

MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA DE *Liotyphlops albirostris* S.L. (ANOMALEPIDIDAE: SCOLECOPHIDIA: SERPENTES: SQUAMATA)

Camilo Andrés Linares Vargas

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.

Correo electrónico: camilo.linares@correounivalle.edu.co

Juan Diego Daza Vaca

Sam Houston State University, Hunstville, TX, 77341, USA.

Correo electrónico: juand.daza@gmail.com

Yherson Franchesco Molina Henao

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.

Correo electrónico: yherson.molina@correounivalle.edu.co

RESUMEN

La familia Anomalepididae incluye serpientes neotropicales de tamaño pequeño con estilo de vida edáfico. Esta familia se distribuye desde Honduras hasta el norte de Argentina y Paraguay. El género *Liotyphlops* es el más diverso de la familia Anomalepididae. Este género se caracteriza externamente por tener una escama rostral grande que contacta la escama frontal, cuyo contacto evita que las escamas prefrontales se unan en el dorso de la cabeza. Recientemente tres especies que habían sido sinonimizadas con *Liotyphlops albirostris* fueron revalidadas usando datos de escamación, osteología y modelos de distribución potencial. En este trabajo se implementan métodos tradicionales de morfometría geométrica, usando fotografías de las escamas cefálicas (2D) y tomografías computarizadas del cráneo (3D), para cuantificar la variación dentro de estas cuatro especies. En ambos análisis se usaron puntos de referencia y semipuntos de referencia y mallas de superficie (en los modelos craneales). Los datos obtenidos se analizaron usando superposición de procrustes, análisis de componentes principales y ANOVA de procrustes. Las diferencias detectadas apoyan los caracteres cualitativos identificados previamente para escamas y cráneo, relacionados con la forma y extensión de escamas dorsales y regiones craneales. Estos análisis refuerzan la hipótesis de que las poblaciones de Panamá, Colombia y Venezuela (y probablemente Ecuador) representan especies diferentes respectivamente. Este sería el primer estudio donde se emplea la morfometría geométrica 2D y 3D en algún miembro de la familia Anomalepididae.

Palabras clave: Anova-Procrustes, cráneo, componentes principales, escamas cefálicas, Procrustes, puntos de referencia, semipuntos de referencia, tomografías computarizadas.

ABSTRACT

The family Anomalepididae includes small neotropical snakes with an edaphic lifestyle. This family is distributed from Honduras to northern Argentina and Paraguay. The genus *Liotyphlops* is the most diverse of the family Anomalepididae. This genus is characterized externally by having a large rostral scale that contacts the frontal scale, which contact prevents the prefrontal scales from joining on the dorsum of the head. Recently three species that had been synonymized with *Liotyphlops albirostris* were revalidated using scale data, osteology, and potential distribution models. In this paper we implement traditional geometric morphometric methods, using photographs of cephalic scales (2D) and cranial CT scans (3D), to quantify variation within these four species. In both analyses, landmarks and semilandmarks, and surface meshes (in the cranial models) were used. The data obtained will be analyzed using procrustes overlap, principal component analysis, and procrustes ANOVA. The differences detected support the qualitative characters previously identified for scales and skull, related to the shape and extent of dorsal scales and cranial regions. These analyses reinforce the hypothesis that the populations of Panama, Colombia, and Venezuela (and probably Ecuador) represent different species. This would be the first study using 2D and 3D geometric morphometrics in any member of the family Anomalepididae.

Keywords: Anova-Procrustes, cephalic scales, CT-Scans, landmarks, principal components, Procrustes, semilandmarks, skull.

INTRODUCCIÓN

La familia Anomalepididae Taylor 1939 es un grupo de serpientes neotropicales distribuidas desde Honduras hasta el norte de Argentina y Paraguay (Dixon y Kofron, 1983; Savage, 2002, Antúnuez *et al.*, 2022). Estas serpientes son de tamaño pequeño con estilo de hábitos edáficos, las cuales desarrollan un estilo de vida críptico. La familia Anomalepididae está conformada por cuatro géneros: *Anomalepis* Jan 1860 con cuatro especies; *Helmintophis* Peters 1860 con tres especies; *Typhlophis* Fitzinger 1843 con una especie; *Liotyphlops* Peters 1881, el más diverso de la familia, con 13 especies (Uetz, 2022). El género *Liotyphlops* está distribuido en Centroamérica y Suramérica, desde Honduras hasta Argentina y Paraguay; la especie tipo del género es *Liotyphlops albirostris* Peters (1881) y la localidad tipo se encuentra en Panamá (Wallach *et al.*, 2014). Los miembros de este género se caracterizan por una escama rostral grande y distinguible en contacto con la escama frontal, evitando el contacto entre las escamas prefrontales en vista dorsal, con un intervalo de longitud total de 70-140 mm (Peters y Orejas-Miranda, 1970; Dixon y Kofron, 1983; Natera Mumaw *et al.*, 2015) y osteológicamente se caracteriza por tener una maxila movable y suspendida del prefrontal, con un proceso ascendente de la maxila ligeramente bifurcado dorsalmente, así como el extremo del prefrontal con cada elemento abrazando el otro (Haas, 1964; Rieppel *et al.*, 2009).

En las últimas cuatro décadas se han realizado algunas revisiones taxonómicas del género *Liotyphlops*. La primera revisión fue realizada por Dixon y Kofron (1983) a partir de características externas donde redujeron 12 especies previamente descritas a cinco, sinonimizando *L. petersii* Boulenger 1889 (Ecuador), *L. canellei* MocQuard 1903 (Panamá), *L. bondensis* Griffin 1916 (Colombia), *L. cucutae* Dunn 1944 (Colombia), *L. caracasensis* Roze 1952 (Venezuela) y *L. rowani* Smith y Grant 1958 (Panamá) dentro de *Liotyphlops albirostris*. Dixon y Kofron (1983)

también revalidaron *L. anops* que estaba como sinónimo de *L. metae* y describieron una nueva especie denominada *L. argaleus*, dejando como resultado siete especies para el género *Liotyphlops* (*L. albirostris*, *L. anops*, *L. argaleus*, *L. beui*, *L. schubarti*, *L. ternetzii* y *L. wilderi*) (Linares *et al.*, 2021). En estudios posteriores y usando principalmente morfología externa y conteo de escamas, el número de taxones descritos para el género aumentó. Las especies que han sido descritas recientemente incluyen *L. trefauti* (Freire Xavier, Caramaschi y Argolo Suzart, 2007) para Brasil, *L. haadi* (Haad Silva, Franco y Maldonado, 2008) para la Amazonia, *L. caissara* (Centeno, Sawaya y Germano, 2010) para Brasil, *L. sousai* y *L. taylori* donde además de morfología y conteo de escamas, utilizaron imágenes de tomografía computarizada de los cráneos (Santos y Reis, 2018) en Brasil, y así mismo fue la descripción de *L. paulophis* a partir de un sintipo de *L. anops* en Colombia (Santos, 2023a). La revisión taxonómica realizada por Linares-Vargas *et al.* (2021), además de datos de escamas y osteología craneal, utilizó modelamiento de distribución potencial y propuso la revalidación de las especies *L. bondensis*, *L. caracasensis* y *L. petersi*. Recientemente fue sinonimizado *L. sousai* dentro de *L. beui* a partir de evidencia morfológica (escamación y osteología), caracteres merísticos, moleculares y modelamientos de distribución potencial en las poblaciones del Sureste Suramericano (Entiauspe-Neto *et al.*, 2023). Como en otros trabajos taxonómicos de serpientes ciegas (Scolophophidia), es común que las especies con grandes rangos de distribución correspondan a varios linajes (Hedges y Thomas, 1991; Thomas y Hedges, 2007; Ellis, 2016).

En este trabajo se usa la propuesta de Linares-Vargas *et al.*, (2021), donde se revisó la variación morfológica de *L. albirostris* (Dixon y Kofron, 1983; Mijarres-Urrutia y Arends, 2000; La Marca y Soriano, 2004; Santos, 2018) y donde se propuso restablecer las especies sinonimizadas por Dixon y Kofron (1983) usando las proporciones y configuraciones de las escamas cefálicas. En

esta propuesta entonces *Liotyphlops albirostris* se restringe a las poblaciones de Panamá y Costa Rica, *L. bondensis* con dos poblaciones propuestas como subespecies, una para el norte Colombia o región Caribe (*L. b. bondensis*) y otra para la región andina (*L. b. armandoi*), *L. petersi* para Ecuador, y *L. caracasensis* para Venezuela. *L. cucutae* no fué revalidada. Esta propuesta también usó modelos de distribución potencial, donde no se encontró solapamiento entre los rangos potenciales. Para las diagnósis propuestas de cada especie (*L. albirostris*, *L. bondensis*, *L. caracasensis* y *L. petersii*) ver Linares-Vargas *et al.* (2021).

Linares-Vargas *et al.* (2021) también propusieron caracteres osteológicos usando cráneos de individuos de *L. albirostris* y de *L. bondensis* de Colombia: el hueso coronoides con borde anterior redondeado y la eminencia en punta en *L. albirostris*, mientras que el borde anterior del coronoides con forma de ángulo y la eminencia en forma de garra en *L. bondensis*.

Este trabajo tiene como objetivo evaluar de manera cuantitativa las hipótesis morfológicas planteadas en Linares-Vargas *et al.* (2021). Se explora en detalle los cambios en la forma del cráneo y las escamas utilizando morfometría geométrica tradicional (Kendall, 1977; Bookstein, 1996), se considera el espacio geométrico y se emplean métodos estadísticos multivariados (Zelditch *et al.*, 2012). En los análisis se usan *landmarks* (puntos de referencia), *semilandmarks* (semipuntos de referencia) o contornos y la localización geométrica, los cuales se asumen que tienen correspondencia topológica ya sea en dos o tres dimensiones (Bookstein, 1986; Zelditch *et al.*, 2012).

Existen varios casos donde la morfometría geométrica en dos dimensiones (2D) se ha usado para cuantificar la variación morfológica en Squamata y asociarla con algún aspecto ecológico, evolutivo o taxonómico. Por ejemplo, en geckos se utilizaron como descriptores de las variables

de forma del cráneo algunas categorías dietarias junto con las afinidades filogenéticas entre los géneros (Daza *et al.*, 2009). Para escamas cefálicas, dado que son de uso taxonómico frecuente, existen también algunos ejemplos. El primer caso es en el complejo de especies *Crotalus viridis*, donde utilizaron morfometría geométrica y análisis de genes mitocondriales separando dos linajes: uno del este con dos subespecies y otro del oeste con siete subespecies (Davis *et al.*, 2016). El segundo caso es en seis especies del género *Lampropeltis*, delimitadas únicamente por información molecular hasta el momento del estudio y en este caso se delimitan fenotípicamente las especies marcando puntos de referencia en las intersecciones de las escamas cefálicas (Ruane, 2015). El tercer caso corresponde al único trabajo, hasta el momento, donde se ha empleado la metodología de morfometría geométrica marcando puntos de referencia en escamas de algún miembro de *Scolecophidia*. Este caso evaluó diferentes poblaciones de *Xerotyphlops vermicularis* (Typhlopidae) utilizando evidencia morfológica, serológica, ecológica y de coloración. La morfometría geométrica no captó variación intrapoblacional pero si interpoblacional en este caso (Akman y Göçmen, 2019).

Adicionalmente, mediante el uso de tomografías computarizadas, se han podido hacer análisis de morfometría geométrica en tres dimensiones (3D). Esta metodología 3D ha permitido aumentar la resolución y la especialización de los análisis para probar hipótesis biológicas (Adams *et al.*, 2013). Algunos ejemplos han planteado hipótesis evolutivas sobre cuáles son los motores primarios en la evolución en *Squamata* (Watanabe *et al.*, 2019). Por ejemplo, en *Pygopodidos* (geckos con reducción de patas) se asoció la variación de la forma del cráneo con la dieta y el hábitat (Gurgis *et al.*, 2021). También se han planteado hipótesis del origen de las serpientes a partir del análisis del oído medio (Palci *et al.*, 2017). Por otro lado, se ha probado dimorfismo sexual en cráneos de *Xenodon neuwiedii* (Murta-Fonseca *et al.*, 2019) y se ha identificado variación intraespecífica en

la especie de serpiente *Rhinophis philippinus* (Huntley *et al.*, 2021). Adicionalmente, se han utilizado cráneos de serpientes como modelo para comparar el efecto de dos técnicas, fotografías del cráneo en seco o imágenes de tomografías computarizadas (Souto *et al.*, 2019).

Por lo tanto, teniendo en cuenta la variabilidad morfológica que tienen las serpientes ciegas del género *Liotyphlops* (Linares-Vargas *et al.*, 2021), el presente trabajo pretende cuantificar la forma de las escamas y del cráneo, utilizando morfometría geométrica 2D y 3D respectivamente, con el objetivo de establecer diferencias entre las especies del género a partir de su forma. Este trabajo es el primero que realiza este tipo de análisis en algún grupo de culebras ciegas.

METODOS

Nomenclatura morfológica

Se utilizó la nomenclatura de las escamas cefálicas utilizadas por Dixon y Kofron (1983), Savage (2002), Freire *et al.* (2007), Haad *et al.* (2008), Centeno *et al.* (2010), Santos (2023b). Sin embargo, se optó por utilizar escama ocular y preocular, debido a que el ojo es visible en estas especies (Linares *et al.*, 2021). Para la terminología osteológica se siguió la utilizada por Cundall y Irish (2008), Rieppel *et al.* (2009) y Santos (2018).

Adquisición de ejemplares y datos morfológicos para el análisis en dos dimensiones (2D)

Se tomaron fotografías en vista dorsal y lateral con la respectiva escala de la región cefálica de ejemplares de *Liotyphlops albirostris* s.s (n=8), *Liotyphlops bondensis* (n=37), *Liotyphlops caracasensis* (n=5) y *Liotyphlops petersi* (n=3) depositados en colecciones biológicas nacionales e internacionales (apéndice 1). Las fotografías se obtuvieron bajo estereoscopio Leica EZ4 W con una cámara integrada de 5 MP y un Microscopio Digital Keyence VHX-7000. Se tuvo en cuenta

el estado de cada ejemplar, de tal forma que sean diferenciables las escamas cefálicas en cada una de las vistas para poder marcar con precisión los puntos de referencia y semipuntos de referencia, como también la información de localidad adjunta, para que pueda ser comparado con la distribución actual propuesta para cada una de las especies (apéndice 1).

Adquisición de ejemplares y datos morfológicos para el análisis en tres dimensiones (3D)

A partir de dos especímenes disponibles y digitalizados en la página de Morphosource (www.morphosource.org) y de trece ejemplares depositados en museos de historia natural en Estados Unidos (apéndice 1), se realizó la solicitud de préstamo de las especies catalogadas como *L. albirostris* s.s (n=5), *L. bondensis* (n=7), *L. caracasensis* (n=3). No existen ejemplares disponibles para *L. petersi*. Las imágenes de microtomografías computarizadas se obtuvieron en las instalaciones de la Universidad de Texas en Austin UTCT (apéndice 1).

Obtención de puntos y semipuntos en dos dimensiones (2D)

En cada una de las fotos tomadas se marcaron 12 puntos de referencia en la vista dorsal, ocho puntos tipo I y cuatro tipos II según la clasificación de Bookstein, (1992) y cinco semipuntos de referencia (Bookstein, 1997) o conjuntos de puntos distribuidos uniformemente a lo largo de una superficie, en este caso captando el borde de las escamas cefálicas de interés (Fig. 1, Tabla 1). En la vista lateral se utilizaron el mismo número de puntos de referencia, pero solo uno es tipo II, como también cinco semipuntos de referencia (Fig. 1, Tabla 2). Esto se realizó utilizando los softwares tpsUtil32 y tpsDIG2 (Rohlf, 2017). El set de coordenadas se exportó en formato TPS.

Obtención de puntos, semipuntos y mallas de puntos en tres dimensiones (3D)

El software Avizo 2019.1 (ThermoFisher Scientific) se utilizó para crear modelos en tres dimensiones del cráneo, sin incluir los elementos móviles (mandíbula, ectopterigoides, pterigoides

y palatinos). Los modelos se exportaron en el formato de polígonos o formato de triángulos de Stanford (ply por sus siglas en inglés). Estos modelos se importaron en el programa Stratovan Checkpoint (2023.05.30.0438) para marcar puntos de referencia, semipuntos de referencia y mallas de puntos de referencia, tratando de cubrir la mayor superficie posible del cráneo en cada una de sus caras (Tabla 3). De igual forma, se segmentó el hueso coronoides izquierdo de la mandíbula para cada individuo, marcando una sola curva sobre el borde medial (Tabla 4). Finalmente, el set de datos de coordenadas se exportó en formato morphologik y luego transformado en formato TPS.

Análisis de datos

Cada conjunto de datos (2D y 3D) se analizó utilizando el paquete estadístico Geomorph (Adams y Otárola-Castillo, 2013) en el entorno de programación R (R Core Team, 2021). Para cada conjunto de datos se realizó análisis de superposición de Procrustes, removiendo el efecto del tamaño, traslación y orientación; de tal forma que los cambios observados sean atribuidos a la forma y puedan ser cuantificados, sin embargo, el tamaño del centroide fue utilizado igualmente para identificar las diferencias del tamaño de la configuración de la forma entre los individuos (Zelditch *et al.*, 2012; Klingenberg, 2013). Posteriormente, se realizó una ANOVA-Procrustes con la función “procD.lm” para identificar si existen diferencias estadísticamente significativas de la forma y el tamaño del centroide de las especies propuestas, utilizando los siguientes modelos:

1. Coordenadas~especies (forma)
2. Tamaño del centroide~especies (tamaño de la estructura)

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con las coordenadas de Procrustes usando la función “gm.prcomp”. Se visualizó el morfoespacio permitiendo cuantificar las diferencias morfológicas entre los individuos y agrupar los individuos utilizando la función “shapeHulls”. Después de identificar las agrupaciones, se calculó la forma consenso de todos los individuos y de

cada especie con la función “mshape”, luego con la función “plotRefToTarget” se graficó la diferencia de la forma consenso de las especies con respecto a la forma consenso de todos los individuos, de tal forma que se tiene el mismo punto de referencia para establecer las diferencias entre las especies.

*Comentarios del ejemplar de *Liotyphlops petersii**

En el caso del holotipo de *L. petersii* (NHM 1946.1.11.46) teniendo en cuenta la dificultad para fotografiar estos individuos, la antigüedad del holotipo, la poca visibilidad de las escamas por deshidratación y la inclinación del ejemplar en la fotografía, existe incertidumbre en la ubicación de este individuo en el morfoespacio. Aunque se decidió incluir a *L. petersii* en los análisis (Fig. 2), en el apéndice 2 se observa el mismo PCA sin este ejemplar, para identificar que tanto cambia el morfoespacio con un individuo. También se realizó la primera ilustración de este ejemplar donde se puede diferenciar la escama rostral, las prefrontales y la escama frontal en vista dorsal; y las escamas nasales, supralabiales, ocular y la primera hilera de escamas en la vista lateral (Fig. 3), siendo estas las más utilizadas en la taxonomía de este grupo (Santos, 2023b).

RESULTADOS

Análisis de morfología geométrica en 2D

Vista dorsal

El PCA de las coordenadas de Procrustes sugiere diferenciación para la vista dorsal en la forma de las escamas cefálicas entre las especies de *Liotyphlops* (Fig. 2a-c). Esta diferenciación es corroborada por el ANOVA-Procrustes ($p=0.001$; Tabla 5).

Estas diferencias también se identificaron por medio de los vectores de cambio de la forma, lográndose visualizar que la mayoría de los cambios son en la escama rostral y en el borde posterior de la escama frontal (Fig. 4). En este sentido, *L. albirostris* tiene la escama rostral expandida en el plano horizontal en la parte anterior, donde el ancho va curvándose posteromedialmente, desarrollando una forma redonda con respecto a la forma consenso. El borde posterior de la escama frontal de *L. albirostris* es más curvo con respecto a la forma consenso, haciendo que esta escama se haga más larga que en las otras especies (Fig. 4a). En el caso de *L. bondensis*, la forma de las escamas rostral y frontal, son más similares a la forma consenso, diferenciándose únicamente por una leve extensión lateral en el borde anterior entre las narinas (Fig. 4b). En *L. caracasensis*, la escama rostral es más angosta en la región anterior con respecto a la forma consenso, dándole una apariencia espatulada (Fig. 4c). Por último, *L. petersii* tiene la escama rostral angosta en la parte posterior y tiende a alargarse posteriormente con respecto a la forma consenso; el borde posterior de la escama frontal está expandido posteriormente en la región medial con respecto a la forma consenso y el borde posterior de las escamas prefrontales se curva anteriormente a partir de la mitad del borde posterior hacia los extremos (Fig. 4d).

Vista lateral

El PCA de las coordenadas de Procrustes sugiere una diferenciación para la vista lateral de la forma de las escamas cefálicas entre las especies *L. bondensis*, *L. caracasensis* y *L. petersii*; sin embargo, *L. albirostris* comparte gran parte del morfoespacio con las especies previamente mencionadas (Fig. 2d-f). Esta diferenciación de la forma, como también del tamaño del centroide (Fig. 5b), son corroboradas por el ANOVA-Procrustes ($p=0.001$ y $p=0.033$ respectivamente; Tabla 5).

En cuanto a los cambios de la forma, *L. bondensis* no se diferencia de la forma consenso (Fig. 4f). Por otro lado, *L. caracasensis* se diferencia por el borde anterior del rostro proyectado

anteriormente otorgando una forma del rostro más puntiagudo con respecto a la forma consenso. La posición de las narinas *L. caracasensis* se desplaza anteriormente con respecto a la forma consenso. La tercera escama de la primera hilera vertical o preocular superior se encuentra en posición anterior a la forma consenso y, así mismo, la posición del ojo (Fig. 4g). En el caso de *L. petersii*, se puede visualizar el efecto de la inclinación del ejemplar a la hora de tomar la fotografía por la intensidad de los vectores de cambio en el borde anterior del rostro, sin embargo, la expansión posterior de la tercera supralabial con respecto a la forma consenso se puede visualizar en la ilustración del ejemplar (Fig. 4h y Fig. 3).

Análisis de morfología geométrica en 3D

Cráneo

Los cráneos de las especies *L. albirostris*, *L. bodensis* y *L. caracasensis* se diferencian en forma y tamaño. El PCA de las coordenadas de Procrustes sugiere diferenciación para la forma del cráneo (Fig. 6a-c). Esta diferenciación de la forma, además del tamaño, es corroborada por el ANOVA-Procrustes ($p=0.002$ y $p=0.017$ respectivamente; Tabla 5). *L. albirostris* presenta el menor tamaño del centroide (Fig. 5c). Estas diferencias se describen a continuación por cada malla de superficie colocada en cada hueso, comparando la forma consenso de las especies con respecto a la forma consenso de todos los individuos (puntos negros) (Fig. 7).

Nasal: En *L. albirostris* la nube de puntos encima del hueso nasal sobresale de la forma consenso, desde la parte media del hueso hasta el borde posterior. En *L. bodensis*, la nube de puntos del nasal está por debajo de la configuración promedio desde la parte media hasta borde posterior, mientras que la parte anterior del nasal, sobresale la forma consenso. En *L. caracasensis* la nube de puntos sobre el nasal se extiende hacia los márgenes de la forma consenso, otorgando la apariencia de un hueso nasal más ancho y en la región anteroventral está por encima de la forma

consenso, pero en el resto de superficie del hueso nasal se encuentra al mismo nivel de la forma consenso.

Borde dorsal premaxila: En *L. albirostris* está por debajo de la forma consenso, en *L. bondensis* está por encima, y en *L. caracasensis* se encuentra por encima y en posición anterior a la forma consenso.

Septomaxilas: *L. albirostris* tiene la región del vómer más amplia al tener los bordes mediales más expandidos con respecto a la forma consenso, el borde posterior de las septomaxilas está por detrás de la forma consenso. En cambio, en *L. bondensis* la septomaxila se encuentra por delante de la forma consenso en la región posteroventral, por detrás de la forma consenso en la región anterior y con la región del vómer al mismo nivel que la forma consenso. Ahora, *L. caracasensis* en la región anterolateral está por encima de la forma consenso y el borde posterior está por debajo de la forma consenso, similar a *L. albirostris*, sin embargo, la región del vómer esta reducida con respecto a la forma consenso.

Bordes laterales huesos frontales: En *L. albirostris* y *L. bondensis* los bordes laterales del hueso frontal están por debajo de la forma consenso, a diferencia de *L. caracasensis* que está por encima a la forma consenso.

Parietales: *L. albirostris* tiene la región dorsal de los parietales por encima de la forma consenso a diferencia de las otras dos especies. *L. bondensis* está por debajo de la forma consenso en todas las regiones de los parietales y *L. caracasensis* está por encima de la forma consenso en la región lateral.

Basiesfenoides: *L. albirostris* y *L. caracasensis* tienen el basiesfenoides por debajo de la forma consenso, a diferencia de *L. bondensis* que tiene la malla de puntos por encima de la forma consenso. Sin embargo, en *L. albirostris* la expansión es en toda la superficie a diferencia de *L. caracasensis* que la expansión es en la región posterior.

Basioccipital: *L. albirostris* y *L. caracasensis* comparten que la malla de puntos del basioccipital está por debajo de la forma consenso, a diferencia de *L. bondensis* que está por encima.

Borde posterior complejo ótico-occipital: *L. bondensis* presenta este borde anterior a la forma consenso, en cambio *L. albirostris* y *L. caracasensis* tienen el borde posterior a la forma consenso, pero *L. caracasensis* a diferencia de *L. albirostris* tiene las esquinas inferiores por debajo de la forma consenso.

Coronoides: Aunque las deformaciones de la forma promedio del coronoides por cada especie de *Liotyphlops* con respecto a la forma consenso (Fig. 8) y el PCA de las coordenadas de Procrustes (Fig. 6d-f) parecen sugerir diferencias, esta diferenciación no es corroborada estadísticamente por el ANOVA-Procrustes ($p=0.116$; Tabla 5). Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas en el tamaño de coronoides (ANOVA-Procrustes $p=0.004$; Tabla 5). *L. albirostris* presenta un menor tamaño con respecto a *L. bondensis* y *L. caracasensis* (Fig. 5d).

En *L. albirostris* el borde anterior es más redondeado con respecto a la forma consenso y la base del coronoides más amplia debido al ángulo en la base del borde anterior (Fig. 8a). En *L. bondensis* la base del coronoides no se diferencia de la forma consenso, pero [YM1]el borde anterior forma un ángulo más cerrado con respecto a la forma consenso y el borde posterior con menor curvatura con respecto a la forma consenso (Fig. 8b). Por último, *L. caracasensis* presenta una base reducida

con respecto a la forma consenso, el borde anterior es más pronunciado formando un ángulo cercano a los 90° y el borde posterior es más curvo con respecto a la forma consenso (Fig. 8c).

DISCUSIÓN

La forma de las escamas rostral, frontal y prefrontales es diferente entre *L. albirostris*, *L. bondensis*, *L. caracasensis* y *L. petersii*. Se soportan, mediante la morfometría geométrica los caracteres diagnósticos propuestos por Linares-Vargas *et al.* (2021) para *L. bondensis* (la escama rostral y las prefrontales) y *L. albirostris* (caracteres que involucran la escama frontal y rostral). Sin embargo, aunque se diferencian en la forma de las escamas, las diagnosis para *L. caracasensis* y *L. petersii* deben replantearse. Las descripciones aquí presentadas no corresponden con las planteadas originalmente por Roze (1952) y Boulenger (1889) respectivamente (las cuales fueron utilizadas en la revalidación hecha por Linares-Vargas *et al.* (2021)). Por otro lado, la forma del cráneo [YM2][C3][YM4] y del hueso coronoides son diferenciables visualmente (y estadísticamente en el cráneo) entre *L. albirostris* s.s, *L. bondensis* y *L. caracasensis*, lo que permite diferenciar estas especies no solo por la foliosis como suele ser utilizado en escamados, sino también por su osteología. Por lo tanto, este estudio representa otro caso exitoso donde la morfometría geométrica complementa estudios de diferenciación de especies en escamados. Al mismo tiempo, este trabajo es el primero que utiliza morfometría geométrica en la familia Anomalepididae, el primero en utilizar semilandmarks en Scolecophidia y el primero en utilizar morfometría geométrica en escamas y cráneo para diferenciar especies de serpientes.

El número de muestras para este estudio fue relativamente bajo y el muestreo no fue balanceado entre especies, lo que aumenta la incertidumbre en los resultados estadísticos que operan principalmente con los promedios (Cardini y Elton 2007, Zeldich *et al.*, 2012). Estas limitantes se

presentaron debido a la dificultad para encontrar estas especies de la familia Anomalepididae en campo, la poca disponibilidad y accesibilidad al material depositado en las colecciones biológicas, la dificultad para fotografiar estos individuos en una misma posición y la accesibilidad a CT-Scans. Además, un reducido tamaño de muestra, como el caso de *L. albirostris*, *L. caracasensis* y *L. petersii*, reduce la capacidad de conocer la variación intraespecífica; sin embargo, en este trabajo se incluyeron en los análisis los holotipos de *L. albirostris* (Peters, 1858) (MCZ 3971), *L. b. armandoi* (Linares-Vargas *et al.*, 2021) (CPZ-UV 7288), *L. caracasensis* (Roze, 1952) (MLS 514) y de *L. petersii* (Boulenger, 1889) (NHM 1946.1.11.26); de tal manera que se tiene la forma tipo para cada especie. Entonces el tamaño de muestra y el solapamiento de unos puntos puede estar influyendo en el resultado de la Anova-Procrustes para el modelo de forma del hueso coronoides, donde son consideradas las formas como iguales estadísticamente aun cuando el PCA y los vectores de cambio muestran diferencias entre las especies.

En Linares *et al.* (2021) las especies *L. caracasensis* y *L. petersii* se revalidaron a partir de las descripciones originales de las especies y según los modelos de distribución potencial, sin embargo, el material referenciado para esas especies no fue revisado. Ahora, aunque este trabajo apoya la revalidación de *L. caracasensis* y *L. petersii* debido a las diferencias en la forma y tamaño de escamas cefálicas y osteología (en el caso de *L. caracasensis*) las descripciones originales para estas especies no corresponden con lo observado en los holotipos. A continuación, comentamos esas diferencias.

Comentarios sobre la taxonomía de Liotyphlops caracasensis (Roze 1952^[YM51]).

En la descripción del ejemplar tipo por Roze (1952) se plantea que la escama rostral es más ancha que la mitad de la cabeza, seguramente consideró el margen libre de la escama, pero este es muy variable entre individuos, de tal forma que se debe tener en cuenta son los límites epidérmicos de

las escamas. De tal forma que, por lo contrario, *L. caracasensis* tiene la escama rostral mucho más angosta con respecto a la descripción planteada por Roze (1952), y de hecho es más angosta en la parte anterior desde una vista dorsal con respecto a *L. albirostris*, *L. bondensis* y *L. petersii*. Roze 1952 menciona la ausencia de preoculares dada la posición del ojo en su ilustración, sin embargo, en la fotografía del holotipo (MLS 514) se puede diferenciar el ojo y su posición en la segunda hilera vertical de escamas, es decir, que si hay preoculares y la escama rostral no se extiende hasta el nivel de los ojos (Fig. 9). Posteriormente, Dixon y Kofron (1983) al revisar el material de Venezuela encontraron diferencias en los conteos de escamas de la población de Mérida con respecto al resto de individuos de Venezuela, de tal forma que lo denominaron *Liptyphlops cf. albirostris*. Aunque en este trabajo no se revisó material de la población de Mérida, acá se evidencia la diferencia de la población de Caracas con *L. bondensis*, *L. albirostris* y *L. petersii* a partir de la osteología utilizando la forma del cráneo y del hueso coronoides como criterio y la forma de las escamas cefálicas. Por último, es importante tener en cuenta las formas compartidas entre las especies, en este caso, la forma de los huesos basisfenoides y basioccipital es compartido entre *L. caracasensis* y *L. albirostris* (Tabla 6). De tal forma que cuando se genere la primera filogenia para la familia se ponga a prueba si estas formas se corresponden en el filomorfoespacio.

Comentarios sobre la taxonomía de Liptyphlops petersii (Boulenger 1889).

Dixon y Kofron (1983) revisaron el holotipo de *L. petersii* (BMH 1946.1.11.26) descrito por Boulenger (1889), el único espécimen de Ecuador del género *Liptyphlops*. Estos autores determinaron que el holotipo no correspondía con la descripción y lo sinonimizaron dentro de *L. albirostris* porque tenía la misma configuración de las escamas. Sin embargo, en el presente trabajo se volvió a revisar el holotipo y efectivamente no corresponde con la descripción de Boulenger (1889). La descripción original de Boulenger (1889) menciona que la escama rostral es la mitad

del ancho de la cabeza y que se extiende hasta el nivel de los ojos, sin embargo, puede que haya ocurrido lo mismo [YM6] que en *L. caracasensis* que incluyó dentro de la caracterización de la escama rostral el margen libre de la escama, cuando en realidad el ancho de la escama es mucho menor, además, la tercera escama supralabial no contacta la escama ocular debido a la presencia de una subocular y presubocular (Fig. 3). Sin embargo, al incluir este holotipo dentro de los análisis de la forma de las escamas, y teniendo en cuenta la posible incertidumbre debido a la leve inclinación del ejemplar en la fotografía y la deshidratación del material, explicado en los métodos, se encontró que las diferencias mencionadas de *L. petersii* con la forma consenso son distintas a las diferencias de *L. albirostris*, *L. bondensis* y *L. caracasensis* con la misma forma consenso. Además, si se compara el efecto de *L. petersii* sobre la configuración del morfoespacio, se puede observar que las diferencias entre *L. albirostris*, *L. bondensis* y *L. caracsensis* se mantienen (Fig. 2 y Apéndice 2). Por último, se revisaron dos ejemplares catalogados en museos como *L. petersii*, pero la foliosis de estos ejemplares es diferente con respecto al holotipo. El primer ejemplar QCAZ 3855 de Esmeraldas, Ecuador no tiene prefrontales, sino nasales que se extienden dorsalmente contactando la escama frontal, tiene una sola preocular en ambos lados de tal forma que solo tiene tres escamas en la primera hilera vertical, no tiene subocular sino una escama ocular grande con ojos en posición dorsal (Fig. 10a, b); siendo estas características propias de la familia Typhlopidae y del género *Amerotyphlops* para Sudamérica (Savage 2002, Grabroski *et al.*, 2022). Sin embargo, para Typhlopidae no se han registrado individuos en la región costera de Ecuador, de tal forma que este ejemplar tiene que ser revisado y comparado con otros especímenes de la familia Typhlopidae. El segundo ejemplar SMNS 2515 con distribución dudosa para Ecuador según la información del museo, si corresponde al género *Liotyphlops*, pero perteneciente al grupo de especies que tiene cinco escamas en la primera hilera vertical (Fig. 10c) (ej. *L. beui*, *L. schubarti*, *L. ternetzii*) (Dixon y Kofron 1983, Linares *et al.*, 2021) pero ninguna de estas especies ha sido registrada para Ecuador,

de tal forma que este ejemplar tiene que ser revisado con más detalle y tratar de rastrear su localidad. En conclusión, aunque hay un solo individuo de *L. petersii* (holotipo), este trabajo soporta la revalidación de *L. petersii* por Linares *et al.* (2021), debido a las diferencias en la forma de las escamas cefálicas con respecto a las otras especies pertenecientes a este grupo (*L. albirostris*, *L. bondensis* y *L. caracasensis*), pero de todas formas es necesario explorar la osteología de este ejemplar utilizando CT-Scans.

En conclusión, este trabajo representa el primer reporte del uso de puntos y semipuntos de referencia para estudiar la forma de las escamas y del cráneo en *Scolecophidia*. Además, se logra identificar que la forma es un rasgo que permite diferenciar especies del genero *Liotyphlops* y contribuye en la búsqueda de evidencia o cuantificando rasgos fenotípicos previamente descritos cualitativamente, especialmente en grupos con alta variación fenotípica como lo son este grupo de serpientes miniaturas.

Observaciones finales

Reconocemos y sugerimos la importancia de utilizar herramientas moleculares que den o no soporte a estas especies, como también identificar relaciones filogenéticas y explorar hipótesis biogeográficas; así mismo incluir la morfología hemipenial en este género que junto con técnicas citogenéticas se puedan discutir hipótesis sobre aislamiento reproductivo entre estas especies.

AGRADECIMIENTOS

Por el acceso a los especímenes de manera física y/o digital agradecemos a Wilmar Bolivar (Colección de Practicas Zoológicas Univalle), Juan Manuel Daza (Museo de Herpetología Universidad de Antioquia), Julieth Stella Cardenas Hincapie (Museo de la Salle, Bogotá), Fernando J.M. Rojas Runjaic (Museo de Historia Natural La Salle, Caracas), Omar Torres Carvajal

(Pontificia Universidad Católica del Ecuador), Frank T. Brubink (American Museum of Natural History), David Canatella (Texas Natural History Collections, UT Austin), James Hanken (Museum of Comparative Zoology), Tobby J. Hibbitts (Texas A&M University), Patrick Campbell (Natural History Museum London), and Alexander Kupfer (Staatliches Museum für Naturkunde Stuttgart). También agradecemos a Jessi Maisano y a Matt Colbert (University of Texas High-Resolution X-ray Computed Tomography Facility) por prestar el servicio para escanear especímenes. Agradecemos a Hussam Zaher por los comentarios que mejoraron esta tesis y finalmente agradecemos a Christopher Bell por financiar el software Stratovan Checkpoint y el escaneo de los especímenes en University of Texas High-Resolution X-ray Computed Tomography.

LITERATURA CITADA

- Adams, D.C. and Otárola-Castillo, E. (2013). Geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data, *Methods in Ecology and Evolution*. Edited by E. Paradis, 4, pp. 393 -399. Available at: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12035>.
- Adams, D.C., Rohlf, F.J. and Slice, D.E. (2013). A field comes of age: Geometric morphometrics in the 21st century, *Hystrix*, 24(1), pp. 7 -14. Available at: <https://doi.org/10.4404/hystrix-24.1-6283>.
- Akman, B. and Göçmen, B. (2019). Comparison of the Blind Snake Populations, *Xerotyphlops vermicularis* (Merrem, 1820) (Squamata: Typhlopidae) in Turkey and Cyprus: Morphology, Serology, Ecology, and Geometric Morphometrics, *Commagene Journal of Biology*, 3(1), pp. 6 -18. Available at: <https://doi.org/10.31594/commagene.522170>.
- Antúñez-Fonseca, C. A., Ramos-Galdamez, J., Solís, M., Díaz-Ricaurte, J. C., Wilson, L. D. (2022, 04 de agosto). Una nueva especie y ocurrencia más al norte del género *Liotyphlops* Peters, 1881 (Squamata: Scolecophidia: Anomalepididae) para la costa norte de Honduras. [Ponencia oral]. 3er Congreso Colombiano de Herpetología, Cali, Colombia.
- Bookstein, F.L. (1986). Size and shape spaces for landmark data in two dimensions, *Statistical science*, 1, pp. 181 -242.
- Bookstein, F.L. (1992). *Morphometric Tools for Landmark Data*. Cambridge University Press. Available at: <https://doi.org/10.1017/CBO9780511573064>.

- Bookstein, F.L. (1996). Biometrics, biomathematics and the morphometric synthesis, *Bulletin of Mathematical Biology*, 58(2), pp. 313 -365.
- Bookstein, F. L. (1997). Morphometric tools for landmark data (p. 455).
- Boulenger, G. A. (1889). XLVIII.—Descriptions of new Typhlopidae in the British Museum. *Journal of Natural History*, 4(23), 360-363.
- Cardini, A., & Elton, S. (2007). Sample size and sampling error in geometric morphometric studies of size and shape. *Zoomorphology*, 126, 121-134.
- Centeno, F.C., Sawaya, R.J. and Germano, V.J. (2010). A new species of Liotyphlops (Serpentes: Anomalepididae) from the Atlantic Coastal Forest in Southeastern Brazil', *Herpetologica*, 66(1), pp. 86 -91. Available at: <https://doi.org/10.1655/08-079.1>.
- Cundall, D., & Irish, F. (2008). The snake skull. *Biology of the Reptilia*, 20, 349-692.
- Davis, M.A. *et al.* (2016). Deconstructing a Species-Complex: Geometric Morphometric and Molecular Analyses Define Species in the Western Rattlesnake (*Crotalus viridis*)', *PLOS ONE*. Edited by T.A. Castoe, 11(1), pp. 1 -21. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146166>.
- Daza, J.D. *et al.* (2009). Are you what you eat? A geometric morphometric analysis of gekkotan skull shape', *Biological Journal of the Linnean Society*, 97, pp. 677 -707.
- Dixon, J.R. and Kofron, C.P. (1983). The Central and South American Anomalepid snakes of the genus Liotyphlops, *Amphibia-Reptilia*, 4, pp. 241 -264.
- Ellis, R.J. (2016). A new species of blindsnake (Scoleophidia: Typhlopidae: Anilius) from the Kimberley region of Western Australia, *Herpetologica*, 72, pp. 271 -278.
- Entiauspe-Neto, O. M., Franco, F. L., Koch, C., Tiutenko, A., Wingert, J. M., & Borges-Martins, M. (2023). More than meets no eyes: Taxonomic status of a Liotyphlops (Serpentes: Anomalepididae) blindsnake from the Atlantic Rainforest. *Zoologischer Anzeiger*, 303, 10-25.
- Freire Xavier, E.M., Caramaschi, U. and Argolo Suzart, A.J. (2007). A new species of Liotyphlops (Serpentes: Anomalepididae) from the Atlantic Rain Forest of Northeastern Brazil, *Zootaxa*, 1393, pp. 19 -26. Available at: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1393.2>.
- Graboski, R., Arredondo, J. C., Grazziotin, F. G., Guerra-Fuentes, R. A., Da Silva, A. A., Prudente, A. L., ... & Zaher, H. (2023). Revealing the cryptic diversity of the widespread and poorly known South American blind snake genus Amerotyphlops (Typhlopidae: Scolecophidia) through integrative taxonomy. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 197(3), 719-751.
- Gurgis, G.P. *et al.* (2021). Ecomorphometric Analysis of Diversity in Cranial Shape of Pygopodid Geckos, *Integrative Organismal Biology*, 3(1). Available at: <https://doi.org/10.1093/iob/obab013>.
- Haad Silva, J.J., Franco, F.L. and Maldonado, J. (2008). Una nueva especie de Liotyphlops Peters, 1881 (Serpentes, Scolecophidia, Anomalepidae) del sur de la Amazonia Colombiana, *Biota Colombiana*, 9(2), p. 102.

- Haas, G. (1964). Anatomical observations on the head of *Anomalepis aspinosus* (Typhlopidae, Ophidia), *Acta Zoologica*, pp. 1 -62. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.1968.tb00147.x>.
- Hedges, S.B. and Thomas, R. (1991). Cryptic species of snakes (Typhlopidae: Typhlops) from the Puerto Rico Bank detected by protein electrophoresis, *Herpetologica*, 47, pp. 448 -459.
- Huntley, L.C. *et al.* (2021). Intraspecific morphological variation in the shieldtail snake *Rhinophis philippinus* (Serpentes: Uropeltidae), with particular reference to tail-shield and cranial 3D geometric morphometrics, *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, pp. 1 -14. Available at: <https://doi.org/10.1111/jzs.12505>.
- Kendall, D.G. (1977). Diffusion of shape, *Advances in applied probability*, 9(3), pp. 428 -430.
- Klingenberg, C.P. (2013). Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes, *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24(1), pp. 15 -24. Available at: <https://doi.org/10.4404/hystrix-24.1-7691>.
- Linares-Vargas, C.A. *et al.* (2021). The status of the anomalepidid snake *Liotyphlops albirostris* and the revalidation of three taxa based on morphology and ecological niche models, *The Anatomical Record*, 304(10), pp. 2264 -2278. Available at: <https://doi.org/10.1002/ar.24730>.
- La Marca, E. and Soriano, P. (2004). *Reptiles de los Andes de Venezuela*. Edited by C.-U. Fundacion Polar, Conservacion Internacional. Merida, Venezuela: Fundacite Mérida, BIOGEOS.
- Mijarres-Urrutia, A. and Arends, A. (2000). Herpetofauna of estado Falcon, Northwestern Venezuela: A checklist with geographical and ecological data, *Smithsonian Herpetological Information Service*, 123, pp. 1 -30.
- Murta-Fonseca, R.A. *et al.* (2019). Sexual dimorphism in *Xenodon neuwiedii* skull revealed by geometric morphometrics (Serpentes; Dipsadidae), *Amphibia-Reptilia*, pp. 1 -14. Available at: <https://doi.org/10.1163/15685381-20191147>.
- Natera Mumaw, M., Esqueda Gonzáles, L.F. and Castelaán Fernández, M. (2015). *Atlas Serpientes de Venezuela: Una Visión Actual de su Diversidad*. 1st edn. Santiago de Chile.
- Palci, A., Hutchinson, M. N., Caldwell, M. W., & Lee, M. S. (2017). The morphology of the inner ear of squamate reptiles and its bearing on the origin of snakes. *Royal Society open science*, 4(8), 170685.
- Peters, J.A. and Orejas-Miranda, B. (1970). 'Catalogue of the Neotropical Squamata. Part I. Snakes', *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 297, pp. 1 -347.
- Development Core Team. (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <http://www.r-project.org>
- Rieppel, O., Kley, N.J. and Maisano, J.A. (2009). 'Morphology of the skull of the white-nosed blindsnake, *Liotyphlops albirostris* (Scoleophidia: Anomalepididae)', *Journal of Morphology*, 270(5), pp. 536 -557. Available at: <https://doi.org/10.1002/jmor.10703>.
- Rohlf, F.J. (2017). 'tpsDIG2. Version 2.37'. Available at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.

- Roze, J. A. (1952). Contribución al conocimiento de los ofidios de las familias Typhlopidae y Leptotyphlopidae en Venezuela. *Memoria de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle*, 12, 143-158.
- Ruane, S. (2015). 'Using geometric morphometrics for integrative taxonomy: an examination of head shapes of milksnakes (genus *Lampropeltis*)', *Zoological Journal of the Linnean Society*, 174(2), pp. 394 -413. Available at: <https://doi.org/10.1111/zoj.12245>.
- Santos, F. J. M. (2018). A revision of the small snakes of the family Anomalepididae (Reptilia: Squamata: Serpentes), using high resolution computerized tomography. Doctoral thesis.
- Santos, F.J.M. and Reis, R.E. (2018). 'Two New Blind Snake Species of the Genus *Liotyphlops* (Serpentes: Anomalepididae), from Central and South Brazil', *Copeia*, 106(3), pp. 507 - 514. Available at: <https://doi.org/10.1643/CH-18-081>.
- Santos, F. J. M. (2023a). A new species of the genus *Liotyphlops* Peters, 1881 (Serpentes, Anomalepididae) from Colombia and the synonymization of *Liotyphlopsbeui* (Amaral, 1924) with *Liotyphlopsternetzii* (Boulenger, 1896). *ZooKeys*, 1146, 87.
- Santos, F. J. M. (2023b). Taxonomic notes on the head squamation of the genus *Liotyphlops* Peters, 1881 (Serpentes, Anomalepididae). *Zoosystematics and Evolution*, 99(1), 281-283.
- Savage, J.M. (2002). *The Amphibians and Reptiles of Costa Rica: A Herpetofauna Between Two Continents, Between Two Seas*. Edited by U. of C. Press.
- Souto, N.M. *et al.* (2019). 'Snakes as a model for measuring skull preparation errors in geometric morphometrics', *Journal of Zoology*, 309(1), pp. 12 -21. Available at: <https://doi.org/10.1111/jzo.12678>.
- Thomas, R. and Hedges, S.B. (2007). 'Eleven new species of snakes of the genus *Typhlops* (Serpentes: Typhlopidae) from Hispaniola and Cuba', *Zootaxa*, 1400, pp. 1 -26.
- Uetz, P. (2022). The reptile database, *Liotyphlops*. Available at: <http://reptile-database.org/>.
- Wallach, V., Williams, K. and Boundy, J. (2014). *Snakes of the world A catalogue of living and extinct species*, CRC Press.
- Watanabe, A. *et al.* (2019). 'Ecomorphological diversification in squamates from conserved pattern of cranial integration', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(29), pp. 14688 -14697. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1820967116>.
- Zelditch, M.L., Swiderski, D.L. and Sheets, H.D. (2012). *Geometric morphometrics for biologists*.

Tabla 1. Ubicación de cada uno de los puntos y semipuntos de referencia en la vista dorsal de las escamas cefálicas para cada uno de los individuos analizados (n=51).

Numero	Ubicación	Tipo de punto de referencia
1	Borde superior narina izquierda	II
2	Borde superior narina derecha	II
3	Intersección anterior escamas frontal y preocular superior izquierda	I
4	Borde posterior de prefrontal izquierda en contacto con la rostral	I
5	Borde posterior de prefrontal derecha en contacto con la rostral	I
6	Intersección anterior escamas frontal y preocular superior derecha	I
7	Intersección posterior escamas frontal y preocular superior derecha	I
8	Intersección posterior escamas frontal y preocular superior izquierda	I
9	Centro de ojo izquierdo	II
10	Esquina superior escama ocular izquierda	I
11	Esquina superior escama ocular derecha	I
12	Centro de ojo derecho	II
13-32	Borde anterior entre narinas	Curva
33-62	Escama rostral	Curva
63-82	Borde posterior escama frontal	Curva
83-97	Borde posterior escama prefrontal izquierda	Curva
98-112	Borde posterior escama prefrontal derecha	Curva

Tabla 2. Ubicación de cada uno de los puntos y semipuntos de referencia en la vista lateral de las escamas cefálicas para cada uno de los individuos analizados (n=49).

Número	Ubicación	Tipo de punto de referencia
1	Borde superior entre escama frontal, prefrontal y preocular superior	I
2	Comisura de la boca	I
3	Esquina anterior de la narina	I
4	Intersección posterior de escamas nasales con borde anterior de la 2° supralabial	I
5	Intersección superior de 2° supralabial	I
6	Intersección superior preocular inferior	I
7	Intersección posteroinferior de preocular superior	I
8	Intersección inferior preocular inferior	I
9	Intersección superior 3° supralabial	I
10	Centro de ojo	II
11	Intersección superior de 4° supralabial	I
12	Borde posterior narina	I
13 - 42	Borde anterior	Curva
43 - 62	Borde posterior hasta intersección 2° supralabial	Curva
63 - 77	Borde posterior preocular superior	Curva
78 - 92	Borde posterior preocular inferior	Curva
93 - 107	Borde posterior 3° supralabial	Curva

Tabla 3. Ubicación de cada uno de los puntos y semipuntos de referencia en los modelos 3D del cráneo para cada uno de los individuos analizados (n=11).

Numero	Hueso	Ubicación	Tipo de punto de referencia
1	Frontal izquierdo	Esquina anterior medial	I
2	Frontal derecho	Esquina anterior medial	I
3	Frontal izquierdo	Esquina posterior medial	I
4	Frontal derecho	Esquina posterior medial	I
5	Supraoccipital	Esquina anterior medial	I
6	Supraoccipital	Esquina izquierda	I
7	Supraoccipital	Esquina posterior medial	I
8	Supraoccipital	Esquina derecha	I
9	Vomer	Esquina anterior izquierda	I
10	Vomer	Esquina anterior derecha	I
11	Vomer	Esquina lateral izquierda	I
12	Vomer	Esquina lateral derecha	I
13	Vomer	Esquina posterior izquierda	I
14	Vomer	Esquina posterior derecha	I
15	Nasal	Esquina proceso posterior izquierda	I
16	Frontal	Esquina proceso anterior	I
17	Frontal	Esquina proceso posterior	I
18	Otico-occipital	Esquina proceso anterior	I
19	Nasal	Esquina proceso posterior derecho	I
20	Frontal	Esquina proceso anterior	I
21	Frontal	Equina proceso posterior	I
22	Otico-occipital	Esquina proceso anterior	I
23	Otico-occipital	Cóndilo posterior izquierdo	II
24	Otico-occipital	Cóndilo posterior derecho	II
25 - 43	Otico-occipital	Borde izquierdo	III
44 - 62	Otico-occipital	Borde derecho	III
63 - 87	Frontal	Borde lateral izquierdo	III
88 - 112	Frontal	Borde lateral derecho	III
113 - 143	Premaxila	Borde superior	III
144 - 312	Rostral	Superficie exterior	III
313 - 481	Parietal izquierdo	Superficie exterior	III
482 - 650	Parietal derecho	Superficie exterior	III
651 - 819	Parabasisfenoide	Superficie exterior	III
820 - 900	Septomaxila derecha	Superficie exterior	III
901 - 981	Septomaxila izquierda	Superficie exterior	III
982 - 1006	Basioccipital	Superficie exterior	III

Tabla 4. Ubicación semipuntos de referencia en el hueso coronoides izquierdo (n=12)

Numero	Hueso	Ubicación	Tipo de punto de referencia
1-88	Coronoides	Borde dorsal	III

Tabla 5. Valores de los estadísticos resultado del análisis de varianza (Anova Procrustes) para los modelos de forma y tamaño. Con un numero de permutaciones de 1000, mínimos cuadrados ordinarios como método de estimación y 95% de confianza.

Modelo	2D						3D					
	Vista dorsal (n=51)			Vista lateral (n=49)			Cráneo (n=11)			Coronoides (n=12)		
	F	Z	P	F	Z	P	F	Z	P	F	Z	P
Forma	7.3788	4.5914	0.001	4.3287	3.6341	0.001	3.1854	2.6524	0.002	1.523	1.1946	0.116
Tamaño	1.4786	0.7897	0.213	3.2217	1.7854	0.033	6.4089	2.1273	0.017	11.002	2.7211	0.004

Tabla 6. Diferencias de forma por hueso entre las especies. Donde 0 = igual forma entre las especies; 1= Diferente forma entre las otras especies

Hueso	<i>L. albirostris</i>	<i>L. bondensis</i>	<i>L. caracasensis</i>
Nasal	1	1	1
Premaxila	1	1	1
Septomaxila	1	1	1
Bordes laterales del frontal	0	0	1
Parietales	1	1	1
Basisfenoide	0	1	0
Basioccipital	0	1	0
Borde posterior otico-occipital	0	1	0
Coronoides	1	1	1

Figura 1. Puntos de referencia (puntos amarillos) y semipuntos de referencia (líneas rojas) en vista dorsal (fila superior) y lateral (fila inferior). De izquierda a derecha: *L. albirostris* – MCZ 3971 (holotipo), *L. bondensis armandoi* – CPZ-UV 7288 (holotipo), *L. caracasensis* – MHNLS 514 (holotipo). Cuarta columna es la forma consenso de todos los individuos en sus respectivas vistas dorsal y lateral. Escamas. F: frontal, NA: nasal anterior, NP: nasal posterior, PF: prefrontal, POI: preocular inferior o segunda escama de la primera hilera vertical, POS: preorbital superior o tercera escama de la primera hilera vertical, OC: ocular, R: rostral, S (1,2,3,4): supralabiales.

Figura 2. Análisis de componentes principales (PCA) de las coordenadas de Procrustes para la forma de las escamas cefálicas en vista dorsal (columna izquierda; a, b y c) y lateral (columna derecha; d, e y f). **a-d.** PC1 vs PC2, **b-e.** PC1 vs PC3, **c-f.** PC2 vs PC3.

Figura 3. Fotografía del holotipo de *Liotyphlops petersii* (NHM 1946.1.11.46) (columna izquierda) en vista dorsal, lateral y ventral (arriba-abajo). Cortesía de Patrick Campbell (curador). Columna izquierda la respectiva ilustración para cada vista. Escamas. F: frontal, I (1,2,3): infralabiales, NA: nasal anterior, NP: nasal posterior, PF: prefrontal, POI: preocular inferior o segunda escama de la primera hilera vertical, POS: preorbital superior o tercera escama de la primera hilera vertical, OC: ocular, R: rostral, S (1,2,3,4): supralabiales.

Figura 4. Deformaciones de la forma promedio de las escamas cefálicas en vista dorsal (a-d) y vista lateral (e-h) de cada especie vs la forma consenso utilizando el método gráfico vectores de cambio. *L. albirostris* (**a, e**), *L. bondensis* (**b, f**), *L. caracasensis* (**c, g**) y *L. petersii* (**d, h**).

Figura 5. Distribución de los tamaños del centroide por especie. **a.** Escamas en la vista dorsal; **b.** Escamas en la vista lateral; **c.** Cráneo y **d.** Hueso coronoides.

Figura 6. Análisis de componentes principales (PCA) de las coordenadas de Procrustes para la forma del cráneo (columna izquierda; a, b y c) y el coronoides (columna derecha; d, e y f). **a-d.** PC1 vs PC2, **b-e.** PC1 vs PC3, **c-f.** PC2 vs PC3.

Figura 7. Craneo de *Liotyphlops bondensis* (primera columna). Huesos. BO: basioccipital, F: frontal, N: nasal, OO: complejo otico-occipital, P: parietal, PB: parabasisfenoide, PM: premaxila, SM: septomaxila, SO: supraoccipital. Y seguido las deformaciones de la forma promedio de las especies propuestas con respecto a la forma consenso (puntos negros) del cráneo. *L. albirostris* (**a-e**), *L. bondensis* (**f-j**), *L. caracasensis* (**k-o**). Vistas: dorsal (**a, f, k**); lateral (**b, g, l**); ventral (**c, h, m**); posterior (**d, i, n**) y anterior (**e, j, o**).

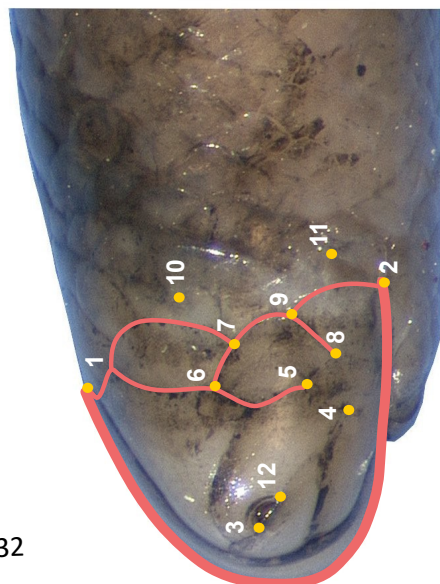
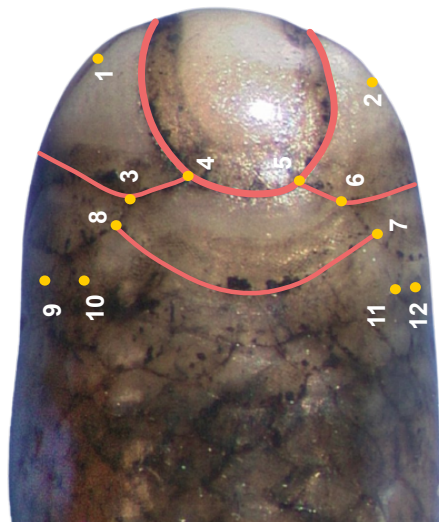
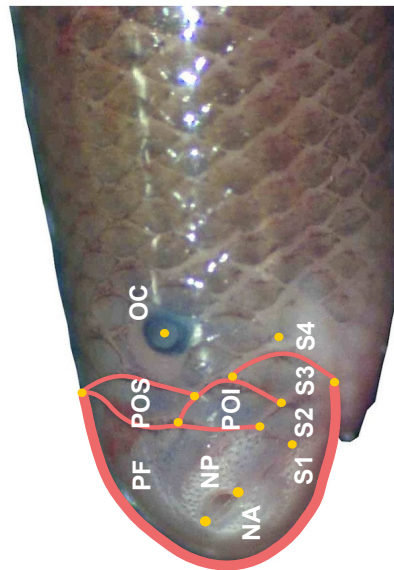
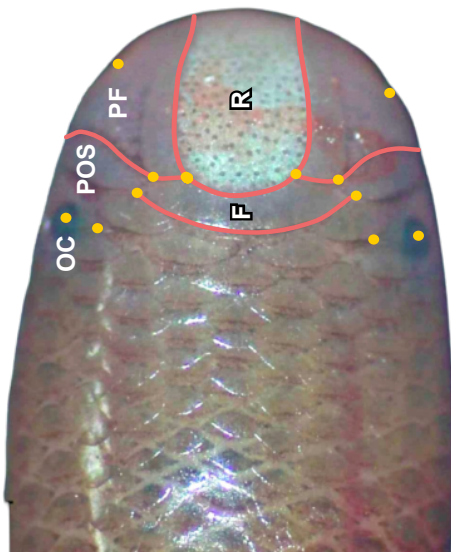
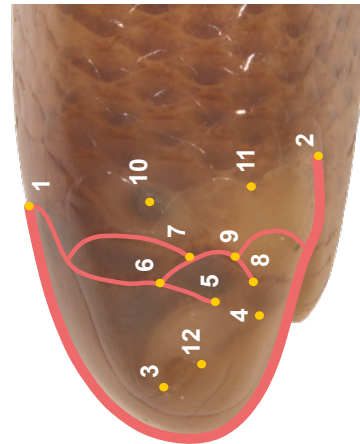
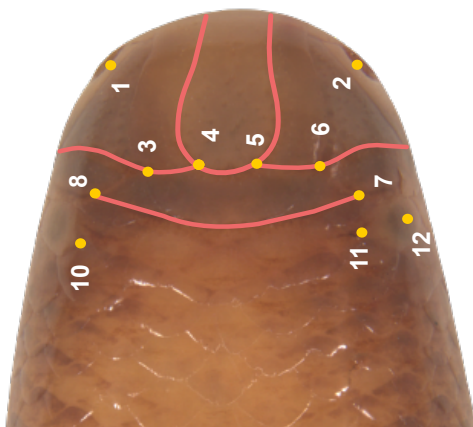
Figura 8. Mandíbula inferior izquierda de *Liotyphlops bondensis* (columna izquierda), vista lateral (superior) y vista interior (inferior). CO: hueso coronoides. Y seguido (columna derecha) las deformaciones de la forma promedio del coronoides por especie con respecto a la forma consenso (puntos negros). **a.** *L. albirostris*, **b.** *L. bondensis*, **c.** *L. caracasensis*.

Figura 9. Ilustración del holotipo de *L. caracasensis* por Roze 1952 (superior) y su respectiva fotografía (MLS 514) (inferior) en vista dorsal y lateral respectivamente. Escamas. F: frontal, NP: nasal posterior, NA: nasal anterior, OC: ocular, PF: prefrontal, POS: preocular superior, R: rostral. Fotografía cortesía de Fernando J.M Rojas Runjaic (curador).

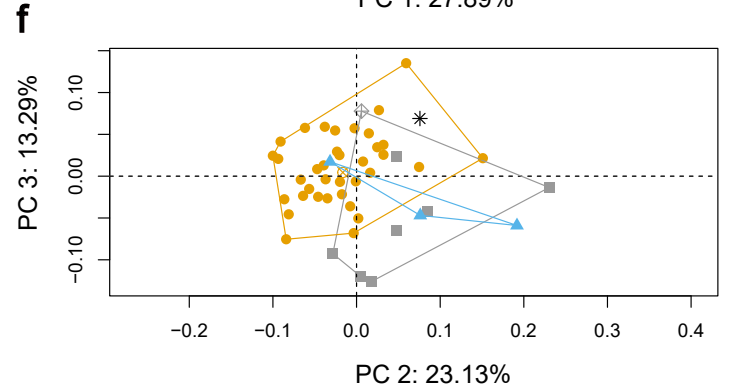
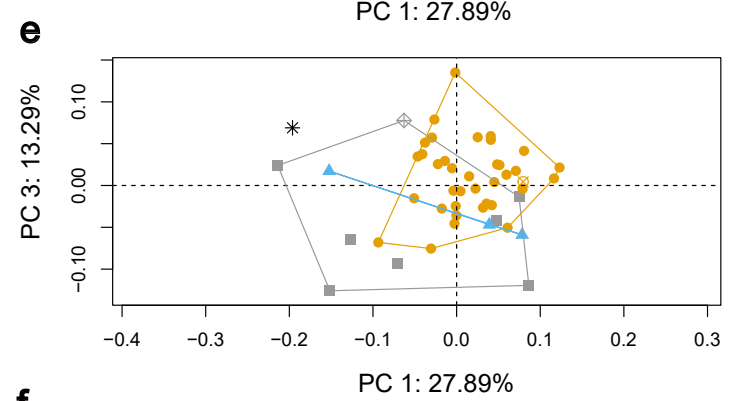
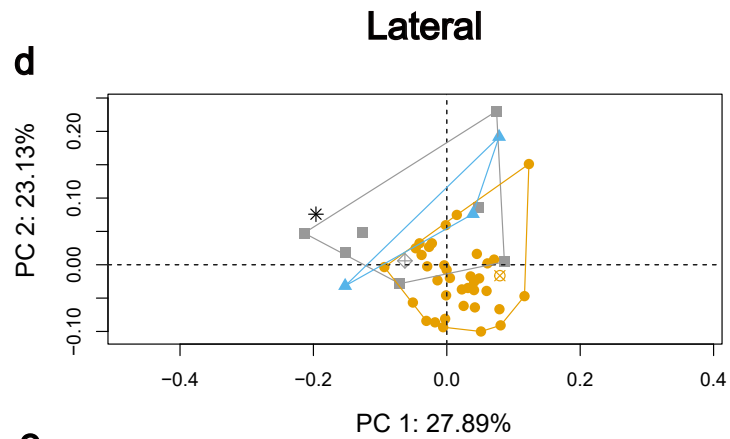
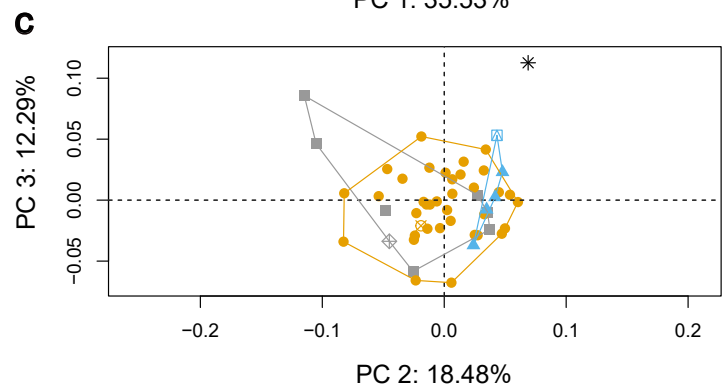
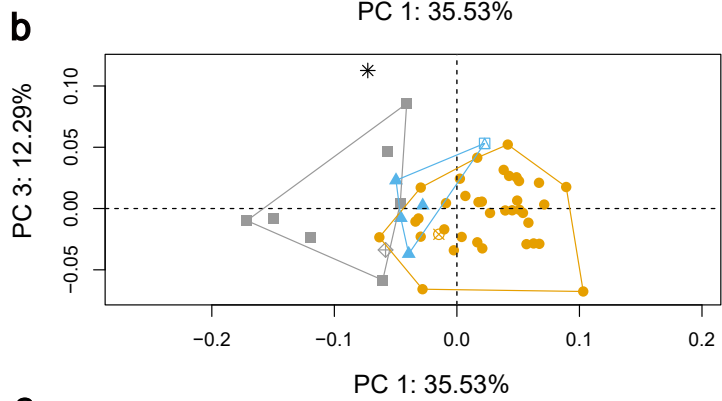
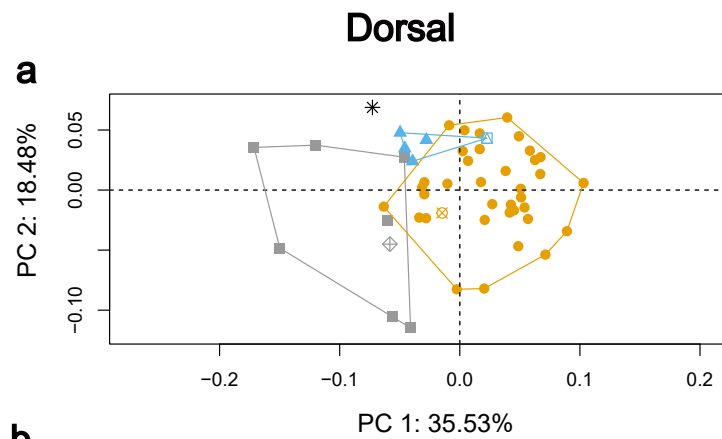
Figura 10. Especímenes catalogados como *L. petersii*. **a.** Vista dorsal y **b.** Lateral del individuo QCAZ 3855 y **c.** Vista lateral del individuo SMNS 2515 con el número de escamas en la primera hilera vertical de escamas. Escala solo para el individuo SMNS 2515. Cortesía de Omar Torres Carvajal y Alexander Kupfer respectivamente (curadores).

Apéndice 1. Información asociada a cada espécimen revisado en este trabajo.

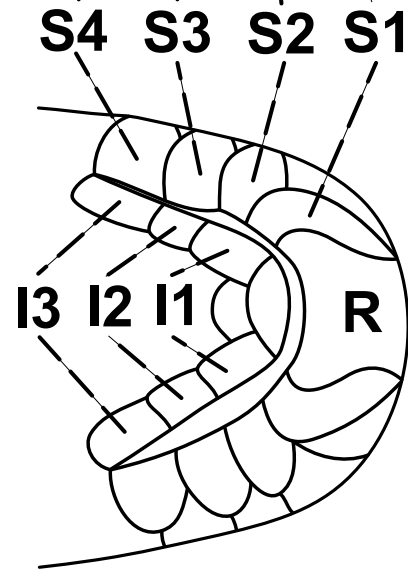
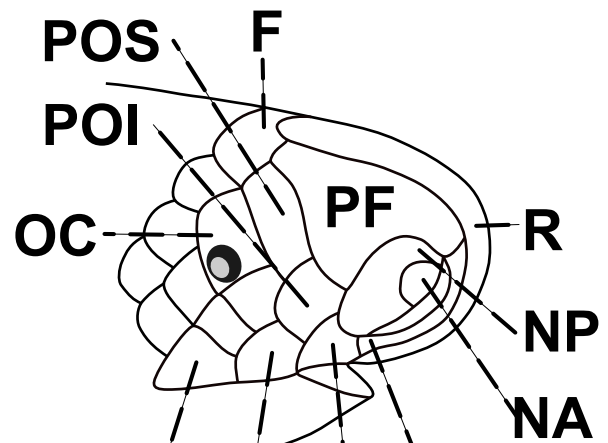
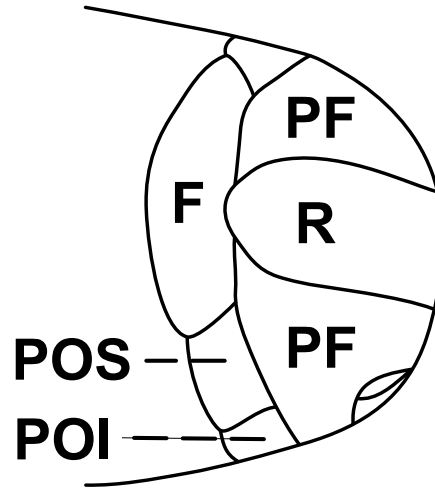
Apéndice 2. Análisis de componentes principales (PCA) de las coordenadas de Procrustes para la forma de las escamas cefálicas en vista dorsal (columna izquierda; a, b y c) y lateral (columna derecha; d, e y f). **a-d.** PC1 vs PC2, **b-e.** PC1 vs PC3, **c-f.** PC2 vs PC3. Sin *Liotyphlops petersii*.



1 mm



■ *L. albirostris* ● *L. bondensis* ▲ *L. caracasensis* * *L. petersii*

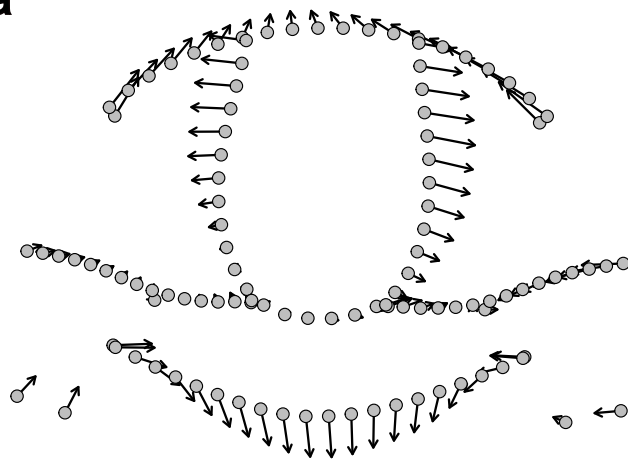


1 mm

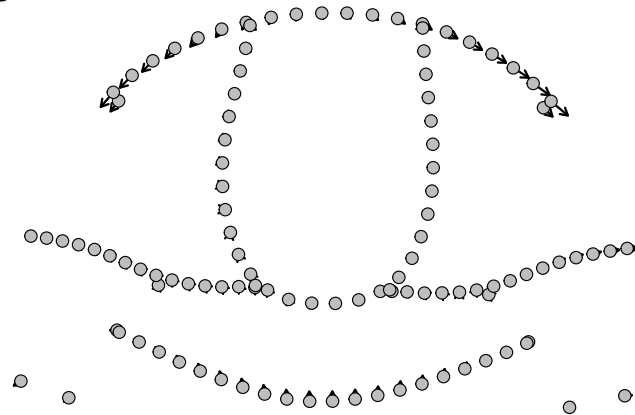
Dorsal

Lateral

a



b



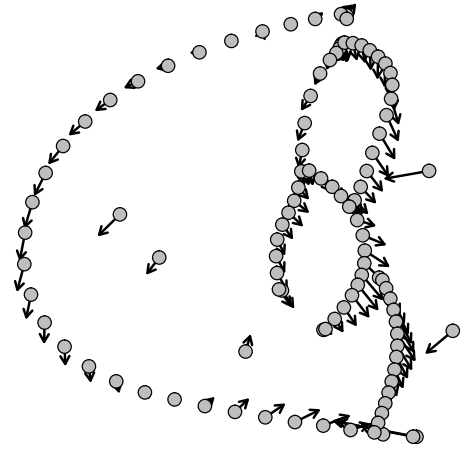
c



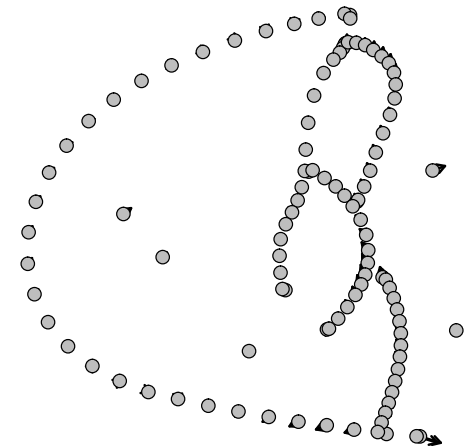
d



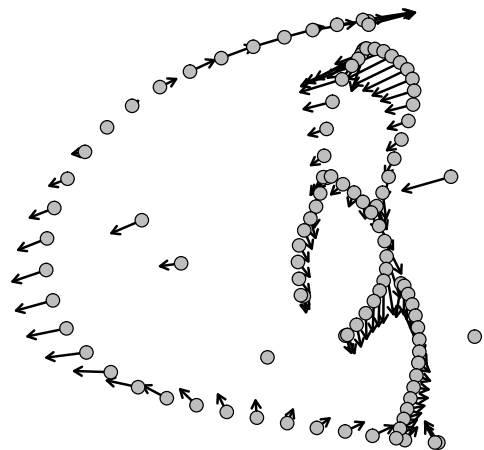
e



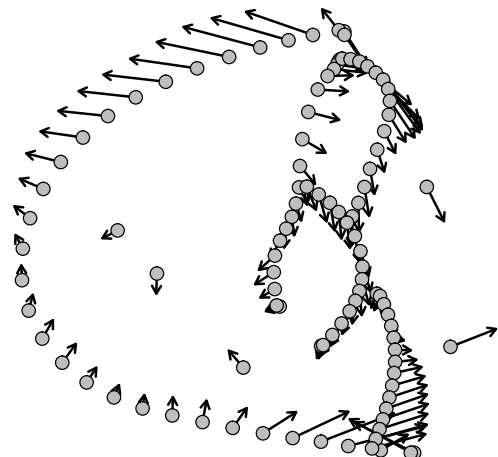
f

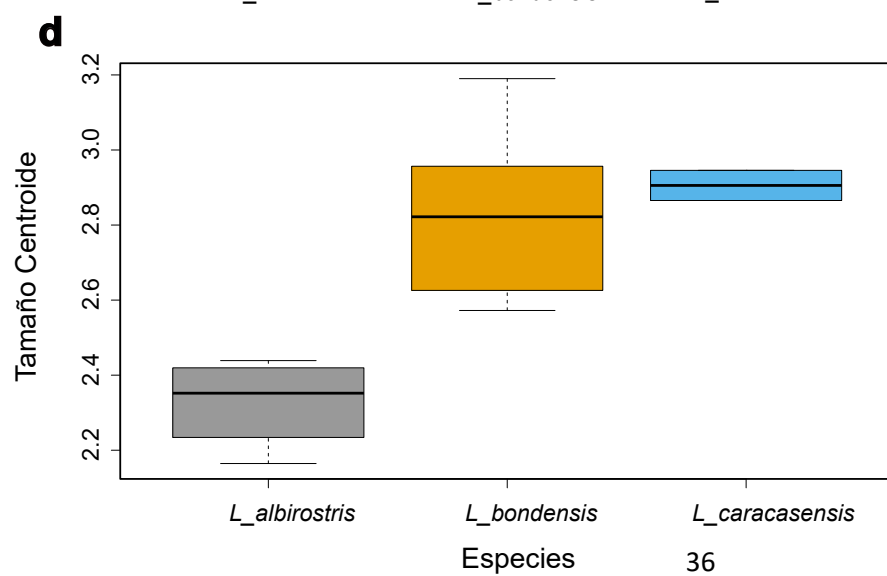
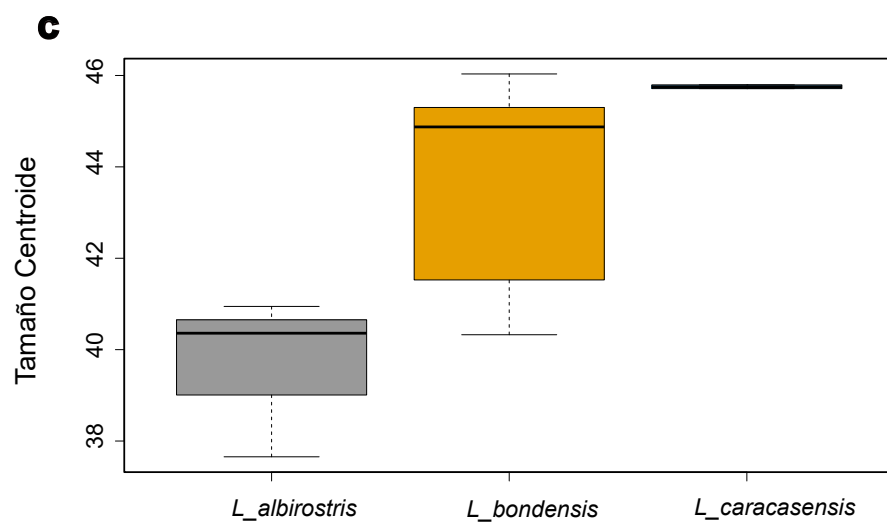
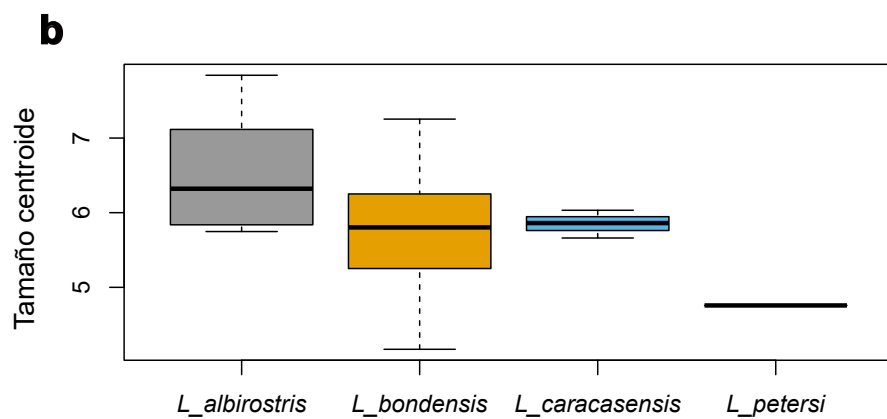
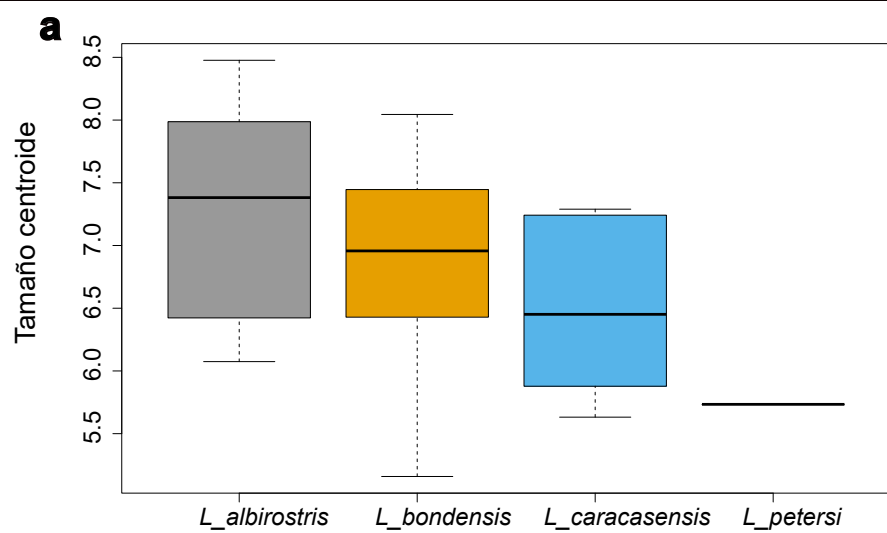


g

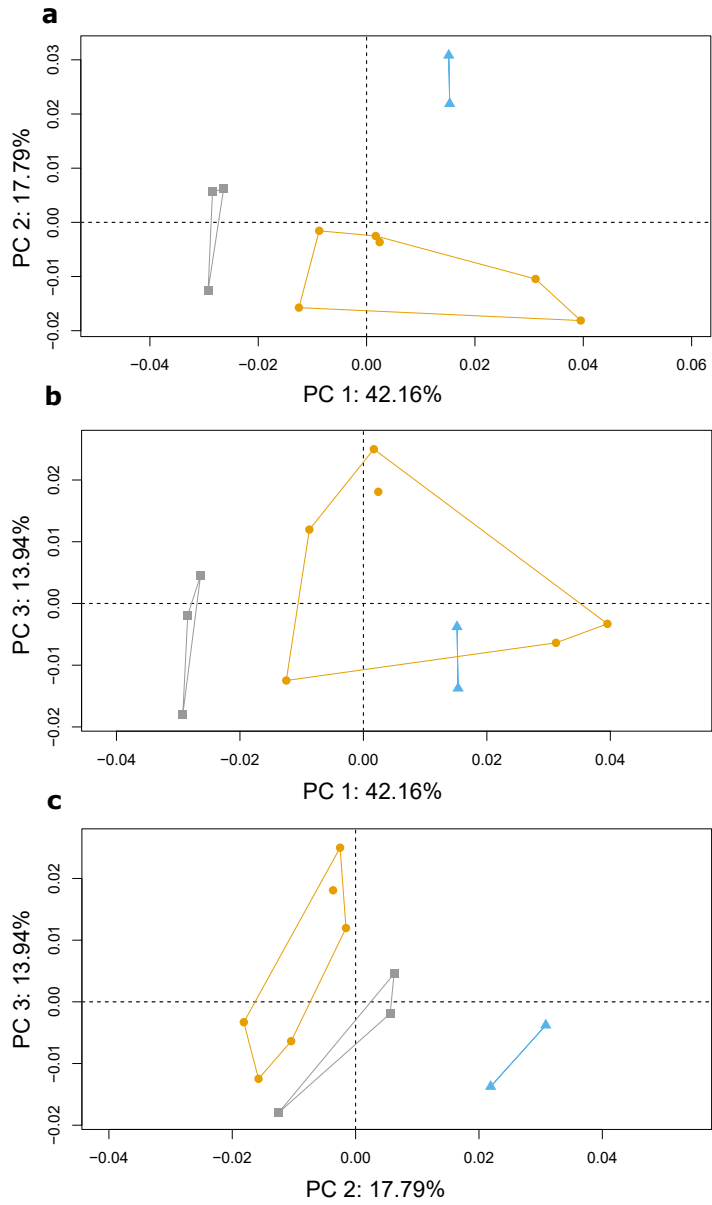


h



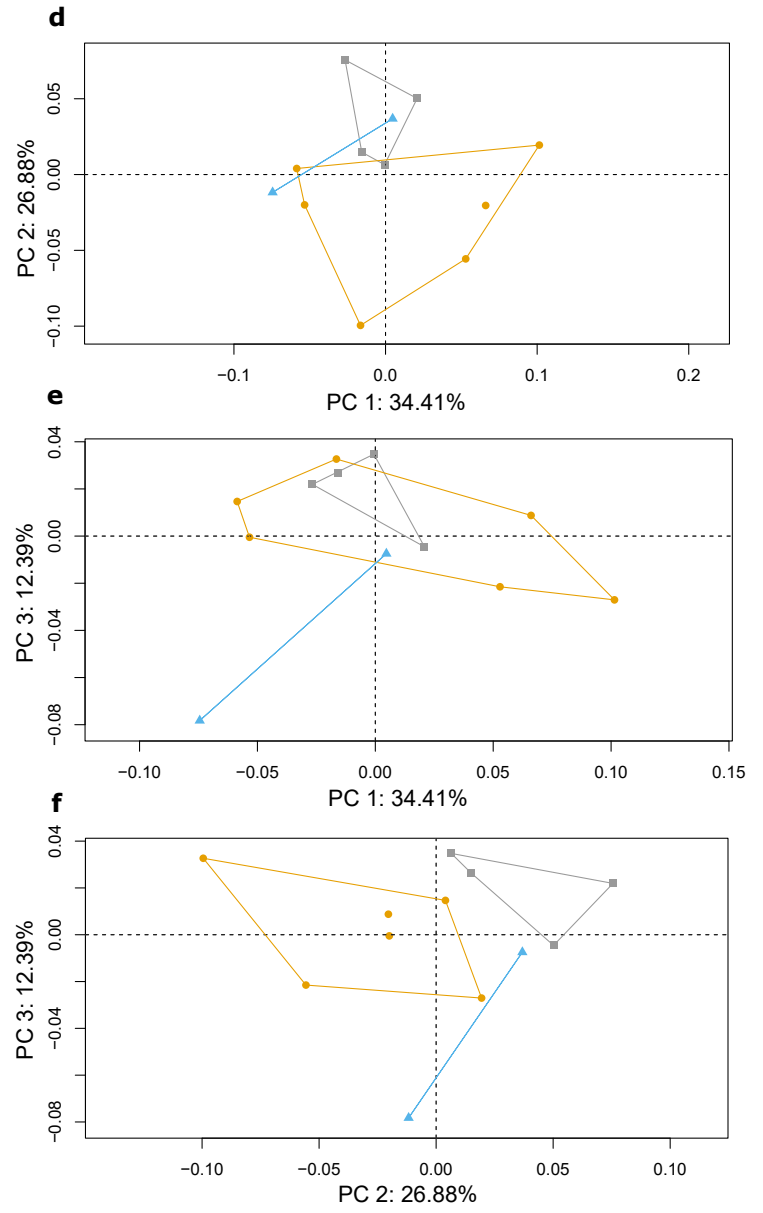


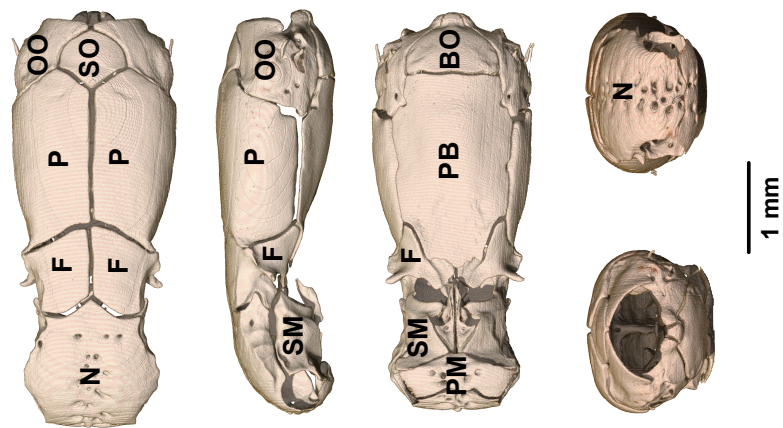
Cráneo



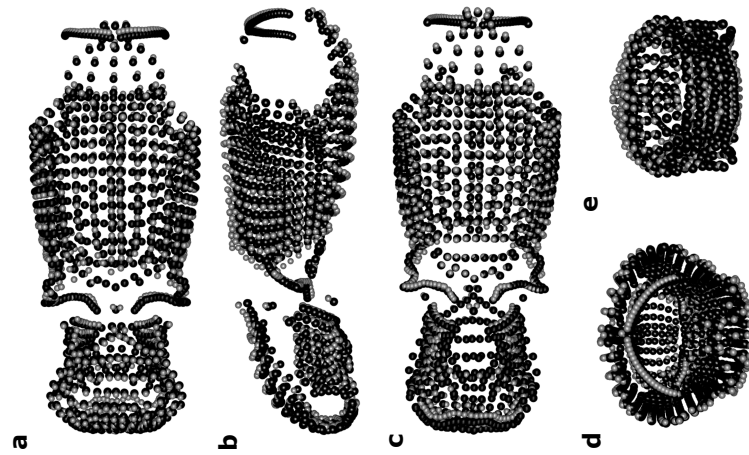
■ *L. albirostris* ● *L. bondensis* ▲ *L. caracasensis*

Coronoides

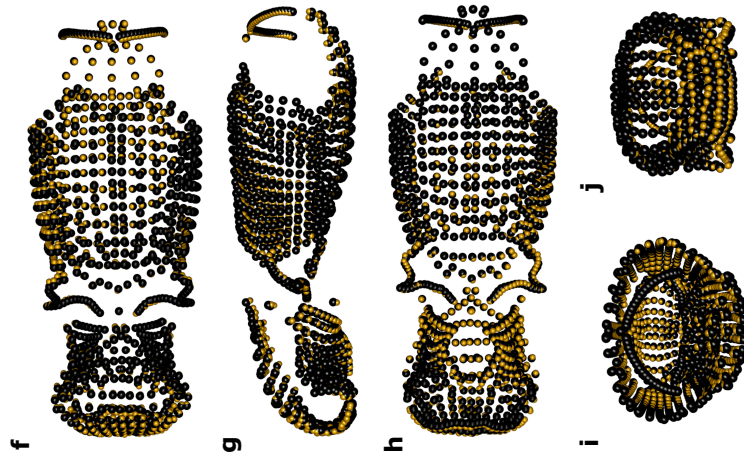




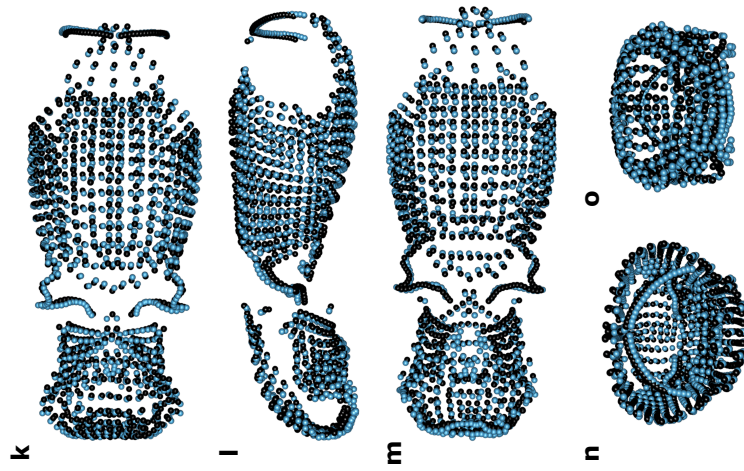
L. albirostris

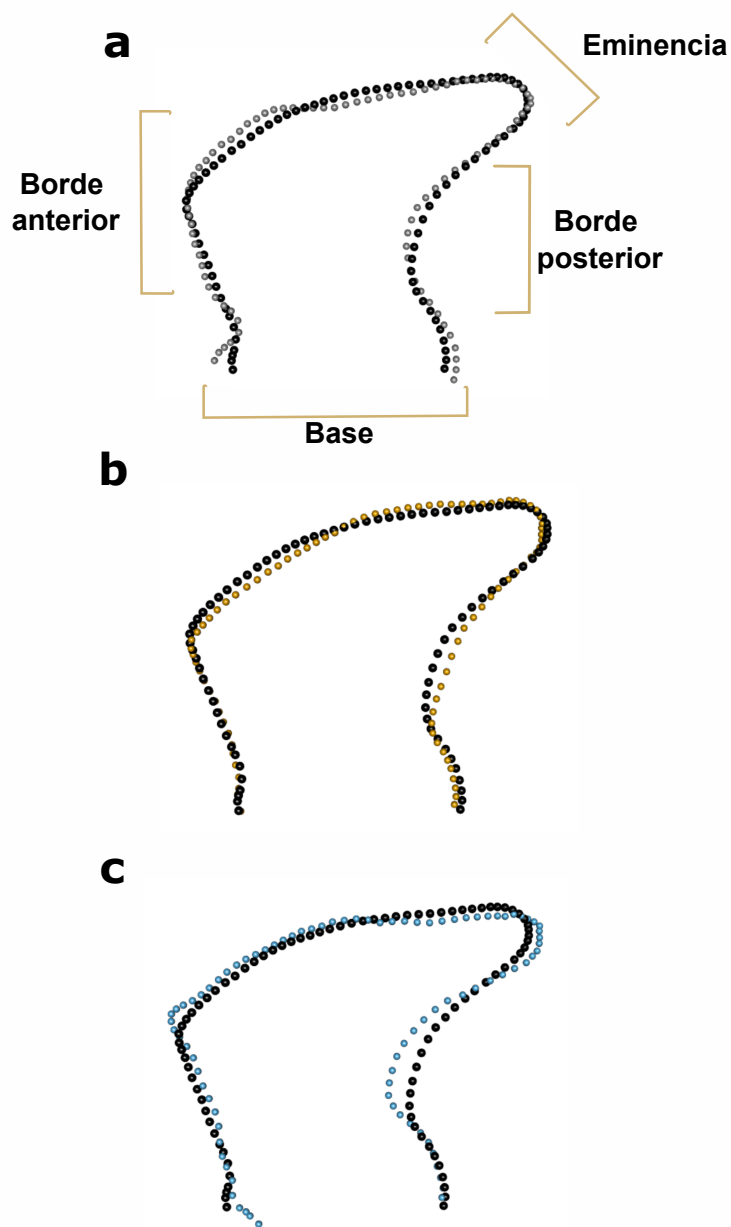
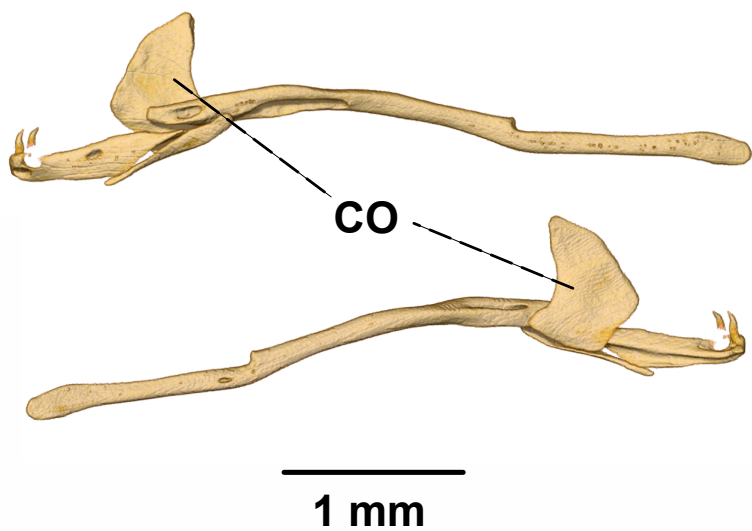


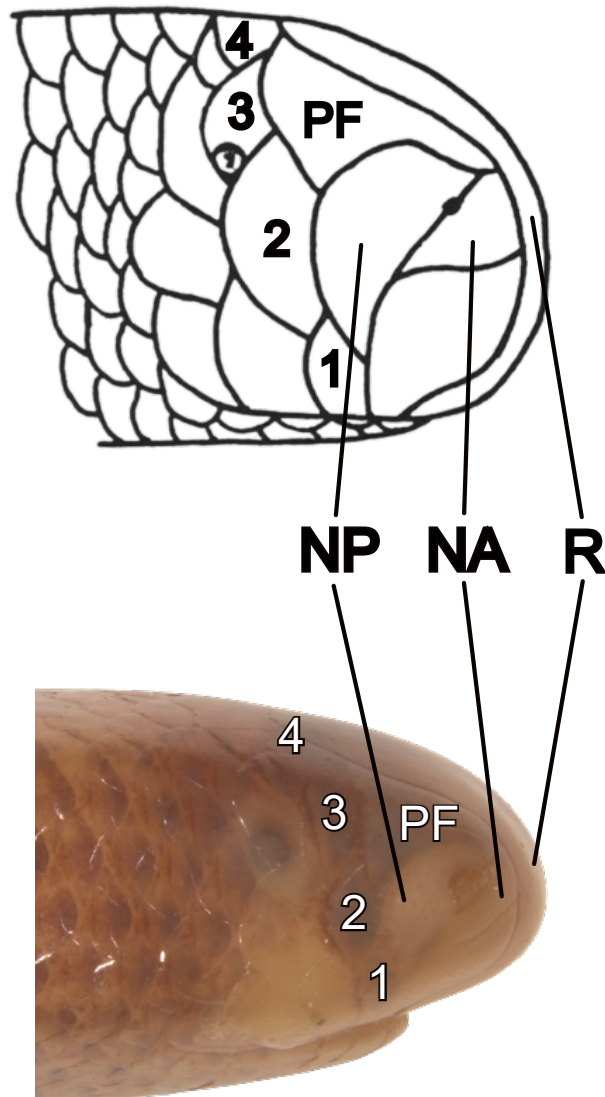
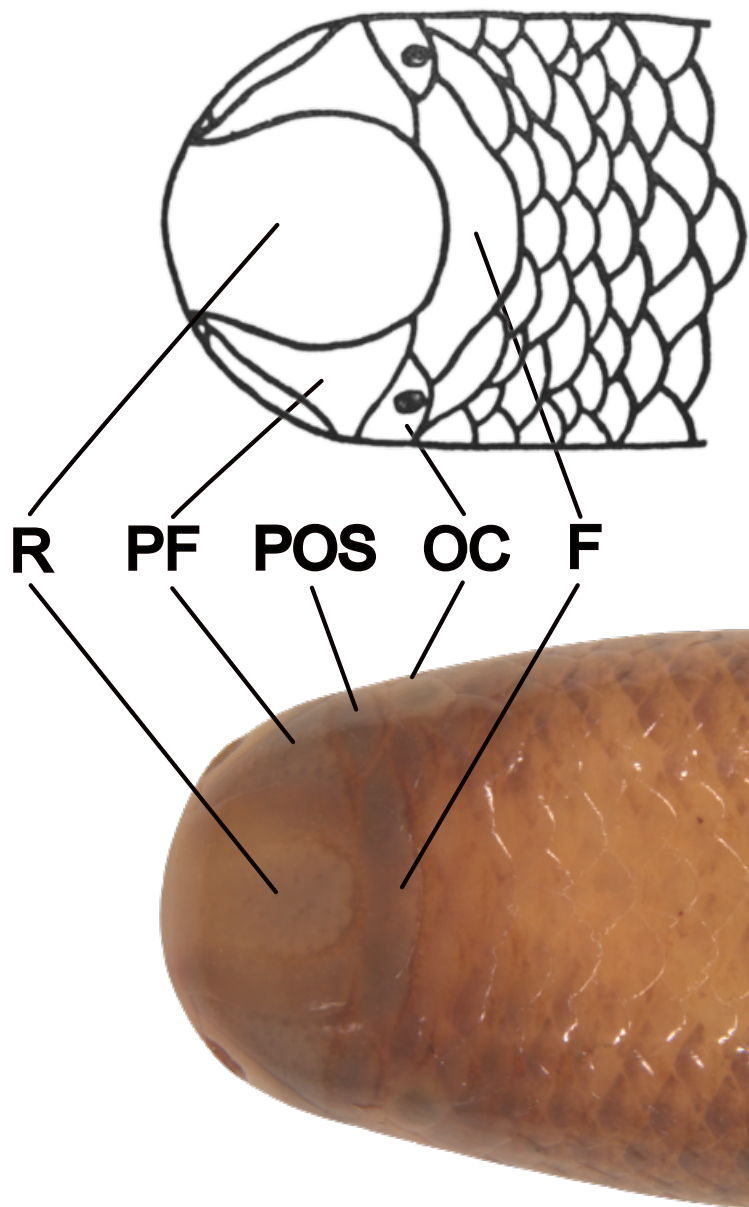
L. bondensis



L. caracasensis







1 mm

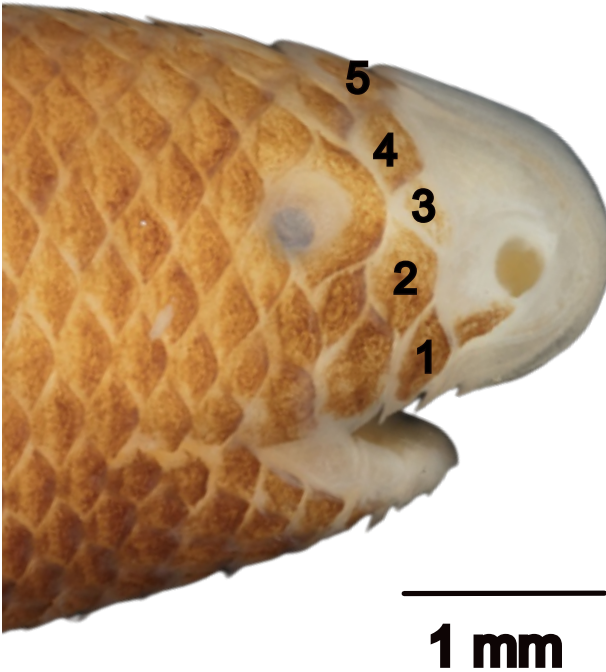
a



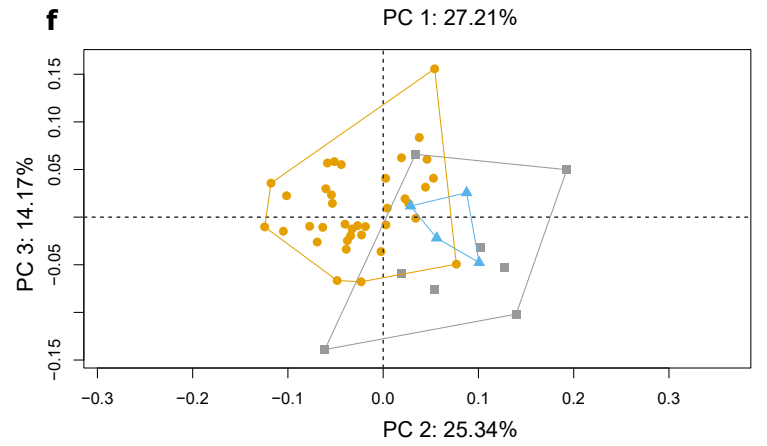
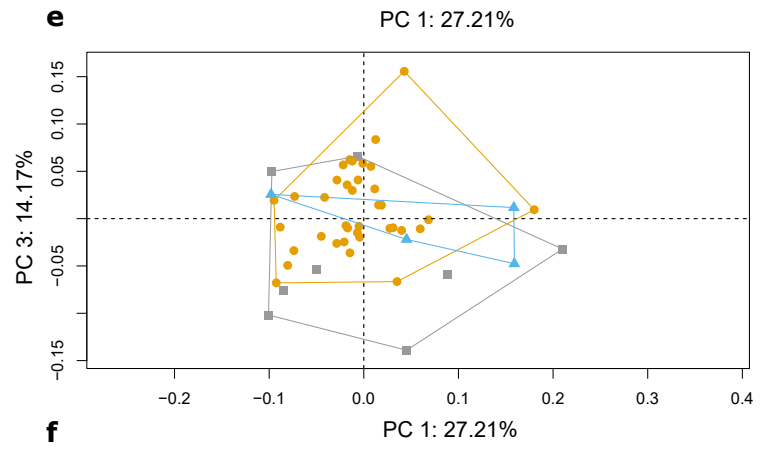
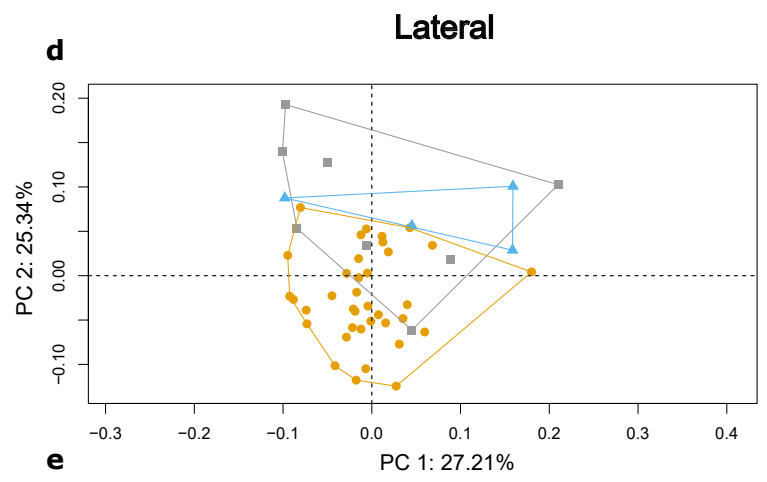
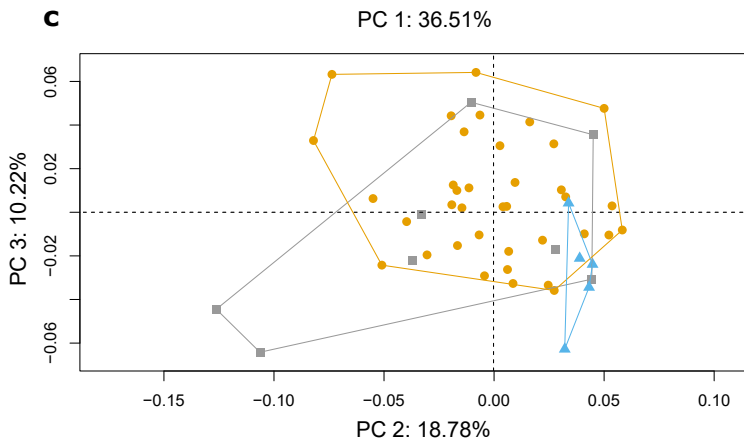
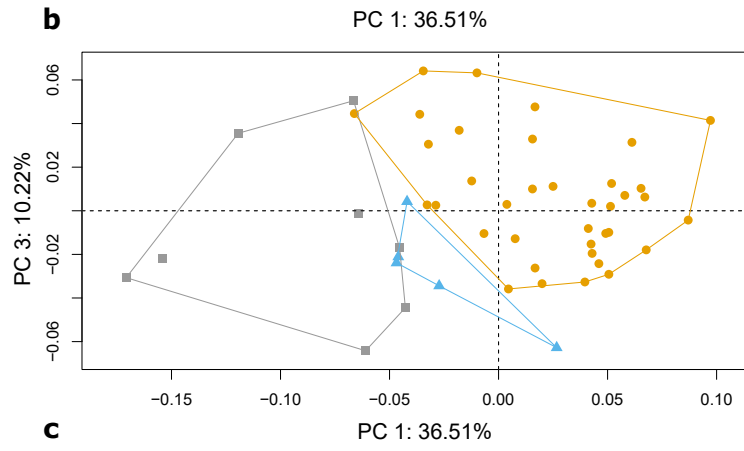
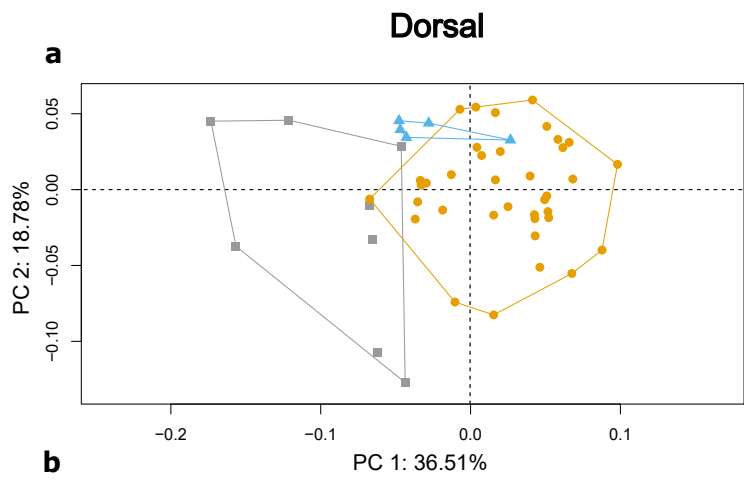
b



c



Especie	País	Estado	Localidad	Latitud	Longitud	Altura	Nombre colección	Código colección	Numero catalogo	Imagen	Observación	Fuente de CT-scan	Comentario
L_albirostris	Panamá	Canal Zone	Albrook AFB				Texas Natural History Collections, U. Texas Austin	TNHC	23725	2D		UTCT	
L_albirostris	Panamá	Canal Zone	Albrook AFB				Texas Natural History Collections, U. Texas Austin	TNHC	23730	2D y 3D		UTCT	
L_albirostris	Panamá	Canal Zone	Albrook AFB				Texas Natural History Collections, U. Texas Austin	TNHC	23732	2D y 3D		UTCT	
L_albirostris	Panamá	Canal Zone	Albrook AFB				Texas Natural History Collections, U. Texas Austin	TNHC	23733	2D y 3D		UTCT	
L_albirostris	Panamá						American Museum of Natural History	AMNH	71668	3D		USP	Craneo destruido
L_albirostris	Panamá	Canal Zone					Kansas University	KUH	23732	3D		Morphosource	Mala calidad
L_albirostris	Panamá						Museum of Comparative Zoology, Harvard University	MCZ	3971	2D	Holotipo		
L_albirostris	Panamá	Panamá					American Museum of Natural History, New York	AMNH	71666	2D			
L_albirostris	Panamá	Panamá					American Museum of Natural History	AMNH	71667	2D			
L_albirostris	Panamá	Canal Zone					American Museum of Natural History	AMNH	89966	2D			
L_bondensis	Colombia	Atlántico	Barranquilla				American Museum of Natural History	AMNH	95927	3D		UT-CT	Craneo destruido
L_bondensis	Colombia	Magdalena					University Of Michigan Museum of Zoology	UMMZ	48173	3D		Morphosource	
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Roldanillo				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV		3D		UT-CT	
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Roldanillo				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV		3D		UT-CT	
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Roldanillo				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV		3D		UT-CT	
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Roldanillo				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV		3D		UT-CT	
L_bondensis	Colombia	Atlántico					Museum of Comparative Zoology, Harvard University	MCZ	67930	3D		UT-CT	
L_bondensis	Colombia	Caldas	Florencia	5.52680	-75.04780	1627	Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	2809	2D			
L_bondensis	Colombia	Caldas	Florencia				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	3009	2D			
L_bondensis	Colombia	Caldas	La Dorada, Guarinocito				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	3781	2D			
L_bondensis	Colombia	Caldas	La Dorada, Guarinocito				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	3816	2D			
L_bondensis	Colombia	Caldas	La Dorada, Guarinocito				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	3851	2D			
L_bondensis	Colombia	Caldas	La Dorada, Guarinocito				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	3853	2D			
L_bondensis	Colombia	Caldas	La Dorada, Guarinocito				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	3876	2D			
L_bondensis	Colombia	Caldas	La Dorada				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	4660	2D			
L_bondensis	Colombia	Caldas	Florencia				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	4894	2D			
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Cerrito	3.68480	-76.31340	990	Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	5303	2D			
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Cerrito				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	5304	2D			
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Toro	4.58630	-76.11580	1200	Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	5583	2D			
L_bondensis	Colombia	Caldas	La Dorada, Guarinocito				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	6036	2D			
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Jamundi, Miravalle	3.25080	-76.57930	978	Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	6063	2D			
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Jamundi, Miravalle				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	6117	2D			
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Roldanillo	4.41640	-76.14444	927	Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	7288	2D	Holotipo		
L_bondensis	Colombia	Valle del Cauca	Roldanillo				Colección de Practicas Zoologicas, Universidad del Valle	CPZ-UV	7300	2D			
L_bondensis	Colombia	La Guajira	Universidad de la Guajira, Rioacha	11.54440	-72.90720		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	14499	2D			
L_bondensis	Colombia	Cordoba	Ayapel	8.31580	-75.14560		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	14520	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Bello	6.33342	-75.55929		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	14545	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Santa Fe de Antioquia				Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	14836	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Santa Fe de Antioquia				Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	14837	2D			
L_bondensis	Colombia	Sucre	San Onofre	9.72012	-75.68096		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	14975	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Sonson	5.83361	-74.76917		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	14977	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Venecia	5.95318	-75.84700		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15023	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Sopetran	6.48508	-75.76336		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15197	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Buritica	6.72115	-75.88082		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15198	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Sonson	5.90360	-74.85528		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15213	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Venecia	5.99966	-75.81817		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15226	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Liborina	6.71950	-75.85858		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15233	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Sopetran	6.45773	-75.79450		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15272	2D			
L_bondensis	Colombia	Cordoba	Ayapel	8.07905	-75.18127		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15310	2D			
L_bondensis	Colombia	Cordoba	Ayapel	8.07905	-75.18127		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15311	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Caucasia	8.00630	-75.19769		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15312	2D			
L_bondensis	Colombia	Cordoba	Ayapel	8.07760	-75.18256		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15313	2D			
L_bondensis	Colombia	Antioquia	Necolli	8.45268	-76.79707		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15315	2D			
L_bondensis	Colombia	Cordoba	Motelibano	7.92267	-75.54994		Museo de Historia Natural, Universidad de Antioquia	MHUA	15376	2D			
L_bondensis	Colombia	Norte de Santander	Cucuta	7.89391	-72.50782		Museo de la Salle, Bogotá	MLS	38	2D	Holotipo		
L_caracasensis	Venezuela	Distrito Capital	Urbanizacion Vista Alegre, Caracas	10.49129	-66.94983	936	Museo de Historia Natural La Salle	MHNLS	11782	2D			
L_caracasensis	Venezuela	Miranda	Altamira, Caracas	10.51111	-66.85	959	Museo de Historia Natural La Salle	MHNLS	11824	2D			
L_caracasensis	Venezuela	Miranda	Urbanizacion Macaraguay	10.47046	-66.81413	899	Museo de Historia Natural La Salle	MHNLS	15550	2D y 3D		PUCRS	
L_caracasensis	Venezuela	Distrito Capital	Cuartel Urdaneta, Caracas	10.50641	-66.95455	975	Museo de Historia Natural La Salle	MHNLS	514	2D y 3D	Holotipo	PUCRS	
L_caracasensis	Venezuela	Miranda	Sebucan, Los dos caminos, Caracas	10.50137	-66.83589	891	Museo de Historia Natural La Salle	MHNLS	7069	2D			
L_caracasensis	Venezuela	Distrito Capital	Caracas				Texas A&M University	TCWC	46275	3D		UTCT	Craneo destruido
L_petersii	Ecuador	Guayas	Guayaquil				Natural History Museum	NHM	1946.1.11.26	2D	Holotipo		
L_petersii	Ecuador						Staatliches Museum für Naturkunde Stuttgart	SMNS	2515	2D			
L_petersii	Ecuador	Esmeraldas	Esmeraldas	1.05	-79.09999		Pontificia Universidad Catolica de Ecuador	QCAZ	3855	2D			



■ *L. albirostris* ● *L. bondensis* ▲ *L. caracasensis*