Francisco Humberto Dal Vechio Filho

Revisão sistemática de *Bothrops bilineatus* (Serpentes:
Viperidae) com base em caracteres moleculares e
morfológicos

Review of *Bothrops bilineatus* (Serpentes, Viperidae)
based on morphological and molecular data

São Paulo
2014

Francisco Humberto Dal Vechio Filho

Revisão sistemática de *Bothrops bilineatus* (Serpentes: Viperidae) com base em caracteres moleculares e morfológicos

Review of *Bothrops bilineatus* (Serpentes, Viperidae) based on morphological and molecular data

Versão corrigida da dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Zoologia, na Área de Herpetologia.

Orientador: Miguel Trefaut Rodrigues

Aluno: Francisco Humberto Dal Vechio Filho

Orientador: Miguel Trefaut Rodrigues

São Paulo
2014

Dal Vechio, Francisco

Revisão sistemática de *Bothrops
bilineatus* (Serpentes: Viperidae) com base
em caracteres moleculares e morfológicos
147pp

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

1. Zoologia: 2. Herpetologia 3. Crotalinae.

Universidade de São Paulo. Instituto de
Biociências. Departamento de Zoologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr.(a).

Orientador(a): Miguel Trefaut Rodrigues

Dedico todo o trabalho empenhado
e meu sincero respeito
a minha querida e amada Irmã
e ao meu exemplar e espetacular Pai
Não chegaria até aqui sem o apoio de vocês

Agradecimentos

Primeiramente, esse trabalho não teria se concretizado sem o suporte e estímulo que minha família me oferece. Acredito que minha Vózinha ficaria orgulhosa em poder presenciar esse momento, infelizmente faleceu no período que eu estava terminando de redigir o texto...espero que ela sempre olhe por mim e me mande forças. Tenho a enorme felicidade de poder contar com uma Irmã que amo muito e que está sempre presente nas minhas ações e me orienta nos caminhos tortuosos!!! Tento me espelhar nas suas conquistas e quero aprender a cada dia com a simplicidade que leva a vida. Ao meu Pai devo tudo que tenho, sou muito grato por todo comprometimento e pelas dificuldades que enfrentou para poder me criar e por sempre me apoiar, não importando a situação. É a pessoa mais bondosa e espetacular que já conheci, agradeço muito por ter me ensinado lições morais e ter me educado na base da simplicidade, justiça, honestidade e bondade. Meu Pai e minha irmã são o que tenho de mais valioso na vida e sem eles não conseguiria realizar esse trabalho dissertativo e enfrentar as dificuldades encontradas.

Gostaria de agradecer ao Miguel que lá em 2010 me deu uma chance de poder trabalhar no seu laboratório e por todos os ensinamentos que desfrutei em sua presença. Ainda como aluno de iniciação, ele me mostrou um mundo que a muito sonhava em viver, me apresentou uma fauna inimaginável até o momento, críptica ao meu conhecimento. Não me sobrou outra opção a desejar aquilo por todos os segundos desde então.

Sem o apoio e ajuda dos amigos de laboratório, esse trabalho dissertativo teria sido apenas uma obrigação burocrática, agradeço muito a ajuda de todos por me acompanhar nessa jornada que para mim tornou-se uma tarefa prazerosa e empolgante, passando longe de ser chata e cansativa. Agradeço pelo companheirismo de todos e pelas ardentes

discussões intelectuais que tivemos nesse tantos anos, que me fizeram entender sobre o que é pesquisa e como articular um projeto.

Não posso deixar de destacar os nomes de alguns amigos que acredito que foram essenciais nessa trajetória. Recoder, Mauro e Marcão e Ivan foram os caras que sempre me pressionaram intelectualmente, aprendi muito com esses caras aí. Agradeço muito a vocês por tudo que me ofereceram e por todo aprendizado e irmandade que convivemos nesses últimos anos. Não posso falar do Recoder sem lembrar do Mauro e vice versa, são meus irmãos mais velhos, nunca vou esquecer o que esses caras fizeram por mim e por toda alegria compartilhada em campo e nas descobertas no laboratório. Nunca esquecerei do momento e alegria de quando achamos a primeira *Bothrops bilineatus* em campo, em Wenceslau Guimarães na Bahia....com certeza esse campo mudou a minha vida e me fez querer momentos eternos como esse por um longo período e se possível até o fim.

Esse trabalho dissertativo não teria acontecido sem a influência do Felipão e do Pedro Nunes, duas pessoas que admiro muito e me espelho academicamente. Na altura que os conheci, desenvolviam seus projetos como Pós-Doc no laboratório e foram as pessoas que me auxiliaram na pergunta inicial do projeto e me mostraram partes de diversos caminhos que eu poderia tomar. Agradeço por me encorajarem no caminho que acredito ter sido o mais complicado na época, no entanto o que queria trilhar. Atualmente, ambos são pesquisadores em universidades federais, o que me incentiva a acreditar que se eu trabalhar como eles, poderei realizar sonhos equivalentes.

Uma dissertação não é feita sozinha, pelo menos essa não foi, desse modo agradeço muito a todos que me ajudaram com as técnicas laboratoriais e análises de dados: Recoder com os dados morfológicos; Ivan, Maíra, Rê Ceci, Bia com o molecular; Pedro Nunes com

hemipênis e osteológico; Ênio e Phillip com o osteológico. Agradeço também, o comprometimento de todas as pessoas que em campo procuraram incansavelmente um exemplar para que eu pudesse adicionar nas minhas análises. Dentre tantos nomes gostaria de destacar alguns, em que a vontade era estampada nos olhos e me ajudaram muito com diversos indivíduos: Recoder, Mauro, Marcão, Ivan, Pedro Peloso, Sergio bogão, Cassimiro, Luís Storti, José Mario, Renato Gaiga, Pedro Dias e todo pessoal do Jirau.

Não posso deixar de ressaltar a importância dos museus e curadores e técnicos curadores que disponibilizaram material para as análises moleculares e morfológicas, sem eles esse trabalho não seria viável. Assim agradeço ao pessoal do Museu de Zoologia da USP (MZUSP)-Hussam Zaher, Carol Mello, Beto e Felipe Grazziotin; ao Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG)-Ana Prudente e João Fabrício; Museu de Zoologia da Universidade de Santa Cruz (MZUESC) e Ceplac-Argolo e Tadeu; Universidade do Mato Grosso (UFMT)-Felipe Curcio; Museu da Universidade Federal do Alagoas (MUFAL)-Tami Mott, Barnagleison Lisboa, Selma Torquato, Ingrid Tiburcio e Neto Vieira; Faculdade Integradas do Tapajós (FIT)-Hipócrates Chalkidis, Diana Amazonas e Livia Carla Chagas; Instituto de Pesquisa da Amazônia (INPA)-Albertina Lima, Richard Vogt e Vinícios Carvalho; Universidade de São Paulo (USP)-Taran Grant; Universidade Federal do Acre (UFAC)-Moisés Barbosa. Coleção de Serpentes da Fundação Ezequiel Dias (Funed)-Flávia Cappucio de Resende; Museu de Ciências e Tecnologia – PUCRS (MCP)-Glaucia Maria Funk Pontes; Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC)-Paulo Roberto Manzani; Museu Nacional Rio de Janeiro (MNRJ)-Paulo Passos e Pedro Pinna; Universidade Federal do Amapá (UFAP)-Jucivaldo Lima; Universidade Federal de Rondônia (UFRO)-Kayena Delaix Zaqueo; Universidade Federal do Maranhão (UFMA)-

Dante Pavam; Antoine Fouquete-Guiana Francesa; Royal Belgian Institute of Natural Sciences-Philippe Kok; Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales-Marco Altamirano e Manuel Morales; Museo Nacional de Ciencias Naturales Madri-Santiago Castroviejo, Jose Padial e Beatriz Alvarez; CORBIDI, Peru-Germán Chaves.

Acredito que uma dissertação não é construída apenas nas árduas horas no laboratório e nas longas noites escrevendo e analisando dados, por isso sou muito grato aos meus amigos que me proporcionavam momentos eternos de descontração, me davam força e energia pra continuar no dia seguinte. Sou grato aos amigos de graduação, Flávio, Dri, Pulga, Henrique, Dani, Azeitona que me seguiram e me apoiaram nos primeiros passos na herpetologia. Sou extremamente grato ao Recoder que me apresentou um novo ciclo social, com pessoas descontraídas, animadas e interessantes, tive a enorme felicidade de conhecer pessoas excelentes e bondosas e conviver intensamente com o a granja: Recoder (frango Sarraceno), Zé (Frangão) e Carolzinha (Rainha da Angola) e o Paco (Tuiuiui), que realmente me fizeram enxergar a vida com mais alegria e tornaram os meus últimos 3-4 anos nos melhores que pude viver até agora. Já não consigo imaginar trilhar minha jornada sem a presença deles, sou muito grato de ter tido a oportunidade de conviver e fazer parte da granja.

Não poderia deixar de agradecer o auxílio financeiro da FAPESP que desde o início da minha carreira acadêmica, lá na iniciação, apoia a minha pesquisa; sem a verba disponibilizada pela FAPESP não teria sido possível a coleta de dados e a realização dessa dissertação. Agradeço também a Capes e o CNPq pelo financiamento de projetos universais do laboratório e pela verba destinada a coleta de campo e de dados em museus.

Índice

I - Introdução	11
II - Objetivos	15
III - Materiais e Métodos	16
1. Dados Moleculares	16
1.1 Filogenia Molecular	16
1.2 Datação Molecular	20
1.3 Rede de Haplótipos	25
2. Dados Morfológicos	25
2.1 Morfologia Hemipeniana	25
2.2 Morfologia Externa e Morfometria	27
2.3 Osteologia Craniana	27
2.4 Análise dos Dados Morfológicos	28
IV - Resultados	29
1. Filogenia e Relações Filogeográficas	
Baseadas em Dados Moleculares	29
2. Datação Molecular	33
3. Morfologia Hemipeniana	34
4. Morfologia Externa e Morfometria	39
5. Osteologia Craniana	42
V - Discussão	49
1. Filogenia	49

2. Filogeografia, Morfologia Externa, Hemipeniana e Osteológica	51
3. Biogeografia	57
4. Questões Taxonômicas	62
5. Chave de identificação	64
VI - Conclusões	66
VII - Resumo	69
VIII - Abstract	70
IX - Referências Bibliográficas	72
X - Material Examinado	81
XI - Anexos	84
XII - Biografia	87
XIII - Tabelas	90
XIV - Figuras	114

Introdução

Diversos trabalhos baseados em dados moleculares têm recuperado os crotalíneos do Novo Mundo como uma linhagem monofilética, que teria colonizado a América do Norte, a partir de ancestrais asiáticos, possivelmente via Estreito de Bering, em um evento único (Gutberlet & Harvey 2002; Parkinson *et al.* 2002; Castoe & Parkinson 2006; Wuster *et al.* 2008). Essa linhagem teria se diversificado por todo continente americano nos últimos 10-15 milhões de anos, originando os 12 gêneros reconhecidos atualmente (Campbell & Lamar 1989, 2004; Wuster *et al.* 2008).

Os crotalíneos no novo mundo vêm sendo alvo de intenso interesse nas últimas décadas: diversas propostas filogenéticas têm sido apresentadas para o grupo (Castoe & Parkinson 2006; Wuster *et al.* 2008; Fenwick *et al.* 2009; Carrasco *et al.* 2012) e diversos gêneros estão sob intensa investigação filogenética e filogeográfica, sob diferentes fontes de informação (morfológica, hemipeniana e molecular), o que vem ajudando no entendimento dos padrões de diversificação e auxiliando a sistemática/taxonomia do grupo (Zamudio & Green 1997; Wuster *et al.* 1999, 2005; Gutberlet & Campbell 2001; Puerto *et al.* 2001; Quijada-Mascareñas *et al.* 2007; Guiher & Burbrink 2008; Silva & Rodrigues 2008; Fenwick *et al.* 2009; Jadin *et al.* 2010, 2011a, 2011b; Carrasco *et al.* 2012; Machado *et al.* 2014).

Bothrops é um desses gêneros de crotalíneos, distribuindo-se amplamente pela América Latina, com principal diversificação nas paisagens da América do Sul, ocorrendo em ambientes florestados, secos e abertos, quentes ou frios, montanhosos florestados ou rochosos, ilhas oceânicas; e ocupando diferentes estratos ecológicos: arborícolas, semi-arborícolas e terrestres (Martins *et al.* 2001; Campbell & Lamar 1989, 2004). Alguns

trabalhos filogenéticos vêm investigando as relações de parentesco entre as espécies do gênero, no entanto há incongruência entre as diferentes bases de dados de morfologia externa e molecular (Fenwick et al. 2009; Carrasco et al. 2012). Caracteres hemipênicos e osteológicos, apesar de extremamente variáveis e informativos para os crotalíneos (Bramttsrom 1964, Guo et al. 2009, 2010; Jadin et al. 2009, 2011) são subutilizados nas revisões e proposições filogenéticas envolvendo *Bothrops*, havendo poucos trabalhos descritivos e comparativos sobre a variação desses caracteres nos diferentes grupos do gênero ou mesmo como se comportam a nível intra-específico.

Quarenta e quatro espécies são classificadas em seis grupos diferentes – *alternatus*, *jararaca*, *neuwiedi*, *atrox*, *jararacussu* e *taeniatus* (Wuster et al. 2002, Carrasco 2012). O grupo *taeniatus*, também tratado como um gênero a parte – *Bothriopsis* - em diversos trabalhos, é recuperado como monofilético desde as primeiras hipóteses filogenéticas propostas para os crotalíneos (Cadle 1992; Werman 1992; Kraus et al. 1996; Salomão et al. 1997, 1999; Vidal et al. 1997; Parkinson 1999; Gutberlet & Campbell 2001; Parkinson et al. 2002; Wuster et al. 2002; Castoe & Parkinson 2006; Fenwick et al. 2009; Carrasco et al. 2012). Seis espécies exclusivas de ambientes florestados são alocadas ao grupo, as restritas às cadeias montanhosas dos Andes e ao norte da Venezuela - *B. pulchra*, *B. chloromelas*, *B. oligolepis* e *B. medusa* - e as simpátricas/sintópicas e amplamente distribuídas pelas terras baixas amazônicas - *B. bilineatus* e *B. taeniatus* (Campbell & Lamar 1989, 2004). As relações de parentesco entre as espécies do grupo ainda são duvidosas, uma vez que *B. medusa* e *B. oligolepis* não foram ainda investigadas molecularmente.

Bothrops bilineatus foi descrita como *Cophias bilineatus* pelo príncipe Wied (1825) com base em dois exemplares, sem localidade específica, apenas como “*Brasilien*”,

posteriormente restringida a “Vila Viçosa (Marobá), Rio Peruhype, Bahia” por Hoge & Lancini (1962). Em 1966, quando frequente o uso de sub-espécies para designar raças alopátricas, Hoge descreve a sub-espécie *B. b. smaragdinus* para o Alto Rio Purus, Acre, cuja diagnose seria a presença de supralabiais e infralabiais verdes e sem barras (amarela e com barras em *B. b. bilineatus*), faixas ventro-laterais descontínuas (*versus* contínua), menor número de escamas dorsais ao redor do corpo, ausência de pintas dorsais dourado-alaranjadas e escamas das cabeça fortemente pigmentadas. Essa sub-espécie se distribuiria pela porção oeste da Amazônia – oeste do Brasil, Peru, Bolívia, Equador e possivelmente Colômbia (Hoge 1966).

No entanto, a diagnose proposta por Hoge causa certa confusão taxonômica, como visto na identificação das sub-espécies em Bernardes *et al.* (2011) e observação pessoal, com os indivíduos do centro-oeste da Amazônia apresentando características intermediárias a ambas as sub-espécies (ex. presença de pintas dorsais alaranjadas e supra/infralabiais verdes ou supra/infralabiais verdes e linhas ventro-laterais contínuas).

A outra sub-espécie, *B. b. bilineatus*, possuiria distribuição disjunta, ocorrendo na Amazônia (Escudo das Guianas, Amazônia centro-leste até o Maranhão) e Mata Atlântica (Pernambuco até Rio de Janeiro) (Campbell & Lamar 1989, 2004; Feio & Caramaschi 2002; Dias *et al.* 2009; Bernarde *et al.* 2011). Esse padrão de distribuição realça um interessante problema biogeográfico, que é a conexão pretérita da Mata Atlântica com a Amazônia, constatada para diferentes grupos de fauna e flora (Aves: Cabanne *et al.* 2008, Batalha-Filho *et al.* 2012; Mamíferos: Vivo 1997; Costa 2003; Lagartos: Pellegrino *et al.* 2011, Prates *et al.* 2015; Plantas: Martini *et al.* 2007) e que para alguns casos tem sido

explicada no contexto da teoria de refúgios (Vanzolini & Williams 1970), com as mudanças climáticas do Quaternário.

Essa teoria sugere que durante períodos passados frios e secos, as florestas se retraíam, ao passo que em períodos quentes e úmidos se expandiriam, possibilitando o contato entre os dois domínios e o intercambio faunístico, o que favoreceria a especiação de linhagens, tanto de áreas florestadas como de áreas abertas (Vanzolini & Williams, 1981). De acordo com as informações biogeográficas apresentadas por Wuster *et al.* (2002, 2005, 2008), Werman (2005) e Castoe & Parkinson (2006) o Mioceno médio-tardio (15 – 5 milhões de anos atrás) teria sido um importante período na diversificação e separação dos grupos em *Bothrops*, sendo o Plio-Pleistoceno marcado pela diversificação específica dentro dos grupos (Wuster *et al.* 2002, 2008; Machado *et al.* 2014), possivelmente associado com as mudanças paleoclimáticas e topográficas ocorridas no período (Hoorn *et al.* 2010).

Bothrops taeniatus é a outra espécie do grupo taeniatus amplamente distribuída pela Amazônia, porém, ao contrário de *B. bilineatus*, não ocorre na Mata Atlântica, fato interessante considerando que atualmente essas espécies podem ser encontradas em simpatria, ou mesmo em sintopia, pelo bioma amazônico, sugerindo um processo de diversificação diferente do de *B. bilineatus*. *Bothrops taeniatus* foi descrita por Wagler em 1824 sem localidade específica, sendo restringida por Hoogmoed & Gruber (1983) para entre a boca do Rio Tajapuru e boca do Rio Negro. O holótipo da espécie já não mais existe, sendo o holótipo de *Bothrops castelnaudi* designado como neótipo de *B. taeniatus* (Hoogmoed & Gruber 1983), assim *B. taeniatus* (Wagler 1824) teria prioridade taxonômica sobre *B. castelnaudi* (Duméril, Bibron e Duméril 1854). Os autores tomaram esta decisão

taxonômica basendo-se na prancha original do manuscrito de Wagler (1824), comentando que a única espécie amazônica com tal padrão de colorido seria *Bothrops castelnaudi* descrita do estado de Goiás, provavelmente de algum lugar entre a fronteira dos estados do Tocantins-Mato Grosso-Pará. Ainda com relação à taxonomia de *B. taeniatus*, Roze (1958) descreve *Bothrops lichenosa* do Estado de Bolívar, Venezuela, que foi posteriormente alocada como sub-espécie de *B. castelnaudi* por Hoge & Romano-Hoge (1981) e posteriormente como sub-espécie de *B. taeniatus* no manuscrito mencionado acima de Hoogmoed & Gruber (1983).

Objetivos

Desse modo, os objetivos desse trabalho dissertativo são:

1. Testar a validade das duas sub-espécies atualmente reconhecidas para *Bothrops bilineatus*, utilizando-se de diversas fontes de variáveis: morfológicas (caracteres morfométricos, merísticos, qualitativos), hemipenianas e osteológicas, além de caracteres moleculares (marcadores mitocondriais e nucleares);
2. Verificar a congruência entre as diferentes bases de dados, reconhecendo e delimitando as linhagens encontradas nas análises;
3. Testar a possível linhagem ancestral e a rota de colonização da Mata Atlântica, estimando o tempo de divergência entre as populações que ocorrem disjuntamente nesse bioma das que se distribuem pela Amazônia;
4. Comparar a variação molecular e hemipeniana encontrada em *Bothrops bilineatus* com a presente na espécie filogeneticamente próxima *B. taeniatus* e as existentes nos outros grupos de espécies do gênero.

Materiais e Métodos

1. Dados Moleculares

1.1 Filogenia Molecular

Dados moleculares foram utilizados para investigar as relações filogenéticas entre os grupos de espécies e as filogeográficas entre as diferentes populações *Bothrops bilineatus* e *B. taeniatus*; assim como a divergência genética par-a-par acumulada entre linhagens intra-específicas ou espécies nominais. Para isso, amostras de tecido (fígado, escama ou muda de pele) preservados em etanol 100% foram utilizadas para a extração de DNA (Fetzner 1999). Foram utilizados nove marcadores gênicos para as análises moleculares, sendo quatro mitocondriais – os ribossomais 16S e 12S (Palumbi 1996) e os codificadores de proteína ND4 (Arévalo *et al.* 1994) e CYTB (Pook *et al.* 2000); e cinco marcadores nucleares C-mos (Godinho *et al.* 2006), Rag1 (Wiens *et al.* 2008) PRLR, BDNF, MKL1 (Townsend *et al.* 2008). Todos os fragmentos gênicos foram amplificados seguindo protocolo padrão de PCR, com ciclo inicial a 94°C por 5 min, seguido de 35 ciclos (94°C por 40 segundos; X°C por 40 segundos; 72°C por 40 segundos) e um ciclo final de extensão por 7 min a 72°C; em que X representa a temperatura de anelamento de 49°C para ND4; 51°C para 16S, Cytb, PRLR e Rag1; 52°C para C-mos; 54°C para 12S e MKL1; 55°C para BDNF. O produto da PCR foi purificado com Exonuclease I e SAP (Shrimp Alkaline Phosphatase) (USB ou Fermentas) e utilizado na reação de BigDye Terminator v3.1 seguindo o protocolo sugerido pelo Kit (Applied Biosystems). As amostras foram sequenciadas utilizando sequenciadores automáticos ABI Prism 310 ou 3700, presentes no Instituto de Química da Universidade de São Paulo e Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. As sequências resultantes foram manualmente

editadas utilizando o programa CodonCode Aligner v. 3.7.1.1. (<http://www.codoncode.com>) e alinhadas sob algoritmo MUSCLE implementado no programa MEGA v. 6, com parâmetros padrão (Tamura *et al.* 2011). Os fragmentos gênicos codificadores de proteína, ND4, Cytb, C-mos e PRLR, Rag1, BDNF, MKL1, foram transformados em sequências de aminoácidos para conferir o alinhamento.

Foi obtido o melhor modelo de evolução para cada marcador gênico usando o programa jModelTest v. 2.1.3 sob o critério de seleção AIC (Akaike Information Criterion), resultando o modelo GTR+I+G para todos os marcadores mitocondriais; HKY para o marcador nuclear C-mos, RAG1 e BDNF; HKY+I para MKL1; e GTR+I para PRLR.

Foram utilizadas três estratégias para reconstrução filogenética com base nos fragmentos gênicos: 1. produzir árvores únicas para cada fragmento (gerada apenas na Inferência Bayesiana); 2. concatenar os fragmentos gênicos mitocondriais; e 3. concatenar todos fragmentos gênicos numa única matriz. Essas estratégias foram escolhidas face à grande diferença em taxa de evolução (mutação) apresentada entre os marcadores mitocondriais e nucleares, sendo os primeiros muito mais variáveis; e pelo fato de existir apenas informação sobre marcadores mitocondriais na literatura para *Bothrops*. As árvores para cada fragmento possibilitam verificar a existência de divergência no posicionamento dos terminais e no relacionamento entre clados, além de possibilitar identificar possíveis eventos de hibridização entre linhagens ou introgressão genética.

Não havendo informação filogenética disponível baseada em marcadores nucleares para o gênero *Bothrops*, foi necessário produzir uma árvore para posicionamento das populações de *B. bilineatus* e *B. taeniatus* e das outras espécies do gênero. Desse modo, foram sequenciadas amostras de DNA de algumas espécies dos principais grupos

reconhecidos – grupo atrox: *B. atrox*, *B. moojeni* e *B. leucurus*; grupo jararacussu: *B. jararacussu*, *B. brazili* e *B. pirajai*; grupo neuwiedi: *B. neuwiedi*, *B. pauloensis*, *B. lutzi*, *B. erythromelas* e *B. matogrossensis*; grupo jararaca: *B. jararaca*; e do grupo taeniatus: *B. taeniatus*, *B. bilineatus* e *B. pulcher* (Tabela 1). Como grupo externo a *Bothrops* foram sequenciados *Bothrocophias hyoprora*, *Lachesis muta* e *Crotalus durissus*. Esse material também foi utilizado na produção das árvores mitocondriais, com adição das sequências disponíveis no GenBank. Para as árvores mitocondriais foram utilizados os seguintes táxons como grupo externo: *Lachesis muta*, *Crotalus durissus*, *Botriechis schlegelii*, *Cerrophidion godmani*, *Porthidium porrasi*, *Bothrocophias microphthalmus* e *B. hyoprora* (Tabela 1 para as espécies utilizadas nas análises filogenéticas).

O alinhamento concatenado de todos os marcadores consistiu de uma matriz com 5755 pb: 12S = 397 pb (147 sítios variáveis e 114 parcimoniosos); 16S = 534 pb (117 sítios variáveis e 77 parcimoniosos); Cytb = 737 pb (373 sítios variáveis e 304 parcimoniosos); ND4 = 796 pb (372 sítios variáveis e 317 parcimoniosos), BDNF = 570 pb (10 sítios variáveis e 1 parcimonioso); C-mos = 577 pb (16 sítios variáveis e 15 parcimoniosos); PRLR = 578 pb (64 sítios variáveis e 23 parcimoniosos); MKL1 = 759 pb (32 sítios variáveis e 24 parcimoniosos); Rag1 = 808 pb (13 sítios variáveis e 11 parcimoniosos).

Para as reconstruções das relações filogenéticas utilizou-se de três diferentes abordagens:

1) Inferência Bayesiana (IB): utilizando-se das três estratégias acima citadas, sendo as análises rodadas no programa MrBayes v. 3.2 (Ronquist *et al.* 2012), disponível *on line* no Site Cipres Science Gateway - <http://www.phylo.org/> (Miller *et al.* 2010). Para cada uma das três estratégias de reconstrução filogenética adotadas, foram incluídas partições

referentes ao modelo de evolução selecionado e à quantidade de genes utilizados. Em cada análise foram geradas duas corridas Bayesianas independentes com quatro cadeias de Markov cada, iniciando com uma árvore aleatória. Cada corrida consistiu de 10.000.000 gerações, com árvores amostradas a cada 1.000 gerações, resultando em 10.000 árvores; com 25% das árvores iniciais descartadas como *burn in*; a convergência das corridas independentes e escores para ESS foram observados utilizando o programa Tracer v. 1.5 (Rambaut & Drummond 2009). As árvores de consenso, assim como as Probabilidades Posteriores (PP) para os nós foram visualizadas no programa FigTree 1.4.0 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/>), sendo considerados significantes valores superiores ou iguais a 0.95 para PP;

2) Máxima Parsimonia (MP): com duas estratégias diferentes (concatenação dos fragmentos mitocondriais e concatenação dos fragmentos mitocondriais + nucleares), sendo as análises geradas com o algoritmo de busca heurística *tree bisection reconnection* (TBR) e 1.000 *bootstraps* para supote nos nós (Felsenstein 1985), no programa TNT 1.1 (Goloboff *et al.* 2008; disponível em <http://www.zmuc.dk/public/phylogeny/TNT/>), recuperando uma única árvore, originada das mais parcimoniosas submetidas ao consenso estrito;

3) Máxima Verossimilhança (ML): também com duas diferentes estratégias (concatenação dos fragmentos mitocondriais e concatenação dos fragmentos mitocondriais + nucleares). As análises foram geradas com 1000 réplicas de *bootstrap*, rodadas no programa RaxML (Stamatakis 2006) disponível *on line* no Site Cipres Science Gateway - <http://www.phylo.org/> (Miller *et al.* 2010). Os fragmentos gênicos foram particionados, no entanto, o programa aceita apenas o modelo de evolução GTR como opção, sendo assim utilizado para todas as partições.

As distâncias genéticas não corrigidas (p-distance) foram calculadas no programa MEGA v. 6, com a escolha da opção *Pairwise Deletion* que auxilia desconsideração ou não de sítios com excesso de *gaps* (Tamura *et al.* 2011).

1.2 Datação Molecular

Para as datações moleculares, utilizou-se da opção relógio relaxado implementado no programa BEAST v. 4.1.7 (Drummond & Rambaut 2007), que permite adicionar múltiplos registros fósseis e eventos históricos como pontos de calibração entre as linhagens, rodados numa análise Bayesiana. O uso de fósseis pode prover informação valiosa nas análises de datação uma vez que fornece limite mínimo de idade para a existência de uma determinada linhagem, enquanto os eventos geológicos fornecem um limite máximo (Weir & Schluter 2008). No entanto, o uso do registro fóssil é problemático por se apresentar de forma imprecisa e não oferecer informação acerca do limite máximo de ocorrência de uma determinada linhagem.

Por isso a tomada de decisão sobre a idade do fóssil assim como seus limites mínimo e máximo é crucial para sua utilização nas análises. Para tanto, utilizou-se os *prior* oferecidos pelo BEAST, que permitem adicionar probabilisticamente a faixa de ocorrência do nó dentro dos limites de idade utilizados para cada ponto de calibração, adicionando as incertezas de datação encontradas no registro fóssil. Uma curva LOGNORMAL com início zero na data do registro fóssil foi utilizada para o ponto de calibração fóssil. O limite máximo de idade para o ponto de calibração é subjetivo assim como os parâmetros utilizados na curva, sendo de extrema importância seu uso de forma criteriosa. Dependendo

da mudança feita nos parâmetros dos *priors*, o intervalo de idade nos nós pode ser bem restrito, levando a impressão equivocada de precisão.

Ao se utilizar de eventos geológicos como pontos de calibração, deve-se utilizar uma curva NORMAL, que é mais realista para esse tipo de informação, refletindo as incertezas do tempo de divergência das linhagens envolvidas no nó e a data do evento biogeográfico.

Assim, foram adicionados inúmeros terminais, diversos viperídeos e elapídeos, à matriz utilizada nas análises filogenéticas (acima citado), com a finalidade de alocação dos pontos de calibração (Tabela 2, para espécies e marcadores gênicos utilizados; ver abaixo os pontos de calibração).

A fim de estimar o tempo de divergência entre as linhagens encontradas em *Bothrops bilineatus* e *B. taeniatus*, foram utilizados os seguintes pontos de calibração:

1. *Porthidium nasutum* – gênero diversificado na América Central, de hábito terrestre, que provavelmente colonizou o norte da América do Sul após o soerguimento do Istmo do Panamá. As divergências genéticas entre populações da Costa Rica e Colômbia foram utilizadas para acessar o tempo de separação entre essas linhagens. Foi modulada uma curva normal com média em 3.5 Ma e desvio padrão de 1.
2. *Lachesis muta/L.stenophrys* – crotalíneos terrestres de grande porte que também teriam colonizado a América do Sul via fechamento do Istmo do Panamá, desse modo foram utilizados os mesmos parâmetros do item anterior para modular a curva.
3. *Crotalus durissus* – crotalíneo terrestre com grande diversidade paleoártica com posterior colonização da América Central e do Sul, provavelmente pelo mesmo evento geológico dos itens 1 e 2.

4. *Bothrops asper* – gênero diverso na América do Sul, que diferente das situações acima, num sentido inverso, colonizou a América Central após completo soeiguimento do Ístmo. No entanto, os mesmo parâmetros foram utilizados para a modulação da curva normal.
5. *Bothrops/Botrocophias* – Há diversos registros fósseis recentes para *Bothrops*, em torno de dezenas a centenas de milhares de anos (Albino 1999, Camolez & Zaher 2010). Entretanto o fóssil mais antigo e inquestionável para o gênero é um pedaço do osso composto da mandíbula, descoberto em La Plata, Província de Buenos Aires, Argentina do médio Pleistoceno (~1 Ma) (Scanferla & Nenda 2005). Diversos fragmentos fósseis de vértebra foram descobertos do Mioceno Tardio e Plioceno (Albino 1989, Albino & Montalvo 2006), mas não levam identificação genérica (Viperidae indeterminado e aff *Bothrops*) e por isso não foram utilizados. Assim, 1 Ma foi usada como data zero na curva lognormal com limite máximo de 20 Ma (data aproximada calculada por Wuster et al (2008) para colonização da América do sul pelo ancestral de *Bothrops/Botrocophias*, média de 5.48 Ma e desvio padrão de 0.8 e Log média de 1.5.
6. *Sistrurus/Crotalus* – o registro fóssil mais antigo do gênero *Sistrurus* é do Clarendoniano tardio 13.6 – 10.3 Ma (Webb et al. 1981, Korth 1998), inclusive no mesmo extrato geológico é identificado um fóssil como cf. *Crotalus*. Logo, o ancestral comum entre esses gêneros é mais antigo, sendo modulada uma curva lognormal com zero em 10.3 Ma e máximo de 24.3 Ma, com 95% dos pontos amostrados nessa faixa; média de 13 Ma e desvio padrão de 0.7 e Log média de 1.

7. *Crotalinae* – o registro fóssil mais antigo representando a sub-família é do médio Mioceno (16.4 Ma) (Hemingfordiano; Holman 2000), sendo essa data usada como zero na curva lognormal e limite máximo de 45.6 Ma que representa a idade calculada para divisão das sub-famílias *Crotalinae*/*Azemiopinae* (Wuster *et al.* 2008); desvio padrão de 0.8 e média de 23.79 Ma e Log média de 2.
8. *Daboia/Vipera* – Foi encontrado na Rússia o fóssil mais antigo para o gênero *Daboia*, pertencendo do médio Mioceno 13.7 - 12.8 Ma (Kharabadze 1997). Apesar de haver outros inúmeros registros fósseis de *Vipera*, amplamente distribuídos pela Europa sendo mais antigos (16 - 23 Ma) que os de *Daboia* (Heizmann 1983, Ziegler 1990, Szyndlar & Rage 1999, Hossini & Rage 2000; Gohlich 2003), eles não foram utilizados devido a parafilia encontrada em *Vipera* (Lenk *et al.* 2001, Garrigues *et al.* 2005) com criação recente de diversos gêneros, o que leva incredibilidade da identificação genérica dos fósseis. A curva lognormal foi modulada com zero em 12.8 Ma e máximo 40 Ma (idade calculada por Wuster *et al.* (2008) para separação dos “true vipers” da grande irradiação de viperíneos africanos; média de 20.2 Ma e desvio padrão de 0.7 e Log Média de 2.
9. *Macrovipera/Montivipera* – o primeiro aparecimento de *Macrovipera* no registro fóssil é do médio Mioceno 12.7 - 11.6 Ma (Venczel & Stiucă 2008), encontrado na Romênia, logo o ancestral comum dos gêneros é mais antigo. Sendo usado 11.6 Ma como zero e 30 Ma como máximo (idade calculada por Wuster *et al.* (2008) para separação entre a irradiação africana e a dos “true vipers” euro-asiáticos); média de 14.3 Ma e desvio padrão de 0.6 e Log Média de 1.

10. *Bitis/Atheris* – registro mais antigo de *Bitis* provém de um fóssil encontrado na Namíbia do início-médio Mioceno (23 – 11.6 Ma) (Pickford *et al.* 1996), sendo usado o valor de 23 Ma com zero e idade máxima de 45 Ma (idade máxima calculada por Wuster *et al.* (2008) para separação da sub-família viperinae/(azemiopinae+crotalinae); média de 28.5 Ma e desvio padrão de 0.8 e Log Média de 1.7.
11. Viperidae – registro fóssil mais antigo da família foi encontrado na Europa (Bavaria, Alemanha) e remota do Oligoceno tardio - início do Mioceno 28.4 - 23.8 Ma (Rage 1982, Engesser & Storch 2008). Foi utilizada a data de 28.4 Ma como zero para a divisão da família com os outros colubroídeos, com limite máximo de 75.1 Ma que representa a idade máxima calculada por Wuster *et al.* (2008) para a divisão dos viperídeos com as outras famílias dentro dos colubroídeos. Desvio padrão de 0.8 e média de 40.6 Ma e Log Média de 2.5.
12. *Naja/Bungarus* – fósseis mais antigos conhecido de gênero *Naja* são do médio Mioceno 20–16 Ma, da Alemanha, França e Espanha (Szyndlar & Schleich 1993, Ivanov 2000, Szyndlar & Alférez 2005), sendo usada a data de 20 Ma como zero e limite de 40 Ma, idade calculada para a divisão das famílias Elapidae e Lamprophiidae (Wuster *et al.* 2008). Desvio padrão de 0.7 e média de 24.5 Ma e Log Média de 1.5.

As divergências nos nós foram estimadas através do relógio relaxado implementado no BEAST v .1.8 (Drummond & Rambaut 2007), através de 10^8 gerações, com opção “Yule branching” selecionada; sendo amostrada uma árvore a cada 10.000 gerações e descartadas 25% das iniciais. Os alinhamentos dos diferentes genes foram particionados e atribuído a cada, seu melhor modelo de evolução, calculado previamente no programa JmodelTest sob o critério AIC, do mesmo modo que feito para as análises Bayesianas.

Sendo o GTR+G+I o melhor modelo escolhido para todos os genes mitocondriais (12S, 16S, Cytb e ND4); GTR para o BDNF; GTR+G para o PRLR; HKY+G para C-mos e MK11 e HKY+I para o Rag1. A convergência foi verificada no Tracer 1.5 (Rambaut & Drummond 2007), sendo atribuído como efetivo valores acima de 200 para ESS.

1.3 Análise da estrutura populacional – Rede de haplótipos (RH)

Para as análises populacionais foram utilizadas apenas sequências obtidas de *Botrops bilineatus* (Tabela 2). Os haplótipos foram gerados para cada um dos 9 genes utilizados nas análises (4 mitocondriais e 5 nucleares), através do algoritmo PHASE, com 1.000 réplicas e 100 como *burn in* (Stephens *et al.* 2001, Stephens & Donnelly 2003) implementado no programa DnaSP 5.10 (Librado & Rozas 2009). Esse programa também foi utilizado para o cálculo do número de sítios polimórficos (SP), número de haplótipos (H), índice diversidade haplotípica (DH) e índice de diversidade nucleotídica (π) (Tabela 16). As redes haplotípicas foram geradas utilizando o algoritmo *Median Joing* (Bandelt *et al.* 1999) implementado no programa Network (Fluxus Technology, disponível em <http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>).

2. Dados Morfológicos

2.1 Morfologia Hemipeniana

Os hemipênis foram preparados seguindo o protocolo proposto por Manzani & Abe (1988), modificado de Pesantes (1994) e Zaher (1999). Foi realizada uma incisão na base da cauda e, cirurgicamente, os hemipênis foram extraídos e quando necessário evertidos manualmente. Tanto os órgãos evertidos como invertidos foram deixados em solução

básica de KOH por alguns minutos (variável com o tamanho do hemipênis e qualidade do material) até o tecido ficar maleável; excesso de pleura e tecido conjuntivo foram retirados e o músculo retrator manualmente separado e cortado próximo à sua ligação com o ápice do lobo do hemipênis.

Após total eversão, do órgão foi deixado imerso *overnight* (período aproximado de 14-18hs) em solução alcoólica de Alizarina Vermelha com a finalidade de corar eventuais estruturas calcificadas (espículas ou espinhos), como proposto por Uzzell (1973) e Harvey and Embert (2008), adaptado por Nunes *et al.* (2012). No dia seguinte, o órgão foi lavado com etanol 70% e água para retirada do excesso de alizarina impregnada no tecido, deixando apenas as estruturas calcificadas marcadas de vermelho. Após as lavagens, o órgão pôde ser preenchido; a solução de preenchimento é constituída de parafina e vaselina, sendo líquida na água fervente e pétrea a temperatura de degelo. Os hemipênis foram preenchidos com solução de vaselina+parafina dentro da água fervente e assim que totalmente preenchidos, passados rapidamente para a água gelada. A terminologia empregada segue a proposta por Dowling and Savage (1960), Savage (1997) e Zaher (1999) para a descrição hemipeniana.

Foram preparados 18 hemipênis de *Bothrops bilineatus*; procurou-se abranger toda distribuição geográfica da espécie a fim de verificar variação intra-específica (Tabela 3). Adicionalmente, com finalidade comparativa entre os diferentes grupos do gênero e visando a busca de caracteres, foram ainda preparados hemipênis de exemplares dos grupos jararaca, neuwiedi, jararacussu e atrox e de *Bothrops taeniatus*.

2.2 Morfologia Externa e Morfometria

Foram tomadas 19 medidas morfométricas, 27 caracteres merísticos e 14 qualitativos (Anexo 1 para lista dos caracteres), utilizando-se para isso paquímetro digital (medidas até 150 mm) ou régua metálica de 60cm (quando necessário foi utilizado uma linha não extensível para medidas dos espécimes não fixados em posição horizontal) e estereo-microscópio. Escamas em posição simétrica foram contadas apenas no lado direito dos exemplares. Todos os caracteres selecionados foram baseados nos trabalhos existentes para o gênero (Werman 1992; Silva 2000, 2002; Gutberlet & Harvey 2002; Da Silva & Rodrigues 2008; Fenwick *et al.* 2009; Carrasco *et al.* 2012), adicionados de alguns que poderiam apresentar potencial diagnóstico. Foram analisados 218 indivíduos (ver lista de material examinado).

2.3 Osteologia Craniana

Quinze exemplares de *Bothrops bilineatus* foram escaneadas com o Microtomógrafo Digital SkyScan, resolução de 9 µm, sendo 11 fêmeas e 4 machos, adultos (Tabela 3) (Localidade: Mata Atlântica-3, Escudo das Guianas-1, Amazônia central-6, Amazônia oeste parte sul-3 e parte norte-2). O programa controlador foi o Nrecon Server v. 1.6. As imagens foram processadas utilizando o programa CT Analyzer v. 1.11. Os modelos 3D dos crânios foram, então, utilizados para recuperar a informação osteológica, sendo visualizada no programa CT Volume v. 2.2. A nomenclatura osteológica seguiu Bramttstrom (1964), Zanella & de Lema (1999), Cundall & Irish (2008) e Polachowski & Werneburg (2013).

2.4 Análise dos Dados Morfológicos

Para verificação de dimorfismo sexual, os caracteres morfométricos, merísticos e qualitativos foram submetidos ao teste de variância entre médias (ANOVA), com nível de significância de 5%. Os caracteres de morfologia externa adicionados aos hemipenianos, foram ainda testados para a normalidade através do Teste de Shapiro Wilk, os caracteres que não apresentaram distribuição normal foram posteriormente analisados com o Teste não Paramétrico de Kruskal-Wallis (Zar 2010).

Os caracteres que apresentaram distribuição normal foram submetidos a análise de Componente Principais (PCA) que sumariza toda a variação de forma (caracteres morfométricos) e de escamação e hemipenianos (merísticos) em eixos. Essa análise é interessante, no sentido que os dados entram brutos, sem classificação *a priori* dos exemplares em grupos. Os caracteres morfométricos foram antes regredidos para CRC (Comprimento Rostro-Cloacal) ou para CCA (Comprimento da Cabeça) no caso daqueles relacionados às medidas tomadas na cabeça. Os resíduos das análises de PCA foram utilizados na representação gráfica em eixos para disposição espacial dos pontos.

Após as análises de PCA, os caracteres foram testados estatisticamente, clado-a-clado, numa análise multivariada - MANOVA, utilizando os Testes de Tukey e Bonferroni, com nível de significância de 5%. Os caracteres que se mostraram significantes, foram utilizados na Análise Discriminante (Análise de Variação Canônica – CVA). Todas as análises estatísticas foram rodadas no programa IBM SPSS Statistics (version 20.0, SPSS Inc. 2011).

Os caracteres osteológicos e alguns hemipenianos foram analisados de forma comparativa entre os clados/linhagens encontrados.

Resultados

Filogenia e relações filogeográficas baseadas em dados moleculares

As topologias obtidas através das abordagens filogenéticas IB, MP e ML são muito similares, com pouca variação, principalmente entre os resultados obtidos através das análises probabilísticas IB e ML que recuperam praticamente as mesmas relações de parentesco e significância de suporte por toda a árvore. As variações mais significativas de topologia e suportes são vistas na análise de MP. Assim a apresentação dos resultados baseou-se nas árvores geradas pelas IB e ML com comentários, quando necessários, sobre a variação de topologia encontrada para análise de MP.

As análises filogenéticas, utilizando os marcadores mitocondriais e mitocondriais+nucleares, recuperam a mesma topologia e suportam o monofiletismo de *Bothrocophias*+*Bothrops*, com *Bothrocophias* basal na irradiação desses crotalíneos sul-americanos (Figura 1). Todos os grupos de *Bothrops* - *alternatus*, *jararaca*, *neuwiedi*, *jararacussu*, *atrox* e *taeniatus* também são recuperados monofiléticos, com o grupo *alternatus* ocupando posição basal e irmão de todos os outros *Bothrops*. O grupo *taeniatus* é recuperado irmão de *jararacussu*+*atrox* como os mais derivados na irradiação do gênero; e externo a esse agrupamento, recupera-se os grupos irmãos *jararaca*+*neuwiedi* (Figura 1), (a análise de MP com todos os marcadores recupera topologia diferente, porém sem suporte algum).

No grupo *taeniatus*, *Bothrops taeniatus* é recuperado irmão de *B. chloromelas*, não sendo claras as demais relações de parentesco com *B. bilineatus* e *B. pulcher* (Figuras 1 e 2). As divergências genéticas entre as espécies nominais do grupo *taeniatus* são comparáveis com as presentes nos demais grupos em *Bothrops* (*jararacussu*, *atrox* e

neuwiedi), aproximadamente de 1.5-6% para 12S; 1-3% para 16S; 2.5-10% para o Cytb e 2.5-10.5% para o ND4 (ver tabelas 4-15 para valores exatos inter-específico entre as espécies nominais dos diferentes grupos).

As divergências intra-específicas encontradas em *B. bilineatus* e *B. taeniatus* também são elevadas e comparáveis com as distâncias genéticas inter-específicas encontradas no próprio grupo *taeniatus* ou mesmo com as inter-específicas encontradas nos outros grupos de *Bothrops*: divergência máxima, de 4.1 e 4.8% para 12S; 2.2 e 1.4% para 16S; 5.6 e 6% para Cytb; 5.7 e 5.3 para ND4 para *B. bilineatus* e *B. taeniatus*, respectivamente (Diagonais das tabelas 4 e 5).

Seis clados monofiléticos e estruturados são recuperados para *Bothrops bilineatus* – 1. Mata Atlântica (Figuras 2 e 3); 2. Escudo das Guianas (Figura 2 e 3); 3. Amazônia centro-leste e 4. Amazônia centro-oeste (Figura 2 e 4); 5. Amazônia oeste, parte sul (Figura 2 e 5); 6. Amazônia oeste, parte norte (Figura 2 e 6), (para mapa de distribuição dos clados ver figura 7). Os clados 1 e 2 são sempre recuperados irmãos, assim como os 3+4 que formam um agrupamento maior referente geograficamente a Amazônia central. Os clados 5 e 6 são recuperados irmãos, porém com suporte marginalmente significativo. Apesar de não significativo, as análises recuperam recorrentemente os clados 3+4 em posição basal; e os clados (1+2) e (5+6) irmãos e mais derivados na irradiação da espécie (Figura 2).

Com relação às divergências genéticas entre os seis clados obtidos, as tabelas 6 e 7 mostram que os agrupamentos (clado1 + clado2) e (clados3 + clado4) são os que apresentam os menores valores de divergência inter-clados (Ver tabelas para valores específicos de divergência par-a-par). Porém as distâncias genéticas par-a-par entre (1+2), (3+4), 5 e 6 são elevadas e comparáveis com as presentes entre espécies nominais presentes

nos outros grupos de *Bothrops* (comparar tabelas 6 e 7 para *B. bilineatus* com 10-15 para outros pares de espécies).

As análises filogenéticas de reconstruções populacionais baseada nos haplótipos – Redes de Haplótipo (RH), mostram congruência para os marcadores mitocondriais, não havendo qualquer indicação de fluxo gênico entre os clados de *Bothrops bilineatus* (excessão para a rede do 16S em que há compartilhamento de um haplótipo entre os clados 3 e 4 – Amazônia central), com todos os clados possuindo haplótipos próprios (Figura 8). As RHs dos marcadores mitocondriais assim como as distâncias genéticas mostram claramente que os fragmentos gênicos do 12S e 16S apresentam menor variabilidade que para os do Cytb e ND4, apresentando menor número de sítios variáveis e de diversidades haplotípica e nucleotídica (Tabela 16). Além disso, as RHs mostram pouca diversidade de haplótipos nos clados 2 e 5 (Escudo das Guianas e Amazônia oeste – parte sul), sinal de expansão populacional recente; e pelo contrário grande diversidade haplotípica nos clados 1, 3, 4 e 6 com distâncias genéticas mais profundas o que indica sinal de estabilidade populacional. Os haplótipos dos clados 1 e 2 (Escudo das Guianas e Mata Atlântica) são recuperados próximos, assim como os dos clados 3 e 4 (Amazônia Central); já os dos clados 6 (e Amazônia oeste – parte norte) ora são mais próximos dos do clado 5 ora dos (1+2). (Figura 8)

As RHs dos marcadores nucleares mostram resultados contrastantes com relação as RHs mitocondriais, havendo compartilhamento de haplótipos em diversos graus, dependendo do gene analisado (Figuras 9). Os fragmentos gênicos são mais variáveis para os marcadores MKL1 e PRLR, apresentando elevados índices de diversidade haplotípica,

no entanto baixos índices de diversidade nucleotídica; o marcador BDNF é o que apresenta os menores índices (Tabela 16).

A RH do marcador nuclear MK11 mostra que os clados 3, 4 e 5 compartilham haplótipos, já os clados 1, 2 e 6 possuem haplótipos não compartilhados; e todos os clados possuem haplótipos próprios. Para o marcador PRLR, há compartilhamento de haplótipo entre os clados 3, 4, 5 e 6 e apenas os clados 1 e 2 possuem haplótipos não compartilhados; todos possuem haplótipos exclusivos (Figura 9). Os clados 3 e 4 (Amazonia central) parecem apresentar haplótipos centrais que possivelmente originaram os demais haplótipos nos outros clados (Figura 9 rede do MK11 e PRLR). Para os marcadores BDNF, C-mos e Rag1 há um haplótipo comum e compartilhado por todos os clados, as redes apresentam topologia “*Star-Like*” com a maioria dos clados mostrando haplótipos próprios.

Quatro clados são recuperados para *Bothrops taeniatus* - 1. norte do Rio Amazonas, 2. Amazônia oeste, 3. Amazônia centro-leste e 4. Amazônia sul-sudoeste (Figuras 2 e 10); para mapa de distribuição dos clados, ver figura 11. Os clados 3 e 4 são irmãos e os mais derivados na irradiação da espécie, com o clado 2 externo a eles; e o clado 1 em posição basal a todos.

O clado 1 possui as mais profundas distâncias genéticas intra-clado, com dois sub-clados 1.1 Escudo das Guianas e 1.2 Amazônia noroeste. Os clados 3 e 4 juntos formam uma agrupamento maior referente geograficamente a Amazônia central e são os que apresentam as menores distâncias genéticas inter-clados; já os clados 2+3+4 formam um agrupamento ao sul do Rio Amazonas (Figura 2). As distâncias genéticas par-a-par para os clados 1, 2 e (3+4) são elevadas e comparáveis com as obtidas para *Bothrops bilineatus* e

mesmo as vistas nos outros grupos de espécies de *Bothrops* (comparar tabelas 8 e 9 para *B. taeniatus*, com as 6 e 7 para *B. bilineatus* e 10-15 para os outros grupos).

Datação Molecular

As topologias e suportes das árvores geradas pelas análises de datação molecular (concatenação apenas dos fragmentos mitocondriais e mitocondriais+nucleares) são as mesmas das encontradas nas análises filogenéticas de IB, ML (Figuras 1, 2 e 12). O tempo de divergência encontrado entre as linhagens, em ambas as estratégias, também são parecidos, tanto nas médias como para o intervalo de confiança.

O final do Oligoceno/início do Mioceno teria sido importante para separação entre as sub-famílias de Viperidae (Figura 12), com o médio Mioceno para separação entre os gêneros de crotalíneos do Novo Mundo. No Mioceno tardio/início do Plioceno teriam acontecido as principais separações entre os grupos em *Bothrops*. Já a transição Terciário/Quaternário teria sido importante para diversificação específica em cada grupo.

As principais linhagens em *Bothrops bilineatus* e *B. taeniatus* teriam surgido entre 1.5 – 2.2 Ma (transição Plioceno/Pleistoceno), com a diversificação das populações, em cada clado, no último milhão de ano (Figura 2). As médias, assim como os intervalos de confiança com 95% de probabilidade para os tempos de divergência entre as principais linhagens e entre as espécies do grupo *taeniatus* são apresentados na tabela 17 e figura 2.

Morfologia Hemipeniana

Foram preparados 32 hemipênis de diferentes espécies do gênero *Bothrops*: 21 do grupo *taeniatus*, cinco do grupo *atrox*, dois do grupo *jararacussu*, um do grupo *jararaca*, e três do grupo *neuwiedi* (Figuras 13-45).

Foram obtidos 18 hemipênis de *Bothrops bilineatus*: dois do clado 1. Mata Atlântica; três do clado 2. Escudo das Guianas; oito do clado 3+4. Amazônia central; quatro do clado 5. Amazônia oeste - parte sul; e um do clado 6. Amazônia oeste - parte norte (Tabela 3, Figuras 13-30). A figura 45 mostra de forma comparativa alguns dos hemipênis preparados para os seis diferentes clados; e as tabelas 18-23 mostram a média, desvio padrão, mínimo e máximo dos valores para os caracteres analisados. Devido a grande disponibilidade de material foi possível avaliar a variação presente nos diferentes clados, sendo recuperados dois padrões distintos: padrão 1 - abrangendo os clados 1-4 (Figuras 13-25) e padrão 2 - para os clados 5 e 6 (Figuras 25-30).

Descrição do hemipênis de *Bothrops bilineatus* (Figuras 13-30): órgão bilobado, bicapitulado e bicaliculado, com cálice espesso ou raso; subcilindrico; em formato de “Y”, com ou sem constrição no *capitulum*; lobos geralmente, terminando de forma afinada (padrão 1) ou não (padrão 2); órgão relativamente pequeno, (10 a 15 mm) estendendo-se aproximadamente até as fileiras 8-10 das subcaudais. *Sulcus spermaticus* amplo, originando-se lateralmente na base do órgão, torcendo-se até a região central da base, logo abaixo da forquilha lobular, na face sulcada, onde se divide para os dois lobos, correndo então, em linha reta, até o ápice do lobo. Base e corpo do órgão coberto por espinhos, pequenos (padrão 1) ou grandes (padrão 2). Cada lobo é ornamentado com espinhos que variam em quantidade de 93-154 (padrão 1) ou 50-96 (padrão 2), sendo 65-96 espinhos

maiores (padrão 1) ou 23-30 (padrão 2) e 41-64 espinhos menores (padrão 1) ou 21-75 (padrão 2); apresentam de 14-20 (padrão 1) ou 9-11 (padrão 2) espinhos maiores numa fileira horizontal circundando o lobo, logo abaixo do *capitulum*; e 4-6 (padrão 1) ou 3-4 (padrão 2) espinhos numa fileira vertical na região lateral do lobo. Há uma grande concentração desses ornamentos na região interna distal dos lobos (logo abaixo do *capitulum*), apenas no padrão 1. Os espinhos são maiores na região lateral do órgão, diminuindo de tamanho conforme sua proximidade com o *sulcus spermaticus*, a região basal do *capitulum* e a base do hemipênis. Bordeando o *sulcus spermaticus* em ambos os lados há um fileira de reduzidos espinhos, no entanto, na parte interna do lobo esses ornamentos não atingem a região intrasulcar, que é então desprovida de espinhos; ainda, diminutos espinhos podem ser observados, como pontinhos vermelhos, no cálice, geralmente na parte basal do *capitulum* e na base do órgão na face não sulcada, estando ausentes na região inter-lobular proximal (próximo à forquilha lobular), que é então nua.

Variação no hemipênis de *Bothrops bilineatus* - Padrão 1 – os exemplares MTR20744 de Pacaraima, Roraima (Figura 17) e INPA31561, médio Rio Purus Amazonas (Figura 23) apresentam a base dos espinhos bem larga. Os exemplares UFMT8908 Cotriguaçu, Mato Grosso; INPA 31558, 31561, 31563 médio Rio Purus Amazonas; FUNED1982 e ZUEC840 Canaã dos Carajás, Pará, apresentam espinhos um pouco maiores (no entanto, ainda menores do que os vistos no Padrão 2) e em menor número (Figuras 20-25), essas localidades (exceto Carajás, que não há disponibilidade de amostra de tecido) formam o clado 4 - Amazônia centro-oeste, podendo constituir uma sinapomorfia para essa linhagem.

Variação no hemipênis de *Bothrops bilineatus* - Padrão 2: o exemplar MCP 14092 (Figura 30) apresenta espinhos na face interna dos lobos até quase a forquilha lobular, o cálice é raso; o lobo é cilíndrico, sem aparente constrição no *capitulum* e é o único do padrão 2 a apresentar 4 fileiras de espinhos numa linha vertical no lateral do lobo. Esse é o único hemipênis de exemplares do clado 6 – Amazônia oeste – parte norte, logo essas características podem ser sinapomórficas ou apenas variação do padrão 2.

Foram ainda preparados três hemipênis de *Bothrops taeniatus*: um do clado 1. norte do Rio Amazonas; um do clado 3. Amazônia centro-leste; e um do clado 4. Amazônia sudoeste (Tabela 1, Figuras 31-33). Dois padrões bem claros de hemipênis podem ser observados, um para o clado 1 (Figura 31), e outro para os clad 3 e 4 (Figuras 32 e 33). Infelizmente, não foi possível a observação da morfologia hemipeniana de exemplares do clado 2. Amazônia oeste.

Descrição do hemipênis de *Bothrops taeniatus* (Figuras 31-33): órgão bilobado, bicaliculado, com cálice espesso (padrão 1) ou raso (padrão 2) e bicapitulado com *capitulum* longo no padrão 1 (mais da metade do tamanho do lobo) ou curto no padrão 2 (aproximadamente $\frac{1}{3}$ do tamanho do lobo); subcilíndrico, em formato de “Y”, com constrição no *capitulum* (padrão 2) ou sem constrição (padrão 1); lobos finos e não terminando de forma afinada no padrão 1 ou grossos e terminando de forma afinada no padrão 2; órgão de tamanho médio, (30 mm) estendendo-se aproximadamente até as fileiras 8-10 das subcaudais. *Sulcus spermaticus* amplo, originando lateralmente na base do órgão, torcendo-se até a região central da base, logo abaixo da forquilha lobular, na face sulcada, onde se divide para os dois lobos, correndo então, em linha reta, até o ápice do lobo. Corpo e lobo cobertos por espinhos, distribuídos homogeneamente por todo órgão, no entanto

concentrados na região interna distal dos lobos; os espinhos apresentam base espessa e bem curvados no padrão 2; esses ornamentos são maiores na região lateral do órgão, diminuindo de tamanho conforme sua proximidade com o *sulcus spermaticus*, a região basal do *capitulum* e a base do hemipênis. Bordeando o *sulcus spermaticus* em ambos os lados há um fileira de reduzidos espinhos, que no padrão 1 forma um arco entre os dois lobos na parte superior da região intrasulcar, com região inferior (logo acima da bifurcação do *sulcus spermaticus*) desprovida de espinhos, ou no padrão 2 ausência de ornamentos na região intrasulcar. Diminutos espinhos ainda podem ser observados, como pontinhos vermelhos, no cálice, geralmente na parte basal do *capitulum*. Há ainda grande quantidade de diminutos espinhos (pontinhos vermelhos) na região basal do corpo do órgão que atingem a forquilha lobular, inclusive até região proximal intra-lobular no padrão 1 ou no padrão 2 que não atingem a forquilha lobular nem a região proximal intra-lobular (região desprovida de ornamentos).

Também, foram preparados outros 11 hemipênis de diferentes exemplares do gênero *Bothrops*, representando os diversos grupos (Figuras 34-44), com a finalidade de analisar e comparar a variação hemipeniana com a molecular. O padrão bilobado, bicapitulado e bicaliculado, e posicionamento do *sulcus spermaticus*, se mantêm para todos os exemplares. A seguir uma breve descrição comparativa dos órgãos dos diferentes grupos (*atrox*, *jararacussu*, *jararaca* e *neuwiedi*).

Descrição comparativa dos hemipênis dos exemplares do grupo *atrox* (Figuras 34-38): cinco hemipênis foram preparados, quatro de *Bothrops atrox*, de diferentes pontos ao longo da distribuição da espécie (Figuras 34-37) e um de *B. leucurus* (Figura 38). Os quatro hemipênis de *B. atrox* são praticamente idênticos em morfologia, órgão grande, robusto

com lobos grossos sem afinação no *capitulum*, grande quantidade de grandes espinhos (não tão grande comparado ao tamanho do hemipênis) por todo o corpo do hemipênis em ambas as faces; região proximal intra-lobular e superior da forquilha lobular, da face não sulcada, desprovida de espinhos. Já o hemipênis de *B. leucurus* é bem menor, com base do lobo grosso e *capitulum* grande, terminando de forma bem afilada, os espinhos são bem grandes (em comparação ao tamanho do órgão) e sobrepostos; a região da base do corpo até a forquilha lobular é nua, desprovido de ornamentações, principalmente na face não sulcada.

Descrição comparativa dos hemipênis dos exemplares do grupo jararacussu (Figuras 39 e 40): um hemipênis de *B. brazili* (Figura 39) e outro de *B. pirajai* (Figura 40) foram preparados, ambos são muito parecidos morfologicamente; o órgão é grande com lobos espessos (não tanto como os de *B. atrox*), *capitulum* reduzido e com forte constrição, terminando bem afilado. *Sulcus spermaticus* não termina no ápice do lobo. Espinhos espalhados homogeneamente por toda face sulcada, estando ausentes na base até a forquilha lobular, inclusive na região distal intra-lobular da face não sulcada. As principais diferenças entre o hemipênis das duas espécies e ainda sim sutis, é com relação à morfologia do cálice, que no de *B. brazili* é mais espesso e o órgão dessa espécie apresenta espinhos na região proximal intra-lobular na face sulcada (*B. pirajai* apresenta cálice raso, e ausência de espinho nessa região).

Descrição do hemipênis do exemplar do grupo jararaca (Figura 41): órgão pequeno com lobos finos e terminando de forma afinada, *capitulum* pequeno e com forte constrição, cálice raso. Grande quantidade de espinhos espalhados homogeneamente por toda superfície do corpo na face sulcada; ausência de espinhos na região central da base do órgão, na face não sulcada. Órgão muito parecido com o de *B. neuwiedi* (Figura 42), no

entanto, este possui espinhos em menor quantidade e maiores, cálice espesso e presença de espinhos na região da forquilha lobular na face não sulcada.

Descrição comparativa dos hemipênis dos exemplares do grupo *neuwiedi* (Figura 42-44): órgãos pequenos, com lobos terminando de forma afinada, *capitulum* curto, com cálice bem espesso (característica bem evidente no hemipênis de *B. erythromelas* - Figura 43). Poucos espinhos e grandes em ambas as faces; presença de inúmeros diminutos espinhos, na base do órgão, região da forquilha lobular e região intra-lobular, na face não sulcada. As principais diferenças entre os hemipênis dos indivíduos do grupo é com relação ao cálice bem mais espesso e grande em *B. erythromelas* (Figura 43) e grande quantidade de espinhos na região proximal inter-lobular em *B. pauloensis* (Figura 44), e tamanho reduzido do lobo em *B. neuwiedi* (Figura 42).

Morfologia externa e Morfometria

As tabelas 18 e 20 apresentam a média, desvio padrão, mínimo e máximo dos valores para cada caracter analisado, separados entre os sexos para *Bothrops bilineatus*; as tabelas 19 e 21 mostram as mesmas informações, porém separadas entre os clados recuperados nas análises moleculares, para machos e fêmeas separados; já as tabelas 22 e 23 mostram os caracteres informativos, estatisticamente significantes, nas análises multivariadas – MANOVA, para separação entre os clados.

Todos os caracteres morfométricos (exceto ACA, LFL e DFF) mais os méristicos: SC, IL, CSO, NFL, FSO, QEEC e QECR, apresentaram dimorfismo sexual e foram por isso analisados separadamente entre os gêneros. Apenas uma das análises de PCA e uma das discriminates foram geradas para todos os indivíduos sem separação entre gêneros,

utilizando-se unicamente dos caracteres merísticos que não apresentaram dimorfismo sexual (Figura 47A, B).

Morfometricamente, os grupos obtidos das análises moleculares para *Bothrops bilineatus*, são indistinguíveis para ambos os sexos, com grande sobreposição dos pontos no espaço amostral nas análises de PCA (Figura 46 A,B). Com os eixos explicando pouco da variação, para ambos os sexos (Fêmeas: eixo 1 = 32%, eixo 2 = 21%; Machos: eixo 1 = 28%, eixo 2 = 21%), sendo boa parte associada ao tamanho. No entanto, a matriz de componentes mostra uma tendência, principalmente para o segundo eixo, de maiores tamanhos (CRC e comprimento da cabeça) inversamente associados com as medidas das variáveis na cabeça (DOF, DON, DOR, ARO, DNN, DFF, DOO) para ambos os sexos. As análises discriminantes pouco ajudam para separação entre os clados (Figura 46 C,D), com apenas 46% dos machos e 39% das fêmeas classificados corretamente nos grupos pré-determinados.

A análise de PCA envolvendo apenas os caracteres merísticos que apresentaram dimorfismo sexual (SC, IL, CSO, NFL, FSO, QEEC e QECR) não resultou em separação entre os clados; já para os demais caracteres merísticos e hemipenianos, os gráficos das análises de PCA mostram separação dos clados 5 e 6 (Amazônia oeste) dos demais, principalmente pelo eixo 1 (Figuras 47A,C; 48A,B). A análise de MANOVA recuperou 12 caracteres merísticos significantes para a divisão entre os clados de machos (D1, D2, V, CSO, FSO, FCA, QEEUSL, QEE4SL, QEH, QEV, TotEsp, QEG) e 8 para as fêmeas (D1, D2, V, CSO, FSO, FCA, QEEUSL, QEE4SL). Com as análises discriminantes separando, para ambos os sexos, os clados 5+6 (Amazônia oeste) dos demais; e praticamente todos os clados para fêmeas e machos (hemipênis), já sutilmente para machos (merísticos) (Figuras

47B, D; 48C,D). Os indivíduos são classificados corretamente, nos clados pré-determinados, com mais de 80% de acerto para os machos e 95% para as fêmeas, e mais de 90 % para os caracteres hemipenianos (Ver Tabela 22 e 23 diagnósticas entre os clados). Já as grandes linhagens (Clados 1+2, 3+4 5 e 6) são classificados com 98.5% de acerto para as fêmeas e 88% para os machos, com utilização conjuntas dos caracteres.

Os caracteres com distribuição não normal: DCA, D3, ISO, SL, IL, SSL1, SSL2, SSL3, OL, NFL, EBV, EVQ, QEEC, QEEIL, QECR foram analisados com o Teste Não Paramétrico Kruskal-Wallis. Sendo os caracteres DCA, D3 e QEEIL significantes para separação entre os clados de machos; e os caracteres DCA, D3, SL, ISO, EVQ e QEEIL para os clados nas fêmeas (Ver Tabela 22 e 23 diagnósticas entre os clados).

Já para os caracteres qualitativos, apenas linha ventro-lateral e comparação entre 3ª e 4ª supralabiais apresentaram dimorfismo sexual, sendo consequentemente analisados separadamente entre os sexos. O caráter Linha ventro-lateral apresentou significância para separação dos clados em ambos os sexos e a comparação entre as escamas da SL apenas para as fêmeas. Todos os outros caracteres, exceto comparações entre 3ª e 4ª SL com a última SL, apresentaram-se significantes para diagnosticar os clados.

De modo geral, os clados (1+2) são semelhantes e diferentes dos (5+6) que se assemelham; e os clados 3+4 compartilham características com esses dois agrupamentos, em diferentes graus. (Tabelas 22 e 23).

Os clados 1 e 2 (Mata Atlântica e Escudo das Guianas) compartilham os mesmos estados de caracteres qualitativos: Supra/Infra labiais homogêneas, amarelas com barras e sem pintas; manchas vermelho/alaranjadas dorsais sempre presentes e bem marcadas; Íris homogênea, sem pintas; linha ventro-lateral contínua, e faixa alaranjada pós ocular ampla

(1-2 escamas), margeada por faixas escuras. A única diferença entre esses dois clados está na cor da ponta da cauda utilizada para engodo caudal, que nos bichos da Mata Atlântica é sempre escura e nos das Guianas pode ser clara ou escura.

Já nos exemplares dos clados 5 e 6 (Amazônia oeste-parte sul e norte), as Supra/Infra labiais são verdes com pintas e ausência de barras; a mancha pós-ocular preta não é conspícua, geralmente há ausência de pigmento alaranjado nas escamas (quando presente é em pouca quantidade e difusa); ausência de manchas dorsais vermelho/alaranjadas.

Os exemplares do clado 3+4 (Amazônia central) apresentam muita variação no estado dos caracteres, possuindo supra/infra labiais verde ou esverdeadas, homogêneas ou com pintas, com barras ou não; linha ventro-lateral contínua ou falhada; íris homogênea ou com pintas, cor do engodo claro ou escuro. No entanto, podem ser separados dos clados 1 e 2 por apresentarem supra/infra labiais esverdeadas e pelo padrão de colorido da pós-ocular, cuja pigmentação alaranjada nas escamas, quando presente, não forma uma faixa ampla. Diferenciam-se, ainda dos bichos dos clados 5 e 6, por sempre possuírem manchas dorsais vermelho/alaranjadas, ausente naqueles (Tabela 22 e 23).

Descrição da osteologia craniana de Bothrops bilineatus

Os quinze crânios de *Bothrops bilineatus* escaneados são parecidos, aproximadamente duas vezes mais compridos que largos e tão largos quanto altos. Apresentam na parte anterior a região do focinho, relativamente pequeno e delicado; e na parte posterior, uma ampla esfera orbital e uma grande e sólida caixa cranial; ventralmente encontra-se o arco palato-maxilar. O cinético quadrado conecta a mandíbula e o arco

palato-maxilar (ponto de junção mandibular) à caixa craniana, através de sua ligação com o supratemporal. As mandíbulas são separadas anteriormente devido à perda da sínfise mandibular e passam caudalmente os limites da caixa craniana (Figuras 49 e 50). As figuras 51-54 mostram de forma comparativa os crânios de cinco fêmeas adultas escaneados em vista dorsal, ventral, lateral e corte longitudinal e a tabela 23 os caracteres osteológicos diagnósticos para os diferentes clados.

Região do Focinho - anteriormente é composta pela pré-maxila, em forma de “T” invertido, com as abas ligeiramente curvadas (côncavas), com uma projeção caudal na sua parte ventral, chegando até o vômer, essa projeção, geralmente, encontra-se bifurcada; dorsalmente se conecta cartilaginosa com os nasais e medialmente com as septomaxilas. Os ossos nasais são duplos e estão fusionados medialmente, formando um sulco; apresentam dorsalmente formato triangular e estão fusionados ventro-caudalmente às septomaxilas. As septomaxilas apresentam-se separadas, exceto pela sua parte caudal que estão fusionadas entre si e com os nasais; são côncavas, delimitando uma semi-esfera, que junto com o teto do nasal e a parede da pré-maxila formam a cavidade nasal; cada septomaxila está fusionada médio-ventralmente ao vômer. O vômer é duplo, dispostos paralelamente na região medial; fusionados dorsalmente com as septomaxilas; cranialmente apresentam uma projeção que atinge a altura da pré-maxila; médio-ventralmente possui uma grande órbita onde armazena o órgão vômero-nasal; médio-dorsalmente há inúmeros forâmens para enervação desse órgão; caudalmente possui uma projeção com um orifício circular (Fenestra Exocoanal) que pode estar em diferentes graus de ossificação, desde totalmente fechada até uma grande órbita. A região do focinho está livre, não apresentando fusionada a maxila, pré-frontal ou frontal.

Caixa craniana e ossos associados – a caixa craniana é formada, antero-dorsal pelos frontais e o parietal e médio-posteriormente pelo parietal, supraoccipitais, exoccipitais (ou otoccipitais que seria a fusão do exoccipital com o opistótico (Jackson 2002)); ventralmente pelo para-basi-esfenóide e basioccipital e lateralmente pelos proóticos. Os frontais são duplos e suturados medialmente, com formato quadrangular em vista dorsal (tão largo quanto compridos ou ligeiramente mais compridos), antero-dorsalmente possuem duas pequenas projeções (formando um côndilo) onde se anexam e articulam os pré-frontais; ventro-medialmente estão fundidos com a parte anterior do aparato para-basi-esfenóide; junto com o parietal e o pós-orbital formam a cápsula ótica. Os parietais são fusionados e recobrem todo teto e parte lateral da caixa cranial, possuem duas projeções antero-lateral (uma de cada lado), em vista dorsal, onde se anexam os reduzidos pós-órbitalis, formando a parte posterior da cápsula ótica; posterior a órbita o parietal é escavado, com uma reentrância onde repousa a glândula de veneno; dorso-posteriormente está suturado com o supraoccipital, lateralmente aos proóticos e ventralmente fundindo com a parte posterior do aparato para-basi-esfenóide. O supraoccipital é um osso amplo, repousado posteriormente ao parietal, suturando-se com esse osso e ainda com os proóticos e os exoccipitais; medialmente possui uma crista transversal, com abrupta escavação posterior; possui dois forâmens dorsais e dois posteriores. Os exoccipitais estão suturados medialmente e fusionados com o opistótico; suturam-se ainda com supraoccipital (anterior), proóticos (lateral) e basioccipital (ventralmente); latero-dorsalmente possui uma crista (continuação da crista supraoccipital) onde repousa o supratemporal.

Ventralmente, conectando o parietal aos frontais, tem-se o aparato para-basi-esfenóide com formato triangular; é escavado internamente em sentido longitudinal em

ambas as bordas em sua parte anterior, formando uma crista medial bem marcada, dando um formato de um lança para o aprarato; posteriormente projeta-se e expande ventralmente, pode apresentar sutura reta ou angulosa e armazena dois pares de foramens (formen da carótida e o foramen posterior Vidiano); é suturado/fusionado com os frontais (anterio-dorsal) e ao parietal (médio-dorsal), sutura-se com os proóticos (postero-dorsal) e ao basioccipital (posteriormente). O proótico possui três grandes foramens associados aos ramos mandibular e maxilar do trigêmio e em sua parte dorsal é anexado o supratemporal; sutura-se com o parietal (antero-dorsal), aparato para-basi-esfenóide (ventro-anterior), basioccipital (ventro-posterior), exoccipital (posterior) e a columela (posteriormente). O basioccipital está suturado anteriormente ao aparato para-basio-esfenóide, e lateralmente aos proóticos e aos exoccipitais; se expande ventralmente, possuindo uma projeção ventro-caudal, com formato de “V”, curta ou uma crista achatada lateralmente, curvada caudalmente; junto com o exoccipital forman o foramen *Magnum*. A columela é delgada anexada na *fenestra ovalis*, entre o proótico e o exoccipital e se projeta caudalmente encontrando e fixando por meio cartilaginoso ao quadrado. O supratemporal é curto, achatado dorso-ventralmente, curvado na lateral externa (formato de “C”); anexa-se antero-ventralmente, por tecido conjuntivo, ao proótico e projeta-se posteriormente para se encontrar com o quadrado (dorso-posterior), aproximadamente no limite posterior do crânio. O quadrado é achatado dorso-ventralmente com extremidade anterior retilínea que se conecta ventralmente com o supratemporal e posteriormente apresenta duas projeções que se articula com o osso composto da mandíbula.

Arco palato-maxilar – o arco é duplo, um em cada lado do crânio. Maxila extremamente reduzida com apenas uma presa funcional (caniculada), em sua extremidade

- sinapomorfia de viperidae (duas presas estão presentes lado a lado na maxila, porém apenas uma é funcional a outra é de substituição, ainda outras presas, estão presentes e estão em diferentes estágios de maturação); médio-dorsalmente, na face externa, é escavada para acomodação da fosseta loreal – sinapomorfia da sub-família crotalinae; possui um grande foramen dorsal para inervação da fosseta; articula-se dorsalmente com o pré-frontal e caudalmente com o ectopterigóide e anexa-se lateralmente (face interna) com o palatino. O ectopterigóide é longo e achatado dorso-ventralmente com uma leve torção na metade posterior para se anexar lateralmente (face interna) ao pterigóide; em sua parte anterior é bifurcado, encaixando-se na maxila. O palatino se anexa latero-anteriormente (face externa) com a maxila e articula-se antero-dorsalmente com o pré-frontal, onde é curvado (côncavo); articula-se caudalmente com o pterigóide e possui 2-9 dentes curvados para trás. O pterigóide é longo e achatado lateralmente em sua porção anterior; articula-se anteriormente com o palatino e posteriormente com o osso composto e o quadrado, na junção mandibular; sutura-se medialmente com o ectopterigóide; possui uma série de 16-22 dentes curvados para trás, que atingem até região posterior com a ligação com o ectopterigóide; caudalmente, após o término da fileira de dentes, o pterigóide sofre uma torção, achatando-se dorso-ventralmente e ampliando-se lateralmente; na região mais caudal do osso, as bordas se dobram formando um sulco medial. O pré-frontal, apesar de não fazer parte do arco palato-maxilar, é um osso associado a ele, atuando na movimentação do arco em ataques e deglutição das presas; o osso é escavado internamente (face externa) na sua região ventral para acomodação, junto com a maxila, da fosseta loreal; na lateral da face interna é anexado ao palatino; e dorso-caudalmente articula-se com o frontal e cranialmente com a maxila.

Mandíbula – O dentário é osso mais anterior e o único que possui dentes (10-21), os anteriores maiores que os posteriores; apresenta em sua face externa o foramen mentoniano (foramen mandibular); posterior a ele o osso se bifurca, suturando-se com o osso composto; em sua face interna, sutura-se caudalmente com angular e o esplenial formando o canal de Merkel, com sulco completo até a região anterior do dentário ou interrompido em seu terço posterior. O esplenial sutura-se caudalmente com o angular e cranialmente com o dentário; tem formato triangular, fino e bem pontiagudo. O angular sutura-se posterior com o osso composto e anteriormente com o esplenial, pode ser alongado ou curto; possui uma projeção antero-dorsal conectando-se ao dentário. O esplenial e o angular só são vistos na face interna da mandíbula. O osso composto é uma fusão do articular, pré-articular e o surangular; pontiagudo na sua extremidade anterior, suturando-se na face externa com o dentário e na interna com o angular e através de uma projeção antero-dorsal (paralela à projeção do angular) com o dentário; na sua região mediana possui um foramen da enervação trigeminal; em sua parte posterior, o osso curva-se e expande-se dorsalmente e sofre achatamento lateral, formando a crista pré articular, na face externa dessa expansão é possível ver um sulco profundo longitudinal, chamado de fossa mandibular, com um canal mandibular interno; posterior a crista, tem-se uma pequena cavidade – côndilo mandibular, em forma de “C”, onde se encaixa e articula o quadrado; lateralmente ao côndilo anexa-se o ectopterigóide; posterior a junção mandibular tem uma pequena projeção caudal, achatada dorso-ventralmente.

Variações osteológicas

As principais variações osteológicas encontradas são com relação às proporções (comprimento/largura) e formato do osso parietal para as fêmeas, sendo as dos clado 1 e 2 - Mata Atlântica e Escudo das Guianas apresentando valores superiores a 1 e parte posterior terminada de forma angulosa/afinada; já as fêmeas do clado 5 e 6 - Amazônia oeste, parte sul e parte norte, respectivamente, apresentam o parietal não terminando afinado e sim de forma mais arredondada e possuem valores menores que 1 para a relação comprimento/largura, (Figura 51) (Tabela 23). Já os ossos frontais apresentam variação para os machos, com o do clado 6 possuindo frontais tão largos quanto compridos (mais compridos que largos nos demais clados) (Tabelas 22).

O formato da parte posterior do aparato para-basi-esfenóide também apresenta informação relevante, ambos os sexos do clado 6 possuem a margem reta, na parte posterior do aparato (angulosa – formando uma ponta, nos outros clados, exceto no clado 3+4 que possuem ambos estados); já o apêndice no basioccipital nos exemplares do clado 6 é curta e não curvada (crista alongada, e curvada nos outros clados, exceto no clado 3+4 que possuem ambos estados) (Figura 52) (Tabelas 22 e 23).

O tamanho da presa também é um caracter com variação significativa entre os clados, as fêmeas os clados 1, 2, 3 e 4 apresentam presas longas (passam caudalmente a região posterior da órbita), já para as fêmeas dos clados 5 e 6 as presas atingem no máximo a região posterior da órbita (Figura 53 e Tabela 23). Para os machos, apenas o do clado 1 possui presas longas, apresentando se curta nos demais clados (3, 4, 5, 6) (Tabela 22).

O número de dentes no palatino, pterigóide e dentário apresenta-se com muita variação e aparentemente sem padrão diagnóstico para os clados. No entanto, há uma

tendência dos exemplares fêmeas dos clados 3, 4 e 5 em possuir maior número de dentes no pterigóide (17-22) que os dos clados 1, 2 e 6 (16-18); já as fêmeas dos clados 5 e 6 possuem um tendência em ter mais dentes no dentário (18-20) que as dos clados 1, 2, 3 e 4 (10-18) (Tabela 23). Para os machos a variação nos dentes é menor, no entanto o exemplar do clado 5 (H4259) possui 7-9 dentes no palatino, (5-6 nos demais clados); e o do clado 6 (MCP 14092) apresenta 21 dentes no dentário (18-19 nos demais) (Tabela 22).

O osso angular presente na mandíbula apresenta-se longo nos exemplares do clado 5 e curto nos do clado 6, para ambos os sexos. A abertura do Canal de Merkel (dentário, angular e esplenial e osso composto) apresenta-se alongada nos exemplares do clado 5 e oval para os demais clados, para ambos sexos (Figura 54 e Tabelas 22 e 23). A parte lateral do parietal, na região pós orbital até o supratemporal apresenta-se alongada nas fêmeas dos clados 1, 2, 3 e 4 e estreita nas dos clados 5 e 6 (Figura 53 e tabela 23).

Discussão

Filogenia

Os crotalíneos do novo mundo vêm sendo recuperados como monofiléticos em todas as filogenias recentes propostas para o grupo (Parkinson 1999; Parkinson *et al.* 2002; Castoe & Parkinson 2006; Wuster 2008). Os resultados sugerem uma invasão única, de linhagem ancestral asiática, pelo norte da América do Norte, possivelmente pelo Estreito de Bering (Castoe & Parkinson 2006; Wuster 2008) durante o início/médio Mioceno. Pelas análises de datação molecular obtidas nesse trabalho, a passagem e posterior colonização das Américas teria ocorrido entre 14 – 22 MA, um pouco mais recente que a proposta por Wuster (2008) de 17.9 – 26.9 MA, no entanto os autores utilizam-se de apenas marcadores

mitocondriais e de menos pontos de calibração que os aqui utilizados. Os trabalhos acima citados, também recuperam o monofiletismo do gênero *Bothrocophias* e sua relação irmã com *Bothrops*, com invasão única da América do Sul pelo ancestral desses gêneros, provavelmente ocorrida no médio Mioceno.

Os seis grupos presentes em *Bothrops* e suas relações de parentesco são recuperados com suporte significativo nas análises de reconstrução filogenética (IB e ML), tanto para concatenação dos fragmentos mitocondriais como para mitocondriais + nucleares. O grupo *alternatus* é recuperado em posição basal e como irmão de todos os outros; o grupo (*jararaca+neuwiedi*) é irmão do agrupamento mais derivado (*taeniatus+(atrox+jararacussu)*), o que corrobora os resultados, de evidência total, apresentados por Fenwick *et al.* (2009) que utilizou unicamente de marcadores mitocondriais em suas análises. As árvores geradas pelas análises de IB, separadamente para cada marcador mitocondrial, recuperam, basicamente, as mesmas relações de parentescos. O que não está claro ainda é a posição de *Bothrops pictus*, ora associado com *Bothrocophias* ora na base dos demais *Bothrops*, questão também ressaltada por Fenwick *et al.* (2009) e Carrasco *et al.* (2012) em suas análises.

O grupo *taeniatus* também vem sendo recorrentemente recuperado como monofilético nas análises filogenéticas, (Cadle 1992; Kraus *et al.* 1996; Salomão *et al.* 1997, 1999; Vidal *et al.* 1997; Parkinson 1999; Gutberlet & Campbell 2001; Parkinson *et al.* 2002; Wuster *et al.* 2002; Castoe & Parkinson 2006; Fenwick *et al.* 2009; Carrasco *et al.* 2012), muitas vezes tratado como um gênero a parte *Bothriopsis*, o que torna *Bothrops* polifilética. Entretanto as relações de parentesco entre as espécies do grupo ainda não são claras. Falta informação genética de duas das seis espécies do grupo – *Bothrops medusa*,

endêmica da “Cordilheira de la Costa” perto de Caracas Venezuela; e *B. oligolepis* endêmica dos Andes entre Peru e Norte da Bolívia (Campbell & Lamar 1989, 2004). Os resultados obtidos, mesmo com adição de dados nucleares nas análises, não foram suficientes para esclarecer o posicionamento das espécies dentro do grupo, deixando clara apenas, a relação de irmandade entre *B. chloromelas* e *B. taeniatus*.

Filogeografia, Morfologia Externa, Hemipeniana e Osteológica

Os estudos de morfologia hemipeniana e de osteologia cranial vêm sendo recorrentemente acessados para reconstrução e proposição de hipóteses filogenéticas, sendo utilizados como importante ferramenta em estudos sistemáticos para diversos grupos de crotalíneos (Bramtstrom 1964; Guo *et al.* 2009, 2010; Jadin *et al.* 20010, 2011a, 2011b, Barbo *et al.* 2012; Carrasco *et al.* 2012). No entanto, pouco tem se feito para elucidar o padrão de diversificação hemipeniano e osteológico em *Bothrops* e para a ampliação do conhecimento da variabilidade morfológica dessas estruturas a nível intra-específico (Zanella & de Lema 1999; Campbell & Lamar 2004; Gans *et al.* 2008).

Os resultados comparativos da morfologia hemipeniana com os de divergência molecular, mostram diferentes graus de variação inter-específicos para os grupos de espécie em *Bothrops*. Os hemipênis preparados do grupo *atrox* (*B. atrox* e *B. leucurus*) apresentam muita variação morfológica, contrastando com a pouca variação genética entre as espécies (quando comparável com a variação inter-específica nos outros grupos). Os quatro hemipênis preparados de *B. atrox* (de localidades bem distantes pela Amazônia) são extremamente similares ao passo que a variação genética intra-específica no complexo é elevada e comparável com a inter-específica do grupo, sinal claro de diversidade críptica.

Contudo, neste caso, a morfologia hemipeniana parece não nos auxiliar com informação filogeográfica. Os dois hemipênis preparados do grupo jararacussu (*B. brazili* e *B. pirajai*) são muito similares entre si e com bem pouca variação morfológica, no entanto a divergência genética inter e intra-específica é muito elevada, uma das mais elevadas nas análises. Com relação ao grupo neuwiedi tanto a divergência genética como a hemipeniana, a nível inter-específico, são elevadas. No grupo taeniatus, *Bothrops bilineatus* e *B. taeniatus* apresentam grande variação hemipeniana e informativa a nível filogenético/filogeográfico; apresentando ainda, divergências genéticas intra-específicas elevadas e comparáveis às encontradas entre espécies nominais no próprio grupo taeniatus ou mesmo nos grupos filogeneticamente próximos, sugerindo a presença de diversidade críptica para as espécies.

Já os resultados osteológicos mostram grande variação intra-específica para *Bothrops bilineatus*. Há uma sutil diferença nos crânios de machos e fêmeas, com estes últimos apresentando maior número de caracteres variáveis, caracteres estes, que de certa forma corroboram os dados moleculares, hemipenianos e de morfologia externa em recuperar e diagnosticar as diferentes linhagens. No entanto, apenas 15 crânios foram analisados o que resulta em um *n* baixo por clado, e entre sexos, assim torna-se necessário à investigação por mais material, a fim de conhecer realmente, a variação entre as linhagens, apesar dos caracteres osteológicos se comportarem de forma conservativa.

Recentemente, inúmeros trabalhos têm sido publicados estudando as relações filogeográficas de espécies da herpetofauna Sul-Americana (Carnaval *et al.* 2009; Antonelli *et al.* 2010; Pellegrino *et al.* 2011; Fouquet *et al.* 2012; Thomé *et al.* 2012; Gamble *et al.* 2012; Werneck *et al.* 2012; Nunes *et al.* 2012; Machado *et al.* 2014); com alguns deles

envolvendo espécies de crotalíneos do Novo Mundo (Zamudio & Green 1997; Wuster *et al.* 1999, 2005; Puerto *et al.* 2001; Grazziotin *et al.* 2006; Quijada-Mascareñas *et al.* 2007; Guiher & Burbrink 2008; Jadin *et al.* 2010, 2011a, 2011b; Machado *et al.* 2014) o que tem ajudado no entendimento dos padrões biogeográficos de distribuição das espécies e auxiliando a sistemática/taxonomia do grupo.

Os resultados filogeográficos para *Bothrops bilineatus* mostram a presença de seis clados estruturados e suportados pelas análises de reconstrução filogenética: 1-Mata Atlântica; 2-Escudo das Guianas; 3-Amazônia centro-leste; 4-Amazônia centro-oeste; 5-Amazônia oeste, parte sul; 6-Amazônia oeste, parte norte. Mesmo após adição de caracteres nucleares nas análises, as relações de parentesco entre os clados são apenas marginalmente suportadas, contudo, recorrentemente recuperadas pelas diferentes abordagens filogenéticas aplicadas. Os clados 3+4 são recuperados em posição basal e formam um agrupamento geográfico referente à Amazônia central; os clados 1+2 se agrupam e saem externos aos irmãos 5+6 que estão na parte mais derivada da irradiação da espécie.

Adicionando os resultados de divergência genética aos filogeográficos, tem-se, em comparações par-a-par, que os clados (1+2), (3+4), 5 e 6 apresentam elevadas taxas de distâncias gênicas (Ver tabelas 6 e 7) , semelhantes as inter-específicas encontradas nos diferentes grupos em *Bothrops* (Tabelas 10 -15). Já as análises de reconstrução populacional, baseadas nos haplótipos dos marcadores mitocondriais, mostram que essas linhagens não compartilham haplótipos, não apresentando quaisquer sinais de hibridização, evoluindo independentemente entre si. Machado *et al.* (2014) comenta sobre hibridização em *Bothrops* do grupo *neuwiedii*, os autores detectaram introgressão genética num passado recente, transição Plio/Pleistoceno, com uso de marcadores mitocondriais.

Contrariamente, as análises baseadas nos marcadores nucleares mostram compartilhamento de haplótipos, em diferentes graus. Possivelmente, o tempo de vicariância entre as linhagens é muito recente para que os haplótipos nucleares analisados tenham mutado e se fixado nas populações, levando então ao compartilhamento de um haplótipo ancestral. E de fato, vemos que todas as linhagens possuem haplótipos exclusivos e que algumas delas já não mais compartilham haplótipos para os marcadores nucleares mais variáveis e com maiores índices de diversidade haplotípica (MKL1, PRLR).

Assim, corroborativamente, o conjunto de dados moleculares, de morfologia externa (98,5% de acertos para fêmeas e 88% para machos na classificação das linhagens, para utilização conjunta dos caracteres) e hemipeniana e osteológicos mostram a existência de seis clados estruturados para *Bothrops bilineatus*, com quatro linhagens diagnosticáveis e candidatas a espécie: linhagem 1 - Amazônia central recuperado basalmente; linhagem 2 - agrupamento (Mata Atlântica+Escudo das Guianas) recuperado irmão das linhagens 3 e 4, que são irmãs - (Amazônia Oeste - parte sul e parte norte). Os resultados de datação molecular mostram que a separação entre essas linhagens ocorreu num período curto de tempo, entre a transição Plioceno/Pleistoceno, já a diversificação dentro de cada clado ocorreu principalmente no médio Pleistoceno (ver mais na discussão abaixo sobre biogeografia).

A linhagem 1 - Amazônia central (clados 3+4) - é recuperada em posição basal na diversificação da espécie, separando-se das outras no Plioceno tardio (~2.2 MA). É a que apresenta as maiores divergências genéticas intra-clado e variação de morfologia externa, hemipeniana e osteológica, sobrepondo-se em diversos níveis com os outros clados, sendo possivelmente a que apresenta o maior número de estados de carácter ancestrais. Possuem o

padrão hemipeniano do tipo 1, com algumas variações no clado 4, como redução do número de espinhos e estes ligeiramente maiores, podendo constituir uma sinapomorfia para este clado. São diagnosticáveis pelo conjunto de características morfológicas/moleculares.

A linhagem 2 - Mata Atlântica + Escudo das Guianas (clados 1 e 2) compartilha a mesma morfologia hemipeniana (tipo 1), osteológica e externa (maior número de escamas no corpo e cabeça; SL/IL amarelas, homogêneas sem pintas e com barras verticais entre as escamas; olho sem manchas ou pintas; linha ventro-lateral contínua e faixa pós-ocular ampla e com muito pigmento alaranjado). Apresentam ainda pouca divergência genética entre os clados componentes que juntos formam uma linhagem independente. De acordo com os resultados obtidos, é provável que a Mata Atlântica tenha sido colonizada a partir de ancestrais que habitavam o Escudo das Guianas ou mesmo o extremo nordeste do Pará e norte do Maranhão, há aproximadamente 1 Ma (Mais será discutido abaixo na sessão de biogeografia).

A porção oeste da Amazônia possui duas linhagens que se agrupam: linhagem 3 - Amazônia oeste, parte sul (Acre e Norte de Rondônia) e linhagem 4 - Amazônia oeste, parte norte (Colômbia e Equador) (clados 5 e 6 das análises, respectivamente), separados no início do quaternário (~1.7 MA). Esses dois clados compartilham a mesma morfologia hemipeniana, redução e aumento no tamanho dos espinhos – tipo 2, sendo uma sinapomorfia para este agrupamento; e compartilham diversas características osteológicas também sinapomórficas -presas de tamanho reduzidos e formato/proporções do parietal e estreitamento da lateral do parietal. Morfologicamente são muito parecidos e muito diferentes das outras duas linhagens (1+2) e (3+4). Apresentam ainda, elevadas taxas de

distância genéticas entre eles e entre um deles em comparação com qualquer outro clado/linhagem dentro da espécie e diversas características osteológicas e hemipenianas que permite diferenciá-los dessas linhagens.

No entanto, a separação morfológica entre essas duas linhagens é dificultada uma vez que poucos indivíduos foram analisados do clado 6 (Equador e Colômbia) e do extremo oeste da Amazônia (Peru e Bolívia), que possivelmente pertencem ao clado 5. Contudo elas podem ser preliminarmente diagnosticadas osteologicamente (formato do para-basi-esfenóide, apêndice do basioccipital, tamanho do angular e formato da abertura do Canal de Merkel) e molecularmente, possivelmente também, por características hemipenianas.

Quatro clados monofiléticos e estruturados são recuperados para *B. taeniatus*: Clado 1 - norte do Rio Amazonas; Clado 2 – Amazônia oeste; Clado 3 – Amazônia centro-leste; Clado 4 – Amazônia sul-sudoeste. A divergência genética par-a-par entre as linhagens 1, 2, (3+4) são elevadas e comparáveis com as presentes em *B. bilineatus* e mesmo com os níveis de divergência inter-específica encontrados nos outros grupos de espécies do gênero.

O clado 1 é o que apresenta maior divergência genética intra-clado, sendo recuperado basalmente aos demais, que juntos formam um agrupamento geográfico limitado ao sul do Rio Amazonas. Apresenta um morfótipo hemipeniano único (Tipo 1, *capitulum* longo e presença de espinhos na área da forquilha lobular na face não sulcada). Esse clado parece ter-se isolado durante a transição Plioceno/Pleistoceno (aprox. 1.8 MA) e pode ainda ser dividido em dois sub-clados: Escudo das Guianas e Amazônia oeste - parte norte (Equador, norte do Peru, e noroeste do Brasil), separados durante o médio Pleistoceno.

O clado 2 - Amazônia oeste – norte da Bolívia + sul do Peru é recuperado como irmão dos clados 3+4, isolados durante o início do Pleistoceno (1.6 MA). Infelizmente foram obtidas sequências de apenas quatro amostras de duas localidades diferentes e não houve análise da morfologia hemipeniana.

Há um grande agrupamento associado à Amazônia central (assim como em *B. bilineatus*), composto pelos clados 3+4 (Amazônia centro-leste e Amazônia sul-sudoeste. Os dois clados apresentam baixos valores de divergência genética entre eles, além de compartilharem a mesma morfologia hemipeniana (órgão robusto, *capitulum* curto e ausência de espinhos na área da forquilha lobular na face não sulcada – tipo 2), com época provável de separação no médio Pleistoceno.

Biogeografia

Parte considerável da história biogeográfica de *Bothrops bilineatus* e *B. taeniatus* deve estar associada com as mudanças paleogeomorfológicas do Terciário Tardio, 10-2.5 milhões de anos atrás, (como mudança no nível dos oceanos, tectonismo, soerguimento final dos Andes) e por se tratarem de espécies exclusivas de ambientes florestados, com as mudanças climáticas ocorridas no Plio-Pleistoceno nos últimos 5 milhões de anos, o que deve ter influenciado profundamente na sua diversificação (Haffer 1969; Vanzolini & Williams 1970, 1981; Haffer 2008; Hoorn *et al.* 2010).

Os resultados sugerem que a origem de *B. bilineatus* seja centro-Amazônica, com uma divisão inicial durante o Plioceno tardio, isolando essas populações das encontradas ao norte do Rio Amazonas (Escudo das Guianas) e Amazônia oeste. Essa primeira separação poderia estar associada tanto com a corrida do Rio Amazonas para o Atlântico (próximo ao

delta) (Hoorn *et al.* 2010), que é recorrentemente citado como uma importante barreira vicariante para diversos grupos de fauna (Ayres & Cluttonbrock 1992; Avila-Pires 1995; Hayes & Sewlal 2004; Haffer 2008; Fernandes *et al.* 2012; Ribas *et al.* 2012); ou mesmo mudanças climáticas ocorridas no Plio/Pleistoceno, separando a fauna no sentido norte-sul (Haffer 1969; Vanzolini & Williams 1970, 1981; Haffer 2008; Hoorn *et al.* 2010).

A segunda divisão importante teria ocorrido entre as populações da Guiana e do oeste Amazônico, no final do Plioceno, possivelmente na Venezuela, podendo estar associada à saída da Bacia do Orinoco para o Atlântico e/ou do Rio Negro como um importante afluente da margem esquerda do Rio Amazonas (Hoorn *et al.* 2010) e/ou a formação do cinturão seco na Venezuela durante as flutuações climáticas ocorridas no Plio-Pleistoceno, 5-2 milhões de anos atrás (Wuster *et al.* 2005; Haffer 2008); e/ou ainda a introgressão marinha continental no noroeste da América do Sul, na atual região da Bacia do Orinoco durante o Terciário Tardio, levando a formação de um grande lago continental quando os níveis dos oceanos eram superiores aos encontrados atualmente, isolando a fauna amazônica no sentido leste-oeste (Haffer 2008; Hoorn *et al.* 2010; Ribas *et al.* 2012). A hipótese sobre a existência de um grande lago continental amazônico, assim como a teoria dos refúgios durante as mudanças climáticas do Plio/Pleistoceno, também explicariam a falta de contato, no começo da irradiação, das populações centrais da Amazônia e as do oeste-parte sul (Acre+norte de Rondônia).

Pela distribuição das linhagens vemos que atualmente há uma zona de contato (norte de Rondônia e sudoeste do Amazonas) entre as populações da Amazônia central e Amazônia oeste, parte sul. De fato, foram analisados indivíduos das duas linhagens (morfológico e molecularmente) em ambas as margens do Rio Madeira e elas mantêm as

características diagnósticas aqui apresentadas. Não foi encontrado sintopia entre essas linhagens, porém, aparentemente, nada impediria de que fossem encontradas numa mesma área, sendo até possível a existência de híbridos. Pelos dados moleculares, possivelmente as populações da linhagem Amazônia oeste, parte sul teria colonizado a área recentemente, com rápida expansão de distribuição no sentido oeste para leste.

A terceira grande separação teria ocorrido entre as populações do oeste Amazônico em norte (Equador e Colômbia) e sul (Acre e norte de Rondônia), na passagem Plio/Pleistoceno, possivelmente relacionada com a formação do Rio Amazonas, porém mais próximo da sua cabeceira (Haffer 2008; Hoorn *et al.* 2010, Ribas *et al.* 2012), ou outra vez associado à teoria dos refúgios, com fragmentação florestal. A linhagem Amazônia oeste, parte norte se restringiria ao norte do Rio Amazonas e oeste do Rio Negro.

Uma hipótese alternativa para a separação das quatro principais linhagens em *Bothrops bilineatus* e colonização da Mata Atlântica seria uma divisão inicial no sentido leste-oeste, isolando as populações da Amazônia central das do oeste amazônico. O ancestral do oeste amazônico teria colonizado a Mata Atlântica via contato sudoeste (Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bolívia) com as matas interioranas deste boma. Posteriormente as populações do oeste da Amazônia se separariam em duas, ao norte e ao sul; e a linhagem atlântica se expandiria em sentido sul-norte e recolonizaria a Amazônia na região dos Escudos das Guianas. Essa hipótese torna-se menos favorável, em comparação com a anterior apresentada, uma vez que o exemplar sequenciado da Mata Atlântica norte, de Murici, Alagoas é recuperado em posição basal na linhagem atlântica, no entanto explicaria a rápida expansão e a pouca variabilidade de haplótipos na população do Escudo das Guianas e uma maior estabilidade e estruturação na população da Mata

Atlântica. Desse modo, faz-se necessário a introdução de mais amostras de exemplares da Mata Atlântica para melhor interpretação dessa questão biogeográfica.

Assim, as quatro principais linhagens encontradas em *Bothrops bilineatus* resultariam de três grandes separações, que em parte concordam com as informações sobre áreas de endemismo sugeridas para a Amazônia, para diferentes grupos de fauna (Aleixo 2004; Haffer 2008; Silva & Garda 2011; Ribas *et al.* 2012). O clado Amazônia Central estaria nas áreas de endemismo Tapajós, Rondônia e leste do Inambari; o clado Escudo das Guianas na área das Guianas; O clado Amazônia oeste, parte sul, estaria na região oeste da área Inambari; e a parte norte nas áreas Napo e Imeri.

Os clados Mata Atlântica e Escudo das Guianas pertencem a uma mesma linhagem e teriam se separado no médio Pleistoceno. Assim, durante períodos favoráveis a expansões florestais no Pleistoceno, a Mata Atlântica teria sido colonizada (com posterior expansão de distribuição no sentido norte-sul, uma vez que o indivíduo da Mata Atlântica norte é recuperado basal nessa irradiação) muito provavelmente pela costa nordestina ou através de áreas hoje predominantemente recobertas pela Caatinga, resultado também encontrado para outros grupos de fauna (Costa 2003; Batalha-Filho *et al.* 2012; Pellegrino *et al.* 2011, Prates *et al.* 2015). A falta de estruturação no clado do Escudo das Guianas pode ser devido a incompleta representatividade da região, faltado nas análises amostras de possíveis áreas de estabilidade genética.

Da mesma forma que durante o Pleistoceno houve períodos quentes e úmidos, existiriam outros frios e secos que levariam à fragmentação da Amazônia em refúgios e à perda da ponte florestada Amazônia-Mata Atlântica. A expansão das áreas abertas pela Amazônia teria aberto um corredor seco conectando o norte da América do Sul (Colômbia,

Venezuela e parte do Escudo das Guianas) a sua região centro-sul, possibilitando a expansão de espécies de áreas abertas, como o Crotalíneo *Crotalus* (Wuster *et al.* 2005, Quijada-Mascareñas *et al.* 2007) ou mesmo outras espécies (Cardoso da Silva & Bates 2002; Courtenay & Maffei 2004). É possível que da abertura desse corredor, as populações ancestrais de *Bothrops bilineatus* da Amazônia central tenham se restringido a porção oeste da sua distribuição atual e as populações do Escudo das Guianas se restringido a porção leste (Guianas + extremo leste do Pará, Belém e Maranhão) e de fato Haffer (2008, fig 4:927) mostra que durante as mudanças climáticas do Terciário tardio-Quaternário essas áreas mais a leste, mantiveram-se mais úmidas, o que possibilitaria manter um ambiente favorável para a população ancestral que colonizaria a Mata Atlântica.

No entanto, os indivíduos analisados do extremo leste do Pará pertencem à linhagem da Amazônia central (com base nos caracteres diagnósticos aqui propostos). Pode ser que no local haja uma área de contato e hibridização desta linhagem com a do Escudo das Guianas, porém, pelos exemplares analisados, as populações do clado do Escudo das Guianas estão isoladas ao norte do Rio Amazonas.

Já para a outra espécie do grupo *taeniatus* - *Bothrops taeniatus*, possivelmente o ancestral veio de linhagens de bichos andinos que colonizaram as terras baixas amazônicas durante o Plioceno tardio (2.9 MA), uma vez que a espécie irmã *B. taeniatus* é *B. chloromelas* que só ocorre acima dos 3500m de altitude nos Andes Peruanos. Pode-se supor que logo no início da diversificação da espécie, uma linhagem teria se restringido ao norte do Rio Amazonas ao passo que outra teria cruzado o rio e colonizado sua margem direita (aprox. 1.8 MA). Assim da mesma forma que para *Bothrops bilineatus*, o Rio Amazonas pode ter sido fundamental para uma primeira divisão entre os clados de *B. taeniatus*. Os

sub-clados Escudo das Guianas e Amazônia oeste, parte norte, presentes no clado norte do Rio Amazonas de *B. taeniatus*, teriam se separado no médio Pleistoceno, possivelmente durante as flutuações climáticas do período, sendo que o corredor seco citado acima, no meio da Amazônia, teria fragmentado as populações ancestrais. Alternativamente, esta fragmentação poderia ter sido causada pela introgressão marinha hipoteticamente ocorrida na área (Hoorn *et al.* 2010).

No clado sul do Rio Amazonas, as populações do extremo oeste, pé dos Andes (norte da Bolívia e sul do Peru), teriam se isolado das populações da Amazônia central durante o início do Pleistoceno, provavelmente devido à formação do grande lago continental (Terciário Tardio-Quaternário), resultado de introgressão marinha, ou mesmo fragmentação da Amazônia em refúgios nos períodos de retração florestal durante as mudanças climáticas. Os clados Amazônia centro-leste e sul-sudoeste teriam se separado durante as flutuações climáticas do Quaternário, com expansão recente em direção ao leste amazônico. Esse pode ter sido um motivo para a espécie não ocorrer atualmente na Mata Atlântica, uma vez atingida o leste amazônico (leste do Pará, e norte do Maranhão) o contato florestal já teria desaparecido.

Questões taxonômicas

Para *Bothrops bilineatus*, quatro linhagens, reconhecíveis e diagnosticáveis com base em caracteres morfológicos, hemipenianos, craniais e moleculares são candidatas à espécie: linhagem 1 – Amazonia central; linhagem 2 – Escudo das Guianas + Mata Atlântica; linhagem 3 – Amazônia oeste, parte sul; e linhagem 4 - Amazônia oeste, parte norte.

Desse modo, a linhagem 2 - Mata Atlântica + Escudo das Guianas seria a linhagem típica da espécie e da sub-espécie *B. b. bilineatus*, com localidade tipo restrita por Hoge & Lancini (1962) a “Vila Viçosa (Marobá), Rio Peruhype, Bahia”. Diversos indivíduos próximos à localidade tipo foram incluídos nas análises e não há outra linhagem geograficamente próxima.

A linhagem 3 – Amazônia oeste, parte sul seria a linhagem típica da sub espécie *B. b. smaragdinus*, com localidade tipo para o Alto Rio Purus, Acre (Hoge 1966), vários indivíduos próximos dessa localidade foram incluídos nas análises. Desse modo, essa sub-espécie seria elevada a status específico. As linhagens 1 (Amazônia Central) e 4 (Amazônia oeste, parte norte) estariam livres para receber epíteto específico.

Com relação a *Bothrops taeniatus*, três linhagens podem ser candidatas a espécie com base nos caracteres moleculares e hemipênicos: linhagem 1 – norte Rio Amazonas; linhagem 2 – Amazônia oeste; e linhagem 3 - Amazônia central. No entanto, deve ser realizada a busca por mais caracteres morfológicos, osteológicos e hemipenianos para melhor esclarecimento e delimitação específica.

O tipo de *Bothrops taeniatus* não mais existe, e não há como saber sua localização precisa. Hoogmoed & Gruber (1983) restringiram a localidade tipo para algum lugar entre a boca do Rio Tajapuru e boca do Rio Negro, e nomearam o holótipo de *B. castelnaudi* como neótipo de *B. taeniatus*. Aqui temos alguns problemas, primeiro: cada uma dessas localidades fica numa margem do Rio Amazonas, e os resultados moleculares mostram claramente a presença de linhagens distintas em margens opostas. Se a localidade tipo for ao norte do Rio Amazonas, a linhagem 1 – norte Rio Amazonas levaria o nome da espécie e a linhagem 3 - Amazônia Central, estaria livres para receber um nome. No entanto, *B.*

castelnaudi foi descrito para essa região da Amazônia central, com localidade tipo em algum lugar entre os estados do Mato Grosso, Pará e Tocantins, e atualmente o holótipo da espécie está representando *B. taeniatus*, impossibilitando o seu uso. Caso a localidade tipo de *Bothrops taeniatus* for ao sul do Rio Amazonas, realmente esse nome teria prioridade sobre *B. castelnaudi* que seria então um sinônimo júnior. Nesse caso a linhagem 1 - norte do Rio Amazonas estaria livre para receber nome. Em quaisquer das alternativas citadas anteriormente, a linhagem 2 – Amazônia oeste estaria livre para receber epíteto específico.

Chave de identificação para as espécies candidatas do complexo *Bothrops bilineatus*:

1. Presença de manchas alaranjadas dorsais e de pigmentação alaranjada na faixa pós-ocular; D1 (Machos: 25-32; Fêmeas: 27-33); D2 (Machos: 25-35; Fêmeas: 27-35); D3 (Machos: 19-23; Fêmeas: 20-23); Ventrals (Machos: 199-217; Fêmeas: 203-214); Padrão 1 de hemipênis (espinhos menores e numerosos); QEH (14-20); QEV (4-7); QEG (87-186); Fêmeas: presas grandes; Parietais terminando de forma afilada e com relação Comp/Larg >1; Espaço pós orbital amplo; e entre 10 e 18 dentes no dentário; 2

Ausência de manchas alaranjadas dorsais e de pigmentação alaranjada na faixa pós-ocular, SL e IL verde com pintas e sem barras; D1 (Machos: 25-27; Fêmeas: 23-29); D2 (Machos: 23-29; Fêmeas: 26-31); D3 (Machos: 19-21; Fêmeas: 19-21); Ventrals (Machos: 196-206; Fêmeas: 197-208); Padrão 2 de hemipênis (espinhos grandes e pouco numerosos); QEH (9-11); QEV (3-4); QEG (46-56); Fêmeas: Presas pequenas; Parietais terminando de forma arredondada, não afiladas e com relação Comp/Larg <1; Espaço pós orbital reduzido; e entre 18 e 20 dentes no dentário;..... 3

2. SL e IL homogêneas e amarelas; Faixa pós ocular ampla com muito pigmento alaranjado (1-2 fleiras de escamas) bordeada por faixa preta; Olhos sem manchas ou pintas; Linha ventrolateral contínua; QEV (6-7); Machos: sutura posterior do aparato PBS angulosa; presas grandes; Fêmeas: 16-18 no pterigóide; Distribuição: Mata Atlântica e Escudo das Guianas..... *Bothrops bilineatus bilineatus*

SL e IL esverdeadas com presença ou ausência de pintas; Faixa pós-ocular com pouca pigmentação alaranjada ou mesmo ausente; Olho com ou sem pintas/manchas; Linha ventrolateral contínua ou falhada; QEV (4-7); Machos: sutura posterior do aparato PBS reta; presas reduzidas; e 21-22 no pterigóide; Distribuição: Amazônia central, sul do Rio Amazonas (Pará, Amazonas centro-oeste, Rondônia centro-sul e norte do Mato Grosso)..... *Espécie candidata 1*

3. Engodo caudal claro; Total de espinhos no hemipênis (101-181), QEV(3); Machos e Fêmeas: Sutura posterior do aparato PBS angulosa; Projeção ventral do basioccipital curvada caudalmente; Abertura do Canal de Merkel alongado; Machos: Frontais mais compridas que largas. Distribuição: norte de Rondônia e Acre;..... *Bothrops bilineatus smaragdinus*

Engodo caudal claro ou escuro; Total de espinhos no hemipênis (203), QEV(4); Machos e Fêmeas: Projeção ventral do basioccipital reta; Sutura posterior do aparato para-basi-esfenóide com o basioccipital reta; Abertura do Canal de Merkel oval; Machos: Frontais tão compridas quanto largas. Distribuição: Equador e Colômbia *Espécie candidata 2*

Conclusão

As conclusões desse trabalho são:

- 1- *Bothrops* + *Bothrocophias* foram recuperados como monofiléticos, assim como todos os grupos de espécies em *Bothrops* (jararaca, neuwiedi, atrox jararacussu e taeniatus) e com suporte significativos nos nós, isso tanto para as análises concatenadas dos marcadores mitocondriais como para mitocondriais+nucleares;
- 2- A variação molecular inter-específica e hemipeniana é encontrada em diferentes graus conforme o grupo de espécies analisado, com os grupos neuwiedi-jararaca e taeniatus apresentando elevadas taxas de divergência molecular e variação hemipeniana; no grupo atrox a variação hemipeniana inter-específica é elevada e as moleculares baixas, sendo o contrário encontrado no grupo jararacussu; já as distâncias gênicas e variação hemipeniana intra-específica em *Bothrops bilineatus* e *B. taeniatus* são elevadas, sugerindo diversidade críptica para essas espécies;
- 3- Seis clados monofiléticos e estruturados foram obtidos para *Bothrops bilineatus*: 1-Mata Atlântica, 2-Escudo das Guianas, 3-Amazônia centro-leste, 4-Amazônia centro-oeste, 5-Amazônia oeste, parte sul e 6-Amazônia oeste, parte norte; os clados 3+4 são recuperados em posição basal e irmão de todos os outros na irradiação da espécie, 1+2 são irmão e externos aos clados mais derivados 5+6;
- 4- Quatro linhagens (dos seis clados) são diagnosticáveis com base conjunta nos caracteres moleculares, morfológicos (merísticos, qualitativos e morfométricos), hemipenianos e osteológicos, sendo candidatas a espécie para *B. bilineatus*: linhagem 1 (clados 1+2) – Mata Atlântica e Escudo das Guianas; linhagem 2 (Clados 3+4) Amazônia central; linhagem 3 - Amazônia oeste, parte sul; linhagem 4 - Amazônia oeste, parte norte;

- 5- Quatro clados monofiléticos e estruturados foram recuperados para *Bothrops taeniatus*: 1-norte do Rio Amazonas, 2-Amazônia oeste, 3-Amazônia centro-leste, 4-Amazônia sul-sudoeste, os dois últimos são irmãos e os mais derivados na irradiação da espécie, o clado 2 é recuperado externo a eles formando um agrupamento mais amplo de linhagens ao sul do Rio Amazonas, basalmente a todos é recuperado o clado 1 – de populações ao norte do Rio Amazonas;
- 6- Três linhagens (dos 4 clados) com base nos caracteres moleculares e hemipenianos são diagnosticáveis e candidatas a espécie para *B. taeniatus*: linhagem 1 – norte do Rio Amazonas; linhagem 2 – Amazônia oeste; linhagem 3 (clados 3+4) – Amazônia central, no entanto a busca de caracteres morfológicos e osteológicos são necessários para melhor delimitação específica dessas linhagens;
- 7- As separações e posterior diversificação dos clados em *Bothrops bilineatus* e *B. taeniatus* parecem estar relacionadas com os processos históricos ocorridos na transição Terciário/Quaternário, como as mudanças paleoclimáticas associadas às geomorfológicas ocorridas no período (soerguimento final dos Andes influenciando nas mudanças hidrográficas na Bacia Amazônica, alteração nos níveis dos oceanos e fragmentação florestal);
- 8- *Bothrops bilineatus* teria uma origem centro-amazônica, com as populações ancestrais vivendo na área entre 4-2 milhões de anos atrás; ocorreria uma posterior separação dessa linhagem com as populações ao norte do Rio Amazonas e oeste amazônico (2.2 MA); a linhagem do Escudo Guianês se separaria do oeste amazônico (1.9 MA) e o oeste se separaria em duas linhagens independentes (1.66 MA);

- 9- A distribuição disjunta das populações Atlânticas e Amazônicas de *Bothrops bilineatus* sugere um contato florestal pretérito entre esses dois biomas, ocorrido provavelmente pelo nordeste brasileiro, possivelmente durante as mudanças climáticas do Pleistoceno, há aproximadamente um milhão de anos atrás. Após colonização da Mata Atlântica, a espécie teria expandido sua distribuição no sentido norte-sul.

Resumo

Bothrops bilineatus é uma das seis espécies presentes no grupo *taeniatus*, é reconhecida atualmente por duas sub-espécies: *B. b. smaragdinus* que se distribui pelo oeste Amazônico e *B. b. bilineatus* com distribuição disjunta pela Amazônia e Mata Atlântica. Este trabalho tem como objetivo testar a validade das duas sub-espécies com base em ferramentas moleculares, morfométricas, merísticas, hemipenianas e osteológicas, reconhecendo e delimitando as linhagens encontradas. Pretende-se ainda investigar as relações filogeográficas entre as populações ao longo da sua distribuição, analisando o tempo de divergência e os possíveis eventos associados a sua diversificação. Além disso, pretende-se comparar a variação molecular e hemipeniana de *B. bilineatus* com *B. taeniatus* (espécie filogeneticamente próxima) e as existentes nos outros grupos de espécies do gênero. Os resultados mostram que a variação genética e hemipeniana encontram-se em diferentes níveis ao longo dos grupos de espécies em *Bothrops*, fornecendo informação relevante a nível intra e inter-específico. Foram recuperados seis clados estruturados para *Bothrops bilineatus*, representando quatro linhagens independentes e diagnosticáveis com base conjunta nos caracteres morfológicos, hemipenianos, osteológicos e moleculares: linhagem 1 – Amazônia central, basal as outras, linhagem 2 - Mata Atlântica+Escudo das Guianas externa às linhagens 3 e 4 Amazônia oeste parte sul e norte, respectivamente. Já para *B. taeniatus* quatro clados representando três linhagens foram recuperadas com bases nos caracteres moleculares e hemipenianos, porém se faz necessário buscar por mais caracteres morfológicos e osteológicos para melhor delimitar e diagnosticar as linhagens. As mudanças paleoclimáticas e geomorfológicas ocorridas na transição Terciário/Quaternário

parecem ser os principais eventos a influenciar na diversificação das linhagens encontradas em *Bothrops bilineatus* e *B. taeniatus*.

Abstract

Bothrops bilineatus is one of six species in the *taeniatus* group, is now recognized by two subspecies: *B. b. smaragdinus* that distributes through western Amazon and *B. b. bilineatus* with disjunct distribution through Amazon and Atlantic Forest. This work aims to test the validity of these two sub-species, based on molecular, morphometric tools, meristic, osteological and hemipenial data, recognizing and delimiting lineages found. We also intend to investigate the phylogeographic relationships among populations throughout its distribution, analyzing the divergence time and possible events associated with it diversification. In addition, we intend to compare the molecular and hemipenial variation presented in *B. bilineatus* with *B. taeniatus* (phylogenetically close species) and those in the other groups of the genus. The genetic and hemipenial results show different levels of variation along the groups of *Bothrops* species, providing significant intra-and inter-specific information. Six clades structured to *Bothrops bilineatus* were recovered, representing four independent lineages diagnosable with joint based on morphology, hemipenial, osteological and molecular characters: lineage 1 - central Amazon, basal the others, lineage 2 - Atlantic Forest + Guayana Shield region recovered outside the sisters lineages 3 and 4 - western Amazon, southern part and western Amazon, northern part, respectively. As for *B. taeniatus* four clades representing three lineages were recovered with bases in molecular and hemipenial characters, however it is necessary to search for more morphological and osteological characters to better delimit and diagnose the lineages.

Paleoclimatic and geomorphic changes in the transition Tertiary/Quaternary, probably are the major events influencing the diversification of lineages found in *Bothrops bilineatus* and *B. taeniatus*.

Referências Bibliográficas

- Albino, A. M. & Montalvo, C. I. (2006). Snakes from the Cerro Azul Formation (Upper Miocene), Central Argentina, with a review of fossil viperids from South America. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 26: 581-587.
- Albino, A. M. (1999). Serpientes del sitio arqueológico Cueva Tixi (Pleistoceno tardío-Holoceno), Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Ameghiniana*, 36: 269-273.
- Albino, A.M. (1989). Primer registro de Colubroidea (Reptilia:Serpentes) de Argentina (Edad Montehermosense s.l., Plioceno). *Ameghiniana*, 25: 281-287.
- Aleixo, A. (2004). Historical diversification of a terra-firme forest bird superspecies: a phylogeographic perspective of the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution* 58: 1303-1317.
- Antonelli, A., Quijada-Mascareñas, A., Crawford, A. J., Bates, J. M., Velasco, P. M. & Wüster, W. (2010). Molecular studies and phylogeography of Amazonian tetrapods and their relation to geological and climatic models. In: Amazonia, landscape and species evolution: a look into the past (eds C. Hoorn & E. P. Wesselingh), pp. 386-404. London, UK: Wiley-Blackwell.
- Arévalo, E. S., Davis, S. K. & Sites, J. W. Jr. (1994) Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Phrynosomatidae) in central Mexico. *Systematic Biology*, 43: 387-418.
- Arnold E. N. (1986). Why copulatory organs provide so many useful taxonomic characters: the origin and maintenance of hemipenial differences in lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 29: 263-281.
- Bandelt, H. J. & Forster, R. A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37-48.
- Barbo, F. E., Grazziotin, F. G., Sazima, I., Martins, M. & Sawaya, R. J. (2012). A new and threatened insular species of lancehead from southeastern Brazil. *Herpetologica*, 68: 418-429.
- Batalha-Filho, H., Fjeldsa, J., Fabre, P. H. & Miyaki, C. Y. (2012). Connections between the Atlantic and the Amazonian forest avifaunas represent distinct historical events. *Journal of Ornithology*, 154(1): 41-50.
- Bernarde, P. S., Costa, H. C., Machado, R. A. & São-Pedro, V. A. (2011). *Bothriopsis bilineata* (Wied, 1821) (Serpentes: Viperidae): New records in the states of Amazonas, Mato Grosso and Rondônia, northern Brazil. *Check List*, 7: 343-347.
- Brattstrom, B. H. (1964). Evolution of the pit vipers. -Transactions of the San Diego Society of Natural History, 13: 185-268.
- Cabanne, G. S., d'Horta, F. M., Sari, E. H. R., Santos, F. R. & Miyaki, C. Y. (2008). Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): bio-geography and systematic implications. *Molecular Phylogeny and Evolution*, 49: 760-773.
- Cadle, J. E. (1992). Phylogenetic relationships among vipers: immunological evidence. In: J. A. Campbell & E. D. Brodie Jr (Eds) *Biology of the Pitvipers* (pp. 41-48). Tyler, TX: Selva.
- Camolez, T. & Zaher, H. (2010). levantamento, identificação e descrição da fauna de Squamata do Quaternário brasileiro (Lepidosauria). *Arquivos de Zoologia*, 41(1): 1-96.

- Campbell, J. A. & Lamar, W. W. (1989). The venomous reptiles of Latin America. New York: Cornell University Press, p.425.
- Campbell, J. A. & Lamar, W. W. (2004). Venomous Reptiles of the Western Hemisphere. Cornell University Press, Ithaca, New York, 1032 pp.
- Capparella, A. (1988). Genetic variation in Neotropical birds: implications for the speciation process. Congress International Ornithology, 19. Acta, 2: 1658-1664.
- Cardoso da Silva, J.M. & Bates, J.M. (2002) Biogeographical patterns and conservation in the South American Cerrado: a tropical savanna hotspot. BioScience, 52: 225–233.
- Carnaval, A. C., Hickerson, M., Haddad, C. F. B. Rodrigues, M. T. & Moritz, C. (2010) Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic Forest Hotspot. Science, 323: 785-789.
- Carrasco, P. A., Manttoni, C. I., Leynaud, G. C. & Scrocchi, G. J. (2012). Morphology, phylogeny and taxonomy of South American bothropoid pitvipers (Serpentes, Viperidae). Zoologica Scripta, 41: 109-124.
- Castoe, T. A. & Parkinson, C. L. (2006). Bayesian mixed models and the phylogeny of pitvipers (Viperidae: Serpentes). Molecular Phylogenetics and Evolution, 39: 91–110.
- Coates, A.G. & Obando, J.A. (1996). The geologic evolution of the Central American Isthmus. Evol. Environ. Trop. Am., 21–56.
- Costa, L. P. (2003). The historical bridge between the Amazon and the Atlantic forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. Journal of Biogeography, 30:71–86.
- Courtenay, O. & Maffei, L. (2004). Crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766). Canids: foxes, wolves, jackals and dogs. Status survey and conservation action plan (ed. by C. Sillero-Zubiri, M. Hoffman, D.W. Macdonald and the IUCN/SSC Canid Specialist Group), pp. 32–38.
- Cundall, D. & Irish, F. (2008). The snake skull. In: Biology of the Reptilia, Vol. 20, Morphology H, C. (Eds.). Gans, A. S. Gaunt, and K. Adler Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca, NY, pp. 349-692.
- Da Silva, V. X. & Rodrigues, M. T. (2008). Taxonomic revision of the *Bothrops neuwiedii* complex (Serpentes, Viperidae) with description of a new species. Phyllomedusa, 7: 45–90.
- Dias, L. G., Feio, R. N. & Santos, P. S. (2009). New record of *Bothriopsis bilineata* (Wied, 1825) (Serpentes, Viperidae) in the Atlantic Forest of Minas Gerais, with a discussion on its conservation. Lundiana, 9:75-76.
- Dowling, H. G., Savage, J. M. (1960). A guide to the snake hemi-penis: a survey of basic structure and systematic characteristics. Zoologica, 45:17–28.
- Drummond, A. J. & Rambaut, A. (2007). BEAST - Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evolutionary Biology, 7: 214.
- Duméril, A. M. C., Bibron, G. & Duméril, A. H. A., (1854). Erpétologie générale ou histoire naturelle complète des reptiles. Tome septième. Deuxième partie, comprenant l'histoire des serpents venimeux. Paris, Librairie Encyclopédique de Roret: i-xii + 781-1536.
- Engesser, B. & Storch, G. (2008). Latest Oligocene Didelphimorpha, Lipotyphla, Rodentia and Lagomorpha (Mammalia) from Oberleichtersbach, Rhön Mountains, Germany. Courier Forschungsinstitut Senckenberg 260: 185-251.

Feio, R. N. & Caramaschi, U. (2002). Contribuições ao conhecimento da herpetofauna do nordeste do estado de Minas Gerais, Brasil. *Phyllomedusa*, 1: 105-111.

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

Fenwick, A. M., Gutberlet, R. L., Jr, Evans, J. A. & Parkinson, C. L. (2009). Morphological and molecular evidence for phylogeny and classification of South American pitvipers, genera *Bothrops*, *Bothriopsis*, and *Bothrocophias* (Serpentes: Viperidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 156, 617-640.

Fetzner, J. (1999). Extracting high-quality DNA from shed reptiles skins: a simplified method. *Bio Techniques*, 26: 1052-1054.

Fluxus Technology LTD. (2009). Disponível em www.fluxus-technology.com

Fouquet, A., Recoder, R., Teixeira Jr, M., Cassimiro, J., Amaro, R. C., Camacho, A., Damasceno, R., Carnaval, A. C., Moritz, C. & Rodrigues, M. T. (2012). Molecular phylogeny and morphometric analyses reveal deep divergence between Amazonia and Atlantic Forest species of *Dendrophryniscus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 66: 826-838.

Gamble, T., Colli, G. R., Rodrigues, M. T., Werneck, F. P. & Simons, A. M. (2012) Phylogeny and cryptic diversity in geckos (*Phyllopezus*; *Phyllodactylidae*; *Gekkota*) from South America s open biomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62: 943-953.

Gans, C., Gaunt, A. S. & Adler, K. (2008). *Biology of the Reptilia*, volume 20, *Morphology H: The Skull of Lepidosauria*. Ithaca, New York, USA, pp. 755.

Garrigues, T., Dauga, C., Ferquel, E., Choumet, V. & Faillous, A.B. (2005). Molecular phylogeny of *Vipera* Laurenti, 1768 and the related genera *Macrovipera* (Reuss, 1927) and *Daboia* (Gray, 1842), with comments about neurotoxic *Vipera aspis aspis* populations. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 35: 35-47.

Godinho, R., Crespo, E. G., Ferrand, N. & Harris, D. J. (2005) Phylogeny and evolution of the green lizards, *Lacertaspp.* (Squamata: *Lacertidae*) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Amphibia-Reptilia*, 26: 271-285.

Gohlich, U. B. (2003). The avifauna of the Grund Beds (Middle Miocene, Early Badenian, northern Austria). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien, Serie A* 104: 237-249.

Goloboff, P. A., Farris, J. S. & Nixon, K. C. (2008). TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, 24: 774-786.

Guiher T. T. & Burbrink F. T. (2008). Demographic and phylogeographic histories of two venomous North American snakes of the genus *Agkistrodon*. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 48: 543-553.

Guiher, T. J. & Burbrink, F. T. 2008. Demographic and phylogeographic histories of two venomous North American snakes of the genus *Agkistrodon*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 543-553.

Guo, P., Jadin, R. C., Malhotra, A. & Li C. (2010). An investigation of the cranial evolution of Asian pitvipers (Serpentes: *Crotalinae*), with comments on the phylogenetic position of *Peltepor macrolepis*. *Acta Zoologica* (Stockholm), 91: 402-407.

Guo, P., Malhotra, A., Creer, S. and Pook, C. E. (2009). An evaluation of the systematic value of skull morphology in the *Trimeresurus* radiation (Serpentes: Viperidae: *Crotalinae*) of Asian Pitvipers. *Journal of Zoological Systematics and Evolution Research*, 47(4): 378-384.

- Gutberlet, R. L., Jr & Campbell, J. A. (2001). Generic recognition for a neglected lineage of South American pitvipers (Squamata: Viperidae: Crotalinae), with the description of a new species from the Colombian Chocó. *American Museum Novitates*, 3316: 1–15.
- Gutberlet, R. L., Jr & Harvey, M. B. (2002). Phylogenetic relationships of New World pitvipers as inferred from anatomical evidence. In: G. W. Schuett, M. Höggren, M. E. Douglas & H. W. Greene (Eds) *Biology of the Vipers* (pp. 51– 68). Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing.
- Haffer, J. (2008). Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia. *Brazilian Journal of Biology*, 68: 917-947.
- Haffer, J. (1969). Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165: 131-137.
- Harvey, M. B. & Embert, D. (2008). Review of Bolivian *Dipsas* (Serpentes: Colubridae), with comments on other South American species. *Herpetological Monographs*, 22: 54-105.
- Heizmann, E.P.J. (1983). Die Gattung *Cainotherium* (Cainotheriidae) im Orleanium und im Astaracium Süddeutschlands. *Eclogae Geologicae Helvetiae* 76(3): 781-825.
- Hoge, A. R. & Lanchini, A. R. (1962). Sinopsis de las serpientes venenosas de Venezuela. *Publicaciones Ocasionales de Museo de Ciencias Naturales, Caracas (Zool.)*, 1:1-24.
- Hoge, A. R. & Romano-Hoge, S. A. R. W. L. (1981). Poisonous snakes of the world. Part 1. Check list of the pit vipers, Viperioidea, Viperidae, Crotalinae. *Memórias do Instituto Butantan* 42-43: 179-309.
- Hoge, A. R. (1966). Preliminary account on Neotropical Crotalinae [Serpentes Viperidae]. *Memórias do Instituto Butantan*, 33: 109-184.
- Holman, J.A. (2000). *Fossil Snakes of North America: Origin, Evolution, Distribution, Paleoecology*. Indiana University Press, Bloomington.
- Hoogmoed M. S. & Gruber, U. (1983). Spix and Wagler types specimens of reptiles and amphibians in the Natural History Museums in Munich (Germany) and Leiden (the Netherlands). *Spixiana*, 9:319-415.
- Hoorn, C., Wesselingh, F. P., ter Steege, H., Bermudez, M. A., Mora, A., Sevink, J., Sanmartín, I., Sanchez-Meseguer, A., Anderson, C. L., Figueiredo, J. C., Riff, D., Negri, F. R., Hooghiemstra, H., Lundberg, J., Stadler, T., Särkinen, T. & Antonelli, A. (2010). Amazonia through time: andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330: 927–931.
- Hossini S. & Rage, J.-C. (2000). Palaeobatrachid Frogs from the Earliest Miocene (Agenian) of France, with Description of a New Species. *Geobios* 33(2): 223-231.
- Ibaraki, M. (2002). Pliocene–Pleistocene planktonic foraminifera from the East Pacific Ocean off Costa Rica and their paleoceanographic implications. *Mar. Micropaleontol.* 46 (1), 13–24.
- Ivanov, M. (2000). Snakes of the lower/middle Miocene transition at Vieux Collonges (Rhône, France), with comments on the colonisation of western Europe by colubroids. *Geodiversitas* 22(4): 559-588.
- Jackson, K. (2002). Post-ovipositional development of the monocled cobra, *Naja kaouthia* (Serpentes: Elapidae). *Zoology*, 105: 203–214.
- Jadin, R. C., Gutberlet, R. L., Jr & Smith, E. N. (2010). Phylogeny, evolutionary morphology, and hemipenis descriptions of the Middle American jumping pitvipers (Serpentes: Crotalinae: Atropoides). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 48, 360–365.
- Jadin, R. C., Smith, E. N. & Campbell, J. A. (2011a). Unravelling a tangle of Mexican serpents: a systematic revision of highland pitvipers. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 163: 943-958.

- Jadin, R. C., Townsend, J. H., Castoe, T. A. & Campbell, J. A. (2011b). Cryptic diversity in disjunct populations of Middle American Montane Pitvipers: a systematic reassessment of *Cerrophidion godmani*. *Zoologica Scripta*, 41(5): 455-470.
- Jardin, R. C., Gutberlet-Jr, R. L. & Smith, E. N. (2009). Phylogeny, evolutionary morphology, and hemipenis descriptions of the Middle American jumping pitvipers (Serpentes: Crotalinae: *Atropoides*). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 48(4): 360-365.
- Kharabadze, E. 1997. Fossil snake localities of the Caucasus. *Bulletin of the Georgian Academy of Sciences* 156(1): 151-154.
- Korth, W. W. (1998). *Annals of Carnegie Museum* 67(4): 299-348.
- Kraus, F., Mink, D. G. & Brown, W. M. (1996). Crotaline intergeneric relationships based on mitochondrial DNA sequence data. *Copeia*, 1996: 763-773.
- Lenk, P., Kalyabina, S., Wink, M. & Joger, U. (2001). Evolutionary relationships among the true vipers (Reptilia: Viperidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 19(1): 94-104.
- Librado, P. & Rozas, J. (2009). DnaSP v5 - a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics Applications Note*, 25: 1451-1452.
- Machado, T., Silva, V. X. & Silva, M. J. J. (2014). Phylogenetic relationships within *Bothrops neuwiedi* group (Serpentes, Squamata): Geographically highly-structured lineages, evidence of introgressive hybridization and Neogene/Quaternary diversification. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 71: 1-14.
- Manzani, P. R. & Abe, A. S. (1988). Sobre dois novos métodos de preparo do hemipênis de serpentes. *Memórias do Instituto Butantan*, 50: 15-20.
- Martini, A. M. Z., Fiaschi, P., Amorim, A. M. & Paixão, J.M. (2007). A hot-point within a hot-spot: a high diversity site in Brazil's Atlantic Forest. *Biodiversity and Conservation* 16:3111-3128.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 November 2010. New Orleans, LA, pp. 1-8.
- Nunes, P. M. S., Fouquet, A., Curcio, F. F., Kok, P. J. R. & Rodrigues, M. T. (2012). Cryptic species in *Iphisa elegans* Gray, 1851 (Squamata: Gymnophthalmidae) revealed by hemipenial morphology and molecular data. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166: 361-376.
- 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, Sunderland, MA, pp. 205-247.
- Parkinson, C. L. (1999). Molecular systematic and biogeographical history of pitvipers as determined by mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Copeia*, 576-586.
- Parkinson, C. L., Campbell, J. A. & Chippindale, P. T. (2002). Multigene phylogenetic analysis of pitvipers, with comments on their biogeography. *In: G. W. Schuett, M. Höggren, M. E. Douglas & H. W. Greene (Eds) Biology of the Vipers* (pp. 93- 110). Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing.
- Pellegrino, K. M. C., Rodrigues, M. T., Harris, D. J., Yonenaga-Yassuda, Y., Sites, J. S. Jr. (2011). Molecular phylogeny, biogeography and insights into the origin of parthenogenesis in the Neotropical genus *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae): ancient links between the Atlantic Forest and Amazonia. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 61: 446-459.

- Pesantes, O. S. (1994). A method for preparing the hemipenis of preserved snakes. *Journal of Herpetology*, 28: 93-95.
- Pickford, M., Senut, B., Mein, P., Gommery, D., Morales, J., Soria, D., Nieto, M. & Ward J. (1996). Preliminary results of new excavations at Arrisdrift, middle Miocene of southern Namibia. *C. R. Acad. Sci. Paris* 322 (Serie IIa): 991-996.
- Polachowski, K. J. & Werneburg, I. (2013). Late embryos and bony skull development in *Bothropoides jararaca* (Serpentes, Viperidae). *Zoology*, 116: 36-63.
- Pook, C. E., Wüster, W. & Thorpe, R. S. (2000). Historical biogeography of the western rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus viridis*), inferred from mitochondrial DNA sequence information. *Molecular & Phylogenetic Evolution*, 15: 269–282.
- Prates, I., Rodrigues, M. T., Melo-Sampaio P. R. & Carnaval, A. C. (2015). Phylogenetic relationships of Amazonian anole lizards (Dactyloa): Taxonomic implications, new insights about phenotypic evolution and the timing of diversification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82: 258-268.
- Puerto, G., Salomão, M.G., Theakston, R. D. G., Thorpe, R. S., Warrell, D. A. & Wüster, W. (2001). Combining mitochondrial DNA sequences and morphological data to infer species boundaries: phylogeography of lanceheaded pitvipers in the Brazilian Atlantic forest, and the status of *Bothrops pradoi* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 14: 527-538.
- Quijada-Mascareñas, J. A., Fergusson, J. E., Pook, C. E., Salomão, M. G., Thorpe, R. S. & Wüster, W. (2007). Phylogeographic patterns of trans-Amazonian biogeography: the neotropical rattlesnake (*Crotalus durissus* complex) as an example. *Journal of biogeography*, 34: 1296-1312.
- Rage, J.C. (1982). L'histoire des serpents. *Pour la Science*, 54: 16–27.
- Rambaut, A. & Drummond, A.J. (2009) MCMC Trace Analysis Tool Version v1.5.0. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh and Department of Computer Science, University of Auckland. Available from: <http://beast.bio.ed.ac.uk/> (accessed 10 October 2013).
- Ribas, C. C., Aleixo, A., Nogueira, A. C. R., Miyaki, C. Y. & Cracraft, J. (2012). A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. *Proceedings of the Royal Society*, 279: 681-689.
- Rodrigues, M. T., Teixeira-Jr, M. Dal Vechio, F., Amaro, R. C., Nisa, C., Guerrero, A. C., Damasceno, R., Roscito, J. G. Nunes, P. M. S. & Recoder, R. S. (2013). Rediscovery of the Earless Microteiid Lizard *Anotosaura collaris* Amaral, 1933 (Squamata: Gymnophthalmidae): A redescription complemented by osteological, hemipenial, molecular, karyological, physiological and ecological data. *Zootaxa*, 3731(3): 345-370.
- Ronquist, E. & Huelsenbeck, J. P. (2003). MR. Bayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19: 1572–1574.
- Roze, J. A. (1958). Los reptiles del Chimantá Tepui (Estado Bolívar, Venezuela) colectados por la expedición botánica del Chicago Natural History Museum. *Acta Biologica Venezuelica*, 2 (25): 299-314.
- Salomão, M. G., Wüster, W., Thorpe, R. S. & BBBSP. (1997). DNA evolution of South American pitvipers of the genus *Bothrops*. In R. S. Thorpe, W. Wüster & A. Malhotra (Eds) *Venomous Snakes: Ecology, Evolution, and Snakebite* (pp. 89–98). Oxford: Clarendon Press.
- Salomão, M. G., Wüster, W., Thorpe, R. S. & BBBSP. (1999). MtDNA phylogeny of Neotropical pitvipers of the genus *Bothrops* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Kaupia*, 8:127–134

- Scanferla, C. A. & Nenda, S. J. (2005). El registro más antiguo del género *Bothrops* (Serpentes, Viperidae), proveniente del Pleistoceno inferior a medio de Argentina. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales*, 7: 177-181.
- Sick, H., (1967). Rios e enchentes na Amazonia como obstáculo para a avifauna. *Simpósio sobre a Biota Amazônica. Atas Zoologia*, 5: 495-520.
- Silva V. X. (2004). The *Bothrops neuwiedi* complex. In: Campbell, J. & Lamar W. W. (Eds.) *The venomous reptiles of the western hemisphere*. Ithaca, NY: Cornell University Press, 410–422.
- Silva, J. M. C. & Garda, A. A. (2011). Padrões e processos bio geográficos na Amazônia. In: C. J. B. Carvalho & E. A. B. Almeida (Eds) *Biogeografia da América do Sul – Padrões e Processos*. pp 306. Roca, Brasil.
- Silva, V. X. (2000). Revisão sistemática do complexo *Bothrops neuwiedi* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae), 2 vols. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo.
- Stamatakis, A. (2006). RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22: 2688–2690.
- Stephens, M. & Donnelly, P. (2003). A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction. *American Journal of Human Genetics*, 73: 1162–1169.
- Stephens, M., Smith, N. J. & Donnelly, P. (2001). A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics*, 68: 978–989.
- Szyndlar, Z. & Alférez, F. (2005). Iberian snake fauna of the early/middle Miocene transition. *Revista Española de Herpetología*, 19:57-70.
- Szyndlar, Z. & Rage, J.C. (1999). Oldest fossil vipers (Serpentes: Viperidae) from the Old World. *Kaupia*, 8: 9–20.
- Szyndlar, Z. & Rage, J.-C. (1999). Oldest Fossil Vipers (Serpentes: Viperidae) from the Old World. *Kaupia - Darmstädter Beiträge zur Naturgeschichte*, 8:9-20.
- Szyndlar, Z. & Schleich, H. H. (1993). Description of Miocene snake from Petersbuch 2 with comments on the lower and middle Miocene ophidian faunas of southern Germany. *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde, Series B. Geologie und Palaontologie*, (192): 1-47.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731–2739.
- Thomé, M. T. C., Zamudio, K. R., Haddad, C. F. B. & Alexandrino, J. (2012). Delimiting genetic units in Neotropical toads under incomplete lineage sorting and hybridization. *Evolutionary Biology*, 12: 242-255.
- Townsend, T. M., Alegre, R. E., Kelley, S. T., Wiens, J. J. & Reeder, T. W. (2008). Rapid development of multiple nuclear loci for phylogenetic analysis using genomic resources: An example from squamate reptiles. *Molecular phylogenetics and evolution*, 47: 129-142.
- Uzzell, T. (1973) A revision of lizards of the genus *Prionodactylus*, with a new genus for *P. leucostictus* and notes on the genus *Euspondylus* (Sauria, Teiidae). *Postilla*, 159: 1–67.
- Vanzolini, P. E. & Williams, E. (1970). South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia, São Paulo*, 19: 1–298.

- Vanzolini, P. E. & Williams, E. E. (1981). The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. *Papéis Avulsos de Zoologia*, São Paulo, 34: 251-255.
- Venczel, M. & Stiucă, E. (2008). Late middle Miocene amphibians and Squamate Reptiles from Tauț, Romania. *Geodiversitas* 30(4): 731-763.
- Vidal, N., Lecointre, G., Vie, J. C., & GASC, J. P. (1997). Molecular systematics of pitvipers: paraphyly of the *Bothrops* complex. *C. R. Académie des Sciences Paris, Sciences. Vie*, 320:95-101.
- Vivo, M. (1997). Mammalian evidence of historical ecological change in the Caatinga semiarid vegetation of northeastern Brazil. *Journal of Computational Biology*, 2: 65-73.
- Wagler, J. (1824). *Serpentum Brasiliensium species novae, ou histoire naturelle des espèces nouvelles de serpens*. In: Jean de Spix, *Animalia nova sive species novae. Natrix bahiensis*: 27, Monaco, Typis Franc. Seraph. Hübschmanni, vii, 75 pp.
- Webb, S. D., MacFadden, B. J. & Baskin, J. A. (1981). Geology and paleontology of the Love Bone Bed from the Late Miocene of Florida. *American Journal of Science*, 281: 513-544.
- Weir J. T. & Schluter, D. (2008). Calibration the avian molecular clock. *Molecular Ecology*, 17(10): 2321-2328.
- Werman S. D. (2005). Hypotheses on the historical biogeography of bothropoid pitvipers and related genera of the neotropics. In: Donnelly, M. A., Crother, B. I., Guyer, C., Wake, M. H. & White, M. E (Eds). *Ecology & Evolution in the Tropics*. The University of Chicago Press, Chicago & London, pp. 675.
- Werman, S. D. (1992). Phylogenetic relationships of Central and South American pitvipers of the genus *Bothrops* (sensu lato): cladistic analysis of biochemical and anatomical characters. In: J. A. Campbell & E. D. Brodie (Eds) *Biology of the Pitvipers* (pp. 21-40). Tyler, TX: Selva.
- Werneck, F. P., Gamble, T., Colli, G. R., Rodrigues, M. T. & Sites, J. (2012). Deep diversification and long-term persistence in the South American dry diagonal : integrating continent-wide phylogeography and distribution modeling of geckos. *Evolution*, 66: 3014-3034.
- Wied-Neuwied, M. Prinz zu (1825). *Beiträge zur Naturgeschichte von Brasilien*. Weimar, no. 1, xxii + 612 pp.
- Wiens, J. J., Kuczynski, C. A., Smith, S. A., Mulcahy, D., Sites Jr, J. W., Townsend, T. M. & Reeder, T. W. (2008). Branch lengths, support, and congruence: testing the phylogenomic approach with 20 nuclear loci in snakes. *Systematic Biology*, 57: 420-431.
- Wüster, W., Ferguson, J. E., Quijada-Mascareñas, J. A., Pook, C. E., Salomão, M. G. & Thorpe, R. S. (2005) Tracing an invasion: landbridges, refugia and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus durissus*). *Molecular Ecology*, 14: 1095-1108.
- Wüster, W., Peppin, L., Pook, C. E. & Walker, D. E. (2008). A nesting of vipers: phylogeny and historical biogeography of the Viperidae (Squamata: Serpentes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49: 445-459.
- Wüster, W., Salomão, M. G., Duckett, G. J., Thorpe, R. S. & BBBSP. (1999). Mitochondrial DNA phylogeny of the *Bothrops atrox* species complex (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Kaupia*, 8:135-144.
- Wüster, W., Salomão, M. G., Quijada-Mascareñas, J. A., Thorpe, R. S. & BBBSP (2002). Origins and evolution of the South American pitvipers fauna: evidence from mitochondrial DNA sequence analysis. In: G. W. Schuett, M. Höggren, M. E. Douglas & H. W. Greene (Eds) *Biology of the Vipers* (pp. 111- 129). Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing.

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

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

Zanella, N. & De Lema, T. (1999). Osteologia crania de *Bothrops alternatus* duméril, Bibron and Duméril, 1854, e a comparação com espécies de *Bothrops* wagler, 1824, ocorrentes no sul do Brasil (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). *Cuadernos de Herpetologia*, 13: 47-68.

Zar, J. H. (2010). *Biostatistical Analysis*. 5 ed. Prentice Hall, New Jersey, 960 pp.

Ziegler, R. (1990). Talpidae (Insectivora, Mammalia) aus dem Oberoligozän und Untermiozän Süddeutschlands. *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde. Serie B (Geologie und Paläontologie)*, 167: 1-81.

Material Examinado

Ceplac: Comissão Executiva de Planejamento da Lavoura Cacaueira; DT: Coleção Dante Pavan; FL: Universidade Federal do Amapá; Funed: Fundação Ezequiel Dias; IB: Instituto Butantan; INPA: Instituto de Pesquisas da Amazônia; LAPS: Universidade Federal da Bahia; MCPR: Museu de Ciências e Tecnologia – PUCRS; MNJR: Museu Nacional do Rio de Janeiro; MPEG: Museu Paraense Emílio Goeldi; MTR: Laboratório de Herpetologia-USP; MZUESC: Museu de Zoologia Universidade Estadual Santa Cruz; MZUSP: Museu de Zoologia-USP; UFAC: Universidade Federal do Acre; UFBA: Universidade Federal da Bahia; UFMT: Universidade Federal do Mato Grosso; UHE-JIRAU: Museu de Zoologia-USP; TQ: Universidade Federal do Amapá; ZUEC: Museu de Zoologia da Unicamp.

Bothrops bilineatus: **Brasil: Acre:** Parque Nacional Serra do Divisor, MTR28518; Rio Branco, UFAC102; UFAC115; UFAC287; UFAC298; **Amapá:** FL495; TQ1020. **Amazonas:** Benjamin Constant, MNRJ2910. Coari, Porto Urucu, MPEG23608. Mamirauá, MPEG20513. Margem do Médio Rio Purus, INPA-H3156; INPA-H31563(CGTA-C125); BR319, INPA-H31561 (APLima18499), BR319, INPA-H31558 (APLima18502). **Bahia:** Almadina, MZUESC5129. Amargosa, MZUESC5587. Arataca, MZUESC2899, MZUESC4428, MZUESC4869; MZUESC4871; MZUESC4872. Aurelino Leal, CEPLAC2953. Barra do Choça, MZUESC680; MZUESC1201; MZUESC3537; MZUESC3961; MZUESC5827; MZUESC697; MZUESC8095. Barro Preto, CEPLAC6081. Boa Nova, MZUESC1777; MZUESC5382; MZUESC5383. Buerarema, CEPLAC649; CEPLAC5589. Estação Ecológica Wenceslau Guimarães (EEEWG),

MTR22219. Camacã, FUNED-17; FUNED-18; MZUESC2856; MZUESC4388; MZUESC5150; MZUESC6137; MZUESC6231; MZUESC6232; MZUESC6383; CEPLAC1725; CEPLAC1726; CEPLAC1831. Camumú, MZUESC5950; CEPLAC1843; CEPLAC2933; CEPLAC2934. Coaraci, MZUESC4457. Floresta Azul, CEPLAC5384; CEPLAC5385; CEPLAC5567. Ibicaraí, MZUESC518. Iguaí, MZUESC6075. Ilhéus, MNRJ2952; MNRJ2960; MNRJ3044; IB80845; CEPLAC312; CEPLAC648; CEPLAC676; CEPLAC677; CEPLAC776; CEPLAC814; CEPLAC815; CEPLAC830; CEPLAC1621; CEPLAC2132; CEPLAC2658; CEPLAC2659; CEPLAC3629; CEPLAC5794. Itacaré, CEPLAC238; CEPLAC2214; CEPLAC2532. Itagi, MZUESC2409. Itajuípe, MZUESC6530. Itubera, CEPLAC7007; CEPLAC7358. Jequié, CEPLAC5727. Jussari, CEPLAC3582; CEPLAC3600. Maraú, CEPLAC806. Mascote, CEPLAC1846. Nova Ibiá, MZUESC7530; CEPLAC6828. Oliveira, MZUSP13248 (MTR288); UFBA1429; LAPS721; UFBA2007. Pau Brasil, MZUESC8972. Ribero do Largo, CEPLAC6417. Santa Cruz, CEPLAC192; CEPLAC239; CEPLAC243. Ubaitaba, CEPLAC3965. Una, MZUESC6756; CEPLAC3787; CEPLAC7009. Uruçuca, CEPLAC268. Valença, CEPLAC3854; CEPLAC3855; CEPLAC3856; CEPLAC38996; CEPLAC4310. **Espírito Santos:** Vitória, MCPR650; MNRJ3076. Conceição da Barra, ZUEC1674. Pau Gigante, MNRJ999. Santa Leopoldina, MZUSP1436. Santa Tereza, MZUSP4456. **Mato Grosso:** Colniza, UFMT-R7809; Cotriguaçu, UFMT-R9128; UFMT-R8908. Juína, MNRJ7881-82 **Pará:** Canaã dos Carajás, FUNED-2834; FUNED-1234; FUNED1982; MPEG16590; MPEG16623; MPEG16654; MPEG16970; MPEG17095; MPEG18183; ZUEC0840. Itaituba, MPEG25070. Juruti, MPEG20429; MPEG22429-39; MPEG22461; MPEG22694; MPEG23279; MPEG24289. Nova Timboteua, MPEG21757

Parauapebas, MPEG22905-06; Santa Bárbara do Pará, MPEG20488; Tapajós, DT3028; DT3831; Viséu, MPEG3066; MPEG10152-53; MPEG10674-75. **Pernambuco:** Timbaúba, MNRJ9016. **Rio de Janeiro:** Rio de Janeiro, MNRJ3434. **Rondônia:** NPA-H31559 (APLima17803). Guajará Mirim, MPEG19468; MPEG194689. Porto Velho, MZUSP19033 (SA3073); MPEG25501. UHE Santo Antônio, MTR21457-61; UHE Jirau, (UHE-JIRAU)H4252; (UHE-JIRAU)H5144; IB85528-29. UHE Samuel, MPEG17977; MPEG18145. **Roraima:** Pacaraima, MTR20744; Serra dos Surucucus, MZUSP10371-72. **Colômbia:** Letícia, MCP14092; MZUSP3722(1186); MPEG18292; MPEG18302; MPEG18482; MPEG18808; **Equador:** Napo, Añango MZUSP8253; **Guiana Inglesa:** MZUSP20230 (H36V2). **Peru:** Loreto, Estiron, Rio Ampiyacu, MZUSP4398-99. **Sem procedência:** MNRJ242; MNRJ998; MNRJ3424; IB80869; MZUSP15173 (20062009).

Anexo

Anexo 1: Lista dos caracteres tomado para as análises morfológicas.

Medidas morfométricas:

- 1- Comprimento da Cabeça (CCA): da rostral (ponta do focinho) até a articulação do quadrado-mandibular;
- 2- Largura da Cabeça (LCA): distância entre os pontos no maior eixo transversal da cabeça;
- 3- Altura da Cabeça (ACA): distância entre o topo da cabeça e a região gular no ponto de maior altura da cabeça;
- 4- Comprimento Rostro Cloacal (CRC): distância entre abertura cloacal e a ponta do focinho;
- 5- Comprimento da Cauda (CAU): distância da abertura cloacal até a extremidade da cauda;
- 6- Distância Olho-Olho: distância entre a parte anterior dos olhos (DOO);
- 7- Distância Narina-Narina (DNN);
- 8- Distância Fosseta-Fosseta (DFF);
- 9- Distância Narina-Rostral (DNR);
- 10- Altura da Fosseta Loreal (AFL);
- 11- Largura da Fosseta Loreal (LFL);
- 12- Diâmetro do Olho (DO);
- 13- Distância Olho-Fosseta: distância entre a parte anterior do olho e a parte posterior da fosseta (DOF);
- 14- Distância Olho-Narina: distância entre a parte anterior do olho e a parte posterior da narina (DON);
- 15- Distância Fosseta-Narina: distância entre a parte anterior da fosseta e a parte posterior da narina (DFN);
- 16- Distância Olho Rostral: distância entre a parte anterior do olho e a parte superior da rostral (DOR);
- 17- Tamanho do Hemipênis: Distância entre a base até parte apical do lobo;
- 18- Tamanho do *Capitulum*: Distância entre a parte basal do *capitulum* até ápice do lobo, medida tomada na parte sulcada, com ponto de fixação ao lado do suco espermático;
- 19- Tamanho do Lobo: Distância da base do hemipênis até a base do *capitulum*.

Caracteres merísticos:

- 20- N° de Escamas Dorsais (D): primeiro terço do corpo (D1), ao meio do corpo (D2) e no terço final (D3);
- 21- N° de Escamas Dorsais ao redor da base da cauda (DCA);
- 22- N° de Escamas Ventrals (V): a partir da 1ª escama ventral mais larga que longa, até a placa anal, não considerando essa;

- 23- N° de Escamas Sub-caudais (SC): a partir das 1^{as} subcaudais em contato mediano até o botão terminal, na extremidade da cauda;
- 24- N° de Escamas Supralabiais (SL): da rostral até a rima bucal;
- 25- N° de Escamas infralabiais (IL): da sinfisial até a rima bucal;
- 26- N° de Escamas entre a Subocular e a 4^a Supralabial (SSL): contadas em três níveis, terço anterior (SSL1), mediano (SSL2) e terço posterior (SSL3);
- 27- N° de Escamas Intersupraocular (ISO): linha imaginária que corta transversalmente a supraocular ao meio;
- 28- N° de Escamas em contato com o Olho (OL): todas as escamas que estão em contato direto com o olho;
- 29- N° de Escamas em Contato com a Supraocular (CSO): escamas que circundam a supraocular, desconsiderando a última;
- 30- N° de Escamas entre a Nasal e a Fosseta Lorel (NFL): pequenas escamas presentes nessa região;
- 31- N° de Escamas entre o Focinho até altura mediana das Supraoculares (FSO): contadas na linha sagital que começa após as cantais primárias e vai até a linha imaginária que corta transversalmente a supraocular;
- 32- N° de Escamas entre o Focinho até a parte posterior da Cabeça (FCA): contadas na linha sagital que começa após as cantais primárias e vai até a linha imaginária que passa na articulação quadrado-mandibular;
- 33- N° de escamas entre a rima bucal a as ventrais: escamas na região gular contadas após a última supralabial numa fileira de escamas até as escamas ventrais;
- 34- N° de escamas entre a primeira ventral até os escudos mentonianos: pequenas escamas gulares que se localizam entre as escamas ventrais e os escudos mentonianos numa linha reta;
- 35- N° de Manchas Laranja-avermelhadas na parte Dorsal do Tronco (QMDT): contadas em ambos os lados, da região posterior da cabeça até a cloaca;
- 36- N° de Escamas entre as Cantais (QEEC): quantidade de pequenas escamas numa linha imaginária reta entre as cantais;
- 37- N° de Escamas entre as Cantais e a Rostral (QECR): quantidade de pequenas escamas na parte antero-dorsal da cabeça entre a linha imaginária entre as cantais, não considerando essas escamas, ate a rostral;
- 38- N° de Escamas entre as Últimas Supralabiais (QEEUSL): quantidade de pequenas escamas numa linha imaginária entre as as ultimas supralabiais;
- 39- N° de Escamas entre Infralabiais (QEEIL): quantidade de escamas entre as infralabiais pasando na região central pela primeira fileira de escama antes das ventrais;
- 40- N° de Escamas entre as 4^{as} supralabiais (QEE4SL): quantidade de pequenas escamas na parte dorsal da cabeça numa linha imaginária entre as quartas supralabiais;

- 41- N° de Espinhos no Hemipênis (TotEsp): quantidade de espinhos pequenos e grandes em ambos os lobos;
- 42- N° de Espinhos Horizontalmente (QEH): quantidade de espinhos grandes, acompanhando o *capitulum* numa volta completa sob o lobo.
- 43- N° de Espinhos Verticalmente (QEV): quantidade de espinhos grandes numa linha reta imaginária da parte basal do *capitulum* até a base do hemipênis em sua parte lateral, contrária a parte intrasulcar;
- 44- N° de Espinhos Grandes no Hemipênis (QEG);
- 45- N° de Espinhos Pequenos no Lobo Direito (QEPLD);
- 46- N° de Espinhos Pequenos no Lobo Esquerdo (QEPLE);

Caracteres qualitativos:

- 47- Sexo (SEX): determinado a partir de uma pequena incisão com bisturi na base ventral da cauda, a fim de verificar a presença ou não de hemipênis,
- 48- Ornamentação das Supralabiais (OSL): amarelo ou verde; e presença/ausência de pintas;
- 49- Ornamentação das infralabiais (OIF): amarelo ou verde; e presença/ausência de pintas;
- 50- Presença de Barras Verticais ou (mancha) entre as Escamas Supralabiais (BSL): presença ou ausência;
- 51- Presença de Barras Verticais (mancha) entre as Escamas Supralabiais (BIL): presença ou ausência;
- 52- Manchas Laranja-avermelhadas na parte Dorsal do Tronco (MDT): presença - ausência;
- 53- Ornamentação da Íris: presença ou ausência de pintas;
- 54- Característica da Linha Vento-lateral (LVL): contínua ou interrompida;
- 55- Cor do Engodo Caudal: claro ou escuro;
- 56- Faixa Pós-Orbital (FPO): faixa única escura com pouco pigmento alaranjado ou faixa laranja-avermelhada ampla margeada por duas faixas escuras;
- 57- Tamanho relativo entre 3ª e 4ª Supralabiais: do mesmo tamanho ou qual é a maior;
- 58- Tamanho relativo entre 3ª e última Supralabial: do mesmo tamanho ou qual é a maior;
- 59- Tamanho relativo entre 4ª e última Supralabial: do mesmo tamanho ou qual é a maior;
- 60- Morfologia dos espinhos maiores no hemipênis: pequeno ou grande.

Biografia

Formou-se em bacharel pela Universidade de São Paulo – USP no ano de 2012. Realizou durante o período de graduação uma iniciação científica no laboratório de bioquímica do Instituto Butantan com a Dra. Marilene Demasi, entre 2007-2009; e outra no laboratório de herpetologia do Instituto de Biociências - USP com o Prof. Dr. Miguel Trefaut Rodrigues (2011-2012), ambas as pesquisas com apoio financeiro da FAPESP. Deu continuidade aos estudos com a herpetofauna, realizando esse trabalho dissertativo e se preparando para o início da sua tese de Doutorado. Publicou durante esse período no meio acadêmico:

1. Dal Vechio, F. ; Recoder, R. S. ; Zaher, H. & Rodrigues, M. T. The herpetofauna of the Estação Ecológica de Uruçuí-Una, state of Piauí, Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 53, p. 225-243, 2013.
2. Dal Vechio, F. ; Recoder, R. ; Zaher, H. & Rodrigues, M.T. Natural history of *Micrablepharus maximiliani* (Squamata: Gymnophthalmidae) in a Cerrado region of northeastern Brazil. *Zoologia (Curitiba)*, v. 31, p. 114-118, 2014.
3. Dal Vechio, F. ; Cerqueira, F. ; Augusto, O. ; Lopes, R. & Demasi, M. Peptides that activate the 20S proteasome by gate opening increased oxidized protein removal and reduced protein aggregation. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 67, p. 304-313, 2014.
4. Teixeira, M. ; Dal Vechio, F. ; Mollo Neto, A. ; Rodrigues, M.T. A New Two-Pored *Amphisbaena* Linnaeus, 1758, from Western Amazonia, Brazil (*Amphisbaenia*: Reptilia). *South American Journal of Herpetology*, v. 9, p. 62-74, 2014.
5. Teixeira Jr, M. ; Dal Vechio, F. ; Recoder, R.S. ; Carnaval, A.C. ; Strangas, M. ; Damasceno, R.P. ; Sena, M.A. ; Rodrigues, M. T. Two new species of marsupial tree-frogs

genus *Gastrotheca* Fitzinger, 1843 (Anura, Hemiphractidae) from the Brazilian Atlantic Forest. Zootaxa, v. 3437, p. 1-23, 2012.

6. Teixeira Jr, M.; Dal Vechio, F. ; Nunes, P.M.S. ; Mollo Neto, A. ; Lobo, L.M. ; Storti, L.F. ; Gaiga, R.A.J. ; Dias, P.H.F ; Rodrigues, M.T. A new species of *Bachia* Gray, 1845 (Squamata: Gymnophthalmidae) from the western Brazilian Amazonia. Zootaxa, v. 3636, p. 401-420, 2013.

7. Rodrigues, M.T. ; Teixeira Jr, M. ; Dal Vechio, F. ; Amaro, R.C. ; Nisa, C. ; Guerrero, A.C. ; Damasceno, R. ; Roscito, J.G. ; Nunes, P.M.S. ; Recoder, R.S. Rediscovery of the Earless Microteiid Lizard *Anotosaura collaris* Amaral, 1933 (Squamata: Gymnophthalmidae): A redescription complemented by osteological, hemipenial, molecular, karyological, physiological and ecological data. Zootaxa, v. 3731, p. 345-370, 2013.

8. Rodrigues, M.T. ; Teixeira Junior, M. ; Recoder, R.S. ; Dal Vechio, F. ; Damasceno, R.P. ; Pellegrino, K.C.M. A new species of *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae) with four fingers from the Atlantic Forest central corridor in Bahia, Brazil. Zootaxa, v. 3635, p. 459-475-475, 2013.

9. Teixeira Jr, M. ; Amaro, R.C. ; Recoder, R.S. ; Dal Vechio, F. ; Rodrigues, M.T. A new dwarf species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro, 1920 (Anura, Cycloramphidae) from the highlands of Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. Zootaxa, v. 3551, p. 25-42-42, 2012.

10. Passos, P. ; Teixeira Junior, M. ; Recoder, R.S. ; Sena, M.A. ; Dal Vechio, F. ; Bonfim, H. ; Mendonça, S. ; Cassimiro, J. ; Rodrigues, M.T. A new species of *Atractus* (serpentes: Dipsadidae) from Serra do Cipó, Espinhaço range, southeastern Brazil, with proposition of A new species group to the genus. *Papéis Avulsos de Zoologia* (USP. Museu de Zoologia. Impresso), v. 53, p. 75-85, 2013.

Tabelas

Tabela 1: Espécies e seus respectivos grupos utilizadas nas análises moleculares para as reconstruções filogenéticas.

Grupo alternatus	Grupo jararaca	Grupo neuwiedi	Grupo jararacussu	Grupo atrox	Grupo taeniatus	Bothrocophias	Outras espécies
<i>Bothrops alternatus</i>	<i>Bothrops jararaca</i>	<i>Bothrops neuwiedi</i>	<i>Bothrops jararacussu</i>	<i>Bothrops atrox</i>	<i>Bothrops taeniatus</i>	<i>Bothrocophias hyoprora</i>	<i>Bothrops pictus incertae sedis</i>
<i>Bothrops fonsecai</i>		<i>Bothrops erythromelas</i>	<i>Bothrops brazili</i>	<i>Bothrops Leucurus</i>	<i>Bothrops bilineatus</i>	<i>Bothrocophias microphthalmus</i>	<i>Bothriech ischlegelii</i>
<i>Bothrops cotiara</i>		<i>Bothrops lutzi</i>	<i>Bothrops pirajai</i>	<i>Bothrops moojeni</i>	<i>Bothrops pulcher</i>	<i>Bothrocophias campbelli</i>	<i>Cerrophidion godmani</i>
<i>Bothrops itapetiningae</i>		<i>Bothrops diporus</i>		<i>Bothrops osbornei</i>	<i>Bothrops chloromelas</i>		<i>Porthidium porrasi</i>
<i>Bothrops amodytoides</i>		<i>Bothrops pauloensis</i>		<i>Bothrops punctatus</i>			<i>Lachesis muta</i>
				<i>Bothrops caribbaeus</i>			<i>Crotalus durissus</i>
				<i>Bothrops lanceolatus</i>			
				<i>Bothrops asper</i>			
				<i>Bothrops isabellae</i>			

Tabela 2: Exemplos e marcadores utilizados nas análises moleculares. Clados recuperados das análises moleculares para *Bothrops bilineatus*: 1. Mata Atlântica; 2. Escudo das Guianas; 3. Amazônia centro-leste; 4. Amazônia centro-oeste; 5. Amazônia oeste – parte sul; 6. Amazônia oeste – parte norte. Clados recuperados para *Bothrops taeniatus*: 1. norte do Rio Amazonas; 2. Amazônia oeste; 3. Amazônia centro-leste; 4. Amazônia sul-sudoeste. Exemplos cujas sequências foram retiradas do GenBank estão indicadas nos parênteses.

<u><i>Bothrops bilineatus</i></u>	Clado	12S	16S	Cytb	ND4	C-mos	PRLR	MKL1	RAG1	BDNF
Ceplac1 - Boa Nova, Bahia	1	X	X	X	X	X	X	X	X	-
MTR22219 - EEE Wenceslau Guimarães, Bahia	1	X	X	X	X	X	X	X	X	-
MUFAL10753 - Murici, Alagoas	1	X	X	X	X	X	X	X	X	-
MZUSP13248 (MTR288) - Olivença, Bahia	1	X	X	X	X	X	X	-	X	-

AF765 - Guiana Francesa	2	X	X	X	X	-	X	-	-	-
<i>Bothriopsis bilineata</i> - Guiana Francesa (GenBank)	2	-	X	X	-	-	-	-	-	-
CTMZ12115 (MZUSP20230) - Guiana Inglesa	2	X	X	X	X	-	-	-	-	X
MTR20744 - Pacaraima, Roraima	2	X	X	X	X	X	X	X	X	-
PK1880 - Guiana Inglesa	2	X	X	X	X	X	X	X	X	-
MPEG22694 - Juruti, Pará	3	X	X	X	X	X	X	X	X	-
MPEG24289 - Juruti, Pará	3	X	X	X	X	X	X	X	X	-
DT3831 - Tapajós, Para	3	X	X	X	X	-	X	X	X	-
BBFLONA - Tapajós, Para	3	X	X	X	X	-	-	-	-	-
BB3 - Tapajós, Para	3	X	X	X	X	-	-	-	-	X
INPA31561 (APL18499) – Médio Purus, Amazonas	4	X	X	-	-	-	-	-	-	X
INPA31558 (APL18502) - Médio Purus, Amazonas	4	X	X	X	X	-	X	X	-	X
CGTA43 – Rio Purus, Amazonas	4	X	X	X	X	-	X	X	-	X
UFMT7809 - Colniza	4	X	X	X	X	X	X	X	X	
UFMT8908 - Cotriguaçu	4	-	X	X	X	X	X	X	X	
BBLuis - Rondônia	5	X	X	-	-	-	-	-	-	X
APL16357 - Rondonia	5	X	X	X	X	-	X	X	-	X
BB1 - Santo Antônio, Rondônia	5	X	X	X	X	X	X	-	X	-
H4259 - Jirau, Rondônia	5	X	X	X	X	-	-	X	X	X
H5144 - Jirau, Rondônia	5	X	X	X	X	-	X	X	-	X
INPA31559 (APL17803) - Rondônia	5	X	X	X	X	-	X	X	-	X
MTR21460 - Santo Antônio, Acre	5	X	X	X	X	-	-	X	X	-
MTR28518 - PN Serra do Divisor, Acre	5	X	X	X	X	-	X	X	X	-
MTR28528 - Rio Branco, Acre	5	X	X	X	X	-	X	X	-	-
MTR28529 - Rio Branco, Acre	5	X	X	X	X	-	-	X	X	-
T62034 - Cruzeiro do Sul, Acre	5	X	X	X	X	X	X	X	X	-
<i>Bothriopsis bilineata</i> - Letícia (GenBank)	6	-	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops bilineatus</i> - Equador (GenBank)	6	-	-	X	X	-	-	-	-	-
DHMECN7800 - Equador	6	X	X	X	X	X	X	X	X	-
DHMECN7801 - Equador	6	X	X	X	X	-	X	X	X	-
<u><i>Bothrops taeniatus</i></u>	Clado									
ADN47423 - San Martin, Perú	1									
<i>Bothrops taeniatus</i> - Equador (GenBank)	1	X	X	X	X	X	X	X	-	-

<i>Bothriopsis taeniata</i> - Suriname (GenBank)	1	-	-	X	X	-	-	-	-	-
BT01 - Rio Tequié, Amazonas	1	X	X	X	X	-	-	-	-	-
COR9967 - San Martin, Perú	1	X	X	X	X	-	X	-	-	-
MPEG23653 - FLONA Trombetas, Pará	1	X	X	X	X	-	X	X	-	X
ADN2810 - La Paz, Bolívia	1	X	X	X	X	X	X	X	-	-
ADN3963 - La Paz, Bolívia	2	X	X	X	X	-	X	-	-	-
COR10589 - Cuzco, Peru	2	X	X	X	X	X	X	-	-	-
COR10594 - Cuzco, Peru	2	X	X	X	X	-	X	X	-	X
DT4490 - Tapajós, Pará	2	X	X	X	X	-	X	X	-	X
BT1FLONA - Tapajós, Pará	3	X	X	X	X	-	X	X	-	X
HMC61- Tapajós, Pará	3	X	X	X	X	-	X	X	-	X
HMC82- Tapajós, Pará	3	X	X	X	X	-	-	-	-	X
MPEG20862 - Melgaço, Pará	3	X	X	X	X	-	-	-	-	X
MPEG21021 - Juruti, Pará	3	X	X	X	X	X	X	X	-	-
MTR12683 - Rio Abacaxis, Amazonas	3	X	X	X	X	X	X	X	-	-
CTMZ6204 - Cláudia, Mato Grosso	3	X	X	X	X	X	X	-	-	-
H2587 - Jirau, Rondônia	4	X	X	-	X	-	-	-	-	-
MTR25921 - PN Serra dos Pacaás, Rondônia	4	X	X	X	X	X	X	X	-	-
MTR25922 - PN Serra dos Pacaás, Rondônia	4	X	X	X	X	-	X	X	X	-
MTR25923 - PN Serra dos Pacaás, Rondônia	4	X	X	X	X	-	X	-	X	X
MTR968431 - Apiacás, Mato Grosso	4	X	X	X	X	-	X	X	-	X
MTR976063 - Cláudia, Mato Grosso	4	X	X	X	X	-	-	-	-	-
MTR976446 - Cláudia, Mato Grosso	4	X	X	X	X	-	X	-	-	-
UFMT8515 - Cláudia, Mato Grosso	4	X	X	X	X	X	-	-	-	-
UFMT8516 - Cláudia, Mato Grosso	4	X	X	X	X	X	X	X	-	-
	4	X	X	X	X	X	X	X	-	-
<i>Bothrops pulcher</i>										
<i>Bothriopsis pulchra</i> - Equador (GenBank)		X	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bothrops pulcher</i> - Equador (GenBank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
ADN48787 - Perú		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops chloromelas</i>										
<i>Bothriopsis chloromelas</i> Perú (GenBank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-

<u><i>Bothrocophias</i></u>										
<i>B. campbelli</i> (GenBank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. microphthalmus</i> (GenBank)		X	X	-	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrocophias microphthalmus</i> <i>Equador</i> (GenBank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. hyoprora</i> - MTR968157 - Aripuana, Mato Grosso		X	X	-	X	-	-	-	-	-
<i>B. hyoprora</i> - MTR976840 - Juruena, Mato Grosso		X	X	X	X	-	X	-	-	-
<i>Bothrocophias hyoprora Equador</i> (GenBank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrocophias hyoprora Leticia</i> (GenBank)		X	X	X	-	-	-	-	-	-
<i>Bothrops pictus</i> (GenBank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<u>Grupo alternatus</u>										
<i>B. ammodytoides</i> (GenBank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
alternatus - 2ALT- Cristais, Minas Gerais		-	X	X	X	X	-	X	-	-
<i>Bothrops alternatus</i> (GenBank)		-	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops fonsecai</i> (GenBank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops cotiara</i> (GenBank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops itapetiningae</i> (GenBank)		-	X	X	X	-	-	-	-	-
<u>Grupo jararaca</u>										
<i>B. jararaca</i> - MTR11604 - Caparaó, Espírito Santos		X	X	X	X	X	X	X	-	X
<i>B. jararaca</i> - MTR16058 - Camacan, Bahia		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<i>B. jararaca</i> - MTR17131 - Jequitinhonha, Minas Gerais		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<u>Grupo neuwiedi</u>										
<i>B. mato grossoensis</i> - MTR464 - Manso, Mato Grosso		X	X	X	X	X	X	-	X	X
<i>B. neuwiedi</i> - JC870 - Mariana, Minas Gerais		X	X	X	X	X	X	-	X	-
<i>B. diporus</i> (GenBank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. pauloensis</i> - E129 - PN Emas, Goiás		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<i>B. erythromelas</i> - MTR 11185 - Santo Inácio, Bahia		X	X	X	X	X	X	X	-	-

<i>B. lutzi</i> - MTR14196 - EE Serra Gerais do Tocantins, Tocantins		X	X	X	X	-	X	-	X	X
<i>B. lutzi</i> - MTR14488 - EE Serra Gerais do Tocantins, Tocantins		X	X	X	X	X	X	-	X	-
<u>Grupo jararacussu</u>										
<i>B. brazili</i> - UFMT10195 - Apiacás, Mato Grosso		X	X	X	X	X	X	X	-	-
<i>B. brazili</i> - H2576 - Jirau, Rondônia		X	X	X	X	X	X	X	X	-
<i>B. brazili</i> - MSH12346 - Santa Isabel do Rio Negro, Amazonas		X	X	X	X	-	X	X	-	-
<i>B. brazili</i> - MTR13844 - Lorenço, Amapá		X	X	X	X	X	X	X	X	-
<i>B. brazili</i> - MTR6306 - Rio Maracá, Amapá		X	X	X	X	X	X	X	-	-
<i>Bothrops brazili</i> Equador (Genbank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops brazili</i> Venezuela (Genbank)		-	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. jararacussu</i> - MTR11070 - Camburi, São Paulo		X	X	X	-	-	X	-	-	-
<i>B. jararacussu</i> - 1Jassu - Viçosa, Minas Gerais		X	X	X	X	-	X	-	-	-
<i>B. jararacussu</i> - H569 - Bertiooga, São Paulo		X	X	X	X	-	X	-	X	-
<i>B. jararacussu</i> - São Paulo (Genbank)		x	x	x	x	-	-	-	-	-
<i>Pirajai</i> - MTR22184- EEEWG BA		X	X	X	X	-	-	X	-	-
<u>Grupo atrox</u>										
<i>B. osbornei</i>		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. punctatus</i> (Genbank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. caribbaeus</i> (Genbank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. lanceolatus</i> (Genbank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. asper</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops asper</i> 11152 Costa Rica 1 (Genbank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops asper</i> 0404 Costa Rica 2 (Genbank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops asper</i> 14311 Colombia 1 (Genbank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothrops asper</i> 1691 Colombia 2 (Genbank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. isabellae</i> (Genbank)		-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>B. atrox</i> - MTR12742 - Rio Abacaxis, Amazonas		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<i>B. atrox</i> - BAT02 - Rio Tequié,		X	X	X	X	X	X	X	-	-

Amazonas										
<i>B. atrox</i> - MTR13971 - Laranjal do Jari, Amapá		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<i>B. leucurus</i> - MTR13445 - Trancoso, Bahia		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<i>B. moojeni</i> - MTR1392 - Manso, Mato Grosso		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<i>B. moojeni</i> - MTJ135 - PN Peruaçu, Minas Gerais		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<i>B. moojeni</i> -MTR8235 - Petrolina, Goiás		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<u>Grupo Externo</u>										
<i>Agkistrodon bilineatus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Agkistrodon contortrix</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	X	X	X	X
<i>Agkistrodon piscivorus</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	X
<i>Agkistrodon taylori</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Atropoides mexicanus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Atropoides nummifer</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Atropoides occiduus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Atropoides olmec</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Atropoides picadoi</i> Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Azemiops feae</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	X	X	X
<i>Bitis arietans</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	X	-	X	-
<i>Bitis nasicornis</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	-
<i>Bitis worthingtoni</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	X	-	-	-
<i>Bothriechis aurifer</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothriechis nigroviridis</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Bothriechis schlegelii</i> (GenBank)		X	X	X	X	X	-	-	-	X
<i>Bungarus ceylonicus</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	-
<i>Bungarus fasciatus</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	X
<i>Causus defilippi</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	X	X	-	X
<i>Cerrophidion godmani</i> (GenBank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Cerrophidion petlalcalensis</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Cerrophidion tzotzilorum</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Crotalus adamanteus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	X	-
<i>Crotalus atrox</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	X	-
<i>Crotalus durissus</i> - MTR11186 - Santo Inácio, Bahia		X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Crotalus durissus</i> - MTR5200 - EE Uruçui-Una, Piauí		X	X	X	X	-	X	X	X	-

<i>Crotalus durissus Costa Rica</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-		-
<i>Crotalus horridus</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	X	-
<i>Crotalus tigris</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	X	-
<i>Daboia mauritanica</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-		-
<i>Daboia russellii</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Echis carinatus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	X	-	X	-
<i>Echis coloratus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	X	-	X	-
<i>Echis ocellatus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	X	-	X	-
<i>Echis pyramidum</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	X	-	X	-
<i>Gloydus halys</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	X	-
<i>Gloydus shedaoensis</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	-
<i>Gloydus strauchi</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	-
<i>Hypnale nepa</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	X	-
<i>Hypnale zara</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	X	-
<i>Lachesis muta</i> - H1530 - Jirau, Rondônia		X	X	X	X	-	X	X	X	-
<i>Lachesis stenophrys</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	X
<i>Laticauda colubrina</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	X	X	-	X
<i>Laticauda laticaudata</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	X	-	-	-
<i>Macrovipera lebetina</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Macrovipera schweizeri</i> (Genbank)		X	X	X	-	-	-	-	-	-
<i>Micrurus fulvius</i> (Genbank)		X	-	X	X	X	X	X	X	X
<i>Mixcoatlus barbouri</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Mixcoatlus melanurus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Naja kaouthia</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	X	X	-	X
<i>Naja naja</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	-
<i>Naja nigricollis</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Naja nivea</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	-
<i>Ophryacus undulatus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Porthidium arcossae</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Porthidium dunni</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Porthidium lansbergii rozei</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Porthidium nasutum Costa Rica</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Porthidium nasutum Equador</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Porthidium porrasi</i> (GenBank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Sistrurus catenatus</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	-
<i>Sistrurus miliaris</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Trimeresurus gracilis</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-

<i>Trimeresurus trigonocephalus</i> (Genbank)		X	X	X	X	X	-	-	-	-
<i>Vipera albizona</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Vipera ammodytes</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Vipera berus</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Vipera xanthina</i> (Genbank)		X	X	X	X	-	-	-	-	-

Tabela 3: Material de *Bothrops bilineatus* examinado, com localidade e se houve preparação do hemipênis ou escaneamento do crânio, assim como o clado em que foi recuperado nas análises moleculares 1. Mata Atlântica, 2. Escudo das Guianas, 3/4. Amazônia central, 5. Amazônia oeste, parte sul, e 6. Amazônia oeste, parte norte.

Número	LOCALIDADE	Preparação de Hemipênis/ Crânio Escaneado	Clado do Molecular
ZUEC REP 1674	Conceição da Barra, ES	Escaneado	1
LAPS 721	Bahia	Hemipênis	1
2007	Bahia	Hemipênis	1
IB 80845	Ilhéus, BA	Escaneado	1
Funed 18	Bahia	Escaneado	1
TQ1020	Amapá	Escaneado	2
MTR 20744	Pacaraima, RR	Hemipênis	2
MZUSP 20230 (H36V2)	Guiana Inglesa	Hemipênis	2
MZUSP10372	Serra dos Surucucus, RR	Hemipênis	2
DT3831	Tapajós, PA	Hemipênis	3/4
INPA-H31561 (APLima18499)	Médio Rio Purus, AM	Hemipênis	3/4
INPA-H31558 (APLima18502)	Médio Rio Purus, AM	Hemipênis	3/4
UFMT-R9128	Cotriguaçu, MT	Escaneado	3/4
ZUEC REP 0840	Carajás, PA	Hemipênis	3/4
(FUNED) 1982	Canaã dos Carajás, PA	Hemipênis	3/4
UFMT-R8908	Cotriguaçu, MT	Hemipênis	3/4
DT3028	Tapajós, PA	Hemipênis	3/4
INPA-H31563 (CGTA-C125)	Médio Rio Purus - AM	Hemipênis	3/4
MPEG 10674	Bela Vista, Viseu, PA	Escaneado	3/4
MPEG 16654	Carajás, PA	Escaneado	3/4
MPEG 18183	Carajás, PA	Escaneado	3/4
INPA-H 31561 (APLima18499)	Médio Rio Purus, AM	Escaneado	3/4
INPA 27639	Médio Rio Purus, Amazonas	Escaneado	3/4
UFAC 287	Acre	Hemipênis	5

MTR 21458	Santo Antônio, RO	Hemipênis	5
MTR 21460	Santo Antônio, RO	Escaneado	5
H4259	Jirau, RO	Hemipênis/Escaneado	5
MZUSP 19033 (SA3073)	Porto Velho, RO	Hemipênis	5
IB 85528	Porto Velho, RO	Escaneado	5
MCP 14092	Letícia, Colômbia	Hemipênis/ Escaneado	6
MZUSP 4398	Estíron, rio Ampiyacu, Loreto Peru	Escaneado	6

Tabela 4: Divergência genética (em porcentagem) presente nas espécies de *Bothrops* do grupo taeniatus para o marcador 12S diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e 16S diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Grande diagonal mostra variação intra-específica.

	<i>B. bilineatus</i>	<i>B. taeniatus</i>	<i>B. pulcher</i>	<i>B. chloromelas</i>
<i>B. bilineatus</i>	$0 - 4.1 / 0 - 2.2$	1.5 - 3.1	1.3 - 2.5	1.6 - 2.6
<i>B. taeniatus</i>	1.8 - 6.1	$0 - 4.8 / 0 - 1.4$	1 - 1.7	0.8 - 1.8
<i>B. pulcher</i>	2.8 - 5.5	3.3 - 5.3	$1.9 / 0$	1.4
<i>B. chloromelas</i>	3 - 4.6	2.5 - 4.1	4.8 - 5	$0 / 0$

Tabela 5: Divergência genética (em porcentagem) presente nas espécies de *Bothrops* do grupo taeniatus para o marcador Cytb diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e ND4 diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Grande diagonal mostra variação intra-específica.

	<i>B. bilineatus</i>	<i>B. taeniatus</i>	<i>B. pulcher</i>	<i>B. chloromelas</i>
<i>B. bilineatus</i>	$0 - 5.6 / 0 - 5.7$	6.9 - 10.6	6.1 - 8.0	6.9 - 8.5
<i>B. taeniatus</i>	6 - 9.9	$0 - 6 / 0 - 5.3$	7.2 - 9.3	6.1 - 8.2
<i>B. pulcher</i>	5.6 - 8.8	6 - 7.7	$0.1 / 0.6$	7.1 - 7.4
<i>B. chloromelas</i>	5.8 - 7.7	4 - 5.8	5.5	$0 / 0$

Tabela 6: Divergência genética (em porcentagem) presente nos clados de *Bothrops bilineatus* para o marcador 12S diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e 16S diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Clados 1. Mata Atlântica; 2. Escudo das Guianas; 3. Amazônia centro-leste 4. Amazônia centro-oeste; 5. Amazônia oeste – parte sul; 6. Amazônia oeste – parte norte. Grande diagonal mostra variação intra-clado.

Clados <i>Bothrops bilineatus</i>	1	2	3	4	5	6
1	$0.8 - 1.3 /_{0 - 0.8}$	0.8 - 1.3	1.1 - 1.9	1.3 - 1.9	1.3 - 1.7	1.4 - 1.9
2	0.8 - 1.3	$0 /_{0 - 0.2}$	1.3 - 1.8	1.3 - 1.8	1.7 - 2	1.8 - 2.2
3	3 - 4.1	2.8 - 3.3	$0 - 1.5 /_{0 - 0.4}$	0 - 0.4	0.9 - 1.3	0.8 - 1.4
4	2.5 - 3.8	2.3 - 3	0.5 - 1.8	$0 - 0.8 /_{0 - 0.4}$	1.1 - 1.3	0.9 - 1.4
5	1.5 - 2.3	1.8 - 2	2 - 2.8	1.5 - 2.5	$0 - 0.5 /_0$	1.2 - 1.3
6	2 - 3.1	2.5	3.3 - 3.8	2.5 - 2.8	1.5 - 2	$0 /_{0 - 0.6}$

Tabela 7: Divergência genética (em porcentagem) presente nos clados de *Bothrops bilineatus* para o marcador Cytb diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e ND4 diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Clados 1. Mata Atlântica; 2. Escudo das Guianas; 3. Amazônia centro-leste 4. Amazônia centro-oeste; 5. Amazônia oeste – parte sul; 6. Amazônia Oeste – parte norte. Grande diagonal mostra variação intra-clado.

Clados <i>Bothrops bilineatus</i>	1	2	3	4	5	6
1	$0.4 - 1 /_{0.4 - 0.9}$	1.6 - 2.4	3.5 - 4.3	3.5 - 4.2	4 - 4.6	3.9 - 4.8
2	2 - 2.5	$0 - 0.5 /_{0.1 - 0.4}$	3.5 - 4.8	3.5 - 4.8	3.5 - 4.1	4.2 - 4.7
3	3.3 - 4.1	4.1 - 5.3	$0 - 2.2 /_{0 - 2.3}$	2.3 - 3.3	3.7 - 4.9	3.6 - 5.3
4	3.3 - 5.1	3.9 - 5.6	1.1 - 3.4	$0.8 - 2.8 /_{0.5 - 2.5}$	3.5 - 4.5	4.3 - 5.7
5	3.7 - 4.7	4.5 - 5.5	3.9 - 4.9	3.8 - 5.4	$0 - 1.5 /_{0 - 0.6}$	3.9 - 4.5
6	3.2 - 4.3	3.7 - 5	3.7 - 4.5	3.7 - 5.3	4.1 - 5.3	$0 - 1.9 /_{0 - 1.1}$

Tabela 8: Divergência genética (em porcentagem) presente nos clados de *Bothrops taeniatus* para o marcador 12S diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e 16S diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Clados 1. norte do Rio Amazonas; 2. Amazônia oeste; 3. Amazônia centro-leste; 4. Amazônia sul-sudoeste. Grande diagonal mostra variação intra-clado.

Clados <i>Bothrops taeniatus</i>	1	2	3	4
1	$0.5 - 1.5 /_{0 - 0.4}$	0.6 - 0.8	0.9 - 1.2	0.9 - 1.4
2	2.3 - 3.6	$0 - 0.8 /_{0 - 0.2}$	0.6 - 0.8	0.6 - 1
3	3.6 - 4.8	1.5 - 2	$0 - 0.3 /_0$	0 - 0.2
4	2.8 - 3.8	1.3 - 2.3	2 - 2.5	$0 - 1 /_{0 - 0.2}$

Tabela 9: Divergência genética (em porcentagem) presente nos clados de *Bothrops taeniatus* para o marcador Cytb diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e ND4 diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Clados 1. norte do Rio Amazonas; 2. Amazônia oeste; 3. Amazônia centro-leste; 4. Amazônia sul-sudoeste. Grande diagonal mostra variação intra-clado.

Clados <i>Bothrops taeniatus</i>	1	2	3	4
1	$0.1 - 2 /_{0.3 - 2.4}$	3.3 - 5.2	3.6 - 5	3.1 - 4.2
2	3.4 - 4.9	$0 - 0.7 /_{0 - 0.5}$	4.1 - 5.3	4 - 5.3
3	4.8 - 6	3 - 4	$0 - 0.5 /_{0 - 0.6}$	1 - 2.1
4	4.1 - 5.7	3 - 3.6	1.8 - 2.6	$0 - 1.7 /_{0 - 0.9}$

Tabela 10: Divergência genética (em porcentagem) presente as espécies de *Bothrops* do grupo atrox para o marcador 12S diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e 16S diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Grande diagonal mostra variação intra-específica.

	<i>B. atrox</i>	<i>B. moojeni</i>	<i>B. leucurus</i>
<i>B. atrox</i>	$1 - 3 /_{0.4 - 1.3}$	0.8 - 1.7	0.6 - 1.5
<i>B. moojeni</i>	1.5 - 2	$0 - 1 /_{0.8 - 1.1}$	0.9
<i>B. leucurus</i>	2 - 2.5	1 - 1.5	$0 /_0$

Tabela 11: Divergência genética (em porcentagem) presente as espécies de *Bothrops* do grupo atrox para o marcador Cytb diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e ND4 diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Grande diagonal mostra variação intra-específica.

	<i>B. atrox</i>	<i>B. moojeni</i>	<i>B. leucurus</i>
<i>B. atrox</i>	1.5 - 3.2 / 0.6 - 3.9	2.4 - 4.2	2.6 - 4.3
<i>B. moojeni</i>	2.6 - 3.9	1.5 - 2.4 / 1.5 - 3	2.8 - 3.5
<i>B. leucurus</i>	2.9 - 3.4	3.3 - 3.9	0 / 0

Tabela 12: Divergência genética (em porcentagem) presente as espécies de *Bothrops* do grupo jararacussu para o marcador 12S diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e 16S diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Grande diagonal mostra variação intra-específica.

	B. brazili	B. jararacussu
B. brazili	0.3 - 4.1 / 0.2 - 2.1	1.1 - 2.1
B. jararacussu	3.3 - 4.6	0 - 0.9 / 0 - 0.4

Tabela 13: Divergência genética (em porcentagem) presente as espécies de *Bothrops* do grupo jararacussu para o marcador Cytb diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e ND4 diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Grande diagonal mostra variação intra-específica.

	B. brazili	B. jararacussu
B. brazili	0.3 - 7.4 / 0.3 - 7	4 - 6.6
B. jararacussu	6.2 - 7	0 - 0.3 / 0.8

Tabela 14: Divergência genética (em porcentagem) presente as espécies de *Bothrops* do grupo neuwiedi para o marcador 12S diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e 16S diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Grande diagonal mostra variação intra-específica.

	B. neuwiedi	B. erythromelas	B. lutzi	B. pauloensis	B. mattogrossensis	B. diporus
B. neuwiedi	0/0	1.9	2.7	2.3	3	2
B. erythromelas	3.3	0/0	2.3	2.3	3	2
B. lutzi	2.3 - 2.8	3.3 - 3.8	0/0.2	2.8	2.9	3
B. pauloensis	2.5	3.8	3.3 - 3.8	0/0	2.3	0.6
B. mattogrossensis	4.3	5.3	3 - 3.6	3.4	0/0	2.6
B. diporus	2.5	3.8	3.3 - 3.8	0.5	3.3	0/0

Tabela 15: Divergência genética (em porcentagem) presente as espécies de *Bothrops* do grupo neuwiedi para o marcador Cytb diagonal inferior e valores superiores na grande diagonal, e ND4 diagonal superior e valores inferiores na grande diagonal. Grande diagonal mostra variação intra-específica.

	B. neuwiedi	B. erythromelas	B. lutzi	B. pauloensis	B. mattogrossensis	B. diporus
B. neuwiedi	0/0	5.2	4.7 - 5.3	6.3	6.7	6.3
B. erythromelas	6	0/0	3.4 - 3.8	5.9	6.6	6.8
B. lutzi	5.4 - 6.1	5.3 - 5.8	2.2/1.3	6.3 - 6.8	6.6	6.8 - 7.1
B. pauloensis	5.7	6.5	5.4 - 6.3	0/0	2.7	5.7
B. mattogrossensis	6.4	7.1	6.3 - 6.5	4.1	0/0	5.7
B. diporus	6.5	6.6	5.9 - 6.1	2.7	5.1	0/0

Tabela 16. Número de sítios polimórficos (SP), número de haplótipos (H), índice diversidade haplotípica (DH) e índice de diversidade nucleotídica (π) para os marcadores mitocondriais e nucleares utilizados nas análises moleculares.

Marcador	SP	H	DH	π
MKL1	18	20	0.9461	0.00490
Rag1	9	11	0.6316	0.00096
PRLR	15	18	0.9397	0.00522
C-mos	4	5	0.6138	0.00123
BDNF	5	5	0.3684	0.00103
12S	31	17	0.9311	0.01978
16S	21	11	0.8261	0.01210
Cytb	86	23	0.9561	0.03585
ND4	80	21	0.9180	0.03562

Tabela 17. Data média e intervalo de confiança recuperados para os nós ancestrais entre as linhagens analisadas. Número nos parênteses representa os clados recuperados nas análises moleculares.

Clados	Média	Limites com 95% de probabilidade
<i>Bothrops bilineatus</i> - Mata Atlântica (1) / Escudo das Guianas (2)	0.92 – 0.93	(0.63 - 1.23) – (0.64 – 1.23)
<i>Bothrops bilineatus</i> -Amazônia Central – Leste (3) / Oeste (4)	1.12 – 1.1	(0.83 - 1.43) – (0.84 – 1.39)
<i>Bothrops bilineatus</i> -Amazônia Oeste – Parte Sul (5) / Parte Norte (6)	1.77 – 1.65	(1.35 – 2.23) – (1.27 – 2.05)
<i>Bothrops bilineatus</i> -Amazônia Oeste (5+6) / Mata	2 – 1.92	(1.58 – 2.48) – (1.54 – 2.34)

Atlântica+Escudo das Guianas (1+2)		
<i>Bothrops bilineatus</i> -Amazônia Central (3+4) / Mata Atlântica+Escudo das Guianas+Amazônia Oeste (1+2+5+6)	2.34 – 2.2	(1.89 – 2.87) – (1.78 – 2.67)
<i>Bothrops taeniatus</i> – Escudo das Guianas (1) / Amazônia Noroeste (1)	0.73 – 0.75	(0.5 – 0.98) – (0.54 – 1.01)
<i>Bothrops taeniatus</i> – Amazônia Central – Centro-Leste (3) /Sul-Sudoeste (4)	0.78 – 0.76	(0.54 – 1.05) – (0.53 - 1)
<i>Bothrops taeniatus</i> – Amazônia Central (3+4)/ Amazônia Oeste (2)	1.68 – 1.56	(1.26 – 2.07) – (1.2 – 1.97)
<i>Bothrops taeniatus</i> – Norte (1) / Sul Rio Amazonas (2+3+4)	1.88 – 1.79	(1.48 – 2.31) – (1.43 – 2.22)
<i>Bothrops taeniatus</i> / <i>Bothros chloromelas</i>	2.92 – 2.84	(2.32 – 3.59) – (2.24 – 3.5)
<i>B. pulcher</i> / <i>B.chloromelas</i>+<i>B.taeniatus</i>	3.87 – 3.8	(3.15 – 4.63) – (3.13 – 4.53)
<i>B.bilineatus</i> / <i>B. pulcher</i>+<i>B. chloromelas</i>+<i>B. taeniatus</i>	4.31 – 4.24	(3.57 – 5.13) – (3.52 – 4.96)
Grupo <i>taeniatus</i> / Grupo <i>atrox</i>+<i>jararacussu</i>	6.85 – 6.39	(6.7 – 8.2) – (5.57 – 7.21)

Tabela 18. Média, desvio padrão, mínimo e máximo para os caracteres morfométricos, merísticos e hemipenianos analisados para machos de *Bothrops bilineatus*.

	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
XCCA	22.48	2.76	15.78	28.56
XLCA	13.79	2.09	8.63	18.52
XACA	8.05	0.86	6.24	9.50
XCRC	509.80	74.06	258.00	612.50
XCAU	85.82	12.27	52.38	115.00
XAFL	1.53	0.28	0.82	2.20
XDO	3.84	0.40	2.89	4.70
XDOF	1.10	0.27	0.43	1.58
XDON	4.45	0.69	2.70	6.13
XDOR	6.88	0.87	4.53	9.50
XDFN	1.11	0.20	0.72	1.63
XARO	2.78	0.38	1.95	3.78
XLFL	2.46	0.30	2.00	3.15
XDNN	3.21	0.47	2.21	4.31
XDFE	5.63	0.74	4.12	7.57
XDOO	8.12	0.90	6.00	10.59
XDNR	1.84	0.35	0.91	2.51
dca	12.08	1.16	9	15

d1	27.81	2.50	23	33
d2	29.17	2.85	23	35
d3	20.40	1.35	17	23
v	205.98	6.17	190	217
sc	67.68	3.34	59	75
sl	7.32	0.52	7	9
il	10.50	0.74	9	12
ssl1	0.98	0.25	0	2
ssl2	0.79	0.46	0	2
ssl3	1.35	0.48	1	2
iso	6.75	1.63	3	10
ol	6.57	0.83	5	9
cso	14.96	1.61	11	19
nfl	3.11	1.27	1	6
fso	9.09	1.70	5	12
fca	28.89	3.20	23	35
ebv	6.04	1.64	4	9
evq	6.45	1.35	4	9
qeec	8.69	1.41	6	12
qeeusl	28.30	2.60	23	33
qeeil	13.77	1.42	11	17
qecr	20.41	5.27	14	34
qee4sl	27.59	2.31	22	33
QELD	99.67	27.63	51	154
QELE	99.94	27.56	50	154
QEH	14.94	3.56	9	20
QEV	5.00	1.46	3	7
TamHem	11.50	1.65	9.33	16.04
TamCa	4.64	1.13	3.25	8.11
TamLobo	5.57	0.97	3.58	7.25
QEGLD	52.83	22.60	23	96
QEGLE	53.11	20.55	23	90
QEPLD	46.83	16.03	16	75
QEPL	47.39	15.78	21	76
TotEsp	199.61	54.57	101	308
QEG	105.94	42.74	46	186

Tabela 19. Média, desvio padrão, mínimo e máximo para os caracteres morfométricos, merísticos e hemipenianos analisado para os clados de machos de *Bothrops bilineatus* recuperados nas análises moleculares. 1-Mata Atlântica; 2-Escudo das Guianas; 3+4-Amazônia central; 5- Amazônia oeste, parte sul; 6-Amazônia oeste, parte norte.

Caldos	1				2				3+4			
	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
XCCA	23.69	2.33	19.72	27.80	23.70	4.27	18.16	28.56	22.98	2.09	18.34	26.73
XLCA	14.50	2.79	8.63	17.64	15.13	2.80	11.82	18.52	13.84	1.73	10.85	18.14
XACA	7.92	0.96	6.24	9.50	8.18	1.42	6.66	9.48	8.29	0.60	7.00	9.00
XCRC	524.13	57.00	425.50	604.50	510.50	113.72	354.00	612.50	533.78	51.88	396.00	599.00
XCAU	90.06	12.86	69.95	115.00	85.48	21.28	55.50	104.15	87.07	8.60	65.15	98.32
XAFL	1.61	0.28	1.28	2.20	1.74	0.31	1.46	2.02	1.50	0.24	1.13	1.96
XDO	4.21	0.15	4.04	4.41	3.81	0.47	3.14	4.21	3.85	0.33	3.40	4.70
XDOF	1.20	0.29	0.62	1.53	1.23	0.31	0.77	1.43	1.15	0.18	0.85	1.58
XDON	4.91	0.79	3.55	6.13	4.71	0.99	3.52	5.87	4.51	0.49	3.33	5.59
XDOR	7.06	0.73	5.68	8.11	7.50	1.66	5.44	9.50	6.95	0.63	5.39	8.10
XDFN	1.17	0.17	0.845	1.44	1.08	0.18	0.83	1.215	1.16	0.19	0.9	1.63
XARO	2.77	0.41	2.055	3.26	2.75375	0.54	2.13	3.435	2.83	0.39	2.06	3.78
XLFL	2.50	0.42	1.685	3.1	2.605	0.46	2.04	3.03	2.41	0.32	1.57	3.15
XDNN	3.46	0.54	2.7	4.31	3.26	0.95	2.21	4.24	3.12	0.43	2.05	3.82
XDFE	5.87	0.81	4.385	6.92	5.81375	1.30	4.52	7.57	5.57	0.80	3.45	7.22
XDOO	8.38	1.11	6.43	9.93	8.6975	1.56	6.93	10.59	8.01	0.87	5.3	9.5
XDNR	1.79	0.36	1.16	2.13	2.005	0.34	1.64	2.46	1.86	0.33	1.28	2.51
dca	13.22	1.30	11	15	12.50	1.00	11	13	12.04	0.82	11	14
d1	29.00	1.22	28	31	29.75	1.50	28	31	28.57	2.06	25	33
d2	31.22	1.86	29	35	32.75	1.71	31	35	29.43	2.13	25	33
d3	21.33	1.00	20	23	22.00	1.15	21	23	20.48	1.04	19	22
v	205.38	3.50	202	213	209.50	6.61	203	217	209.04	4.77	199	217
sc	65.22	2.54	62	69	68.25	2.06	66	70	67.91	3.18	59	72
sl	7.22	0.44	7	8	7.25	0.50	7	8	7.39	0.58	7	9
il	10.33	0.50	10	11	9.75	0.96	9	11	10.70	0.82	9	12
ssl1	-	-	-	-	-	-	-	-	1.00	0.30	0	2
ssl2	0.78	0.44	0	1	-	-	-	-	0.74	0.54	0	2
ssl3	1.44	0.53	1	2	1.25	0.50	1	2	1.43	0.51	1	2
iso	7.56	0.53	7	8	7.75	0.50	7	8	6.30	1.99	3	9
ol	6.00	0.71	5	7	6.33	0.58	6	7	6.70	0.70	6	9
cso	15.22	1.30	13	17	16.25	2.06	14	19	15.48	1.34	13	18
nfl	2.67	1.22	1	4	2.75	0.96	2	4	3.39	1.27	1	6
fso	9.67	1.41	7	12	9.25	1.71	7	11	9.65	1.50	7	12
fca	29.78	2.28	25	33	30.00	0.82	29	31	30.22	3.00	25	35
ebv	5.75	1.49	4	8	7.75	0.50	7	8	5.78	1.68	4	9
evq	6.71	1.11	6	9	5.75	0.50	5	6	6.68	1.39	4	8
qeec	9.44	1.51	7	12	9.75	0.50	9	10	8.50	1.57	6	11

qeeusl	28.88	0.99	28	30	30.50	0.58	30	31	29.25	2.80	25	33
qeeil	15.00	1.00	14	16	15.25	0.96	14	16	13.36	1.43	11	17
qecr	27.60	6.23	20	34	19.50	2.89	16	23	20.55	4.20	15	28
qee4sl	29.40	2.51	26	33	28.00	1.41	27	30	27.00	2.93	22	31
QELD	117.50	2.12	116	119	131.33	20.84	113	154	99.75	21.43	63	123
QELE	122.00	5.66	118	126	124.67	30.57	93	154	99.50	22.01	71	127
QEH	16.50	0.71	16	17	18.33	1.53	17	20	16.38	2.07	14	20
QEV	6.50	0.71	6	7	6.33	0.58	6	7	5.25	1.04	4	7
TamHem	11.49	1.57	10.38	12.6	11.03	0.19	10.82	11.2	10.75	1.34	9.33	12.64
TamCa	4.54	0.61	4.11	4.97	3.93	0.80	3.43	4.85	4.24	0.63	3.25	5.36
TamLobo	5.77	2.09	4.29	7.25	5.33	0.72	4.71	6.12	5.30	1.04	3.58	6.51
TotEsp	239.50	3.54	237	242	256.00	51.03	206	308	199.25	42.54	134	244
QEG	139.50	12.02	131	148	158.00	27.51	131	186	111.00	26.25	87	160

Clado	5				6			
	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
XCCA	20.12	2.08	17.46	23.11	19.35	3.70	15.78	23.18
XLCA	12.81	1.58	10.42	15.24	12.08	1.80	10.13	13.67
XACA	7.61	1.06	6.32	9.12	7.59	1.17	6.72	8.93
XCRC	470.00	57.54	377.50	540.50	393.00	131.18	258.00	520.00
XCAU	82.14	12.66	61.86	101.50	75.10	20.91	52.38	93.55
XAFL	1.50	0.23	1.16	1.87	1.32	0.53	0.82	1.88
XDO	3.68	0.45	2.98	4.38	3.32	0.38	2.89	3.62
XDOF	0.95	0.32	0.51	1.52	0.69	0.23	0.43	0.87
XDON	4.01	0.43	3.19	4.66	3.23	0.75	2.70	3.76
XDOR	6.52	0.68	5.45	7.73	5.96	1.50	4.53	7.52
XDFN	0.86	0.16	0.57	1.08	0.89	0.21	0.74	1.04
XARO	2.54	0.42	1.835	3.02	2.16	0.30	1.95	2.37
XLFL	2.25	0.43	1.32	2.71	2.09	0.13	2	2.18
XDNN	3.01	0.46	2.205	3.84	2.76	0.08	2.7	2.82
XDFF	4.95	0.91	3.07	5.945	5.02	0.40	4.73	5.3
XDOO	7.31	1.03	5.1	8.245	6.70	0.99	6	7.4
XDNR	1.77	0.32	1.31	2.31	1.24	0.46	0.91	1.55
dca	10.89	0.78	9	12	12.00	0.58	10	11
d1	24.78	1.86	23	27	25.00	-	-	-
d2	25.56	1.51	23	28	27.00	-	-	-
d3	18.78	0.67	17	19	19.67	-	-	-
v	200.67	3.97	196	206	195.33	0.58	6	7
sc	68.56	3.81	64	75	70.00	1.15	5	7
sl	7.25	0.46	7	8	7.33	0.58	13	14
il	10.44	0.53	10	11	10.67	1.41	2	4
ssl1	0.89	0.33	0	1	-	2.08	5	9
ssl2	0.78	0.44	0	1	-	1.53	23	26
ssl3	1.22	0.44	1	2	-	1.00	5	7
iso	6.67	1.58	5	10	6.67	0.71	7	8
ol	7.00	1.00	6	9	6.33	-	-	-
cso	13.22	1.09	11	15	13.67	-	-	-
nfl	3.00	1.50	1	6	3.00	-	-	-
fso	7.63	0.92	6	9	6.67	-	-	-
fca	25.25	0.89	24	26	24.33	-	-	-
ebv	6.22	1.92	4	8	6.00	-	-	-
evq	5.78	1.56	4	8	7.50	-	-	-
qeec	7.89	0.60	7	9	-	-	-	-
qeeusl	22.78	8.70	0	28	-	-	-	-
qeeil	13.13	0.99	12	15	-	-	-	-
qecr	16.88	2.03	14	20	-	-	-	-
gee4sl	27.13	1.13	26	29	-	-	-	-
QELD	67.00	18.02	51	88	-	-	-	-
QELE	70.25	20.56	50	96	-	-	-	-
QEH	10.00	0.82	9	11	-	-	-	-
QEV	3.00	0.00	3	3	-	-	-	-
TamHem	13.05	2.23	10.74	16.04	-	-	-	-
TamCa	5.76	1.70	4.3	8.11	-	-	-	-
TamLobo	6.06	0.50	5.42	6.63	-	-	-	-

TotEspi	137.25	38.46	101	184	-	-	-	-
QEG	53.00	4.76	46	56	-	-	-	-

Tabela 20. Média, desvio padrão, mínimo e máximo para os caracteres morfométricos, merísticos analisados para fêmeas de *Bothrops bilineatus*.

	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
XCCA	27.72	4.45	17.87	36.58
XLCA	17.40	3.22	11.94	24.45
XACA	9.74	1.52	5.39	13.26
XCRC	599.94	100.89	401.50	790.00
XCAU	94.63	17.47	62.82	132.36
XAFL	1.79	0.40	1.14	3.27
XDO	4.18	0.46	3.17	5.30
XDOF	1.40	0.43	0.70	2.47
XDON	5.39	0.88	3.67	7.13
XDOR	8.12	1.13	6.05	10.68
XDFN	1.39	0.35	0.84	2.30
XARO	3.14	0.40	2.36	4.00
XLFL	2.99	0.45	2.23	4.12
XDNN	3.74	0.59	2.58	4.91
XDFF	6.86	1.24	4.96	10.35
XDOO	9.47	1.33	7.30	12.22
XDNR	2.24	0.85	1.22	6.97
dca	12.02	1.33	10	15
d1	28.46	2.60	23	33
d2	30.38	2.98	25	35
d3	20.92	1.59	19	25
v	206.46	5.70	197	225
sc	64.15	4.39	57	75
sl	7.58	0.61	7	9
il	11.17	0.78	9	13
ssl1	1.08	0.35	0	2
ssl2	0.92	0.28	0	1
ssl3	1.73	0.45	1	2
iso	7.00	1.60	3	10
ol	6.79	0.92	5	10
cso	14.33	1.95	10	19
nfl	3.65	1.22	1	7
fso	8.06	1.46	5	11
fca	28.84	3.22	22	34
ebv	6.34	1.49	4	9
evq	6.83	1.94	4	10
qec	8.03	1.45	5	12
qeeusl	28.94	2.36	25	34
qeeil	13.93	1.68	11	18
qecr	14.86	4.31	6	23
qee4sl	28.10	2.89	22	33

Tabela 21. Média, desvio padrão, mínimo e máximo para os caracteres morfométricos, merísticos analisados para os clados de fêmeas de *Bothrops bilineatus* recuperados nas análises moleculares. 1-Mata Atlântica; 2-Escudo das Guianas; 3+4-Amazônia central; 5-Amazônia oeste, parte sul; 6-Amazônia oeste, parte norte.

Clado	1				2				3+4			
	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
XCCA	31.11	5.03	22.91	36.58	25.47	3.58	22.94	28.00	28.49	3.91	21.39	35.35
XLCA	20.37	2.76	16.07	23.53	14.48	3.60	11.94	17.03	17.59	3.11	13.03	24.45
XACA	10.81	1.38	9.51	13.26	8.62	0.96	7.95	9.30	9.64	1.12	7.78	11.68
XCRC	668.64	122.59	483.00	790.00	505.75	35.71	480.50	531.00	621.94	87.63	471.00	785.00
XCAU	104.48	19.84	72.14	129.00	87.16	3.69	84.55	89.77	94.84	15.82	71.20	132.36
XAFL	2.08	0.59	1.34	3.27	2.17	0.34	1.93	2.41	1.74	0.37	1.24	2.42
XDO	4.59	0.56	3.86	5.30	4.40	0.56	4.01	4.80	4.19	0.40	3.17	4.74
XDOF	1.77	0.53	1.10	2.47	0.96	0.25	0.78	1.14	1.39	0.30	0.99	2.00
XDON	6.20	0.77	5.47	7.13	4.91	0.97	4.23	5.60	5.44	0.81	3.81	6.78
XDON	6.20	0.77	5.47	7.13	4.91	0.97	4.23	5.60	5.44	0.81	3.81	6.78
XDOR	8.90	1.37	7.36	10.68	7.61	1.55	6.52	8.71	8.18	1.12	6.38	10.24
XDFN	1.52	0.30	1.19	2.01	0.99	0.12	0.90	1.08	1.49	0.36	0.98	2.30
XARO	3.45	0.38	2.92	3.84	2.76	0.36	2.51	3.02	3.13	0.37	2.50	3.85
XLFL	3.39	0.58	2.56	4.12	2.96	0.56	2.57	3.35	2.98	0.42	2.38	3.82
XDNN	4.10	0.33	3.59	4.39	2.94	0.50	2.58	3.29	3.70	0.56	2.80	4.67
XDFE	8.09	1.94	5.44	10.35	5.64	0.96	4.96	6.32	6.91	0.84	5.47	8.77
XDOO	10.74	1.46	8.52	12.22	8.16	0.86	7.56	8.77	9.41	1.17	7.56	11.68
XDNR	2.23	0.58	1.48	2.95	1.79	0.59	1.37	2.21	2.13	0.38	1.22	2.82
dca	13.29	0.95	12	15	13.67	1.15	13	15	12.33	1.11	11	15
d1	29.88	1.46	29	33	30.33	2.31	29	33	29.86	2.01	27	33
d2	32.63	1.85	29	35	34.00	1.00	33	35	31.48	2.40	27	35
d3	22.88	1.36	21	25	22.00	1.00	21	23	21.24	1.14	19	23
v	207.50	3.46	202	213	208.00	4.36	203	211	210.05	5.36	197	225
sc	61.43	2.37	58	64	64.67	5.69	60	71	65.38	4.61	58	75
sl	7.14	0.38	7	8	7.00	0.00	7	7	7.90	0.62	7	9
il	11.43	0.53	11	12	11.67	0.58	11	12	11.33	0.80	10	13
ssl1	-	-	-	-	-	-	-	-	1.10	0.44	0	2
ssl2	-	-	-	-	-	-	-	-	0.81	0.40	0	1
ssl3	1.67	0.52	1	2	1.67	0.58	1	2	1.86	0.36	1	2
iso	7.50	0.76	6	8	7.00	2.00	5	9	6.24	1.58	3	9
ol	6.83	1.33	5	9	8.00	1.73	7	10	6.57	0.68	5	8
cso	14.71	1.25	13	17	13.33	1.15	12	14	15.52	1.72	13	19
nfl	3.88	1.13	3	6	4.33	1.53	3	6	3.57	1.33	1	7
fso	8.00	1.07	6	9	8.67	1.15	8	10	8.67	1.56	5	11
fca	28.88	1.81	26	31	32.33	1.15	31	33	30.67	2.58	26	34
ebv	7.14	1.46	5	9	7.33	1.53	6	9	5.70	1.13	4	8
evq	6.17	1.94	4	9	-	-	-	-	7.90	1.51	4	10
qeec	7.67	0.82	7	9	8.67	0.58	8	9	8.33	2.00	5	12
qeeusl	30.29	2.36	28	34	30.00	1.00	29	31	30.11	2.37	27	33
qeeil	15.20	1.64	14	18	14.00	2.00	12	16	13.75	1.39	12	15
qecr	11.67	1.53	10	13	14.67	1.15	14	16	15.13	5.54	6	21
qee4sl	28.67	2.94	25	32	29.33	3.06	26	32	28.75	2.60	24	31

Clado	5				6			
	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
XCCA	24.24	3.34	17.87	29.15	27.44	4.15	23.67	33.93
XLCA	15.42	2.40	12.25	18.91	17.79	3.02	15.65	23.40
XACA	8.83	1.69	5.39	10.76	10.69	1.77	8.15	12.71
XCRC	527.72	74.92	401.50	630.00	593.50	93.52	541.00	780.00
XCAU	83.55	15.48	62.82	102.00	97.93	20.58	77.45	130.00
XAFL	1.72	0.24	1.20	2.06	1.56	0.30	1.14	1.87
XDO	3.87	0.42	3.25	4.39	4.11	0.25	3.72	4.39
XDOF	1.22	0.37	0.70	1.60	1.39	0.53	0.75	2.33
XDON	4.87	0.79	3.67	5.71	5.37	0.91	4.32	6.80
XDON	4.87	0.79	3.67	5.71	5.37	0.91	4.32	6.80
XDOR	7.60	0.94	6.05	8.77	8.12	0.98	7.07	9.78
XDFN	1.23	0.31	0.84	1.71	1.31	0.34	0.90	1.82
XARO	3.06	0.42	2.36	3.62	3.13	0.45	2.79	4.00
XLFL	2.77	0.31	2.23	3.27	2.89	0.32	2.45	3.24
XDNN	3.60	0.63	2.73	4.72	3.97	0.69	3.40	4.91
XDFE	6.21	0.95	5.03	7.80	6.85	1.20	5.82	8.62
XDOO	8.81	1.00	7.30	10.35	9.66	1.46	8.00	12.06
XDNR	2.72	1.61	1.81	6.97	1.99	0.14	1.86	2.21
dca	10.64	0.50	10	11	11.17	0.41	11	12
d1	25.64	1.29	23	27	26.29	1.89	25	29
d2	26.73	1.01	25	28	28.71	1.50	27	31
d3	19.27	0.65	19	21	19.86	0.90	19	21
v	201.73	3.23	197	208	201.29	3.50	197	205
sc	63.89	4.34	59	70	63.17	4.54	57	69
sl	7.64	0.50	7	8	7.17	0.41	7	8
il	10.73	0.79	9	12	10.83	0.75	10	12
ssl1	-	-	-	-	1.29	0.49	1	2
ssl2	-	-	-	-	-	-	-	-
ssl3	1.55	0.52	1	2	1.71	0.49	1	2
iso	7.09	1.58	4	9	8.57	1.13	7	10
ol	6.64	0.81	5	8	7.14	0.69	6	8
cso	12.82	1.78	10	15	13.14	1.35	11	15
nfl	3.73	1.27	1	6	3.17	0.75	2	4
fso	7.18	1.08	5	9	7.43	1.51	6	10
fca	25.36	2.16	22	30	27.29	2.81	23	31
ebv	6.64	1.86	4	9	6.50	1.38	5	8
evq	5.55	1.63	4	9	7.00	2.28	4	9
qeec	7.90	1.37	6	10	7.80	1.64	6	10
qeeeu	26.60	1.07	25	28	29.00	1.58	27	31
qeeil	12.90	1.20	11	15	15.25	1.89	14	18
qecr	14.90	4.07	8	21	16.75	5.32	10	23
qee4sl	25.90	2.28	22	29	30.50	2.08	28	33

Tabela 22. Variação dos caracteres de morfologia externa e hemipeniana estatisticamente significantes, para os clados de machos de *Bothrops bilineatus*. 1-Mata Atlântica; 2- Escudo das Guianas; 3+4-Amazônia central; 5- Amazônia oeste, parte sul; 6-Amazônia oeste, parte norte.

Machos	1	2	3+4	5	6
DCA	12-15	11-13	11-14	11	11-13
D1	28-29	28-31	25-32	23-27	23-26
D2	29-35	31-35	25-33	23-28	26-29
D3	21	21-23	19-22	19	19-21
V	202-207	203-217	199-217	196-206	190-198
CSO	14-17	14-19	13-18	13-14	13-14
FSO	8-11	7-11	7-12	6-9	5-9
FCA	25-33	29-31	25-35	24-26	23-26
QEEUSL	28-30	30-31	25-33	23-28	25
QEEIL	14-16	14-16	13-14	12-15	?
QEE4SL	29-30	27-30	22-31	26-29	27
QEH	16-17	17-20	14-20	9-11	10
QEV	6-7	6-7	4-7	3	4
TotEsp	237-242	206-308	134-244	101-184	203
QEG	131-148	131-186	87-160	46-56	54
BSL/BIL	SIM	SIM	SIM*/NÃO	NÃO	NÃO
Coloração SL/IL	Amarela	Amarela	Verde/Esverdeado	Verde	Verde
Ornamentação SL/IL	Homogêna	Homogênea	Homogêas/Com Pintas	Com Pintas	Com Pintas
MDT	Presentes	Presentes	Presentes	Ausentes	Ausentes
Pinta/ Mancha Olho	Não	Não	Sim/Não	Sim	Sim
Linha Ventro-lateral	Contínua	Contínua	Contínua/Falhada	Contínua/Falhada	Contínua/Falhada
Engodo	Escuro	Claro/Escuro	Claro/Escuro	Claro	Claro/Escuro
Faixa Pós-Ocular	Conspícua**	Conspícua	Pouco Conspícua***	Não Conspícua****	Não Conspícua
Dentes Palatino	5	-	5	7-9	5-6
Dentes Pterigóide	19-20	-	20-21	21-22	20-21
Dentes Dentário	18	-	18	18-19	21
Tamanho das Presa	Grandes	-	Reduzidas	Reduzidas	Reduzidas
Frontal (Comprimento/Largura)	C/L >1	-	C/L >1	C/L >1	C/L = 1
Sutura Posterior do PBE	Angulosa	-	Reta	Angulosa	Reta
Projeção ventral basioccipital	Curvada	-	Curvada/reta	Curvada	Reta
Angular	Longo	-	Longo	Longo	Curto
Abertura Canal de Merkel	Oval	-	Oval	Alongado	Oval

*Apenas alguns indivíduos do clado 3 (Amazônia centro-oeste)

**Faixa alaranjada ampla (uma ou duas escamas), boredeada de preto

***Faixa alaranja se presente, estreita, muitas vezes não formando uma baorda preta bem delimitada

****Faixa alaranjada ausente, com apenas faixa preta e estreita

Tabela 23. Variação dos caracteres estatisticamente significantes e variação osteológica para os clados de fêmeas de *Bothrops bilineatus*. 1-Mata Atlântica; 2-Escudo das Guianas; 3+4-Amazônia central; 5- Amazônia oeste, parte sul; 6-Amazônia oeste, parte norte.

Fêmeas	1	2	3+4	5	6
DCA	12-15	13-15	11-14	10-11	11-12
D1	29-31	29-33	27-33	23-27	25-29
D2	29-35	33-35	27-35	26-28	27-31
D3	20-25	21-23	20-23	19	19-21
V	202-213	203-211	203-214	197-208	197-205
SL	7-8	7	7-9	7-8	7
ISO	6-8	5-9	3-9	5-9	7-10
CSO	13-15	12-14	13-19	10-15	11-15
FSO	6-9	8-10	5-11	6-9	6-10
FCA	26-31	31-33	26-34	22-27	23-31
EVQ	4-9	5	4-10	4-8	4-9
QEEUSL	28-34	29-31	27-33	25-28	25-31
QEEIL	14-15	12-16	12-15	13	14-18
QEE4SL	29-30	27-30	22-31	26-29	27
BSL/BIL	SIM	SIM	SIM*/NÃO	NÃO	NÃO
Coloração SL/IL	Amarela	Amarela	Verde/Esverdeado	Verde	Verde
Ornamentação SL/IL	Homogêna	Homogênea	Homogêas/Com Pintas	Com Pintas	Com Pintas
3ªSI /4ªSL	Menor	Menor/Maior	Maior	Menor	Menor/Maior
MDT	Presentes	Presentes	Presentes	Ausentes	Ausentes
Pinta/ Mancha Olho	Não	Não	Sim/Não	Sim	Sim/Não
Linha Ventro-lateral	Contínua	Contínua	Contínua/Falhada	Falhada	Falhada
Engodo	Escuro	Claro/Escuro	Claro/Escuro	Claro	Claro/Escuro
Faixa Pós-Ocular	Conspícua**	Conspícua	Pouco Conspícua***	Não Conspícua****	Não Conspícua
Dentes Palatino	5	4-5	2-6	5-6	4-6
Dentes Pterigóide	16-18	16-17	17-22	17-21	16-18
Dentes Dentário	15-16	16-17	10-18	18-19	19/20
Tamanho das Presa	Grandes	Grandes	Grandes	Reduzidas	Reduzidas
Parietal (Comprimento/Largura)	Posterior afilada C/L >1	Posterior afilada C/L >1	Posterior afilada C/L >1 ou <1	Posterior arredondada C/L <1	Posterior arredondada C/L <1
Sutura Posterior do PBE	Angulosa	Angulosa	Angulosa/Reta	Angulosa	Reta
Projeção ventral basioccipital	Curvada	Curvada	Curvada/reta	Curvada	Reta
Angular	Longo/Curto	Longo/Curto	Longo/Curto	Longo	Curto
Abertura Canal de Merkel	Oval	Oval	Oval	Alongado	Oval
Osso Composto	Longo	Longo	Longo	Curto	Curto
Ectopterigóide	Longo	Longo	Longo	Curto	Curto
Espaço pós orbita-Supratemporal (Lateral Parietal)	Comprido	Comprido	Comprido	Estreito	Estreito

*Apenas alguns indivíduos do clado 3 (Amazônia centro-oeste)

**Faixa alaranjada ampla (uma ou duas escamas), boredeada de preto

***Faixa alaranja se presente, estreita, muitas vezes não formando uma baorda preta bem delimitada

****Faixa alaranjada ausente ou com muito pouca pigmentação; faixa preta é estreita

Figuras

Figura 1. Relações filogenéticas entre os grupos de espécies (alternatus, jararaca, neuwiedi, jararacussu, atrox e taeniatus) do gênero *Bothrops*; e filogeografia de *Bothrops bilineatus* e *B. taeniatus*, para nove marcadores gênicos (4 mitocondriais e 5 nucleares), baseadas em inferência Bayesiana, Maxima Verossimilhança e Máxima Parcimônia. Círculos fechados representam nós suportados pelas três análises. Escala: divergência genética.

Figura 2. Relações filogenéticas entre as espécies do grupo *taeniatus* e filogeográficas para as populações de *Bothriopsis bilineatus* e *B. taeniatus*, com datação média (em milhões de anos) para divergência entre as linhagens. Barras representam o intervalo de confiança.

Figura 3. Exemplos de *Bothrops bilineatus* de localidades pertencentes aos clados 1 e 2 – Mata Atlântica e Escudo das Guianas, respectivamente. Localidades **A**: Boa Nova, Bahia (Ceplac1) – Foto: Renato Gaiga; **B**: EEE Wenceslau Guimarães, Bahia (MTR22219) – Foto: Renato Recoder; **C**: Trinité, Guiana Francesa - Foto retirada da internet; **D**: Guiana Inglesa, Foto: Oliver Baudry; **E**: Guiana Francesa, Foto: Rémi Ksas.

Figura 4. Exemplos de *Bothrops bilineatus* de localidades pertencentes aos clados 3+4– Amazonia central. Localidades **A**: Tapajós, Pará (DT3028) – Foto: José Cassimiro; **B**: Médio Rio Rurus, Amazonas (INPA31563 – CGTA125) – Foto: Sérgio Marques de Souza; **C**: Aripuanã, Mato Grosso – Foto: Henrique Costa.

Figura 5. Exemplos de *Bothrops bilineatus* de localidades pertencentes ao clado 5 – Amazônia oeste, parte sul. Localidades **A**: Jirau, Rondônia – Foto: André de Luca; **B**: Porto Velho, Rondônia – Foto: Diego Meneghelli; **C**: PN Serra do Divisor, Acre (MTR28518) – Foto: Pedro Peloso; **D**: Baixo Rio Môa, Acre Foto: Paulo Bernardes.

Figura 6. Exemplos de *Bothrops bilineatus* de localidades pertencentes ao clado 6 – Amazônia oeste, parte norte. Localidades **A**: Norte do Perú – Foto: Géman Chaves; **B**: Norte do Perú – Foto: Minden Pictures; **C**: Equador – Foto: Santiago Ron; **D**: Equador - Foto: W. Wuster; **E**: Napo, Equador - Foto: Warrell Fundación Herpetológica Gustavo Orcès.

Figura 7: Localidades dos espécimes de *Bothrops bilineatus* analisados. Círculo Vermelho – Clado 1. Mata Atlântica; Círculo Amarelo – Clado 2. Escudo das Guianas; Pentágono Azul – Clados 3+4. Amazônia central; Quadrado Verde – Clado 5. Amazônia oeste, parte sul; Quadrado Cinza – Clado 6. Amazônia oeste, parte norte. Círculo Laranja – Localidade tipo da espécie e da sub-espécie *B. b. bilineatus*; Quadrado Roxo – Localidade tipo da sub-espécie *B. b. smaragdinus*. Símbolos com ponto interno representam localidades para exemplares com amostras sequenciadas.

Figura 8. Rede de haplótipos para os marcadores mitocondriais. Dimensões dos círculos representam quantidade de haplótipos iguais acumulados.

Figura 9. Rede de haplótipos para os marcadores nucleares. Dimensões dos círculos representam quantidade de haplótipos iguais acumulados.

Figura 10: Exemplos de *Bothrops taeniatus* de localidades pertencentes aos clado 1 – norte do Rio Amazonas; **A:** San Martim, Peru – Foto: Andre Baertschi; **B:** Loreto Peru – Foto: Grman Chaves; **C:** Quito, Equador – Foto W. Wuster; **D:** Guiana Inglesa, Foto: Philippe Kok; e clado 3 - Amaznia sul-sudoeste; **E:** Jirau, Rondnia (H2587) - Foto: Mauro Teixeira Jr.; **F:** PN Serra dos Pacas, Rondnia (MTR25922) - Foto: Mauro Teixeira Jr.

Figura 11: Localidade dos espécimes de *Bothrops taeniatus* analisados. Círculo Amarelo – Clado 1. norte do Rio Amazonas; Quadrado Verde – Clado 2. Amazônia oeste; Pentágono Azul – Clados 3+4. Amazônia central; Círculo Roxo – Localidade tipo de *Bothrops taeniatus* (Restringida entre a Boca do Rio Negro e a do Rio Tajapuru); Pentágono Laranja – Localidade tipo de *Bothrops castelnaudi* (próximo a divisa dos estados do Mato Grosso, Tocantins e Pará). Símbolos com ponto interno representam localidades para exemplares com amostras sequenciadas.

Figura 13. Hemipênis esquerdo LAPS721, Bahia - *Bothrops bilineatus*, clado 1 – Mata Atlântica. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 14. Hemipênis esquerdo UFBA2007, Bahia - *Bothrops bilineatus*, clado 1 – Mata Atlântica. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 15. Hemipênis esquerdo MZUSP10372, Serra dos Surucucus, Roraima - *Bothrops bilineatus*, clado 2 – Escudo das Guianas. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 16. Hemipênis direito MZUSP20230, Guiana Inglesa - *Bothrops bilineatus*, clado 2 – Escudo das Guianas. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 17. Hemipênis de *Bothrops bilineatus*, MTR20744, Guiana Inglesa. Clado 2 – Escudo das Guianas. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Exemplar. Barra = 1mm.

Figura 18. Hemipênis direito de *Bothrops bilineatus*, DT3028, Tapajós, Pará, clado 3 – Amazônia centro-leste. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 19. Hemipênis direito de *Bothrops bilineatus*, DT3831, Tapajós, Pará, clado 3 – Amazônia centro-leste. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 20. Hemipênis direito de *Bothrops bilineatus*, 1982, Canaã dos Carajás, Pará, clado 3+4 – Amazônia central. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 21. Hemipênis esquerdo de *Bothrops bilineatus*, ZUEC840, Carajás, Pará, clado 3+4 – Amazônia Central. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 22. Hemipênis esquerdo de *Bothrops bilineatus*, UFMT8908, Cotriguaçu, Mato Grosso, clado 4 – Amazônia centro-oeste. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 23. Hemipênis direito de *Bothrops bilineatus*, INPA31561, Amazonas, clado 4 – Amazônia centro-oeste. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 24. Hemipênis esquerdo de *Bothrops bilineatus*, INPA31563, Médio Rio Purus, Amazonas, clado 4 – Amazônia centro-oeste. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 25. Hemipênis direito *Bothrops bilineatus*, INPA 31558, Amazonas, clado 4 – Amazônia centro-oeste. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 26. Hemipênis direito de *Bothrops bilineatus*, H4259, Jirau, Rondônia, clado 5 – Amazônia oeste, parte sul. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 27. Hemipênis direito de *Bothrops bilineatus*, MTR21458, Porto Velho, Rondônia, clado 5 – Amazônia oeste, parte sul. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 28. Hemipênis direito de *Bothrops bilineatus*, MZUSP19033, Porto Velho, Rondônia, clado 5 – Amazônia oeste, parte sul. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 29. Hemipênis direito de *Bothrops bilineatus*, UFAC287, Rio Branco, Acre, clado 5 – Amazônia oeste, parte sul. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 30. Hemipênis direito de *Bothrops bilineatus*, MCP14092, Letícia Colômbia, clado 6 – Amazônia oeste, parte norte. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 31. Hemipênis direito MZUSP10960, Monte Roraima, Roraima - *Bothrops taeniatus*, clado 1 – norte Rio Amazonas. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 32. Hemipênis direito MTR12683, Rio Abacaxis, Amazonas - *Bothrops taeniatus*, clado 3 – Amazônia centro-leste. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 33. Hemipênis direito MTR25925, PN Serra dos Pacaás, Rondônia - *Bothrops taeniatus*, clado 4 – Amazônia sul-sudoeste. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 34. Hemipênis direito MTR12742, Rio Abacaxis, Amazonas - *Bothrops atrox* – grupo atrox. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 35. Hemipênis direito MTR19394, Médio Rio Purus, Amazonas - *Bothrops atrox* – grupo atrox. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 36. Hemipênis direito MTR20563, Roraima - *Bothrops atrox* – grupo atrox. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 37. Hemipênis direito MTR28473, PN Serra do Divisor, Acre - *Bothrops atrox* – grupo atrox. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 38. Hemipênis direito de *Bothrops leucurus*, A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Exemplar MTR22257, EEE Wenceslau Guimarães, Bahia. Grupo atrox. Barra = 1mm.

Figura 39. Hemipênis direito MTR13844 - *Bothrops brazili*, Amapá – grupo jararacussu. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 40. Hemipênis direito MTR22184 - *Bothrops pirajai*, EEE Wenceslau Guimarães, Bahia – grupo jararacussu. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 41. Hemipênis direito de *Bothrops jararaca*, MTR23753, Cabeça de Boi, Cipó, Minas Gerais. Grupo jararaca. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 42. Hemipênis direito de *Bothrops neuwiedi*, MTR25214, Serra dos Alves, Cipó, Minas Gerais. Grupo neuwiedi. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 43. Hemipênis direito de *Bothrops erythromelas*, MTR25214, PN Serra da Capivara, Piauí. Grupo neuwiedi A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada.. Barra = 1mm.

Figura 44. Hemipênis direito de *Bothrops pauloensis*, MTR23370. Grupo neuwiedi. A: Face Sulcada; B: Face não Sulcada. Barra = 1mm.

Figura 45: Prancha comparativa dos hemipênis para os 6 clados de *Bothrops bilineatus*. Retângulo Vermelho: Clados 1 e 2 - Mata Atlântica e Escudo das Guianas, respectivamente. Retângulo Verde: Clados 3+4 - Amazônia central. Retângulo Azul: Clado 5 Amazônia oeste, parte sul. Retângulo Amarelo: Clado 6 - Amazônia oeste, parte norte. A: Face sulcada, B: Face não Sulcada. Barra = 1 mm.

Figura 46. Gráficos resultantes das análises de componente principal (PCA) A:machos; B:fêmeas; e das análises discriminantes C:machos; D:fêmeas, para os caracteres morfométricos.

Figura 47. Gráficos resultantes das análises de componente principal (PCA) A:machos e fêmeas juntos e B: discriminante para machos e fêmeas juntos; gráficos das análises de PCA (C) e discriminante (D) para os caracteres do hemipênis

Figura 48. Gráficos resultantes das análises de componente principal (PCA) A:machos; B:fêmeas; e das análises discriminantes C:machos; D:fêmeas, para os caracteres merísticos.

Figura 49. Osteologia cranial de *Bothrops bilineatus*. A:Dorsal; B:Ventral. BO-basioccipital; CM-côndilo mandibular; D-dentário; EO-exoccipital; EP-ectopterigóide; F-frontal; FM-fossa mandibular; M-maxila; N-nasal; OC-osso composto; OVN-orgão vômero nasal; P-parietal; PBE-parabasioesfenóide; PF-pré frontal; PM-pré maxila; PO-pós orbital; PR-proótico; PT-pterigóide; Q-quadrado; SM-septomaxila; SO-supraoccipital; ST-supratemporal; VM-vômer.

Figura 50. Osteologia cranial de *Bothrops bilineatus*. A:Lateral; B:corte longitudinal. AG-angular; BO-basioccipital; CM-côndilo mandibular; D-dentário; EO-exoccipital; EP-ectopterigóide; F-frontal; FE-fenestra exocoanal; FL-escavação da fosseta loreal; FM-fossa mandibular; M-maxila; MK-canal de Merkel; N-nasal; OC-osso composto; P-parietal; PBE-parabasioesfenóide; PF-pré frontal; PL-palatino; PM-pré maxila; PO-pós orbital; PR-proótico; PT-pterigóide; Q-quadrado; SM-septomaxila; SO-supraoccipital; SP-esplenial; ST-supratemporal; VM-vômer.

Figura 51. Comparação da região dorsal do crânio de indivíduos de *Bothrops bilineatus*. A:Zuec1674 (clado 1 – Mata Atlântica); B:TQ1020 (clado 2 – Escudo das Guianas); C:UFMT9128 (clado 3+4 – Amazônia central); D: MTR21457 (clado 5 – Amazônia oeste, parte sul); E:MZUSP4398 (clado 6 – Amazônia oeste, parte norte).

Figura 52. Comparação da região ventral do crânio de indivíduos de *Bothrops bilineatus*. A:Zuec1674 (clado 1 – Mata Atlântica); B:TQ1020 (clado 2 – Escudo das Guianas); C:UFMT9128 (clado 3+4 – Amazônia central); D: MTR21457 (clado 5 – Amazônia oeste, parte sul); E:MZUSP4398 (clado 6 – Amazônia oeste, parte norte).

Figura 53. Comparação da região lateral do crânio de indivíduos de *Bothrops bilineatus*. A:Zuec1674 (clado 1 – Mata Atlântica); B:TQ1020 (clado 2 – Escudo das Guianas); C:UFMT9128 (clado 3+4 – Amazônia central); D: MTR21457 (clado 5 – Amazônia oeste, parte sul); E:MZUSP4398 (clado 6 – Amazônia oeste, parte norte).

A

B

C

Figura 54. Comparação da região lateral interna do crânio, através de corte longitudinal, de indivíduos de *Bothrops bilineatus*. A:Zuec1674 (clado 1 – Mata Atlântica); B:TQ1020 (clado 2 – Escudo das Guianas); C:UFMT9128 (clado 3+4 – Amazônia central); D: MTR21457 (clado 5 – Amazônia oeste, parte sul); E:MZUSP4398 (clado 6 – Amazônia oeste, parte norte).