das 158 árvores mais parcimoniosas (247.672 passos). Ramos coloridos visam atentar para casos de parafilía.

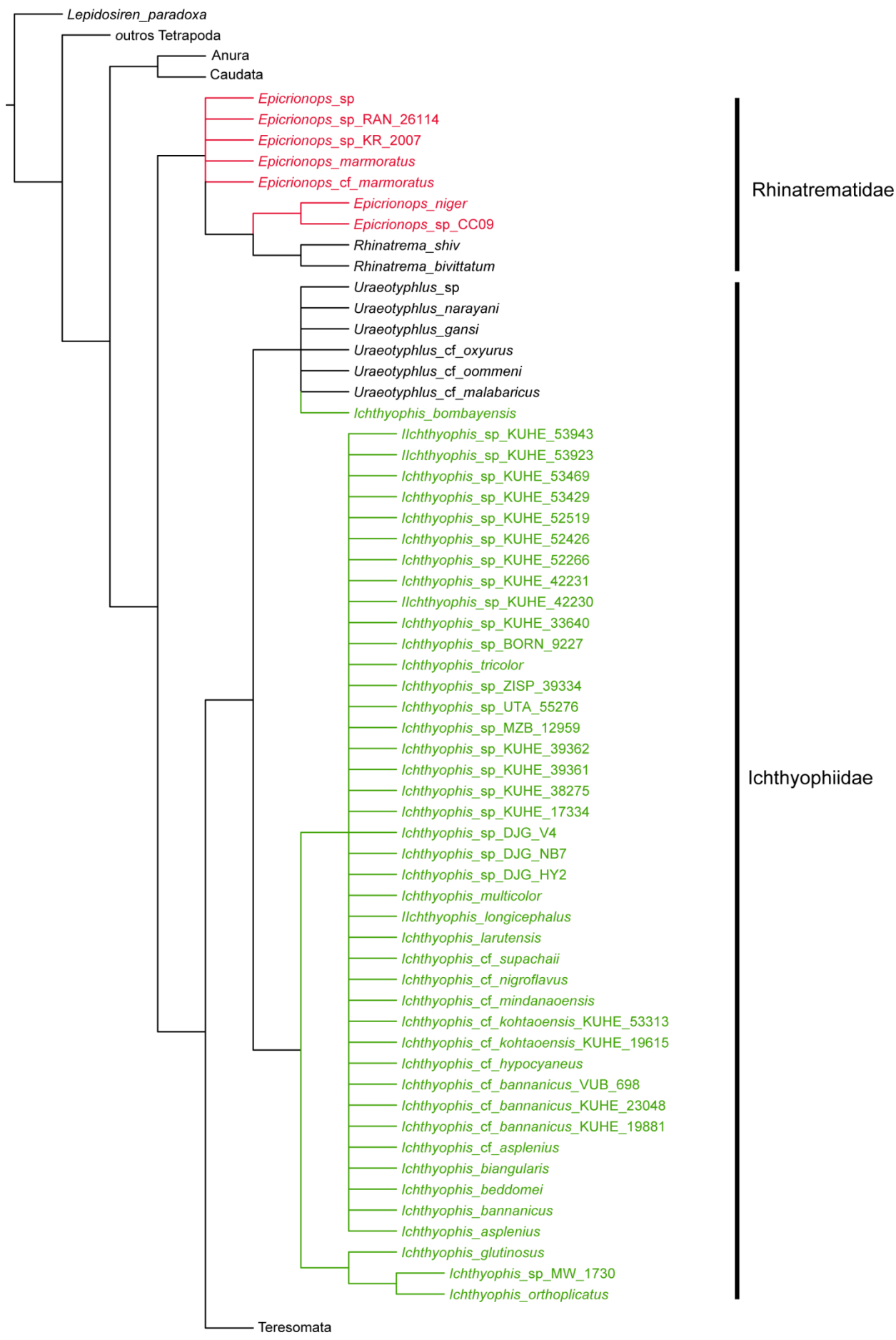


Figura 4. Continuação.

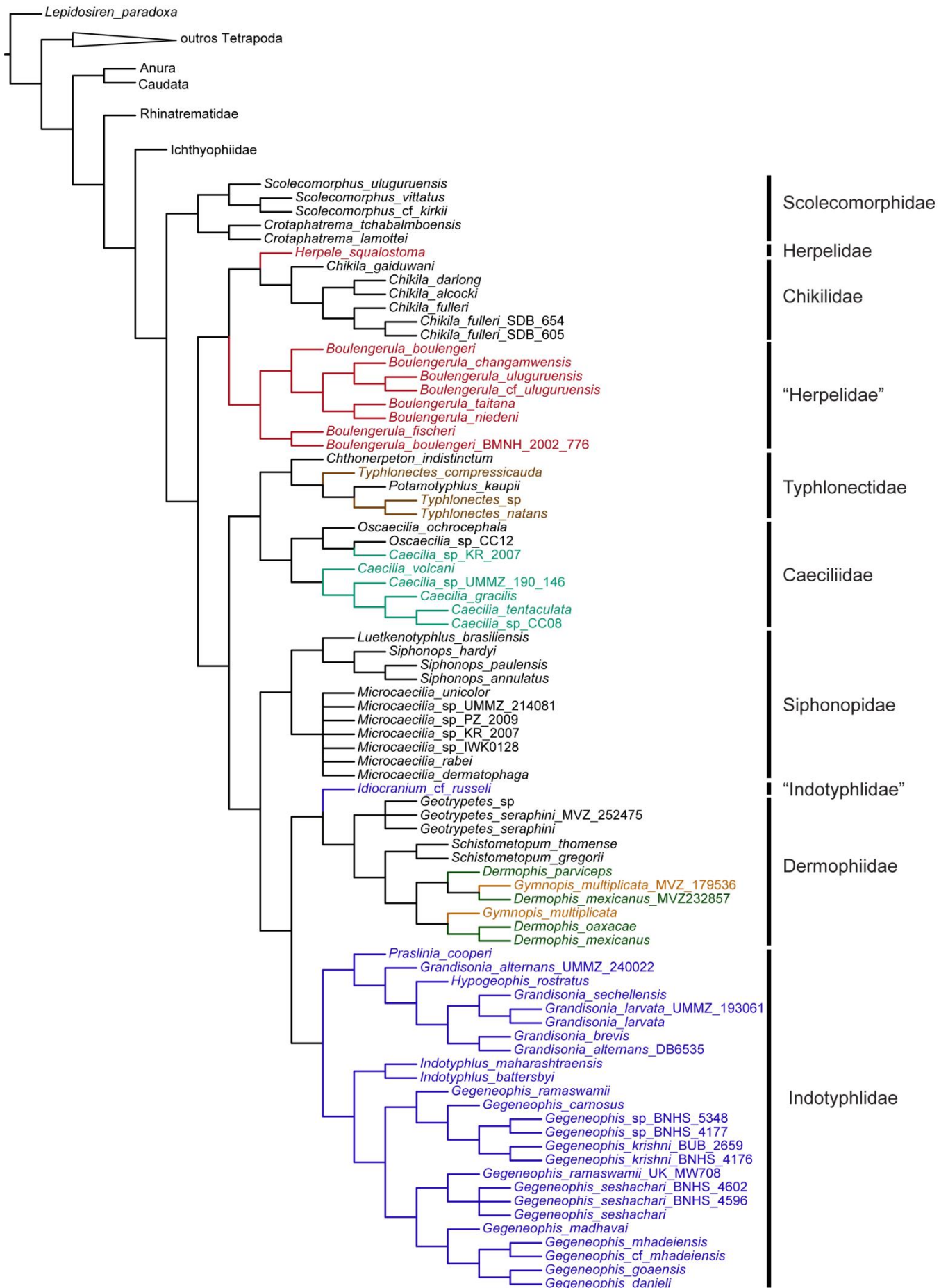


Figura 4. Continuação.

Nos seguintes parágrafos a taxonomia atual de Gymnophiona e as relações filogenéticas entre as famílias e gêneros são avaliadas com base nos resultados de evidência total inferidos neste estudo. A Fig. 5 ilustra as diferenças, ao nível de família, entre as análises geradas por alinhamento por árvore e alinhamento por similaridade.

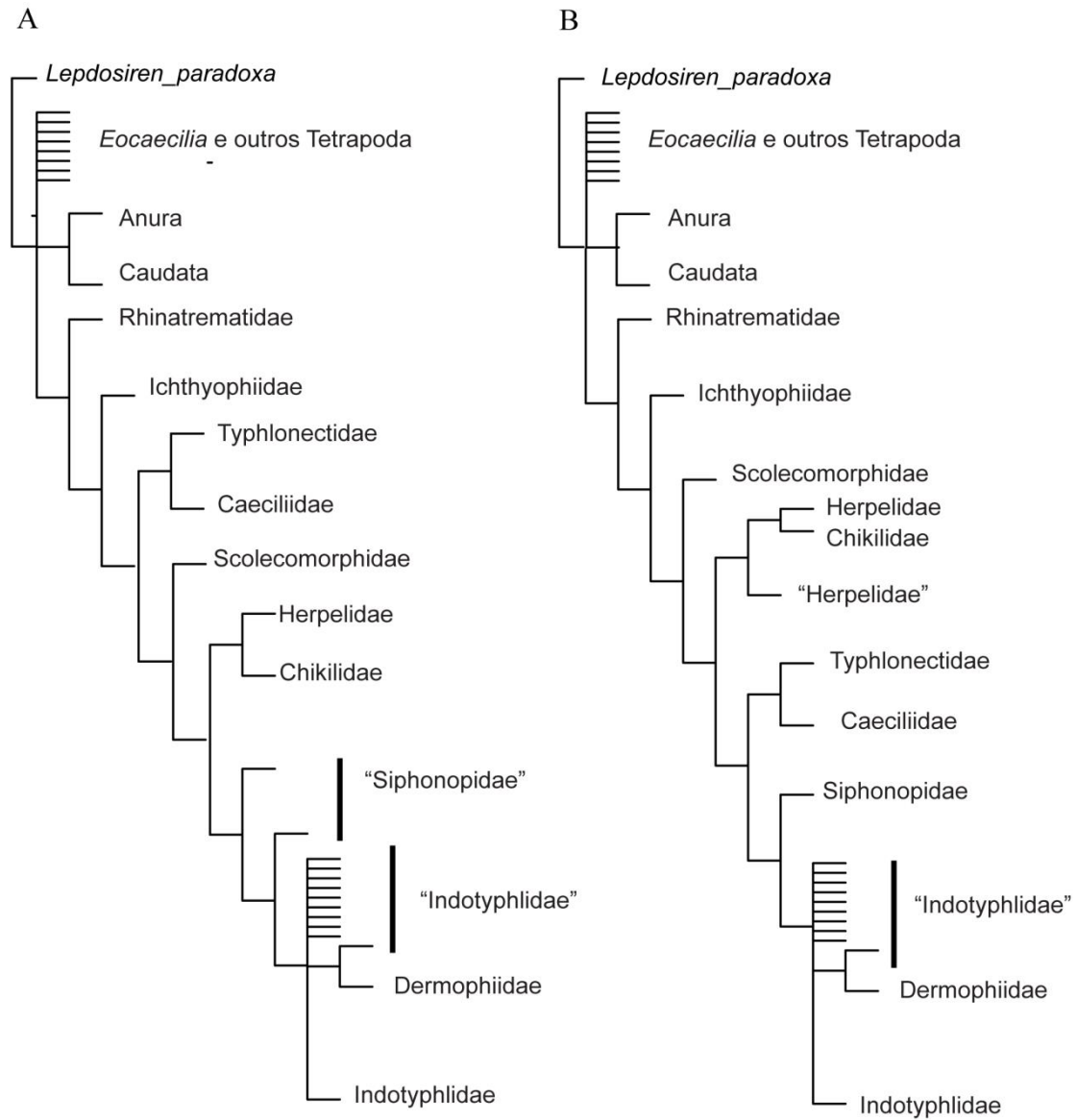


Figura 5. A. Consenso estrito, ao nível de família, das análises de parcimônia realizadas a partir do alinhamento por árvores, executadas no POY. B. Consenso estrito, ao nível de família, das análises de parcimônia realizadas a partir do alinhamento por similaridade, executadas no TNT.

Caeciliidae Rafinesque, 1814 foi a primeira família de Gymnophiona e conta com uma trajetória problemática. Entre 1968 e 1979 (Taylor 1968, 1969; Nussbaum 1977, 1979), a única família de cecílias, até então, foi destrinchada em seis. Por diversas vezes, nos anos seguintes, foi sinonimizada com outras, fracionada em subfamílias e, novamente dividida devido aos constantes casos de parafilia (Duellman & Trueb 1986; Nussbaum & Wilkinson 1989; Hedges & Maxson 1993; Hedges *et al.* 1993; Wilkinson 1997; Wilkinson & Nussbaum 1999). Mesmo com o incremento de evidências e estudos desde a virada do milênio (p.e., Wilkinson *et al.* 2002, 2003; San Mauro *et al.* 2004, 2005), Wilkinson & Nussbaum (2006) afirmavam que uma classificação filogenética de toda a ordem tratava-se de uma dificuldade, principalmente por causa da não-monofilia de Caeciliidae. Wilkinson *et al.* (2011) propuseram uma organização filogenética, com base nas topologias de estudos anteriores (p.e., Hedges *et al.* 1993; Wilkinson 1997; Wilkinson *et al.* 2002, 2003; San Mauro *et al.* 2004, 2009; Frost *et al.* 2006; Roelants *et al.* 2007; Loader *et al.* 2007; Zhang & Wake 2009), onde Caeciliidae se mantém monofilética, mesmo com novos dados sendo acrescentados à filogenia da Ordem em estudos mais recentes (Pyron & Wiens 2011; Kamei *et al.* 2012, 2013; Maddin *et al.* 2012a,b; San Mauro *et al.* 2014; este estudo).

Em ambas as análises neste estudo, Caeciliidae é recuperado como grupo-irmão de Typhlonectidae, formando o clado Caeciliidae + Typhlonectidae (Fig. 5). Pelo alinhamento por árvore, tal clado é grupo-irmão das outras famílias de Teresomata, e pelo alinhamento por similaridade, manteve uma topologia semelhante à encontrada em Pyron & Wiens (2011), por exemplo. As topologias encontradas se diferenciam de diversos outros estudos onde esse clado se mantém constantemente mais relacionado à Indotyphlidae (Zhang & Wake 2009; Wilkinson *et al.* 2011; Kamei *et al.* 2012; Maddin *et al.* 2012b; San Mauro *et al.* 2014). As diferenças entre as duas análises são atribuídas às diferentes estratégias de alinhamento, já que o critério de otimização e as buscas heurísticas são as mesmas. Os resultados apresentados aqui destacam a influência que diferentes tipos de alinhamento das sequências de DNA podem ter nas hipóteses evolutivas.

Quanto às relações dentro da família, Zhang & Wake (2009), Pyron & Wiens (2011) e San Mauro *et al.* (2014) recuperaram *Caecilia* parafilética a *Oscacaecilia*, padrão que se manteve neste estudo, em todas as análises. Todas as análises anteriores apresentaram suporte moderado, entretanto, neste trabalho encontrou-se um suporte extremamente baixo para o clado que inclui *O. ochrocephala*, *O.* sp. CC12 e *C.* sp. KR-

2007, na análise do alinhamento por similaridade, mas que também foi recuperado via POY.

Chikilidae Kamei, San Mauro, Gower, Van Bocxlaer, Sherratt, Thomas, Babu, Bossuyt, Wilkinson, and Biju, 2012. As análises filogenéticas realizadas por Kamei *et al.* (2012) apresentaram uma relação mais próxima das cecílias indianas da família Chikilidae com as cecílias africanas da família Herpelidae. De acordo com Kamei *et al.* (2012, 2013), os chikilídeos diferem dos herpelídeos com base em diversos caracteres, sendo a falta de pterigoides separados um dos que os diferencia de *Herpele*, e a retenção de pré-maxila e nasais separadas, anéis secundários e escamas anelares, alguns que os diferem de *Boulengerula*. Na análise pelo TNT, *Herpele squalostoma* se mostrou mais relacionado com as cecílias indianas, do que com as demais cecílias africanas. No entanto, a análise pelo POY recuperou as relações entre Chikilidae e Herpelidae, tais quais os recentes estudos que incluem chikilídeos. Essa variação da topologia, de acordo com o tipo de alinhamento aplicado, chama atenção para mais um nicho a ser explorado dentro do enorme vão no conhecimento de Gymnophiona.

Independentemente, o clado Chikilidae + Herpelidae foi recuperado em todas as análises deste estudo e de outros que contassem com uma amostragem de táxons compatível com esta (Pyron & Wiens 2011; Kamei *et al.* 2012; San Mauro *et al.* 2014), embora a relação deste clado com as outras famílias dentro de Teresomata não seja estável (Figs. 1 e 5). Os resultados indicam que o tipo de alinhamento influencia a posição deste clado dentro de Teresomata (Fig. 5). As análises do TNT recuperaram como grupo-irmão de um clado com as outras famílias de Teresomata, exceto Scolecomorphidae. Enquanto a análise do POY posiciona Typhlonectidae + Caeciliidae como o grupo-irmão dos outros Teresomata.

Dermophiidae Taylor, 1969. Em contexto geral, a topologia encontrada dentro de Dermophiidae se manteve a mesma obtida em diversos estudos anteriores (Wilkinson *et al.* 2003; Roelants *et al.* 2007; Zhang & Wake 2009; Pyron & Wiens 2011; Kamei *et al.* 2012; San Mauro *et al.* 2014), com *Geotrypetes* aparecendo como táxon irmão das demais espécies, as quais formam um clado que abrange *Schistometopum* e um clado que inclui *Gymnopsis* + *Dermophis*. Zhang & Wake (2009) chamam atenção para o fato de *Schistometopum* ser um gênero de distribuição africana e ser mais proximamente relacionado com as espécies da América Central do que com *Geotrypetes*, de distribuição africana também. Zhang & Wake (2009) observam que essa relação pode ser devida à baixa amostragem de linhagens da América Central ou o resultado da

separação da Gondwana. Neste estudo, assim como em Pyron & Wiens (2011), a família não foi fortemente suportada ($JK < 70$, $GB = 7$) como nos outros estudos. Já o clado que apresenta os gêneros, não monofiléticos, *Gymnopsis* e *Dermophis*, apresentou suporte máximo (JK) neste estudo, corroborando com os altos suportes encontrados em filogenias de outros autores (p. e. Zhang & Wake 2009; Pyron & Wiens 2011; San Mauro *et al.* 2014).

A não monofilia de *Dermophis* e *Gymnopsis* era parcialmente esperada, já que San Mauro *et al.* (2014) reportaram que *Gymnopsis* é parafilética, pelo fato de um dos dois espécimes de *G. multiplicata* ser filogeneticamente mais próximo de *Dermophis*. Os espécimes de *Gymnopsis multiplicata* utilizados (MVZ 171331 e MVZ 179536) foram os mesmos das análises de San Mauro *et al.* (2014). Deste modo, permanece sendo necessária uma nova avaliação taxonômica desses exemplares, já que os mesmos não puderam ser examinados por San Mauro *et al.* (2014). Os resultados aqui encontrados indicam também, que *D. parviceps* e um dos dois espécimes de *D. mexicanus* são mais próximos de *Gymnopsis* do que com outras espécies de *Dermophis*. A parafilia de *Dermophis* é um novo resultado que indica a necessidade de uma revisão mais extensa dos exemplares de *Dermophis* e *Gymnopsis*. Se a identificação dos táxons for confirmada, *Dermophis* Peters, 1880 poderia ser considerado um sinônimo de *Gymnopsis* ou algumas das espécies de *Dermophis* fariam parte de *Gymnopsis*. Independentemente da causa da parafilia de *Dermophis* (i.e., identificações erradas ao nível de espécie ou verdadeira parafilia) os resultados apresentados mostram a importância das análises de evidência total, afinal quanto maior a inclusão de caracteres e espécimes disponíveis, mais completa se torna a amostragem.

Herpelidae Laurent, 1984. Herpelidae forma um clado juntamente com Chikilidae. Essa relação tem sido observada desde 2012 (Kamei *et al.* 2012, 2013; San Mauro *et al.* 2012, 2014), quando Kamei e colaboradores identificaram que *Herpele fulleri* Alcock tratava-se de uma espécie pertencente a um gênero novo, o qual denominaram *Chikila* e reconheceram uma nova família às espécies deste gênero, Chikilidae. Os resultados derivados do alinhamento por árvore são compatíveis com essa hipótese.

Contraditoriamente, no alinhamento por similaridade, *Herpele squalostoma* foi recuperado ($JK = 81$, $GB = 21$) como grupo-irmão dos chikilídeos e este clado (*H. squalostoma* + *Chikila* spp.) como grupo-irmão das espécies de *Boulengerula*. Ou seja, recuperamos Herpelidae parafilético e com o gênero-tipo (e também espécie-tipo) irmão

de outra família (Chikilidae). Poucos estudos precederam este, desde que Chikilidae foi reconhecida (Kamei *et al.* 2012, 2013; San Mauro *et al.* 2012, 2014) e considerando a escassez de dados disponíveis para as espécies de *Herpele*, sendo que existem apenas duas descritas para o gênero e somente uma delas possui sequências disponíveis na base do GenBank, pode-se afirmar que há necessidade de incrementar os dados referentes a *Herpele* e intensificar esforços na relação deste gênero com *Chikila* e *Boulengerula*.

Se a relação de *Herpele* como o grupo irmão de *Chikila* for confirmada e quiser-se manter a taxonomia atual de Chikilidae e Herpelidae, uma nova família deverá ser proposta para *Boulengerula*. Dentro do gênero *Boulengerula*, *B. boulengeri* não é monofilética. Isto pode indicar a presença de espécies novas ou identificação incorreta de algum dos espécimes amostrados.

Ichthyophiidae Taylor, 1968. Os resultados encontrados para Ichthyophiidae não diferem em relação aos diversos estudos anteriores (Gower *et al.* 2002; Roelants *et al.* 2007; Pyron & Wiens 2011; Nishikawa *et al.* 2012; Gower *et al.* 2014), onde a monofilia de *Ichthyophis* é refutada por causa de *I. bombayensis*, constantemente recuperada como espécie-irmã das espécies de *Uraeotyphlus* e de forma bastante suportada. Destaca-se que Gower *et al.* (2007) sinonimizaram *I. malabarensis*, *I. peninsulares* e *I. subterrestris* com *I. bombayensis*, embora alguns estudos posteriores tenham mantido a nomenclatura pré-sinonímia (p.e., Zhang & Wake 2009). Continuam sendo necessárias revisões taxonômicas e adição de mais caracteres informativos (tanto fenotípicos quanto moleculares) dentro da família. As espécies de *Ichthyophis* apresentam inúmeras incertezas taxonômicas e pobre resolução na organização filogenética. Além disso, é importante agregar esforços para entender a relação entre *I. bombayensis* e *Uraeotyphlus*.

Indotyphlidae Lescure, Renous & Gasc, 1986. Na proposta taxonômica feita por Wilkinson *et al.* (2011), os gêneros africanos *Idiocranium* e *Sylvacaecilia* foram mantidos dentro de Indotyphlidae com base na semelhança morfológica que apresentavam quando comparados às espécies da Indo-Seicheles. Entretanto, os autores deixam claro que essa inclusão ocorreu por ser difícil produzir uma diagnose apenas para as espécies Indo_Seicheles, excluindo os táxons africanos, e também porque ainda não existiam estudos filogenéticos moleculares que incluíssem tais táxons.

San Mauro *et al.* (2014) incluíram, pela primeira vez, sequências de DNA de *Idiocranium* nas análises filogenéticas de Gymnophiona. Os resultados desta análise molecular, bem como das análises de dados fenotípicos de Maddin *et al.* (2012a,b),

suportam *Idiocranium* dentro de Indotyphlidae. Todavia, no presente trabalho, *Idiocranium* não foi suportado dentro de Indotyphlidae. Em todas as análises, *Idiocranium* cf. *russeli* (representante do gênero utilizado nas análises) foi recuperado como grupo irmão de Dermophiidae. Esta relação apresentou um suporte baixo (JK < 70; GB = 3), mas é constante entre os diferentes *datasets* e estratégias de alinhamento. As diferenças com San Mauro *et al.* (2014) podem ser explicadas por diferentes fatores como critério de otimização (parcimônia versus máxima verossimilhança) e amostragem de caracteres e táxons. Se a relação *Idiocranium* + Dermophiidae for confirmada, sugere-se incluir *Idiocranium* como parte desta família.

Quanto ao gênero *Sylvacaecilia*, foram incluídos apenas dados morfológicos provenientes das matrizes elaboradas por Maddin *et al.* (2012a,b). Desse modo, a falta de dados moleculares associados à morfologia permanece sendo um empecilho à melhor resolução do gênero na filogenia do grupo. Possivelmente essa deficiência de dados explique a volatilidade de *Sylvacaecilia* nas análises realizadas, estando ora presente como grupo-irmão de Dermophiidae + Indotyphlidae, ora dentro do clado que abrange os gêneros de cecílias de Seicheles (*Grandisonia*, *Hypogeophis* e *Praslinia*). E essa instabilidade do gênero, por falta de maior disponibilidade de dados, juntamente com a parafilia de *Grandisonia* em relação a *Hypogeophis* (ver Gower *et al.* 2011; Wilkinson *et al.* 2011), possa justificar a politomia observada no consenso estrito, onde estão incluídos os gêneros de cecílias de Seicheles juntamente com *Sylvacaecilia*, gênero africano.

Em diversos estudos (Wilkinson *et al.* 2002, 2003; Roelants *et al.* 2007; Zhang & Wake 2009; Pyron & Wiens 2011; San Mauro *et al.* 2014; Fig. 4) as cecílias de Seicheles enquadradas em Indotyphlidae (*Grandisonia*, *Hypogeophis* e *Praslinia*) formaram clados bem suportados e como grupo irmão de *Gegeneophis* ou *Gegeneophis* + *Indotyphlus* (Índia), o que segundo Zhang & Wake (2009) é considerado um agrupamento de explicação razoável, tendo sido causado por um evento de vicariância onde houve separação de Seicheles da Índia. Ainda sob o raciocínio desses autores, as espécies de Seicheles e espécies indianas, em estudos filogenéticos, sempre são mais relacionadas entre si, do que com espécies da América e África, o que corrobora com a separação da Gondwana. Todavia, as análises de evidência total, aqui apresentadas, não podem corroborar que as espécies de Seicheles sejam, indubitavelmente, mais relacionadas com espécies indianas do que com africanas e americanas. A análise realizada apenas com os dados moleculares indica que *Grandisonia alternans* não é

monofilética o que pode estar indicando a presença de espécies novas ou a identificação errada de algum dos espécimes amostrados. Curiosamente, um dos exemplares de *G. alternans* causa a não monofilia de *Grandisonia* em relação a *Hypogeophis*. A revisão dos vouchers de *Grandisonia* e *Hypogeophis* mostra-se fundamental.

Ainda dentro de Indotyphlidae, os dois gêneros provenientes do oeste da Índia (*Indotyphlus* e *Gegeneophis*) foram recuperados como grupos-irmãos, corroborando com as relações já encontradas em trabalhos anteriores (p.e., Gower *et al.* 2011; San Mauro *et al.* 2014). Gower *et al.* (2011) foram os responsáveis pela primeira hipótese filogenética acerca das cecílias indianas e desenvolveram um trabalho robusto em relação à quantidade de espécimes incluídos na análise. Recuperaram clados bem suportados, entretanto admitem haver uma baixa resolução na árvore, provocada por *G. ramaswamii*, *G. seshachari* e o chamado clado “Q” (que inclui *G. danielli* e *G. cf. danielli*, *G. goaensis*, *G. mhadeiensis* e *G. cf. mhadeiensis*, e *G. madhavai*). Os resultados obtidos no presente estudo mostram que *G. ramaswamii* não é monofilético, o que pode estar indicando a presença de espécies novas ou a identificação errada de algum dos espécimes amostrados.

Rhinatremitidae Nussbaum, 1977. Rhinatremitidae é sempre recuperada monofilética e táxon-irmão de todas as outras cecílias. Entretanto, conforme proposto na filogenia de Pyron & Wiens (2011) e recuperado de forma consistente por San Mauro *et al.* (2014), as relações internas da família não se mantêm monofiléticas, já que *Epicrionops* tem se mostrado parafilético em relação à *Rhinatrema*. A não monofilia de *Rhinatrema* havia sido sugerida em trabalhos anteriores, devido ao compartilhamento de características morfológicas de *R. ron* com espécies de *Epicrionops* (Wilkinson & Gower 2010; Wilkinson *et al.* 2011). No presente estudo não foram incluídos dados de *R. ron*, enquanto *Epicrionops* teve sua monofilia rejeitada mais uma vez. Possivelmente, a não monofilia dos dois gêneros de Rhinatremitidae, seja um reflexo da falta de evidências necessárias para separá-los, mesmo assim, é válida e importante a inclusão de *E. bicolor* (espécie-tipo de *Epicrionops*) nas amostragens.

Scolecomorphidae Taylor, 1969. Em concordância com estudos recentes (Kamei *et al.* 2012; San Mauro *et al.* 2012, 2014), Scolecomorphidae é revelado o grupo-irmão de todos os outros Teresomatas (todas as famílias de Gymnophiona, exceto Ichthyophiidae e Rhinatremitidae (Diatriata, conforme Wilkinson & Nussbaum 2006)) na análise proveniente do TNT. As análises do TNT apresentaram, inclusive, clado totalmente suportado, composto por cinco das seis espécies da família, mas

necessitando maior atenção nas relações dentro do gênero *Scolecormorphus*. Em contrapartida, a análise oriunda do POY não recuperou Scolecormorphidae como grupo-irmão dos demais Teresomata, o que torna a surpreender, já que os estudos mais recentes (p.e., Roelants *et al.* 2007; Zhang & Wake 2009; Pyron & Wiens 2011; Kamei *et al.* 2012; San Mauro *et al.* 2014) têm recuperado com frequência tal posição para o grupo. A posição de Scolecormorphidae dentro de Teresomata precisa ser avaliada em detalhe porque tem grande influência nas inferências biogeográficas e de evolução de caracteres da história de vida em Gymnophiona.

Siphonopidae Bonaparte, 1850. Em diversos estudos (Roelants *et al.* 2007; Zhang & Wake 2009; Wilkinson *et al.* 2011; Kamei *et al.* 2012; San Mauro *et al.* 2012, 2014), a família Siphonopidae apresenta *Siphonops* como grupo irmão de *Luetkenotyphlus* e *Microcaecilia*, entretanto, estas relações não parecem estar totalmente claras, já que poucos estudos (Zhang & Wake 2009; Pyron & Wiens 2011) incluem múltiplos *Siphonops* (*S. annulatus*, *S. hardyi* e *S. paulensis*) e apenas um destes (Zhang & Wake 2009) incluiu *Microcaecilia* na análise. Deste modo, a topologia observada aqui não condiz, totalmente, com estudos anteriores, pois observamos, na análise com alinhamento por similaridade (TNT), que *Luetkenotyphlus* forma um clado com *Siphonops* e este clado todo se mostra grupo-irmão de *Microcaecilia*. Já na análise com alinhamento por árvore (POY), o clado *Siphonops* + *Luetkenotyphlus* é inclusive mais próximo das espécies de Indotyphlidae e Dermophiidae do que de *Microcaecilia*. As espécies de *Microcaecilia* formaram uma politomia que, embora bastante suportada, merece atenção mais específica. A não monofilia de Siphonopidae deve ser avaliada com detalhe porque implicaria importantes mudanças taxonômicas.

Typhlonectidae Taylor, 1968. Diferentemente de Pyron & Wiens (2011), mas de acordo com outros estudos (p.e., Zhang & Wake 2009; San Mauro *et al.* 2014), Typhlonectidae foi recuperada com monofilia bem suportada (JK = 100, GB = 11). O gênero *Typhlonectes*, entretanto, surgiu parafilético com relação a *Potamotyphlus*, o que podemos atribuir à recente incorporação de caracteres moleculares de *Potamotyphlus* (sequências utilizadas pela primeira vez em San Mauro *et al.* 2014) e de *T. compressicauda* (este estudo) e consequente carência de investigação mais aprofundada dentro deste grupo.

Conclusões

Em relação à topologia geral das árvores consensos, confrontando a análise por alinhamento por árvore com a análise por alinhamento por similaridade (Figs. 2, 3 e 5):

Rhinatremitidae e Ichthyophiidae se mantêm como grupo-irmão de Teresomata, sendo em ambas as análises, Rhinatremitidae o táxon-irmão de todas as outras cecílias. Dentro de Teresomata, a análise do POY não corrobora com os diversos estudos (p.e., Roelants *et al.* 2007; Zhang & Wake 2009; Pyron & Wiens 2011; Kamei *et al.* 2012; San Mauro *et al.* 2014) que recuperam Scolecomorphidae como táxon-irmão dos demais Teresomata. O consenso do POY reflete Typhlonectidae + Caeciliidae como grupo-irmão das demais cecílias Teresomata. Scolecomorphidae aparece em seguida, precedendo Herpelidae + Chikilidae. Enquanto na análise do POY, a relação Herpelidae/Chikilidae se mantêm congruente com os estudos mais recentes (Kamei *et al.* 2012, 2013; San Mauro *et al.* 2012, 2014), na análise via TNT, Herpelidae foi recuperada parafilética, surgindo o ramo do gênero-tipo agrupado com as espécies de Chikilidae, e as demais espécies surgindo como grupo-irmão deste. Na topologia obtida pelo TNT, Typhlonectidae + Caeciliidae formam o próximo ramo.

Chegando à família Siphonopidae, a análise do POY não foi capaz de recuperar sua monofilia. *Microcaecilia* é grupo-irmão de *Luetkenotyphlus* + *Siphonops*, mas apenas no consenso do TNT foram recuperados com uma única origem comum. Para a família Indotyphlidae, ambas as análises apresentam a mesma topologia, que representa a não monofilia da família, causada principalmente por *Idiocranium* que aparece mais relacionado com Dermophiidae, e possivelmente, também causada pela instabilidade encontrada no clado dos Indotyphlidae de Seicheles, como já mencionado, quando caracteres fenotípicos são acrescentados às análises.

Tratando dos estudos mais recentes de Dermophiidae, apenas San Mauro *et al.* (2014) incluíram mais de um exemplar dos gêneros *Dermophis* e *Gymnopsis*, deste modo, não é possível uma comparação mais representativa sobre as relações, aparentemente, conflitantes destes gêneros dentro da família. Torna-se evidente a necessidade de investir esforço e aprimorar o conhecimento sobre as relações internas de Dermophiidae, até mesmo incluindo *Idiocranium* como uma possibilidade dentro do grupo.

Em relação à topologia da árvore construída apenas com sequências de DNA (Fig. 4), mostrou-se altamente semelhante à topologia da árvore consenso gerada

através do alinhamento por similaridade. Diferenciam-se apenas pelo fato da árvore, exclusivamente molecular, apresentar melhor resolução no clado dos Indotyphlidae de Seicheles (*Grandisonia*, *Hypogeophis* e *Praslinia*). E por formar um pequeno agrupamento, dentro da enorme politomia de *Ichthyophis*, onde a espécie-tipo *Ichthyophis glutinosos* é recuperada como espécie-irmã de *I. orthoplicatus* + *I. sp.* (MW 1730). Além de organizar as relações entre os tetrápodes não anfíbios, do grupo externo. Enquanto a análise puramente molecular tendeu a dar melhores soluções a alguns ramos, a análise unicamente morfológica restringiu-se a uma politomia total, demonstrando que ainda há muita falta de conhecimento acerca deste tipo de evidência. Quanto à codificação de *indels* como quinto estado ou como dados faltantes, não foi possível afirmar grande importância quanto à tratativa destes, já que nenhuma das árvores resultantes destas diferentes codificações apresentou uma melhor resolução.

Em geral, o presente estudo revela que o tipo de alinhamento tem um papel chave na inferência filogenética, que é compatível no seu efeito, com a influência de diferentes critérios de otimização (Padiál *et al.* 2014; Peloso *et al.* 2016). Embora avaliação da sensibilidade dos resultados em função do método de inferência filogenética seja comum nos estudos filogenéticos de Gymnophiona e outros táxons, este estudo é o primeiro que avalia este fator em Gymnophiona. Os resultados sugerem que a alta resolução obtida em outros trabalhos recentes sobre as relações evolutivas de Gymnophiona sejam consequência da escolha dos métodos, que por vezes podem excluir dados disponíveis devido a estratégias de combinação de táxons, por exemplo.

O presente estudo é baseado na evidência total de táxons e caracteres, disponíveis até o momento em que este foi iniciado. Os dados analisados revelaram um panorama onde as relações filogenéticas de Gymnophiona ainda incluem: altos níveis de incerteza (p.e., politomias em Ichthyophiidae, Indotyphlidae e *Microcaecilia*); abundância de táxons supraespecíficos não monofiléticos (*Caecilia*, *Epicrionops*, *Ichthyophis*, Indotyphlidae e *Typhlonectes*); conflitos entre diferentes aproximações filogenéticas como alinhamentos ou critérios de otimização (p.e., monofilia de Herpelidae, monofilia de Siphonopidae, posição dentro de Terestomata de Caeciliidae + Thyphlonectidae); e espécimes-chave com prováveis identificações erradas (p.e., *Boulengerula boulengeri*, *Grandisonia alternans*, *Gymnopsis multiplicata* e *Dermophis mexicanus*). Em resumo, ainda que tenham surgido importantes contribuições para o conhecimento da evolução da diversidade de Gymnophiona, ainda se está longe de

alcançar uma hipótese estável e bem resolvida acerca das relações evolutivas das espécies de cecílias.

Referências bibliográficas

- Anderson, J.S., Reisz, R.R., Scott, D., Fröbisch, N.B. & Sumida, S.S. (2008) A stem batrachian from the Early Permian of Texas and the origin of frogs and salamanders. *Nature*, 453, 515-518.
- Bremer, K. (1988) The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution*, 42, 795-803.
- Castroviejo-Fisher, S., Padial, J.M., De La Riva, I., Pombal, Jr. J.P., Da Silva, H.R., Rojas-Runjaic, F.J.M., Medina-Méndez, E. & Frost, D.R. (2015) Phylogenetic systematics of egg-brooding frogs (Anura: Hemiphractidae) and the evolution of direct development. *Zootaxa*, 4004 (1): 001–075.
- De Sá, R.O., Grant, T, Camargo, A., Heyer, R., Ponssa, M.L. & Stanley, E. (2014) Systematics of the Neotropical Genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae): Phylogeny, the Relevance of Non-molecular Evidence, and Species Accounts. *South American Journal of Herpetology*, 9(1), 1–100.
- Denton, J. S. & Wheeler, W. C. (2012) Indel information eliminates trivial sequence alignment in maximum likelihood phylogenetic analysis. *Cladistics*, 28(5), 514-528.
- Donoghue, M.J., Doyle, J.A., Gauthier, J., Kluge, A.G. & Rowe, T. (1989) The importance of fossils in phylogeny reconstruction. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20, 431-460.
- Duellman, W.E. & Trueb, L. (1986) *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill Book Co. New York, 670 pp.
- Edgar, R.C. (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32, 1792-1797.
- Eernisse, D.J. & Kluge, A.G. (1993) Taxonomic congruence versus total evidence, and amniote phylogeny inferred from fossils, molecules, and morphology. *Molecular Biology and Evolution*, 10, 1170–1195.
- Estes, R. & Wake, M.H. (1972) The first fossil record of caecilian amphibians. *Nature*, 239, 228–231.
- Evans, S.E., Milner, A.R. & Werner, C. (1996) Sirenid salamanders and a gymnophione amphibian from the Cretaceous of Sudan. *Paleontology*, 39, 77–95.
- Evans, S.E. & Sigogneau-Russell, D. (2001) A stem-group caecilian (Lissamphibia: Gymnophiona) from the Lower Cretaceous of North Africa. *Palaeontology*, 44, 259–273.
- Farris, J.S. (1967) The meaning of relationship and taxonomic procedure. *Systematic Zoology*, 16, 44-51.

- Farris, J.S. (1983) The logical basis of phylogenetic analysis. In: Platnick, N.I. & Funk, V.A. (Eds), *Advances in Cladistics: Proceedings of the Third Meeting of the Willi Hennig Society 2*. Columbia University Press, New York, USA, pp. 7–36.
- Farris, J.S., Albert, V.A., Källersjö, M., Lipscomb, D. & Kluge, A.G. (1996) Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. *Cladistics*, 12, 99–124. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1096-0031.1996.tb00196.x>
- Farris, J.S., Kluge, A.G. & Carpenter, J.M. (2001) Popper and likelihood versus "Popper*". *Systematic Biology*, 50, 438–444.
- Ford, E. & Wheeler, W. C. (2015) Comparison of heuristic approaches to the generalized tree alignment problem. *Cladistics*. doi: 10.1111/cla.12142
- Frost, D.R., Grant, T., Faivovich, J., Bain, R.H., Haas, A., Haddad, C.F.B., de Sá, R.O., Channing, A., Wilkinson, M., Donnellan, S.C., Raxworthy, C.J., Campbell, J.A., Blotto, B., Moler, P., Drewes, R.C., Nussbaum, R.A., Lynch, J., Green, D.M. & Wheeler, W.C. (2006) The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 297, 1–370.
- Frost, D.R. (2016) Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, USA. (Data de acesso: março/2016). Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>.
- Gauthier, J., Kluge, A.G. & Rowe, T. (1988) Amniote phylogeny and the importance of fossils. *Cladistics*, 4, 105-209.
- Goloboff, P.A. (1999) Analyzing Large Data Sets in Reasonable Times: Solutions for Composite Optima. *Cladistics*, 15, 415-428.
- Goloboff, P.A. (2003) Parsimony, likelihood, and simplicity. *Cladistics*, 19, 91–103.
- Goloboff, P.A., Farris, J.S. & Nixon, K.C. (2008) TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, 24, 774-786.
- Goloboff, P.A. & Pol, D. (2005) Parsimony and Bayesian phylogenetics. *Parsimony, phylogeny, and genomics*, 148-159.
- Goodman, M., Olson, C.B., Beeber, J.E. & Czelusniak, J. (1982) New perspectives in the molecular biological analysis of mammalian phylogeny. *Acta Zoologica Fennica*, 169, 19-35.
- Gower, D.J., Dharne, M., Bhatta, G., Giri, V., Vyas, R., Govindappa, V., Oommen, O.V., George, J., Shouche, Y. & Wilkinson, M. (2007) Remarkable genetic homogeneity in unstriped, long-tailed Ichthyophis along 1500km of the Western Ghats, India. *Journal of Zoology*, 272, 266–275
- Gower, D.J., Kouete, M.T., Doherty-Bone, T.M., Ndeme, E.S. & Wilkinson, M. (2014) Rediscovery, natural history, and conservation status of *Idiocranium russeli* Parker,

1936 (Amphibia: Gymnophiona: Indotyphlidae). *Journal of Natural History*. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/00222933.2014.939733>

Gower, D.J., Kupfer, A., Oommen V.O., Himstedt, W., Nussbaum, R.A., Loader, S.P., Presswell, B., Müller, H., Krishna, S.B., Boistel, R. & Wilkinson, M. (2002) A molecular phylogeny of ichthyophiid caecilians (Amphibia: Gymnophiona: Ichthyophiidae): out of India or out of South East Asia? *Proceedings of the Royal Society of London B*, 269, 1563-1569.

Gower, D.J., San Mauro, D., Giri, V., Bhatta, G., Govindappa, V., Kotharambath, R., Oommen, O.V., Fatih, F.A., Mackenzie-Dodds, J.A., Nussbaum, R.A., Biju, S.D., Shouche, Y.S. & Wilkinson, M. (2011) Molecular systematics of caeciliid caecilians (Amphibia: Gymnophiona) of the Western Ghats, India. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59, 698-707.

Grant, T. & Kluge, A.G. (2004) Transformation series as an ideographic character concept. *Cladistics*, 20, 23-31.

Grant, T., Frost, D.R., Caldwell, J.P., Gagliardo, R., Haddad, C.F.B., Kok, P.J.R., Bruce Means, D., Noonan, B.P., Schargel, W.E. & Wheeler, W.C. (2006) Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 299, 262 pp.

Grant, T. & Kluge, A.G. (2008) Credit where credit is due: the Goodman-Bremer support metric. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49, 405-406.

Grant, T. & Kluge, A.G. (2009) Perspective: Parsimony, explanatory power, and dynamic homology testing. *Systematics and Biodiversity*, 7 (4) 357-363.

Hecht, M.K. & LaDuke, T.C. (1997) Limbless tetrapods. In: Kay RF, Madden RH, Cifelli RL, Flynn JJ, editors. *Vertebrate paleontology in the Neotropics The Miocene fauna of La Venta, Colombia*. Washington: Smithsonian Institution Press. 95-99

Hedges, S.B., Maxson, L.R. (1993) A molecular perspective on lissamphibian phylogeny. *Herpetological Monographs*, 7, 27-42.

Hedges, S.B., Nussbaum, R.A. & Maxson, L.R. (1993) Caecilian phylogeny and biogeography inferred from mitochondrial DNA sequences of the 12S rRNA and 16S rRNA genes (Amphibia: Gymnophiona). *Herpetological Monographs*, 7, 64-76.

Hennig, W. (1966) Phylogenetic systematics. *Annual Review of Entomology*, 10, 97-116.

Jenkins, F.A. & Walsh, D.M. (1993) An Early Jurassic caecilian with limbs. *Nature*, 365, 246-250.

Jenkins, F.A., Walsh, D.M. & Carroll, R.L. (2007) Anatomy of Eocaecilia micropodia, a limbed caecilian of the Early Jurassic. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 158, 285-366.

Kamei, R.G., San Mauro, D., Gower, D.J., Van Bocxlaer, I., Sherratt, E., Thomas, A., Babu, S., Bossuyt, F., Wilkinson, M. & Biju, S.D. (2012) Discovery of a new family of amphibians from Northeast India with ancient links to Africa. *Proceedings of the Royal Society B*, 279, 2396-2401.

Kamei, R.G., Gower, D.J., Wilkinson, M. & Biju, S.D. (2013) Systematics of the caecilian family Chikilidae (Amphibia: Gymnophiona) with the description of three new species of Chikila from northeast India. *Zootaxa*, 3666 (4), 401–435.

Kluge, A.G. (1989) A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among Epicrates (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology*, 38, 7-25.

Kluge, A.G. (1998) Total evidence or taxonomic congruence: cladistics or consensus classification. *Cladistics*, 14, 151-158.

Kluge, A.G. (1999) The science of phylogenetic systematics: explanation, prediction, and test. *Cladistics*, 15, 429–436.

Kluge, A.G. (2001) Philosophical conjectures and their refutation. *Systematic Biology*, 50, 322–330.

Kluge, A.G. (2009) Explanation and falsification in phylogenetic inference, exercises in Popperian philosophy. *Acta Biotheoretica*, 57, 171–186.

Kluge, A.G., & Farris, J.S. (1969) Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Systematic Zoology*, 18, 1-32.

Kluge A.G. & Grant, T. (2006) From conviction to anti-superfluity: old and new justifications of parsimony in phylogenetic inference. *Cladistics*, 22, 276-288.

Larsson, A. (2014) AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large data sets. *Bioinformatics*, 30 (22), 3276-3278.

Laurent, R.F. (1984) Heterogenidad de la familia Caeciliidae (Amphibia-Apoda). *Acta Zoologica Lilloana*, 37, 199-200.

Lescure, J., Renous, S. & Gasc, J.P. (1986) Proposition d'une nouvelle classification de samphibiens gymnophiones. *Mémoires de la Sociét Zoologique de France*, 43, 145-177.

Loader, S.P., Pisani, D., Cotton, J.A., Gower, D.J., Day J.J. & Wilkinson, M. (2007) Relative time scales reveal multiple origins of parallel disjunct distributions of African caecilian amphibians. *Biology Letters*, 3, 505–508.

Loader, S.P., Wilkinson, M., Cotton, J.A., John Measey, G., Menegon, M., Howell, K.M., Müller, H. & Gower, D.J. (2011) Molecular phylogenetics of Boulengerula (Amphibia: Gymnophiona: Caeciliidae) and implications for taxonomy, biogeography and conservation. *Herpetological Journal*, 21, 5-16.

Love, A.C. (2003) Evolutionary morphology, innovation, and the synthesis of evolutionary and developmental biology. *Biology and Philosophy*, 18, 309–345.

- Maddin, H.C. & Anderson, J.S. (2012) The evolution of the amphibian ear with implications for lissamphibian phylogeny: insight gained from the caecilian inner ear. *Fieldiana: Life and Earth Sciences*, 5, 59–76.
- Maddin, H.C., Jenkins, Jr., F.A. & Anderson, J.S. (2012a) The Braincase of Eocaecilia micropodia (Lissamphibia, Gymnophiona) and the Origin of Caecilians. *Plos One*, 7 (12), 1-12.
- Maddin, H.C., Russel, A.P. & Anderson, J.S. (2012b) Phylogenetic implications of the morphology of the braincase of caecilian amphibians (Gymnophiona). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166, 160-201.
- Müller, J. (1832) Beiträge zur Anatomie und Naturgeschichte der Amphibien. I. Ueber die natürliche Eintheilung der Amphibien. *Zeitschrift für Physiologie*, 4, 190–275.
- Nishikawa, K., Matsui, M., Yong, H.S., Ahmad, N., Yambun, P., Belabut, D.M., Sudin, A., Hamidy, A., Orlov, N.L., Ota, H., Yoshikawa, N., Tominaga, A. & Shimada, T. (2012) Molecular phylogeny and biogeography of caecilians from Southeast Asia (Amphibia, Gymnophiona, Ichthyophiidae), with special reference to high cryptic species diversity in Sundaland. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63, 714-723.
- Nixon, K.C. (1999) The parsimony ratchet a new method for rapid parsimony analysis. *Cladistics*, 15, 407-414.
- Nussbaum, R.A. (1977) Rhinatrematidae: A new family of caecilians (Amphibia: Gymnophiona). *Occasional Papers of the Museum of Zoology*, University of Michigan, 682, 1-30.
- Nussbaum, R.A. (1979) The taxonomic status of the caecilian genus *Uraeotyphlus* Peters. *Occasional Papers of the Museum of Zoology*, University of Michigan, 687, 1-20.
- Nussbaum, R.A. & Wilkinson, M. (1989) On the classification and phylogeny of caecilians (Amphibia: Gymnophiona), a critical review. *Herpetological Monographs*, 3, 1–42.
- Padial, J.M, Grant, T. & Frost, D.R. (2014) Molecular systematics of terraranas (Anura: Brachycephaloidea) with an assessment of the effects of alignment and optimality criteria. *Zootaxa*, 3825 (1): 001–132
- Palumbi, S.R. (1996) Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. *In*: Hillis, D.M., Moritz, C. & Mable, B.K. (Eds.), *Molecular Systematics*. Sinauer & Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, pp. 205–247.
- Peloso, P.L.V., Frost, D.R., Richards, S.J., Rodrigues, M.T., Donnellan, S., Matsui, M., Raxworthy, C.J., Biju, S.D., Lemmon, E.M., Lemmon, A.R. & Wheeler, W.C. (2016) The impact of anchored phylogenomics and taxon sampling on phylogenetic inference in Narrow-mouthed frogs (Anura, Microhylidae). *Cladistics*, 32, 113–140.

- Pyron, R.A. & Wiens, J.J. (2011) A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2.800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 543-583.
- Rage, J.C. & Pickford, M. (2011) The discovery of a gymnophionan skull (?Caeciliidae, Amphibia) in the Early Miocene of Uganda. *Geo-Pal Uganda*, 4, 1–9.
- Roelants, K., Gower, D.J., Wilkinson, M., Loader, S.P., Biju, S.D., Guillaume, K. & Bossuyt, F. (2007) Patterns of diversification in the history of modern amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 887-892.
- San Mauro, D., Gower, D.J., Cotton, J.A., Zardoya, R., Wilkinson, M., Massingham, T. & (2012) Experimental design in phylogenetics: testing predictions from expected information. *Systematic Biology*, 61, 661–674.
- San Mauro, D., Gower, D.J., Massingham, T., Wilkinson, M., Zardoya, R. & Cotton, J.A. (2009) Experimental design in caecilian systematics: phylogenetic information of mitochondrial genomes and nuclear rag1. *Systematic Biology*, 58, 425–438.
- San Mauro, D., Gower, D.J., Müller, H., Loader, S.P., Zardoya R., Nussbaum, R.A. & Wilkinson, M. (2014) Life-history evolution and mitogenomic phylogeny of caecilian amphibians. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 73, 177–189.
- San Mauro, D., Gower, D.J., Oommen, O.V., Wilkinson, M. & Zardoya, R. (2004) Phylogeny of caecilian amphibians (Gymnophiona) based on complete mitochondrial genomes and nuclear 1. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33, 413–427.
- San Mauro, D., Vences, M., Alcobendas, M., Zardoya, R. & Meyer, A. (2005) Initial diversification of living amphibians pre dated the breakup of Pangaea. *American Naturalist*, 165, 590-599.
- Sankoff, D.M. (1975) Minimal mutation trees of sequences. *SIAM Journal of Applied Mathematics*, 28, 35–42. <http://dx.doi.org/10.1137/0128004>
- Sankoff, D.M. & Rousseau, P. (1975) Locating the vertices of a Steiner tree in arbitrary space. *Mathematical Programming*, 9, 240–246. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01681346>
- Sankoff, D., Cedergren, R.J. & Lapalme, G. (1976) Frequency of insertion-deletion, transversion, and transition in the evolution of 5s ribosomal rna. *Journal of Molecular Evolution*, 7, 133–149. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01732471>
- Simmons, M. & Ochoterena, H. (2000). Gaps as characters in sequencebased phylogenetic analyses. *Systematic Biology*, 49, 369–381.
- Sober, E. 1988. *Reconstructing the Past: Parsimony, Evolution, and Inference*. MIT Press, Cambridge, Massachusetts, London, 265 pp.
- Taylor, E.H. (1968) *The caecilians of the World*. University of Kansas Press, Lawrence, Kansas.

- Taylor, E.H. (1969) A new family of African Gymnophiona. *University of Kansas Science Bulletin*, 48, 297-305.
- Vaidya, G., Lohman, D. J. & Meier R. (2011) SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multigene datasets with character set and codon information. *Cladistics*, 27(2), 171–180. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1096-0031.2010.00329.x>
- Varón, A., Vinha, L.S. & Wheeler, W.C. (2009) POY version 4: phylogenetic analysis using dynamic homologies. *Cladistics*, 26, 72–85.
- Wake, M.H. (1985) The comparative morphology and evolution of the eyes of caecilians (Amphibia: Gymnophiona). *Zoomorphology*, 105, 277-295.
- Wake, M.H. (1986) A perspective on the systematics and morphology of the Gymnophiona (Amphibia). *Mémoires de la Société Zoologique de France*, 43, 21-38.
- Wake, T.A., Wake, M.H. & Lescure, J. (1999) First Quaternary fossil record of caecilians from a Mexican archaeological site. *Quaternary Research*, 52, 138–140.
- Wheeler, W.C. (1996) Optimization alignment: the end of multiple sequence alignment in phylogenetics? *Cladistics*, 12, 1–9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1096-0031.1996.tb00189.x>
- Wheeler, W.C. (2003) Iterative pass optimization of sequence data. *Cladistics*, 19, 254–260. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1096-0031.2003.tb00368.x>
- Wheeler, W. C. (2012). *Systematics: a course of lectures*. John Wiley & Sons.
- Wheeler, W.C., Aagesen, L., Arango, C., Faivovich, J., Grant, T., D’Haese, C., Janies, D., Smith, W.L., Varón, A. & Giribet, G. (2006) Dynamic Homology and Phylogenetic Systematics: A Unified Approach Using POY. *The American Museum of Natural History*, New York, 365 pp.
- Wheeler, W.C., Lucaroni, N., Hong, L., Crowley, L.M & Varón, A. (2014) POY version 5: phylogenetic analysis using dynamic homologies under multiple optimality criteria. *Cladistics*, 31, 189-196.
- Wilkinson, M. (1997) Characters, congruence and quality: a study of neuroanatomical and traditional data in caecilian phylogeny. *Biological Reviews*, 72, 423–470.
- Wilkinson, M. & Gower, D.J. (2010) A new species of *Rhinatrema* Duméril & Bibron (Amphibia: Gymnophiona: Rhinatrematidae) from Amazonas, Brazil. *Zootaxa*, 2650, 63–68.
- Wilkinson, M., Loader, S.P., Gower, D.J., Sheps, J.A. & Cohen, B.L. (2003) Phylogenetic relationships of African caecilians (Amphibia: Gymnophiona): Insights from mitochondrial rRNA gene sequences. *African Journal of Herpetology*, 52 (2), 83-92.

Wilkinson, M. & Nussbaum, R.A. (1999) Evolutionary relationships of the lungless caecilian *Atretochoana eiselti* (Amphibia: Gymnophiona: Typhlonectidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 126, 191–123.

Wilkinson, M. & Nussbaum, R.A. (2006) Caecilian phylogeny and classification. In: Exbrayat, J.M. (Ed.) *Reproductive Biology and Phylogeny of Gymnophiona (caecilians)*. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire, USA, pp. 39-78.

Wilkinson, M., San Mauro, D., Sherratt, E. & Gower, D.J., (2011) A nine-family classification of caecilians (Amphibia: Gymnophiona). *Zootaxa*, 2874, 41-64.

Wilkinson, M., Sheps, J.A., Oommen, O.V. & Cohen, B.L. (2002) Phylogenetic relationships of Indian caecilians (Amphibia: Gymnophiona) inferred from mitochondrial rRNA gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23, 401–407.

Wiley, E.O. (1975) Karl R. Popper, systematics and classification, a reply to Walter Bock and other evolutionary taxonomists. *Systematic Zoology*, 24, 233-243.

Zhang, P. & Wake, M.H. (2009) A mitogenomic perspective on the phylogeny and biogeography of living caecilians (Amphibia: Gymnophiona). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53, 479-491.

Zhang, P., Liang, D., Mao, R.L., Hillis, D.M., Wake, D.B. & Cannatella, D.C. (2013) Efficient Sequencing of Anuran mtDNAs and a Mitogenomic Exploration of the Phylogeny and Evolution of Frogs. *Molecular Biology and Evolution*, 30 (8), 1899–1915.

Apêndice 1: Terminais do grupo externo e seus respectivos códigos de acesso ao GenBank, referente às sequências de DNA utilizadas neste estudo.

Táxon	Genoma mitocondrial	RAG-1	SLC8A3	CXCR-4	NCX-1	16S	Cytb	COI
<i>Alligator sinensis</i> Fauvel	AF511507	AY239171	XM_006025175	XM_014517289	XM_006024911	-	-	-
<i>Ambystoma mexicanum</i> (Shaw and Nodder)	AY659991	AY323752	EF107367	EF107455	EF107230	-	-	-
<i>Amphiuma means</i> Garden	GQ368656	AY650127	EF107406	EF107472	EF107248	-	-	-
<i>Andrias davidianus</i> (Blanchard)	AJ492192	AY650142	AY948911	-	AY948847	-	-	-
<i>Anolis carolinensis</i> Voigt	EU747728	XM_003214651	JF804215	JN702390	XM_008125954	-	-	-
<i>Ascapus truei</i> Stejneger	AJ871087	AY323754	AY948893	AY523695	AY523731	-	-	-
<i>Bombina orientalis</i> (Boulenger)	AY957562	AY583335	AY948867	-	AY523715	-	-	-
<i>Bombina variegata</i> (Linnaeus)	AY971143	JF898475	EF107347	AY523693	AY523705	-	-	-
<i>Bufo melanostictus</i> (Schneider)	AY458592	EU712820	AY948851	AY364167	AY948805	-	-	-
<i>Chelydra serpentina</i> Linnaeus	EF122793	AY687906	JN568397	JN702364	JN568366	-	-	-
<i>Dendrobates auratus</i> (Girard)	JX564862	AY364214	AY948879	AY364184	AY948823	-	-	-
<i>Gallus gallus</i> Linnaeus	KJ778617	EU165353	NM_001293097	AF294794	DQ987923	-	-	-
<i>Homo sapiens</i> Linnaeus	HM156696	AY130302	X93017	AF005058	NM_021097	-	-	-
<i>Hyalinobatrachium fleischmanni</i> (Boettger)	JX564869	EU663503	KF534231	KF534410	KF534147	-	-	-
<i>Hyla japônica</i> Günther	AB303949	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hyla meridionalis</i> Boettger	-	AY583339	AY948860	AY523687	AY523710	KF956382	AY960653	DQ996428
<i>Hynobius amjiensis</i> Gu	DQ333808	KJ715355	-	-	-	-	-	-
<i>Hynobius formosanus</i> Maki	DQ333816	-	EF107400	EF018001	AY523732	-	-	-
<i>Lepidosiren paradoxa</i> Fitzinger	NC_003342	AY442926	-	-	-	-	-	-
<i>Leptodactylus melanonotus</i> (Hallowell)	JX564873	AY364224	AY948900	AY364194	AY948838	-	-	-
<i>Meristogenys kinabaluensis</i> (Inger)	AB526618	EF088250	AY948864	AY364176	AY523704	-	-	-
<i>Microhyla ornata</i> Boulenger	DQ512876	AY364198	AY948852	AY364168	AY948806	-	-	-
<i>Necturus alabamensis</i> Viosca	-	AY650136	-	EF107498	EF107279	X86282	AY691725	-

Continua na próxima página.

Táxon	Genoma mitocondrial	RAG-1	SLC8A3	CXCR-4	NCX-1	16S	Cytb	COI
<i>Necturus beyeri</i> Viosca	GQ368658	KC165593	JX145026	-	-	-	-	-
<i>Odorrana margaretae</i> Liu	KJ815050	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pelobates cultripes</i> Cuvier	AJ871086	AY323758	AY948857	AY364171	AY523707	-	-	-
<i>Plethodon cinereus</i> Green	AY728232	AY691703	EF107360	EF107452	EF107226	-	-	-
<i>Python bivittatus</i> Kuhl	KF010492	XM_007441886	-	XM_007439330	-	-	-	-
<i>Python molurus</i> Linnaeus	HM581978	-	JN702854	JN702316	-	-	-	-
<i>Rhyacotriton variegatus</i> Stebbins and Lowe	AY728219	KC165599	EF107401	EF107466	EF107242	-	-	-
<i>Salamandra salamandra</i> (Linnaeus)	EU880331	AY650135	KF645505	KF645567	EF018024	-	-	-
<i>Siren intermedia</i> Barnes	GQ368661	AY650140	EF107407	EF107473	EF107249	-	-	-
<i>Triturus marmoratus</i> (Latreille)	EU880337	-	EF107350	-	-	-	-	-
<i>Xenopus laevis</i> (Daudin)	HM991335	L19324	NM_001093062	-	-	-	-	-
<i>Xenopus tropicalis</i> Gray	AY789013	-	-	AY523697	AY523721	-	-	-

Apêndice 2a: Táxons terminais que tiveram sequências extraídas do GenBank, com seus respectivos vouchers e códigos de acesso ao GenBank. Os nomes dos terminais listados na coluna “Táxon” estão de acordo com os nomes utilizados nas árvores. Nomes que estejam repetidos na lista abaixo condizem com terminais que tiveram sequências de mais de um voucher utilizadas em conjunto. Tabela referente apenas aos genes mitocondriais.

Táxon	Voucher	Gen. Mitocondrial*	12S*	16S*	COI	CYTB	ND1	ND2
<i>Boulengerula boulengeri</i>	CAS168822	GQ244464	-	-	-	-	-	-
<i>Boulengerula boulengeri</i> BMNH_2002.776	BMNH 2002.776	-	-	-	-	FN52737	-	-
<i>Boulengerula changamwensis</i>	NMK A/4129	-	FN652690	FN652722	FR691671	FN652754	-	-
<i>Boulengerula fischeri</i>	BMNH 2008.604	-	FR691653	FR691658	FR691668	FR691663	-	-
<i>Boulengerula niedeni</i>	NMK A/4294	-	FN652691	FN652723	FR691670	FN652755	-	-
<i>Boulengerula taitana</i>	NMK A/3112	AY954504	-	-	-	-	-	-
<i>Boulengerula uluguruensis</i>	MW 3268	-	DQ283087	DQ283087	-	-	-	-
<i>Boulengerula uluguruensis</i>	BMNH 2005.187	-	-	-	FR691672	FN652748	-	-
<i>Boulengerula cf. uluguruensis</i>	MW 6638	-	-	-	FR691674	-	-	-
<i>Caecilia gracilis</i>	BMNH 2008.747	KF540147	-	-	-	-	-	-
<i>Caecilia tentaculata</i>	BMNH 2008.750	KF540146	-	-	-	-	-	-
<i>Caecilia volcani</i>	MVZ 231242	GQ244466	-	-	-	EU754002	-	-
<i>Caecilia</i> sp.	UMMZ 190 146	-	X86229	X86297	-	-	-	-
<i>Caecilia</i> sp. KR-2007	QCAZ AG433	-	-	EF107195	-	-	-	-
<i>Chikila fulleri</i>	BNHS 5514	HQ456771	-	-	-	-	-	-
<i>Chikila fulleri</i> SDB_654	SDB 654	-	-	HQ729381	HQ729465	-	-	-
<i>Chikila fulleri</i> SDB_605	SDB 605	-	-	-	HQ729474	-	-	-

Continua na próxima página.

Táxon	Voucher	Gen. Mitochondrial	12S	16S	COI	CYTB	ND1	ND2
<i>Chikila alcocki</i>	BNHS 5517	-	-	HQ729373	-	-	-	-
<i>Chikila alcocki</i>	BNHS 5519	-	-	-	HQ729450	-	-	-
<i>Chikila gaiduwani</i>	SDB 1577	-	-	HQ729377	HQ729461	-	-	-
<i>Chikila darlong</i>	SDB 1739	-	-	HQ729354	HQ729438	-	-	-
<i>Chthonerpeton indistinctum</i>	MCP 3.814	KF540149	-	-	-	-	-	-
<i>Chthonerpeton indistinctum</i>	MCP MW15	-	-	EF107202	-	-	-	-
<i>Crotaphatrema lamottei</i>	BMNH 2008.274	JN089398	-	-	-	-	-	-
<i>Crotaphatrema tchabalmboensis</i>	UTA A51667	-	EF219345	EF219346	-	-	-	-
<i>Dermophis mexicanus</i>	MVZ 179061	GQ244467	-	-	-	-	-	-
<i>Dermophis mexicanus</i> MVZ_232857	MVZ 232857	-	-	-	-	EU754001	-	-
<i>Dermophis oaxacae</i>	UTA 56550	-	DQ283455	DQ283455	-	-	-	-
<i>Dermophis parviceps</i>	FC14084	-	-	EU753994	-	EU754006	-	-
<i>Epicrionops</i> cf. <i>marmoratus</i>	UMMZ 190478	KF540151	-	-	-	-	-	-
<i>Epicrionops marmoratus</i>	No voucher	-	AY101206	AY101226	-	-	-	-
<i>Epicrionops niger</i>	CPII03W8	GQ244468	-	-	-	-	-	-
<i>Epicrionops</i> sp.	No voucher	-	Y10950	Y10950	-	-	-	-
<i>Epicrionops</i> sp. RAN_26114	RAN 26114	-	DQ283130	EF107190	-	-	-	-
<i>Gegeneophis carnosus</i>	UK MW295	-	HQ443936	HQ443979	HQ444022	HQ444070	-	-
<i>Gegeneophis danieli</i>	BNHS 4230	-	HQ443948	HQ443991	HQ444033	HQ444080	-	-

Continua na próxima página.

Táxon	Voucher	Gen. Mitochondrial	12S	16S	COI	CYTB	ND1	ND2
<i>Gegeneophis goaensis</i>	isolate b	-	HQ443943	HQ443986	HQ444029	HQ444077	-	-
<i>Gegeneophis krishni</i>	BNHS 4176	-	HQ443954	HQ443997	HQ444039	HQ444085	-	-
<i>Gegeneophis krishni</i> BUB_2659	BUB 2659	-	-	-	HQ444036	-	-	-
<i>Gegeneophis madhavai</i>	BNHS 5349	-	HQ443956	HQ443999	HQ444041	HQ444087	-	-
<i>Gegeneophis</i> cf. <i>mhadeiensis</i>	BNHS 4233	-	HQ443945	HQ443988	HQ444031	-	-	-
<i>Gegeneophis mhadeiensis</i>	BNHS 5351	-	HQ443940	HQ443983	HQ444026	HQ444074	-	-
<i>Gegeneophis ramaswamii</i> MW_708	MW 708	-	-	-	HQ444051	HQ444097	-	-
<i>Gegeneophis seshachari</i>	BNHS 4231	-	HQ443970	HQ444013	HQ444055	HQ444101	-	-
<i>Gegeneophis seshachari</i> BNHS_4602	BNHS_4602	-	-	-	-	HQ444102	-	-
<i>Gegeneophis seshachari</i> BNHS_4596	BNHS_4596	-	-	-	HQ444053	-	-	-
<i>Gegeneophis</i> sp. BNHS_5348	BNHS 5348	-	HQ443938	HQ443981	HQ444024	HQ444072	-	-
<i>Gegeneophis</i> sp. BNHS_4177	BNHS 4177	-	HQ443937	HQ443980	HQ444023	HQ444071	-	-
<i>Geotrypetes seraphini</i>	BMNH 2005.2	AY954505	-	-	-	-	-	-
<i>Geotrypetes seraphini</i> MVZ_252475	MVZ 252475	-	GQ244469	-	-	-	-	-
<i>Grandisonia alternans</i> UMMZ_240022	UMMZ 240022	-	-	-	-	HQ444109	-	-
<i>Grandisonia alternans</i> DB_6535	DB_6535	-	KF772171	-	-	-	-	-
<i>Grandisonia brevis</i>	UMMZ 192977	-	EF219353	EF219354	HQ444065	HQ444110	-	-
<i>Grandisonia larvata</i>	No voucher	GQ244470	-	-	-	-	-	-
<i>Grandisonia larvata</i> UMMZ_193061	UMMZ 193061	-	EF219355	EF219356	-	-	-	-

Continua na próxima página.

Táxon	Voucher	Gen. Mitochondrial	12S	16S	COI	CYTB	ND1	ND2
<i>Grandisonia sechellensis</i>	UMMZ 240024	KF540152	-	-	-	-	-	-
<i>Gymnopsis multiplicata</i>	MVZ 171331	-	-	EU753989	-	EU753998	-	-
<i>Gymnopsis multiplicata</i> MVZ_179536	MVZ 179536	KF540153	-	-	-	-	-	-
<i>Herpele squalostoma</i>	BMNH 2002.97	HQ456774	-	-	-	-	-	-
<i>Hypogeophis rostratus</i>	UMMZ 240025	KF540154	-	-	-	-	-	-
Ichthyophiidae sp. BORN_9227	BORN 9227	-	AB686162	AB686162	-	AB686097	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_33640	KUHE_33640	-	AB686158	AB686158	-	AB686093	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_42230	KUHE 42230	-	AB686133	AB686133	-	AB686068	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_42231	KUHE 42231	-	AB686134	AB686134	-	AB686069	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_52266	KUHE 52266	-	AB686140	AB686140	-	AB686075	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_52426	KUHE 52426	-	AB686141	AB686141	-	AB686076	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_52519	KUHE 52519	-	AB686143	AB686143	-	AB686078	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_53429	KUHE 53429	-	AB686147	AB686147	-	AB686082	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_53469	KUHE 53469	-	AB686150	AB686150	-	AB686085	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_53923	KUHE 53923	-	AB686154	AB686154	-	AB686089	-	-
Ichthyophiidae sp. KUHE_53943	KUHE 53943	-	AB686155	AB686155	-	AB686090	-	-
<i>Ichthyophis asplenius</i>	1191	-	-	EF107193	-	-	-	-
<i>Ichthyophis bamanicus</i>	No voucher	AY458594	-	-	-	-	-	-
<i>Ichthyophis beddomei</i>	DJG 224	-	AY101211	AY101231	-	AY101251	-	-

Continua na próxima página.

Táxon	Voucher	Gen. Mitochondrial	12S	16S	COI	CYTB	ND1	ND2
<i>Ichthyophis biangularis</i>	KUHE 53017	-	AB686145	AB686145	-	AB686080	-	-
<i>Ichthyophis bombayensis</i>	BNHS 4344	KF540155	-	-	-	-	-	-
<i>Ichthyophis cf. asplenius</i>	ZRC 1.12502	KF540148	-	-	-	-	-	-
<i>Ichthyophis cf. bannanicus</i>	KUHE 19881	-	AB686110	AB686110	-	AB686045	-	-
<i>Ichthyophis cf. bannanicus</i>	KUHE 23048	-	AB686118	AB686118	-	AB686053	-	-
<i>Ichthyophis cf. hypocyaneus</i>	MZB 12891	-	AB686166	AB686166	-	AB686101	-	-
<i>Ichthyophis cf. kohtaoensis</i>	KUHE 19615	-	AB686107	AB686107	-	AB686042	-	-
<i>Ichthyophis cf. kohtaoensis</i>	KUHE 53313	-	AB686146	AB686146	-	AB686081	-	-
<i>Ichthyophis cf. mindanaoensis</i>	KUHE 33345	-	AB686120	AB686120	-	AB686055	-	-
<i>Ichthyophis cf. nigroflava</i>	KUHE 34877	-	AB686123	AB686123	-	AB686058	-	-
<i>Ichthyophis cf. supachaii</i>	KUHE 23189	-	AB686119	AB686119	-	AB686054	-	-
<i>Ichthyophis glutinosus</i>	MW 1733	AY456251	-	-	-	-	-	-
<i>Ichthyophis larutensis</i>	DO142	-	AB686156	AB686156	-	AB686091	-	-
<i>Ichthyophis longicephalus</i>	MW 3405	-	-	JQ040046	-	-	-	-
<i>Ichthyophis multicolor</i>	CAS 212254	-	FR715999	FR716007	-	FR716015	-	-
<i>Ichthyophis orthoplicatus</i>	WHT 5151	-	AY700938	AY700956	-	AY700974	-	-
<i>Ichthyophis tricolor</i>	DJG 324	-	AY101208	AY101228	-	AY101248	-	-
<i>Ichthyophis sp. DJG_HY2</i>	DJG HY2	-	AY101216	AY101236	-	AY101256	-	-
<i>Ichthyophis sp. DJG_NB7</i>	DJG NB7	-	AY101220	AY101240	-	AY101260	-	-

Continua na próxima página.

Táxon	Voucher	Gen. Mitochondrial	12S	16S	COI	CYTB	ND1	ND2
<i>Ichthyophis</i> sp. DJG_V4	DJG V4	-	AY101219	AY101239	-	AY101259	-	-
<i>Ichthyophis</i> sp. KUHE_17334	KUHE 17334	-	AB686106	AB686106	-	AB686041	-	-
<i>Ichthyophis</i> sp. KUHE_38275	KUHE 38275	-	AB686159	AB686159	-	AB686094	-	-
<i>Ichthyophis</i> sp. KUHE_39361	KUHE 39361	-	AB686129	AB686129	-	AB686064	-	-
<i>Ichthyophis</i> sp. KUHE_39362	KUHE 39362	-	AB686130	AB686130	-	AB686065	-	-
<i>Ichthyophis</i> sp. MW_1730	MW 1730	-	AY700939	AY700957	-	AY700975	-	-
<i>Ichthyophis</i> sp. MZB_12959	MZB 12959	-	AB686167	AB686167	-	AB686102	-	-
<i>Ichthyophis</i> sp. ZISP_39334	ZISP 39334	-	AB686169	AB686169	-	AB686104	-	-
<i>Idiocranium russeli</i>	BMNH 2008.409	KF540156	-	-	-	-	-	-
<i>Indotyphlus battersbyi</i>	BNHS 4232	-	HQ443973	HQ444016	HQ444058	HQ444104	-	-
<i>Indotyphlus maharashtraensis</i>	BNHS 4223	KF540157	-	-	-	-	-	-
<i>Luetkenotyphlus brasiliensis</i>	BMNH 2005.3	KF540158	-	-	-	-	-	-
<i>Microcaecilia dermatophaga</i>	BMNH 2008.716	KF540159	-	-	-	-	-	-
<i>Microcaecilia unicolor</i>	BMNH 2008.749	KF540160	-	-	-	-	-	-
<i>Microcaecilia</i> sp. IWK_0128	IWK 0128	-	-	EU753993	-	EU754005	-	-
<i>Microcaecilia</i> sp. KR-2007	MW 995	-	-	EF107196	-	-	-	-
<i>Microcaecilia</i> sp. PZ-2009	IWK0128	GQ244473	-	-	-	-	-	-
<i>Oscaecilia ochrocephala</i>	MVZ 222472	GQ244474	-	-	-	-	-	-

Continua na próxima página.

Táxon	Voucher	Gen. Mitochondrial	12S	16S	COI	CYTB	ND1	ND2
<i>Potamotyphlus kaupii</i>	UMMZ 238303	KF540161	-	-	-	-	-	-
<i>Praslinia cooperi</i>	UMMZ 192934	KF540162	-	-	-	-	-	-
<i>Rhinatrema bivittatum</i>	BMNH 2002.6	AY456252	-	-	-	-	-	-
<i>Rhinatrema shiv</i>	IRSNB 1991	-	GU566188	GU566189	-	GU566190	-	-
<i>Schistometopum gregorii</i>	BMNH 2008.559	KF540163	-	-	-	-	-	-
<i>Schistometopum thomense</i>	CAS 219292	GQ244476	-	-	-	-	-	-
<i>Scolecormorphus cf. kirkii</i>	BMNH 2005.890	-	EF219343	EF219344	-	-	-	-
<i>Scolecormorphus uluguruensis</i>	BMNH 2002.099	-	AY450618	AY450625	-	-	-	-
<i>Scolecormorphus vittatus</i>	BMNH 2002.100	AY456253	-	-	-	-	-	-
<i>Siphonops annulatus</i>	BMNH 2005.9	AY954506	-	-	-	-	-	-
<i>Siphonops hardyi</i>	MW 1032	-	-	DQ283088	-	-	-	-
<i>Siphonops paulensis</i>	CHUNB 39114	-	-	EF107203	-	-	-	AY954507
<i>Typhlonectes compressicauda</i>	MVZ 11146	-	-	-	-	-	AY916014	-
<i>Typhlonectes natans</i>	No voucher	AF154051	-	-	-	-	-	-
<i>Uraeotyphlus cf. oomeni</i>	DJG 954	-	AY101204	-	-	AY101244	-	-
<i>Uraeotyphlus cf. oxyurus</i>	MW 212	AY456254	-	-	-	-	-	-
<i>Uraeotyphlus gansi</i>	BNHS 4627	KF540164	-	-	-	-	-	-
<i>Uraeotyphlus narayani</i>	MW 1418	-	DQ283090	DQ283090	-	AY101242	-	-
<i>Uraeotyphlus sp.</i>	"Red K2"	-	AF461140	AF461141	-	-	-	-

Apêndice 2b: Táxons terminais que tiveram sequências extraídas do GenBank, com seus respectivos vouchers e códigos de acesso ao GenBank. Os nomes dos terminais listados na coluna “Táxon” estão de acordo com os nomes utilizados nas árvores. Nomes que estejam repetidos na lista abaixo condizem com terminais que tiveram sequências de mais de um voucher utilizadas em conjunto. Tabela referente apenas aos genes nucleares.

Táxon	Voucher	28S	CXCR4	NCX1	H3A	RAG1	SIA	SLC8A3
<i>Boulengerula boulengeri</i>	BMNH: 2002.950	-	-	EF107263	-	EF107322	-	EF107425
<i>Boulengerula changamwensis</i>	NMK A/4129	-	-	-	-	FR691680	-	-
<i>Boulengerula fischeri</i>	BMNH 2008.604	-	-	-	-	FR691676	-	-
<i>Boulengerula niedeni</i>	NMK A/4294	-	-	-	-	FR691679	-	-
<i>Boulengerula taitana</i>	NMK A/3112	-	-	HQ444140	-	DQ320062	-	-
<i>Boulengerula uluguruensis</i>	MW 3268 (BMNH)	DQ283488	-	-	DQ284138	-	DQ282670	-
<i>Boulengerula uluguruensis</i>	BMNH 2005.187	-	-	-	-	FR691681	-	-
<i>Caecilia tentaculata</i>	AMNH A145174	DQ283717	-	-	DQ284387	-	DQ282863	-
<i>Caecilia volcani</i>	MVZ 231242	-	-	HQ444141	-	HQ444128	-	-
<i>Caecilia</i> sp. KR-2007	QCAZ AG433	-	-	EF107259	-	EF107318	-	EF107421
<i>Chikila fulleri</i>	BNHS 5514	-	-	HQ456773	-	HQ456772	-	-
<i>Chthonerpeton indistinctum</i>	MCP MW15	-	-	EF107266	-	EF107325	-	EF107428
<i>Crotaphatrema lamottei</i>	BMNH 2008.274	-	-	-	-	JN089397	-	-
<i>Crotaphatrema tchabalmoensis</i>	UTA A51667	DQ283676	-	-	DQ284342	-	-	-
<i>Dermophis mexicanus</i>	MVZ 179061	-	-	-	-	JQ073273	-	-

Continua na próxima página.

Táxon	Voucher	28S	CXCR4	NCX1	H3A	RAG1	SIA	SLC8A3
<i>Dermophis mexicanus</i>	UMMZ RAN 31534	-	-	EF107261	-	EF107320	-	EF107423
<i>Dermophis oaxacae</i>	UTA 56550	-	-	-	DQ284428	-	DQ282897	-
<i>Epicrionops niger</i>	ROM 39682	-	-	HQ444142	-	HQ444130	-	-
<i>Epicrionops</i> sp. RAN_26114	RAN 26114	DQ283523	-	-	DQ284171	-	-	-
<i>Epicrionops</i> sp. KR_2007	KR 2007	-	EF107477	EF107254	-	EF107313	-	EF107416
<i>Gegeneophis carnosus</i>	UK MW295	-	-	-	-	HQ444115	-	-
<i>Gegeneophis goaensis</i>	isolate b	-	-	-	-	HQ444119	-	-
<i>Gegeneophis krishni</i>	BNHS 4176	-	-	-	-	HQ444122	-	-
<i>Gegeneophis madhavai</i>	BNHS 5349	-	-	-	-	HQ444123	-	-
<i>Gegeneophis</i> cf. <i>mhadeiensis</i>	BNHS 4233	-	-	-	-	HQ444120	-	-
<i>Gegeneophis mhadeiensis</i>	BNHS 5351	-	-	-	-	HQ444118	-	-
<i>Gegeneophis ramaswamii</i>	MW 331	-	AY523684	AY523727	-	AY456255	-	EF107366
<i>Gegeneophis</i> sp. BNHS_5348	BNHS 5348	-	-	-	-	HQ444117	-	-
<i>Gegeneophis</i> sp. BNHS_4177	BNHS 4177	-	-	-	-	HQ444116	-	-
<i>Geotrypetes seraphini</i>	FMNH 256782	DQ283662	AY523683	AY523726	DQ284328	AY523741	-	EF107361
<i>Geotrypetes</i> sp.	DSM 2004	-	-	-	-	AY583355	-	-
<i>Grandisonia alternans</i> UMMZ_240022	UMMZ 240022	-	-	HQ444143	-	HQ444131	-	-
<i>Gymnopsis multiplicata</i>	MVZ 179536	-	-	HQ444144	-	HQ444132	-	-
<i>Herpele squalostoma</i>	BMNH 2002.97	-	-	-	-	HQ444133	-	-

Continúa na próxima página.

Táxon	Voucher	28S	CXCR4	NCX1	H3A	RAG1	SIA	SLC8A3
<i>Herpele squalostoma</i>	UTA A52349	DQ283679	-	-	DQ284346	-	-	-
<i>Herpele squalostoma</i>	1198?	-	EF107485	EF107264	-	EF107323	-	EF107426
<i>Hypogeophis rostratus</i>	UMMZ 240025	-	-	-	-	HQ444134	-	-
<i>Hypogeophis rostratus</i>	RAN 2550	DQ283524	-	-	DQ284172	-	DQ282687	-
<i>Hypogeophis rostratus</i>	RAN 25969	-	AY948787	AY948829	-	-	-	AY948885
<i>Ichthyophis bannanicus</i>	VUB 0697	-	EF107451	EF107225	-	EF107288	-	EF107358
<i>Ichthyophis cf. bannanicus</i>	VUB 698	-	-	-	-	HQ444135	-	-
<i>Ichthyophis glutinosus</i>	MW 1733	-	-	-	-	AY456256	-	-
<i>Ichthyophis glutinosus</i>	WHT 5508	-	AY948794	AY948839	-	-	-	AY948901
<i>Ichthyophis orthoplicatus</i>	MW 1723	-	EF107481	EF107258	-	EF107317	-	EF107420
<i>Ichthyophis sp. UTA_55276</i>	UTA 55276	-	-	-	-	AY650147	-	-
<i>Ichthyophis asplenius</i>	1191	-	EF107480	EF107257	-	EF107316	-	EF107419
<i>Indotyphlus battersbyi</i>	BNHS 4232	-	-	-	-	HQ444125	-	-
<i>Luetkenotyphlus brasiliensis</i>	BMNH 2005.3	-	EF107483	EF107262	-	EF107321	-	EF107424
<i>Microcaecilia sp. KR-2007</i>	MW 995	-	EF107482	EF107260	-	EF107319	-	EF107422
<i>Microcaecilia sp.</i>	UMMZ 214081	-	-	HQ444145	-	HQ444136	-	-
<i>Oscacecilia ochrocephala</i>	MVZ 222472	-	-	HQ444146	-	HQ444137	-	-
<i>Praslinia cooperi</i>	UMMZ 192934	-	-	-	-	HQ444138	-	-
<i>Praslinia cooperi</i>	UMMZ 31309	-	EF107489	EF107269	-	-	-	EF107431

Continua na próxima página.

Táxon	Voucher	28S	CXCR4	NCX1	H3A	RAG1	SIA	SLC8A3
<i>Rhinatrema bivittatum</i>	BMNH 2002.6	-	EF107478	EF107255	-	AY456257	-	EF107417
<i>Rhinatrema bivittatum</i>	AMNH A166059	DQ283700	-	-	DQ284370	-	-	-
<i>Schistometopum gregorii</i>	BMNH 2002.98	DQ283490	-	-	DQ284140	-	-	-
<i>Schistometopum thomense</i>	BMNH 2000.301	-	EF107488	EF107268	-	EF107327	-	EF107430
<i>Scolecormorphus uluguruensis</i>	BMNH 2002.099	-	EF107486	EF107265	-	EF107324	-	EF107427
<i>Scolecormorphus vittatus</i>	CAS 168810	-	EF107457	EF107232	-	-	-	EF107380
<i>Scolecormorphus vittatus</i>	BMNH 2002.100	-	-	-	-	AY456258	-	-
<i>Scolecormorphus vittatus</i>	FMNH 251843	DQ283663	-	-	DQ284329	-	DQ282816	-
<i>Siphonops annulatus</i>	BMNH 2005.9	-	-	HQ444147	-	DQ320064	-	-
<i>Siphonops hardyi</i>	MW 1032	DQ283489	-	-	DQ284139	-	-	-
<i>Siphonops paulensis</i>	CHUNB 39114	-	EF107429	EF107267	-	EF107326	-	EF107429
<i>Typhlonectes natans</i> KR-2007	BMNH 2000.218	DQ283486	-	EF107229	DQ284136	AY456260	-	EF107365
<i>Uraeotyphlus narayani</i>	MW 1418	DQ283491	-	-	DQ284141	-	DQ282671	-
<i>Uraeotyphlus</i> cf. <i>malabaricus</i>	MW 1711	-	EF107479	EF107256	-	EF107315	-	EF107418
<i>Uraeotyphlus</i> cf. <i>oxyurus</i>	MW 212	-	-	-	-	AY456259	-	-
<i>Uraeotyphlus</i> cf. <i>oxyurus</i>	KR 2007	-	EF107454	EF107228	-	-	-	EF107364
<i>Ichthyophis</i> sp. UTA_55276	UTA55276	-	-	-	-	AY650147	-	-
<i>Microcaecilia</i> sp. UMMZ_214081	UMMZ 214081	-	-	HQ444145	-	HQ444136	-	-

Apêndice 3: Justificativa, nome e descrição dos caracteres fenotípicos removidos das análises.

- 1) Caracteres (80) provenientes de Anderson *et al.* (2008) não aplicáveis aos táxons do grupo interno ou aplicáveis apenas ao táxon fóssil.
- A6. Supratemporal exposure on occiput: (0) absent, (1) present.
- A7. Tabular-postorbital contact: (0) absent, (1) present.
- A8. Tabular-postfrontal contact: (0) absent, (1) present.
- A9. Postfrontal shape: (0) broadly quadrangular, (1) falciform.
- A10. Squamosal-tabular contact: (0) absent, (1) present, (2) fused.
- A12. Lacrimal-prefrontal suture: (0) simple butt joint, (1) interdigitating, (2) prefrontal broadly underplates lacrimal.
- A14. Lacrimal-naris contact: (0) present, (1) absent.
- A15. Lacrimal contribution to orbit: (0) absent, (1) present.
- A16. Lacrimal orbital processes: (0) only ventral present, (1) dorsal and ventral present, (2) neither present.
- A17. Lacrimal-jugal contact: (0) present, (1) absent.
- A19. Quadratojugal-Jugal contact: (0) present, (1) absent.
- A20. Quadratojugal-maxilla contact: (0) present, (1) absent.
- A39. Large otic notch approaching orbit: (0) absent, (1) intermediate, (2) close.
- A40. Otic notch: (0) open posteriorly, (1) closed posteriorly.
- A41. Semilunar flange of supratemporal: (0) absent, (1) present.
- A42. Supratympanic flange: (0) absent, (1) present "trematopid-like", (2) present "dissorophid-like".
- A43. Supratympanic shelf: (0) absent, (1) present.
- A46. Jugal-postorbital interfingering processes: (0) absent, (1) present.
- A47. Postorbital contribution to orbital margin: (0) present, (1) absent.
- A48. Shape of postorbital: (0) irregular trapezoid, (1) triangular, apex caudal.
- A50. Parietal-postorbital contact: (0) absent, (1) present.
- A52. Parietal-tabular contact: (0) absent, (1) present.
- A55. Postparietals: (0) moderate, (1) large.
- A56. Postparietal-squamosal contact: (0) absent, (1) present.
- A57. Postparietal length: (0) large, quadrangular, (1) abbreviated anteroposteriorly, elongate lateral rectangle.
- A58. Squamosal-jugal contact: (0) present, (1) absent.
- A62. Tabular horns: (0) parallel or slightly divergent, (1) widely divergent.
- A63. Squamosal forms base of tabular horn: (0) absent, (1) present.

- A69. Maxilla forms entire ventral naris: (0) absent, (1) present.
- A70. Maxilla: (0) longer than palatine, (1) shorter than palatine.
- A122. Ectopterygoid-palatine width: (0) wider than maxilla, (1) narrower than maxilla.
- A127. Angular: (0) narrow, (1) deep.
- A131. Ventral border of Meckel's fossa: (0) splenial, (1) angular.
- A135. Angular extends to (lat view): (0) posterior tooth row, (1) middle of tooth row.
- A137. Coronoid teeth: (0) present, (1) absent.
- A138. Coronoid teeth: (0) larger than marginals, (1) equal to marginals, (2) smaller than marginals.
- A150. Base of neural spine: (0) equal to or wider than haemal, (1) smaller than haemal spine.
- A157. Haemal arches: (0) loosely articulated intercentrum, (1) fused to mid-length of centrum.
- A158. Haemal arches: (0) longer than or equal to neurals, (1) shorter than neurals.
- A159. Haemal accessory articulations: (0) none, (1) one, (2) two.
- A160. Haemal arch shape: (0) non-parallel (triangular), (1) parallel (rectangular).
- A181. Number of sacrals: (0) 1, (1) 2, (2) 3.
- A182. Sacral parapophysis: (0) on centrum, (1) on transverse process.
- A183. Number pairs of caudal ribs: (0) 5 or more, (1) 4, (2) 3, (3) 2 or fewer.
- A184. Interclavicle posterior stem: (0) no or short, (1) long.
- A185. Interclavicle posterior stem: (0) wide, (1) narrow.
- A186. Interclavicle: (0) diamond shaped, (1) t-shaped.
- A187. Interclavicle anterior plate: (0) broad, (1) narrow.
- A188. Interclavicle shape-diamond: (0) broad diamond, (1) narrow diamond.
- A189. Interclavicle anterior fimbriati: (0) present, (1) absent.
- A190. Interclavicle sculpture: (0) present, (1) absent.
- A191. Cleithrum head: (0) aligned along anterior rim of scapula, (1) posterodorsally enlarged head wrapping around dorsal scapula.
- A192. Cleithrum head: (0) dorsally greatly expanded, much wider than shaft, (1) simple rod without or slight dorsal expansion.
- A193. Cleithrum: (0) ossified, (1) unossified.
- A194. Cleithrum: (0) rounded or pointed dorsally, (1) t- or y-shaped.
- A195. Proximal clavicle blades: (0) widely separate, (1) articulate medially, (2) interdigitate.
- A196. Supraglenoid foramen: (0) present, (1) absent.
- A197. Number coracoid foramina: (0) 0, (1) 1, (2) 2.
- A198. Scapulocoracoid ossification: (0) both, (1) scapula only, (2) absent.

- A199. Entepicondylar foramen: (0) present, (1) absent.
- A200. Torsion in humerus: (0) absent, (1) less than 80 degrees, (2) more than 80 degrees.
- A201. Deltapectoral crest: (0) weak, (1) intermediate, (2) prominent.
- A202. Supinator process: (0) absent, (1) present.
- A203. Humerus length: (0) long (>4 trunk centra), (1) short.
- A204. Radius:humerus: (0) ≥ 0.7 , (1) 0.5-0.7, (2) < 0.5 .
- A205. Olecranon process: (0) unossified, (1) ossified.
- A206. Carpals: (0) fully or partially ossified, (1) unossified.
- A207. Basale commune: (0) absent, (1) present.
- A208. Number of manual digits: (0) 5 or more, (1) 4, (2) 3.
- A209. Pelvis: (0) fused, (1) sutured, (2) poorly ossified.
- A210. Anteriorly inclined ilium: (0) absent (1) present.
- A211. Iliac blade: (0) 2 dorsal processes, (1) narrowly bifurcate, (2) single blade.
- A212. Internal trochanter-articulation: (0) distinct, (1) continuous.
- A213. Femoral shaft: (0) robust, (1) slender.
- A214. Femur: (0) long, (1) short.
- A215. Tarsals: (0) ossified, (1) unossified.
- A216. Elongate tibiae and fibulae: (0) absent (1) present.
- A217. Number of distal tarsals: (0) 6, (1) 5 or fewer.
- A218. Astragalus: (0) absent, (1) present.
- A219. Number of pedal digits: (0) 5 or more, (1) 4 or less.
- 2) Caracteres (3) provenientes de Anderson *et al.* (2008) que são redundantes com caracteres de Maddin *et al.* (2012b).
- A107. Basicranial articulation: (0) loose, (1) sutured or fused. REDUNDANTE COM M15.
- A108. Stapes: (0) perforated columella, (1) imperforate columella, (2) no columella. REDUNDANTE COM M16.
- A133. Retroarticular process: (0) straight, (1) hooked. REDUNDANTE COM M18.
- 3) Caracteres (83) provenientes de Anderson *et al.* (2008) que não são variáveis na matriz deste estudo:
- A4. Intertemporal: (0) present, (1) absent.
- A5. Supratemporal: (0) present, (1) absent.
- A21. Frontals: (0) paired along midline, (1) fused.
- A23. Anterior laterally flaring frontals: (0) absent, (1) present.
- A24. Nasals: (0) present, (1) absent.

- A25. Nasal flange: (0) absent, (1) present.
- A31. External naris shape: (0) circular, (1) posteriorly extended, along lacrimal-prefrontal suture, (2) posteriorly extended, excavation of lacrimal only.
- A35. Snout: (0) blunt, (1) pointed.
- A36. Snout: (0) short, (1) long.
- A37. Quadrate internal flange of squamosal: (0) absent, (1) present.
- A44. Raised orbital rim: (0) absent, (1) present.
- A45. Postorbital: (0) present, (1) absent.
- A49. Palpebral ossifications: (0) absent, (1) mosaic of bone plates present in orbit.
- A60. Posterolateral projection from lateral margin of tabular above squamosal embayment: (0) absent, (1) present.
- A61. Tabular horns: (0) absent, (1) present.
- A64. Lateral line canal grooves: (0) present, (1) absent.
- A65. Dermal sculpturing: (0) circular pits, (1) shallow ridges and grooves, (2) little to none.
- A71. Marginal teeth: (0) vertical, (1) turned medially.
- A72. Marginal teeth largest anterior: (0) absent, (1) present.
- A73. Marginal teeth: (0) pointed pegs, (1) blunt pegs, (2) large cones.
- A76. Teeth laterally compressed: (0) no, (1) yes.
- A77. Enlarged teeth mid-toothrow: (0) absent, (1) present.
- A79. Multiple Cusp Orientation: (0) Labio-lingual, (1) antero-posterior.
- A80. Enamel fluting: (0) absent, (1) present.
- A81. Labyrinthine in-folding: (0) present, (1) absent.
- A82. Occipital profile: (0) low and wide, (1) high and wide, (2) high and narrow.
- A83. Supraoccipital: (0) absent, (1) present.
- A84. Occipital condyle: (0) concave, (1) convex.
- A85. Occipital condyle: (0) single, with basioccipital, (1) double.
- A86. Jugular foramen: (0) between opisthotic and exoccipital, (1) through exoccipital.
- A87. Jaw articulation: (0) posterior to occiput, (1) even with occiput, (2) anterior to occiput, (3) far anterior (>20% BSL).
- A88. Internal nares: (0) widely separated, (1) narrowly separated.
- A89. Palatal teeth: (0) present, (1) absent.
- A90. Palatine teeth: (0) single pit-pairs, (1) multiple in rows, (2) multiple random.
- A91. LEP: (0) absent, (1) present.
- A93. Vomerine teeth: (0) present, (1) absent.

- A95. Intervomerine depression: (0) absent, (1) present.
- A97. Denticles on pterygoid: (0) present, (1) absent.
- A98. Teeth on pterygoid: (0) absent, (1) present.
- A99. Tooth pedicely: (0) absent, (1) present.
- A100. Denticles on vomers: (0) present, (1) absent.
- A102. Denticles on parasphenoid: (0) present, (1) absent.
- A103. Palatal teeth: (0) larger than marginals, (1) equal to marginal's, (2) smaller than marginals.
- A104. Parasphenoid: (0) medial of stapes, (1) under footplate of stapes.
- A105. Parasphenoid basal plate: (0) roughly quadrangular, basiptyergoid articulations narrowly spaced, (1) rectangular laterally, anteroposteriorly narrow, basiptyergoid articulations distant.
- A111. Dorsal process of stapes: (0) absent, (1) present.
- A112. Accessory ossicle in middle ear: (0) absent, (1) present.
- A114. Sphenethmoid: (0) ossified, (1) unossified.
- A116. Pterygoids contact anteriorly: (0) present, (1) absent.
- A117. Pterygoid-exoccipital contact: (0) absent, (1) present.
- A119. Pterygoid-vomer contact: (0) present, (1) absent.
- A120. Lateral process of pterygoid contribution to posttemporal fossa: (0) absent, (1) present.
- A123. Pharyngeobranchial pouches: (0) absent, (1) present.
- A124. Dentary: (0) long, (1) short.
- A125. Dentary forms coronoid process: (0) absent, (1) present.
- A126. Surangular: (0) normal, (1) reduced, (2) absent.
- A129. Splenial exposed laterally: (0) present, (1) absent.
- A130. Meckelian fossae: (0) 2 or more, (1) 1, (2) 0.
- A134. Articulation to tooth row: (0) above, (1) equal, (2) below.
- A136. Number of coronoids: (0) 3, (1) 2, (2) 1, (3) 0.
- A140. Jaw sculpture: (0) present, (1) absent.
- A142. Gill osteoderms: (0) absent, (1) present, noninterdigitating, (2) toothed, interdigitating rakers.
- A144. Number of accessory articulation: (0) 0, (1) 1, (2) 2 or more.
- A146. Vertebral development: (0) arches, then centra, (1) centra and arches simultaneously.
- A147. Caudal processes between depression: (0) absent, (1) present.
- A149. Trunk neural arch to centrum: (0) loosely articulated, (1) sutured, (2) fused.
- A151. Height of neural spines: (0) even, (1) alternating.
- A152. Dorsal neural spine: (0) narrow and smooth, (1) laterally broad and sculpted.

- A153. Neural spine shape (lat): (0) ant-post sides parallel (rect), (1) non-parallel (triangular).
- A154. Neural spine lateral surface: (0) smooth, (1) crenulated.
- A155. Pleurocentra: (0) paired rhachitomous, (1) closely approaching ventrally, (2) fused, dominant weight bearing element.
- A163. Trunk arches: (0) paired, (1) fused.
- A166. Transverse process: (0) on arch pedicle, (1) on centrum.
- A168. Atlas anterior centrum: (0) same size as posterior, (1) laterally expanded.
- A170. Atlas neural arch: (0) loosely articulated, (1) sutured to centrum, (2) fused to centrum.
- A171. Atlas parapophyses: (0) on centrum, (1) on transverse process, (2) absent.
- A172. Atlas neural arch: (0) paired, (1) sutured at midline, (2) fused at midline.
- A173. Atlas accessory articulation: (0) absent, (1) zygosphenes, (2) zygantra.
- A174. Proatlantes: (0) present, (1) absent.
- A175. Second cervical arch: (0) expanded to more posterior, (1) equal to more posterior, (2) shorter than more posterior.
- A176. Atlas ribs: (0) one pair, (1) two pairs, (2) absent.
- A178. Ribs anterior to sacrum: (0) short, (1) long.
- A180. Costal process at rib head: (0) absent, (1) present.

Apêndice 4: Informações sobre as extrações realizadas neste estudo, onde: “SIM” = extração e sequenciamentos obtidos com sucesso; “-” = não extraídos e/ou não sequenciados, ou com falha durante o processo.

Código extração	Táxon	Código original (tecido)	16S	COI	RAG1	NCX1	CXCR4	SLC8A3
CC01	<i>Siphonops paulensis</i>	UFRGST.2295	SIM	-	SIM	SIM*	SIM*	SIM*
CC02	<i>Siphonops paulensis</i>	UFRGST.2229	SIM**	-	-	-	-	-
CC05	<i>Chthonerpeton indistinctum</i>	UFRGST.1154	-	-	SIM	SIM	SIM	SIM
CC06	<i>Chthonerpeton indistinctum</i>	UFRGST.1642	SIM*	-	-	-	SIM**	-
CC08	<i>Caecilia</i> sp.	MNCN/ADN: 63134	SIM	-	SIM	SIM	SIM	SIM
CC09	<i>Epicrionops</i> sp.	MNCN/ADN: 47765	SIM	-	SIM	SIM	-	SIM
CC10	<i>Typhlonectes compressicauda</i>	MNCN/ADN: 46898	B	B	SIM	SIM	SIM	SIM
CC11	<i>Microcaecilia rabei</i>	MNCN/ADN: 48024	B	B	SIM	SIM	-	SIM
CC12	<i>Osaecilia</i> sp.	MNCN/ADN: 62845	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
CC13	<i>Potamotyphlus kaupii</i>	MHNLS 20612	SIM*	-	SIM	SIM	SIM	SIM
CC14	<i>Potamotyphlus kaupii</i>	MHNLS 20613	SIM*	-	-	-	-	-
CC15	<i>Potamotyphlus kaupii</i>	MHNLS 20616	SIM*	-	-	-	-	-
CC16	<i>Potamotyphlus kaupii</i>	MHNLS 20617	SIM*	-	-	-	-	-

B - Sequenciamento anteriormente realizado por Castroviejo-Fisher e depositado no BoldSystems (<http://www.boldsystems.org/>).

*Foi realizado o sequenciamento, mas as sequências não foram utilizadas devido à existência de sequências maiores (correspondentes à espécie e gene em questão) disponíveis no GenBank.

** Foi realizado o sequenciamento, mas não foi utilizado no estudo devido à existência de sequências iguais referentes a outras amostras—CC02 (16S) e CC05(CXCR4).

Apêndice 5: Lista dos primers utilizados para cada gene, com suas respectivas sequências, sentido, referência e número de pares de base. “*”e “**” representam as combinações de primers (*F com *R e **F com **R).

Gene	Nome do Primer	Sequência	Sentido	Referência	Nº pb
16S	*16SFb	GTTAMCCCDACAYAGGAVYG	Forward	Este estudo	550
16S	*16SRb	GCGCTGTTATCCCYAGGGTA	Reverse	Este estudo	550
16S	**f16_F	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	Forward	Palumbi (1996)	500
16S	**16SBr-H	CCGGTCTGAACTCAGATCACG	Reverse	Palumbi (1996)	500
CXCR-4	CXCR-4 F	CAGRTTGCATCTCTCVGTRGC	Forward	Este estudo	600
CXCR-4	CXCR-4 R	GCTTCCGTAATGGAGATCCA	Reverse	Este estudo	600
SLC8A3	*SLC8A3 F	CCATAGAAGTCATCACATCRC	Forward	Este estudo	550
SLC8A3	**SLC8A3 Fb	GACAAGCATAGAGGAATTAT	Forward	Este estudo	550
SLC8A3	**SLC8A3 R	TKATCCCAACTGAGAAMTCC	Reverse	Este estudo	550
SLC8A3	*SLC8A3 Ra	TTGCCATCCATTTCAATYCC	Reverse	Este estudo	550
NCX1	*NCX1 F	GTGTCTATYATAGCWGATCG	Forward	Este estudo	600
NCX1	**NCX1 F1	GAAATGGATGGAAAGGTRGT	Forward	Este estudo	600
NCX1	*NCX1 R	TGYTCCATTTCTTGTCAGG	Reverse	Este estudo	600
NCX1	**NCX1 R1	ACTGTGGCAGTRCMRGGYGA	Reverse	Este estudo	600
COI	Amp-P3 F	CAATACCAAACCCCTTRTTYGTWTGATC	Forward	San Mauro <i>et al.</i> (2004)	900
COI	Amp-P3 R	GCTTCTCARATAATAAATATYAT	Reverse	San Mauro <i>et al.</i> (2004)	900
RAG-1	*Amp-RAG1 F	AGCTGCAGYCARTACCAYAARATGTA	Forward	San Mauro <i>et al.</i> (2004)	1500
RAG-1	**Amp-RAG1 F1	ACAGGATATGATGARAAGCTTGT	Forward	San Mauro <i>et al.</i> (2004)	1500
RAG-1	*Amp-RAG1 R1	AACTCAGCTGCATTKCCAATRTCACA	Reverse	San Mauro <i>et al.</i> (2004)	1500
RAG-1	**Amp-RAG1 R	TTRGATGTGTAGAGCCAGTGGTGYTT	Reverse	San Mauro <i>et al.</i> (2004)	1500

Apêndice 6: Ciclos de amplificação utilizados neste estudo para os primers mencionados. As etapas 2, 3 e 4 tiveram 35 repetições.

16S			COI			Nucleares		
Etapa	Temp. (°C)	Tempo (m:s)	Etapa	Temp. (°C)	Tempo (m:s)	Etapa	Temp. (°C)	Tempo (m:s)
1	95	15:00	1	95	15:00	1	95	15:00
2c	94	00:30	2c	94	00:30	2c	94	00:30
3c	50	00:30	3c	48	00:30	3c	52	00:35
4c	72	01:00	4c	72	01:30	4c	72	02:00
5	72	10:00	5	72	10:00	5	72	10:00
6	0,4	10:00	6	0,4	10:00	6	10	10:00