DIEGO FERREIRA MUNIZ-DA-SILVA

Ciclo Reprodutivo da caninana,

Spilotes pullatus

(Linnaeus, 1758) (Serpentes: Colubridae)

São Paulo
2012

DIEGO FERREIRA MUNIZ-DA-SILVA

**Ciclo reprodutivo da caninana, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758)
(SERPENTES: COLUBRIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientadora:

Prof. Dra. Selma Maria de Almeida Santos

São Paulo
2012

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2584
FMVZ

Muniz-Da-Silva, Diego Ferreira
Ciclo reprodutivo da caninana, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758)
(SERPENTES: COLUBRIDAE) / Diego Ferreira Muniz-Da-Silva. -- 2012.
135 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.
Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Profa. Dra. Selma Maria de Almeida Santos.

1. Reprodução animal. 2. Combate. 3. Segmento sexual renal. 4. Ovulação
reflexa. 5. Hemipênis. I. Título.

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Ciclo reprodutivo da Caninana, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (SERPENTES: COLUBRIDAE)", protocolado sob o nº 2249/2011, utilizando 200 (duzentas) serpentes Caninana, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Selma Maria Almeida Santos, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 17/8/2011.

We certify that the Research "Reproductive cycle of the Tiger Rat Snake, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (SERPENTES: COLUBRIDAE)", protocol number 2249/2011, utilizing 200 (two hundred) Tiger Rat Snake, under the responsibility Profa. Dra. Selma Maria Almeida Santos, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 8/17/2011.

São Paulo, 26 de janeiro de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: MUNIZ-DA-SILVA, Diego Ferreira

Título: Ciclo reprodutivo da caninana, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (SERPENTES: COLUBRIDAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*Aos animais depositados em coleções científicas,
por permitirem a realização de pesquisas como esta,
e na maioria das vezes, são vistos apenas como objetos
por pessoas que um dia foram crianças,
e nessa época, eram apaixonados pela vida de cada animal, e não por um táxon.*

AGRADECIMENTOS

À Dra. Selma Maria de Almeida Santos, por ter aceitado a minha orientação, mesmo sabendo das dificuldades que encontraria em orientar uma pessoa completamente leiga em sua linha de pesquisa, por ter me passado o conhecimento que hoje tenho sobre herpetologia, e pela confiança e preocupação que teve comigo durante todo esse período.

Ao Dr. Marcovan Porto, por acreditar em mim, por ter me apresentado à Dra. Selma e ter “vendido o meu peixe” por um valor bem maior do que “ele” vale.

Aos Drs. Otavio Augusto Vuolo Marques e Fausto Erritto Barbo, por me cederem dados fundamentais para a realização dessa pesquisa, dados sem os quais muitos dos resultados apresentados aqui não seriam possíveis, e que por isso, são tão responsáveis por essa realização quanto eu e a Dra. Selma.

À Professora Dra. Maria Angélica Miglino, por ter me permitido realizar esse trabalho pelo Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Ao Laboratório de Ecologia e Evolução do Instituto Butantan, e ao instituto, por ter me acolhido durante esse período.

Aos funcionários das coleções herpetológicas do Museu de História Natural Capão da Imbuia (MHNCI); Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ); Museu de Ciências Naturais da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-MG); Museu de Zoologia João Moojen, Universidade Federal de Viçosa (MZUFV); Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC); Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP); Fundação Nacional Ezequiel Dias (FUNED), em especial, os curadores, Dr. Julio Cesar de Moura Leite, Dr. Ronaldo Fernandes, Dr. Paulo Passos, Dra. Luciana Barreto Nascimento, Dr. Renato Feio, Dr. Paulo Roberto Manzani, Dra. Gláucia Maria Funk Pontes, Dra. Giselle Cotta. Ao coordenador da Faculdade de Medicina Veterinária do Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO), Prof. André Vianna Martins e ao técnico do Laboratório de Anatomia Animal, Marcelo Caetano. A todos vocês, muito obrigado, pelo empréstimo dos exemplares utilizados nessa pesquisa.

Ao Dr. Carlos Jared e à Dr. Marta Antoniazzi, por me permitirem utilizar o laboratório para a obtenção das fotomicrografias.

Ao Valdir José Germano, por me ajudar na técnica de montagem dos hemepênes utilizados nessa pesquisa.

Aos colegas do Grupo de Estudos de Reprodução de Squamata (GERES), Igor Stefan Popovic Federsoni, Evandro Berti Galvão, Karina N. Kasperoviczus, Viviane Campos Garcia, Kalena Barros da Silva, Patrícia Silva Marinho, Nathalie Sampo Bellini, Fernanda Magno Amaral, e em especial à Letícia Ruiz Sueiro, por ter me ajudado, me ensinando sobre a coleta dos dados reprodutivos; ao Claudio Augusto Rojas, pela ajuda com a leitura de algumas das lâminas histológicas; à Maria Adelaida Hoyos Argáez, Henrique Bartolomeu Braz e Verônica Alberto Barros, pela grande ajuda com os testes estatísticos, à Karina Maria Pereira da Silva, por ter conseguido um artigo tão importante, que eu não encontrava; ao Victor Frias Czank, por ter se empenhado tanto, e por tido paciência as inúmeras vezes que eu pedi para que ele modificasse os desenhos científicos que compõem esse trabalho, e; à Lívia Cristina dos Santos, por ter praticamente me coorientado, me ensinando tudo sobre o processamento histológico, confecção das lâminas histológicas, fórmulas que foram utilizadas nesse trabalho, criação de planilhas e testes estatísticos, e por se preocupar e se disponibilizar sempre em me ajudar, mesmo estando longe.

Ao “Coy” (Sérgio Serrano), por ter me fornecido um exemplar de *Spilotes* o qual pude utilizar para preparação do sistema reprodutor masculino que ilustra essa dissertação.

À Silvia Regina Travaglia Cardoso, por disponibilizar as caninanas para que eu fizesse as fotografias que ilustram a capa dessa dissertação.

Ao John Andermann, Daniel Velho, Edelcio Muscat, José Milton Longo, Osvaldo Parthey, Luciano Castanho e Gustavo Knuppe, pessoas que eu não conheço, e mesmo assim, se disponibilizaram a me ajudar com fotografias, vídeos e informações que foram muito úteis para essa dissertação.

Aos amigos Chris (Christopher Lang) e M^a. Teresa C. G. V.de Carvalho, pela grande ajuda com o idioma inglês, o que me capacitou para que tudo isso fosse possível, sem essa ajuda nada disso teria se iniciado.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia e Evolução do Instituto Butantan, Thaís Barreto Guedes, Cristian Alexandro Gomes, José Salvatore Leister Patané, Hugo Leonardo Sioufi Silva, Natália Ferreira Torello Viera, Adriano Tadeu Fellone, Darina Brumatti Favorito, Dinah Lemos, Kelly Kishi, Vera Lúcia Moraes Torres e Daniela Petrim de Araújo.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em especial ao Maicon Silva, pela grande ajuda e informações sobre a seleção da pós-graduação, mesmo antes de eu vir pra São Paulo e conhecê-lo, sem essa ajuda essa etapa da minha vida não teria sido possível; aos técnicos Diogo Nader Palermo e Ronaldo Agostinho da Silva pela ajuda nas técnicas laboratoriais, e; à Professora Dr. Paula Papa, pelo grande aprendizado, pelos elogios e confiança que teve em mim.

Ao Ricardo Franciscon pela ajuda com o *abstract* desse trabalho.

À minha grande amiga Eliana da Silva Gulão pela ajuda com o *abstract*, pelas correções feitas a este trabalho, e principalmente, por estar sempre torcendo pelo meu sucesso.

Aos meus amigos de São Paulo, pela convivência e carinho de todos, em especial a Vanessa Lima pelo companheirismo e amizade desde que chegamos a São Paulo para a seleção na pós-graduação, ao amigão Carlos Eduardo Costa Silva (“Cretinão”) pela amizade e por ter sido uma pessoa que eu sempre pude contar com o apoio, em tudo, aqui em São Paulo, e a Ellen Rose Ribeiro de Souza, por cuidar de mim e por ter sido a minha “família” aqui em São Paulo durante todo esse tempo.

Ao amigo Ruan Felipe Vieira Medrano, por ter acreditado tanto em mim, e me ajudado no início dessa etapa, por ter conseguindo vários artigos que eu não encontrava, me ajudando sempre com o inglês, e principalmente pelo companheirismo.

Aos meus amigos da graduação, que sempre acreditaram e torceram por mim, em especial a “Canelão” (Raquel Diniz Lessa Pessanha), Silvana Araújo, Luiza Barcelos e Bianca Andriolo, amigas de quem sinto tantas saudades.

À minha família, por todo amor recebido, em especial ao meu padrasto Sebastião da Silva, por ter estado sempre me apoiando e ajudando em tudo, à minha irmã Giovana Ferreira Muniz da Silva e ao meu irmão Giovane Ferreira Muniz da Silva por serem parte de mim e por acreditarem tanto no meu sucesso, e ao meu sobrinho Gabriel Fernandes da Silva Mateus, que tem medo de besouro, e que por isso, quando crescer, não será “Médico dos Bichinhos” como o tio, e sim, *Super-herói Com Medo de Besouro*.

À minha rainha, Arli Ferreira da Silva, mulher a quem devo tudo o que sou hoje, por mesmo sem entender o que é uma dissertação e um mestrado, ter me dado força e me apoiado (mesmo contra sua vontade) para que eu viesse para São Paulo realizar um sonho, e por ser simplesmente, a melhor mãe do mundo.

Ao meu Paizão lá de cima, a quem devo todas as oportunidades que tive em minha vida e, por ter me mostrado desde que eu era criança, o quanto sua criação, em especial a natureza e os animais, é encantadora.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por tornar possível, financeiramente, a realização dessa dissertação. E também, ao assessor da FAPESP, pelos comentários e sugestões sobre o relatório científico, as quais me ajudaram muito a melhorar a dissertação.

A todos que me ajudaram, independente de qual forma, que estão sempre torcendo por mim, e que por ventura eu não tenha mencionado por esquecimento, minhas sinceras desculpas e meu muito obrigado.

Com a grande ajuda de cada um de vocês, seja de forma direta ou indireta, a realização desse sonho foi possível! Muito obrigado!

*“Mostrei minha obra prima às pessoas grandes
e perguntei se o meu desenho lhes fazia medo.
Responderam-me: Por que é que um chapéu faria medo? [...]”*

*“ [...] Desenhei então o interior da jibóia,
a fim de que as pessoas grandes pudessem compreender.
Elas têm sempre necessidade de explicações.”
(Antoine de Saint-Exupéry – O Pequeno Príncipe)*

*“A imaginação é mais importante que o conhecimento.
O conhecimento é limitado. A imaginação envolve o mundo.” (Albert Einstein)*

RESUMO

MUNIZ-DA-SILVA, D. F. **Ciclo reprodutivo da caninana, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (SERPENTES: COLUBRIDAE)**. [Reproductive cycle of tiger rat snake, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (Serpentes: colubridae)]. 2012. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

O ciclo reprodutivo de *Spilotes pullatus* na região sudeste do Brasil é descrito para machos e fêmeas a partir de análises macroscópicas e microscópicas do aparelho reprodutor e órgãos acessórios envolvidos na reprodução ao longo do ano. Os machos da espécie apresentam o ciclo sazonal com o início da espermatogênese no verão, e durante o outono ocorre a espermição. Os gametas são estocados ao longo dos ductos deferentes que possuem um formato convoluto. Os testículos entram em regressão e durante o inverno e a primavera apresentam-se inativos. Não é incomum encontrar machos de *Spilotes* com anomalia gonadal, apresentando uma massa testicular funcional próximo aos testículos. A cópula ocorre durante o inverno, principalmente na metade final da estação, os gametas estocados nos ductos deferentes não são esgotados durante a estação de acasalamento de forma que durante todo o ano os machos possuem espermatozoides estocados nos ductos. Os rins, órgão reprodutor acessório em Squamata, não apresentam variação em tamanho ao longo das estações em nenhum dos sexos, mas mudanças microscópicas ocorrem no néfron dos machos na região do segmento sexual renal, essa estrutura encontra-se hipertrofiada durante a estação de acasalamento. Combate pode ocorrer durante a primavera e os machos tendem a ficar com a porção cranial do corpo na vertical durante o duelo, diferentemente da maioria dos outros colubrídeos que mantém quase todo o corpo na horizontal. Durante o combate os machos podem expor o hemipênis. As fêmeas iniciam a vitelogênese no outono quando os folículos menores do que 10 mm começam a receber depósito de vitelo. O forrageio das fêmeas diminui de acordo com o desenvolvimento folicular. No final do inverno os folículos encontram-se pré-ovulatórios e no oviduto médio observa-se uma hipertrofia das glândulas da casca. As fêmeas parecem apresentar um período de proestro de seis dias e em seguida o estro. Os hemipênes da espécie são únicos, sem nenhum tipo de bifurcação, enquanto que a fêmea possui uma cloaca longa e com bolsas (vaginias) marcadamente bilobadas. Após a cópula, no final do inverno, ocorre a ovulação. Nessa espécie parece haver ovulação reflexa, sendo a cópula o estímulo para que ocorra a ovulação. A primavera é a estação onde as fêmeas encontram-se prenhas e realizam a ovipostura. As fêmeas que não ovularam parecem ter os folículos absorvidos pelo organismo. As caninanas produzem em média oito ovos que

podem estar distribuídos igualmente ou não entre os ovários. Os ovos postos na primavera são incubados em média por 73 dias e a eclosão ocorre durante o verão.

Palavras-chave: Reprodução animal. Combate. Segmento sexual renal. Ovulação reflexa. Hemipênis.

ABSTRACT

MUNIZ-DA-SILVA, D. F. **Reproductive cycle of tiger rat snake, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (SERPENTES: COLUBRIDAE).** [Ciclo reprodutivo da caninana, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (SERPENTES: COLUBRIDAE)]. 2012. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The reproductive cycle of *Spilotes pullatus* in southeastern of Brazil is described for males and females from macroscopic and microscopic analysis of the reproductive tract and accessory organs involved in reproduction throughout the year. Males of the species exhibit a seasonal cycle with the onset of spermatogenesis in the summer and during autumn spermiation occurs. The gametes are stored along the vas deferens, which have a convoluted shape. The testicles come in regression and during the winter and spring appear inactive. It is not unusual to find male *Spilotes* with gonadal failure, with a testicular mass function next to the testicles. Mating occurs during the winter, especially in the latter half of the season, gametes stored in the vas deferens are not depleted during the breeding season so that throughout the years, males have sperm stored in the vas. The kidneys, reproductive organ accessory in Squamatas not show variation in size throughout the seasons in either sex, but microscopic changes occur in the nephron of male sexual segment in the region of the kidney, this structure is hypertrophied during the mating season. The kidneys, reproductive organ accessory Squamatas not show variation in size throughout the seasons in either sex, but microscopic changes occur in the nephron of male sexual segment in the region of the kidney, this structure is hypertrophied during the mating season. Combat can occur during the spring and the males tend to stay with the cranial portion of the body vertical during the duel, unlike most other colubrids that keeps most of the body horizontally. During combat, males may expose the hemipenis. The females begin the vitellogenesis on fall when the follicles smaller than 10 mm start receiving tank calf. Female foraging decreases with the follicle development. At the end of winter follicles are pre-ovulatory and in the medium oviduct there is a hypertrophy of gland shell. Females appear to have a period of six days of proestrus and then estrus. The specie hemipenes are unique, without any kind of bifurcation, while the female has a long cloaca with pouch (or vaginal pouch) markedly bilobed. After mating in the end of winter, ovulation occurs. In this species seems to be reflex ovulation, copulation being the stimulus for ovulation to occur. Spring is the season when females are pregnant and do the oviposition. Females that did not ovulate have to seem the follicles absorbed by the body. The

tiger rat snake produce an average of eight eggs that may or may not be distributed equally between the ovaries. The eggs laid in spring are incubated in medium for 73 days and hatching occurs during the summer.

Keywords: Animal breeding. Combat. Renal sexual segment. Reflex ovulation. Hemipenis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Caninana (<i>Spilotes pullatus</i>).....	27
Figura 2 -	Distribuição geográfica de <i>Spilotes pullatus</i>	28
Figura 3 -	Três roedores compondo o conteúdo estomacal de um exemplar preservado no Museu Nacional do Rio de Janeiro.....	29
Figura 4 -	Caninana com região do pescoço inflada. Comportamento típico mostrado em uma situação de ameaça.....	30
Figura 5 -	Néfron de macho de serpente.....	33
Figura 6 -	Corte e cópula de colubrídeo. Macho em monta dorsal tateando o dorso da fêmea com a parte ventral do queixo e com a cloaca junto à da fêmea.....	34
Figura 7 -	Exemplar de <i>Spilotes pullatus</i> de coleção zoologia.....	41
Figura 8 -	Mensuração do eixo maior do testículo de <i>Spilotes</i>	42
Figura 9 -	Mensuração do eixo menor do testículo de <i>Spilotes</i>	42
Figura 10 -	Mensuração do eixo menor do testículo de <i>Spilotes</i>	42
Figura 11 -	Região distal do ducto deferente de <i>Spilotes</i>	43
Figura 12 -	Comprimento total do rim de <i>Spilotes</i>	43
Figura 13 -	Largura da região cranial do rim de <i>Spilotes</i>	43
Figura 14 -	Mensuração do eixo maior do maior folículo de <i>Spilotes</i>	44
Figura 15 -	Fêmea de <i>Spilotes</i> com a musculatura uterina distendida, “pós-postura”.....	45
Figura 16 -	Fêmea de <i>Spilotes</i> com a musculatura uterina relachada.....	45
Figura 17 -	Região do testículo de <i>Spilotes</i> coletada para análise histológica.....	46
Figura 18 -	Região do ducto deferente de <i>Spilotes</i> coletada para análise histológica..	46
Figura 19 -	Região do rim de <i>Spilotes</i> coletada para análise histológica.....	46
Figura 20 -	Região caudal do oviduto de <i>Spilotes</i> coletada para análise histológica....	47
Figura 21 -	Região cranial do oviduto de <i>Spilotes</i> coletada para análise histológica...	47

Figura 22 - Fotomicrografia do testículo de <i>Spilotes</i> mostrando as medidas aferidas dos túbulos seminíferos.....	48
Figura 23 - Fotomicrografia do rim de <i>Spilotes</i> macho mostrando as medidas aferidas do segmento sexual renal.....	49
Figura 24 - Fotomicrografia do útero glandular (anterior) de <i>Spilotes</i> mostrando a medida aferidas da glândula da casca.....	49
Figura 25 - Fotomicrografia do rim de <i>Spilotes</i> fêmea mostrando as medidas aferidas do túbulo contorcido distal.....	50
Figura 26 - Testículo de <i>Spilotes pullatus</i> com epidídimo evidenciado.....	56
Figura 27 - Ductos eferentes e epidídimo de <i>Spilotes pullatus</i>	56
Figura 28 - Sistema reprodutor masculino de <i>Spilotes pullatus</i>	57
Figura 29 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos de volume testicular de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	58
Figura 30 - Distribuição ao longo dos anos dos valores de diâmetro do túbulo seminífero de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	59
Figura 31 - Distribuição ao longo dos anos dos valores da espessura do epitélio seminífero de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	60
Figura 32 - Túbulo seminífero de <i>Spilotes pullatus</i> durante o final do verão, apresentando o epitélio bem espesso com numerosas espermatogônias próximo a lâmina basal.....	61
Figura 33 - Túbulo seminífero de <i>Spilotes pullatus</i> no início do outono, apresentando o epitélio bem espesso.....	61
Figura 34 - Túbulo seminífero de <i>Spilotes pullatus</i> no início do outono, apresentando o epitélio bem espesso e com espermátides em fase de diferenciação.....	61
Figura 35 - Túbulo seminífero de <i>Spilotes pullatus</i> durante o inverno, apresentando o epitélio fino basicamente formado por espermatogônias.....	62
Figura 36 - Túbulo seminífero de <i>Spilotes pullatus</i> durante o inverno, apresentando o epitélio fino e com alguns espermatozóides no lúmen.....	62
Figura 37 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos da largura da região caudal do ducto deferente de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	63
Figura 38 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos do comprimento do rim masculino <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro....	64

Figura 39 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos da largura cranial do rim masculino de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	65
Figura 40 - Néfron de <i>Spilotes pullatus</i> da região sudeste do Brasil durante o outono, com segmento sexual renal hipertrofiado.....	66
Figura 41 - Néfron de <i>Spilotes pullatus</i> da região sudeste do Brasil durante o verão, com segmento sexual renal hipotrofiado.....	66
Figura 42 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos do diâmetro do segmento sexual renal de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	66
Figura 43 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos da espessura do epitélio do segmento sexual renal de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	67
Figura 44 - Testículo de <i>Spilotes pullatus</i> apresentando uma massa testicular cranial ao testículo.....	68
Figura 45 - Microscopia da massa testicular de <i>Spilotes pullatus</i>	68
Figura 46 - Rim de <i>Spilotes pullatus</i> apresentando uma massa renal caudal ao rim....	68
Figura 47 - Túbulo seminífero de <i>Spilotes pullatus</i> com 1.150mm de CRC apresentando um epitélio germinativo em início de atividade.....	69
Figura 48 - Ducto deferente de <i>Spilotes pullatus</i> com aspecto convoluto.....	71
Figura 49 - Ducto deferente de <i>Spilotes pullatus</i> com aspecto sinuoso.....	71
Figura 50 - Fotomicrografia do ducto deferente de um macho de <i>Spilotes</i> com ducto não convoluto macroscopicamente, embora, com presença de espermatozóides no lúmen mostrando que se trata de um indivíduo maduro sexualmente.....	71
Figura 51 - Hemipênis de <i>Spilotes pullatus</i> da região sudeste do Brasil.....	72
Figura 52 - Face sulcada do hemipênis de <i>Spilotes pullatus</i>	74
Figura 53 - Face asulcada do hemipênis de <i>Spilotes pullatus</i>	74
Figura 54 - Infundíbulo de <i>Spilotes pullatus</i> exteriorizado da cavidade celomática, mostrando o aspecto translúcido e formato afunilado.....	75
Figura 55 - Sistema reprodutor feminino de <i>Spilotes pullatus</i>	76
Figura 56 - Distribuição do maior folículo ou ovo de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro ao longo dos anos.....	77

Figura 57 -	Ovário de <i>Spilotes pullatus</i> da região sudeste do Brasil com folículos secundários pré-ovulatórios em final de inverno.....	78
Figura 58 -	Ovário de <i>Spilotes pullatus</i> da região sudeste do Brasil com folículos primários no verão (< 10mm) e cicatrizes de ovulação.....	78
Figura 59 -	Região caudal do oviduto de <i>Spilotes pullatus</i> da região sudeste do Brasil com oviduto distendido na primavera.....	78
Figura 60 -	Região caudal do oviduto, com aspecto distendido, de um exemplar de <i>Spilotes pullatus</i> com folículos pré-ovulatórios nos ovários.....	79
Figura 61 -	Oviduto médio de <i>Spilotes pullatus</i> da região sudeste do Brasil, com glândulas hipertrofiadas.....	80
Figura 62 -	Oviduto médio de <i>Spilotes pullatus</i> da região sudeste do Brasil, com glândulas hipotrofiadas.....	80
Figura 63 -	Diâmetro da glândula da casca de <i>Spilotes pullatus</i> da região sudeste do Brasil, agrupados por fase vitelogênica.....	80
Figura 64 -	Glândulas submucosa na tuda do oviduto de <i>Spilotes pullatus</i>	81
Figura 65 -	Túbulos ciliados no infundíbulo do oviduto de <i>Spilotes pullatus</i>	81
Figura 66 -	Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos do comprimento do rim feminino de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.	82
Figura 67 -	Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos da largura cranial do rim de fêmeas de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	83
Figura 68 -	Distribuição ao longo dos anos dos valores do diâmetro do túbulo contorcido distal feminino de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	84
Figura 69 -	Distribuição ao longo dos anos dos valores da espessura do epitélio do túbulo contorcido distal feminino de <i>Spilotes pullatus</i> do sudeste brasileiro.....	84
Figura 70 -	Relação entre comprimento rostro-cloacal da fêmea e número de ovos ou folículos pré-ovulatórios em <i>Spilotes pullatus</i>	86
Figura 71 -	Relação entre comprimento rostro-cloacal da fêmea e comprimento de ovos ou folículos pré-ovulatórios em <i>Spilotes pullatus</i>	86
Figura 72 -	Folículo secundário de <i>Spilotes pullatus</i> apresentando um formato esferóide.....	87
Figura 73 -	Ovos de <i>Spilotes pullatus</i> com formato esferóide.....	87

Figura 74 - Sistema reprodutor feminino de <i>Spilotes pullatus</i> com folículos pré-ovulatórios nos ovários distribuídos em linha com leve inclinação e de forma simétrica, quatro em cada ovário.....	88
Figura 75 - Disposição dos folículos pré-ovulatórios de <i>Spilotes pullatus</i> distribuídos em linha com leve inclinação em relação ao plano horizontal do animal dentro da cavidade celomática.....	88
Figura 76 - Bolsas de <i>Spilotes pullatus</i> envolvendo o intestino dentro da cavidade celomática.....	89
Figura 77 - Bolsas de <i>Spilotes pullatus</i> na cavidade celomática, intestino arrebatado.....	89
Figura 78 - Bolsas de <i>Spilotes pullatus</i> na cavidade celomática, intestino arrebatado e bolsas esticadas para visualização da face medial.....	89
Figura 79 - Bolsas de <i>Spilotes pullatus</i> . da região sudeste do Brasil.....	90
Figura 80 - Ritual de combate entre dois <i>Spilotes pullatus</i> machos na copa de uma árvore durante a primavera.....	91
Figura 81 - Inserção do hemipênis do macho na bolsa da fêmea durante a cópula de <i>Spilotes pullatus</i>	93
Figura 82 - Porção caudal do oviduto de <i>Spilotes pullatus</i> com presença de espermatozóides no lúmen da bolsa.....	93
Figura 83 - Sêmen de <i>Spilotes pullatus</i> na cloaca de uma fêmea da espécie que apresentava folículos pré-ovulatórios nos ovários.....	95
Figura 84 - Sêmen de <i>Spilotes pullatus</i> e esfregaço do sêmen encontrado na cloaca de uma fêmea da espécie que apresentava folículos pré-ovulatórios nos ovários.....	95
Figura 85 - Cópula <i>ex situ</i> de <i>Spilotes pullatus</i>	97
Figura 86 - Cópula <i>ex situ</i> de <i>Spilotes pullatus</i> no hemisfério norte. Note o corpo da fêmea distendido na região cloacal em razão da penetração do hemipênis intumescido.....	98
Figura 87 - Prenhez <i>ex situ</i> no hemisfério norte de <i>Spilotes pullatus</i> . Note o corpo da fêmea distendido no terço caudal (em primeiro plano na fotografia) em razão dos ovos no oviduto.....	98
Figura 88 - Primeira postura durante a estação reprodutiva <i>ex situ</i> de uma fêmea <i>Spilotes pullatus</i> no hemisfério norte.....	99
Figura 89 - Segunda postura durante a estação reprodutiva <i>ex situ</i> de uma fêmea <i>Spilotes pullatus</i> no hemisfério norte.....	99

Figura 90 -	Incubação de ovos de duas ninhadas da mesma fêmea de <i>Spilotes pullatus</i>	99
Figura 91 -	Eclosão de ovos de <i>Spilotes</i>	99
Figura 92 -	Filhote de <i>Spilotes pullatus</i> saindo do ovo.....	99
Figura 93 -	Filhotes de <i>Spilotes pullatus</i> recém nascidos em cativeiro no hemisfério norte.....	99
Figura 94 -	Distribuição ao longo do ano de <i>Spilotes pullatus</i> capturadas na região sudeste do Brasil, mostrando a atividade padrão da espécie.....	100
Figura 95 -	Proporção de machos de <i>Spilotes pullatus</i> com conteúdo alimentar no sistema digestório capturados na região sudeste do Brasil ao longo das estações.....	101
Figura 96 -	Proporção de fêmeas de <i>Spilotes pullatus</i> com conteúdo alimentar no sistema digestório capturados na região sudeste do Brasil ao longo das estações.....	101
Figura 97 -	Esquematização do ciclo reprodutivo de <i>Spilotes pullatus</i> ao longo das estações.....	103

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Relação entre CRC, aspecto do ducto deferente e situação sexual com base em análise histológica de <i>Spilotes pullatus</i> machos.....	70
Quadro 2 -	Ritual de combate e cópula observados <i>In situ</i> em <i>Spilotes pullatus</i>	92
Quadro 3 -	Período de cópula de <i>Spilotes pullatus</i> estimada a partir de análise de fêmeas dissecadas.....	94
Quadro 4 -	Estação de postura, incubação e eclosão dos ovos de <i>Spilotes pullatus</i> capturadas prenhes na região sudeste do Brasil.....	96
Quadro 5 -	Estação de cópula, postura e incubação dos ovos <i>ex situ</i> de <i>Spilotes pullatus</i>	97
Quadro 6 -	Possível classificação de ciclos reprodutivos de serpentes em relação ao estro das fêmeas.....	118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Tamanho do eixo maior do maior folículo secundário/ovo de fêmeas <i>Spilotes pullatus</i> em estado avançado do ciclo.....	85
------------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

abt	abertura da cloaca	dde	ducto deferente esquerdo
bap	bulbo apical	def	ductos eferentes
blt	bulbo lateral	ep	epitélio
bs	bolsa (vagina)	epd	epidídimo
bsld	bolsa direita	eps	epitélio seminífero
bsle	bolsa esquerda	esp	espinhos
CC	comprimento caudal	f¹	folículo primário
ci	célula intersticial de Leydig	f²	folículo secundário
cil	cílio	gld	glândula
clc	cálice	Glm	glomérulo
cm	célula mióide	gsb	glândula submucosa
cmc	camada muscular circular	if	infundíbulo
cml	camada muscular longitudinal	in	intestino
co	cicatriz de ovulação	it	interstício testicular
CRC	comprimento rostro-cloacal	jnb	junção das bolsas
cs	célula de sertoli	L	lúmen
csc	crista do sulco	lbd	lobo dorsal
dct	ducto da glândula	lbv	lobo ventral
dd	ducto deferente	mm	milímetro
ddd	ducto deferente direito	mr	massa renal

mt	massa testicular	ta	tecido adiposo
ov	oviduto	tb	tuba
rm	rim	tcd	túbulo contorcido distal
rmd	rim direito	tcp	túbulo contorcido proximal
rme	rim esquerdo	td	testículo direito
sc	espermátócito	te	testículo esquerdo
sce	sulco espermático	ts	túbulo seminífero
sd	espermátide	ut	útero
sg	espermatogônia	uta	útero aglandular
sptz	espermatozóide	utg	útero glandular
SSD	sexual size dimorphism	vs	vaso sanguíneo
SSR	segmento sexual renal	µm	micrometro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	27
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	32
2.1 MACHOS.....	32
2.2 FÊMEAS.....	34
2.3 CÓPULA.....	36
2.4 PADRÃO DE ATIVIDADE.....	36
2.5 CLASSIFICAÇÃO DO CICLO.....	37
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.1 PADRÃO DE ATIVIDADE.....	40
3.1.1 Atividade alimentar.....	40
3.2 AMOSTRA PARA CICLO REPRODUTIVO.....	41
3.2.1 Dados macroscópicos de ambos os sexos.....	41
3.2.2 Dados macroscópicos dos machos.....	42
3.2.3 Dados macroscópicos das fêmeas.....	44
3.2.4 Coleta de tecidos para análises histológicas.....	45
3.2.5 Dados para análises histológicas.....	48
3.3 ESTAÇÃO DE ACASALAMENTO, COMBATE ENTRE MACHOS E OVIPOSTURA	50
3.4 MATURIDADE SEXUAL.....	51
3.5 FECUNDIDADE.....	51
3.6 ESTAÇÕES ANUAIS.....	51
3.7 MORFOLOGIA DOS HEMIPÊNES.....	52
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	52
3.8.1 Dimorfismo sexual.....	53
3.8.2. Padrão de atividade.....	53
3.8.3. Dados reprodutivos.....	53
4 RESULTADOS.....	56
4.1 SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO.....	56
4.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS TESTÍCULOS.....	58
4.3 ANÁLISE MICROSCÓPICA DOS TESTÍCULOS.....	59

4.4 ANÁLISE MACROSCÓPICA DO DUCTO DEFERENTE.....	63
4.5 ANÁLISE MICROSCÓPICA DO DUCTO DEFERENTE.....	64
4.6 ANÁLISE MACROSCÓPICA DO RIM MASCULINO.....	64
4.7 ANÁLISE MICROSCÓPICA DO RIM MASCULINO.....	65
4.8 ANOMALIA EM ÓRGÃOS REPRODUTIVOS E ACESSÓRIOS.....	67
4.9 MATURIDADE SEXUAL DOS MACHOS.....	69
4.10 MORFOLOGIA DOS HEMIPÊNES.....	71
4.11 SISTEMA REPRODUTOR FEMININO.....	75
4.12 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS OVÁRIOS.....	77
4.13 HIPERTROFIA DAS GLÂNDULAS DA CASCA.....	79
4.14 GLÂNDULAS SUBMUCOSA DA TUBA DO OVIDUTO.....	81
4.15 TÚBULOS DO INFUNDÍBULO.....	81
4.16 ANÁLISE MACROSCÓPICA DO RIM FEMININO.....	82
4.17 ANÁLISE MICROSCÓPICA DO RIM FEMININO.....	83
4.18 MATURIDADE SEXUAL DAS FÊMEAS.....	85
4.19 FECUNDIDADE.....	86
4.20 MORFOLOGIA DAS BOLSAS.....	88
4.21 INTERAÇÕES SOCIAIS.....	91
4.21.1 Ritual de combate e cópula <i>In situ</i>	91
4.21.2 Incubação e eclosão dos ovos <i>In situ</i>	96
4.21.3 Cópula, incubação e eclosão dos ovos <i>ex situ</i>	96
4.22 PADRÃO DE ATIVIDADE.....	100
4.22.1 Padrão de atividade alimentar	100
4.23 DIMORFISMO SEXUAL.....	102
4.24 CICLO REPRODUTIVO.....	103
5 DISCUSSÃO	105
6 CONCLUSÃO	124
REFERÊNCIAS	126

“No Início, Eurínome, a Deusa de Todas as coisas, ergueu-se nua do Caos, mas, não encontrando nenhum lugar firme onde pudesse descansar os pés, separou o mar do céu. Assim, começou a saltar e dançar por sobre as ondas que criara até que encontrou do lado norte do mundo, um vento forte.

Eurínome gostou do vento. Achou o seu frescor agradável e decidiu começar por ele a obra da criação. Apanhou, então, o fluído companheiro e, com as mãos enérgicas esfregou-o até que se tornasse sólido. O vento se transformou em uma serpente, Ofião, que se estendeu aos pés de sua criadora. Com frio, Eurínome voltou a dançar para se aquecer cada vez mais frenética. Ao vê-la dançando Ofíon, ficou excitada, enrolou-se naqueles membros divinos com a Intenção de copular com ela para gerar todas as coisas que hoje existem. Eurínome, então, assumiu a forma de uma pomba, sentou-se sobre as águas do mar e pôs um ovo, o Ovo Universal, e permaneceu chocando-o por cima das ondas durante algum tempo. Ao seu comando, Ofíon enrolou-se sete vezes em torno desse ovo, completando a Incubação. Quando a casca rompeu, para fora se arremessaram todas as coisas que existem, seus filhos: saíram o sol, a lua, os planetas, os outros astros, a Terra, com suas montanhas e rios, suas árvores e plantas e todas as criaturas vivas.”

(Mito grego da criação Pelasgo)

Introdução

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Spilotes* (Wagler, 1830) pertence à família Colubridae e é composto de apenas uma espécie, *Spilotes pullatus*, que no Brasil é conhecida popularmente por caninana (SAVAGE, 2002), nome que em tupi significa “que tem a cabeça pequena” e que bem caracteriza o tamanho minúsculo da cabeça do animal em relação à espessura do pescoço, quando intumescido (AMARAL, 1929) (Figura 1).

Figura 1 - Caninana (*Spilotes pullatus*)

Foto: Diego Muniz, 2012

Essa serpente possui ampla distribuição geográfica, habita áreas da América Central e América do Sul, podendo ser encontrada desde Tamaulipas, no México, até o Paraguai, ocorrendo também no extremo nordeste da Argentina (SAVAGE, 2002) (Figura 2).

Figura 2 - Distribuição geográfica de *Spilotes pullatus*. A mancha vermelha no mapa indica os locais de ocorrência da espécie no globo

Foto: Diego Muniz, 2011 (criada com imagem do Google Earth, adaptado com dados de literatura)

São reconhecidas cinco subespécies, dessas, três ocorrem no Brasil: *Spilotes pullatus pullatus* (Linnaeus, 1758), *Spilotes pullatus anomalepis* (Bocourt, 1888) e *Spilotes pullatus maculatus* (Amaral, 1929) (PETERS; OREJAS-MIRANDA, 1970).

A caninana é um dos maiores colubrídeos encontrados na América do Sul, podendo atingir mais de 240 centímetros (cm) de comprimento. A coloração é predominantemente negra na cabeça e no dorso, com faixas e manchas amarelas. Já o ventre, é amarelado com manchas pretas. (AMARAL, 1929; BOOS, 2001; PONTES; ROCHA, 2008). A cabeça é pouco distinta do pescoço, exceto quando o pescoço encontra-se inflado (AMARAL, 1929). Seus olhos são relativamente grandes, negros e com pupilas redondas. A dentição é áglifa. A escama cloacal é inteira ou dividida e as subcaudais são duplas (PONTES; ROCHA, 2008).

Essa serpente possui hábitos diurno, terrestre e arbóreo (VANZOLINI et al., 1980; SAZINA; HADDAD, 1992; MARQUES, 1998; BOOS, 2001; MARQUES; SAZIMA, 2004; PONTES; ROCHA 2008).

É um colubrídeo que caça sua presa de forma ativa em abrigos ou ninhos, tanto no chão como em copas de árvores, e em períodos de repouso utiliza apenas o substrato arbóreo (MARQUES, 1998). Em relação à presa, a dieta é bem variada, alimentam-se de ovos, aves, roedores e morcegos (MARTINS; OLIVEIRA, 1998; BOOS, 2001), sendo as presas

basicamente endotérmicas, diferente da maioria das espécies neotropicais da subfamília Colubrinae, que geralmente se alimentam de anfíbios anuros e/ou lagartos (MARTINS; OLIVEIRA, 1998) (Figura 3). A presa é contida por constrição ou pressionada contra um objeto para segura-lá no lugar, depois é engolida rapidamente, muitas vezes, ainda viva (BACON, 1978).

Figura 3 - Três roedores compondo o conteúdo estomacal de um exemplar preservado no Museu Nacional do Rio de Janeiro

Foto: Diego Muniz, 2011

Quando se sente ameaçada a caninana infla o pescoço e vibra a cauda e, quando capturada, pode morder (PONTES; ROCHA, 2008). De todas as serpentes neotropicais, a representante desse gênero é a que se mostra com maior capacidade de expansão do pescoço. Essa capacidade de inflar o pescoço se deve a grande extensão e elasticidade da membrana que liga as extremidades dos anéis traqueais, que quando recebem o ar vindo dos pulmões sob pressão na glote fechada, é distendida, e junto com ela os tecidos periféricos e tegumentos do pescoço resultando no aspecto característico da caninana quando se encontra ameaçada (AMARAL, 1929) (Figura 4).

Figura 4 - Caninana com região do pescoço inflada. Comportamento típico mostrado em uma situação de ameaça

Foto: Daniel Velho, 2007

A *Spilotes pullatus* é uma serpente que pelo grande porte, beleza e peculiaridades, desperta atenção de muitos admiradores de répteis, possui ampla distribuição geográfica, e ainda assim, não se tem dado muita atenção a todo o processo reprodutivo dessa espécie.

O conhecimento das estratégias reprodutivas de uma espécie é o passo inicial para o melhoramento genético que está intimamente ligado a economia, tanto de espécies de importância pecuária como de animais de companhia, sejam esses domésticos ou exóticos. O conhecimento da fisiologia reprodutiva é ainda, a informação básica para a preservação de uma espécie de baixa densidade populacional bem como para o controle populacional de espécies de alta densidade, tanto em seu habitat como em populações de cativeiros, seja em zoológicos, criadouros conservacionistas ou comerciais.

A caninana por ser uma serpente de grande porte e possuir colorações vivas, com um fascinante contraste entre as cores amarela e preta, é comumente encontrada como animal de estimação. A maioria dos répteis que abastecem esse comércio são de duas origens: o tráfico de animais silvestres e de criatórios sem nenhum acompanhamento e conhecimento reprodutivo, visto que é virtualmente desconhecido o ciclo reprodutivo dessa espécie.

O conhecimento e a caracterização da biologia reprodutiva dessa espécie, com análises histológicas e morfológicas do sistema reprodutor de machos e fêmeas, em diferentes épocas do ano, junto com dados de literatura, e dados de animais mantidos em cativeiro, permitiram a compreensão do ciclo reprodutivo anual, e comportamentos reprodutivos de machos e fêmeas de caninanas, alcançando o objetivo de elucidar os principais eventos reprodutivos da espécie *Spilotes pullatus*.

“A serpente era o animal mais esperto que o SENHOR Deus havia feito. Ela perguntou à mulher: É verdade que Deus mandou que vocês não comessem as frutas de nenhuma árvore do jardim?”

A mulher respondeu: Podemos comer as frutas de qualquer árvore, menos a fruta da árvore que fica no meio do jardim. Deus nos disse que não devemos comer dessa fruta, nem tocar nela. Se fizermos isso, morreremos.

Mas a cobra afirmou: Vocês não morrerão coisa nenhuma! Deus disse isso porque sabe que, quando vocês comerem a fruta dessa árvore, os seus olhos se abrirão, e vocês serão como Deus, conhecendo o bem e o mal.

A mulher viu que a árvore era bonita e que as suas frutas eram boas de se comer. E ela pensou como seria bom ter entendimento. Aí apanhou uma fruta e comeu; e deu ao seu marido, e ele também comeu.

Nesse momento os olhos dos dois se abriram, e eles perceberam que estavam nus. Então costuraram umas folhas de figueira para usar como tangas.

Naquele dia, quando soprava o vento suave da tarde, o homem e a sua mulher ouviram a voz do SENHOR Deus, que estava passeando pelo jardim. Então se esconderam dele, no meio das árvores.

Mas o SENHOR Deus chamou o homem e perguntou: Onde é que você está?

O homem respondeu: Eu ouvi a tua voz, quando estavas passeando pelo jardim, e fiquei com medo porque estava nu. Por isso me escondi.

Aí Deus perguntou: E quem foi que lhe disse que você estava nu? Por acaso você comeu a fruta da árvore que eu o proibi de comer?”

(Gênesis 3)

Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MACHOS

O sistema reprodutor masculino dos Squamata é formado por um par de testículos, que estão alojados na cavidade celomática, o direito encontra-se cranial ao esquerdo dentro da cavidade. Cada testículo é formado por túbulos seminíferos, células intersticiais e vasos sanguíneos, que estão envoltos por uma bainha de tecido conjuntivo (DeNARDO, 2006). Os túbulos seminíferos se ligam a rede testis, que transporta os espermatozóides para os ductos eferentes, que por sua vez, se liga ao epidídimo, este, dá vazão para o ducto deferente, que por fim, se conecta com a cloaca (TRAUTH; SEVER, 2011). As serpentes possuem um par de órgãos copulatório chamados de hemipênis. Esses órgãos são bolsas membranosas, tubulares, que se localizam na base da cauda e se comunicam com cloaca (DOWLING; SAVAGE, 1960).

Em serpentes, o período do ciclo reprodutivo masculino é normalmente refletido pelo aumento do tamanho testicular, devido à atividade espermatogênica na fase ativa dos testículos (SCHUETT et al., 2002; KROHMER et al., 2004). Poucos estudos, com espécies de serpentes tropicais, têm avaliado o ciclo reprodutivo masculino por meio de estudos histológicos, e para um conhecimento adequado do ciclo dos machos, é necessária uma série de investigações do sistema urogenital, com análise histológica dos testículos sendo primordial (MATHIES, 2011).

Durante a estação de acasalamento observa-se nos rins a hipertrofia do segmento sexual renal (SSR) (ALDRIDGE et al., 2009), uma porção especializada do néfron, localizada na região terminal ou pré-terminal (túbulo contorcido distal) e presente em todos os machos de Squamata (FOX, 1977) (Figura 5). Embora essa estrutura esteja presente nos machos, ela já foi encontrada desenvolvida em fêmeas, em pelo menos uma espécie (*ScIncella laterale*) (SEVER; HOPKINS, 2005). Sabe-se que essa porção do néfron é andrógeno dependente com desenvolvimento ontogenético (KROHMER et al., 2004) e com hipertrofia sazonal (FOX, 1977). Apesar da presença dessa estrutura nos rins de todos os Squamata, a função do segmento sexual renal permanece ainda desconhecida (ALDRIDGE et al., 2011).

Figura 5 - Néfron de macho de serpente

Fonte: Sever et al. (2002). Como descrito originalmente por Gampert (1866), copiado por Regaud e Policard (1903) e redesenhado por T. J. Ryan. Terminologia segue Bishop (1959)

Os ductos deferentes dos Squamata é o local onde ocorre a estocagem de esperma nos machos (SHINE, 1977a; SAINT-GIRONS, 1982; CLESSON et al., 2002; ALMEIDA-SANTOS et al., 2004), e em viperídeos, tem se demonstrado também, uma atividade secretora do ducto deferente (SIEGEL et al., 2009). Uma pesquisa recente sugere que também ocorra uma atividade secretora por parte dos ductos dos colubrídeos (TRAUTH; SEVER, 2011). Outros estudos, realizados com o sêmen coletado dos ductos deferentes, revelam a existência de atividade de peptidases com variações sazonais, sugerindo que as ações modulatórias dessas peptidases, nos peptídeos susceptíveis, são integradas aos eventos do ciclo reprodutivo do macho, e também na viabilidade dos espermatozóides (MARINHO et al., 2008; MARINHO et al., 2009). O ducto deferente é uma estrutura com funções bem além do transporte de espermatozóides e, no entanto, é um componente do sistema reprodutor masculino pouco avaliado histologicamente em pesquisas de biologia reprodutiva.

Em algumas espécies de serpentes, os machos, além de apresentarem mudanças histológicas durante a época reprodutiva, apresentam também peculiaridades

comportamentais nesse período, é o caso do ritual de combate entre machos. O ritual de combate envolve uma interação entre dois machos, que aparentemente é uma competição por dominância (CARPENTER, 1977). Em geral o ritual consiste em contato corporal entre os machos, eles exercem pressão, empurrando ou entrelaçando, com o objetivo de empurrar a cabeça do oponente para baixo, o que parece ser tentativas de dominar o adversário fisicamente (CARPENTER, 1977). Colubrídeos, durante os rituais de combate, tendem a assumir uma postura horizontal com as regiões do tronco e da cauda entrelaçadas, com alguma elevação oblíqua ou pouco vertical da cabeça e pescoço (CARPENTER, 1977). O combate, quando observado, normalmente ocorre na época de acasalamento da espécie. Durante a batalha, experiência agonística e tamanho do corpo do macho são fatores importantes para a dominância e o sucesso no acasalamento. (SCHUETT, 1997).

A corte e o acasalamento é um comportamento envolvendo ações realizadas pelo macho e pela fêmea. O macho é que executa a maioria das ações. Ele alinha-se a fêmea colocando a cloaca junto à dela. Em colubrídeos observa-se o macho em monta dorsal na fêmea com alinhamento paralelo (Figura 6). O macho realiza algumas ondulações tateando com o queixo o dorso da fêmea (CARPENTER, 1977).

Figura 6 - Corte e cópula de colubrídeo. Macho em monta dorsal tateando o dorso da fêmea com a parte ventral do queixo e com a cloaca junto à da fêmea

Desenho: Diego Muniz, 2011. Baseado na ilustração de CARPENTER, 1977

2.2 FÊMEAS

O sistema reprodutivo feminino é formado por dois ovidutos pareados, sendo o oviduto direito mais longo do que o esquerdo (PERKINS; PALMER, 1996). Os ovidutos podem ser divididos em várias regiões por meio da função e estrutura dessas regiões

(GIRLING, 2002). A terminologia utilizada é ampla, e basicamente essas regiões podem ser denominadas de: infundíbulo, tuba, istmo, útero e vagina ou bolsa (URIBE et al., 1998; GIRLING, 2002; SIEGEL et al., 2011a; b). O útero pode ainda ser dividido em duas porções, a porção glandular, onde estão presentes as glândulas endometriais, e a porção aglandular, região caudal do oviduto, onde não se encontram glândulas. A tuba pode ser caracterizada como infundíbulo (SIEGEL et al., 2011a).

Os ovidutos funcionam como um canal para os ovos, entre a ovulação e a ovipostura, é o local onde ocorre a fecundação, formação da casca dos ovos, e em algumas espécies, local de estocagem de esperma (GIRLING, 2002). A região do oviduto médio (útero glandular) é a responsável pela formação da casca do ovo, que é formada, em parte, por fibras protéicas secretadas por essas glândulas (PALMER et al., 1993). Essas glândulas se desenvolvem durante o período de crescimento folicular e vitelogênese, antes da ovulação (GIRLING, 2002).

O ciclo reprodutivo das fêmeas é composto de vários eventos que muitas das vezes ocorrem em períodos distintos. Os principais eventos são a vitelogênese, o estro, a ovulação e a oviposição.

A vitelogênese é o nome que se dá à transformação dos oócitos em folículos, nos répteis. A vitelogênese pode ser classificada, de acordo com a fase, em primária, a fase de quiescência folicular, onde o crescimento dos folículos é lento, ou em secundária, onde há um rápido desenvolvimento folicular, devido ao depósito de vitelo nos folículos (ALDRIDGE, 1979). Em algumas espécies a cópula parece ser um estímulo para que a vitelogênese se inicie, os folículos primários comecem a receber o vitelo para se transformarem em secundário (BLANCHARD; BLANCHARD, 1941; BONA-GALLO; LICHT, 1983). Esse vitelo depositado nos folículos durante a vitelogênese é o que garante o desenvolvimento do embrião, e esse depósito de vitelo (vitelogênese secundária) pode ocorrer em apenas um período restrito do ano ou ao longo de todo o ano (PIZZATTO et al., 2007).

A maioria, senão todos os colubrídeos de regiões temperadas produzem apenas uma ninhada por ano e alguns podem ter um intervalo de um ano, ou até mais, entre os ciclos reprodutivos (ALDRIDGE et al., 2009). A vitelogênese na maioria das serpentes da mata atlântica, da região sudeste do Brasil, é restrita a estação das chuvas. Na região sudeste do Brasil existe espécies com ocorrência de reprodução sazonal assim como serpentes com reprodução contínua (MARQUES, 1998).

A fecundidade das serpentes é analisada através da massa, comprimento ou idade das fêmeas, relacionando o tamanho da ninhada, o tamanho dos filhotes, ou massa relativa da

ninhada (SEIGEL; FORD, 1987). A fecundidade de uma espécie pode ser avaliada por meio de estudos de campo, observações em cativeiro, ou por dissecações das fêmeas preservadas em coleções científicas (PIZZATTO et al., 2007). A fecundidade pode variar de acordo com os hábitos e modos reprodutivos das espécies. Em espécies arborícolas a fecundidade parece ser menor do que em espécies terrestres, e a fecundidade em espécies vivíparas parece ser maior do que a de espécies ovíparas (MARQUES, 1998).

2.3 CÓPULA

Serpentes são animais que vivem solitários, e durante a época de acasalamento os machos localizam as fêmeas, que se encontram dispersas pelo ambiente (PIZZATTO et al., 2007), através de trilhas de feromônios deixadas por elas (GUILLINGHAM, 1987). A estação de acasalamento representa o período em que as fêmeas normalmente estão em estro. (ALDRIDGE et al., 2009). O papel dos hormônios ovarianos no controle do comportamento sexual pode ser diferente em fêmeas de espécies em que o acasalamento ocorre quando os folículos estão vitelogênicos, das de fêmeas em que a cópula ocorre quando os folículos estão pré-vitelogênicos (MENDONÇA; CREWS, 2001). O controle do estro, nas diferentes estações do ano, não tem sido pesquisado (ALDRIDGE, et al., 2009).

Em algumas espécies o período de acasalamento pode ser influenciado pela temperatura. O período de cópula, da primavera, em *Thamnophis sirtalis parietalis* é controlado pela temperatura. Ao expor os animais em uma temperatura baixa, de aproximadamente 5°C, por pelo menos quatro meses, e em seguida transferir para uma temperatura de 25°C, os animais, ambos machos e fêmeas, apresentam comportamentos reprodutivos (acasalamento) (ALEKSIUK; GREGORY, 1974).

2.4 PADRÃO DE ATIVIDADE

Atividades como combate, corte, cópula e outras atividades (*e. g.*, a caça), em algumas espécies, são mais freqüentes em determinados meses. Segundo Marques et al. (2001) a

atividade das serpentes no decorrer do dia é o principal fator que provoca diferença na abundância de coleta desses animais ao longo do ano (MARQUES et al., 2001).

O padrão de atividade de serpentes que habitam áreas temperadas é intimamente influenciado pelas variações climáticas, sendo a temperatura o principal fator (GREGORY, 1984). Em regiões tropicais a temperatura tem uma ligação menor com a atividade das serpentes quando comparadas às serpentes de áreas temperadas. Nesses animais de regiões tropicais a umidade, que é concentrada em certos períodos do ano, juntamente com a disponibilidade de alimentos e a época de reprodução, influencia a atividade desses répteis (MARQUES et al., 2001).

É comum picos de atividade no final da estação úmida e início da estação seca em serpentes do cerrado, esse pico pode estar relacionado à época em que ocorre o acasalamento (OLIVEIRA, 2001). A reprodução em *Sibynomorphus mikanii* e *S. neuwiedii* é o fator principal que influencia o pico de atividade das serpentes dessas espécies (ROJAS, 2009).

A caninana possui padrões de atividade menores nos períodos de poucas chuvas e menor temperatura, sendo mais frequentemente avistada na estação das chuvas (MARQUES et al., 2001).

2.5 CLASSIFICAÇÃO DO CICLO

A reprodução dos répteis em geral é influenciada tanto por fatores endógenos como por fatores exógenos (FITCH, 1982). As espécies de serpentes neotropicais possuem uma enorme variedade de estratégias reprodutivas (SEIGEL; FORD, 1987). Para facilitar o entendimento do ciclo das diferentes espécies, tem se proposto classificar as espécies de acordo com o ciclo reprodutivo. Varias classificações são sugeridas (VOLSØE, 1944; CREWS, 1984; CREWS, 1999; TSAI; TU, 2000). Em uma classificação mais recente, a gametogênese do indivíduo pode ser classificada quanto ao período de ocorrência, em: **cíclica descontínua**, onde existe um período de quiescência reprodutiva, das gônadas ou órgãos acessórios, durante o ano; **cíclica contínua**, não existe um período de quiescência reprodutiva, apenas uma redução da atividade reprodutiva, das gônadas ou órgãos acessórios, em um determinado período do ano, ou; **acíclica**, onde a atividade reprodutiva das gônadas e órgãos reprodutivos é contínua ao longo de todo o ano. De acordo com a ciclicidade da gametogênese dos indivíduos, a população pode ser classificada em: **sazonal**, quando a

gametogênese dos indivíduos de uma população é sincronizada, ou seja, todos os animais produzem gametas durante o mesmo período restrito do ano, ou; **assazonal** onde não existe uma sincronia na produção de gameta da população, cada indivíduo realiza a gametogênese em um período restrito do ano, mas esse período não é o mesmo para todos os indivíduos, ou ainda os animais de gametogênese acíclica, que todos os indivíduos produziram gametas o ano todo (MATHIES, 2011).

Muitas espécies de serpentes possuem o período de cópula (estro) distinto do período da fecundação, sendo assim, fêmeas que estão sem copular com machos em um período até mesmo de meses, podem apresentar-se prenhas. Isso só é possível porque elas armazenam os espermatozoides depositados pelos machos, na época do acasalamento, em regiões específicas do sistema reprodutor até o momento da ovulação, quando então, ocorrerá fecundação (SCHUETT, 1992). Vários machos de serpentes podem também acasalar com as fêmeas e mesmo estando com os testículos inativos (em fase em que não há a formação de gametas) serem capazes de fertilizar sua parceira. Isso ocorre quando o macho possui a fase de atividade testicular (testículos produzindo espermatozoides) em um período distinto a fase de estro das fêmeas (época do ciclo em que as fêmeas estão receptivas aos machos). Nesse caso, os machos produzem seus gametas e estes são armazenados em vias genitais, como por exemplo, os ductos deferentes (CLESSON et al., 2002). Quanto a época em que ocorre a gametogênese Aldridge et al. (2009), propõem a classificação em: **pré-ovulatória**, quando a gametogênese ocorre imediatamente antes do período da ovulação, ou; **pós-ovulatória**, nesse caso, a gametogênese ocorre no período após a ovulação. Esses autores sugeriram essa classificação por concordarem com, Tsai e Tu (2000), que apontam que quando se usa o termo “-nupcial”, como proposto por Volsøe (1944), se faz uma ligação do período da gametogênese com a cópula, e algumas espécies possuem duas épocas de cópula, tornando o termo “-nupcial” complicado. Aldridge et al. (2009), então sugeriram o termo pré- e pós-ovulatório, por ser um termo que não relaciona o período da gametogênese com a cópula, nem com a vitelogênese ou a ovulação, sendo, portanto, um termo mais correto.

“Deus disse a Moisés: Faça uma cobra de metal e pregue num poste. Quem for mordido deverá olhar para ela e assim ficará curado.

Então Moisés fez uma cobra de bronze e pregou num poste. Quando alguém era mordido por uma cobra, olhava para a cobra de bronze e ficava curado.”

(Números 21).

Materiais e Métodos

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PADRÃO DE ATIVIDADE

O padrão de atividade sazonal ao longo do ano foi determinado através do levantamento de dados de entrada de *Spilotes* oriundas da região sudeste do Brasil doadas na recepção de serpentes do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan correspondente a um período de 15 anos (1995-2009). Essas informações foram obtidas dos livros tombos do instituto. Obteve-se uma amostra de 284 indivíduos. O objetivo desse levantamento foi verificar se o padrão de atividade anual, tanto de adultos quanto de espécimes imaturos, mantém alguma relação com a reprodução. Os registros continham informações que permitiu a identificação de indivíduos adultos, 269 exemplares, e imaturos, 15 animais, no entanto a falta de sexagem dos animais impediu a relação entre machos e fêmeas. A essa amostra foram adicionados dados de oito animais imaturos observados nas coleções visitadas, totalizando uma amostra com 292 indivíduos.

Por meio dessas informações foi possível desenvolver um histograma visando mostrar a diferença de atividade dessa espécie ao longo do ano.

3.1.1 Atividade alimentar

Para determinar a influência do forrageio no padrão de atividade da espécie, foram utilizados dados referentes ao conteúdo estomacal e/ou intestinal de uma amostra de 146 indivíduos tombados na coleção do Instituto Butantan. A amostra é formada por 103 *Spilotes* do gênero masculino e 43 do gênero feminino, compondo um total de 146 indivíduos dos quais 42 apresentam conteúdo no sistema digestório.

3.2 AMOSTRA PARA CICLO REPRODUTIVO

A pesquisa foi realizada com base em análises de espécimes fixados e preservados (Figura 7) nas seguintes coleções herpetológicas do Brasil: Museu de História Natural Capão da Imbuia (MHNCI); Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ); Museu de Ciências Naturais da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-MG); Museu de Zoologia João Moojen, Universidade Federal de Viçosa (MZUFV); Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC); Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP); Fundação Nacional Ezequiel Dias (FUNED); Instituto Butantan (IB) e; Laboratório de Anatomia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária do Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO).

Figura 7 - Exemplar de *Spilotes pullatus* de coleção zoológica

Foto: Diego Muniz, 2011

Foram analisados exemplares de *S. pullatus* oriundos da região sudeste independentemente da subespécie, pois de acordo com Savage (2002), a grande variação de coloração individual em *S. pullatus*, torna duvidosa a divisão em raças geográficas nesse táxon.

3.2.1 Dados macroscópicos de ambos os sexos

Medidas de comprimento rostro-cloacal (CRC) e comprimento caudal (CC) foram aferidos em todos os espécimes (ambos machos e fêmeas) utilizando fita métrica com o

auxílio de barbante, o que facilita a medida de animais fixados que tenham grande comprimento rostro-cloacal. Essas medidas são importantes para identificar se há dimorfismo sexual no tamanho dos animais e comprimento da cauda, sendo o CRC também um dado importante para eliminar o crescimento alométrico dos órgãos envolvidos na reprodução.

Após as mensurações exteriores, com uma tesoura cirúrgica foi realizada uma incisão contínua no plano mediano, na região ventral dos animais, para coleta de dados do sistema reprodutor e órgãos relacionados à reprodução. A incisão iniciou-se na antepenúltima escama ventral, com o objetivo de preservar a escama cloacal, e seguiu-se cranialmente até a altura das gônadas. Nesse intervalo de espaço, os órgãos foram desprendidos do peritônio e exteriorizados da cavidade pleuroperitoneal para facilitar as mensurações.

Todas as medidas foram aferidas com um paquímetro digital Digimess com precisão de 0,01 milímetro. As fotografias foram obtidas com uma câmera fotográfica Canon EOS Rebel XS. As fotografias foram editadas com o auxílio do programa de edição de imagens CorelDraw Graphics Suite X5.

3.2.2 Dados macroscópicos dos machos

Os dados registrados para as *Spilotes* do gênero masculino foram:

- 1) Comprimento do eixo maior (a) dos testículos (Figura 8) e dos dois menores eixos (b e c) dos testículos (Figuras 9 e 10 respectivamente). Tais medidas foram utilizadas para calcular o volume total da gônada masculina, que possui um formato elipsoidal, através da fórmula do volume da elipsóide: $\frac{4}{3} \pi \left(\frac{a}{2}\right) \left(\frac{b}{2}\right) \left(\frac{c}{2}\right)$.

Figura 8 - Mensuração do eixo maior (a) do testículo de *Spilotes*

Legenda: Vista ventral. Intestino (in); testículo (te) e; tecido adiposo (ta). Foto: Diego Muniz, 2012

Figura 9 - Mensuração do eixo menor (b) do testículo de *Spilotes*

Legenda: Vista ventral. Intestino (in); testículo (te) e; tecido adiposo (ta). Foto: Diego Muniz, 2012

Figura 10 - Mensuração do eixo menor (c) do testículo de *Spilotes*

Legenda: Vista ventral. Intestino (in); testículo (te) e; tecido adiposo (ta). Foto: Diego Muniz, 2012

Os dados de volume dos testículos foram utilizados para analisar a possível hipertrofia sazonal da gônada.

- 2) Largura da região distal ocupada pelo ducto deferente (Figura 11). Esse dado permitiu analisar se há variação na largura dos ductos ao longo do ano, indicando a época de estocagem de espermatozóides. A relação dessa medida com a maturidade e imaturidade dos machos também foi analisada.

Figura 11 - Região distal do ducto deferente de *Spilotes*

Legenda: Vista ventral. Ducto deferente direito (**ddd**); ducto deferente esquerdo (**dde**); intestino (**in**); tecido adiposo (**ta**) e; seta apontando a região distal do ducto deferente. Foto: Diego Muniz, 2011

- 3) Comprimento total dos rins (Figura 12) e largura da região cranial desses órgãos (Figura 13). Medidas que permitiram analisar o órgão quanto a variações de tamanho ao longo das estações. Variações relacionadas à hipertrofia do segmento sexual renal durante o ciclo reprodutivo (FOX, 1977).

Figura 12 - Comprimento total do rim de *Spilotes*

Legenda: Vista dorsal. Rim direito (**rmd**) e; rim esquerdo (**rme**). Foto: Diego Muniz, 2011

Figura 13 - Largura da região cranial do rim de *Spilotes*

Legenda: Vista dorsal. Rim direito (**rmd**) e; rim esquerdo (**rme**). Foto: Diego Muniz, 2011

As medidas utilizadas para as análises foram referentes aos tecidos e órgãos do lado direito do animal, embora tomadas medidas de ambos os lados a fim de comparação, minimizando o possível erro de mensuração.

3.2.3 Dados macroscópicos das fêmeas

Para as *Spilotes* do gênero feminino foram registrados os seguintes dados:

- 1) Comprimento do eixo maior do maior folículo ou ovo (Figura 14). O que permitiu analisar o crescimento dos folículos ao longo do ano. Informação necessária para determinar a época do ano em que as fêmeas encontram-se vitelogênicas, com folículos em estágio de vitelogênese secundária (folículos secundários);

Figura 14 - Mensuração do eixo maior do maior folículo de *Spilotes*

Legenda: Vista ventral. Folículo primário (**f¹**); intestino (**in**); oviduto (**ov**) e; tecido adiposo (**ta**). Foto: Diego Muniz, 2011

- 2) Número de folículos em vitelogênese secundária (folículos secundários) e número de ovos no oviduto. Dado utilizado para identificar a época do ano em que o ciclo reprodutivo das fêmeas se completa além de também fornecer dados da fecundidade;
- 3) Aspecto do útero (distendido ou relaxado) (Figuras 15 e 16). Dado importante para identificar fêmeas “pós-postura”;

Figura 15 - Fêmea de *Spilotes* com a musculatura uterina distendida, “pós-postura”

Legenda: Vista ventral. Intestino (**in**); útero (**ut**); rim (**rm**) e; bolsa direita (**blsd**). Diego Muniz, 2011

Figura 16 - Fêmea de *Spilotes* com a musculatura uterina relaxada

Legenda: Vista ventral. Intestino (**in**); útero (**ut**) e; bolsa direita (**blsd**); bolsa esquerda (**blse**). Diego Muniz, 2011

- 4) Comprimento total dos rins e largura da região cranial dos mesmos. Dado utilizado para comparação com as medidas dos machos. Assim como nos machos, utilizaram-se apenas os dados dos órgãos direitos.

Como nomenclatura anatômica, utilizou a divisão do oviduto em: infundíbulo, tuba, útero (porção glandular e porção aglandular) e bolsa, de acordo com Uribe et al. (1998); Girling (2002) e; Siegel et al. (2011a;b).

3.2.4 Coleta de tecidos para análises histológicas

Após aferidas as mensurações dos órgãos, foram coletadas amostras de aproximadamente um centímetro de comprimento dos órgãos do sistema reprodutor e dos rins para análise histológica. As amostras dos tecidos são coletadas apenas dos órgãos ipsilaterais a fim de preservar o sistema urogenital contralateral e, por conveniência, escolheu-se os órgãos direitos para que se padronizassem as amostras.

Nos machos foram coletadas amostras de tecido do testículo, porção cranial da gônada (Figura 17); ducto deferente, porção mais caudal próximo a cloaca (Figura 18); e rim, porção mais cranial do órgão (Figura 19).

Figura 17 - Região do testículo de *Spilotes* coletada para análise histológica

Legenda: Vista ventral. Intestino (**in**); testículo direito (**ted**); testículo esquerdo (**tee**); tecido adiposo (**ta**) e; área do círculo mostrando a região coletada para análise histológica. Foto: Diego Muniz, 2011

Figura 18 - Região do ducto deferente de *Spilotes* coletada para análise histológica

Legenda: Vista ventral. Ducto deferente direito (**ddd**); ducto deferente esquerdo (**dde**); intestino (**in**) e; área do círculo mostrando a região coletada para análise histológica. Foto: Diego Muniz, 2011

Figura 19 - Região do rim de *Spilotes* coletada para análise histológica

Legenda: Região do rim de *Spilotes* coletada para análise histológica. Vista dorsal. Intestino (**in**); rim direito (**rmd**); rim esquerdo (**rme**) e; área do círculo mostrando a região coletada para análise histológica. Foto: Diego Muniz, 2011

As amostras de tecidos coletados das fêmeas são provenientes do oviduto em cinco alturas distintas: bolsa (vagina), região cranial; útero posterior, região caudal (Figura 20); útero anterior; tuba e; infundíbulo (Figura 21); e em algumas fêmeas também foram coletados

folículos ovarianos. Além desses tecidos, também foi coletado tecido do rim, em sua porção mais cranial, para que se possa comparar com o observado nos machos.

Figura 20 - Região caudal do oviduto de *Spilotes* coletada para análise histológica

Legenda: Vista ventral. Intestino (**in**); útero aglandular (**uta**); bolsa direita (**blsd**); bolsa esquerda (**blse**) e; área dos círculos mostrando as regiões coletadas para análise histológica. Foto: Diego Muniz, 2011

Figura 21 - Região cranial do oviduto de *Spilotes* coletada para análise histológica

Legenda: Vista ventral. Folículo primário (**f¹**); infundíbulo (**if**); intestino (**in**); tecido adiposo (**ta**); útero glandular (**utg**); tuba (**tb**) e; área dos círculos mostrando as regiões coletadas para análise histológica. Foto: Diego Muniz, 2011

Os tecidos foram desidratados em uma solução crescente de etanol: 70% por uma hora; 80% por uma hora; 90% por uma hora; 100% por uma hora; 100% por mais uma hora; e finalizando com 100% novamente por uma hora. Em seguida as amostras foram diafanizadas com xilol por uma hora, após esse tempo o xilol era trocado e o processo continuava por mais uma hora. A inclusão foi realizada com parafina por uma hora, em seguida trocava-se a parafina e as peças foram então mantidas *overnight*. Para finalizar o processo, a parafina era novamente trocada e os tecidos mantidos nesta por mais uma hora antes de serem emblocados em parafina. Os blocos foram trimados e obtiveram-se cortes transversais de quatro a cinco micrômetros de espessura para confecção das lâminas. Os cortes foram corados pelo método de coloração básica, hematoxilina-eosina (H/E) (JUNQUEIRA et al., 1979) para análise morfológica dos tecidos; observação do ciclo espermatogênico nos túbulos seminíferos, nas lâminas de testículo; para discernir a presença de espermatozóides nos ductos deferentes, em lâminas dos ductos; e para identificar a presença do seguimento sexual renal nas lâminas de rins. Nas lâminas de tecido do sistema reprodutor feminino foi analisada a presença de glândulas e espermatozóides.

3.2.5 Dados para análises histológicas

Com o auxílio de um microscópio ocular e o software Image Pro Express, foram obtidas dez medidas por animal, de cada variável, a fim de se obter uma média de cada variável para cada animal. Para as análises estatísticas trabalhou-se com as médias das variáveis.

Para as *Spilotes* do gênero masculino foram registrados as seguintes variáveis considerando-se apenas os animais sexualmente maduros:

1. Diâmetro do túbulo seminífero (Figura 22). Dado utilizado para observação do aumento do túbulo seminífero ao longo das estações;
2. Altura do epitélio seminífero (Figura 22). Para observar a época do ano em que ocorre a espermatogênese;

Figura 22 - Fotomicrografia do testículo de *Spilotes* mostrando as medidas aferidas dos túbulos seminíferos

Legenda: Corte transversal. Diâmetro do túbulo seminífero (a); altura do epitélio seminífero (b); espermatozoides (sptz) e; lúmen (L). Hetatoxilina-eosina, 20x

3. Diâmetro do túbulo contorcido distal, na porção do segmento sexual renal (Figura 23) e;
4. Altura do epitélio da região do segmento sexual renal (Figura 23).

Figura 23 - Fotomicrografia do rim de macho de *Spilotes* mostrando as medidas aferidas do segmento sexual renal

Legenda: Corte transversal. Diâmetro do segmento sexual renal (**a**); altura do epitélio do segmento sexual renal (**b**); segmento sexual renal (**SSR**); túbulo contorcido proximal (**Tcp**) e; glomérulo (**Glm**). Hetatoxilina-eosina, 20x

Para as *Spilotes* do gênero feminino foram registrados as seguintes variáveis:

1. Diâmetro das glândulas da casca encontradas no útero glandular (Figura 24);

Figura 24 - Fotomicrografia do útero glandular (anterior) de *Spilotes* mostrando a medida aferidas da glândula da casca

Legenda: Corte transversal. Diâmetro da glândula da casca (**a**); camada muscular circular (**cmc**); camada muscular longitudinal (**cml**); epitélio (**ep**); glândula (**gld**) e; lúmen (**L**). Hetatoxilina-eosina, 20x

2. Diâmetro do túbulo contorcido distal (Figura 25);
3. Altura do epitélio do túbulo contorcido distal (Figura 25).

Figura 25 - Fotomicrografia do rim de *Spilotes* fêmea mostrando as medidas aferidas do túbulo contorcido distal

Legenda: Corte transversal. Diâmetro do túbulo contorcido distal (**a**); altura do epitélio do túbulo contorcido distal (**b**); túbulo contorcido distal (**Tcd**); túbulo contorcido proximal (**Tcp**) e; glomérulo (**Glm**). Hetatoxilina-eosina, 20x

3.3 ESTAÇÃO DE ACASALAMENTO, COMBATE ENTRE MACHOS E OVIPOSTURA

Dados da época de cópula, combate entre machos e ovipostura foram obtidos da literatura, observações *In situ* e de indivíduos em cativeiro que tenham sido recentemente capturados. Só foram incluídas nos dados as observações em que se registraram o local exato e data exata da cópula, combate ou ovipostura. Além desses dados, a presença de espermatozóides na bolsa será também um dado considerável para época de cópula, bem como ovidutos flácidos para ovipostura.

A fim de comparação, dados reprodutivos de animais *ex situ* foram obtidos de criadores de répteis, e analisados separadamente dos dados dos animais *In situ*.

3.4 MATURIDADE SEXUAL

Fêmeas foram consideradas maduras quando apresentavam ovos nos ovidutos e/ou; folículos secundários e/ou corpo albicans nos ovários e/ou; oviduto flácido (“pos-postura”) e/ou; presença de espermatozóides no oviduto e/ou na bolsa (vagina). O tamanho mínimo de folículos em vitelogênese secundária observado foi de 10 mm (*cf.* SHINE, 1978), esse tamanho foi estabelecido a partir da análise da distribuição por mês dos tamanhos do eixo maior do maior folículo de cada fêmea. O comprimento com o qual as fêmeas atingem a maturidade sexual foi estimado a partir do CRC da menor fêmeas madura.

Foi determinante para a condição de macho sexualmente maduro, a presença de espermátides e/ou espermatozóides nos testículos e/ou presença de espermatozóides nos ductos deferentes. O comprimento com o qual os machos atingem a maturidade sexual foi estimado a partir da análise do CRC do menor macho em primeiro ciclo espermatogênico.

3.5 FECUNDIDADE

A fecundidade foi estimada com base no número de ovos nos ovidutos ou número de folículos pré-ovulatórios nos ovários.

3.6 ESTAÇÕES

Considerou-se o ano dividido em estações. O verão correspondendo os dias entre 22 de dezembro a 19 de março; o outono abrangendo os dias entre 20 de março a 19 de junho; o inverno incluindo os dias entre 20 de junho a 21 de setembro; e a primavera, os dias entre 22 de setembro a 21 de dezembro (de acordo com o Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – CEPETEC/INPE).

O ano foi também dividido em duas grandes estações. A estação das chuvas, que na região sudeste concentra-se entre os meses de outubro a março, período em que ocorre mais

de 80% do total anual de chuvas. E a estação da seca nos meses entre abril a setembro, nesse período o trimestre mais seco ocorre nos meses de junho-julho-agosto (ALVES et al., 2002).

3.7 MORFOLOGIA DOS HEMIPÊNES

Para a descrição anatômica dos hemipênes foram utilizados quatro órgãos copulatórios de animais fixados. O método utilizado para inverter os hemipênes seguiu Hussam (1999). Um dos hemipênes foi retirado da base da cauda através de uma incisão ventral no plano mediano. O órgão foi submerso em uma solução de KOH a 3% até apresentar-se clareado e flexível (aproximadamente quatro dias). O órgão então foi invertido manualmente utilizando-se um par de pinças. Depois de invertido o órgão foi preenchido com uma solução de agar-agar.

A terminologia utilizada foi proposta por Dowling e Savage (1960) e Keogh (1999).

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Antes das análises estatísticas todas as amostras foram testadas quanto à distribuição dos dados pelos testes de normalidade Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors, e Shapiro-Wilk. Para verificar a homogeneidade entre as variâncias os dados foram submetidos ao teste de Levene. As amostras que apresentaram normalidade nos três testes e homogeneidade entre as variâncias foram então analisadas estatisticamente.

O nível de significância para todos os testes foi fixado em α igual a cinco por cento (0,05).

As análises estatísticas foram feitas com auxílio dos softwares Statistica 8 (STATSOFT, 2009) e BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007). Os gráficos foram elaborados nos softwares Microsoft Office Excel 2007 e Statistica 8 (STATSOFT, 2009) e editados no CorelDraw Graphics Suite X5.

3.8.1 Dimorfismo sexual

Para avaliar a diferença em termos de dimorfismo sexual de tamanho, utilizaram-se os dados de CRC e CC, nos quais foi realizada análise de variância (ANOVA) um critério. Afim de comparação com o resultado da análise estatística, também foi calculado o Índice de Dimorfismo Sexual de tamanho corporal (SSD - “sexual size dimorphism”) utilizando-se a fórmula proposta por Gibbons e Lovich (1990) e adaptada para serpentes por Shine (1994): $SSD = 1 - (\text{média do CRC dos adultos do sexo de maior tamanho}) \div (\text{média do CRC dos adultos do sexo de menor tamanho})$, sendo, por convenção, resultados negativos representando machos maiores que fêmeas e valores positivos, fêmeas maiores que machos.

3.8.2. Padrão de atividade

Os dados de padrão de atividade foram analisados utilizando o teste Qui-quadrado. Já os dados referentes ao padrão de atividade alimentar dos animais (forrageio) foram analisados pelo teste Qui-quadrado de Tendência.

3.8.3. Dados reprodutivos

Todos os dados referentes aos órgãos e tecidos das serpentes foram submetidos a teste de Correlação de Pearson com os dados de CRC, a fim de identificar correlação das medidas desses órgãos e tecidos com o tamanho do animal.

Os dados macroscópicos: valores de volume testicular, largura da região distal do ducto deferente, comprimento do rim e largura da região cranial do rim (em ambos os sexos), apresentaram correlação com o CRC ($p < 0,05$). Já dos dados microscópicos apenas os valores de diâmetro da região do segmento sexual renal e altura do epitélio do segmento sexual renal apresentaram correlação com o CRC ($p < 0,05$).

Com base nesses resultados, essas amostras foram testadas estatisticamente por análises de covariância (ANCOVA), tendo como covariável o CRC. Os gráficos para essas

amostras foram elaborados a partir dos resíduos da regressão linear entre cada uma das variáveis e o CRC, com isso evitou-se o efeito do tamanho do corpo na análise de variação dessas medidas ao longo das estações.

A amostra de volume testicular apresentou-se normal no teste Kolmogorov-Smirnov ($p > 20$), porém, anormal nos testes Lilliefors ($p < 0,5$) e Shapiro-Wilk ($W=0,79313$; $p=0,00008$). Essa mesma amostra mostrou variâncias não homogêneas no teste de Levene ($F=3,404395$ e $p=0,033887$). A amostra de comprimento do rim dos machos também mostrou variâncias não homogêneas pelo teste de Levene ($F=3,761354$; $p=0,023438$). Por esse motivo, nessas duas amostras foi feita a transformação dos dados utilizando-se a transformação Box-cox.

As demais amostras, por não apresentarem correlação com o CRC, foram testadas por análise de variância (ANOVA) um critério. Sendo submetidas *a posteriori* ao teste de *post hoc* Tukey em casos de significância estatística.

Os dados referentes aos folículos e ovos das fêmeas não apresentam normalidade na amostra em virtude da grande variação do tamanho dos folículos, por esse motivo para esses dados utilizou-se o teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

Os dados de fecundidade (relações entre CRC e número e comprimento de ovos) foram analisados por meio de regressão linear simples com os dados brutos bem como transformados através de Box-cox.

“As górgonas se chamavam Esteno, Euríale, e Medusa, e houve um tempo em que eram belas. Mas, uma noite, Medusa deitou-se com Poseidon, e Atenas, enfurecida porque haviam copulado num de seus templos, converteu-a num mostro alado com olhos brilhantes, dentes enormes, uma língua protuberante, garras afiadas e cabelos transformados em serpentes. E foi amaldiçoada a petrificar o homem que a contemplasse. Quando finalmente Medusa foi decapitada por Perseu e de seu cadáver saíram os filhos de Poseidon, Crisaor e Pégaso, Atena cravou a cabeça da morta em sua égide, embora alguns digam que a égide era a própria pele da Medusa, esfolada por Atena.”

(Mito grego sobre os filhos do deus do mar, Poseidon)

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO

Os machos de *Spilotes pullatus* possuem dois testículos contralaterais. O testículo direito é cranial ao esquerdo. Cada testículo é ligado a um epidídimo que pode ser visto macroscopicamente na borda medial da gônada (Figura 26) e microscopicamente por fora da camada muscular que envolve o testículo (Figura 27). Cada epidídimo dá origem a um ducto deferente que liga o testículo a região cloacal fazendo um trajeto ipsilateral a gônada. Os ductos deferentes possuem um aspecto sinuoso ou convoluto em todo o trajeto.

Os rins são órgãos relacionados à reprodução. São órgãos pares, e cada um é formado por vários lobos. O rim direito é maior e cranial ao esquerdo. Cada rim é ligado à região cloacal por um ureter ipsilateral que se abre na papila urinária.

Os machos de caninana possui um par de órgãos copulatórios, os hemipênes.

O sistema reprodutor masculino pode ser observado, completo, na Figura 28.

Figura 26 - Testículo de *Spilotes pullatus* com epidídimo evidenciado

Figura 27 - Ductos eferentes e epidídimo de *Spilotes pullatus* (à direita)

Legenda: Corte transversal. Epidídimo (epd); ductos eferentes (def); túbulos seminíferos (ts) e; vaso sanguíneo (vs). Hematoxilina-eosina

Figura 28 - Sistema reprodutor masculino de *Spilotes pullatus*

Foto: Diego Muniz, 2012 e; desenho: Victor Czank, 2012

4.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS TESTÍCULOS

O testículo de *Spilotes pullatus* apresenta um aumento significativo em seu volume durante o verão ($F= 3,593$, $p= 0,028$). Esse aumento se dá principalmente entre a transição da estação chuvosa para a seca, final do verão e início do outono. A variação sazonal no volume testicular de *Spilotes* ocorre em função da fisiologia do órgão, sem influência do crescimento alométrico, é possível observar que o maior animal não apresenta o maior volume testicular bem como o menor macho não apresenta o menor volume deste órgão (Figura 29).

Figura 29 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos de volume testicular de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior macho (○); menor macho (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valor máximo e mínimo). $n= 27$

4.3 ANÁLISE MICROSCÓPICA DOS TESTÍCULOS

As análises histológicas mostram que não há diferença significativa no diâmetro dos túbulos seminíferos ao longo das estações ($F= 1,644$; $p= 0,212$) (Figura 30).

Figura 30 - Distribuição ao longo dos anos dos valores de diâmetro do túbulo seminífero de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior macho (○); menor macho (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valor máximo e mínimo). $n= 23$

Embora o diâmetro do túbulo seminífero não varie sazonalmente, a espessura média do epitélio seminífero difere significativamente entre as quatro estações, ($F= 6,272$; $p= 0,004$). Comparações *a posteriori* entre pares de médias, realizadas recorrendo ao teste de *post hoc* Tukey, revelaram que no outono o epitélio seminífero é mais espesso do que no inverno ($p= 0,016$) e na primavera ($p= 0,015$), mas não mais espesso do que no verão ($p= 0,834$) (Figura 31).

Figura 31 - Distribuição ao longo dos anos dos valores da espessura do epitélio seminífero de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior macho (○), menor macho (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valor máximo e mínimo). n= 22

Associado ao começo do verão inicia-se a espermatogênese nas *Spilotes pullatus* que habitam a região sudeste do Brasil, é durante essa estação que se inicia a divisão das células germinativas, no final dessa estação, pode-se observar um epitélio já bastante espesso com um grande número de células germinativas (Figura 32). Por esse motivo, durante essa estação a espessura do epitélio não apresenta diferença significativa em relação ao outono, época do ano onde ocorre além da divisão das células germinativas, a espermiogênese (Figura 33 e 34).

Figura 32 - Túbulo seminífero de *Spilotes pullatus* durante o final do verão, apresentando o epitélio bem espesso com numerosas espermatogônias próximo a lâmina basal

Legenda: Corte transversal. Epitélio seminífero (eps); interstício testicular (it); lúmen (L) e; vaso sanguíneo (vs). Hematoxilina-eosina

Figura 33 - Túbulo seminífero de *Spilotes pullatus* no início do outono, apresentando o epitélio bem espesso

Legenda: Corte transversal. Epitélio seminífero (eps); interstício testicular (it) e; lúmen (L). Hematoxilina-eosina

Figura 34 - Túbulo seminífero de *Spilotes pullatus* no início do outono, apresentando o epitélio bem espesso e com espermatídes em fase de diferenciação

Legenda: Corte transversal. Célula intersticial de Leydig (ci); célula mióide (cm); célula de sertoli (cs); lúmen (L); espermatócito (sc); espermatíde (sd); espermatogônia (sg) e; espermatozóide (sptz). Hematoxilina-eosina

O outono é a estação do ano onde os testículos começam a liberar os espermatozóides no lúmen dos túbulos seminíferos. Durante essa estação observa-se um grande número de espermatozóides nos testículos e ao final dessa estação finaliza-se a espermatogênese.

O epitélio seminífero é menos espesso no inverno, os testículos apresentam-se em fase quiescente. O epitélio durante esse período é formado basicamente por espermatogônias (Figura 35), e em alguns indivíduos é possível observar no lúmen dos túbulos seminíferos, os últimos espermatozóides produzidos durante o ciclo testicular (Figura 36).

Figura 35 - Túbulo seminífero de *Spilotes pullatus* durante o inverno, apresentando o epitélio fino basicamente formado por espermatogônias

Legenda: Corte transversal. Epitélio seminífero (**eps**); interstício testicular (**it**); lúmen (**L**); espermatogônia (**sg**) e; vaso sanguíneo (**vs**). Hematoxilina-eosina

Figura 36 - Túbulo seminífero de *Spilotes pullatus* durante o inverno, apresentando o epitélio fino e com alguns espermatozóides no lúmen

Legenda: Corte transversal. Epitélio seminífero (**eps**); interstício testicular (**it**); lúmen (**L**); espermatozóide (**sptz**); espermatogônia (**sg**) e; vaso sanguíneo (**vs**). Hematoxilina-eosina

Não há muita diferença entre a espessura do epitélio germinativo no inverno e na primavera, os testículos ainda apresentam-se inativos, embora no final da primavera já seja possível observar, em alguns indivíduos, um número maior de espermatogônias no epitélio, pois na próxima estação inicia-se a espermatogênese.

4.4 ANÁLISE MACROSCÓPICA DO DUCTO DEFERENTE

A largura da região distal ocupada pelo ducto deferente não possui uma variação sazonal significativa ($F= 1,436$; $p= 0,254$). Tal evento indica a estocagem de espermatozóides nos ductos deferentes durante todo o ano, o que foi comprovado nas análises histológicas dos ductos deferentes (Figura 37).

Figura 37 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos da largura da região caudal do ducto deferente de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior macho (○); menor macho (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valores máximo e mínimo). n= 31

4.5 ANÁLISE MICROSCÓPICA DO DUCTO DEFERENTE

As análises histológicas da região caudal ocupada pelo ducto deferente mostram estocagem de espermatozóides, em *Spilotes* da região sudeste do Brasil, durante todo o ano.

4.6 ANÁLISE MACROSCÓPICA DO RIM MASCULINO

Não foram observadas mudanças macroscópicas em relação ao tamanho dos rins de *Spilotes pullatus*. Tanto o comprimento renal ($F= 0,194$; $p= 0,898$) como a largura da região cranial ($F= 0,373$; $p= 0,772$) mantêm-se estáveis durante todas as estações (Figuras 38 e 39 respectivamente).

Figura 38 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos do comprimento do rim masculino de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior macho (○); menor macho (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valores máximo e mínimo). $n= 28$

Figura 39 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos da largura cranial do rim de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior macho (○); menor macho (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valores máximo e mínimo). n= 29

4.7 ANÁLISE MICROSCÓPICA DO RIM MASCULINO

As análises histológicas mostram que há diferença significativa no diâmetro do segmento sexual renal de *Spilotes* ao longo das estações ($F= 4,085$; $p= 0,024$). O inverno é a estação onde o diâmetro dessa estrutura encontra-se maior (Figuras 40 e 42), enquanto que o verão é o período do ano em que o diâmetro do segmento sexual renal encontra-se regredido (Figuras 41 e 42). Observando os indivíduos da primavera notamos que nessa estação há uma variação maior entre o diâmetro, sendo essa a estação que apresenta o maior desvio padrão (Figura 42).

Figura 40 - Néfron de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil durante o outono, com segmento sexual renal hipertrofiado

Legenda: Compare o diâmetro do SSR ao diâmetro do túbulo contorcido proximal. Corte transversal. Segmento sexual renal (SSR) e; túbulo contorcido proximal (tcp). Hematoxilina-eosina

Figura 41 - Néfron de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil durante o verão, com segmento sexual renal hipotrofiado

Legenda: Compare o diâmetro do SSR ao diâmetro do túbulo contorcido proximal. Corte transversal. Segmento sexual renal (SSR) e; túbulo contorcido proximal (tcp). Hematoxilina-eosina

Figura 42 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos do diâmetro do segmento sexual renal de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior macho (○); menor macho (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valor máximo e mínimo). n= 22

A espessura do epitélio do segmento sexual renal não apresentou uma diferença significativa entre as estações ($F= 2,484$; $p= 0,100$). Entretanto observa-se uma tendência de aumento da espessura do epitélio durante o outono e o inverno (Figura 43).

Figura 43 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos da espessura do epitélio do segmento sexual renal de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior macho (○); menor macho (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valor máximo e mínimo). $n= 20$

4.8 ANOMALIA EM ÓRGÃOS REPRODUTIVOS E ACESSÓRIOS

Observou-se em alguns espécimes a presença de um dos testículos com uma pequena massa testicular ligada ao órgão (Figura 44). Também havia alguns animais da amostra, em que essa massa não tinha ligação direta com o testículo, havendo um intervalo entre a massa e o testículo. Análise histológica desse tecido mostra que ele é funcional e apresenta o mesmo estágio de produção de gametas dos testículos (Figura 45). Sempre que observada, essa massa se encontrava cranial ao testículo.

Uma massa de tecido renal sem ligação direta com o órgão, também foi observada em alguns animais. Sempre que observada essa massa se encontrava caudal ao rim (Figura 46).

Figura 44 - Testículo de *Spilotes pullatus* apresentando uma massa testicular cranial ao testículo

Legenda: Vista ventral. Intestino (**in**); massa testicular (**mt**) e; testículo esquerdo (**te**). Foto: Diego Muniz, 2011

Figura 45 - Microscopia da massa testicular de *Spilotes pullatus*. Note a presença de espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos

Legenda: Corte transversal. Interstício testicular (**it**); lúmen (**L**) e; túbulo seminífero (**te**). Hematoxilina-eosina

Figura 46 - Rim de *Spilotes pullatus* apresentando uma massa renal caudal ao rim

Legenda: Vista dorsal. Massa renal (**mr**) e; rim (**rm**)

4.9 MATURIDADE SEXUAL DOS MACHOS

O menor macho dos indivíduos analisados histologicamente possui 1.150mm de CRC e não possui espermatozóides no sistema reprodutor, porém apresenta o epitélio germinativo em início de ciclo (Figura 47), indicando ser seu primeiro ciclo espermatogênico. É possível observar machos maiores do que o macho citado acima que já se encontram maduros sexualmente. No entanto, machos consideravelmente maiores, ainda encontram-se imaturos e outros machos também com grande CRC podem estar em uma fase de transição, tornando-se maduros e realizando o primeiro ciclo espermatogênico (Quadro 1).

Figura 47 - Túbulo seminífero de *Spilotes pullatus* com 1.150mm de CRC apresentando um epitélio germinativo em início de atividade

Legenda: Corte transversal. Epitélio seminífero (**eps**); interstício testicular (**it**) e; lúmen (**L**). Hematoxilina-eosina

Quadro 1 - Relação entre CRC, aspecto do ducto deferente e situação sexual com base em análise histológica de *Spilotes pullatus* machos

Ordem Crescente de Tamanho*	CRC (mm)	Aspecto do Duc. Deferente	Situação Sexual	Estação
1°	1150	Convoluta	Maduro ¹	Primavera
2°	1160	Convoluta	Maduro	Verão
3°	1230	Sinuosa	Maduro ¹	Verão
4°	1245	Sinuosa	Imaturo	Primavera
5°	1260	Convoluta	Maduro	Verão
6°	1310	Sinuosa	Maduro	Primavera
8°	1360	Sinuosa	Maduro	Verão
12°	1395	Sinuosa	Imaturo	Verão
14°	1400	Sinuosa	Imaturo	Primavera
18°	1470	Sinuosa	Imaturo	Outono
19°	1485	Sinuosa	Maduro	Verão
21°	1500	Convoluta	Maduro ¹	Primavera
25°	1545	Sinuosa	Maduro ¹	Verão
34°	1910	Convoluta	Maduro	Outono

* em uma amostra total de 34 espécimes;

¹ primeira espermatogênese do espécime

Os ductos deferentes de *Spilotes pullatus* podem apresentar um aspecto convoluta (Figura 48) ou sinuosa (Figura 49). Dos trinta e quatro machos amostrados, dois estão maduros e não possuem espermatozoides nos ductos por se tratar do início do primeiro ciclo espermatogênico desses espécimes, mas apresentam os ductos deferentes convolutos (Quadro 1) Três machos maduros e estocando espermatozoides apresentam os ductos não convolutos, apenas com formato sinuosa (Quadro 1 e Figuras 49 e 50). Os outros vinte e seis machos maduros que não estão em seu primeiro ciclo espermatogênico, estocam espermatozoides e apresentam os ductos deferentes convolutos. Todos os machos imaturos da amostra não estocam espermatozoides nos ductos deferentes e apresentam o ducto deferente macroscopicamente com aspecto sinuosa (Quadro 1).

Figura 48 - Ducto deferente de *Spilotes pullatus* com aspecto convoluto

Legenda: Vista lateral. Ducto deferente (**dd**); intestino (**in**) e; rim (**rm**). Foto: Diego Muniz, 2011

Figura 49 - Ducto deferente de *Spilotes pullatus* com aspecto sinuoso

Legenda: Vista lateral. Ducto deferente (**dd**); intestino (**in**) e; rim (**rm**). Foto: Diego Muniz, 2011

Figura 50 - Fotomicrografia do ducto deferente de um macho de *Spilotes* com ducto não convoluto macroscopicamente, embora, com presença de espermatozoides (**sptz**) no lúmen mostrando que se trata de um indivíduo maduro sexualmente

Legenda: Corte transversal. Hematoxilina-eosina

4.10 MORFOLOGIA DOS HEMIPÊNES

As *Spilotes* machos possuem um par de órgãos copulatório, os hemipênes (Figura 51), que ficam recolhidos na base da cauda. O hemipênis quando invertido, é exteriorizado da base da cauda através de uma abertura ventrolateral, localizada na margem lateral do lábio caudal da abertura cloacal.

Figura 51 - Hemipênis de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil

Desenho: Victor Czank, 2012

O hemipênis quando invertido e intumescido, de forma artificialmente, possui:

a) duas faces; **b)** duas bordas; **c)** uma base, e; **d)** um lobo apical.

a) As duas faces são basicamente diferenciadas pela presença do sulco espermático, sendo a ventral que possui o sulco chamada de face sulcada (Figura 52) e a oposta de face asulcada (Figura 53). O sulco é único e permanece assim em todo o trajeto. O trajeto do sulco inicia-se na base do hemipênis no plano mediano do órgão com uma leve sinuosidade ao nível do lobo apical. O sulco é margeado em suas duas bordas por uma crista que inicia bem demarcada na base do hemipênis e vai se tornando menos marcada à medida que o sulco se aproxima do ápice do hemipênis (Figura 52);

b) As bordas laterais são as regiões entre as duas faces. As duas bordas se unem no ápice do hemipênis formando uma ponta no ápice do órgão (Figuras 52 e 53);

c) A base é a região mais proximal e está ligada ao corpo do animal. Ela possui a porção proximal nua e a porção distal com espinhos grandes e densos. Esses espinhos estão presentes em toda a face asulcada e nas bordas laterais (Figura 53), na face sulcada eles estão ausentes próximo a borda do sulco espermático (plano mediano) (Figura 52);

d) O lobo apical é simples (único), não apresenta bifurcação, possui um formato bulboso, sendo três bulbos, um em cada borda lateral e um no ápice, o que faz o lobo apical ter um formato de cabeça de seta. Ele é marcadamente diferenciado da base por uma depressão que forma uma “cintura” entre ele e a base. A região proximal do lobo apical, a que se continua com a base, apresenta espinhos grandes e densos nas bordas laterais, na face asulcada os espinhos vão diminuindo à medida que se aproxima ao plano mediano do órgão (Figura 53), e na face sulcada os espinhos são ausentes próximo a borda do sulco espermático (plano mediano) (Figura 52). A região de transição entre a região proximal e distal do lobo apical é um local onde se observa a mudança de espinhos para cálices, esses cálices são do tipo espinhudo (tradução livre de *calyces spinulate*) e estão presentes principalmente nas bordas laterais, e diminuem à medida que se aproxima do ápice. As faces sulcada e asulcada da região distal do lobo apical apresentam pequenos cálices com recortes em curvas (tradução livre de *scalloped*) que tendem a diminuir até sumirem, à medida que se aproxima do plano mediano (Figura 52 e 53).

Figura 52 - Face sulcada do hemipênis de *Spilotes pullatus*.

Legenda: Vista ventral. Sulco espermático (**sce**); espinhos (**esp**); crista do sulco (**csc**); cálice (**clc**); bulbo lateral (**blt**) e; bulbo apical (**bap**)

Figura 53 - Face asulcada do hemipênis de *Spilotes pullatus*

Legenda: Vista dorsal. Espinhos (**esp**); cálice (**clc**); bulbo lateral (**blt**) e; bulbo apical (**bap**)

4.11 SISTEMA REPRODUTOR FEMININO

As fêmeas de *Spilotes pullatus* possuem dois ovários, contralaterais quando estão quiescentes, e, ambos medianos quando estão ativos, com folículos em vitelogênese. O ovário direito é cranial ao esquerdo. Cada ovário possui um ligamento que os comunica com o oviduto ipsilateral, o mesovário.

As fêmeas possuem dois ovidutos funcionais. Cada um deles pode ser dividido em: infundíbulo, tuba, útero glandular, útero aglandular e bolsa (vagina). Essa última porção pode ser uma extensão da cloaca.

Os infundíbulos são pregueados e translúcidos. Possuem um formato afunilado e com um óstio que comunica o lúmen do oviduto com a cavidade celomática (Figura 54).

Figura 54 - Infundíbulo de *Spilotes pullatus* exteriorizado da cavidade celomática, mostrando o aspecto translúcido e formato afunilado

O útero glandular é normalmente pregueado e se torna intensamente pregueado na fase final do ciclo ovariano.

O útero aglandular tem um formato mais cilíndrico, e pode se apresentar distendido e menos espesso do que o habitualmente, após a ovipostura.

A bolsa é a junção do oviduto com a cloaca.

O sistema reprodutor feminino de *Spilotes* pode ser observado completo na Figura 55.

Figura 55 - Sistema reprodutor feminino de *Spilotes pullatus*

Foto: Diego Muniz, 2012 e; desenho: Victor Czank, 2012.

4.12 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS OVÁRIOS

Durante o verão, segunda metade da estação chuvosa, os folículos ovarianos de *Spilotes pullatus* encontram-se menores do que 10 (dez) milímetros (folículos primários) (Figura 56). O depósito de vitelo nos folículos inicia durante o outono e na estação seguinte (inverno) os folículos já apresentam um tamanho significativamente maior ($H= 16,202$; $p= 0,001$) sendo o final do inverno e início da primavera (transição da estação seca para chuvosa) o período de concentração de fêmeas com folículos pré-ovulatórios (Figuras 56 e 57). Durante a primavera as fêmeas já apresentam ovos nos ovidutos, algumas ainda encontram-se com folículos secundários, porém, menores do que os das fêmeas de final de inverno. As fêmeas que possuem apenas folículos primários apresentam cicatriz de ovulação (Figuras 56 e 58) nos ovários e/ou ovidutos distendidos (Figuras 56 e 59). Durante o verão pode-se observar algumas fêmeas também com cicatrizes de ovulação (Figuras 56).

Figura 56 - Distribuição do maior folículo ou ovo de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro ao longo dos anos

Legenda: Folículo primário (●); folículo secundário (□); ovo (○); oviduto distendido representando fêmea “pós-postura” (△); cicatriz de ovulação (*); seta aponta a menor fêmea madura e pontilhado mostra fêmea com múltipla ninhada. Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. n= 32

Figura 57 - Ovário de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil com folículos secundários pré-ovulatórios em final de inverno

Legenda: Vista ventral. Oviduto (**ov**); folículo primário (**f¹**); folículo secundário (**f²**); tecido adiposo (**ta**) e; intestino (**in**)

Figura 58 - Ovário de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil com folículos primários no verão (< 10mm) e cicatrizes de ovulação

Legenda: Vista ventral. Cicatriz de ovulação (**co**); folículo primário (**f¹**) e; intestino (**in**)

Figura 59 - Região caudal do oviduto de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil com oviduto distendido na primavera

Legenda: Vista ventral. Oviduto (**ov**) distendido; rim (**rm**); bolsa (**bs**) e; intestino (**in**)

Uma fêmea do início do mês de setembro apresenta folículos pré-ovulatórios e também os ovidutos posteriores distendidos (Figuras 56 e 60). As análises histológicas dessa fêmea mostraram presença de espermatozóides na bolsa (vagina).

Figura 60 - Região caudal do oviduto, com aspecto distendido, de um exemplar de *Spilotes pullatus* com folículos pré-ovulatórios nos ovários

Legenda: Vista ventral. Bolsa (bs); oviduto (ov) e; rim (rm)

4.13 HIPERTROFIA DAS GLÂNDULAS DA CASCA

As fêmeas de *Spilotes pullatus* que apresentam folículos pré-ovulatórios, apresentam um diâmetro significativamente maior ($F= 51,911$; $p= 0,00018$) das glândulas da casca presentes no endométrio do oviduto médio (Figura 61 e 63) em relação às fêmeas que encontram-se apenas com folículos primários nos ovários, estas últimas apresentam as glândulas hipotrofiadas (Figura 62 e 63).

Figura 61 - Oviduto médio de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil, com glândulas hipertrofiadas

Legenda: Corte transversal. Camada muscular circular (**cmc**); camada muscular longitudinal (**cml**); epitélio (**ep**); glândulas (**gld**) e; lúmen (**L**). Hematoxilina-eosina

Figura 62 - Oviduto médio de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil, com glândulas hipotrofiadas

Legenda: Corte transversal. Camada muscular circular (**cmc**); camada muscular longitudinal (**cml**); epitélio (**ep**); glândulas (**gld**); vaso sanguíneo (**vs**) e; lúmen (**L**). Hematoxilina-eosina

Figura 63 - Diâmetro da glândula da casca de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil, agrupados por fase vitelogênica

Legenda: Caixas representam os animais agrupados por fase vitelogênica; linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valores máximos e mínimos). n= 9

4.14 GLÂNDULAS SUBMUCOSA DA TUBA DO OVIDUTO

Foram observadas glândulas na submucosa da região da tuba em algumas fêmeas no final da primavera e verão. As glândulas são exócrinas do tipo acinosa simples, com o ducto abrindo no lúmen do oviduto (Figura 64).

Figura 64 - Glândulas submucosa na tuda do oviduto de *Spilotes pullatus*

Legenda: Corte transversal. Ducto da glândula (**dct**); glândula submucosa (**gsb**) e; lúmen (**L**). Hematoxilina-eosina

4.15 TÚBULOS DO INFUNDÍBULO

Túbulos formados por células ciliadas foram observados na região do infundíbulo (Figura 65).

Figura 65 - Túbulos ciliados no infundíbulo do oviduto de *Spilotes pullatus*

Legenda: Corte transversal. Cílio (**cil**); ducto (**dct**) e; lúmen (**L**). Hematoxilina-eosina

4.16 ANÁLISE MACROSCÓPICA DO RIM FEMININO

Assim como nos machos, não foram observadas mudanças macroscópicas em relação ao tamanho dos rins de *Spilotes pullatus*. As medidas de comprimento renal ($F= 0,072$; $p= 0,973$) e largura da região cranial do rim ($F= 1,300$; $p= 0,327$) mantêm-se durante todas as estações (Figuras 66 e 67 respectivamente).

Figura 66 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos do comprimento do rim feminino de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior fêmea (○); menor fêmea (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valores máximo e mínimo). $n= 15$

Figura 67 - Distribuição ao longo dos anos dos valores dos resíduos da largura cranial do rim feminino de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior fêmea (○); menor fêmea (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valores máximo e mínimo). n= 15

4.17 ANÁLISE MICROSCÓPICA DO RIM FEMININO

Análises histológicas dos rins das fêmeas mostram que não há diferença significativa no diâmetro do túbulo contorcido distal (região do néfron onde se encontra o segmento sexual nos machos) de *Spilotes* ao longo das estações ($F= 2,339$; $p= 0,124$) (Figura 68). A espessura do epitélio do túbulo contorcido distal também não apresentou diferença significativa entre as estações ($F= 2,936$; $p= 0,0764$) (Figura 69).

Figura 68 - Distribuição ao longo dos anos dos valores do diâmetro do túbulo contorcido distal de fêmeas de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior fêmea (○); menor fêmea (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valore máximo e mínimo). n= 16

Figura 69 - Distribuição ao longo dos anos dos valores da espessura do epitélio do túbulo contorcido distal de fêmeas de *Spilotes pullatus* do sudeste brasileiro

Legenda: Pontos representam o valor de cada indivíduo. Maior fêmea (○); menor fêmea (●). Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Caixas representam os animais agrupados por estação. Linha superior e inferior da caixa (desvio padrão); linha central da caixa (média) e; hastes (valore máximo e mínimo). n= 16

4.18 MATURIDADE SEXUAL DAS FÊMEAS

A menor fêmea madura encontra-se em estado avançado do ciclo (com folículos pré-ovulatório nos ovários ou ovos nos ovidutos) apresenta 1.280mm de CRC e possui cinco ovos no oviduto. De todas as fêmeas com ovos no oviduto ou folículo em estado avançado de depósito de vitelo, esta menor fêmea é a que apresenta o maior ovo, mas uma menor quantidade de ovos nos ovidutos. (Tabela 1 e Figura 56).

Tabela 1 - Tamanho do eixo maior do maior folículo secundário/ovo de fêmeas *Spilotes pullatus* em estado avançado do ciclo

CRC (mm)	Maior Folículo Secundário (mm)	Maior ovo (mm)	Número de ovos ou folículo pré-ovulatório
1280	-	59,23	5
1290	45,47	-	6
1340	22,95	-	9
1360	32,92	-	8
1395	47,18	-	8
1430	42,94	-	10
1460	47,48	-	9
1480	-	44,69	11
1470	-	58,00	10
1520	36,55	-	9
1520	36,91	-	8
1540	42,42	-	9
1550	42,63	-	5*
1565	48,74	-	10

- não observado

* apenas de um ovário, o outro havia sido removido

4.19 FECUNDIDADE

O tamanho da ninhada (número de ovos ou folículos pré-ovulatórios) é positivamente e significativamente relacionado com o CRC da fêmea quando analisados os dados brutos ($F=10,975$; $p=0,006$ e; $n=13$) assim como os dados transformados por Box-cox ($F=5,080$; $p=0,045$ e; $n=13$) (Figura 70)

Figura 70 - Relação entre comprimento rostro-cloacal da fêmea e número de ovos ou folículos pré-ovulatórios em *Spilotes pullatus*

Legenda: Folículo secundário (□); ovo (○) e linha representa a tendência. $n=13$

O tamanho dos ovos (comprimento do eixo maior) não apresenta relação significativa com o CRC das fêmeas quando analisados os dados brutos ($F=0,004$; $p=0,947$ e; $n=14$) bem como quando os dados são transformados através de Box-cox ($F=0,035$; $p=0,853$ e; $n=14$) (Figura 71).

Figura 71 - Relação entre comprimento rostro-cloacal da fêmea e comprimento de ovos ou folículos pré-ovulatórios em *Spilotes pullatus*

Legenda: Folículo secundário (□); ovo (○) e linha representa a tendência. $n=14$

Os folículos ovarianos e os ovos de *Spilotes pullatus* possuem um formato esferóide (Figuras 72 e 73). O eixo maior dos ovos mede em média 53,97mm ($\pm 8,06$) de comprimento. Os folículos pré-ovulatórios possuem em média 41,10mm ($\pm 4,67$) de comprimento do eixo maior, estão dispostos em linha nos ovários com uma leve inclinação de aproximadamente 15° em relação ao plano horizontal do animal, o que faz com que a porção cranial de cada folículo, há exceção do primeiro folículo do ovário direito, sobrepõe a porção caudal do folículo mais caudal a ele (Figuras 72 e 75). As fêmeas apresentam uma média de 8,82 ($\pm 1,81$) ovos nos ovidutos ou folículos pré-ovulatórios nos ovários. Os folículos podem ser encontrados distribuídos de forma simétrica, com o mesmo número de folículos em cada ovário (Figura 74) ou de forma assimétrica podendo ter uma diferença de um a dois folículos entre os ovários, sendo quase sempre o ovário esquerdo com o maior número.

Figura 72 - Folículo secundário de *Spilotes pullatus* apresentando um formato esferóide

Legenda: Folículo primário (f¹) e; folículo secundário (f²). Foto: Diego Muniz, 2012

Figura 73 - Ovos de *Spilotes pullatus* com formato esferóide

Foto: Edelcio Muscat, 2009

Figura 74 - Sistema reprodutor feminino de *Spilotes pullatus* com folículos pré-ovulatórios nos ovários distribuídos em linha com leve inclinação e de forma simétrica, quatro em cada ovário

Legenda: Vista ventral. Folículos secundários (f²); oviduto (ov) e; intestino (in). Foto: Diego Muniz, 2011

Figura 75 - Disposição dos folículos pré-ovulatórios de *Spilotes pullatus* distribuídos em linha com leve inclinação em relação ao plano horizontal do animal dentro da cavidade celomática

Legenda: Corte sagital mediano, vista lateral esquerda. Desenho: Diego Muniz, 2012

4.20 MORFOLOGIA DAS BOLSAS

Em *Spilotes* a bolsa é bem demarcada por ter um diâmetro maior do que o oviduto. A bolsa direita é maior e cranial a bolsa esquerda (Figuras 76, 77, 78 e 79). Cada bolsa encontra-se laterodorsal ao intestino e apresenta dois lobos, um dorsal e um ventral. Esses lobos são bem demarcados por estarem separados por um sulco mediano. Esse sulco se origina devido à dobra formada pela posição dos dois lobos da bolsa envolvendo o intestino (sequência das Figuras 76, 77 e 78). A bolsa se funde a contralateral no plano mediano, dorsal ao intestino (Figuras 77, 78 e 79).

Figura 76 - Bolsas de *Spilotes pullatus* envolvendo o intestino dentro da cavidade celomática

Legenda: Vista ventral. Abertura da cloaca (**abt**); intestino (**in**); lobo ventral (**lbv**) e; oviduto (**ov**)

Figura 77 - Bolsas de *Spilotes pullatus* na cavidade celomática, intestino arrebatado

Legenda: Vista ventral. Intestino (**in**); junção das bolsas (**jnb**); lobo ventral (**lbv**); lobo dorsal (**lbd**); oviduto (**ov**) e, rim (**rm**)

Figura 78 - Bolsas de *Spilotes pullatus* na cavidade celomática, intestino arrebatado e bolsas esticadas para visualização da face medial

Legenda: Vista ventral. Abertura da cloaca (**abt**); junção das bolsas (**jnb**); lobo ventral (**lbv**); lobo dorsal (**lbd**); oviduto (**ov**) e, sulco medial (**slc**)

Figura 79 - Bolsas de *Spilotes pullatus* da região sudeste do Brasil

4.21 INTERAÇÕES SOCIAIS

Foram observadas algumas interações sociais entre indivíduos de *Spilotes pullatus* que são descritas a seguir.

4.21.1 Ritual de combate e cópula *In situ*

Em *Spilotes pullatus* foi observado ritual de combate entre machos durante o período da primavera e tais interações duram em média uma hora (Quadro 2).

Em um dos casos, foi observado combate entre dois machos nas margens de um rio. Os machos se entrelaçavam tentando manter a porção cranial do corpo ereta sempre acima do oponente, em dados momentos, percebia-se a utilização da porção final da cauda na tentativa de imobilizar o oponente, em algumas ocasiões era possível observar o hemipênis exposto, de um dos indivíduos, na tentativa de segurar o adversário que sempre tentava fuga. O combate ocorreu no substrato arbóreo e em parte no terrestre. Durante o combate os colubrídeos chegaram a cair do galho da árvore dentro do rio (Figura 80).

Figura 80 - Ritual de combate entre dois *Spilotes pullatus* machos na copa de uma árvore durante a primavera

Desenho: Diego Muniz, 2011. Elaborado a partir do vídeo gravado por José Milton Longo na margem do rio Sucuriú, Costa Rica, MT

Quadro2 - Ritual de combate e cópula observados *In situ* em *Spilotes pullatus*

Estação Data	Nº de Indivíduos	Combate	Cópula	Duração	Local	Fonte
Inverno 16/08/2008	2	-	X	-	Morretes – PR	Gustavo Knappe, <i>com. pess.</i>
Inverno 27/08/2006	2	-	X	-	Araçariguama - SP	Ana Maria Delgado, <i>com. pess.</i>
Inverno Setembro	2	-	X	-	Sete Barras - SP	Luciano Castanho, <i>com. pess.</i>
Inverno 17/09/2010	2	-	X	-	Paranaguá – PR	Osvaldo Parthey, <i>com. pess.</i>
Primavera 12/10/2000	3	X	X	-	Ilha do Cardoso – SP	Ligia Pizzato, <i>com. pess.</i>
Primavera Out/2001	3	X	X	-	Ilha do Cardoso – SP	Ligia Pizzato, <i>com. pess.</i>
Primavera 13/12/2007	2	X*	-	1h	Costa Rica – MS	José Milton Longo, <i>com. pess.</i>

x observado;

- não observado

* houve exposição de hemipênis

Em outro relato observa-se um espécime de *Spilotes pullatus* próximo ao meio fio da calçada, onde um segundo indivíduo se aproximou. Os dois emparelharam as cabeças e um terceiro exemplar da espécie se aproxima quando os outros dois encontram-se em “corte”. Um dos colubrídeos (provavelmente o macho) interrompe a atividade de corte com a parceira para perseguir o terceiro espécime, que foge. O “perseguidor” volta para a corte e então o terceiro animal, que havia sido perseguido, volta a se aproximar dos dois *Spilotes* em corte e é novamente perseguido e então finalmente afugentado pelo “perseguidor”. O casal permanece em cópula e um tempo depois é observado ainda em cópula em um limoeiro próximo ao local inicial da interação.

Em outra ocasião também foram avistadas três caninanas agrupadas, duas delas mantinham a cabeça erguida, se afrontando. Passado um tempo foi observado duas delas em cópula.

Durante a cópula o macho expõe um dos hemipênes, e com o órgão semi-intumescido, penetra a cloaca da fêmea. Durante a cópula, a região cloacal do macho fica em uma posição oposta a da fêmea. O hemipênis é introduzido até a junção das duas bolsas. Após a penetração concluída, o órgão completa a ereção. O hemipênis intumescido na cloaca da fêmea causa uma dilatação da região cloacal, gerando um atrito que ajuda a manter o órgão no interior da cloaca da fêmea. O sêmen é encaminhado, através do hemopênis do macho, ao interior da cloaca da fêmea e depositado na região da junção das bolsas. O volume de sêmen é armazenado nas bolsas e aos poucos vão dando vazão em direção ao oviducto (Figura 81).

Figura 81 - Inserção do hemipênis do macho na bolsa da fêmea durante a cópula de *Spilotes pullatus*

Legenda: Corte horizontal. Desenho: Diego Muniz, 2012

O sêmen de *Spilotes* tem um aspecto viscoso, opalescente, consistente e denso. O volume ejaculado pode chegar a mais de 2mL (Figura 82).

Figura 82 - Sêmen de *Spilotes* coletado da cloaca de uma fêmea

Foto: Diego Muniz, 2012

O período de cópula da caninana corresponde, principalmente, ao inverno e início da primavera, durante a transição da estação seca para a chuvosa (Quadros 2 e 3).

Cinco fêmeas em estado avançado de depósito de vitelo nos folículos, fêmeas com folículos pré-ovulatórios, foram analisadas histologicamente, das quais três apresentam espermatozóides na bolsa e na porção caudal do oviduto (Figura 83 e Quadro 3).

Uma fêmea entregue ao laboratório de herpetologia do Instituto Butantan, abatida junto com um macho no município de Araçariguama-SP durante o inverno, apresentava um grande volume de sêmen na cloaca (Figura 84 e Quadro 3) e continha nos ovários folículos pré-ovulatórios.

Quadro 3 - Período de cópula de *Spilotes pullatus* estimada a partir de análise de fêmeas dissecadas

Estação Data	Sptz na Bolsa¹	Sptz na porção caudal do oviduto¹	Sêmen na cloaca²
Inverno 23/07/1987	X	X	-
Inverno 24/08/2006	X	X	-
Inverno 27/08/2006	-	-	X
Inverno 05/09/2005	X	X	-
Inverno Setembro	○	○	-
Primavera Novembro	○	○	-

¹ analisado histologicamente;

² analisado macroscopicamente;

x observado;

○ Não observado

- não analisado

Figura 83 - Porção caudal do oviduto de *Spilotes pullatus* com presença de espermatozóides no lúmen da bolsa

Legenda: Corte transversal. Epitélio (**ep**); lúmen (**lu**) e espermatozóides (**sptz**). Hematoxilina-eosina.

Figura 84 - Sêmen de *Spilotes pullatus* e esfregaço do sêmen encontrado na cloaca de uma fêmea da espécie que apresentava folículos pré-ovulatórios nos ovários

Foto: Diego Muniz, 2012

4.21.2 Incubação e eclosão dos ovos *In situ*

Os registros de postura de animais *In situ* informam que as *Spilotes pullatus* da região sudeste depositam seus ovos na primavera. O período de incubação dos ovos dura aproximadamente 73 dias, a eclosão dos ovos ocorre durante o verão (Quadro 4).

Quadro 4 - Estação de postura, incubação e eclosão dos ovos de *Spilotes pullatus* capturadas prenhes na região sudeste do Brasil

Ovipostura (Estação - Mês)	Número de ovos	Incubação (dias)	Eclosão (Estação - Mês)	Fonte
Primavera – Out	-	75	Verão – Dez	ZUEC - UNICAMP
Primavera – Out	-	72*	Verão – Jan	Marques, 1998
Primavera – Dez	7	72	Verão – Fev	Abe e Fernandes, 1977
Primavera – Nov	12	115**	Verão – Mar	Hauzman, 2005

* Período aproximado. Ovipostura em final de outubro e eclosão em segunda quinzena de janeiro;

** Um ovo eclodiu, os outros foram dissecados cinco dias depois e apenas um embrião estava desenvolvido

4.21.3 Cópula, incubação e eclosão dos ovos *ex situ*

Registros de espécimes mantidos em cativeiro por longo tempo (mais de um ano) mostram ocorrência de cópula no outono (Figura 85), ovipostura ocorrendo no inverno e nascimento dos filhotes no verão (Quadro 5). Quanto aos animais mantidos há pouco tempo (menos de um mês) em cativeiro a cópula é observada no inverno, sendo a ovipostura na primavera e recrutamento dos filhotes no verão (Quadro 5). A duração da cópula é em média de três horas (Quadro 5).

Figura 85 - Cópula *ex situ* de *Spilotes pullatus*

Foto: Edelcio Muscat, 2009

Quadro 5 - Estação de cópula, postura e incubação dos ovos *ex situ* de *Spilotes pullatus*

Cópula (Estação – data)	Duração da Cópula	Ovipostura (Estação - Mês)	Númer o de ovos	Incubaçã o (dias)	Eclosão (Estação - Mês)	Fonte
Outono ¹ 2,3 e 4/06/2009	-	Inverno 07/09/2009	7*	104	Verão Dezembro	Edelcio Muscat, <i>com. pess.</i>
Outono ¹ 2,3 e 4/06/2009	-	Inverno 10/09/2009	10**	99	Verão Dezembro	Edelcio Muscat, <i>com. pess.</i>
Inverno ² 10/07/2003	2h42min	-	-	-	-	Duarte e Aalbuquerque , 2006
Inverno ³ 22/08/2001	3h12min	Primavera 11/11/2001	10	62	Verão Janeiro	Secchiero e Feliz, 2005
Inverno ⁴ e primavera ⁴ 5/03/2011 α 20/04/2011 β	- -	Primavera ⁴ 20/04/2011 α 8/06/2011 β	7 α 8 β	78 α 82 β	Verão Julho α Agosto β	John Andermann, <i>com pess.</i>

¹ Animal mantido junto com um macho e mais uma fêmea durante todo o ano;² Fêmea capturada em São Paulo e mantida em cativeiro sozinha por 20 dias. Um macho capturado no Espírito Santo foi alocado junto com ela e 8 dias após ocorreu a cópula;³ Fêmea mantida em cativeiro com o macho em menos de um mês;⁴ Estação boreal;

α Primeira observação;

β Segunda observação do mesmo animal;

* 75 dias depois da postura um ovo foi descartado por se encontrar atrésico;

** 73 dias depois da postura dois ovos foram descartados por estarem atrésicos

A reprodução de *Spilotes pullatus* mantidas em cativeiro no hemisfério norte, foi realizada com sucesso quando se controlou as influências ambientais. Após um pouco da diminuição natural da temperatura e do ciclo de luz durante os meses de dezembro e janeiro, foi aumentada de forma artificialmente a temperatura, ciclo de luz, e umidade, para estimular o acasalamento. A corte foi observada em 28 de fevereiro e a cópula de fato no dia cinco de março (Figura 86). A ovulação foi observada após a cópula e a prenhez (Figura 87) teve um período curto. Em 31 de março a fêmea fez a ecdise pré-postura (“*pre-lay shed*”) e os ovos foram postos vinte dias depois, em abril (Figura 88). Logo após a postura o casal copulou novamente. Em junho houve uma segunda postura (Figura 89). Os ovos das duas ninhadas foram incubados a uma temperatura de 26°C (Figura 90) e a eclosão ocorreu após, em média, 80 dias (Quadro 5 e Figuras 91, 92 e 93).

Figura 86 – Cópula de *Spilotes pullatus*, *ex situ* de no hemisfério norte

Legenda: Note o corpo da fêmea distendido na região cloacal, permitindo a visualização do espaço entre as escamas, em razão da introdução do hemipênis intumescido. Foto: John Andermann, 2011

Figura 87 - Prenhez de *Spilotes pullatus*, *ex situ* no hemisfério norte

Legenda: Note o corpo da fêmea distendido no terço caudal (em primeiro plano na fotografia), permitindo a visualização do espaço entre as escamas, em razão dos ovos no oviduto. Foto: John Andermann, 2011

Figura 88 - Primeira postura durante a estação reprodutiva *ex situ* de uma fêmea *Spilotes pullatus* no hemisfério norte

Foto: John Andermann, 2011

Figura 89 - Segunda postura durante a estação reprodutiva *ex situ* de uma fêmea *Spilotes pullatus* no hemisfério norte

Foto: John Andermann, 2011

Figura 90 - Eclosão de ovos de *Spilotes*

Foto: John Andermann, 2011

Figura 90 - Incubação de ovos de duas ninhadas da mesma fêmea de *Spilotes pullatus*

Foto: John Andermann, 2011

Figura 92 - Filhote de *Spilotes pullatus* saindo do ovo

Foto: John Andermann, 2011

Figura 93 - Filhotes de *Spilotes pullatus* recém nascidos em cativeiro no hemisfério norte

Foto: John Andermann, 2011

4.22 PADRÃO DE ATIVIDADE

Existe uma diferença na frequência da atividade dos indivíduos adultos de *Spilotes* em relação às quatro estações do ano ($\chi^2 = 16,13$; $gl = 3$; $p = 0,001$). Os adultos são mais ativos no início do ano, durante o verão e outono. Assim como os adultos, a atividade dos indivíduos juvenis se concentra principalmente no verão e outono, tendo o pico de atividade no verão ($\chi^2 = 14,04$; $gl = 3$; $p = 0,003$) (Figura 94).

Figura 94 - Distribuição ao longo do ano de *Spilotes pullatus* capturadas na região sudeste do Brasil, mostrando a atividade padrão da espécie

Legenda: Caixas brancas representam os adultos e caixas coloridas representam os juvenis. Meses entre outubro e março compreendem a estação das chuvas e os meses entre abril e setembro, estação da seca. Adultos $n = 269$ e juvenis $n = 23$

4.22.1 Padrão de atividade alimentar

A atividade de forrageio de *Spilotes pullatus* machos é constante ao longo das estações ($\chi^2 = 0,009$; $gl = 1$; $A = -0,46$; $p = 0,925$) não havendo uma tendência para que os machos se alimentem mais em determinada estação do ano (Figura 95)

Durante todas as estações, a proporção de machos com conteúdo alimentar no sistema digestório é menor do que a de machos sem conteúdo alimentar (Figura 95).

Figura 95 - Proporção de machos de *Spilotes pullatus* com conteúdo alimentar no sistema digestório capturados na região sudeste do Brasil ao longo das estações

Legenda: Porção cheia da coluna representa a porcentagem de animais com conteúdo alimentar e a porção vazia representa a porcentagem de animais sem conteúdo. Número de indivíduos da estação no topo da coluna. Primavera e verão compreendem a estação das chuvas e outono e inverno, estação da seca. $n = 71$

As fêmeas dessa espécie se alimentam mais no verão e existe uma tendência decrescente, a medida que as estações vão passando, o forrageio das fêmeas diminui ($\chi^2=8,93$; $gl= 1$; $A= -9,75$; $p= 0,003$), havendo uma tendência para que na primavera as fêmeas diminuam ao máximo a atividade alimentar (Figura 96). Oito fêmeas com folículos pré-ovulatórios ou ovos no sistema reprodutor tiveram seu sistema digestório analisado e destas apenas uma apresentava conteúdo alimentar.

Figura 96 - Proporção de fêmeas de *Spilotes pullatus* com conteúdo alimentar no sistema digestório capturados na região sudeste do Brasil ao longo das estações

Legenda: Porção cheia da coluna representa a porcentagem de animais com conteúdo alimentar e a porção vazia representa a porcentagem de animais sem conteúdo. Número de indivíduos da estação no topo da coluna. Primavera e verão compreendem a estação das chuvas e outono e inverno, estação da seca. $n = 32$

Durante o verão é possível encontrar mais de 60% das fêmeas portando algum conteúdo alimentar no estômago ou intestino, porcentagem essa maior do que a dos machos (compare as Figuras 95 e 96).

4.23 DIMORFISMO SEXUAL

Os machos da espécie *Spilotes pullatus* apresentam um CRC médio de 1.481,19mm ($\pm 171,36$), as fêmeas apresentam um CRC médio de 1.413,26mm ($\pm 172,27$), o teste estatístico aponta que não existe um dimorfismo sexual de tamanho corporal nessa espécie ($F= 0,126$; $p= 0,722$; $n=52$ fêmeas e 112 machos). Para o cálculo de Índice de Dimorfismo Sexual as fêmeas apresentam-se menores do que os machos ($SSD= -0,032$).

Em relação à cauda dos dois gêneros observa-se dimorfismo em tamanho ($F= 5,959$; $p= 0,015$; $n= 52$ fêmeas e 112 machos), sendo os machos portadores de caudas mais longas. Os machos possuem a cauda com um comprimento médio de 486,73mm ($\pm 65,51$) e as fêmeas um comprimento médio de 453,65mm ($\pm 49,83$).

4.24 CICLO REPRODUTIVO

Os machos e as fêmeas de *Spilotes pullatus* que habitam a região sudeste do Brasil apresentam um ciclo anual de todos os eventos reprodutivos (Figura 97).

Figura 97 - Esquematisação do ciclo reprodutivo de *Spilotes pullatus* ao longo das estações

“Diz a lenda que uma índia tapuia pariu um casal de gêmeos na forma de duas serpentes escuras. A índia os batizou de Honorato e de Maria. Percebendo a impossibilidade de viverem na terra entre humanos, ela então os lançou no rio. As duas serpentes criaram-se nas profundezas do Rio Amazonas. O povo chamava-as de Cobra-Norato e Maria-CanInana. Elas tinham índoles bem diferentes: Cobra-Norato era forte, bom e dadivoso em suas ações; Maria-CanInana, ao contrário, violenta e má, alagava embarcações, matava náufragos e feria animais dentro da água. Cobra-Norato, de vez em quando, transformava-se na imagem de um homem de terno branco, que ajudava na colheita de frutas, dançava com as moças e agradava os velhos. Aborrecido de tanto ver Maria-CanInana promovendo Incontáveis atos de maldade, ele a matou e passou a viver isolado pelos rios e igarapés, mas sempre praticando boas ações [..]”.

(Cobra-Norato e Maria-Caninana - Lenda indígena na região amazônica)

Discussão

5 DISCUSSÃO

Para se avaliar o ciclo reprodutivo de uma espécie é preciso saber quais indivíduos estão sexualmente maduros. Para isso é essencial que a amostra não seja constituída de indivíduos imaturos que inviabilizariam a descrição da gametogênese. O menor macho de *Spilotes pullatus* analisado apresentava 1.150mm de comprimento rostro-cloacal (CRC), e estava em seu primeiro ciclo espermatogênico. Não foi analisado nenhum macho menor na amostra, portanto é possível que exista machos que entrem em seu primeiro ciclo espermatogênico com o CRC um pouco menor do que o que foi analisado. A menor fêmea avaliada possui 1.280mm de CRC, e a exemplo dos machos também se encontrava madura, e em fase final do ciclo reprodutivo, já apresentando ovos nos ovidutos. Como essa fêmea encontra-se em fase final do ciclo, é bem provável que ela tenha atingido a maturidade sexual com um CRC um pouco menor. Portanto, caninanas de ambos os sexos parece atingirem a maturidade sexual por volta dos 1.000mm de comprimento rostro-cloacal. No entanto, a maturidade sexual determinada através do comprimento do animal não parece ser muito fidedigna em caninanas. Alguns machos de *Spilotes* possuem um comprimento rostro-cloacal consideravelmente grande (*e. g.* 1.500mm) e ainda assim podem estar imaturos, o que demonstra a importância de análises histológicas para se caracterizar o indivíduo como maduro ou imaturo.

Os machos maduros de Squamata apresentam um aumento do comprimento e massa dos testículos durante a fase ativa das gônadas devido a grande atividade espermatogênica nesse período (SCHUETT et al., 2002; KROMER, et al., 2004). Os machos de *Spilotes pullatus* que habitam a região sudeste do Brasil apresentam um aumento do volume desses órgãos durante o verão, principalmente no final da estação. A atividade de divisão celular iniciada no verão faz com que ao final dessa estação o epitélio germinativo encontre-se com grande número de células. Esse evento reflete no volume testicular, que durante esse período encontra-se maior. No final do verão e durante o outono começa a espermiogênese e esse fenômeno leva ao aumento da espessura do epitélio seminífero, uma vez que várias linhagens de células germinativas compõem o epitélio nessa fase. No inverno o epitélio seminífero finaliza o ciclo, os últimos espermatozoides são formados e então cessa a produção de gametas. Os testículos permanecem inativos até o final da primavera. Quando se inicia outro verão, já é possível observar a multiplicação de espermatogônias novamente, iniciando um novo ciclo. Este tipo de produção de gameta onde o indivíduo possui um período do ano de

quiescência reprodutiva é classificado, de acordo com Mathies (2011), como sendo cíclica descontínua. De acordo com o mesmo trabalho, quando existe uma sincronia do ciclo da população, ou seja, o período de produção de gametas e de quiescência reprodutiva de todos os indivíduos da população ocorrendo no mesmo período, a reprodução da população pode ser classificada como sazonal. Em se tratando de machos de *Spilotes*, existe uma sincronia da população em relação à atividade testicular, que ocorre no verão e outono, e uma sincronia no período de quiescência reprodutiva, compreendendo o inverno e a primavera. O que classifica a reprodução desse colubrídeo como sendo, além de cíclica descontínua, sazonal.

Há um tipo de anomalia testicular que não é incomum encontrar em alguns espécimes de *Spilotes*. Alguns machos possuem um dos testículos com um pequeno lobo, esse lobo compartilha da mesma túnica albugínea do testículo, e por isso se trata de um testículo lobulado. Outra anomalia parecida e um pouco mais incomum é existência de uma massa testicular próximo ao testículo, mas sem ligação direta com o órgão, essa massa testicular possui sua própria túnica albugínea, portanto sugere-se que não seja um lobo do órgão, e sim uma estrutura individual. Essa massa testicular, bem como o lobo, é formada de tecido testicular funcional, apresentam o ciclo de produção de gametas exatamente igual ao ciclo testicular do indivíduo. É comum observar também nos rins de machos uma massa de tecido sem ligação direta com o órgão. Fox (1965) descreve os dois testículos de duas espécies de *Leptotyphlops* e *Typhlops*, como sendo normalmente lobulados em todos os espécimes, sendo encontrado de quatro a seis lobos, e até possuindo lobos com espaçamento entre eles. Ele considerou os testículos lobulados mesmo quando essa massa continha sua própria túnica albugínea, pois, segundo ele, como eles dividem um único epidídimo isso os torna um único órgão. Werner e Drook (1967) observaram o mesmo fenômeno também em *Leptotyphlops*, mas consideraram o testículo como tendo varias partes ou vários corpos e não como lobulado. Nenhum dos autores cita a presença desse fenômeno em tecido renal.

Embora a produção de gametas em caninanas ocorra apenas em um determinado período do ano, como foi discutido, é possível encontrar espermatozóides nos ductos deferentes das *Spilotes* ao longo de todo o ano. Os espermatozóides liberados no lúmen dos túbulos seminíferos, durante a estação de espermatogênese, são encaminhados para o epidídimo através dos túbulos eferentes e seguem para o ducto deferente onde permanecem estocados. O processo de estocagem de esperma é mais estudado em fêmeas (FOX, 1956; SCHUETT, 1992), mas sabe-se que também ocorre em machos (SHINE, 1977a; SAINT-GIRONS, 1982; CLESSON et al., 2002; ALMEIDA-SANTOS et al., 2004). Além da função de estocagem de esperma, estudos recentes mostram atividade secretora do ducto deferente

em viperídeo (SIEGEL et al., 2009) e sugerem que também ocorra em colubrídeos (TRAUTH; SEVER, 2011), essa ação secretora pode ser o que possibilita a estocagem no ducto. Almeida-Santos et al. (2004) observa ductos convolutos em viperídeos e registra que esse formato aumenta a área do canal o que permite a estocagem de um maior volume de esperma. O ducto deferente das *Spilotes* pode apresentar-se apenas sinuoso ou ainda completamente convoluto. Os animais imaturos apresentam sempre os ductos com formato sinuoso, já os animais maduros em sua maioria apresentam os ductos convolutos, o que realmente aumenta a área de estocagem, mas é possível encontrar animais adultos maduros estocando espermatozóides e com ductos apenas sinuosos. Nesse último caso, quando observados, esses animais são encontrados nas estações logo após a época de cópula. É possível que animais que tiveram várias parceiras durante a estação de acasalamento tenham utilizado um maior volume de gametas e por isso apresentem os ductos sinuosos embora ainda estoquem um pouco de espermatozóides, isso demonstra que os gametas não são totalmente esgotados dos ductos durante a estação reprodutiva. Esse padrão de machos maduros que após a época de cópula apresentam ductos sinuosos não corresponde a maioria. Comumente o que se observa são ductos convolutos, desta forma provavelmente machos podem estocar esperma durante todo o ano, independente dos ductos deferentes estarem-se convolutos ou apenas sinuosos.

Além dos testículos existe outro órgão que produz uma secreção envolvida com a reprodução, o rim. Por isso o estudo desse órgão, em especial o segmento sexual renal, deve ser relacionado com os demais componentes do ciclo reprodutivo (FOX, 1977; SEVER et al., 2002; SEVER et al., 2007). Não se observa mudanças macroscópicas no tamanho dos rins, das caninanas, em função da atividade do segmento sexual renal. Esse padrão é observado na maioria das serpentes, embora algumas espécies possam mostrar uma variação macroscópica do órgão (FOX, 1977; SEVER et al., 2007; ROJAS, 2009).

Além de análises macroscópicas dos rins, é importante observar, se o segmento sexual renal apresenta uma hipertrofia sazonal, e antes disso, deve-se verificar se essa estrutura, o segmento sexual renal, apresenta uma correlação com o comprimento do animal. O segmento sexual renal das espécies estudadas por Aldridge et al. (2011) não apresentou correlação com o comprimento do animal. Em *Spilotes pullatus* tanto o diâmetro como a espessura do epitélio do segmento sexual renal dos machos apresenta uma correlação com o comprimento do animal, existe um crescimento alométrico. A relação do tamanho do corpo com o diâmetro e espessura do epitélio do segmento sexual renal também foi observada por Mathies et al. (2010) em *Boiga irregularis*. Esses autores relatam que o segmento sexual renal aumenta em

relação ao crescimento do animal até que os animais atinjam cerca de 1.300 mm de comprimento, e então, nesse período, o segmento atinge a maturação.

Embora machos de caninana não apresentem mudanças renais macroscópicas, quando se trata de mudanças histológicas, o segmento sexual renal de *Spilotes* mostra uma hipertrofia sazonal. O diâmetro dessa estrutura encontra-se maior durante o inverno, mas não ocorre uma regressão total durante as outras estações do ano. Exatamente como observado para a maioria das serpentes (BONS; SAINT-GIRONS, 1962; FOX, 1977; ALDRIDGE; DUVALL, 2002; ALDRIDGE et al., 2009). Já em machos adultos, de lagartos e anfisbenídeos, durante a fase de quiescência do segmento sexual renal, ocorre uma regressão total, o que torna difícil de diferenciar a porção do segmento dos outros túbulos uriníferos (FOX, 1977; SEVER et al., 2002). Segundo Krohmer et al. (2009), o segmento sexual renal possui desenvolvimento ontogenético. E é o que se observa em machos imaturos de *Spilotes*, o segmento sexual renal não é desenvolvido nesses indivíduos e por esse motivo é difícil de ser observado. O néfron das fêmeas (maduras ou imaturas) se assemelha ao dos machos imaturos, uma vez que as fêmeas não apresentaram nenhuma porção renal hipertrofiada em função do ciclo reprodutivo. O segmento sexual renal não é mesmo comum em fêmeas, mas pode ser encontrado desenvolvido no gênero feminino em pelo menos uma espécie de lagarto, *ScIncella laterale* (SEVER; HOPKINS, 2005).

O segmento sexual renal é andrógeno dependente (KROHMER et al., 2004) e na maioria das espécies de serpentes a hipertrofia do segmento corresponde à estação de acasalamento (ALDRIDGE et al., 2009). Em machos de caninana, essa hipertrofia é observada no inverno e realmente corresponde a estação de cópula dessa espécie, e ainda pode-se observar que durante a estação seguinte, primavera, encontra-se uma maior variação individual no diâmetro do segmento sexual renal dos machos, alguns com o segmento hipertrofiado e outros hipotrofiado. Esse evento provavelmente esteja associado a animais que copularam e animais que não copularam. Os machos que acasalaram no inverno provavelmente são os que apresentam o segmento sexual renal já hipotrofiado na estação seguinte (primavera), uma vez que o produto (secreção) dos rins foi utilizado durante a cópula, enquanto que os machos que apresentam esse segmento ainda hipertrofiado na primavera, provavelmente não acasalaram no inverno e por não utilizarem o produto do segmento sexual renal, ainda exista essa hipertrofia.

O período de acasalamento das caninanas compreende principalmente o final do inverno e no início da primavera ainda se observa algumas cópulas. Embora, *In situ*, a estação de cópula das *Spilotes* seja o período final do inverno, animais mantidos em cativeiro ao

longo do ano podem apresentar a estação de cópula prematura, ocorrendo no final do outono. Isso pode estar relacionado à facilidade de alimentação e encontro do parceiro nessas condições. Anderson (1965) relata um comportamento de corte em *Nerodia sipedon* fora da época de acasalamento da espécie. Segundo Aldridge et al. (2009), pode-se observar comportamentos de corte fora da estação normal de cópula e não necessariamente refletir um período normal de acasalamento. Embora o observado *ex situ* em *Spilotes pullatus* tenha ocorrido de fato cópula, e não apenas corte. Dessa forma, o inverno parece ser a estação de cópula das *Spilotes* independentemente da região onde elas habitam. Caninanas mantidas em cativeiro no hemisfério norte apresentaram a estação de acasalamento nos meses de março e abril o que corresponde ao final do inverno e início de primavera boreal. A ovipostura ocorre nos meses de abril e junho, primavera boreal. Embora os meses em que se observaram os eventos reprodutivos não correspondam aos meses observados nos animais do hemisfério sul, as estações em que os eventos ocorrem são as mesmas correspondentes as estações austrais. É importante ressaltar que devido ao eixo de rotação da Terra ser inclinado, o hemisfério norte e sul encontra-se em posições diferentes em relação ao Sol, o que faz com que as estações sejam inversas nos hemisférios (MOURÃO, 1998). A inclinação no eixo de rotação terrestre garante que, em determinadas épocas do ano, um dos hemisférios sempre recebe mais luz solar durante o período de rotação de aproximadamente 24 horas, enquanto que no outro, ocorre justamente o inverso (LANGHI; NARDI, 2007). As influências estacionais ambientais provavelmente sejam os maiores fatores relacionados à estação de cópula das *Spilotes*. Por esse motivo a cópula é observada durante o final do inverno, independente dos meses do ano, seja inverno austral (hemisfério sul) ou boreal (hemisfério norte).

Em *Thamnophis* a exposição a baixas temperaturas e a períodos de escuridão é essencial para o desenvolvimento da receptividade sexual (BONA-GALO; LICHT, 1983). Embora o estudo com duração de quatro anos realizado por Whittier et al. (1987a), tenha mostrado que no primeiro ano a temperatura e o fotoperíodo teve influência no acasalamento dessa mesma espécie, já nos anos seguinte apenas a temperatura influenciou a cópula. Eles concluíram assim como Aleksuk e Gregory (1974), que a estação de acasalamento é controlada apenas pela temperatura e não pelo fotoperíodo. Assim, mais estudos, envolvendo a inter-relação entre ciclos reprodutivos e o fotoperíodo, poderiam ser realizados.

Durante a cópula em serpentes o macho insere o hemipênis na cloaca da fêmea. Embora em algumas espécies a bolsa (vagina) tem formato compatível com a inserção do hemipênis (LUDWING; RAHN, 1943; ALMEIDA-SANTOS, 2005), e tem sido proposto que o órgão copulatório seja introduzido na bolsa durante a cópula (ALDRIDGE, 1992). O

mesmo não foi observado para *Spilotes*, o encaixe do hemipênis na bolsa da fêmea não parece ser possível. A bolsa é marcadamente bilobada diferentemente dos hemipênes que são únicos (simples), não parecendo ser compatíveis de encaixe. A morfologia do hemipênis dos machos sugere que a introdução desse órgão ocorra apenas a nível cloacal. Uma vez que a cloaca da fêmea é longa e seria possível abrigar perfeitamente a forma do hemipênis. Provavelmente o sêmen é depositado na abertura de cada lobo da bolsa, e a função dessa estrutura seja a de receber o grande volume de sêmen depositado pelo macho durante a cópula para então aos poucos ser encaminhado a cada oviduto.

Outros trabalhos propõem que a inserção do hemipênis ocorra apenas a nível cloacal. Pope (1941) descreve o hemipênis de *Liophis* como sendo único e tendo um perfeito encaixe com a cloaca longa da fêmea. Blackburn (1998) sugere que, em Squamata, comumente o hemipênis é restrito à cloaca.

A cópula em serpentes pode ter um período longo, durando até 28 horas (HAMMERSON, 1978; ANTONIO, 1980). Em *Spilotes pullatus* dura em média três horas. Esse longo período de cópula em serpentes parece estar envolvido com o mecanismo de ereção do hemipênis, que em serpentes, foi recentemente explicado. O relaxamento do corpo cavernoso do hemipênis, de serpentes, se dá pelo mesmo mecanismo observado em outros vertebrados. Uma potente neurotoxina que bloqueia os potenciais de ação nos nervos é envolvida no processo, a tetrodoxina. Essa neurotoxina liga-se aos poros dos canais de sódio, existentes nas membranas das células nervosas, levando ao relaxamento do corpo cavernoso (ver CAPEL et al., 2011). Dessa forma, a longa duração da cópula em serpentes, parece estar envolvida com a descoberta da presença de um canal de sódio resistente a tetrodoxina, no corpo cavernoso dos hemipênes desse taxon. Esse canal de sódio diferenciado, resistente a tetrodoxina, pode ser responsável pela resposta lenta do músculo liso após a estimulação do nervo, e parece explicar a duração longa da cópula em serpentes (para detalhes ver CAPEL, et al., 2011).

Antes da cópula, em *Spilotes*, os machos cortejam as fêmeas. Em animais mantidos em cativeiro observa-se que o cortejo começa ocorrendo seis dias antes de a cópula acontecer. Há muito tempo tem se observado uma longa duração de corte e cópula em serpentes. Ruthven (1912) observou o comportamento de corte de cinco machos em uma fêmea de *Thamnophis* em cativeiro. Este autor registrou que a fêmea foi cortejada por todos os machos durante cinco dias antes da cópula, que teve a duração de duas horas e quinze minutos. Fêmeas que são atrativas e não receptivas aos machos tem sido observadas por outros autores (e.g. WHITTIER; TOKARZ, 1992; ALDRIDGE et al., 2005). Esse período longo de corte

observado em *Spilotes* bem como em outras serpentes *ex situ*, onde se observa fêmeas atrativas aos machos, mas não receptivas, provavelmente compreende o período de proestro observados em espécies de mamíferos. O proestro é a fase que antecede o estro no ciclo estral dos mamíferos, essa fase é caracterizada, assim como o estro, por altos níveis de estrogênio. No entanto, diferente do estro, fase em que as fêmeas aceitam a cópula, durante o proestro as fêmeas de mamíferos são atrativas para os machos, mas não são receptivas, e, não aceitam a cópula (para detalhes ver HEAPE, 1900). A condição de cativeiro talvez facilite a observação dessa fase de proestro em serpentes, uma vez que as fêmeas *ex situ*, mantidas juntamente com os machos em uma área limitada durante todo o período, não tem como escaparem da corte dos machos na nesta fase, já na natureza essas fêmeas em proestro, que estão atrativas, mas não receptivas aos machos, são podem se esquivar da corte.

O comportamento reprodutivo em serpentes envolve a corte, cópula, e em algumas espécies, combate entre os machos (CARPENTER, 1977). Das 2.700 espécies de serpentes somente para 6% tem se registrado combate entre machos (SHUETT et al., 2001). Durante o final da época de cópula (início da primavera) foi observado combate entre machos de caninanas, e em dois dos três relatos havia uma fêmea por perto. O ritual de combate das *Spilotes* parece consistir em atingir com a cabeça uma posição superior à cabeça do oponente, mostrando ser maior e superior ao adversário, o que provavelmente impressionaria a fêmea. Durante o ritual os machos se entrelaçam, realizando uma torção entre seus corpos. O entrelaçamento dos corpos parece ser consequência da tentativa de alcançar o objetivo do combate. É possível perceber que ao entrelaçar o concorrente o macho consegue segurar o oponente e encurtar o corpo do mesmo de forma que ele não possa ter a cabeça em uma posição superior a sua, o que leva o macho, que está em desvantagem, muitas vezes recuar. Dessa forma, desfazendo, em parte, o entrelaçamento, ele aumenta a área livre do corpo. Com o corpo esticado (e não entrelaçado), ele aumenta o alcance e consegue sobrepor sua cabeça a cabeça do oponente. Esse objetivo de manter a cabeça superior pode ser uma tentativa de se mostrar um macho maior. Schuett (1997) demonstrou que o tamanho dos machos é importante para o sucesso no combate e prioridade para o acasalamento. Carpenter (1977) descreve o combate para colubrídeos como sendo praticamente horizontal com os animais elevando, raramente, apenas a cabeça e parte do pescoço à cima do chão, com exceção de algumas espécies do velho mundo como *Elaphe longissima* e *Ptyas mucosa* que levantam a região cranial do corpo e tenta força a cabeça do oponente para baixo. Almeida-Santos e Marques (2002) demonstram que *Chironius* não se enquadra nesse padrão geral descrito para colubrídeos por Carpenter (1977), segundo os autores, a espécie apresenta um ritual de

combate em que os machos tendem a manter a porção cranial do corpo elevado na vertical. Essa postura de elevação da porção cranial do corpo é típica de viperídeos e nota-se, além da posição vertical, uma tentativa de empurrar a cabeça do oponente para baixo (CARPENTER, 1977). As espécies de colubrídeo citadas por Carpenter (1977) e a estudada por Almeida-Santos e Marques (2002), assim como *Spilotes pullatus*, são espécies semi-arborícolas, o que sugere que os colubrídeos que utilizem esse substrato apresentem um ritual de combate adotando a elevação da porção cranial do corpo, semelhante aos viperídeos, e não de forma horizontal como outros colubrídeos. Embora haja uma semelhança na postura do ritual de combate de *Spilotes* com o dos viperídeos, o combate é completamente diferente. Em viperídeos, como citado, observa-se os machos tentando empurrar a cabeça do oponente contra o chão (CARPENTER, 1977), o que leva a acreditar que o objetivo da competição é conter à força a cabeça do rival, já em caninanas o objetivo do combate parece ser manter a cabeça em altura superior a do oponente, para se mostrar maior. O combate em *Spilotes* tem duração aproximada de uma hora, apesar do longo tempo do ritual, o combate é inofensivo para os participantes, não resulta em qualquer tipo de prejuízo físico, além do gasto energético para os machos envolvidos.

Em dois dos casos de combate observados, havia três animais, dois dos quais participavam do ritual e ao final do combate, o provável vencedor copulou com o terceiro animal. O que leva a acreditar, que o motivo do combate foi o acesso a fêmea que estava nas cercanias. O comportamento de combate em serpentes normalmente ocorre durante a estação de acasalamento e principalmente relacionado à cópula (CAPULA; LUISELLI, 1997; SCHUETT et al., 2001; ALMEIDA-SANTOS; MARQUES, 2002), como nesses dois relatos observados em caninanas. No entanto, uma observação de combate entre machos de *Spilotes* ocorreu na primavera, no final da estação, o que não corresponde mais a época de cópula da espécie. Assim, o motivo inicial para o combate, pode ser alguma forma de dominância ou territorialismo (MARQUES et al., 2009). Nesse caso só havia dois indivíduos e os mesmos estavam combatendo, algumas vezes os machos utilizavam a cauda na tentativa de conter o oponente. Nesse relato foi observado exposição do hemipênis de um dos animais. Almeida-Santos et al., (1998) também observou em *Micrurus frontalis* um comportamento agonístico. Embora comportamento homossexual ocorra em serpentes, nem sempre essa conduta pode ser considerada um caso desse tipo de comportamento. Em alguns casos esse procedimento pode estar relacionado à interações de subordinação e dominância (TRYON; MURPHY, 1982). Em caninanas, parece que a ação de expor o hemipênis, durante o combate, não se trata de comportamento homossexual ou interações de subordinação e dominância, como observados

por Tryon e Murphy (1982). A exposição do órgão copulatório com tentativa de introduzi-lo no outro macho, parece ter sido uma estratégia de contenção, com o objetivo de prender o corpo do rival impedindo que ele pudesse se locomover a frente, e com isso ganhar comprimento, para alcançar com sua cabeça a posição mais elevada, mostrando ser maior e superior. A utilização do hemipênis, portanto, parece ter tido a mesma função da utilização da cauda, a de contenção. Se o macho conseguisse introduzir o órgão copulatório no outro e o intumescer, a contenção seria bem mais eficiente, uma vez que a cauda desliza com facilidade e o hemipênis intumescido na cloaca manteria o oponente preso.

O combate entre machos normalmente está presente nas espécies que apresentam dimorfismo sexual de tamanho, sendo os machos maiores do que as fêmeas (SHINE, 1994). *Spilotes* não apresenta dimorfismo sexual de tamanho, ambos, machos e fêmeas, apresentam um comprimento (CRC) semelhante. No entanto, quando analisados por meio do cálculo de Índice de Dimorfismo Sexual, o resultado mostra machos maiores do que fêmeas. Segundo Marques e Muriel (2007) a maioria dos trabalhos tem mostrado que em colubrídeos neotropicais as fêmeas são maiores do que os machos (*e. g.* FOWLER; SALOMÃO, 1994; MARQUES, 1996; OLIVEIRA, 2001; PIZZATTO; MARQUES, 2002), mas na subfamília Colubrinae isso parece não ser o padrão (*e. g.* SHINE, 1994).

Como discutido anteriormente, a gametogênese das *Spilotes* machos ocorre no verão e outono e a cópula em final de inverno. Sendo assim, os machos ao acasalarem estão com os testículos inativos, os espermatozóides transmitidos para o trato reprodutivo da fêmea são gametas que se encontram estocados no ducto deferente. A gametogênese das caninanas fêmeas tem início no outono, a época em que a espermatogênese nos machos está sendo finalizada é exatamente o período em que os folículos ovarianos das fêmeas começam a receber vitelo. No inverno o tamanho dos folículos aumenta consideravelmente, o que coincide com a estação de acasalamento da espécie. Blanchard e Blanchard (1941) discutem que a inseminação estimulou a vitelogênese na espécie estudada por eles (*Thamnophis s. sirtalis*). Bona-Gallo e Licht (1983) estudaram a influência da temperatura e da inseminação na iniciação da vitelogênese em outra subespécie de *Thamnophis sirtalis* e perceberam que apenas as fêmeas que haviam acasalado iniciaram a vitelogênese. Os autores concluíram que a inseminação parece ser um pré-requisito para a iniciação da vitelogênese. Mendonça e Crews, (1990) também afirmam que o acasalamento induz a recrudescência ovariana em *Thamnophis*. Em *Spilotes*, embora a estação de acasalamento coincida com o aumento dos folículos, o estímulo da inseminação não parece iniciar a vitelogênese. De cinco fêmeas analisadas histologicamente que continham folículos pré-ovulatórios, três haviam sido

inseminadas e duas não apresentavam espermatozóides no sistema reprodutor. Isso indica que mesmo fêmeas que não foram inseminadas iniciam a vitelogênese e os folículos chegam a um tamanho considerável, exatamente como em fêmeas inseminadas. Uma fêmea sacrificada durante a cópula foi necropsiada e já apresentava folículos pré-ovulatórios nos ovários, o que sugere que a inseminação não induz o início da vitelogênese nas *Spilotes*, mas sim que o estro das fêmeas corresponde à fase final do ciclo ovariano. E, portanto, fêmeas com folículos pré-ovulatórios, coincidentemente, encontram-se em estro e são atrativas e receptivas aos machos. Whittier e Crews (1986) e Whittier et al. (1987b) afirmam que a corte e o acasalamento não foi requisito para o início da vitelogênese em *Thamnophis* estudadas por eles (mesma espécie estudada pelos autores citados a cima). Aldridge et al. (2009) propõem uma hipótese alternativa para esses achados, sugerindo, que apenas fêmeas em início de vitelogênese são atrativas para os machos e receptivas à copula. Essa alternativa proposta por Aldridge et al. (2009) pode fazer sentido, mas talvez não exista uma ligação direta entre a vitelogênese e fêmeas receptivas, como ele relaciona. Em *Spilotes* as fêmeas receptivas são as que apresentam o estágio final da vitelogênese, e se em *Thamnophis* o que se observa são fêmeas receptivas no início da vitelogênese, pode-se simplesmente concluir que as espécies de serpentes apresentam o estro em diferentes períodos, e não parece ser a vitelogênese que influencia o estro nessas fêmeas, bem como não parece ser a cópula que influencia o início da vitelogênese.

Sugere-se, que todas as fêmeas maduras sexualmente de *Spilotes pullatus* iniciem o desenvolvimento folicular e desenvolvam folículos pré-ovulatórios durante a estação reprodutiva (inverno), pois todas as fêmeas no final de inverno apresentam os folículos pré-ovulatórios. Na primavera algumas fêmeas apresentam os ovos nos ovidutos, as que não apresentam ovos, são fêmeas que possuem folículo em estágio inicial (vitelogênese primária) e apresenta o oviduto distendido e/ou cicatriz de ovulação nos ovários, o que indica que essas fêmeas ovularam e fizeram ovipostura durante a estação. Todas essas fêmeas da população ciclando no mesmo período permite classificar o ciclo das caninanas fêmeas como sazonal de acordo com a classificação de Mathies (2011), e ainda sugere que *Spilotes* possui um ciclo anual. Existem algumas fêmeas na primavera que não apresentam nem ovos nem sinais de que fizeram ovipostura, e ainda apresentam folículos grandes na primavera, mas os folículos são menores do que os das fêmeas com folículos pré-ovulatórios no final do inverno. Isso pode indicar que essas fêmeas, por não ovularem no inverno, podem ter entrado em um estágio de involução folicular, ou seja, esses folículos seriam absorvidos pelo organismo da fêmea, e por isso essas fêmeas apresentam folículos intermediários entre pré-ovulatório e primários. Dessa

forma, sugere-se que em *Spilotes* a cópula seja responsável pela indução da ovulação nas fêmeas, e que, portanto as caninanas que não copularam no final do inverno teriam seus folículos absorvidos durante a primavera. Isso caracterizaria as caninanas, como animais de ovulação reflexa.

É bem conhecido para varias espécies de mamíferos (*e. g.* gatos, ferrets, ursos, lhamas e coelhos) que a cópula é o estímulo primordial para que ocorra a ovulação, o que é chamado de ovulação reflexa (para revisão, ver KAUFFMAN; RISSMAN, 2006). Esse fenômeno é pouco estudado em répteis, foi sugerido na espécie de serpente *Boiga irregularis* por Mathies et al., (2004) e demonstrado na espécie de quelônio *Caretta caretta* por Manire et al., (2008).

Em espécies com ovulação reflexa, vários estímulos são importantes para que ocorra a ovulação, mas o principal é o estímulo da vagina e da cérvix durante o coito (KAUFFMAN; RISSMAN, 2006).

Os hemipênes de caninanas possuem numerosos espinhos, principalmente na porção média do órgão. Esses espinhos nos hemipênes podem ser formados de uma matriz de colágeno altamente calcificada, como o observado em *Crotalus* (CAPEL et al., 2011). Talvez a presença de espinhos no corpo dos hemipênes de *Spilotes* possua uma função estimulatória a nível cloacal para induzir a ovulação na fêmea. Em algumas espécies de mamíferos em que as fêmeas possuem ovulação reflexa, uma das funções que tem sido proposta para os espinhos penianos dos machos é a de estímulo para ovulação (*e.g.* ZARROW; CLARK, 1968). Nesse caso, os espinhos dos hemipênes das *Spilotes* pode não ter apenas a função de ancoragem do hemipênis na cloaca da fêmea durante a cópula, como sugerido por Pope (1941) e Ludwig e Rahn (1943). O hemipênis é introduzido em uma condição de meio intumescido e depois de introduzido ocorre a intumescência completa do órgão (EDGREN, 1953). Os machos de caninana possuem um hemipênis robusto e com um diâmetro grande, o próprio órgão intumescido causa uma dilatação na região da cloaca da fêmea de *Spilotes* como o observado também em por Edgren (1953) em *Heterodon platyrhIno*. Essa própria dilatação, por si só, provavelmente cause um atrito no interior da cloaca da fêmea, mantendo-o ancorado durante a cópula. Portanto, conclui-se que os espinhos são úteis, porem, dispensáveis para está função. Sugere-se que esses espinhos nos órgãos copulatórios de *Spilotes* tenham também uma função estimulatória. Pope (1941) relata ainda que a parede interna da cloaca da fêmea, de espécies cujo macho possui espinhos nos hemipênes, é espessa, e que a parede da cloaca de fêmeas, de espécies em que os machos não possuem espinhos no órgão copulatório, é fina. Essa região da cloaca em *Spilotes pullatus* apresenta-se realmente bem espessa e pode estar relacionada a uma área rica em receptores que captariam os estímulos relacionados à ovulação reflexa.

No momento da ovulação é preciso que os ovidutos já estejam preparados para a produção dos ovos. A diferenciação e o crescimento das glândulas uterinas da casca do ovo ocorrem durante o período de crescimento folicular e vitelogênese, antecedendo a ovulação (GIRLING, 2002). As fêmeas de caninanas apresentam a hipertrofia das glândulas da casca diretamente relacionada com a vitelogênese. Fêmeas com folículos pré-ovulatórios apresentam as glândulas endometriais, presentes no oviduto médio, hipertrofiadas. Logo após a ovulação, principalmente nas 24h subsequentes, as glândulas uterinas dos squamatas ovíparos secretam as fibras protéicas que se depositam ao redor do ovo formando a casca (PALMER et al., 1993). Uma vez que a cópula em caninanas ocorre quando os folículos encontram-se pré-ovulatórios, é possível correlacionar a hipertrofia das glândulas ao período de cópula das caninanas, assim como se relaciona a hipertrofia do segmento sexual renal do macho ao período de cópula.

Outro tipo de glândula encontrada nos ovidutos de *Spilotes pullatus*, e que são relacionadas com reprodução, são glândulas alveolares com ductos formados por células ciliadas. Alguns trabalhos relatam que essas glândulas se comunicam com receptáculos seminais ou túbulos de estocagem de espermatozóides (FOX, 1956; PERKINS; PALMER, 1996; ROJAS, 2009). Em *Spilotes* só foram observados os ductos ciliados e em nenhum animal se observou espermatozóides nesse local. Como essa espécie apresenta fertilização logo após a cópula essas glândulas podem ter a função de abrigarem os espermatozóides apenas durante a ovulação. Como um abrigo, para que esses gametas não estejam no lúmen do oviduto quando o primeiro folículo ovulado for em direção ao útero. Essa ação poderia empurrar os espermatozóides para o oviduto médio. Uma vez que os espermatozóides encontram-se nos ductos dessas glândulas, e não no lúmen, à medida que cada folículo passar no infundíbulo em direção ao útero médio, esses gametas podem sair dos ductos e tentarem a fecundação de todos os folículos. Talvez apenas essas glândulas sejam suficientes para esta função, como essa espécie não necessita estocar os espermatozóides por um longo tempo, pode ser que não haja a necessidade de grandes receptáculos.

Os folículos das caninanas que estão próximos de serem ovulados (pré-ovulatórios) bem como os ovos possuem um formato esfereóide. Esses folículos possuem em média 41,10mm ($\pm 4,67$), e os ovos medem em média 53,97mm ($\pm 8,06$) de eixo maior. Os folículos pré-ovulatórios estão dispostos alinhados nos ovários com uma leve inclinação em relação ao plano horizontal do animal, de forma com que a porção caudal do folículo mais cranial sobrepõe à região cranial do mais caudal. Essa disposição ocupa menos espaço dentro da cavidade celomática das fêmeas, permitindo o desenvolvimento de um número maior de

folículos, o que é importante para essa espécie, uma vez que a fecundidade é baixa. O tamanho do ovo não é relacionado ao tamanho da fêmea, fêmeas menores podem apresentar ovos de tamanhos maiores do que fêmeas maiores, embora a quantidade de ovos nesse caso seja menor. Sugere-se que o tamanho dos ovos possui uma relação inversa a quantidade dos mesmos. A média de ovos postos pelas caninanas é de 8,82 ($\pm 1,81$) ovos por postura. Marques (1998) sugere que serpentes arborícolas apresentam menor fecundidade, bem como serpentes ovíparas, o que talvez justifique a baixa fecundidade da *Spilotes* em relação ao grande tamanho corporal das fêmeas.

A espécie possui uma baixa fecundidade, mas certas fêmeas podem compensar o baixo nível de fecundidade produzindo mais de uma ninhada na mesma estação reprodutiva. Uma fêmea mantida em cativeiro no hemisfério norte produziu uma primeira ninhada de sete animais, logo após a ovipostura a fêmea apresentou estro (encontrava-se receptiva ao macho) e permitiu a cópula. Posteriormente esta fêmea realizou uma segunda postura de oito ovos. Os quinze ovos foram fertilizados e eclodiram. Tryon e Murphy (1982) alegam que em condições ótimas de cativeiro (ciclos naturais de fotoperíodo e temperatura) a produção de mais de uma ninhada é completamente possível em certo número de espécies, e parece ser dependente de disponibilidade de comida e também de machos no período certo do ano.

Uma das fêmeas de caninanas *In situ*, dissecada para as análises, apresentava folículos pré-ovulatórios nos ovários juntamente com a porção caudal do oviduto distendido. Essa região ovidutal distendida pode estar relacionada à postura recente realizada pela fêmea, uma vez que o tamanho consideravelmente grande dos ovos de *Spilotes* causa uma distensão da musculatura ovidutal. Pelo fato da fêmea ao mesmo tempo apresentar características de uma fêmea pós-postura e apresentar folículos pré-ovulatórios nos ovários, pode-se concluir que mesmo as fêmeas *In situ* de *Spilotes pullatus* podem apresentar mais de uma prenhez em uma mesma estação de cópula. Análises histológicas do oviduto dessa fêmea mostram a presença de espermatozóides na bolsa, indicando que a mesma havia copulado mesmo após uma prenhez. Tal fato sugere que as fêmeas da espécie, que produzem uma segunda ninhada na estação reprodutiva, apresentam estro após a ovipostura e são receptivas aos machos.

Para outras espécies da subfamília colubrinae já foram relatadas ocorrência de ninhadas múltiplas (PINTO et al., 2010; TRYON, 1984). Assim como a *Spilotes*, essas espécies parece apresentarem uma taxa de fertilidade baixa (o número de ovos relatados em cada ovipostura é parecido com a média observada para *Spilotes pullatus*). Ninhadas múltiplas podem ser comuns em espécies de colubrídeos. Essa estratégia parece estar associada à ampla disponibilidade de comida e boas condições ambientais durante o ano (BROWN; SHINE,

2002). Pinto e Marques (2010) mostram que embora a ocorrência de ninhadas múltiplas possa indicar um padrão reprodutivo assazonal, foi possível observar a ocorrência de ninhadas múltiplas nas duas espécies de colubrinae estudadas por eles e que apresentam reprodução sazonal, e que, portanto, essa ninhada múltipla seria provavelmente observada somente durante a estação chuvosa. O mesmo é observado nas *Spilotes*, fêmeas podem apresentar a produção de mais de uma ninhada, mas durante apenas a estação reprodutiva.

Uma vez que a produção de ninhadas múltiplas pode ser comum em espécies de colubrídeos (BROWN; SHINE, 2002), para diferenciar fêmeas que apresenta mais de um estro (produzem mais de uma ninhada) apenas dentro de um período no ano das fêmeas que apresenta mais de um estro ao longo de todo o ano (produzem ninhadas múltiplas ao longo de todo o ano), propõem-se a classificação dos ciclos reprodutivos das serpentes em: “Ciclo poliestral estacional”, o que indicaria que as fêmeas (poliestricas estacionais) podem apresentar mais de um estro, desde que apenas dentro de uma estação de acasalamento sazonal, produzindo mais de uma ninhada nesse período. Diferenciando das fêmeas que possuem ninhadas múltiplas ao longo de todo o ano (reprodução assazonal) que poderiam ser classificadas como poliestricas (“ciclo poliestral”). E ainda o termo, monoestrica utilizado para as fêmeas que apresentem apenas um estro por estação de acasalamento (“ciclo monoestral”) (a classificação sugerida aqui está sumarizada no Quadro 6).

Quadro 6 - Possível classificação de ciclos reprodutivos de serpentes em relação ao estro das fêmeas

Quantidade de ninhadas (estro)	Ciclo Reprodutivo	
	Sazonal	Contínuo
Uma ninhada (estro)	Ciclo monoestral	-
Mais de uma ninhada (estro)	Ciclo poliestral estacional	Ciclo poliestral

Brown e Shine (2002) relacionam a produção de mais de uma ninhada durante a estação reprodutiva a disponibilidade de alimento ao longo do ano. *Spilotes* possui uma dieta bem ampla, composta de pequenos mamíferos, aves, ovos e morcegos (MARTINS; OLIVEIRA, 1998; BOOS, 2001), o que demonstra que a disponibilidade de alimento é abundante para essa espécie.

Analisando a atividade alimentar (forrageiro) da espécie, observamos que macho de caninanas tendem caçar durante todo o ano, a alimentação é contínua por mais que a atividade diminua um pouco no outono e inverno. Quando se trata das fêmeas, essa atividade é diferenciada. Elas tendem forragear principalmente no verão após a estação de oviposição (primavera). Foi observada uma diminuição na frequência de forrageio com o decorrer das estações (outono, inverno e primavera), sendo a primavera a estação onde praticamente não se observa atividade de caça pelas fêmeas. Shine (1977b) relata que em espécies vivíparas a diminuição da alimentação ocorre a partir do meio da prenhez devido à sobrecarga de peso que a fêmea atinge em função do desenvolvimento da ninhada. Em caninanas essa diminuição na alimentação ocorre antes da prenhez, durante a vitelogênese, uma vez que os folículos pré-ovulatórios já apresentam um tamanho consideravelmente grande. À medida que os folículos vão aumentando de tamanho na cavidade celomática da fêmea eles ocupam um maior volume, durante o inverno e primavera as fêmeas apresentam os maiores folículos (folículos pré-ovulatórios) e ovos, conseqüentemente o espaço interno na cavidade celomática diminui, como o oviduto e os ovários são paralelos ao intestino, em fase final de ciclo reprodutivo existe uma dificuldade de passagem de conteúdo alimentar nessa região, o que sugere ser um dos motivos pelo qual as fêmeas diminuem a atividade alimentar durante esse período.

A caninana é um colubrídeo que caça de forma ativa, buscando sua presa em abrigos ou ninhos, tanto no chão como em copas de árvores (MARQUES, 1998). Como essas fêmeas encontram-se mais pesadas durante a fase final do ciclo, em virtude dos grandes folículos e ovos na cavidade celomática, isso dificulta a locomoção o que leva a diminuição da caça de forma ativa, sendo esse outro provável motivo pelo qual as fêmeas diminuem a atividade alimentar durante essa fase.

Já após a estação de ovipostura, o número de fêmeas se alimentando é maior do que o de machos, o que justifica, uma vez que as fêmeas passaram um período sem se alimentarem e a demanda de energia é maior do que a dos machos que se alimentam continuamente.

Embora a maioria das fêmeas tende a não se alimentar durante a fase final do ciclo reprodutivo, isso não representa uma regra, existem fêmeas *In situ* que mesmo em fase final de ciclo se alimentam, o que sugere que sejam essas as fêmeas que apresentem a produção de mais de uma ninhada dentro da mesma estação reprodutiva. Algumas fêmeas *ex situ* também se alimentam durante a fase final do ciclo, e outras fêmeas rejeitam o alimento, algumas fêmeas produzem mais de uma ninhada na mesma estação reprodutiva, e outras não. Isso demonstra que não é apenas a disponibilidade de comida e condições ótimas ambientais que influenciam a produção de mais de uma ninhada na estação reprodutiva, existem fatores

individuais como a capacidade de caçar e obter sucesso nesta atividade durante a prenhez, bem como o próprio interesse em se alimentar e capacidade de digestão durante esse período.

A postura dos ovos de caninana ocorre no início da primavera, início da estação chuvosa. Durante esse período é possível encontrar fêmeas com o oviduto distendido devido à ovipostura ou ainda cicatriz de ovulação nos ovários. Outros colubrídeos da região sudeste do Brasil apresentam esse mesmo período do ano como época de postura dos ovos, *e. g.* *Oxyrhopus guibei* (PIZZATTO; MARQUES, 2002), *Mastigodryas bifossatus* (MARQUES; MURIEL, 2007), *Chironius flavolineatus* e *C. quadricarinatus* (PINTO et al., 2010). Esse período representa temperatura e umidade ótimas para a incubação dos ovos e para o desenvolvimento dos embriões. Fêmeas que põem seus ovos em temperatura ótima para o desenvolvimento dos embriões produzem um maior número de filhotes normais (sem má formação congênita) e aumenta sua contribuição para gerações futuras (VINEGAR, 1977). Além disso, filhotes nascidos em temperaturas médias (ótima) emergem dos ovos em menos tempo do que filhotes incubados em altas ou baixas temperaturas. Os filhotes incubados em temperaturas baixas têm mais dificuldades de se locomoverem, capturar e comer alimentos do que os filhotes incubados em temperaturas médias ou altas. A temperatura não influencia apenas o período de incubação, mas também o desempenho dos filhotes necessário para a sobrevivência (BURGER, 1991).

O tempo de incubação dos ovos de *Spilotes pullatus* dura em média 73 dias, e a eclosão ocorre durante o verão. Os animais mantidos em cativeiro e que fizeram a ovipostura durante o inverno (e não durante a primavera, como observado nos animais *In situ*) possuem um período de incubação maior, em média 102 dias. Segundo Packard et al. (1983) e Gutzke e Packard (1987) o período de incubação é diretamente influenciado pela temperatura de incubação, o que justificaria o longo período de incubação dos ovos das *Spilotes* cativas que fizeram ovipostura no inverno, já que a temperatura dessa estação não seria a ótima para a incubação dos ovos desse colubrídeo.

Em algumas fêmeas do final da primavera e do verão, estações após a o período reprodutivo, foi possível observar toda a região da submucosa da tuba completamente margeada por glândulas acinosas simples, essas glândulas desembocam seus ductos no lúmen do oviduto. Durante outras estações e mesmo em algumas fêmeas durante o verão ou primavera, não foi observado qualquer tipo de glândula na tuba. Por essas glândulas serem observadas em apenas algumas fêmeas das estações pós-postura e não em todas as fêmeas dessa estação, provavelmente seja um tipo de glândula que se desenvolva em um período curto e por isso é de difícil observação. Em tartarugas, Sharkar et al. (1995) observou que

durante um curto período, no pico do ciclo reprodutivo, da ovulação até oviposição, surgem glândulas na submucosa na região do infundíbulo e istmo do oviduto. Mas o trabalho relata que essas glândulas estão presentes durante toda a fase do ciclo nas outras regiões do oviduto. As glândulas observadas na tuba do oviduto de *Spilotes*, e que parece surgir apenas por um curto período após a estação de postura, não se parece com nenhum outro tipo de glândula observada em outras porções do oviduto, sugerindo se tratar de uma glândula com outra função. Provavelmente a função dessas glândulas não esteja relacionada com a produção dos ovos, uma vez que elas só foram notadas em algumas fêmeas após a estação de oviposição e que apresentavam apenas folículos primários nos ovidutos. Essas glândulas podem estar envolvidas com algum tipo de secreção que ajudaria a recuperação dos ovidutos após a oviposição. Em várias descrições de ovidutos de Squamata, o infundíbulo e a tuba não são diferenciados (ver revisão GIRLING, 2002). Em *Spilotes* sugere-se a diferenciação dessas regiões, uma vez que, mesmo que aparentemente por um período curto, há uma diferença histológica e provavelmente funcional dessas porções.

O padrão de atividade de serpentes tropicais tem uma forte influência de vários fatores, dentre eles a reprodução (MARQUES et al., 2000). A atividade anual das caninanas tem certa relação com o ciclo reprodutivo da espécie, mas relação direta, apenas com determinados eventos do ciclo. A espécie mostra uma atividade maior durante o verão e início do outono, tanto adultos como juvenis. O pico de atividade dos filhotes está relacionado à fatores reprodutivos (recrudescência). Como a eclosão dos ovos ocorre durante o verão é de se esperar que durante essa estação e a estação seguinte, outono, se observe um maior número de juvenis na população. Outros trabalhos também têm mostrado o pico de atividade dos filhotes durante a estação de eclosão dos ovos, e também a estação logo após esse período (e.g. SALOMÃO et al., 1995; ROJAS, 2009). Já a maior atividade dos adultos, durante o verão e início do outono, não parece estar relacionada diretamente com a reprodução. Outro fator que pode influenciar a atividade de certas espécies é a disponibilidade de alimentos (MARQUES et al., 2000). O trabalho de Marques et al., (2000) sobre atividade sazonal, relata que de quatro espécies com base na mesma dieta, roedores, apenas uma não variava o padrão de atividade, as outras três, dentre elas *Spilotes pullatus*, apresentavam uma sazonalidade na atividade. Com isso, o trabalho conclui que a disponibilidade de presas por si só não explicaria a atividade sazonal em *Spilotes* e nas outras duas espécies. Como discutido anteriormente, os machos de caninanas caçam durante todo o ano, já as fêmeas tendem a se alimentarem mais durante o período do verão e outono (período entre um ciclo reprodutivo e outro), a atividade de caça dos machos juntamente com a das fêmeas, durante esse período,

pode contribuir para esse pico de atividade dos adultos, durante essa época. Essa sazonalidade observada em caninanas, realmente não é justificada somente com disponibilidade de presas, mas pode estar relacionada ao maior período de forrageio da espécie, período esse em que machos e fêmeas encontram-se forrageando. Portanto o pico de atividade de *Spilotes* adultas tem uma relação direta com o forrageio das fêmeas e, o declínio de atividade, uma relação direta com a fase vitelogênica das fêmeas, uma vez que, mesmo com disponibilidade de presas o forrageio das fêmeas tende a diminuir de acordo com o avanço do desenvolvimento folicular ovariano.

Os outros eventos do ciclo como, corte, cópula e ovipostura não influenciam no pico da atividade sazonal dos adultos, mas pode ser observado um pequeno aumento na atividade correspondendo à época desses eventos, que ocorrem no final do inverno e início da primavera.

Existem alguns trabalhos que sugerem a classificação dos ciclos reprodutivos de serpentes. Aldridge et al. (2009) sugerem o termo pré-ovulatório e pós-ovulatório para descrever a ocorrência temporal da espermatogênese, vitelogênese, comportamento de acasalamento e produção de hormônios em serpentes. Onde pré-ovulatório seria o período em que o evento ocorreria imediatamente antes da ovulação e pós-ovulatório o período em que o evento ocorreria depois da ovulação. As caninanas da região sudeste do Brasil possui os testículos ativos, realizando a espermatogênese, durante o verão e outono, e os espermatozoides são estocados, ao longo dos ductos deferentes, durante todo o inverno, quando os testículos encontram-se inativos, e então ocorre a cópula e ovulação. A espermatogênese das caninanas pode então ser classificada de acordo com a ocorrência temporal em, pós-ovulatória. A vitelogênese seria classificada como pré-ovulatória, uma vez que se inicia no final de outono e a ovulação ocorre no final do inverno. E a cópula é também considerada pré-ovulatória, já que a espécie copula e a ovulação ocorrer dentro de pouco tempo depois.

Assim como os machos possuem um período de quiescência na espermatogênese (inverno e primavera), e portanto são classificados como tendo gametogênese cíclica descontínua, a gametogênese da fêmea também tem um período de quiescência (primavera e verão), e isso a classifica como cíclica descontínua. Uma vez que esse ciclo é sincronizado em todas as fêmeas da população, logo, assim como os machos, o ciclo das caninanas fêmeas também é sazonal (de acordo com a classificação sugerida por MATHIES, 2011).

“Há muitos anos atrás, o Rio Iguaçu corria livre, sem corredeiras e nem cataratas. Ali era a morada do deus M’boi, senhor da terra, um deus que tinha a forma de uma serpente e era filho de Tupã, o deus supremo. O cacique da tribo, o guerreiro Igobi, tinha uma filha de nome Naipi, a índia mais bonita da tribo. Como era de costume consagrar a jovem mais bonita da tribo ao deus serpente, Naipi foi consagrada à M’boi passando a viver somente para ele. Mas havia entre os índios da tribo um forte guerreiro, jovem e valente, chamado Tarobá, que se apaixonou por Naipi. Um dia foi anunciado a festa da consagração da jovem índia. Enquanto o pajé e os caciques bebiam cauim, bebida feita de milho fermentado, e os guerreiros dançavam, Tarobá raptou a formosa Naipi. Fugiu com ela rio abaixo numa canoa que era rapidamente arrastada pela correnteza das águas. Quando M’boi, o deus serpente, ficou sabendo que Naipi tinha desaparecido, ficou muito bravo e tomado pela fúria, o deus M’boi penetrou nas entranhas da terra e retorceu seu corpo de serpente, isso fez com que a terra rachasse e naquele ponto se abriu uma extensa e terrível catarata. Na queda, de oitenta metros de altura, a pequena canoa desapareceu para sempre. Naipi foi transformada em uma das grandes rochas centrais das cachoeiras. Tarobá virou uma palmeira, a beira do abismo, inclinada sobre as gargantas do rio. Bem debaixo de seus pés encontra-se a entrada da gruta onde o deus serpente, permanece ali, vigiando Tarobá condenado a contemplar eternamente sua amada sem poder tocá-la.”

(Lenda indígena caingangues que explica a origem das Cataratas do Iguaçu)

Conclusão

6 CONCLUSÃO

As caninas, *Spilotes pullatus*, da região sudeste do Brasil apresentam um ciclo reprodutivo sazonal anual, com as fêmeas podendo apresentar mais de um estro durante o período de acasalamento (poliétricas estacionais). Os machos possuem os testículos ativos, produzindo gametas durante o verão e o outono. As fêmeas iniciam a gametogênese no outono e finalizam no inverno. O final do inverno compreende o período de cópula da espécie, que precede a ovulação das fêmeas. Os espermatozoides utilizados durante a cópula são armazenados ao longo dos ductos deferentes dos machos, desde a espermição, no outono, até o final do inverno, na estação de cópula. Observa-se uma hipertrofia do segmento sexual renal, nos machos, que se inicia no outono e permanece até o final do inverno, coincidindo com a estação de acasalamento. Nessa espécie existe um ritual de combate entre machos. Após a estação de cópula os machos ainda apresentam espermatozoides nos ductos, de forma que machos maduros permanecem o ano todo com estocagem de gametas. As fêmeas realizam ovipostura durante a primavera, principalmente no início da estação. No verão os ovos eclodem, e principalmente o início da estação compreende o período de recrutamento dos filhotes, finalizando um ciclo reprodutivo e iniciando outro, com a gametogênese dos machos, ocorrendo nesse mesmo período.

“No Início havia apenas águas primordiais, e delas nasceu Atum, o deus serpente. Atum masturbou-se e o seu sêmen ao ser derramado pelas águas, deu origem a Shu, deus do ar, e Tefnut, deusa da umidade. E depois, tudo passou a existir [...] Diante de sua criação, Atum falou: “Sou aquilo que permanece; [...] o mundo voltará ao caos Inicial, e então eu me transformarei em serpente, que nenhum homem conhece, que nenhum deus vê! [...] E então Atum se tornou Rá, o deus sol, Senhor Supremo do Egito.

(Mitologia egípcia que explica o surgimento do universo)

Referências

REFERÊNCIAS

- ABE, A. S.; FERNANDES, W. Polymorphism in *Spilotes pullatus anomalepis* BOCOURT (Reptilia, Serpentes: Colubridae). **Journal of Herpetology**, v. 11, n. 1, p. 98-100, 1977.
- ALDRIDGE, R. D. Female reproductive cycles of the snakes *Arizona elegans* and *Crotalus viridis*. **Herpetologica**, v. 35, p. 256-261, 1979.
- ALDRIDGE, R. D. Oviductal anatomy and seasonal sperm storage in the southeastern crowned snake (*Tantilla coronata*). **Copeia**, v. 1992, p. 1103-1106, 1992.
- ALDRIDGE, R. D.; BUFALINO, A. P.; REEVES, A. Pheromone communication in the watersnake, *Nerodia sipedon*: a mechanistic difference between semiaquatic and terrestrial species. **American Midland Naturalist**, v. 154, p. 140-150, 2005.
- ALDRIDGE, R. D.; GOLDBERG, S. R.; WISNIEWSKI, S. S.; BUFALINO, A. P.; DILLMAN, C. B. The reproductive cycle and estrus in the colubrid snakes of temperate North America. **Contemporary Herpetology**, v. 2009, n. 4, p. 1-31, 2009.
- ALDRIDGE, R. D.; JELLEN, B. C.; SIEGEL, D. S.; WISNIEWSKI, S. S. The sexual segment of the kidney. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. **Reproductive biology and phylogeny of snakes**. Florida: CRC Press, Boca Raton, 2011. p. 477-509. v. 9: JAMIESON, B. G. M. (Ed). Reproductive biology and phylogeny series.
- ALEKSIUK, M.; GREGORY, P. T. Regulation of seasonal mating behavior in *Thamnophis sirtalis parietalis*. **Copeia**, v. 1974, p. 681-689, 1974.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M. **Modelos reprodutivos em serpentes: estocagem de esperma e placentação em *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)**. 204 f. Tese (Doutorado em Anatomia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; LAPORTA-FERREIRA, I. L.; ANTONIAZZI, M. M.; JARED, C. Sperm storage in males of the snake *Crotalus durissus terrificus* (Crotalinae: Viperidae) in southeastern Brazil. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 139, p. 169-174, 2004.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; MARQUES, O. A. V. Male-male ritual combat in the colubrid snake *Chironius bicarinatus* from the Atlantic Forest, southeastern Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v. 23, p. 528-533, 2002.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; MARQUES, O. A. V.; PIZZATTO, L. Intra-sex synchrony and inter-sex coordination in reproduction of the coral snake *Micrurus corallinus* (Elapidae). **Herpetological Journal**, v. 16, p. 371-376, 2006.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; ORSI, A. M. Ciclo Reprodutivo de *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae): morfologia e função do oviduto. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, p. 109-112, 2002.

ALMEIDA-SANTOS, S. M.; SALOMÃO, M. G. Long-term sperm storage in the neotropical rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* (Viperidae: Crotalinae). **Japanese Journal Herpetology**, v. 17, p. 46-52, 1997.

ALMEIDA-SANTOS, S. M.; SALOMÃO, M. G. Reproductive strategies in tropical pitvipers, genus *Bothrops* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). In: SCHUETT, G; HÖGGREN; GREENE, H. W. (Ed.): **Biology of the Vipers**. Carmel, Indiana: Biological Sciences Press, 2002. p. 445-462.

ALMEIDA-SANTOS, S. M. ; SHIDMIT, F. L.; BALESTRIN, R. L. *Micrurus frontalis* (Coral Snakes) Male Combat. **Herpetological Review**, v. 29, p. 242-242, 1998.

ALVES, L. M.; MARENGO, J. A.; CASTRO, C. A. C. Início das chuvas na região Sudeste do Brasil: análise climatológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE METEOROLOGIA, 12., 2002, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: SBMET, 2002. 1 CD-ROM.

AMARAL, A. D. Estudo sobre ophidios neotrópicos XIX. Revisão do gênero *Spilotes* Wagler, 1830. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 4, p. 275-298, 1929.

ANDERSON, P. **The reptiles of Missouri**. Columbia; Missouri. U.S.A: University of Missouri Press, 1965.

ANTONIO, F. B. Mating-behavior and reproduction of the eyelash viper (*bothrops-schlegeli*) in captivity. **Herpetologica**, v. 36, p. 231-233, 1980.

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS-DOS-SANTOS. A. **Bioestat – Aplicações Estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Belém, Pará: Universidade Federal do Pará, 2007. (Software Estatístico).

BACON, P. R. **Flora & fauna of the Caribbean: an introduction to the ecology of the West Indies**. Texas: Key Caribbean Publications, 1978. 319 p.

BLACKBURN, D. G. Structure, function, and evolution of the oviducts of squamate reptiles, with special reference to viviparity and placentation. **The Journal of Experimental Zoology**, v. 282, p. 560-617, 1998.

BLANCHARD, F. N.; BLANCHARD, F. C. Factors determining time of birth in the garter snake *Thamnophis sirtalis sirtalis* (Linnaeus). **Papers of the Michigan Academy of Science, Arts and Letters**, v. 26, p. 161-176, 1941.

BONA-GALLO, A.; LICHT, P. Effects of temperature on sexual receptivity and ovarian recrudescence in the garter snake *Thamnophis sirtalis parietalis*. **Herpetologica**, Chicago, v. 39, p. 173-182, 1983.

BOOS, H. E. A. **The snakes of Trinidad and Tobago**. Texas: Texas A & M University Press. College Station, 2001. 270 p.

BROWN, G. P.; SHINE, R. Reproductive ecology of a tropical natricine snake, *Tropidonophis mairii* (Colubridae). **Journal of Zoology**. Lond. v. 258, p. 63-72, 2002.

BURGER, J. Effects of incubation temperature on behavior of hatchling pine snakes: implications for reptilian distribution. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 28, n. 4, p. 297-303, 1991.

CAPEL, R. O.; MÓNICA, F. Z.; PORTO, M.; BARILLAS, S.; MUSCARÁ, M. N.; TEIXEIRA, S. A.; ARRUDA, A. M. M.; PISSINATTI, L.; PISSINATTI, A.; SCHENKA, A. A.; ANTUNES, E.; NAHOUM, C.; COGO, J. C.; OLIVEIRA, M. A. de; NUCCI, G. de. Role of a novel tetrodotoxin-resistant sodium channel in the nitrenergic relaxation of corpus cavernosum from the South American rattlesnake *Crotalus durissus terrificus*. **Journal of Sexual Medicine**, v. 8, p. 1616-1625, 2011.

CARPENTER, C. C. Communication and display of snake. **American Zoology**, v. 17, p. 217-223, 1977.

CLESSON, D.; BAUTISTA, A.; BALECKAITIS, D.; KROHMER, R. Reproductive biology of male Eastern Garter Snakes (*Thamnophis sirtalis sirtalis*) from a Denning population in Central Wisconsin. **American Midland Naturalist**, v. 147, p. 376-386, 2002.

CREWS, D. Gamete production, sex hormone secretion and mating behavior uncoupled. **Hormones and Behavior**, v. 14, p. 22-28, 1984.

CREWS, D. Reptilian Reproduction, Overview, pp. 254-259. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. (Ed.). **Encyclopedia of Reproduction**. New York: Academic Press, 1999. v.4.

DENARDO, D. F. Reproductive biology. In: MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**, 2. Ed. California: Saunders Elsevier, 2006. p. 376-390.

DOWLING, H. G.; SAVAGE, J. M. A guide to the snake hemipenis: a survey of basic structure and systematic characteristics. **Zoologica**, v. 45, p. 17-30, 1960.

DUARTE, M. R. *Spilotes pullatus* (Serpentes: Colubridae): biometry and polymorphism. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 62, p. 84, 2005.

DUARTE, M. R.; ALBUQUERQUE, C. E. *Spilotes pullatus anomalepis* (Serpentes: Colubridae): Courthip and Mating. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 63, p. 93, 2006.

EDGREN, R. A. Copulatory adjustment in snakes and its evolutionary implications. **Copeia**, v. 1953, p. 162-164, 1953.

FITCH, H. S. **Reproductive cycles in lizards and snakes**. Kansas: University of Kansas, 1970. p. 1-247. (Miscellaneous Publication, n. 52).

FITCH, H. S. Reproductive cycles in tropical reptiles. **Occasional Papers of the Museum of Natural History University of Kansas**, v. 96, p. 1-53, 1982.

FOWLER, I. R.; SALOMÃO, M. G. A study of sexual dimorphism in six species from the colubrid genus *Philodryas*. **The snake**, v. 26, p. 117-122, 1994.

FOX, H. The urogenital system of reptiles. In: GANS, C.; PARSONS, T. S. **Biology of the Reptilia**, London: Academic Press, v. 6, p. 1-122, 1977.

FOX, W. A comparison of the male urogenital systems of blind snakes, Leptotyphlopidae and Typhlopidae. **Herpetologica**, v. 21, p. 241-256, 1965.

FOX, W. Seminal receptacles of snakes. **Anatomical Record Journal**, v. 124, p. 519-539, 1956.

GIBBONS, J. W.; LOVICH, J. E. Sexual dimorphism in turtles with emphasis on the slider turtle (*Trachemys scripta*). **Herpetological Monographs**, v. 4, p. 1-29, 1990.

GIRLING, J. E. The reptilian oviduct: a review of structure and function and directions for future research. **Journal of Experimental Zoology**, v. 293, p. 141-170, 2002.

GOLDBERG, S. R.; PARKER, W. S. Seasonal testicular histology of the colubrid snakes, *Masticophis taeniatus* and *Pituophis melanoleucus*. **Herpetologica**, v. 31, p. 317-322, 1975.

GRAHAM, S. **An integrative analysis of reproduction and stress in free-living male cottonmouths, *Agkistrodon piscivorus***. 2006. 85p. Dissertação (Mestre em Ciências) – College of Arts and Sciences, Georgia State University. E.U.A., 2006.

GREGORY, P. T. Communal denning in snakes. In: SEIGEL, R. A.; HUNT L. E.; KNIGHT, J. L.; MALARET, L.; ZUSCHLAG, N. L. **Vertebrate Ecology and Systematics: a tribute to Henry S. Fitch**. Kansas: University of Kansas Press, 1984. p. 57-75.

GUILLINGHAM, J. C. Social behavior. In: SEIGEL, R. A.; COLLINS, J. T.; NOVAK, S. S. (Ed.). **Snakes, ecology and evolutionary biology**. Nova Iorque: McMillan Publishing Company, 1987. p. 184-209.

GUTZKE, W. H. N.; PACKARD, G. C. Influence of the hydric and thermal environments on eggs and hatchlings of bull snakes *Pituophis melanoleucus*. **Physiological Zoology**, v. 60, p. 9-17, 1987.

HAMMERSON, G. A. Observations on reproduction, courtship, and aggressive-behavior of striped racer, *masticophis-lateraliseuryxanthus* (reptilia, serpentes, colubridae). **Journal of herpetology**, v. 12, p. 253-255, 1978.

HAUZMAN, E.; COSTA, A. C. O. R.; SCARTOZZONI, R. R. *Spilotes pullatus* (Tiger Ratsnake). Reproduction. **Herpetological Review**, v. 36, n. 3, p. 328, 2005.

HEAPE, W. The sexual season of mammals and the relation of the “pro-oestrus” to menstruation. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, (New Series), v. 44, p. 1-70, 1900.

JUNQUEIRA, L. C. U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemical Journal**, v. 11, p. 447-455, 1979.

LANGHI, R.; NARDI, R. Ensino de astronomia: erros conceituais mais comuns presentes em livros didáticos de ciências. **Caderno Brasileiro de Ensino de Física**, v. 24, n. 1, p. 87-111, 2007.

LUDWIG, M.; RAHN, H. Sperm storage and copulatory adjustment in the prairie rattlesnake. **Copeia**, v. 1943, p. 15-18, 1943.

KAUFFMAN, A. S.; RISSMAN, E. F. Neuroendocrine control of mating-induced ovulation. In: NEILL, J. D. (Ed). **Knobil and Neill's physiology of reproduction**, 3. ed. Amsterdam: Elsevier, p. 2283–2326, 2006.

KEOGH, J. S. Evolutionary implications of hemipenial morphology in the terrestrial Australian elapid snakes. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 125, p. 239-278, 1999.

KROMER, R. W.; MARTINEZ, D.; MASON, R. T. Development of the renal sexual segment in immature snakes: effect of sex steroid hormones. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 139, p. 55-64, 2004.

MANIRE, C. A.; BRYRD, L.; THERRIEN, C. L.; MARTIN, K. Mating-induced ovulation in loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*. **Zoo Biology**, v. 27, p. 213–225, 2008.

MARINHO, C. E.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; CARNEIRO, S. M.; YAMASAKI, S. C.; SILVEIRA, P. F. Peptidase activities in *Crotalus durissus terrificus* semen. **Reproduction**, v. 136, p. 767-776, 2008.

MARINHO, C. E.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; YAMASAKI, S. C.; SILVEIRA, P. F. Peptidase activities in the semen from the ductus deferens and uterus of the Neotropical rattlesnake *Crotalus durissus terrificus*. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 179, p. 635-642, 2009.

MARQUES, O. A. V. **Composição faunística, história natural e ecologia de serpentes da Mata Atlântica, na região da Estação Ecológica Juréia-Itains, São Paulo, SP**. 135 p. Tese (Doutorado em Zoologia) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

MARQUES, O. A. V. Reproduction, seasonal activity and growth of the coral snake, *Micrurus corallinus* (Elapidae), in the southeastern Atlantic forest in Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v. 17, p. 277-285, 1996.

MARQUES, O. A.V.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; RODRIGUES, M. G. Activity patterns in coralsnake, genus *Micrurus* (Elapidae), in south and southeastern Brazil. **South American Journal of Herpetology**, v. 1, p. 114-120, 2006.

MARQUES, O.A.V.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; RODRIGUES, M. G.; CAMARGO, R. Mating and reproductive cycle in the neotropical colubrid snake *Chironius bicarinatus*. **South American Journal of Herpetology**, v. 4, n. 1, p. 78-80, 2009.

MARQUES, O. A. V.; ETEROVIC, A.; ENDO, W. Seasonal activity of snakes in the Atlantic Forest in southeastern Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v. 22, p. 103-111, 2000.

- MARQUES, O. A. V.; ETEROVIC, A.; SAZIMA, I. **Serpentes da Mata Atlântica. Guia ilustrado para Serra do Mar. Holos Editora Ltda, Ribeirão Preto.** Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. 184 p.
- MARQUES, O. A.V.; MURIEL, A. P. Reproductive biology and food habitats of the swamp racer snake *Mastigodryas bifossatus* (Colubridae) from southeastern South America. **Journal of Herpetology**, v. 17, p. 104-109, 2007.
- MARQUES, O. A. V.; SAZIMA, I. História natural dos répteis da Estação Ecológica Juréia-Itains. In: MARQUES, O. A. V.; DULEBA, W. **Estação Ecológica Juréia-Itains. Ambiente Físico, flora e fauna.** São Paulo: Holos, 2004. p. 257-277.
- MARTINS, M.; OLIVEIRA, M. E. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. **Herpetological Natural History**, v. 6, p. 78-150, 1998.
- MATHIES, T. Reproductive cycles of tropical snakes. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. **Reproductive biology and phylogeny of snakes.** Florida: CRC Press, Boca Raton, 2011. p. 511- 550. v. 9: JAMIESON, B. G. M. (Ed). Reproductive biology and phylogeny series.
- MATHIES, T.; CRUZ, J. A.; LANCE, V. A.; SAVIDGE, J. A. Reproductive biology of male brown treesnakes (*Boiga irregularis*) on Guam. **Journal of Herpetology**, v. 44, p. 209-221, 2010.
- MATHIES, T.; FRANKLIN, E. A.; MILLER, L. A. Proximate cues for ovarian recrudescence and ovulation in the brown treesnake (*Boiga irregularis*) under laboratory conditions. **Herpetology Review**. v. 35, p. 46-49, 2004.
- MENDONÇA, M. T.; CREWS, D. Controlo f atractivity and receptivity in female red-sided garder snakes. **Hormones and Behavior**, v. 40, p. 43-50, 2001.
- MENDONÇA, M. T.; CREWS, D. Mating-induced ovarian recrudescence in the red-sided garter snake. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 166, p. 629-932, 1990.
- MOURÃO, R. R. F. **Da Terra às galáxias – uma introdução à astrofísica.** Rio de Janeiro: Vozes, 1998.
- NILSON, G.; ANDREN, C. Function of renal sex secretion and male hierarchy in the Adder, *Vipera berus*, during reproduction. **Hormones and Behavior**, v. 16, p. 404-413, 1982.
- OLIVEIRA, J.L. **Ecologia de três espécies de dormideira, *Sibynomorphus* (Serpentes: Colubridae).** 2001. 60 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Instituto de Biociências da USP, São Paulo, 2001.
- PACKARD, M. J.; BOARDMAN, T. J.; MORRIS, K. A.; SHUMAN, R. D. Influence of water exchanges by flexible-shelled eggs of painted turtles *Chrysemys picta* on metabolism and growth and embryos. **Physiological Zoology**, v. 56, p. 217-230, 1983.
- PALMER, B. D.; DEMARCO, V. G.; GUILLETTE, L. J. Oviductal morphology and eggshell formation in the lizard *Sceloporus woodi*. **Journal of Morphology**, v. 217, p. 205-217, 1993.

PERKINS, J. M.; PALMER, B. D. Histology and functional morphology of the oviduct of an oviparous snake, *Diadophis punctatus*. **Journal of Morphology**, v. 277, p. 67-79, 1996.

PETERS, J. A.; OREJAS-MIRANDA, B. **Catalogue of neotropical Squamata**. U.S. National Museum Bulletin. v. 297, pt. 1, p. 1-347, 1970.

PINTO, R. R.; MARQUES, O. A. V.; FERNANDES, R. Reproductive biology of *Chironius flavolineatus* and *Chironius quadricarinatus*, from the Brazilian Cerrado domain. **Amphibia-Reptilia**, v. 31, p. 463-473, 2010.

PIZZATTO, L.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; MARQUES, O. A. V. Biologia reprodutiva de serpentes brasileiras. In: NASCIMENTO, L. B.; OLIVEIRA, M. E. **Herpetologia no Brasil II**. (Eds.). Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2007. p. 201-221.

PIZZATTO, L.; MARQUES, O. A. V. Reproductive biology of the false coral snake *Oxyrhopus guibei* (Colubridae) from southeastern Brazil. **Amphibia – Reptilia**, v. 23, p. 495–504, 2002.

PONTES, A. L.; ROCHA, C. F. D. **Serpentes da Serra do Mendanha, Rio de Janeiro, RJ: ecologia e conservação**. Rio de Janeiro: Technical Books. 2008. 147 p.

ROJAS, C. A. **Modulação fisiológica do ciclo reprodutivo, comportamento sexual e atividade sazonal em *Sibynomorphus mikanii* e *Sibynomorphus neuwiedii* (dormideira)**. 2009. 115 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

RUTHVEN, A. G. On the breeding habits of Butler's garter snake. **Biological Bulletin**, v. 24, p. 18-20, 1912.

SAINT-GIRONS, H. S. Reproductive cycles of male snakes and their relationships with climate and female reproductive cycles. **Herpetologica**, v. 38, p. 5-16, 1982.

SAVAGE, J.M. **The amphibians and reptiles of Costa Rica: a herpetofauna between two continents, between two seas**. Chicago: Chicago Press, 2002. 934 p.

SAZIMA, I.; HADDAD, C. F. B. Répteis da Serra do Japi: notas sobre história natural. In: MORELLATO, L. C. P. **História natural da Serra do Japi: Ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil**. Campinas: UNICAMP e FAPESP, 1992. p. 212-236.

SCHUETT, G. W. Body size and agonistic experience affect dominance and mating success in male copperheads. **Animal Behavior**, v. 54, p. 213-224, 1997.

SCHUETT, G. W. Is long-term sperm storage an important component of the reproductive biology of temperate pitvipers? In: CAMPBELL, J. A.; BRODIE, E. D. **Biology of Pitvipers**. Texas: Selva, 1992. p. 199-216.

SCHUETT, G. W.; CARLISLE, S. L.; HOLYCROSS, A. T.; O'LEILE, J. K.; HARDY, D. L.; VAN KIRK, E. A.; MURDOCH, W. J. Mating system of male Mojave rattlesnakes (*Crotalus scutulatus*): seasonal timing of mating, agonistic behavior, spermatogenesis, sexual segment of the kidney, and plasma sex steroids. In: SCHUETT, G. W.; HÖGGREN, M.;

DOUGLAS, M. E.; GREENE, H. W. Ed.). **Biology of the vipers**, Carmel Indiana: Eagle Mountain, 2002. p. 515-532.

SCHUETT, G. W.; GERGUS, E. W. A.; KRAUS, F. Phylogenetic correlation between male-male fighting and mode of prey subjugation in snakes. **Acta Ethologica**, v. 4, p. 31-49, 2001.

SEVER, D. M.; HOPKINS, W. A. Renal sexual segment of the ground skink, *Scincella laterale* (Reptilia, Squamata, Scincidae). **Journal of Morphology**, v. 266, p. 46-59, 2005.

SEVER, D. M.; SIEGEL, S. D.; BAGWILL, A.; ECKSTUT, E. M.; ALEXANDER, L.; CAMUS, A.; MORGAN, C. Renal sexual segment of the cottonmouth snake *Agkistrodon piscivorus* (Reptilia, Squamata, Viperidae). **Journal of Morphology**, v. 1, p. 1-14, 2007.

SEVER, D. M.; STEVENS, R. A.; RYAN, T. J.; HAMLETT, W. C. Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*). III. Sexual segment of the male kidney. **Journal of Morphology**, v. 252, p. 238-254, 2002.

SECCHIERO, G.; FELIZ, J. C. Nascimento de uma ninhada de caninanas (*Spilotes pullatus*) no zoológico de Cubatão – Parque Ecológico Cotia-Pará. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE PAULISTA DE ZOOLOGICOS, 14., 2005, São Vicente. **Anais...** São vincente: SPZOO, 2005. v. 1.

SHINE, R. “Costs” of reproduction in reptiles. **Oecologia**, v. 46, p. 92-100, 1980.

SHINE, R. Growth rates and sexual maturation in six species of Australian elapid snakes. **Herpetologica**, v. 34, p. 73-79, 1978.

SHINE, R. Reproduction in australian elapid snakes I. Male reproductive cycles: testicular cycles and mating seasons. **Australian Journal of Zoology**, v. 25, p. 647-653, 1977a.

SHINE, R. Reproduction in australian elapid snakes II. Female reproductive cycles. **Australian Journal of Zoology**, v. 25, p. 655-666, 1977b.

SHINE, R. Sexual size dimorphism in snakes revisited. **Copeia**, v. 1994, n.2, p. 325-346, 1994.

SIEGEL, D. S.; FORD, N. B. Reproductive ecology. In: SEIGEL, D. S.; COLLINS, J. T. **Snakes: ecology and evolutionary biology**. Nova Iorque: McMillan, 1987. p. 210-252.

SIEGEL, D. S.; MIRALLES, A.; CHABARRIA, R. E.; ALDRIDGE, R. D. Female reproductive anatomy: cloaca, oviducto, and sperm storage. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. **Reproductive biology and phylogeny of snakes**, Florida: CRC Press, Boca Raton, 2011a. p. 347-409. v. 9: JAMIESON, B. G. M. (Ed). Reproductive biology and phylogeny series.

SIEGEL, D. S.; MIRALLES, A.; TRAUTH, S. E.; ALDRIDGE, R. D. The phylogenetic distribution and morphological variation of the “pouch” in female snakes. **Acta Zoologica** (Stockholm) v. 00, p. 1-9, 2011b.

SILVA, M. V. **Serpentes do Estado do Acre: riqueza, dieta, etno-conhecimento e acidentes ofídicos**. 2006. 81 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Acre, 2006.

STATSOFT, Inc. **Statistica (data analysis software system)**. Version 8. 2009. (Software E estatístico).

TRAUTH, S. E.; SEVER, D. M. Male urogenital ducts and cloacal anatomy. *In*: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. **Reproductive biology and phylogeny of snakes**, Florida: CRC Press, Boca Raton, 2011. p. 411-475. v. 9: JAMIESON, B. G. M. (Ed). Reproductive biology and phylogeny series.

TRYON, B.W. Additional instances of multiple egg-clutch production in snakes. **Transactions of the Kansas Academy of Science**, v. 87, p. 98-104, 1984.

TRYON, B. W.; MURPHY, J. B. Miscellaneous notes on the reproductive biology of reptiles. 5. Thirteen varieties of the genus *Lampropeltis*, species *mexicana*, *triangulum* and *zonata*. **Transactions of the Kansas Academy of Science**, v. 85, n. 2, p. 96-119, 1982.

TSAI, T. S.; TU, M. C. Reproductive cycle of male Chinese green tree vipers, *Trimeresurus s. stejnegeri*, in northern Taiwan. **Journal of Herpetology**, v. 34, p. 424-430, 2000.

URIBE, M. C.; GONZALES-PORTER, G.; PALMER, B. D.; GUILLETTE, L. J. Cyclic histological changes of the oviductal-cloacal junction in the viviparous snake *Toluca lineata*. **Journal of Morphology**, v. 237, p. 91-100, 1998.

WERNER, Y. L.; DROOK, K. The multipartite testis of the snake *Leptotyphlops phillipsi*. **Copeia**, v. 1967, p. 159-163, 1967.

WHITTIER, J. M., CREWS, D. Ovarian development in red-sided garter snakes, *Thamnophis sirtalis parietalis*: relationship to mating. **General and Comparative Endocrinology**, v. 61, p. 5-12, 1986.

WHITTIER, J. M.; MASON, R. T.; CREWS, D. Plasma steroid levels of female red sided garter snakes, *Thamnophis sirtalis parietalis*: Relationship to mating and gestation. **General and Comparative Endocrinology**, v. 67, p. 33-43, 1987b.

WHITTIER, J. M.; MASON, R. T.; CREWS, D.; LICHT, P. Role of light and temperature in the regulation of reproduction in red-sided garter snakes, *Thamnophis sirtalis parietalis*. **Canadian Journal of Zoology**, v. 65, p. 2090-2096, 1987a.

WHITTIER, J. M.; TOKARZ, R. R. Physiological regulation of sexual behavior in female reptiles. *In*: GANS, C.; CREWS, D. **Biology of the Reptilia**, Chicago: The University of Chicago Press, v. 18, 1992. p. 24-69.

VANZOLINI, P. E.; RAMOS-COSTA, A. M. M.; VITT, L. J. **Répteis da caatinga**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, 1980. 161p.

VINEGAR, A. Evolutionary implications of temperature induced anomalies of development on snake embryos. **Herpetologica**, v. 30, p. 72-74, 1977.

VOLSØE, H. Structure and seasonal variation of the male reproductive organs of *Vipera berus* (L). *Spolia. Zoological Musei Hauniensis*, Kopenhagen, v. 5, p. 1-172, 1944.

ZAHER, H. Hemipenial morphology of the South American Xenodontine snakes, with a proposal for a monophyletic Xenodontinae and a reappraisal of colubroid hemipenes. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 240, pp. 168, 1999.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, 1996. 875 p.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, 1984.

ZARROW, M. X.; CLARK, J. H. Ovulation following vaginal stimulation in a spontaneous ovulator and its implications. **Journal of Endocrinology**, v. 40, p. 343-52, 1968.

Caninana, *Spilotes pullatus*, Jorge Padilha, 2012. Desenho base a lápis conté