KARINA NUNES KASPEROVICZUS

**Evolução das estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca*
(Serpentes: Viperidae)**

São Paulo

2013

KARINA NUNES KASPEROVICZUS

**Evolução das estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca*
(Serpentes: Viperidae)**

Tese 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 a obtenção do título
de Doutor em Ciências

Departamento:
Cirurgia

Área de concentração:
Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientadora:
Profa. Dra. Selma Maria de Almeida Santos

São Paulo
2013

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.2849
FMVZ

Kasperoviczus, Karina Nunes
Evolução das estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca* (Serpentes:Viperidae) / Karina Nunes
Kasperoviczus. -- 2013.
134 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.
Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2013.

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

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Profa. Dra. Selma Maria Almeida Santos.

1. Histórias de vida. 2. Variação geográfica. 3. Ciclo reprodutivo. 4. Viperidae. 5. Biologia reprodutiva. 6. *Bothrops jararaca*. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Evolução das estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)", protocolado sob o nº 2786/2012, utilizando 840 (oitocentas e quarenta) serpentes de coleções zoológicas, sob a responsabilidade do(a) 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 13/3/2013.

We certify that the Research "Evaluation of reproductive strategies of *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)", protocol number 2786/2012, utilizing 840 (eight hundred and forty) snakes, 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 3/13/2013.

São Paulo, 18 de março de 2013.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: KASPEROVICZUS, Karina Nunes

Título: Evolução das estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)

Tese 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 a obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Nivea e Sergio (in memoria), por todos que me ensinaram e pelo que sou hoje! Amo eternamente!!!

Ao meu marido Henrique Braz, por sua dedicação, paciência (muita paciência) e amor incondicional. Por estar ao meu lado nos bons e nos maus momentos, por todo incentivo, ajuda e por confiar em mim! Meu bem... Sem você essa tese não teria saído! Muito obrigado por tudo, eu te amo!!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao meu Deus, por sua bondade comigo.

A minha orientadora Selma Maria de Almeida Santos, pela orientação, pelo exemplo profissional, pelo incentivo nos momentos difíceis (que não foram poucos), por toda confiança, carinho, respeito, preocupação e acima de tudo pela amizade conquistada nesses anos de convivência.

Ao Otavio A. V. Marques, pelas valiosas sugestões durante a realização deste trabalho, pelo apoio e amizade.

Ao Ricardo J. Sawaya e Fausto Barbo, por me permitirem o acesso aos *B. jararaca* da ilha dos Franceses, pelos pelas valiosas sugestões, e principalmente pela amizade.

Ao Hebert Ferrarezzi pelas preciosas sugestões, pela ajuda, amizade.

Aos curadores das seguintes coleções: Francisco L. Franco; Coleção Herpetológica do Instituto Butantan. Gláucia Funk Pontes; Coleção Herpetológica da Puc Rio Grande do Sul. Márcio Borges Martins; Coleção de répteis da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Julio Cesar de Moura Leite; Museu de História Natural Capão da Imbuia. Daniel Fernandes; Coleção de répteis da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Paula Passos e Ronaldo Fernandes; Coleção de répteis do Museu Nacional do Rio de Janeiro. Paulo Manzani; Coleção de répteis da Unicamp. Hussan Zaher; Coleção de répteis do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. Luciana Barreto Nascimento; Museu de Ciências Naturais da Puc-MG. Ricardo J Sawaya; (RJS), pela permissão do exame dos exemplares.

A Glaucia Funk por disponibilizar dados de nascimento em cativeiro de *B. jararacas* do Clado sul.

À Serena Migliore, Betina Flora e Daniela Gennari, por toda a ajuda com a coleta de dados e pela amizade.

Ao querido amigo Valdir José Germano pelo companheirismo, por cada palavra de incentivo e apoio, tanto nos bons, como nos maus momentos, por todo carinho, por cada minuto gasto para me ajudar no meu trabalho que foi de extrema importância, sem o qual não teria conseguido chegar até aqui. Valzinho, muito obrigado! Você foi e é muito importante pra mim!

Ao meu Henrique B. P. Braz, pela amizade, por todo amor, paciência e carinho. Por toda a ajuda em todas as fases desse trabalho, sem o qual não teria conseguido finalizar com êxito. Muito obrigado por tudo!

A Marta Antoniazzi e Carlos Jared por gentilmente terem liberado o uso dos equipamentos no Laboratório de Biologia Celular e a Simone Jared pelo auxílio no uso dos equipamentos no mesmo laboratório.

A Livia C. Santos e Claudio A. Rojas, pelas discussões, sugestões, confecção de algumas lâminas histológicas e pela amizade conquistada neste período de convivência.

As funcionárias do Laboratório de Ecologia e Evolução, Dona Maria M. Vendramini, Darina B. Favorito e Vera Moraes Torres, Kelly Kishi, Adriana Batista, Adriano, Fellone, Cristiene Martins, Regina Elaine da Silva por tanta ajuda com a coleta de dados, fotos, planilhas, enfim... pela amizade, carinho e paciência.

Aos colegas e estagiários do Laboratório de Ecologia e Evolução: Leticia R. Sueiro, Livia Cristina dos Santos, Karina Maria Pereira da Silva (Karina 2 hehe), Kalena Barros, Cristian Gomes, Natália Torello e a todos os estagiários, pela amizade e pelo convívio e por tornarem meus dias mais agradáveis.

Aos colegas e integrantes do Clube do Café, Henrique, Cristian, Natalia e Selma por cada cafezinho e momentos de descontração, pela amizade e companheirismo.

As minhas grandes amigas Elisabeth M. Montes, Kelly Kishi, Cintia Vieira da Silva, Aline Barbosa, Silvia Guerra e Vanessa Meira, pela amizade, pelo apoio em todos estes anos de convivência e por me fazerem mais feliz só por saber que vocês existem na minha vida. Muito obrigado meninas!

Ao Ronaldo, Rose e demais funcionários do laboratório de histologia do departamento de anatomia da USP, por todo auxílio prestado.

Ao Gileno Brasileiro, funcionários e estagiários do Laboratório especial de Coleções Zoológicas do Instituto Butantan, pela ajuda com a coleta de dados de *B. jararaca* e pela paciência ao longo do meu doutorado.

A minha família, em especial ao meu tio Rodrigues, por todo apoio que tem me dado nestes anos, pela correção do texto, pelo incentivo, carinho, amizade e por acreditar em mim.

A Vilma César, por me ajudar com bibliografias, pela amizade, apoio e por acreditar em mim.

A minha avó, pelo amor, orações, compreensão e apoio.

A minha irmã Karen, por existir na minha vida e ser minha irmã...Ká, sou a pessoa mais sortuda do mundo por ter você como minha irmã... te amo até depois que para de respirar, obrigado por tudo, compreensão, amizade, cuidado, enfim...

Ao meu cunhado Raniel, e aos mais lindos sobrinhos (Davi e Noah) de todo o mundo de todos os universos e de todas as galáxias rsrs...por tornarem meus dias mais alegres!! Por todo amor, e distração (que foram muito importantes). Obrigado por acreditar e confiar em mim.

A meu amigo Ivan de Sá, por me acompanhar e por trabalhar comigo em tantas coleções visitadas, que mesmo não gostando de serpentes e sem entender direito o que estava fazendo, me ajudou tão prontamente!

A minha sogra Joilza por cada almoço, por cuidar da minha gatinha, pelo cuidado incondicional,
Muito obrigada sogra!

As minhas cunhadas Ana Claudia e Paula.

Aos tios Claribel e Júlio Cesar, por terem cedido a casa de Peruíbe para conseguir escrever a tese em paz.

A FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo) pelo suporte financeiro essencial a este trabalho (**processo nº 2011/50026-0**), e a Capes pelo auxílio financeiro no início deste trabalho.

A todos que de uma maneira ou de outra, foram extremamente importantes para mim, neste período em que desenvolvi a minha dissertação, mas que por um lapso de memória tenha me esquecido...

Meu muito obrigado!!!

RESUMO

KASPEROVICZUS, K. N. **Evolução das estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)**. [Evolution of reproductive strategies of *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)]. 2013. 134 f. Tese (Doutorado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Esse trabalho teve como objetivo estudar aspectos importantes das estratégias reprodutivas de machos e fêmeas de *Bothrops jararaca* do clado norte (CN) e sul (CS) e das ilhas de Búzios (SP), Ilhabela (SP) e ilha dos Franceses (ES). Para isso, foram analisados exemplares de *B. jararaca* preservadas de diversas coleções zoológicas. Machos e fêmea de *B. jararaca* do CN foram significativamente maiores que os machos e fêmeas CS, no entanto tiveram cabeças relativamente menores e foram menos robustos. Fêmeas do CN têm em média maior fecundidade e filhotes maiores do que fêmeas do CS. O ciclo reprodutivo de machos e fêmeas de ambas as populações é sazonal e não variou entre as estações do ano. Fêmeas do CN e do CS tem cópula outonal. A vitelogênese tem início no final do verão e fêmeas grávidas são observadas a partir do final do inverno. Nascimentos de *B. jararaca* de ambos os clados podem ser observados principalmente no verão e podem se estender até o início do outono. A estocagem de espermatozoides no útero e no infundíbulo foi observada principalmente no outono e inverno. Ciclos reprodutivos de machos de ambos os clados são considerados do tipo pós-nupcial ou do tipo I. O início da produção de espermatozoides é na primavera e a fase ativa pode ser observada no verão. No outono e no inverno, os testículos estão inativos. Estocagem de espermatozoides nos ductos deferentes foi observada durante todos os meses do ano e o segmento sexual renal (SSR) apresentou a fase mais ativa (fase secretora) na primavera e verão (sincronizado com a espermatogênese nos testículos) e fase não secretora no outono e no inverno. Esse padrão dos ciclos dos machos foi observado em ambos os clados. Dessa forma, foram observadas variações geográficas nas características de histórias de vida entre as populações do CN e CS, porém, não foram observadas diferenças entre os padrões de ciclos reprodutivos. Assim, o ciclo reprodutivo de machos e fêmeas de *B. jararaca* do CN e do CS são conservativo na espécie.

Palavras-chave: Histórias de vida. Variação geográfica. Ciclo reprodutivo. Viperidae. Biologia reprodutiva. *Bothrops jararaca*.

ABSTRACT

KASPEROVICZUS, K. N. **Evolution of reproductive strategies of *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)**. [Evolução das estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae). 2013. 134 f. Tese (Doutorado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

This research aimed to study important aspects of reproductive strategies in male and female of *Bothrops jararaca* from north clade (CN), south clade (CS) including the islands of Búzios (SP), Ilhabela (SP), and Franceses (ES). We analyzed specimens of *B. jararaca* preserved on several zoological collections. Male and female of *B. jararaca* from CN were significantly longer than male and female from CS, however they had relatively smaller heads and were less robust. Male and female of *B. jararaca* from CN were significantly larger than individuals from CS, had relatively smaller heads and were less robust. Females from CN had on average higher fecundity and larger offspring than females of CS. The reproductive cycle of males and females from both populations was seasonal and the timing of events was also similar between clades. Females of CN and CS have autumn mating season. The vitellogenesis starts in the end of the summer and pregnant females are observed from late winter. Births of *B. jararaca* occurred from early summer to the beginning of autumn. Sperm storage in the uterus and infundibulum was mainly observed during autumn and winter. Reproductive cycles of male of both clades are type postnuptial or a type I. The beginning of the sperm production occurs in spring and the active phase was observed in the summer. During autumn and winter, the testicles are inactive. Sperm storage in the different ducts was observed throughout the year and the sexual segment of the kidney (SSK) shows a more active phase during spring and summer and non-secretory phase on autumn and winter. This pattern of cycles of male was observed in both clades. In conclusion, there is geographical variation in life-history characteristics between CN and CS populations. However, differences among the reproductive cycle pattern were not evident. Then, the reproductive cycles of male and female of CN and CS are conservative in the species.

Keywords: Life-history. Geographical variation. Reproductive cycle. Viperidae. Reproductive biology. *Bothrops jararaca*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
<i>1.1 BOTHROPS JARARACA – REVISÃO DA LITERATURA</i>	19
2 OBJETIVO GERAL	22
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
2.2 HIPÓTESES E PREDIÇÕES PARA AS ESTRATÉGIAS REPRODUTIVAS DE <i>B. JARARACA</i>	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 ÁREA DE ESTUDO	24
3.2 COLETA DE DADOS	28
3.2.1 <i>Morfologia e histórias de vida</i>	32
3.2.2 <i>Índice de dimorfismo sexual no tamanho (SSD)</i>	34
3.2.3 <i>Caracterização dos ciclos reprodutivos de machos e fêmeas</i>	35
3.2.4 <i>Contração da Musculatura Uterina (UMT)</i>	35
3.2.5 <i>Histologia Gonadal</i>	36
3.2.6 <i>Fecundidade</i>	38
3.2.7 <i>Época de nascimento dos filhotes</i>	38
3.2.8 <i>Tamanho dos filhotes</i>	38
3.3 FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS	39
4 RESULTADOS	41
4.1 MORFOLOGIA E HISTÓRIA DE VIDA (COMPARAÇÕES INTERSEXUAIS)	41
4.2 MORFOLOGIA E HISTÓRIA DE VIDA (COMPARAÇÕES INTERPOPULACIONAIS)	47
4.2.1 <i>Morfologia e Maturidade sexual</i>	47
4.2.2 <i>Fecundidade</i>	51
4.2.3 <i>Tamanho dos filhotes</i>	53

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS CICLOS REPRODUTIVOS	54
4.3.1 <i>Fêmeas</i>	54
4.3.1.1 Vitelogênese, gestação e época de nascimento dos filhotes	54
4.3.1.2 Época de cópula	56
4.3.1.3 Contração da musculatura uterina (UMT) e estocagem de esperma	57
4.3.1.4 Morfologia e estocagem infundibular	60
4.3.2 <i>Machos</i>	66
4.3.2.1 Morfologia macroscópica	66
4.3.2.2 Ciclo espermatogênico, estocagem de espermatozoides nos ductos deferentes e SSR	69
4.3.2.2.1 Segmento sexual renal (SSR)	69
4.3.2.2.2 Ciclo espermatogênico	73
4.3.2.2.3 Ductos deferentes	76
4.4 RESUMO DOS CICLOS REPRODUTIVOS DE MACHOS E FÊMEAS DE <i>BOTHROPS JARARACA</i> DO CN E CS	80
4.5 JARARACAS INSULARES	82
4.5.1 <i>Maturidade sexual</i>	82
4.5.2 <i>Tamanho do corpo (interpopulacional)</i>	82
4.5.3 <i>Tamanho do corpo entre as populações insulares</i>	84
4.6 CICLOS REPRODUTIVOS	85
4.6.1 <i>Fêmeas</i>	85
4.6.1.1 Contração da musculatura uterina (UMT)	85
4.6.2 <i>Machos</i>	87
4.6.2.1 Ciclos reprodutivos	87
5 DISCUSSÃO	92

5.1 MATURIDADE E DIMORFISMO SEXUAL INTRAESPECÍFICO	92
5.2 MORFOLOGIA E HISTÓRIAS DE VIDA	94
5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS CICLOS REPRODUTIVOS	98
5.3.1 <i>Fêmeas</i>	99
5.3.2 <i>Machos</i>	104
6 CONCLUSÕES	112
REFERENCIAS	114
APÊNDICE	128

1 INTRODUÇÃO

Estratégias reprodutivas podem ser definidas como o conjunto de características manifestadas por uma espécie para alcançar o sucesso reprodutivo de modo a garantir o equilíbrio populacional (VAZZOLER, 1996). Dentre tais características podemos citar: tamanho e número de filhotes, idade e tamanho na maturidade sexual, tamanho médio do corpo do adulto, período e modo reprodutivo, sincronia reprodutiva intersexual, época da fecundação e frequência reprodutiva (SEIGEL; FORD, 1987; SHINE, 2003). Todas essas características se combinam entre si e com o ambiente impondo limites e restrições de tal maneira que os organismos necessitam ‘escolher’ uma em detrimento da outra (*trade-offs*) levando-os a alcançar um equilíbrio evolutivo nos valores intermediários (STEARNS, 1989, 1992).

Contudo, as estratégias reprodutivas apresentam considerável variação geográfica em diversas espécies animais (SIMPENDORFER et al., 2001; WAPSTRA et al., 2001; MORRISON; MARC-HERO, 2003; LITZGUS; MOUSSEAU, 2006; ALTWEGG et al., 2007). Em particular, répteis amplamente distribuídos frequentemente apresentam variação em características reprodutivas como tamanho do corpo, fecundidade, tamanho do filhote, modo e período reprodutivo (TINKLE, 1961; SEIGEL; FORD, 2001; WAPSTRA et al., 2001; JI; WANG, 2005; JENKINS et al., 2009, ZUFFI et al., 2009). As variações geográficas nas estratégias reprodutivas podem refletir adaptação local às diferentes condições ambientais ou mesmo plasticidade fenotípica induzida por fatores proximais, como temperatura e disponibilidade de recursos (BALLINGER, 1979; SAINT-GIRON, 1982; SEIGEL; FITCH, 1985; DUNHAM et al., 1988; SEIGEL; FORD, 2001).

Uma característica chave dentro das estratégias reprodutivas de serpentes e que frequentemente apresenta grande variação geográfica é o tamanho do corpo, o qual determina diretamente diversos parâmetros reprodutivos importantes. Por exemplo, a fecundidade (i.e. quantidade, tamanho e massa dos filhotes) é positivamente correlacionada com o tamanho do corpo materno, ou seja, fêmeas maiores podem produzir proles mais numerosas ou filhotes maiores (FITCH, 1970, 1982; SHINE, 1993, 1994). Portanto, variação no tamanho do corpo consequentemente implica em variação também na fecundidade.

Diversos processos podem contribuir para a variação no tamanho corpóreo em populações naturais. Primeiro, o tamanho médio do corpo é influenciado por taxas de sobrevivência diferencial nos adultos: Os animais em uma área podem ser menores do que em outra simplesmente porque eles são, na média, mais jovens (KING, 1989). Segundo, o tamanho do corpo pode diferir por modificação genética local (possivelmente por adaptação) ou mesmo devido a um efeito fenotípico direto da disponibilidade de alimento nas taxas de crescimento (MADSEN; SHINE, 1993). Características ecológicas como diversidade de espécies, competição interespecífica e dimensões de nicho variam geograficamente e podem afetar a disponibilidade de alimento em populações diferentes (BERRY et al., 1987; EBENHARD, 1990).

Contudo, embora algumas publicações relatem variação clinal no tamanho médio do corpo em répteis Squamata (e.g. ANGILLETTA et al., 2004), um claro padrão de variação ainda não pode ser traçado de forma definitiva (ASHTON, 2001; PINCHEIRA-DONOSO et al., 2008). Apesar disso, pode se notar que por vezes em ambientes pequenos e isolados como as ilhas, indivíduos insulares frequentemente tendem a apresentar valores extremos de tamanhos corporais comparados a seus parentes continentais mais próximos (CASE, 1978; SHINE, 1987; MORI; HASEGAWA, 2002; BOBACK, 2003; LIMOLINO, 2005). Nesses ambientes dois padrões são diversas vezes observados: o nanismo, descrito primeiramente por Case (1978) e mais recentemente o gigantismo (MORI, 1994). Esses diferentes padrões sugerem mudanças evolutivas na taxa e no tempo de desenvolvimento bem como na ocorrência de determinados eventos (heterocronia). Neste caso, o crescimento e aquisição da maturidade sexual (GOULD, 1977; MCKINNEY; MCNAMARA, 1991).

Assim como o tamanho do corpo dos adultos, o tamanho dos filhotes no nascimento é uma característica fundamental na história de vida de uma espécie. O tamanho dos filhotes no nascimento em muitos animais é assumido ser relacionado ao *fitness*, porque filhotes maiores são considerados ter melhor desempenho e, portanto, maiores chances de sobrevivência do que os menores (SINERVO, 1990; STEARNS, 1992). Entretanto, como os recursos reprodutivos totais disponíveis para qualquer fêmea são finitos, ela não pode aumentar o tamanho do filhote sem uma concomitante redução na quantidade de filhotes produzida (SINERVO; LICHT, 1991; EINUM; FLEMING, 2000). A decisão de uma fêmea entre produzir poucos ovos grandes ou muitos ovos pequenos reflete uma estratégia adotada por ela para maximizar o número de filhotes sobreviventes. Esses *trade-offs* também tendem a variar geograficamente. A teoria das histórias

de vida prediz que em ambientes os quais retardam o crescimento, a produção de poucos ovos grandes é favorecida por conta do resultante aumento do filhote (TAYLOR; WILLIAMS, 1984; YAMPOLSKY; SCHEINER, 1996). Características maternas e ambientais se combinam para determinar a estratégia reprodutiva ótima. Pelo fato das características maternas serem parcialmente moldadas pelo ambiente, os fatores ambientais podem ter efeitos diretos e indiretos na estratégia reprodutiva ótima.

Outra característica que varia geograficamente é a época reprodutiva. Serpentes de zonas temperadas possuem ciclos sazonais sincronizados às estações mais quentes do ano (SEIGEL; FORD, 1987). Em regiões tropicais, no entanto, os ciclos são mais variáveis podendo haver espécies com reprodução sazonal (MARQUES, 1996a; FOWLER et al., 1998; ALMEIDA-SANTOS et al., 2004; KASPEROVICZUS, 2009; ROJAS, 2009; MARQUES et al., 2013) e outras consideradas com reprodução contínua (PIZZATTO; MARQUES, 2002; PIZZATTO et al., 2008; OROFINO et al., 2010), sendo que estas últimas podem apresentar picos reprodutivos (PIZZATTO; MARQUES, 2002).

A extensão do período reprodutivo de uma serpente pode estar relacionada a fatores climáticos, disponibilidade de recursos e ao modo reprodutivo (SAINT-GIRONS, 1982; SEIGEL; FORD 1987; MARQUES, 1996a, b; MADSEN; SHINE, 2000; ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; BROWN; SHINE, 2006; PIZZATTO et al., 2007; SHINE; BROWN, 2008). Embora estudos recentes realizados com serpentes neotropicais tenham avaliado a influência de alguns destes fatores sobre o ciclo reprodutivo (MARQUES, 1996a, b; HARTMANN et al., 2004; PIZZATTO; MARQUES, 2002, 2006) ainda é difícil fazer uma predição segura para os diferentes grupos de serpentes.

Correlações entre estratégias reprodutivas e diferentes fatores ambientais, assim como traços biológicos têm estimulado pesquisadores na busca por explicações adaptativas para a diversidade reprodutiva das serpentes. Entretanto, grande parte das explicações para as variações é derivada de comparações interespecíficas o que acaba confundindo as interpretações, pois, as estratégias reprodutivas por vezes são conservativas em determinadas linhagens filogenéticas ocorrendo em diferentes regiões (VITT, 1992; ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; PIZZATTO; MARQUES, 2007). Dessa forma, comparações intraespecíficas são fundamentais no estudo da evolução das estratégias reprodutivas por reduzirem a influência filogenética e separarem tanto fatores genéticos como não genéticos, facilitando comparações robustas na

característica de interesse. Nesse sentido, espécies amplamente distribuídas são chaves porque frequentemente ocupam ambientes suficientemente diversos de forma que podemos esperar significativa diversidade nas histórias de vida. Esse foco filogenético restrito permite testes robustos de hipóteses adaptacionistas.

1.1 *BOTHROPS JARARACA* – REVISÃO DA LITERATURA

A serpente *Bothrops jararaca* proporciona uma excelente oportunidade de se investigar a influência desses fatores nas variações geográficas das estratégias reprodutivas. *B. jararaca* distribui-se amplamente no Brasil desde o sul da Bahia até o norte do Rio Grande do Sul, incluindo diversas ilhas continentais (HOGE; ROMANO-HOGE, 1981; CAMPBELL; LAMAR, 2004; CICCHI et al., 2007; CENTENO et al., 2008; SUZUKI; FURTADO, 2008). Portanto, *B. jararaca* apresenta ampla distribuição (~15° de latitude). Ocupa áreas com climas distintos, ou seja, do tipo tropical e subtropical e regiões típicas de Mata Atlântica, podendo adentrar algumas regiões de cerrado e populações de coespecíficos isoladas em ilhas. Tais diferenças climáticas e ambientais ao longo de sua distribuição podem resultar em restrições sazonais e seleção nos traços de história de vida (JI; WANG, 2005; ZUFFI et al., 2009).

Além disso, trabalhos recentes parecem indicar a ocorrência de dois filogrupos geneticamente distintos (um mais ao norte e outro mais ao sul) e provavelmente com histórias evolutivas diferentes (GRAZZIOTIN et al., 2006, SUZUKI; FURTADO, 2008). Por exemplo, Grazziotin et al (2006) realizaram análises da variação no gene mitocondrial citocromo *b* de *B. jararaca*. Tais análises mostraram uma espécie altamente diversa e a existência de dois clados geograficamente estruturados, com uma divergência bem enraizada e alopatria quase absoluta. O primeiro grupo, denominado ‘Clado Norte’, inclui as populações mais setentrionais da distribuição (Norte de SP, MG, RJ e ES) e o segundo, denominado ‘Clado Sul’, abrange as populações meridionais (Sul de SP, SC, PR, RS). O tempo de divergência entre os dois clados foi estimado em cerca de 3,8 milhões de anos atrás, no Plioceno, um período de intensas mudanças climáticas e frequentes fragmentações da floresta tropical. Além disso, os dados também sugerem que os dois grupos sofreram uma grande expansão em tamanho populacional entre 50 e 100 mil

anos atrás. Todavia, o grupo do sul exibiu um sinal mais evidente de flutuação do tamanho populacional do que o grupo do norte. Em contrapartida, algumas populações insulares de *B. jararaca* apresentam grande similaridade genética entre si e com as populações continentais adjacentes (SUZUKI; FURTADO, 2008).

Interessante notar que a zona de contato entre esses dois clados praticamente se sobrepõe à zona de transição entre os climas tropical e subtropical. Assim, diante de todas as observações acima algumas questões acerca da evolução das estratégias reprodutivas de *B. jararaca* podem ser levantadas:

- (1) Existe variação geográfica nas estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca* ao longo de sua distribuição?
- (2) O padrão geral das estratégias reprodutivas de *B. jararaca* ao longo de sua distribuição geográfica se adequa aos padrões preditos pela teoria das histórias de vida?
- (3) O período de divergência entre os dois clados (estimado em 3,8 milhões de anos) e a provável exposição a diferentes pressões seletivas ao longo de sua história evolutiva foi capaz de produzir diferentes padrões reprodutivos, similarmente ao que ocorreu com congêneres *B. insularis*, separado há aproximadamente 10 mil anos?

Até o momento, nenhum estudo sistemático a fim de analisar as variações nas estratégias reprodutivas ao longo da distribuição nesta espécie foi ainda realizado. A única variação descrita entre as diferentes zonas climáticas é a ocorrência de menores quantidades de escamas ventrais nas populações meridionais (PR e SC) em comparação às populações setentrionais (RJ, MG e ES), com os espécimes de São Paulo. Os valores apresentados são intermediários entre os dois padrões (HOGE et al., 1977). Na maioria das serpentes, o número de escamas ventrais é positivamente correlacionado com o número de vértebras e, conseqüentemente, com o tamanho do corpo (LINDELL et al., 1993; LINDELL, 1994). Portanto, a observação de Hoge et al. (1977) sugere a ocorrência de maiores tamanhos corpóreos nas populações setentrionais (i.e. Clado Norte), o que pode ter importantes implicações para a reprodução.

A reprodução em populações de *B. jararaca* do clado norte foi estudada apenas para a cidade de São Paulo, Serra do Mar e adjacências (JANEIRO-CINQUINI et al., 1993; TRAVAGLIA-CARDOSO, 2001; ALMEIDA-SANTOS, 2005; ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; MORAES, 2008). Apesar da proximidade dessas localidades, tais estudos revelaram algumas diferenças importantes nas estratégias reprodutivas. Por exemplo, Moraes

(2008) constatou diferenças significativas no grau de dimorfismo sexual entre populações litorâneas e populações de áreas adjacentes a Serra do Mar e do planalto do Estado de São Paulo e as considerou associadas às diferenças nos tamanhos das presas experimentadas por cada uma dessas populações. Para o clado sul, Alves et al (2000) apresentaram dados reprodutivos de cativeiro de espécimes procedentes do Rio Grande do Sul. As observações dos autores aparentemente sugerem algumas diferenças com relação às populações do clado norte como, por exemplo, menores tamanhos na maturidade e menores ninhadas.

Com relação às populações insulares pouco também foi feito. Porém, algumas inferências podem ser feitas a partir de estudos de algumas populações de congêneres isolados em ilhas. Por exemplo, *B. alcatraz* e *B. insularis* apresentam tamanhos corporais menores e atingem a maturidade com menores tamanhos do que *B. jararaca* do continente (MARQUES et al., 2002a, b; KASPEROVICZUS, 2009). Dados preliminares apontam diferenças no tamanho do corpo e na maturidade também nas populações de *B. jararaca* de outras ilhas do estado de São Paulo (BARBO et al., 2012). Essas diferenças poderiam ter levado a evolução de diferentes estratégias reprodutivas como observado recentemente em *B. insularis* da ilha da Queimada Grande, estreitamente aparentada com *B. jararaca* (KASPEROVICZUS, 2009). Qualquer variação no tamanho e idade na maturidade sexual tem importantes implicações para as estratégias reprodutivas de uma população em particular porque após a maturidade a energia antes destinada para o crescimento, manutenção e estoque, agora é repartida também com a reprodução (ANDREWS, 1982; ADOLPH; PORTER, 1993).

Variações nos ciclos reprodutivos também já foram evidenciadas. Machos de *B. insularis* apresentaram padrão reprodutivo singular entre os *Bothrops*, principalmente quando comparado a *jararaca* continental (KASPEROVICZUS, 2009). Enquanto *B. jararaca* apresenta um ciclo reprodutivo do Tipo I (pós-nupcial), isto é, a espermatogênese ocorre na primavera e no verão e a estocagem de espermatozoides no outono, período em que são observadas as cópulas (ALMEIDA-SANTOS, 2005), *B. insularis* apresenta um ciclo do tipo III (pré-nupcial), isto é, a espermatogênese ocorre do outono a primavera (com um período de dormência no inverno) e repouso reprodutivo no verão (KASPEROVICZUS, 2009).

2 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de variação geográfica nas estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca* dos dois filogrupos geneticamente distintos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Determinar as medidas corpóreas dos adultos e verificar a ocorrência de dimorfismo sexual;
- 2 - Estimar o tamanho corporal mínimo de maturação sexual de machos e fêmeas;
- 3 - Caracterizar os ciclos reprodutivos de machos e fêmeas avaliando-se o trato reprodutor macroscópica e microscopicamente;
- 4 - Estimar o período de corte e acasalamento e a época de fecundação;
- 5 - Verificar a ocorrência de espermatozoides no trato reprodutor das fêmeas (vagina, útero, infundíbulo) por meio de análises histológicas, bem como o fenômeno da estocagem de espermatozoides por meio de contração da musculatura uterina (UMT);
- 6 - Estimar a fecundidade e determinar as medidas corpóreas dos neonatos;
- 7 - Caracterizar a atividade sazonal das populações dos clados norte e sul.

2.2 HIPÓTESES E PREDIÇÕES PARA AS ESTRATÉGIAS REPRODUTIVAS DE *BOTHROPS JARARACA*

Dada a diferença relativamente grande nos climas, extensão da sazonalidade e tipos de ambientes ao longo da distribuição de *B. jararaca*, presume-se que haja variação nas estratégias reprodutivas. Tais diferenças podem resultar em restrições sazonais e seleção dos caracteres reprodutivos.

Baseado nas informações publicadas e na teoria das histórias de vida espera-se que as populações do clado sul (clima temperado) apresentem adultos com menores tamanhos corporais e consequentemente com menores tamanhos na maturidade, pois tal ambiente é propenso a maior sazonalidade dificultando o crescimento. Tal condição acarretaria uma redução na fecundidade para essas populações. Contudo, buscando contrabalancear a perda no número de ovo e maximizar o sucesso reprodutivo elas investiriam em ovos maiores resultando assim em filhotes maiores no nascimento. Além disso, a quantidade de filhotes tenderia a variar menos nas populações de clima temperado.

Com relação ao ciclo reprodutivo espera-se que o ciclo seja sazonal em todas as populações de estudo. Entretanto, as populações temperadas tenderiam a diferir apenas na extensão, sendo mais amplo na região tropical. Já o ciclo dos machos espera-se que haja diferenças, pois o ciclo espermatogênico é altamente dependente da temperatura e de disponibilidade de recursos (KASPEROVICZUS, 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Consideramos os dados obtidos de alguns exemplares insulares (e.g. ilha de Búzios e ilha dos Franceses) bastante diferentes dos observados em *B. jararaca* (Figura 1) continentais, especialmente com relação às variações morfológicas. Dessa forma, essa tese irá tratar essas populações insulares de forma separada das populações continentais. No entanto, os métodos utilizados para o estudo dessas populações foram os mesmos utilizados para as populações continentais.

3.1 ÁREA DE ESTUDO

Esse trabalho baseou-se na divisão proposta por Grazziotin et al. (2006) em clado norte e clado sul (Figura 2). As procedências dos exemplares de *B. jararaca* analisados abrangeram quase toda a distribuição da espécie (CAMPBELL; LAMAR, 2004). O clado norte compreende as populações da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo e o clado sul os estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Não foram examinados neste trabalho exemplares provenientes da Bahia (GRAZZIOTIN et al., 2006). Foram avaliados também exemplares de *B. jararaca* provenientes de duas ilhas do litoral de São Paulo (ilha de Búzios e Ilhabela) e uma ilha do litoral do Espírito Santo (ilha dos Franceses) (Tabela 1).

Figura 1 - Foto de um exemplar adulto de *Bothrops jararaca*

Foto: Ricardo J. Sawaya. (1999)

Figura 2 - Mapa da distribuição geográfica de *Bothrops jararaca*

Fonte: Mapa extraído com permissão de Graziottin et al. (2006).

Os indivíduos do clado norte são representados por (□) e os indivíduos do clado sul por (×). As linhas sólida e pontilhada indicam os limites das supostas barreiras genéticas entre os clados.

Tabela 1 – Características das ilhas estudadas

	Área da ilha (km ²)	Distância do continente	Coordenadas Geográficas	Município/Estado
Ilhabela	335,9	1,8	23° 47' S e 45° 21' W	Ilhabela/SP
Ilha de Búzios	7,75	24,1	23° 48' S e 45° 08' W	Ilhabela/SP
Ilha dos Franceses	0,12	4,0	20° 55' S e 40° 45' W	Itapemirim/ES

As populações do clado norte ocupam áreas de clima tropical úmido-seco, com temperaturas médias anuais variando entre 18 e 24 °C. No verão, as temperaturas variam em média entre 22 e 26 °C, podendo atingir os 30 °C (Figura 3). As chuvas concentram-se no principalmente no verão quando cerca de 70% do total médio de 2000 a 3000 mm da área precipita-se entre novembro e março (MENDONÇA; DANNI-OLIVEIRA, 2007). Já as populações do clado sul ocupam regiões de clima subtropical úmido, onde a variabilidade térmica é bastante acentuada. As médias anuais situam-se entre 14 e 22 °C, com baixas temperaturas no inverno. O verão apresenta temperaturas médias mensais que variam de 20 a 26 °C (Figura 4). As chuvas distribuem-se com maior regularidade ao longo do ano (MENDONÇA; DANNI-OLIVEIRA, 2007).

Figura 3 – Climatograma relativo à área ocupada por *Bothrops jararaca* do clado norte

Figura 4 - Climatograma relativo à área ocupada por *Bothrops jararaca* do clado sul

3.2 COLETA DE DADOS

Este trabalho envolveu a coleta de dados de animais preservados de *B. jararaca* disponível em diversas coleções zoológicas brasileiras (Quadro 1).

Quadro 1 - Coleções Zoológicas que tiveram exemplares de *Bothrops jararaca* analisados.

Clado	Coleção (Sigla)
Norte	Coleção Herpetológica Alphonse Richard Hoge (IBSP)
Norte	Museu de Zoologia Prof. Adão José de Cardoso, Universidade Estadual de Campinas (ZUEC)
Norte	Hospital Vital Brazil (HVB)
Norte	Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP)
Norte	Animais disponibilizados pelo pesquisador Ricardo Sawaya, da Unifesp (RJS)
Norte	Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-MG)
Norte	Museu Nacional do Rio de Janeiro (MNRJ)
Norte	Coleção Zoológica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)
Norte	Animais de trabalho de campo de Ricardo J. Sawaya ainda não tombados em coleção (RJS)
Sul	Museu de História Natural Capão da Imbuia (MHNCI)
Sul	Museu de Ciências e Tecnologia Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP)
Sul	Coleção Zoológica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Foi analisado um total de 1358 exemplares (Apêndice A) de *Bothrops jararaca* machos e fêmeas (maduros, imaturos e neonatos) (Quadro 2), provenientes de diversas coleções zoológicas brasileiras (Quadro 1). O mapa da distribuição geográfica dos exemplares analisados encontra-se na figura 5.

Quadro 2 – Número de exemplares de *Bothrops jararaca* analisados por clado

População	Total de animais examinados	Procedência dos exemplares
<i>Clado Norte</i>		
São Paulo	316	IBSP, ZUEC
Ilha de Búzios - SP	52	IBSP
Ilhabela - SP	36	IBSP, RJS
Rio de Janeiro	177	MNRJ, UFRJ, MZUSP
Minas Gerais	55	PUC-MG, MZUSP, MNRJ, IBSP
Espírito Santo	49	MZUSP, RJS, MNRJ, IBSP
Ilha dos Franceses - ES	28	RJS
Total	713	
<i>Clado Sul</i>		
Paraná	298	MHNCI, MCP
Rio Grande do Sul	201	IBSP, MCP, UFRGS
Santa Catarina	146	MCP, UFRJ
Total	645	

Figura 5 – Distribuição geográfica dos exemplares de *Bothrops jararaca* dos clados norte e sul analisados

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013)

3.2.1 Morfologia e histórias de vida

Os dados de morfologia corpórea (comprimento do corpo, comprimento da cauda, comprimento da cabeça e massa) de *B. jararaca* foram obtidos a partir de exemplares machos e fêmeas maduros sexualmente. A maturidade sexual nas fêmeas é inferida a partir da observação do menor indivíduo com folículos vitelogênicos (>10 mm), embriões ou ovidutos pregueados no trato reprodutivo (Figura 6B; SHINE, 1977a) ou pela constatação da presença de espermatozoides no trato reprodutor (KASPEROVICZUS, 2009). Nos machos a maturidade sexual é inferida a partir da observação do menor indivíduo com ductos deferentes opacos e enovelados (SHINE, 1977b; ALMEIDA-SANTOS, 2005; Figura 7).

Figura 6 – Espécimes fêmea de *Bothrops jararaca* dissecados na região abdominal

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013)

A - Fêmea madura, porém não reprodutiva com folículos em vitelogênese primária. Note o útero posterior pregueado. **B** – Fêmea madura com embriões no ovidutos. **F** (folículo não vitelogênicos - V1 no ovário); **I** (intestino); **OV** (ovário); **UT** (útero posterior); **VT** (vitelo); * (embrião).

Figura 7 - Macho de *Bothrops jararaca* dissecado próximo à região caudal expondo os ductos deferentes direito e esquerdo

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013)

I (intestino); **H** (hemipênis); **Setas** apontam os ductos deferentes direito e esquerdo.

Ao todo foram utilizados para as análises morfológicas 216 fêmeas e 147 machos do clado norte e 182 fêmeas e 157 machos do clado sul.

Para as análises morfológicas de Ilhabela foram utilizados dados de 12 machos e 11 fêmeas. Da ilha de Búzios avaliamos 20 machos e 12 fêmeas e da ilha dos Franceses nove machos e oito fêmeas.

Cada exemplar adulto teve os seguintes dados registrados: (1) comprimentos rostro-cloacal (CRC) e caudal (CC; ambas as medidas tomadas com fita métrica milimetrada); (2) comprimento da cabeça (CCAB; com paquímetro digital; 0,01 mm) (Figura 8); (3) massa, após drenagem do líquido preservativo conforme Martins et al. (2001), com dinamômetro Pesola; 0,5 g e (4) sexo (exame gonadal).

Figura 8 – Esquema indicando as medidas corpóreas tomadas de cada indivíduo de *Bothrops jararaca*

CC (comprimento da cauda); **CCAB** (comprimento da cabeça); **CRC** (Comprimento rostro-cloacal).

3.2.2 Índice de dimorfismo sexual no tamanho (SSD)

O índice de dimorfismo sexual (SSD) foi calculado utilizando-se a fórmula: $SSD = 1 - [CRC \text{ médio dos adultos do sexo de maior tamanho} / CRC \text{ médio dos adultos do sexo de menor tamanho}]$ conforme Shine (1944).

3.2.3 Caracterização dos ciclos reprodutivos de machos e fêmeas

Para caracterizar o ciclo reprodutivo de *B. jararaca* cada exemplar foi dissecado por meio de uma incisão ventral ao longo de dois terços posteriores do corpo. As fêmeas tiveram os seguintes dados registrados: (1) o estágio folicular, ou seja, se o animal encontrava-se em vitelogênese primária (V1; Figura 6A) ou vitelogênese secundária/ovo/embrião (V2; as distinções entre folículos em vitelogênese primária (V1) e vitelogênese secundária (V2) foram feitas por meio do comprimento folicular; Figura 6B), (2) número de folículos ovarianos ou embriões, (3) tamanho do maior folículo ovariano ou embrião (com paquímetro digital; 0,01 mm) e (4) presença ou não de contração muscular uterina (Figura 9). Nos machos, os seguintes dados foram tomados: (1) comprimento, largura e espessura dos testículos direito e esquerdo (medidos com paquímetro digital; 0,01mm) e (2) largura do ducto deferente direito e esquerdo na porção caudal (medidos com paquímetro digital; 0,01mm; Almeida-Santos et al. (2004).

Para cálculo do volume testicular, foi utilizada a fórmula: $VT = 4/3 \pi abc$; onde $a = 1/2$ comprimento, $b = 1/2$ largura e $c = 1/2$ espessura (SHINE, 1980). O volume dos testículos foi utilizado como indicador da atividade espermatogênica (FOX, 1952; SHINE, 1977a; VOLSØE, 1944).

3.2.4 Contração da Musculatura Uterina (UMT)

Foi averiguada em cada fêmea a região posterior do útero para constatar a presença de contração muscular uterina (UMT; Figura 9). Segundo Almeida-Santos e Salomão (1997, 2002), contração muscular uterina é uma mudança na morfologia da região posterior do útero resultando em uma obstrução que impede a passagem do espermatozoide para o útero anterior até que ocorra a ovulação. A região posterior do útero de fêmeas de *B. jararaca* que apresentaram contração muscular uterina foi coletada para análises histológicas a fim de se verificar a presença de espermatozoides.

Figura 9 – Exemplar de fêmea de *Bothrops jararaca* dissecada na região caudal evidenciando os úteros direito e esquerdo contorcido (UMT)

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013)

I (intestino); **Setas** apontam os úteros direito e esquerdo com contração da musculatura uterina (UMT).

3.2.5 Histologia gonadal

Amostras teciduais de fêmeas e machos adultos de *Bothrops jararaca* preservados foram coletadas após exames macroscópicos para estudos de microscopia de luz. Fêmeas tiveram fragmentos coletados de útero e infundíbulo (fêmeas com embriões nos ovidutos não tiveram material coletado) e dos machos foram coletados rim, ductos deferentes e testículos. Para uma padronização somente os órgãos do lado direito foram coletados. As amostras coletadas foram recortadas em pequenas peças de 0,5 cm de aresta e colocadas em solução fixadora de paraformaldeído a 4%, tamponado em PBS em pH 7,2. O material foi desidratado em uma série crescente de etanol de 70 a 100% e diafanizado em xilol, seguido da inclusão em parafina. Cortes

finos foram realizados com 5 μm de espessura e em seguida o material foi submetido a coloração básica com hematoxilina-eosina.

A documentação do material foi feita por meio de fotografias com câmera digital (Olympus Q-Color 5) acoplada a um microscópio de luz (Olympus BX-51) utilizando-se o programa Image-Pro Express Olympus.

A fim de se caracterizar as fases espermatogênicas (análises histológicas) dos machos de *B. jararaca* foi confeccionada uma tabela para classificação dos estágios espermatogênicos, adaptada a partir de Goldberg e Parker (1975); Mcpherson e Marion (1981) e Saint-Girons (1982), utilizado por Kasperoviczus (2009), buscando assim, uma visão geral do ciclo espermatogênico dos machos com relação às diferentes épocas do ano (Quadro 3).

Quadro 3 - Classificação dos estágios espermatogênicos em machos de *Bothrops jararaca*

Estágios	Descrição dos túbulos seminíferos
1	Regressão completa; túbulos seminíferos somente com poucas espermatogônias e células de Sertoli; podem ter poucos espermatozoides na luz do lúmen.
2	Espermatogônias aumentando (crescendo) e dividindo-se; espermatócitos primários.
3	Espermátides em metamorfose com poucos espermatozoides.
4	Espermiogênese; espermatozoides maduros no lúmen (nível máximo de espermiogênese).
6	Epitélio germinal reduzido, com poucas espermatogônias, espermatócitos e espermátides; podem conter ou não espermatozoides no lúmen de uma a duas camadas de células.

Fonte: Adaptado de GOLDBERG; PARKER, 1975; MCPHERSON; MARION, 1981 e SAINT-GIRONS, 1982).

3.2.6 Fecundidade

A estimativa de fecundidade foi realizada contando-se o número de ovos/embriões nos ovidutos de fêmeas reprodutivas (SEIGEL; FORD, 1987) preservadas em coleções zoológicas ($n=56$ CS e $n=35$ CN). A fecundidade não pode ser estimada em fêmeas de ilhas devido ao baixo tamanho amostral (na ilha de Búzios e ilha dos Franceses, por exemplo, não foi encontrada nenhuma fêmea grávida).

3.2.7 Época de nascimento dos filhotes

Registros de nascimento dos filhotes foram resgatados dos registros de tombo das coleções zoológicas IBSP, MHNCI e MCP. Além disso, dados de literatura e registro de nascimentos em cativeiro também foram levantados. Informações de 21 nascimentos em cativeiro foram levantadas para o CS. Esses dados foram gentilmente cedidos por Gláucia Funk Pontes, curadora da coleção Herpetológica da PUC-RS (MCP) a partir de registros de parturição de *B. jararaca* provenientes do desativado serpentário da PUC-RS. Informações de 43 nascimentos de *B. jararaca* do CN foram levantadas a partir de exemplares mantidos em cativeiro ou no serpentário semiextensivo do Instituto Butantan. As informações foram cedidas por Selma Almeida-Santos e Leonardo Oliveira.

3.2.8 Tamanho dos filhotes

Para comparar o tamanho dos filhotes do CN e CS foi tomado o comprimento rostro-cloacal de filhotes recém-nascidos preservados em coleções zoológicas.

3.3 FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

As análises foram realizadas utilizando-se testes paramétricos ou o similar não paramétrico dependendo da natureza dos dados. As análises foram baseadas em Zar (1999) e as diferenças consideradas significativas quando $P < 0,05$.

Para as comparações morfológicas foram utilizados apenas indivíduos sexualmente maduros para evitar problemas relacionados a mudanças ontogenéticas na forma do corpo (KING, 1989). Os indivíduos com itens alimentares e as fêmeas grávidas ou com folículos em fase final de vitelogênese foram excluídos apenas das comparações de massa. O grau de dimorfismo sexual no tamanho corporal (SSD) das populações foi calculado conforme Shine (1994) utilizando-se a fórmula: $SSD = 1 - (\text{CRC médio dos adultos do sexo de maior tamanho} / \text{CRC médio dos adultos do sexo de menor tamanho})$. O dimorfismo sexual nos animais maduros foi verificado com teste-*t* (no tamanho do corpo) e com análise de covariância (para tamanho relativo da cauda, massa relativa do corpo e tamanho relativo da cabeça). Comparações interpopulacionais dos caracteres morfológicos foram realizadas com teste-*t*, ANOVA ou ANCOVA.

O ciclo reprodutivo das fêmeas foi caracterizado pela distribuição ao longo do ano do tamanho dos folículos ovarianos e a presença de embriões. A observação de espermatozoides no trato reprodutivo com uso de análises histológicas permitiu inferir o período da cópula e estocagem de esperma tanto em machos como em fêmeas. O ciclo dos machos foi caracterizado pela distribuição ao longo do ano do volume relativo dos testículos e do diâmetro relativo dos ductos deferentes.

O volume testicular foi positivamente correlacionado com o tamanho do corpo em ambos os clados (CN: $r = 0,34$; $P = 0,0009$ e CS: $r = 0,34$; $P < 0,0001$). A mesma correlação foi observada entre o diâmetro do ducto deferente e o tamanho do corpo (CN: $r = 0,49$; $P < 0,0001$ e CS: $r = 0,32$; $P < 0,0001$). Diante disso, variações sazonais no volume testicular e no diâmetro dos ductos deferentes foram testadas com análise de covariância (ANCOVA) utilizando o CRC como co-variável.

No entanto, simples análises morfométricas dos testículos e ductos por vezes têm falhado em encontrar sazonalidade no ciclo espermato gênico dos machos (KASPEROVICZUS, 2009;

SANTOS, 2009; ROJAS et al., 2013). Assim, análises histológicas dos testículos e ductos deferentes são empregadas paralelamente às análises morfométricas para confirmação do ciclo espermatogênico (KASPEROVICZUS, 2009). As fases espermatogênicas são determinadas conforme tabela de classificação dos estágios espermatogênicos, buscando assim, uma confirmação definitiva da sazonalidade do ciclo dos machos (KASPEROVICZUS, 2009). Quando mencionadas, as estações do ano foram primavera, verão, outono e inverno.

A relação entre a fecundidade (i.e. quantidade de filhotes) e o tamanho corporal das fêmeas foi investigada por análises de regressão linear, tendo o CRC como variável independente. Comparações interpopulacionais na fecundidade foram realizadas com ANCOVA, tendo como covariável o CRC materno.

A fecundidade de *B. jararaca* foi estimada calculando-se a média e o desvio padrão do número total de ovos ou embriões nos ovidutos (SEIGEL; FORD, 1987) de fêmeas reprodutivas depositadas em coleções biológicas.

Foi realizado um teste *t* para as comparações do tamanho dos filhotes entre o CN e CS.

Todas as análises foram baseadas em Zar (1999) e executadas no programa Statistica (STATSOFT, 2007) e no programa Instat, as diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 MORFOLOGIA E HISTÓRIAS DE VIDA (COMPARAÇÕES INTERSEXUAIS)

Os dados morfológicos obtidos para machos e fêmeas dos clados norte (CN) e sul (CS) foram resumidos na tabela 2. Em ambos os clados machos e fêmeas diferiram quanto às variáveis morfológicas examinadas (CRC, CC, Ccab e massa). Fêmeas adultas foram em média maiores e atingiram maiores CRCs que os machos (Tabelas 2 e 3 e Figura 10). Além disso, em valores brutos, fêmeas apresentaram também maiores cabeças e caudas e foram mais pesadas que os machos (Tabelas 2 e 3).

O CRC foi correlacionado com todas as variáveis morfológicas examinadas em ambos os clados (Figura 11). Diante disso, os dados foram reexaminados com análise de covariância (ANCOVA), utilizando o CRC como covariável. Essas análises mostraram que, em termos relativos, as fêmeas de ambos os clados apresentaram cabeças maiores e foram relativamente mais pesadas, porém tiveram caudas relativamente menores que machos (Tabela 2, 4 e Figura 11). O índice de dimorfismo sexual (SSD; *Sexual Size Dimorphism*) foi de 0,33 para o CN e de 0,21 para o CS.

A menor fêmea sexualmente madura do CN mediu 746 mm enquanto que o menor macho mediu 613 mm. Para o CS, a menor fêmea madura observada mediu 689 mm enquanto que o menor macho mediu 506 mm. O tamanho do corpo dos cinco menores indivíduos maduros de cada sexo diferiu significativamente com fêmeas apresentando maiores valores (Tabelas 2 e 3). Dessa forma, fêmeas amadureceram sexualmente com maiores tamanhos corpóreos que os machos em ambos os clados.

Tabela 2 - Morfologia de machos e fêmeas adultos de *Bothrops jararaca* dos clados norte e sul. A tabela apresenta valores médios $\pm$ DP e valores extremos para as variáveis morfológicas examinadas. CRC: comprimento rostro-cloacal, CC: comprimento da cauda e Ccab: comprimento da cabeça

Variável	Clado Norte				Clado Sul			
	Machos	<i>n</i>	Fêmeas	<i>n</i>	Machos	<i>n</i>	Fêmeas	<i>n</i>
CRC (mm)	794,6 $\pm$ 88,0 613-980	146	1056,2 $\pm$ 111,2 746-1383	210	743,0 $\pm$ 75,7 506-921	162	902,2 $\pm$ 85,2 689-1147	182
CC (mm)	133,0 $\pm$ 16,2 90-170	141	153,9 $\pm$ 17,4 109-202	199	123,8 $\pm$ 12,7 85-152	158	131,8 $\pm$ 13,8 96-181	172
Ccab (mm)	31,5 $\pm$ 3,2 23,9-38,9	144	44,4 $\pm$ 5,0 31,2-65,4	206	31,9 $\pm$ 3,1 22,2-37,6	159	40,2 $\pm$ 3,5 30,5-50,4	175
Massa (g)	135,9 $\pm$ 49,9 47-338	146	416,7 $\pm$ 168,6 90-980	202	154,1 $\pm$ 54,6 55-390	157	346,3 $\pm$ 133,4 75-900	175
CRC maturidade (mm)	621 $\pm$ 4,9 613-625	5	790,0 $\pm$ 27,6 746-815	5	573,4 $\pm$ 38,7 506-596	5	735,2 $\pm$ 28,1 689-763	5

Tabela 3 - Resultados das análises estatísticas (teste-*t*) do dimorfismo sexual (dados brutos) em adultos de *Bothrops jararaca* dos clados norte (CN) e clado sul (CS)

Variável	Significância do dimorfismo sexual		
	gl	<i>T</i>	<i>P</i>
CN – Machos vs. Fêmeas			
CRC	354	24,20	< 0,0001
CC	338	11,01	< 0,0001
Ccab	347	29,13	< 0,0001
Massa	346	25,82	< 0,0001
CRC maturidade	8	13,48	< 0,0001
CS – Machos vs. Fêmeas			
CRC	342	18,22	< 0,0001
CC	328	5,48	< 0,0001
Ccab	332	22,84	< 0,0001
Massa	330	19,01	< 0,0001
CRC maturidade	8	7,56	< 0,0001

Figura 10 - Distribuição do comprimento rostro-cloacal de machos e fêmeas adultos de *Bothrops jararaca* dos clados norte (A) e clado sul (B)

Tabela 4 - Resultados dos testes estatísticos do dimorfismo sexual em adultos de *Bothrops jararaca* dos clados norte e sul. O dimorfismo foi testado com ANCOVA com o sexo como fator e CRC como covariável

Variável relativa ao CRC	Inclinações			Interceptos		
	gl	<i>F</i>	<i>P</i>	gl	<i>F</i>	<i>P</i>
Clado Norte						
CC	1, 336	1,52	0,22	1, 337	11,69	0,0007
Ccab	1, 343	3,99	0,05			
Massa	1, 342	36,5	<0,0001			
Clado Sul						
CC	1, 326	0,02	0,89	1, 327	92,2	< 0,0001
Ccab	1, 310	3,09	0,08	1, 311	18,24	< 0,0001
Massa	1, 308	0,19	0,66	1, 309	42,28	< 0,0001

Figura 11 - Correlação entre o comprimento rostro-cloacal e o comprimento da cauda (CC), comprimento da cabeça (Ccab) e massa corpórea em machos e fêmeas de *Bothrops jararaca* dos clados norte (A) e sul (B)

4.2 MORFOLOGIA E HISTÓRIA DE VIDA (COMPARAÇÕES INTERPOPULACIONAIS)

4.2.1 Morfologia e maturidade sexual

Todas as variáveis morfológicas examinadas diferiram entre os clados em ambos os sexos. Machos de *B. jararaca* do clado norte foram maiores que os machos do clado sul ($U = 7932,0$; $P < 0,0001$; Figura 12), tiveram cabeças relativamente menores e foram menos pesados (Tabelas 2, 4 e Figura 14). Embora o tamanho relativo da cauda não tenha diferido entre os clados, a comparação foi marginalmente não significativa, com machos do CN tendendo a apresentar maiores caudas. Fêmeas do CN foram maiores que as do CS ($U = 5495,0$; $P < 0,0001$; Figura 13), tiveram caudas maiores, porém tiveram cabeças relativamente menores e foram menos pesadas (Tabelas 2, 5 e Figura 14).

O tamanho do corpo na maturidade sexual diferiu entre os clados em ambos os sexos, com os indivíduos do CN atingindo a maturidade sexual com maiores tamanhos corpóreos que os indivíduos do CS (machos: $U = 0,0$; $P = 0,008$; fêmeas: $U = 0,0$; $P = 0,008$).

Entretanto, esses resultados diferiram quando considerado o tamanho do corpo na maturidade relativo ao tamanho médio do corpo. Machos do CN atingiram a maturidade em média com 79% do tamanho médio do corpo do adulto, enquanto que os machos do clado sul esse valor foi de 77% (calculados como a média da razão entre o tamanho do corpo dos cinco menores indivíduos e o tamanho médio do adulto). Essa diferença não foi significativa ($U = 9,0$; $P = 0,55$). Fêmeas do CN atingiram a maturidade com tamanhos corpóreos proporcionalmente menores ao tamanho do adulto do que as fêmeas do CS (CN = 72% vs. CS = 81%; $t = 5,37$; $gl = 8$; $P = 0,0007$).

Figura 12 - Diagrama de Box plot. Média e variação do comprimento rostro-cloacal (CRC) entre machos de *Bothrops jararaca* do clado norte e clado sul. Linhas horizontais no interior das caixas representam valores médios, limite das caixas o desvio padrão e linhas verticais os valores mínimos e máximos observados

Figura 13 - Diagrama de Box plot. Média e variação do comprimento rostro-cloacal (CRC) entre fêmeas de *Bothrops jararaca* do clado norte e clado sul. Linhas horizontais no interior das caixas representam valores médios, limite das caixas o desvio padrão e linhas verticais os valores mínimos e máximos observados

Tabela 5 - Resultados dos testes estatísticos da morfologia dos adultos de *Bothrops jararaca* dos clados norte e sul. Diferenças foram testadas com ANCOVA com o sexo como fator e CRC como covariável

Variável relativa ao CRC	Inclinações			Interceptos		
	gl	F	P	gl	F	P
Machos CN vs. CS						
CC	1, 295	1,02	0,31	1, 296	3,57	0,06
Ccab	1, 298	3,18	0,08	1, 299	94,90	< 0,0001
Massa	1, 297	2,00	0,16	1, 298	102,34	< 0,0001
Fêmeas CN vs. CS						
CC	1, 369	0,27	0,60	1, 370	14,86	0,0001
Ccab	1, 377	0,62	0,43	1,378	17,21	< 0,0001
Massa	1,374	0,69	0,41	1, 375	60,13	< 0,0001

Figura 14 - Correlação entre o comprimento rostro-cloacal e o comprimento da cauda (A), comprimento da cabeça (B) e massa corpórea (C) em machos de *Bothrops jararaca* dos clados norte e sul

4.2.2 Fecundidade

O tamanho médio da ninhada diferiu entre os clados ($t = 2,95$; $gl = 88$; $P = 0,004$) sendo maior no CN (média = $15,3 \pm 5,4$ embriões; variação: 6-28; $n = 35$) do que no CS (média = $11,9 \pm 4,2$ embriões; variação: 4-28; $n = 56$). O tamanho da ninhada foi positivamente correlacionado com o tamanho do corpo materno nas duas populações (CN: $r = 0,65$; $n = 34$; $P < 0,0001$ e CS: $r = 0,49$; $n = 55$; $P = 0,0002$; Figura 15). A variação no tamanho da ninhada explicável pelo CRC materno foi de aproximadamente 42% para o CN e 24% para o CS. A taxa na qual o tamanho da ninhada aumenta em decorrência de aumentos no tamanho do corpo materno não diferiu entre as populações (ANCOVA, inclinações: $F_{1,88} = 0,12$; $P = 0,73$; Figura 15). Mesmo após corrigir a influência do tamanho corpo materno, o tamanho da ninhada continuou diferindo entre os clados (ANCOVA, interceptos: $F_{1,89} = 4,28$; $P = 0,04$; Figura 15). No entanto, as fêmeas do CS apresentaram uma fecundidade relativa maior do que as fêmeas do CN. Dessa forma, o maior número de filhotes produzido por fêmeas do CN resulta do maior tamanho corpóreo observado nesse clado.

Figura 15 - Relação entre o número de filhotes e o comprimento rostro-cloacal materno em *Bothrops jararaca* dos clados norte e sul

O comprimento médio do ovo na população do CN foi de $38,2 \pm 9,6$ mm (variação: 24, 3-75, 5; $n = 35$) e no CS de $38,6 \pm 8,8$ mm (variação: 20, 5-63,7; $n = 55$). Não foram observadas correlações entre o comprimento médio do ovo e o tamanho do corpo materno em ambos os clados (CN: $r = 0,05$; $n = 34$; $P = 0,76$ e CS: $r = -0,13$; $n = 54$; $P = 0,36$; Figura 16). O comprimento médio do ovo não diferiu entre as populações ($t = 0,21$; $gl = 88$; $P = 0,83$).

Figura 16 - Relação entre o diâmetro do maior ovo e o comprimento rostro-cloacal materno em *Bothrops jararaca* dos clados norte e sul

Análise de correlação foi utilizada para testar a hipótese de existência de um *trade-off* negativo entre o tamanho da ninhada e o tamanho dos ovos. Tal análise foi conduzida utilizando-se os resíduos derivados da regressão entre o número de embriões e o CRC materno devido à existência de relação alométrica entre elas (Figura 17). Uma correlação negativa entre os resíduos do número de embriões/CRC materno e o tamanho dos ovos significa que fêmeas que produzem ninhadas relativamente numerosas também produzem ovos (e possivelmente filhotes) relativamente pequenos e vice-versa. Conforme predito, o número de filhotes foi inversamente

correlacionado com o comprimento do maior ovo para ambos os clados (CN: $r = -0,45$; $n = 33$; $P = 0,008$ e CS: $r = -0,31$; $n = 54$; $P = 0,02$; Figura 17). Contudo, quando os dados para cada população foram contrastados o *trade-off* entre quantidade e tamanho dos ovos não variou significativamente entre as populações (ANCOVA, com a fecundidade relativa como covariável, inclinações: $F_{1,83} = 0,67$; $P = 0,41$; interceptos: $F_{1,84} = 0,01$; $P = 0,92$; Figura 17).

Figura 17 - *Trade-off* entre a fecundidade relativa e o tamanho do maior ovo em *Bothrops jararaca* dos clados norte e sul. A fecundidade relativa foi calculada a partir dos resíduos da regressão entre o número de filhotes pelo tamanho do corpo materno

4.2.3 Tamanho dos filhotes

O CRC médio dos filhotes recém-nascidos diferiu entre os clados ($t = 3,34$; $gl = 181$; $P = 0,0010$). Filhotes de *B. jararaca* do CS ($n = 61$) apresentaram menores tamanhos ($252,1 \pm 20,6$ mm; amplitude = 205 – 248 mm) do que os filhotes do CN ($260,4 \pm 12,7$ mm; amplitude = 176 – 281 mm; $n = 122$).

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS CICLOS REPRODUTIVOS

A seguir, serão apresentados os resultados dos ciclos reprodutivos de machos e fêmeas de *B. jararaca* do clado norte e sul e de ilhas.

4.3.1 Fêmeas

4.3.1.1 Vitelogênese, gestação e época de nascimento dos filhotes

O ciclo reprodutivo de fêmeas de *Bothrops jararaca* do clado norte (CN) e clado sul (CS) é sazonal. Folículos em vitelogênese primária (V1) foram observados em todos os meses do ano tanto para o CN como para o CS (Figuras 18A e B). Folículos ovarianos com início de deposição de vitelo (V2; > 10 mm) foram observados a partir de fevereiro (verão) para fêmeas de ambos os clados. No entanto, um aumento substancial na atividade vitelogênica (folículos > 20 mm) foi observado a partir de março (final do verão) para as fêmeas do CS (Figura 18B) enquanto que para o CN, tal aumento foi evidente mais tardiamente, sendo observado a partir de abril (início do outono, Figura 18B). Apesar disso, a duração da vitelogênese foi similar entre os clados, estendendo-se até o início de dezembro (final da primavera; Figura 18A e B).

Fêmeas grávidas foram observadas a partir agosto (inverno) em fêmeas do CN e CS (Figura 18A e B). Fêmeas do CS parecem ter um ciclo um pouco mais curto, com fêmeas grávidas observadas somente até metade de março (final do verão) enquanto que fêmeas do CN parecem ter um ciclo mais extenso onde fêmeas grávidas puderam ser observadas até maio (outono) (Figura 18A e B). Entretanto, nascimentos não foram registrados nesse período.

Figura 18- Variação sazonal do diâmetro do maior folículo ovariano em fêmeas adultas de *Bothrops jararaca* do clado norte (A) e clado sul (B)

Círculos pretos: fêmeas em vitelogênese primária (V1), **círculos brancos:** fêmeas em vitelogênese secundária (V2) e **círculos vermelhos:** fêmeas com embriões nos ovidutos. As figuras de serpentes correspondem ao período de nascimento dos filhotes e a seta a época de observação de cópula no serpentário do Instituto Butantan.

Nascimentos foram registrados durante todo o verão e início do outono (de janeiro a abril) nos dois clados (CS; $n=21$; CN; $n=43$). A época de nascimento dos filhotes não diferiu entre os

clados (Figuras 18 e 19). Em ambos os clados o maior número de nascimento ocorreu no mês de Março (Figura 19).

Dessa forma, os ciclos reprodutivos de fêmeas de *B. jararaca* do CN e CS são sazonais e bastante similares em sua extensão, com folículos vitelogênicos sendo observados a partir do final do verão até o a primavera. Fêmeas grávidas são observadas principalmente a partir da primavera e nascimentos acontecendo principalmente no verão.

Figura 19 - Nascimento dos filhotes de *Bothrops jararaca* do clado norte e do clado sul

4.3.1.2 Época de cópula

Foram resgatados dados de comportamento de corte e cópula entre machos e fêmeas de *B. jararaca* somente para animais do CN. Esses dados foram obtidos de exemplares de cativeiro e do serpentário semiextensivo do Instituto Butantan. Foram observados cópulas no cativeiro em abril, maio e junho (outono). As observações de cópula em cativeiro de *B. jararaca* do CN corroboram os dados obtidos na histologia, onde animais com espermatozoides foram observados especialmente no outono (Figura 20). Apesar de não ter resgatado dados de cópula de *B. jararaca* do CS, as análise histológica dos úteros desse clado também confirma uma cópula outonal, pois

espermatozoides foram observados no lúmen uterino principalmente nessa época do ano (Figura 21).

4.3.1.3 Contração da musculatura uterina (UMT) e estocagem de esperma

Fêmeas de *B. jararaca* do CN e CS apresentaram contração da musculatura uterina (UMT). Foram avaliadas 215 fêmeas maduras do CN. Desse total, 30,7% ($n=66$) apresentaram UMT enquanto que 64,7% ($n=139$) não apresentaram. Em dez ocasiões (4,7%) não foi possível distinguir macroscopicamente se os exemplares apresentavam ou não UMT. Foram realizados cortes histológicos em 80 fêmeas de *B. jararaca* do CN. Das 187 fêmeas maduras do CS analisadas até o momento, 32,6% ($n = 61$) apresentaram UMT, enquanto que 64,2% ($n = 120$) não apresentaram. Em seis ocasiões (3,2%) não foi possível distinguir macroscopicamente se os exemplares apresentavam UMT. Foram realizados cortes histológicos de 80 fêmeas de *B. jararaca* do CS.

Análises histológicas dos úteros das fêmeas do CN e CS revelaram uma grande quantidade de fêmeas com espermatozoides estocados nos úteros no outono e inverno (Figuras 20 e 21 A e B). No entanto, o outono foi à época em que a maioria das fêmeas encontrava-se com espermatozoides no lúmen uterino (Figuras 20 e 21 A). Em ambos os clados, não foram encontrados espermatozoides estocados em fêmeas na primavera (Figuras 20 e 21C). De uma maneira geral, fêmeas de ambos os clados não apresentaram espermatozoides estocados no verão (Figuras 20 e 21 D) com exceção de três fêmeas do CN e uma fêmea do CS (Figuras 20 e 21 E). Todas as fêmeas do CN e do CS que apresentaram espermatozoides estocados nos úteros estavam vitelogênicas, isto é, apresentavam folículos em V2, com exceção de duas fêmeas do CS que apresentavam folículos em V1.

Dessa forma, espermatozoides são encontrados especialmente no outono tanto para fêmeas do CN como do CS. Com isso, pode-se inferir que a época de acasalamento para ambos os clados é outonal podendo estender-se até o inverno, confirmado pela observação de cópulas em cativeiro para o CN.

Figura 20 - Histologia de corte transversal do útero posterior de fêmeas de *Bothrops jararaca* do clado norte

Fontes: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A - (Rio de Janeiro) no Outono e **B** - (Minas Gerais) no Inverno; Exemplos apresentando muito espermatozoides no lúmen uterino. **C** - (Espírito Santo) na Primavera; Exemplo sem espermatozoides no lúmen uterino. **D** e **E** - (São Paulo) no Verão onde, (**D**) representa a maioria dos exemplares da estação, sem espermatozoides no lúmen uterino e (**E**) exemplo com espermatozoides no útero. **ep** (Epitélio uterino); **espL** (espermatozoides no lúmen uterino); **L** (lúmen uterino) **m** (camada muscular). Hematoxilina-eosina.

Figura 21 - Histologia de corte transversal do útero posterior de fêmeas de *Bothrops jararaca* do clado sul

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A – (Paraná) no Outono e **B** – (Paraná) no Inverno; Exemplares apresentando muitos espermatozoides no lúmen uterino. **C** - (Santa Catarina) Primavera; Exemplar sem espermatozoides no lúmen uterino. **D** - (Rio Grande do Sul) e **E** - (Paraná) no Verão, onde (**D**) representa a maioria dos exemplares da estação, sem espermatozoides no lúmen uterino. (**E**) exemplar com espermatozoides no útero. **ep** (epitélio uterino); **espL** (espermatozoides no lúmen uterino); **m** (camada muscular). Hematoxilina-eosina.

4.3.1.4 Morfologia e estocagem infundibular

Neste trabalho, estamos incluindo um dado inédito para viperídeos neotropicais. Foram encontrados pela primeira vez espermatozoides estocados em túbulos de estocagem de espermatozoides presentes no infundíbulo de fêmeas do CN e do CS. Foi encontrada uma variação na morfologia infundibular entre fêmeas em V1 (não reprodutiva; Figura 22 A) e V2 (reprodutiva; Figura 22B).

Fêmeas que não apresentaram folículos vitelogênicos/ovos/embriões exibiram um epitélio infundibular ciliado baixo. As glândulas do infundíbulo (presentes no tecido conjuntivo) apresentaram um tamanho reduzido e provavelmente não secretor (Figura 22A). As fêmeas vitelogênicas (V2), ou seja, reprodutivas, apresentaram um epitélio ciliado alto e as glândulas do infundíbulo (presentes no tecido conjuntivo), são maiores, mais desenvolvidas e provavelmente secretoras (Figura 22B).

Figura 22 - Histologia de corte longitudinal do infundíbulo de fêmeas de *Bothrops jararaca*.

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A - Região do infundíbulo de fêmeas de *B. jararaca* não reprodutiva (V1) mostrando o epitélio do infundíbulo ciliado baixo e com as glândulas do infundíbulo de tamanho reduzido. **B** - Região do infundíbulo de fêmeas reprodutivas (V2), mostrando um epitélio ciliado alto, com glândulas infundibulares grande. **ep** (epitélio ciliado); **Glu** (glândula do infundíbulo); **L** (lúmen infundibular); **m** (camada muscular); **tc** (tecido conjuntivo). Hematoxilina-eosina.

Todas as fêmeas tanto do CN como do CS que apresentavam espermatozoides no lúmen infundibular ou estocados em túbulos no infundíbulo estavam vitelogênicas (V2).

Foram encontrados espermatozoides em grande quantidade no lúmen infundibular e em túbulos de estocagem de espermatozoides presentes no infundíbulo de fêmeas de ambos os clados no outono (Figuras 23 e 25A e B) e no inverno (Figuras 23 e 25C e D). Os espermatozoides encontrados nos túbulos de estocagem encontravam-se alinhados em feixes (Figuras 23 e 25 B e D). Da mesma forma como observado na estocagem uterina (UMT), espermatozoides foram encontrados no infundíbulo com mais frequência no outono.

Não foram encontrados espermatozoides no lúmen infundibular ou em criptas de estocagem em fêmeas na primavera de ambos os clados (Figuras 24A e 25E).

Não foram encontrados espermatozoides no infundíbulo no verão no CS (Figura 25F). Todavia, assim como o que ocorreu com relação à estocagem no útero (UMT), a região infundibular da maioria das fêmeas no verão não apresentou estocagem de espermatozoides, com exceção de três fêmeas que apresentaram espermatozoides estocados em túbulos no infundíbulo (Figura 24C).

Figura 23 - Histologia de corte longitudinal do infundíbulo de fêmeas de *Bothrops jararaca* do clado norte

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A - (São Paulo) e **B** - (Rio de Janeiro) no outono onde, **A** - região do infundíbulo apresentando uma grande quantidade de espermatozoides no lúmen e **B** - espermatozoides estocados nos túbulos de estocagem. **C** e **D** (São Paulo) no inverno onde, **C** - região do infundíbulo revelando espermatozoides no lúmen infundibular e **D** - espermatozoides estocados nos túbulos de estocagem. **ep** (epitélio ciliado do infundíbulo); **espL** (espermatozoides no lúmen); **Glu** (glândulas do infundíbulo); **tc** (tecido conjuntivo); **tee** (túbulo de estocagem de espermatozoide); **triângulos** apontam os espermatozoides estocados nos túbulos. Hematoxilina-eosina.

Figura 24 - Histologia de corte longitudinal do infundíbulo de fêmeas de *Bothrops jararaca* do clado norte (continuação)

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A - (Espírito Santo) na Primavera; Região do infundíbulo sem espermatozoides no lúmen ou nos túbulos de estocagem de espermatozoides. **B** - (Minas Gerais) e **C** - (São Paulo) no Verão, onde **B** - Região do infundíbulo sem espermatozoides estocados no lúmen e **C** - túbulos de estocagem com espermatozoides estocados no infundíbulo. **ep** (epitélio ciliado do infundíbulo); **glu** (glândulas do infundíbulo); **tc** (tecido conjuntivo); **tce** (túbulo de estocagem de espermatozoide); **triângulos** apontam os espermatozoides estocados nos túbulos. Hematoxilina-eosina.

Figura 25 - Histologia de corte longitudinal do infundíbulo de fêmeas de *Bothrops jararaca* do clado sul

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A e B - (Paraná) no Outono, onde **A** - Região do infundíbulo apresentando uma grande quantidade de espermatozoides no lúmen e **B** - túbulos de estocagem com espermatozoides estocados no infundíbulo. **C e D** - (Paraná) no Inverno onde, **C** - Região do infundíbulo no inverno apresentando uma grande quantidade de espermatozoides no lúmen e **D** - túbulos de estocagem com espermatozoides estocados no infundíbulo. **E** (Santa Catarina) na Primavera. Região do infundíbulo sem espermatozoides no lúmen ou estocados em túbulos de estocagem. **F** - (Rios Grande do Sul) no Verão. Região do infundíbulo sem espermatozoides no lúmen ou estocados em túbulos de estocagem. **ep** (epitélio ciliado do infundíbulo); **glu** (glândulas do infundíbulo); **tc** (tecido conjuntivo); **tee** (túbulo de estocagem de espermatozoide); **triângulos** apontam os espermatozoides estocados nos túbulos. Hematoxilina-eosina.

Assim, provavelmente os espermatozoides ascendem do útero logo após a cópula (outono ou inverno) até a região infundibular. Esses espermatozoides chegam ao lúmen infundibular (Figura 26A). Do lúmen esses espermatozoides vão em direção aos túbulos de estocagem (criptas) e lá ficam estocados até a época de fertilização dos folículos (Figura 26B).

Figura 26 - Histologia de corte longitudinal do infundíbulo de fêmeas de *Bothrops jararaca*

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A - Visão aproximada do infundíbulo de *Bothrops jararaca* evidenciando espermatozoides saindo da região do lúmen infundibular e adentrando a região onde se encontram os túbulos de estocagem. **B** – Visão aproximada de espermatozoides posicionados em feixes, estocados nos túbulos de estocagem de espermatozoides presentes no infundíbulo. **ep** (epitélio do infundíbulo); **L** (Lúmen do infundíbulo); **tee** (túbulos de estocagem de espermatozoides); **estrela** (indicam as caudas dos espermatozoides); **triângulo** (apontam a região do núcleo dos espermatozoides). Hematoxilina-eosina.

4.3.2 Machos

4.3.2.1 Morfologia macroscópica

O volume relativo dos testículos de machos do CN variou entre as estações (inclinações: $F_{3,121} = 0,28$; $P = 0,84$; interceptos: $F_{3,124} = 7,36$; $P = 0,0001$; Figura 27). Testes a posteriori revelaram que o volume dos testículos é menor no outono (teste de Tukey: $P < 0,03$ em todos os casos; Figura 27) e similar entre as demais estações (teste de Tukey: $P > 0,60$ em todos os casos; Figura 27). No entanto, essa variação não foi observada no diâmetro dos ductos deferentes (inclinações: $F_{3,122} = 0,64$; $P = 0,59$; interceptos: $F_{3,125} = 0,69$; $P = 0,56$; Figura 28).

Figura 27 - Variação sazonal no volume dos testículos de machos de *Bothrops jararaca* do clado norte

Linhas horizontais no interior das caixas representam valores médios, limite das caixas o desvio padrão e linhas verticais os valores mínimos e máximos observados. Estações que compartilham a mesma letra não diferiram significativamente (teste de Tukey: $\alpha = 0,05$; $a > b$).

Figura 28 - Variação sazonal no diâmetro relativo dos ductos deferentes de machos de *Bothrops jararaca* do clado norte

Linhas horizontais no interior das caixas representam valores médios, limite das caixas o desvio padrão e linhas verticais os valores mínimos e máximos observados.

Para o CS, não foram observadas diferenças sazonais tanto no volume relativo dos testículos (inclinações: $F_{3,134} = 2,40$; $P = 0,07$; interceptos: $F_{3,137} = 0,62$; $P = 0,60$; Figura 29) como no diâmetro relativo dos ductos deferentes (inclinações: $F_{3,134} = 1,62$; $P = 0,19$; interceptos: $F_{3,137} = 0,20$; $P = 0,89$; Figura 30).

Figura 29 - Variação sazonal no volume dos testículos de machos de *Bothrops jararaca* do clado sul

Linhas horizontais no interior das caixas representam valores médios, limite das caixas o desvio padrão e linhas verticais os valores mínimos e máximos observados.

Figura 30 - Variação sazonal no diâmetro relativo dos ductos deferentes de machos de *Bothrops jararaca* do clado sul.

Linhas horizontais no interior das caixas representam valores médios, limite das caixas o desvio padrão e linhas verticais os valores mínimos e máximos observados.

4.3.2.2 Ciclo espermatogênico, estocagem de espermatozoides nos ductos deferentes e SSR

Amostras de testículos, ductos deferentes e rim de machos maduros de *Bothrops jararaca* do CN e CS foram coletadas e analisadas quanto às estações do ano (primavera, verão outono e inverno) proporcionando uma compreensão mais pontual das condições destes em cada um dos períodos. Para isso, foram avaliadas amostras de 90 machos do CN e 86 machos do CS.

4.3.2.2.1 Segmento sexual renal (SSR)

O rim (néfron) é um importante componente do ciclo reprodutivo dos machos em serpentes, o rim, na época reprodutiva fica hipertrofiado e secretor (KROHME et al., 2004).

As células do rim podem ser encontradas em duas condições: SSR (segmento sexual renal) quando as células estão secretoras (Figura 31). Nesse período, essas células aumentam de tamanho e apresentam uma coloração mais forte (por conta da secreção de eosinófilos) e os TCP (túbulo convoluto proximal), quando apresentam um tamanho reduzido e não secretor (Figura 31). Uma grande quantidade de SSR comparado às células de TCP indica a condição que chamamos de hipertrofia do rim, ou seja, há um aumento dos grânulos citoplasmáticos o que indica um aumento da atividade secretória que irá auxiliar na reprodução da espécie (Figura 31).

Figura 31 – Histologia de corte longitudinal de rim de macho de *Bothrops jararaca*

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

Tipo celulares presentes no rim de *Bothrops jararaca*; (SSK) segmento sexual renal e (TCP) túbulos convolutos proximais, (L) lúmen. Hematoxilina-eosina.

O outono, em ambos os clados, revelou poucas células do segmento sexual renal (SSR) e muitas células de túbulo contorcido proximal (TCP) (Figuras 32 e 33A). As células de SSR apresentam grânulos levemente corados nessa época, indicando uma menor atividade secretória dos grânulos sexuais nessa estação (fase não secretora) (Figuras 32 e 33A).

O inverno apresentou células de SSR e também muitas células de TCP (Figuras 32 e 33B). As células do SSR nessa época também foram encontradas em menor quantidade, indicando uma menor atividade secretora tanto para machos do CN como do CS (Figuras 32 e 33B), assim como o observado no outono para ambos os clados (fase não secretora).

As células do SSR de machos na primavera apresentaram maiores tamanhos e puderam ser observadas em grande quantidade. Nessa época, os grânulos de secreção estão fortemente corados (Figuras 32 e 33C), indicando um aumento na atividade secretora, entretanto, ainda

assim, apresentaram um grande número de TCP (Figuras 32 e 33C). Isso caracteriza o início da hipertrofia e uma atividade mais intensa do SSR em ambos os clados.

No verão, machos de ambos os clados apresentaram uma grande quantidade de células do SSR (Figuras 32 e 33D) e poucas células do TCP (Figuras 32 e 33D). As células do SSR nessa época se mostraram maior e fortemente corada, indicando uma intensa atividade secretora (Figuras 32 e 33D). O verão é a época de uma acentuada hipertrofia renal em ambos os clados.

Figura 32 - Histologia de corte longitudinal de rim de macho de *Bothrops jararaca* do clado norte

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A - (Rio de Janeiro) no Outono; Rim apresentando poucas células do SSR e muitas células do TCP, fase inativa ou não secretora. **B** - (São Paulo) no Inverno; Poucas células do SSR e muito do TCP, fase não secretora. **C** - (São Paulo) na Primavera; Início da fase secretora (hipertrofia), mostrando muitas células do SSR e poucas do TCP. **D** - (São Paulo) no Verão; Fase ativa de secreção - Hipertrofia do SSR, mostrando muitas células do SSR e poucas células do TCP. **L** (lúmen); **SSR** (segmento sexual renal); **TCP** (túbulo convoluto proximal). Hematoxilina-eosina.

Figura 33 - Histologia de corte longitudinal de rim de macho de *Bothrops jararaca* do clado sul

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A - (Rio Grande do Sul) no Outono; Rim apresentando poucas células do SSR e muitas células do TCP, fase inativa ou não secretora. **B** - (Paraná) no Inverno; Poucas células do SSR e muito do TCP, fase não secretora. **C** - (Rio Grande do Sul) na Primavera; Início da fase secretora (hipertrofia), mostrando células do SSR aumentada e secretor. **D** - (Paraná) no Verão; Fase ativa de secreção - Hipertrofia do SSR, mostrando muitas células do SSR e poucas células do TCP, notem algumas células de TCP aumentando de tamanho e se tornando secretor SSR. **L** (lúmen); **SSR** (segmento sexual renal); **TCP** (túbulo convoluto proximal) (*) indicam as células de TCP aumentando de tamanho e se transformando em SSR. Hematoxilina-eosina.

Dessa forma, o segmento sexual renal SSR encontra-se hipertrofiado (secretor) na primavera/verão. No outono e inverno, o SSR apresenta menor atividade secretora, e grande quantidade de TCP.

4.3.2.2.2 Ciclo espermatogênico

O ciclo espermatogênico de machos de *Bothrops jararaca* foi similar em ambos os clados. No outono, os túbulos seminíferos (presente no testículo) estavam completamente inativos (repouso reprodutivo/inatividade testicular). Nesse período, o epitélio germinativo apresentou-se baixo, sem a estratificação comum aos períodos de atividade. Não foram observadas a transformação de células germinativas em espermatozoides nem espermatozoides foram observados no lúmen (Figuras 34 e 35A). Essa época corresponde a fase 1 da tabela 4 tanto no CN como no CS.

No inverno, assim como no outono, o epitélio germinativo dos túbulos seminíferos, também se apresentou baixo (inativo) e sem produção de espermatozoides (Figuras 34 e 35B). Não foram observados espermatozoides no lúmen (Figuras 34 e 35B). Tal característica do epitélio também corresponde a Fase 1 da tabela 4 em ambos os clados.

Análises histológicas dos testículos de machos do CN e do CS na primavera mostraram que os túbulos seminíferos encontram-se em fase inicial de produção de espermatozoides (fase 2 e 3; Tabela 4 e Figuras 34 e 35C). Nessa fase, o epitélio germinativo é alto, e apresenta todas as fases de transformação (espermatogônia, espermatócitos e espermátides) (Figuras 34 e 35C). No entanto, não são observados espermatozoides no epitélio ou no lúmen seminífero (Figuras 34 e 35C).

O Verão é a fase ativa de produção de espermatozoides. Nesse período, o epitélio germinativo está alto e podem ser encontradas todas as fases de transformação (de espermatogônia a espermatozoides) (Fase 5; Tabela 4 e Figura 34 e 35D). Nessa fase, podem ser observados espermatozoides lúmen dos túbulos seminíferos em ambos os clados.

Figura 34 - Histologia de corte transversal dos testículos de *Bothrops jararaca* do clado norte

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A – (Rio de Janeiro) no outono; Túbulos seminíferos em repouso reprodutivo (Fase 1). **B** – (São Paulo) no inverno; Repouso reprodutivo (Fase 1). **C** – (Minas Gerais) na primavera; Túbulos seminíferos no início da espermatogênese (Fase 2 e 3). **D** – (São Paulo) no verão; Túbulos seminíferos em fase ativa de produção de espermatozoides (Fase 5). **EptG** (Epitélio germinativo); **L** (lúmen); **TS** (túbulos seminíferos; **triângulos** apontam espermatozoides. Hematoxilina-eosina.

Figura 35 - Histologia de corte transversal dos testículos de *Bothrops jararaca* do clado sul

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A – (Rio Grande do Sul) no outono; Túbulos seminíferos em repouso reprodutivo (Fase 1). **B** – (Paraná) no inverno; Repouso reprodutivo (Fase 1). **C** – (Paraná) na primavera; Túbulos seminíferos em início da espermatogênese (Fase 2 e 3). **D** – (Paraná) no verão; Túbulos seminíferos em fase ativa de produção de espermatozoides (Fase 5). **EptG** (Epitélio germinativo); **L** (lúmen); **TS** (túbulos seminíferos); **triângulos** apontam espermatozoides. Hematoxilina-eosina.

4.3.2.2.3 Ductos deferentes

Quando possível, a região da ampulha foi utilizada para compor as pranchas histológicas dos ductos deferentes. Esta região encontra-se localizada na porção final do ducto deferente, próximo à cloaca e é caracterizada por apresentar um epitélio pseudo-estratificado, com projeções irregulares e formações de criptas que parece orientar os espermatozoides (ROJAS, 2013). A ampulha do ducto deferente foi observada no outono, primavera e verão em machos do CN (Figura 36A, C e D) e no inverno, primavera e verão para machos do CS (Figura 37B, C e D).

Ductos deferentes apresentaram espermatozoides estocados em todas as estações do ano independente do clado (Figuras 36 e 37). Entretanto, pôde-se observar uma maior quantidade de espermatozoides estocados nos ductos deferentes no verão e no outono no CN e no CS (Figuras 36 e 37A e D). O inverno e a primavera foram a época do ano em que se observou as menores quantidades de espermatozoides estocados no lúmen do ducto deferente (Figuras 36 e 37 B e C). Algumas convoluções na primavera encontravam-se vazios no CN (Figura 36C).

Figura 36 - Histologia de corte longitudinal de ductos deferentes de machos de *Bothrops jararaca* do clado norte

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A – (Rio de Janeiro) no outono; Região da ampulha indicando grande quantidade de espermatozoides no lúmen. **B** – (São Paulo) no inverno; Região do ducto deferente com espermatozoides no lúmen. **C** – (São Paulo) na primavera; Região da ampulha com poucos espermatozoides no lúmen (note uma convolução vazia). **D** – (Minas Gerais) no verão; Região da ampulha com grande quantidade de espermatozoides estocados no lúmen. **ep** (epitélio do ducto deferente); **EpzL** (espermatozoides no lúmen) **L** (lúmen); **m** (camada muscular). Hematoxilina-eosina.

Figura 37 - Histologia de corte longitudinal de ductos deferentes de machos de *Bothrops jararaca* do clado sul

Fonte: Kasperoviczus, K. N. (2013).

A – (Paraná) no outono; Ducto deferente com grande quantidade de espermatozoides no lúmen. **B** – (Paraná) no inverno; Região da ampulha do ducto deferente com poucos espermatozoides no lúmen. **C** – (Paraná) na primavera; Região da ampulha com poucos espermatozoides no lúmen. **D** – (Santa Catarina) no verão; Região da ampulha com grande quantidade de espermatozoides estocados no lúmen. **ep** (epitélio do ducto deferente); **EpzL** (espermatozoides no lúmen) **L** (lúmen); **m** (camada muscular). Hematoxilina-eosina.

Dessa forma, o ciclo espermato gênico de machos de *B. jararaca* tanto do CN como do CS são sazonais e os eventos reprodutivos que compõem o ciclo acontecem no mesmo período em ambos os clados. A espermatogênese tem início na primavera e o verão é a fase ativa de produção de espermatozoides (Figura 38). No outono e inverno, os testículos encontram-se inativos (Figura 38). Espermatozoides são encontrados durante todos os meses do ano, no

entanto, as análises histológicas mostraram que o inverno e primavera apresentaram menores quantidades de espermatozoides no lúmen (Figura 38) provavelmente reflexo da estação de acasalamento. A hipertrofia dos rins é observada na primavera e no verão, época de produção de espermatozoides nos testículos (Figura 38).

Figura 38 - Síntese do ciclo reprodutivo de machos de *Bothrops jararaca* do clado norte e sul

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

4.4 RESUMO DOS CICLOS REPRODUTIVOS DE MACHOS E FÊMEAS DE *BOTHROPS JARARACA* DO CN E CS

Os ciclos reprodutivos de machos e fêmeas do CN e do CS são sazonais e bastante similares entre os clados. Fêmeas estocam espermatozoides no útero e no infundíbulo especialmente no outono e inverno corroborando a época de cópula que acontece no outono (Figura 39). Folículos vitelogênicos são observados a partir do final do verão até a primavera e fêmeas grávidas foram observadas a partir da primavera até o final do verão. Nascimento foram registrados principalmente no verão, podendo se estender até o início do outono no CN (Figura 39).

Assim como as fêmeas, os machos de *B. jararaca* tanto do CN como do CS são sazonais e bastante similares. O ciclo espermatogênico de machos tem início na primavera e a fase ativa de produção de espermatozoides acontece no verão (Figura 39). No outono e inverno, os testículos estão inativos sem produção de espermatozoides (Figura 39). O segmento sexual renal tem a sua fase de hipertrofia acompanhando o ciclo espermatogênico, ou seja, o rim encontra-se hipertrofiado na primavera e no verão época de produção de espermatozoides nos testículos (Figura 39). Espermatozoides nos ductos deferentes foram observados durante todas as estações do ano, no entanto, percebe-se uma maior concentração de espermatozoides no verão e outono (Figura 39) (época pré-cópula), bem como uma menor concentração de espermatozoides no inverno e primavera (pós-cópula) (Figura 39).

Figura 39 - Resumo dos ciclos reprodutivos de machos e fêmeas de *Bothrops jararaca* do CN e CS

4.5 JARARACAS INSULARES

Espécimes de *Bothrops jararaca* provenientes de ilhas foram avaliados de forma separada de *B. jararaca* do continente. Embora pertençam a mesma espécie, as insulares apresentam características específicas (principalmente nas variações das histórias de vida) que podem diferenciar esses indivíduos.

Todavia, não são muitos os espécimes disponíveis em coleções científicas. Isso pode refletir nos resultados obtidos neste estudo para essas populações.

4.5.1 Maturidade sexual

Ilhabela: A menor fêmea sexualmente madura apresentou comprimento rostro-cloacal de 755 mm e o menor macho de 548 mm (Tabela 6). **Ilha de Búzios:** A menor fêmea sexualmente madura apresentou comprimento rostro-cloacal de 943 mm e o menor macho de 661 mm (Tabela 9). **Ilha dos Franceses:** A menor fêmea sexualmente madura apresentou comprimento rostro-cloacal de 572 mm (Tabela 6) e o menor macho de 460 mm. Tais dados indicam que machos de *B. jararaca* de todas as ilhas podem atingir a maturidade sexual com menor tamanho do que as fêmeas.

4.5.2 Tamanho do corpo (interpopulacional)

Fêmeas adultas foram significativamente maiores que os machos em Ilhabela e ilha de Búzios (Ilhabela: $t = 3,39$; $gl = 21$; $P < 0,002$; ilha de Búzios: $t = 9,55$; $gl = 30$; $P < 0,0001$; ilha dos Franceses: Tabela 6). Não foram encontradas diferenças significativas entre machos e fêmeas de *B. jararaca* da ilha dos Franceses ($t = 1,22$; $gl = 15$; $P = 0,24$, Tabela 6), isso pode ser reflexo do baixo tamanho amostral.

Tabela 6 – Morfologia de machos e fêmeas adultos de *Bothrops jararaca* de Ilhabela, ilha de Búzios e ilha dos Franceses. A tabela apresenta valores médios $\pm$ DP e valores extremos para as variáveis morfológicas examinadas. CRC: comprimento rostro-cloacal, CC: comprimento da cauda e Ccab: comprimento da cabeça

Variáveis	Ilhabela				Ilha de Búzios				Ilha dos Franceses			
	Machos	<i>n</i>	Fêmeas	<i>n</i>	Machos	<i>n</i>	Fêmeas	<i>n</i>	Machos	<i>n</i>	Fêmeas	<i>n</i>
CRC (mm)	783,0 $\pm$		1062,7 $\pm$ 252,8		750, 7 $\pm$ 70,0		973,2 $\pm$ 51,2		594,7 $\pm$ 58,3		625,2 $\pm$ 41,7	
	127,3 548 -		755 - 1700	11	661 - 944	20	9 - 1033	12	460- 660	9	572- 688	8
	1082	12										
CC (mm)	135,3 $\pm$ 25,6		148,8 $\pm$ 12,6		134,6 $\pm$ 12,2		153,5 $\pm$ 7,2		114,2 $\pm$ 9,9		105 $\pm$ 10,4	
	96 - 182	12	131 - 165	11	105 - 156	20	140 - 166	12	91 - 124	9	91 - 124	8
	30,8 $\pm$ 3,6											
Ccab (mm)	26,68 -		42,8 $\pm$ 6,46		32,9 $\pm$ 2,3		44,7 $\pm$ 2,73		25,2 $\pm$ 1,7		26,9 $\pm$ 2,8	
	38,41	13	33,45 - 52,06	11	28,9 - 37,9	20	40,36 - 48,70	12	21,1 - 27,3	9	21,1 - 30,74	8

4.5.3 Tamanho do corpo entre as populações insulares

O tamanho do corpo diferiu entre as fêmeas de Ilhabela, ilha de Búzios e ilha dos Franceses (Kruskal-Wallis: $KW = 18,8$; $P < 0,0001$). As fêmeas de Ilhabela e da Ilha de Búzios foram maiores do que as fêmeas da ilha dos Franceses ($P < 0,01$ em ambos os casos). No entanto, não houve diferenças significativas entre as fêmeas de Ilhabela e ilha de Búzios ($P > 0,05$) (Figura 40).

O tamanho do corpo diferiu entre os machos de todas as ilhas (Kruskal-Wallis: $KW = 14,9$; $P < 0,0001$). Machos de Ilhabela e da ilha de Búzios foram maiores do que os machos da ilha dos Franceses ($P < 0,001$ em ambos os casos, Figura 40). Todavia, não houve diferenças significativas entre os machos de Ilhabela e ilha de Búzios ($P > 0,05$) (Figura 40).

Figura 40 - Variação interpopulacional no tamanho do corpo (CRC) de machos e fêmeas de *Bothrops jararaca* das populações insulares estudadas.

Resultados das comparações interpopulacionais (teste de Dunn) são indicados pelas letras acima das barras. Letras diferentes representam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre populações ($a > b$).

4.6 CICLO REPRODUTIVO

4.6.1 Fêmeas

Devido ao baixo número de exemplares disponíveis nas coleções zoológicas de populações insulares (Tabela 3) não foi possível traçar o ciclo reprodutivo de machos e fêmeas dessas populações. Assim, baseado nos dados dos exemplares analisados foi possível ter uma noção do período em que alguns eventos reprodutivos estão ocorrendo, baseado especialmente em avaliações histológicas. No entanto, essas análises são muito limitadas.

Foram observadas três fêmeas da ilha de Búzios com folículos vitelogênicos nos ovários na primavera (outubro - única data de coleta desses animais disponíveis em coleção zoológica).

Foi encontrada uma fêmea de Ilhabela com folículos vitelogênicos nos ovários no outono e uma fêmea com embriões nos ovidutos no verão. Nenhuma fêmea das ilhas dos Franceses foi encontrada com folículos vitelogênicos ou embriões. Apesar do baixo número de exemplares disponível para essas populações, esses dados indicam que os eventos reprodutivos das serpentes insulares são bastante semelhantes aos das populações continentais.

4.6.1.1 Contração da musculatura uterina (UMT)

Assim como o encontrado para as fêmeas continentais as jararacas insulares estudadas também apresentaram contração da musculatura uterina (Figura 41).

Foram encontrados espermatozoides estocados no útero de uma fêmea de Ilhabela na primavera (Figura 41A). Esta fêmea tinha folículos vitelogênicos nos ovários. Também foi encontrado espermatozoides no lúmen uterino de uma fêmea da ilha dos Franceses no verão (Figura 41C), mas esta fêmea não estava vitelogênica. Os exemplares de *B. jararaca* da ilha de Búzios são todos da primavera e não foram encontrados espermatozoides estocados no útero (Figura 41B).

Não foram encontrados espermatozoides no infundíbulo de nenhuma fêmea de *B. jararaca* das ilhas estudadas.

Figura 41 - Histologia de corte transversal do útero posterior de fêmeas de *Bothrops jararaca* das ilhas de Búzios, Ilhabela e ilha dos Franceses

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A – Ilhabela (primavera), exemplar apresentando poucos espermatozoides no lúmen uterino. **B** – Ilha de Búzios (primavera), exemplar sem espermatozoides no lúmen uterino. **C** – Ilha dos Franceses (Verão), exemplar com muitos espermatozoides no lúmen. **ep** (Epitélio uterino); **espL** (espermatozoides no lúmen uterino); **L** (lúmen); **m** (camada muscular). **Seta** aponta espermatozoide no lúmen. Hematoxilina-eosina.

4.6.2 Machos

4.6.2.1 Ciclos reprodutivos

Machos de *Bothrops jararaca* de Ilhabela tiveram duas estações avaliadas (outono e inverno). Os testículos de *B. jararaca* de Ilhabela no outono e no inverno apresentaram um epitélio germinativo baixo (Figura 42A e C), somente espermatogônia foram encontradas. Não foi observada produção de espermatozoides nem espermatozoides no lúmen (Fase 1; Tabela 4 e Figura 42A e C). Esse epitélio é característico de uma inatividade testicular (repouso reprodutivo). Ductos deferentes apresentaram poucos espermatozoides estocados no lúmen em ambas as estações avaliadas (Figura 42B e D).

A histologia dos testículos de machos de *B. jararaca* da ilha de Búzios na primavera mostrou um epitélio germinativo alto, no entanto, as características do epitélio são condizentes com a fase inicial de produção de espermatozoide onde é possível observar nos túbulos seminíferos um epitélio com espermátides em metamorfose, porém com poucos espermatozoides no lúmen (Fase 2, 3 da Tabela 4 e Figura 43B). O SSR encontra-se fortemente corado, indicando aumento da atividade secretora, todavia, ainda apresentaram um grande número de TCP (Figura 43A). Esse fato é característico do início da hipertrofia dos rins. Ductos deferentes de machos de *B. jararaca* na primavera apresentaram poucos espermatozoides no lúmen e varias convoluções vazias, sem espermatozoides (Figura 43C).

Figura 42 - Histologia de corte transversal de testículos e ductos deferentes de machos de *Bothrops jararaca* da Ilhabela

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A – Túbulos seminíferos em repouso reprodutivo no outono. **B** - Ducto deferente com espermatozoides no poucos espermatozoides no lúmen no outono. **C** – Túbulos seminíferos em repouso reprodutivo no inverno. **D** – Ducto deferente com poucos espermatozoides no lúmen no inverno. **Ep** (epitélio); **EptG** (Epitélio germinativo); **EpzL** (espermatozoides no lúmen); **L** (lúmen); **m** (camada muscular); **TS** (túbulos seminíferos). Hematoxilina-eosina

Figura 43 - Histologia de corte longitudinal de rim, testículo e ducto deferente de machos de *Bothrops jararaca* da ilha de Búzios na primavera

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A – Rim em início da fase secretora (hipertrofia). **B** – Túbulos seminíferos no início da espermatogênese. **C** – Ducto deferente com espermatozoides no lúmen, apresentando convoluções vazias. **Ep** (epitélio); **EptG** (Epitélio germinativo); **EpzL** (espermatozoides no lúmen); **L** (lúmen); **m** (camada muscular); **SSR** (segmento sexual renal); **TCP** (túbulo convoluto proximal); **TS** (túbulos seminíferos). Hematoxilina-eosina.

Testículos, ductos deferentes e rim de machos *B. jararaca* da ilha dos Franceses foram avaliados somente no verão. Túbulos seminíferos presentes nos testículos mostraram uma fase ativa de produção de espermatozoides (Figura 44B). Nesse período, o epitélio germinativo está alto e podem ser observadas todas as fases de transformação (de espermatogônia a espermatozoides) (Figura 44B). Ductos deferentes apresentaram poucos espermatozoides estocados no lúmen (Figura 44C). O rim de machos de *B. jararaca* provenientes da ilha dos Franceses no verão encontrou-se hipertrofiado (Figura 44C). Nesse período, podem ser observadas uma grande quantidade de células do SSR (Figura 44C) e poucas células de TCP. As células do SSR nessa época se mostraram maior e fortemente coradas (Figura 44C).

Figura 44 - Histologia de corte longitudinal de rim, testículo e ducto deferente de machos de *Bothrops jararaca* da ilha dos Franceses no verão

Fonte: Kasperoviczus, K.N. (2013).

A – Rim hipertrofiado, apresentando muitas células do SSR. **B** – Túbulos seminíferos em fase ativa da espermatogênese. **C** – Ducto deferente na região da ampulha, com espermatozoides no lúmen. **Ep** (epitélio); **EptG** (Epitélio germinativo); **EpzL** (espermatozoides no lúmen); **L** (lúmen); **m** (camada muscular); **SSR** (segmento sexual renal); **TCT** (túbulo convoluto proximal); **TS** (túbulos seminíferos). Hematoxilina-eosina.

Dessa forma, machos de *B. jararaca* das ilhas avaliadas, parecem ter um ciclo reprodutivo semelhante aos das jararacas continentais. Apesar das ilhas estarem muito próximas umas das outras, o tempo de isolamento parece que não foi suficiente para causar modificações nos padrões reprodutivos entre essas populações.

DISCUSSÃO

5.1 MATURIDADE E DIMORFISMO SEXUAL INTRAESPECÍFICO

Machos de *Bothrops jararaca* de ambos os clados e das ilhas estudadas atingem a maturidade sexual com menor tamanho corporal do que as fêmeas, assim como observado em outras espécies do gênero *Bothrops* (VALDUJO et al., 2002; HARTMANN et al., 2004; MONTEIRO et al., 2006; NUNES et al., 2010; BARROS, 2011). Assim como em outras serpentes a fecundidade de *B. jararaca* é positiva e significativamente relacionada com o tamanho do corpo. Dessa forma, a maturidade sexual tardia em fêmeas pode acarretar em vantagens por permitir que essas, apresentando maiores tamanhos, produzam ninhadas maiores (SHINE, 1993, 1994).

Fêmeas foram maiores que os machos em todas as variáveis morfométricas examinadas, com exceção do comprimento da cauda. A ausência de dimorfismo sexual no CRC de *Bothrops aff. jararaca* da ilha dos Franceses, provavelmente foi reflexo do baixo tamanho amostral. Os maiores tamanhos corpóreos das fêmeas são amplamente documentados na literatura não somente no gênero *Bothrops* (HOGE et al., 1959; SOLÓRZANO; CERDAS, 1989; JANEIRO-CINQUINI et al., 1992; SAZIMA; MANZANI, 1998; NOGUEIRA et al., 2003; HARTMANN et al., 2004; MONTEIRO et al., 2006; KASPEROVICZUS, 2009; NUNES et al., 2010; BARROS, 2011; MATIAS et al., 2011), mas também em outras espécies de serpentes (PARKER; PLUMMER, 1987; SCARTOZZONI, 2009; GOMES; MARQUES, 2012). Essa característica ocorre provavelmente devido ao custo energético relacionado à fecundidade ser maior nas fêmeas (SHINE, 1978; BELL, 1980; SEIGEL; FORD, 1987). De acordo com Shine (1994), diversos fatores importantes podem contribuir para a ocorrência de dimorfismo sexual no tamanho. A evolução da viviparidade em serpentes apresenta como resultado um aumento no tamanho do corpo da fêmea em relação aos machos coespecíficos (SHINE, 1994). Além disso, as vantagens de produzir ninhadas maiores poderiam impor uma seleção por maiores tamanhos de fêmeas (SHINE, 1994; SHINE et al., 1998).

O menor comprimento do macho é geralmente correlacionado à ausência de combate (SHINE, 1986, 1994). No gênero *Bothrops*, combate entre machos parece estar restrito somente a *B. atrox*, *B. leucurus* e *B. moojeni* (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002). O índice de dimorfismo sexual em *B. jararaca* do CN foi de 0,33 e de 0,21 para o CS. Esse índice é similar a espécies que não apresentam combate, por exemplo, 0,39 em *B. pubescens* (HARTMANN et al., 2004), 0,49 para *B. alternatus* (NUNES et al., 2010). Porém, o índice em *B. jararaca* é bastante elevado em comparação com espécies que apresentam combate, por exemplo, 0,15 em *B. atrox* (SHINE, 1994) e 0,10 em *B. moojeni* (NOGUEIRA et al., 2003). De fato, nunca foram registrados combates em *B. jararaca*, e nossos dados somente reforçam a ausência de combate para a espécie. Devido ao tamanho amostral de *B. jararaca* de ilhas não foi possível obter um dado confiável de SSD para essas populações. No entanto, é bem provável que essas serpentes insulares também não apresentem rituais de combate.

Com relação à massa, fêmeas são significativamente mais pesadas que machos. Diversos fatores podem atuar influenciando a robustez de uma espécie, como alimentação, reprodução e uso do ambiente (CADLE; GREENE, 1993). Fêmeas geralmente são mais robustas, pois necessitam de uma massa maior, ou seja, uma maior quantidade de gordura armazenada para entrar em vitelogênese e se reproduzir (BONNET et al., 2002; SHINE, 2003).

O dimorfismo sexual no tamanho da cauda encontrado em *B. jararaca* dos clados norte e sul, com valores maiores em machos do que em fêmeas, também corresponde ao padrão mais comumente observado em serpentes (KING, 1989; SHINE, 1993). A explicação para o dimorfismo sexual no comprimento da cauda é devido ao espaço necessário para a acomodação do hemipênis e músculos retratores, determinando em virtude disso, maior tamanho de cauda para machos de serpentes (KING, 1989). Porém, Shine et al. (1999), sugerem que influências filogenéticas, seleção sexual e sucesso reprodutivo atuem também neste dimorfismo sexual.

Outra característica bastante comum em serpentes também observada em *B. jararaca*, independente do clado, é a de fêmeas apresentarem cabeças maiores que as de machos. Esse dimorfismo entre machos e fêmeas provavelmente está relacionado à diferença sexual na dieta (SHINE; CREWS, 1988; HOUSTON; SHINE, 1993; VINCENT et al., 2004). Esses animais podem estar utilizando o substrato de maneira diferente, e consequentemente, se alimentando de presas de tamanhos distintos, o que poderia exercer uma pressão seletiva no tamanho da cabeça desta espécie (SHINE; CREWS, 1988; HOUSTON; SHINE, 1993; VINCENT et al., 2004).

5.2 MORFOLOGIA E HISTÓRIAS DE VIDA

Diversos estudos têm demonstrado variações na morfologia e na história de vida de espécies ocorrendo em diferentes regiões geográficas (TINKLE; BALLINGER, 1972; BALLINGER, 1979; PEARSON et al., 2002; JI; WANG, 2005; PIZZATTO; MARQUES, 2006; ZUFFI et al., 2009). Dada a ampla distribuição de *Bothrops jararaca* no continente (Figura 5) e a estruturação genética em dois clados distintos ao longo de sua área de ocorrência (GRAZZIOTIN et al., 2006), variações geográficas na morfologia e história de vida dessa espécie também eram esperadas. Os nossos resultados foram consistentes nesse sentido e revelaram que *Bothrops jararaca* dos clados norte e sul diferiram na maioria das características examinadas.

Pelo menos um trabalho prévio havia demonstrado a ocorrência de variação geográfica na morfologia de *B. jararaca*. Hoge et al. (1977) compararam o número de escamas ventrais entre as populações meridionais (PR e SC) e setentrionais (RJ, MG e ES) da espécie. Os autores encontraram que o número de escamas ventrais nas populações meridionais foi do que nas populações setentrionais e que espécimes de São Paulo apresentaram valores intermediários entre os dois padrões (HOGE et al., 1977). Na maioria das serpentes estudadas, o número de escamas ventrais é positivamente correlacionado com o número de vértebras e, consequentemente, com o tamanho do corpo (LINDELL et al., 1993; LINDELL, 1994). Diante disso, era esperado que os indivíduos do CN fossem maiores do que os do CS. Nossos resultados corroboram essa hipótese para ambos os sexos.

O tamanho do corpo é uma característica que recorrentemente apresenta variação geográfica (MADSEN; SHINE, 1993; JI; WANG, 2005). Diversos processos podem contribuir para a variação interpopulacional de uma espécie, como taxas de sobrevivência diferencial nos adultos (KING, 1989), adaptação local ou mesmo plasticidade fenotípica das taxas de crescimento em resposta à disponibilidade de alimento (MADSEN; SHINE, 1993).

Embora traçar um padrão bem definido de variação clinal no tamanho do corpo seja ainda tarefa relativamente difícil (ANGILLETTA et al., 2004; PINCHEIRA-DONOSO et al., 2008), répteis Squamata tendem a atingir menores tamanhos em regiões mais frias (ASHTON, 2001). Os menores tamanhos corpóreos observados no CS (região mais fria) corroboram essa hipótese. Além disso, padrão de similar de variação foi observado em outro viperídeo, *Crotalus oreganus* (ASHTON, 2001).

Curiosamente, apesar de apresentarem maiores tamanhos corpóreos, machos e fêmeas do CN apresentaram cabeças relativamente menores e foram menos robustos que machos e fêmeas do CS. O dimorfismo sexual no tamanho da cabeça é frequentemente explicado por diferenças na composição da dieta em nível intersexual (SHINE; CREWS, 1988; HOUSTON; SHINE, 1993; VINCENT et al., 2004). Normalmente, indivíduos do sexo que apresenta cabeças relativamente maiores são capazes de se alimentar de presas maiores. Fatores como alimentação, reprodução e uso do ambiente podem influenciar a robustez de uma espécie (CADLE; GREENE, 1993). Assim, é possível que machos e fêmeas do CS se alimentem de presas diferentes e/ou relativamente maiores do que as presas consumidas pelos indivíduos do CN. Estudos de ecologia alimentar são necessários para testar essa hipótese.

O tamanho do corpo é correlacionado com diversos parâmetros de história de vida, como fecundidade (número, tamanho e massa dos filhotes) e tamanho na maturidade (FITCH, 1970, 1982; SEIGEL; FORD, 1987; SHINE, 1993, 1994). Diante disso, a variação no tamanho corpóreo entre os dois clados de *B. jararaca* presumivelmente implica em variação nessas características. Nossos dados apontaram variação em ambas.

A correlação entre tamanho do corpo materno e número de filhotes produzidos foi observada nos dois clados de *B. jararaca*. O tamanho médio da ninhada de *B. jararaca* diferiu entre os clados. Fêmeas do CN têm em média uma maior fecundidade do que fêmeas do CS (CN= 15,3; CS = 11,9 filhotes por ninhada). A variação do tamanho da ninhada é explicada pelo CRC materno em ambas as populações. Mesmo após a correção da influência do tamanho do corpo materno, o tamanho da ninhada, continuou diferindo entre os clados. No entanto, com a correção da influência do tamanho do corpo materno, as fêmeas do CS passaram a apresentar uma fecundidade relativa maior do que as fêmeas do CN. Assim, o maior tamanho da ninhada observado no CN aparentemente é consequência do maior tamanho materno alcançado pelas fêmeas dessa população.

Diversos estudos em Squamata tem mostrado que baixa disponibilidade de alimento resulta em menor fecundidade (BALLINGER, 1977; SEIGEL; FITCH, 1985; FORD; SEIGEL, 1989; SEIGEL; FORD, 1991, 1992). *Bothrops insularis* e *B. alcatraz*, espécies próximas de *B. jararaca*, apresentam menor fecundidade (MARQUES et al., 2002; KASPEROVICZUS, 2009). Uma das explicações para essa menor fecundidade está relacionada a alimentação desses indivíduos. *B. insularis* da ilha da Queimada Grande, se alimenta de aves migratórias

(MARQUES et al., 2002b; MARQUES et al., 2012), alimento altamente estocástico e menos calórico se comparado a um roedor. *Bothrops alcatraz* se alimenta de lacraias e pequenos lagartos, alimentos com baixo teor calórico (MARQUES et al., 2002). Essa modificação na dieta possivelmente teve influência nos menores tamanhos corpóreos e menor fecundidade nessas espécies. Paralelamente, experimentos em laboratório têm demonstrado uma marcada plasticidade fenotípica no tamanho da ninhada. Seigel e Ford (2001) mostraram que fêmeas de serpentes que tiveram uma dieta mais calórica apresentaram maior variação no tamanho dos filhotes do que fêmeas com dieta menos calórica, indicando que a dieta afeta a variabilidade dos filhotes dentro da ninhada. A diferença encontrada na fecundidade de fêmeas de *B. jararaca* do CN e do CS poderia resultar da disponibilidade de alimento entre essas populações? Nós sabemos que adultos de *B. jararaca* se alimentam principalmente de mamíferos (MARTINS et al., 2002). Assim, seriam os roedores do CS menores, menos abundantes? Existem variações na disponibilidade de recursos ao longo do ano especialmente no inverno? Ou seria esta variação somente consequência fenotípica em resposta ao ambiente termal (FORSMAN; SHINE, 1995). Infelizmente, nós não temos essas informações disponíveis. Porém, baseado no maior tamanho da cabeça e da maior robustez encontrada em *B. jararaca* do CS possivelmente a alimentação seja o fator que esteja impondo limites na fecundidade dessa população. Provavelmente essa variação possa ser mediada por outros fatores como o clima ou genéticos.

Machos e fêmeas de *Bothrops jararaca* do CN atingem a maturidade sexual com maior tamanho corporal que machos e fêmeas de *B. jararaca* do CS. No entanto, levando em consideração a maturidade relativa ao tamanho corporal médio do adulto, fêmeas do CN (72%) atingem a maturidade com tamanhos médios corpóreos proporcionalmente menores do que fêmeas do CS (81%). Assim, *B. jararaca* do CN atinge a maturidade sexual mais cedo e com menor tamanho relativo do que *B. jararaca* do CS que parece “atrasar” a maturidade atingindo assim tamanhos relativamente maiores. Esse atraso na maturação no CS é importante para essa população, uma vez que a taxa de crescimento em répteis diminui após a maturidade (ANDREWS, 1982). No geral, a maturidade em répteis ocorre quando os indivíduos atingem mais ou menos 80% do CRC máximo. Assim, após a maturidade os indivíduos tendem a crescer muito pouco. Se as fêmeas de *B. jararaca* do CS atingissem a maturidade com as mesmas proporções encontradas em *B. jararaca* do CN essa população teria uma significativa perda em fecundidade. Dessa forma, o atraso na maturidade nas populações do CS pode proporcionar um

incremento na fecundidade. Em paralelo, a diminuição na taxa de crescimento após a maturidade pode ser uma das explicações para o menor tamanho do corpo encontrado tanto em machos como em fêmeas de *B. jararaca* do CS.

O tamanho dos filhotes também variou entre os clados onde os filhotes do CN foram maiores que filhotes do CS. Nossos resultados não corroboram os dados da literatura que têm mostrado que o clima frio seleciona filhotes maiores no nascimento devido a uma maior chance de sobrevivência como consequência de maior habilidade de locomoção para escapar de predadores, acesso a maior variedade de presas, maior sucesso no forrageamento e, principalmente devido a um menor tempo para atingir a maturidade sexual (ARNOLD, 1993; FORSMAN; SHINE, 1995; WAPSTRA et al., 2001; JANZEN; WARNER, 2009; FORD; SEIGEL, 2011).

Experimentos de laboratório tem demonstrado uma relação entre filhotes maiores e maiores taxas de sobrevivência após a hibernação (BRONIKOWSKI, 2000). É evidente que o problema da hibernação não se aplica a *B. jararaca*, no entanto, as baixas temperaturas registradas no sul do Brasil durante a estação fria resultam em diminuição da atividade (MARQUES et al., 2001; ALMEIDA-SANTOS, 2005). Além disso, a diminuição da disponibilidade de recursos nesse período também é um problema em potencial. O conceito de que a disponibilidade de presas afeta as características reprodutivas maternas, entre elas o tamanho dos filhotes, foi proposto por Andrén (1982). Esse autor mostrou por meio de experimentos de laboratório o efeito causado pela disponibilidade de recursos (escassez e abundância) no tamanho dos filhotes. Dessa forma, a disponibilidade de recursos pode ser um dos principais fatores atuantes nas mudanças encontradas nas variações das histórias de vida dessas populações.

O Brasil é um país de extensão continental e que apresenta diversos biomas e climas. Dentro dos limites do nosso país existe um número enorme de espécies de répteis que apresentam ampla distribuição e relativa abundância latitudinal e altitudinal. Apesar disso, estudos que envolvam possíveis variações geográficas na história de vida de serpentes no Brasil são raros (PIZZATTO; MARQUES, 2006; MORAES, 2008) e diversas questões ainda precisam ser respondidas. Serpentes neotropicais tem uma biologia diferente dos animais de zonas temperadas, por exemplo, não hibernam, tem um maior período de atividade, disponibilidade de presas, etc. Assim, estudos de variação geográfica em serpentes neotropicais são importantes porque podem

proporcionar uma maior compreensão da variação geográfica e dos processos evolutivos que as moldam. Esses estudos podem ser realizados tanto com animais de coleção como por meio de trabalho de campo combinados experimentos em laboratório (e.g., JI; WANG, 2005). Em particular, experimentos invertendo as condições experimentadas pelos dois clados de *B. jararaca*, (i.e., dar a *B. jararaca* do CS as mesmas condições termais e de alimentação das jararacas do CN e vice-versa) e verificar os efeitos dessa “troca” nos traços reprodutivos seriam de grande valia para testar se as variações observadas são fixadas ou se são respostas plásticas nessas populações.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS CICLOS REPRODUTIVOS

Diferente do esperado, não foi encontrado variações no ciclo reprodutivo de machos e fêmeas de *B. jararaca* em ambos os clados. Assim, o ciclo reprodutivo de machos e fêmeas de *Bothrops jararaca* de ambos os clados são sazonais, e os eventos reprodutivos acontecem nos mesmos períodos do ano. Os nossos dados indicam ainda provável sazonalidade reprodutiva nas populações insulares, semelhante ao encontrado em *B. jararaca* do continente.

Mathies (2011) descreve três padrões de variações nos ciclos reprodutivos para ambos os sexos: **descontínuo**, quando as gônadas ou acessórios encontram-se inativos durante determinado período do ano (padrão comum e bem documentado para serpentes de zonas temperada e tropical); **contínuo**, quando as gônadas ou acessórios não estão totalmente inativos, mas mostram uma redução na atividade em certo período do ano (conforme o autor, esse padrão tem sido bastante usado, porém não foi verificado em serpentes) e **acíclico**, quando as gônadas ou acessórios permanecem com os mesmos níveis de atividade durante todo o ano (padrão inferido, porém não confirmado em serpentes). Os ciclos reprodutivos de machos e fêmeas de *Bothrops jararaca* de ambos os clados podem ser caracterizados como descontínuo, pois em ambos os sexos são observados período de inatividade reprodutiva.

Os diferentes ambientes experimentados por essas populações não foram suficientes para causar modificações significativas no ciclo reprodutivo de machos e fêmeas. Aparentemente, as populações insulares também não sofrem variações sazonais. Todavia, devido à baixa

amostragem nas populações insulares ainda é prematuro fazer qualquer afirmação nesse sentido. Estudos futuros são necessários para uma melhor compreensão do ciclo das populações insulares.

5.3.1 Fêmeas

A combinação das análises morfológicas e histológicas das vias genitais dos animais de coleção produziu resultados consistentes acerca do ciclo reprodutivo de fêmeas de *B. jararaca* do CN e CS.

A corte e a cópula foram registradas para as populações do clado CN no outono. Não foi registrado dados de corte ou cópulas para os animais do CS. Contudo, baseado na histologia do trato reprodutor bem como na estocagem de espermatozoides, pode-se inferir que o período de corte e cópula em *B. jararaca* do CS também ocorra no outono. Espermatozoides também foram encontrados nas vias uterinas em fêmeas do CN e CS no inverno e esporadicamente no verão. Dessa forma, podemos afirmar que o período de cópula de *B. jararaca* de ambos os clados é principalmente outonal, podendo se estender ao inverno. Cópulas também podem acontecer no verão, no entanto, essa observação é bastante rara. A cópula no outono/inverno é observada em diversos viperídeos neotropicais (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; NOGUEIRA et al., 2003; ALMEIDA-SANTOS, 2005; KASPEROVICZUS, 2009; NUNES et al., 2010; BARROS; 2011; BARROS et al., 2012). Regiões temperadas e, conseqüentemente, mais frias apresentam um verão curto (SAINT-GIRONS, 1982). Dessa maneira, todo o ciclo reprodutivo tanto de machos como de fêmeas tem que ocorrer dentro desse curto período de tempo antes do rigoroso inverno (SAINT-GIRONS, 1982). A grande maioria das espécies dessa região apresenta um período de corte e cópula na primavera, geralmente quando emergem de hibernáculos como observados em colubrídeos (veja relação de espécies em ALDRIDGE et al., 2009) e em viperídeos (ALDRIDGE; DURVALL, 2002). Essa marcada sazonalidade no sistema de acasalamento de serpentes temperadas tende a desaparecer em serpentes que habitam ambientes onde os invernos são mais amenos (ALDRIDGE; DURVALL, 2002), por exemplo, em *Crotalus adamanteus* da Flórida que se acasala em dezembro/ janeiro (final do outono, início do inverno). De fato, a região dos trópicos apresenta invernos menos rigorosos e esse pode ser a provável

explicação dos ciclos reprodutivos de *B. jararaca* de ambos os clados acontecerem nas estações mais frias (outono/inverno). Fatores filogenéticos também parecem influenciar fortemente a época de acasalamento não só em *B. jararaca* como em todos os viperídeos neotropicais.

O período de cópula em *B. jararaca* de ambos os clados (outono) é dissociado da época de fertilização dos folículos (primavera). Essas observações também se ajustam ao padrão geral observado em outras espécies do gênero *Bothrops* (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002). Assim, existe uma assincronia entre os ciclos reprodutivos de machos e fêmeas, pois a cópula ocorre em um período em que os folículos ainda não estão prontos para serem fecundados, acarretando assim, na necessidade de estocagem de espermatozoides pelas fêmeas durante certo período (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; SCHUETT et al., 2002; GIRLING, 2002; SIEGEL et al., 2009). Fêmeas de ambos os clados apresentaram folículos vitelogênicos a partir de fevereiro/março. Assim, fêmeas copulam quando seus folículos já estão em início de vitelogênese. De fato, todas as fêmeas em que foram encontrados espermatozoides estocados estavam vitelogênicas, como observado em diversas outras espécies (ALDRIDGE; DURVALL, 2002; ALMEIDA-SANTOS, 2005; SIEGEL et al., 2009).

A estocagem de espermatozoides é um evento comum em répteis, sendo frequentemente observada em fêmeas de lagartos e serpentes (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002). Esta é uma importante estratégia utilizada por serpentes, pois assegura a fêmea que a fecundação ocorra no momento em que os folículos estiverem preparados (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 1997, 2002; GIRLING, 2002; ALMEIDA-SANTOS; ORSI, 2002; ALMEIDA-SANTOS, 2005; SEIGEL et al., 2011).

Neste trabalho, encontramos dois tipos de estocagem de espermatozoides em *B. jararaca* de ambos os clados. O primeiro foi descrito como um mecanismo de estocagem de espermatozoides em serpentes Viperidae neotropicais e foi denominado de UMT (Uterine Muscular Twisting). Esta contração uterina é fisiológica e atua sobre influência hormonal (ALMEIDA-SANTOS E SALOMÃO, 1997; ALMEIDA-SANTOS et al., 2004). Segundo Almeida-Santos (2005), para que ocorra este tipo de estocagem é necessário além da contração da musculatura uterina, modificações no próprio epitélio que passa a apresentar muitas células mucosas e ciliadas, provavelmente a fim de manter os espermatozoides nesta região. Este padrão de estocagem não é muito comum. Rahn (1940) encontrou agregações de espermatozoides no útero em fêmeas de *Thamnophis sirtalis* e Ludwig e Rahn (1943) encontraram agregações de

espermatozoides em fêmeas de *Crotalus viridis*. Apesar disso, o encontro de espermatozoides no útero posterior de fêmeas de serpentes neotropicais da família Viperidae é bastante comum, sendo observado em todas as espécies estudadas (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002).

A segunda forma de estocagem de espermatozoides, a qual está sendo descrito neste trabalho pela primeira vez em viperídeos neotropicais, é o padrão mais comum de estocagem de esperma sendo encontrado na região do infundíbulo em serpentes de zonas temperadas. Este tipo de estocagem já foi descrito para diversas espécies de serpentes (SCHUETT, 1992; SEVER; RYAN, 1999; SIEGEL; SEVER, 2008; SIEGEL et al., 2009; SIEGEL et al., 2011; BOOTH; SCHUETT, 2011). Entretanto, ainda não havia sido registrado para nenhum viperídeo neotropical. Este padrão é, segundo Sever e Hamlett (2002), o modo ancestral de estocagem de espermatozoides. De acordo com Siegel e Sever (2008) a estocagem no infundíbulo seria a “verdadeira estocagem de espermatozoides”. Esses autores acreditam que a maioria do material encontrado no útero (UMT) seja resultado da secreção de origem dos machos (provavelmente do SSR) e que os espermatozoides encontrados nessa região permanecem lá por um curto período de tempo, podendo durar algumas semanas. Assim, os autores não consideram essa região como um “local primário” de estocagem de esperma.

Neste trabalho, nós encontramos espermatozoides estocados no útero e no infundíbulo de fêmeas do CN e do CS no outono e inverno, período que corresponde à época de cópula da espécie. O encontro de espermatozoides no infundíbulo também nessa época do ano reforça a ideia de que a estocagem de espermatozoides no útero seja apenas temporária. No entanto, nós não descartamos essa região como uma região de estocagem. Nós acreditamos que por algum motivo, provavelmente por competição, os espermatozoides permaneçam no útero por um curto período e logo ascendam ao infundíbulo onde ficarão estocados em túbulos alveolares de estocagem até a fecundação na primavera. Padrão semelhante foi encontrado por Rahn (1940) em *Thamnophis sirtalis*. Assim, *B. jararaca* de ambos os clados, e possivelmente das ilhas, apresentam dois padrões diferentes de estocagem de espermatozoides. O primeiro observado no útero onde provavelmente há competição de esperma e o segundo no infundíbulo onde permanecerão até a fecundação.

O encontro de espermatozoides no infundíbulo posterior de fêmeas de *B. jararaca* abre o caminho para novas pesquisas em estratégias reprodutivas dos crotalíneos neotropicais. Provavelmente, este tipo de estocagem ainda não havia sido observado por falta de estudos nessa

região anatômica das fêmeas. Assim, mecanismos que permitam a estocagem de espermatozoides sejam no útero posterior ou no infundíbulo posterior devem ser reavaliados. Dada essa complexidade, estudos de ciclos reprodutivos que não levam em consideração a estocagem de espermatozoides (por meio de microscopia de luz ou de ultraestrutura) devem ser olhados com certa restrição, uma vez que podem não refletir o real padrão reprodutivo da espécie (ROJAS, 2009).

A fecundação em *B. jararaca* ocorre quando os folículos atingem certo tamanho ovulatório. Aldridge (1979) descreveu diferenças nos padrões temporais de deposição do vitelo nos folículos ovarianos e sugeriu dois tipos básicos: Tipo I - crescimento na primavera e Tipo II - crescimento no verão, outono e primavera. No Tipo II, que é observado principalmente em serpentes da região temperada, o processo de vitelogênese é interrompido no inverno, quando as serpentes entram em hibernação. Neste período, os folículos ovarianos estão com a metade do tamanho ovulatório (SCHUETT, 1992). Após a hibernação, a vitelogênese é retomada, sendo finalizada na primavera. Porém, o Tipo II de vitelogênese é observado também em muitos viperídeos da região tropical (ALMEIDA-SANTOS; ORSI, 2002; ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; HARTMANN et al., 2004; KASPEROVICZUS, 2009; NUNES et al., 2010; BARROS, 2011; BARROS et al., 2012; HOYOS-ARGÁEZ, 2012), mas sem a interrupção do crescimento folicular. O processo vitelogênico em fêmeas de *B. jararaca* de ambos os clados começa no início do outono atingindo seu máximo na primavera sendo, dessa forma, caracterizado como vitelogênese do Tipo II (ALDRIDGE, 1979). Esse padrão de crescimento folicular também já foi observado para outras espécies do grupo jararaca como a *B. insularis* (KASPEROVICZUS, 2009).

O início da deposição de vitelo no ovócito em *B. jararaca* do CN e do CS ocorre quando os folículos estão com comprimento aproximado de 10 mm no final do verão e início do outono. Esse tamanho já havia sido observado em outros trabalhos com a espécie (ALMEIDA-SANTOS, 2005; MORAES, 2008).

Um maior número de fêmeas com folículos em vitelogênese primária comparada as fêmeas em vitelogênese secundária sugere que a espécie não se reproduza sazonalmente. A reprodução bienal, ou até mesmo trienal, é um padrão comumente observado em viperídeos (ALDRIDGE, 1979; SEIGEL; FORD, 1987; KASPEROVICZUS, 2009) e já havia sido constatado previamente em *B. jararaca* (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; ALMEIDA-

SANTOS, 2005). A reprodução é um processo que envolve intensos gastos de energia e, portanto, a frequência reprodutiva é, em parte, influenciada pela disponibilidade de alimentos e pelo consequente *status* nutricional das fêmeas (DERICKSON, 1976; BLEM, 1982; MACARTNEY; GREGORY, 1988; STEARNS, 1992). Portanto, a reprodução a cada dois anos (ou em intervalos maiores) é, por vezes, resultado dessa necessidade de aquisição de reservas de energia (DERICKSON, 1976; PLUMMER, 1983; SHINE, 1986). Muitas serpentes não iniciam a reprodução até que suas reservas energéticas atinjam um determinado limiar (BONNET et al., 2002). Este limiar é relativamente invariante em alguns viperídeos, como *Vipera berus* (BONNET et al., 2001, 2002), mas, difere ao longo do tempo em populações que exploram recursos altamente estocásticos (ANDRÉN; NILSON, 1983; MADSEN; SHINE, 1999; SHINE; MADSEN, 1997; MADSEN; SHINE, 2000). Algumas espécies de serpentes utilizam energia estocada para a reprodução, dissociando assim, temporariamente a aquisição de energia do gasto, enquanto que, outras utilizam energia proveniente da alimentação obtida durante a própria estação reprodutiva, e modificam o gasto reprodutivo de acordo com os níveis de recursos disponíveis (BONNET et al., 1998; BROWN; SHINE, 2002; SHINE; MADSEN, 1997). O período entre o nascimento no verão e o início da vitelogênese secundária no outono em *B. jararaca*, assim como em outros *Bothrops*, é relativamente curto, prevenindo as fêmeas de ganhar gorduras e se reproduzirem no ano subsequente (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002). Portanto, esses fatores podem ser responsáveis pela frequência reprodutiva das fêmeas de *B. jararaca* não serem anual, independente do clado ou do clima experimentado.

A ovulação, a fertilização e a gestação ocorrem durante a primavera e verão, época em que a temperatura do ar e consequentemente as temperaturas corpóreas das fêmeas são mais elevadas. Altas temperaturas aceleraram a taxa de embriogênese e podem também otimizar diversos caracteres fenotípicos dos filhotes (SHINE, 2004; WEBB et al., 2006). Como consequência da gestação ocorrendo na primavera, a parturição em *B. jararaca* ocorre no verão e início do outono, assim como observado em outros *Bothrops* (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; VALDUJO et al., 2002; NOGUEIRA et al., 2003; KASPEROVICZUS, 2009; NUNES et al., 2010; BARROS, 2011). Nossos resultados para o clado sul também corroboram o observado por Alves et al. (2000) para *Bothrops jararaca* do Rio Grande do Sul, onde os autores encontram o mesmo período de gestação e nascimento dos filhotes. Esse

resultado também apoia os mesmos períodos (gestação, nascimento) para jararacas do clado norte (ALMEIDA-SANTOS, 2005; MORAES, 2008).

O padrão de ciclo reprodutivo esperado para *B. jararaca* do CS era de um ciclo mais extenso em comparação ao CN, devido principalmente às diferenças nas temperaturas experimentadas por esses dois grupos. Teoricamente, viperídeos de zonas temperadas teriam um ciclo reprodutivo mais extenso devido a uma pausa reprodutiva nas épocas mais frias do ano. Entretanto, esse não foi o quadro observado neste estudo. Foi observado que fêmeas de *B. jararaca* de ambos os clados apresentam um reprodutivo ciclo sazonal onde os eventos reprodutivos (cópula, vitelogênese, fecundação, gestação, e nascimento dos filhotes) acontecem nas mesmas épocas do ano. Diante disso, fica claro que o ciclo reprodutivo de fêmeas desta espécie apresenta um notável grau de conservatismo. Portanto, de forma geral, o ciclo reprodutivo de fêmeas de *B. jararaca* é similar ao encontrado em outras espécies do gênero *Bothrops* (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; VALDUJO et al., 2002; NOGUEIRA et al., 2003; HARTMANN et al., 2004; KASPEROVICZUS, 2009; NUNES et al., 2010; BARROS, 2011), corroborando o conservatismo reprodutivo do gênero *Bothrops* sugerido por Almeida-Santos e Salomão (2002).

5.3.2 Machos

Ciclos reprodutivos de machos de serpentes são bem menos estudados do que os das fêmeas. A grande maioria dos estudos disponíveis envolve serpentes de regiões temperadas (MATHIES, 2011). Estudos com serpentes neotropicais são escassos (MATHIES, 2011) e os poucos disponíveis abordam apenas dados morfológicos de diâmetro de ductos deferentes e testículos. Quase não existem trabalhos de ciclos de machos com abordagem histológica. Contudo, esse panorama vem aos poucos se modificando (BARROS et al., 2012; ROJAS et al., 2013), de forma que os estudos dos ciclos de machos podem ser melhor compreendidos e servir de base para comparações entre os ciclos de espécies que apresentam ampla variação geográfica ou entre o ciclo de espécies diferentes.

Em machos de serpentes, o aumento das dimensões e do volume testicular reflete espermatogênese (VOLSØE, 1944) e o aumento do diâmetro dos ductos deferentes reflete estocagem de espermatozoide (ALMEIDA-SANTOS et al., 2006). Machos de *B. jararaca* do CN apresentaram menor volume testicular no outono. Esse dado corrobora o encontrado nas análises histológicas que mostraram que nessa estação os testículos estão inativos (dormência reprodutiva). Porém, essa variação na morfologia testicular não foi observada no inverno embora a histologia tenha mostrado que essa variação existe. Testículos no inverno também estão inativos. Já no CS, não foi verificada variações sazonais no volume dos testículos ao longo do ano. Porém, avaliações histológicas dos testículos de machos do CS mostraram que, assim como nos machos do CN, os testículos encontravam-se inativos no outono e no inverno e ativos na primavera e verão.

Ductos deferentes não mostraram variações no seu diâmetro ao longo do ano em nenhum dos clados. Avaliações histológicas mostraram que espermatozoides podem ser observados em todas as estações avaliadas em machos de ambos os clados. Assim, a morfologia do diâmetro do ducto deferente pode ser reflexo do mecanismo dessa estocagem nos ductos deferentes. No entanto, quando analisados histologicamente, verificamos que existem variações na quantidade de espermatozoides estocados nos ductos deferentes e na região da ampulha. Essa variação geralmente não é detectada nas análises morfológicas.

A região da ampulha é reconhecida como o local onde o sêmen é acumulado até a época de acasalamento (ALDRIDGE et al., 2011). Deste modo, os machos exibem uma grande habilidade para estocar espermatozoides nos ductos deferentes, mesmo quando não há atividade testicular (outono/inverno), assim como outros viperídeos (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; KASPEROVICZUS, 2009; BARROS, 2011; BARROS et al., 2012). A presença de esperma no ducto deferente durante todos os meses do ano (apesar do período restrito de acasalamento no outono) indica um potencial para ocorrência de cópulas em qualquer época do ano, fato este já observado para outros *Bothrops* (JANEIRO-CINQUINI et al., 1993; ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002). No entanto, foram observadas variações na quantidade de espermatozoides nos ductos de machos de *B. jararaca* de ambos os clados. O verão e o outono foram as estações que apresentaram maiores quantidades de espermatozoides nos ductos, provavelmente reflexo da produção de espermatozoides pelos testículos (verão) e estoque para a época de acasalamento (outono). Inverno e primavera apresentaram menor quantidade de

espermatozoide e em algumas ocasiões foram observadas câmaras de estocagem presentes nos ductos vazios, provavelmente resultado da cópula outonal e da inatividade testicular.

A atividade reprodutiva dos machos é influenciada por hormônios sexuais (SALOMÃO; ALMEIDA-SANTOS, 2002; SCHUETT et al., 2002) que por sua vez determinam a época da procura e corte das fêmeas atrativas. A atratividade (estro) das fêmeas de viperídeos (ALDRIDGE; DUVALL, 2002) está relacionada à vitelogênese e aos altos níveis de estradiol (ALMEIDA-SANTOS, 2005). Logo, a julgar por este padrão, as fêmeas de *B. jararaca* é que possivelmente determinem a época do acasalamento, assim como em outras espécies (SEVER; RYAN, 1999; ALDRIDGE; DUVALL, 2002).

Avaliações morfológicas dos testículos há muito tem se mostrado ineficientes (MATHIES, 2011). Diversos trabalhos têm constatado que a morfologia geralmente não reflete a histologia (KASPEROVICZUS, 2009; SANTOS, 2009; ROJAS, 2009; BARROS, 2011). Dessa forma, a histologia é a ferramenta que deve ser usada para análises do ciclo espermatogênico dos machos, pois reflete exatamente as possíveis variações sazonais encontradas nos túbulos seminíferos. O uso apenas do volume testicular, pode induzir a uma interpretação equivocada do ciclo espermatogênico da espécie de estudo (MATHIES, 2011).

O ciclo reprodutivo de machos de *B. jararaca* de ambos os clados e das ilhas avaliadas é sazonal, pois a produção de espermatozoides ocorre em determinado período do ano. A espermatogênese em *B. jararaca* segue os padrões encontrados em muitas espécies de serpentes de regiões temperadas. Esse padrão que consiste de uma única estação de acasalamento com um período de inatividade testicular (FOX, 1977; JOHNSON et al., 1982).

Saint-Girons (1982) descreveu quatro tipos de ciclos espermatogênicos para machos de serpentes. No primeiro, chamado de pós-nupcial (ou Tipo I; SCHUETT, 1992), a espermatogênese ocorre nos períodos mais quentes e os espermatozoides são estocados nos ductos deferentes durante o inverno até a primavera quando ocorre a cópula. No segundo, chamado de misto (ou Tipo II; SCHUETT, 1992), a multiplicação das espermatogônias começa no verão e a espermatogênese é interrompida durante o inverno no estágio de espermatócito ou espermátide. O terceiro tipo, denominado pré-nupcial (ou tipo III; SCHUETT, 1992), é encontrado apenas em alguns lagartos e em serpentes de regiões mediterrâneas áridas. Caracteriza-se pelo começo da multiplicação das espermatogônias no outono ou inverno e pelo surgimento de espermatócitos e desenrolar da espermatogênese na primavera, com repouso

reprodutivo no verão. No último tipo, chamado de contínuo (ou Tipo IV; SCHUETT, 1992), a atividade espermatogênica ocorre durante todo o ano.

Machos de *B. jararaca* dos clados norte e sul apresentam um ciclo espermatogênico bem marcado com o início da produção de espermatozoides na primavera e pico de atividade espermatogênica no verão, período no qual todas as células germinativas podem ser observadas juntamente com grande quantidade de espermatozoides no lúmen testicular. O outono e o inverno são os períodos de inatividade testicular ou dormência reprodutiva. Nessa fase, o epitélio germinativo encontra-se baixo (apresentando apenas uma ou duas camadas de espermatogônias). Alguns espermatozoides ainda podem ser encontrados no lúmen, como resquício da estação reprodutiva anterior. Dessa forma, o ciclo reprodutivo de machos de *B. jararaca* do clado norte e do clado sul são considerados do tipo pós-nupcial ou do tipo I (SHUETT, 1992) Esse tipo de ciclo reprodutivo já havia sido descrito para *B. jararaca* de São Paulo por Almeida-Santos (2005) e Moraes (2008).

Aldridge (1975, 1979) e Saint-Girons (1982) sugerem que a temperatura seja um dos principais fatores climáticos capaz de exercer alguma influência nos ciclos reprodutivos de machos de serpentes e que o desenvolvimento bem sucedido da espermatogênese está diretamente ligado ao aumento da temperatura. Em um experimento de laboratório, Aldridge (1979) mostrou que a espermatogênese em *Nerodia sipedon* avança em temperatura de 20 °C, mas que a espermiogênese só começa efetivamente a 21,3 °C. Segundo Saint-Girons (1982) as condições climáticas de regiões tropicais (temperaturas mais elevadas ao longo do ano) permitiriam a espermatogênese acontecer em qualquer época do ano (ciclo assazonal) em serpentes.

O início da espermatogênese de machos de *B. jararaca* acontece nas estações mais quentes do ano (primavera) e tem o pico de atividade no verão e um período de inatividade reprodutiva no outono e no inverno. Esse padrão sazonal é similar ao de espécies de regiões temperadas (e.g., cascavel *Crotalus viridis*: ALDRIDGE, 1975 e *Agkistrodon piscivorus*: JOHNSON et al., 1982) e de regiões tropicais (e.g., *Crotalus durissus*: ALMEIDA-SANTOS, 2005 e *Bothrops erythromelas*: BARROS, 2011). Um padrão de ciclo diferente do encontrado em *B. jararaca* foi observado em *B. insularis* (serpente insular proximamente aparentada com *B. jararaca*). Nessa espécie, a espermatogênese começa no outono, tem uma diminuição da sua atividade no inverno sendo retomada na primavera. No verão os testículos de *B. insularis* estão

inativos (KASPEROVICZUS, 2009). Esse fato foi associado à época de alimentação, uma vez que *B. insularis* só se alimentam de aves migratórias que são mais avistadas na ilha no final do verão/outono (MARQUES et al., 2012). Assim, de acordo com Kasperoviczus (2009), machos parecem sincronizar o ciclo aos períodos de abundância de alimento na ilha. A espermatogênese em serpentes pode, por vezes, ser bastante dispendiosa, consumindo uma significativa parcela das reservas energéticas dos machos (OLSSON et al. 1997; OLSSON; MADSEN, 1998). Assim, machos necessitam de um “estoque” de energia para começar a produzir espermatozoides. Um padrão diferente também foi observado para *Bothrops leucurus*, onde o pico espermatogênico acontece no outono (BARROS, 2011). Entretanto, essa variação não foi associada à alimentação da espécie que apresenta um hábito generalista. No entanto, mesmo nesses *Bothrops* que exibem outro período de pico espermatogênico os testículos estão inativos no inverno corroborando o proposto por Aldridge (1975, 1979) de que machos de serpentes dependem de altas temperaturas para produzir espermatozoides.

Devido à ampla distribuição geográfica de *B. jararaca* e por saber que o ciclo espermatogênico de machos de serpentes é altamente dependente da temperatura e disponibilidade de recursos, era esperado neste estudo que o ciclo reprodutivo de machos de *B. jararaca* do CN e do CS diferisse, principalmente com relação à extensão do ciclo. No entanto, esse não foi o resultado obtido. Dessa forma, o ciclo espermatogênico de machos de *B. jararaca* do CN e do CS parece ser conservativo e, mesmo as diferenças na temperatura experimentadas por essas populações parece não impor limites a ponto de modificar o padrão reprodutivo da espécie.

Serpentes insulares também apresentaram um padrão reprodutivo semelhante aos encontrados em *B. jararaca* do CN e do CS. Em machos de Ilhabela, foi observado um período de inatividade reprodutiva no outono e inverno. Na ilha de Búzios, testículos na primavera estavam produzindo espermatozoides e um pico espermatogênico pode ser notado no verão em machos de *B. jararaca* da ilha dos Franceses. Esses dados são fortes indícios de que a atividade testicular de machos dessas ilhas seja semelhante aos de *B. jararaca* do continente. Entretanto, devido ao baixo número de indivíduos analisados e à concentração de exemplares em um mesmo período do ano não é possível afirmar com certeza qual seria o padrão de ciclo reprodutivo de machos de *B. jararaca* dessas ilhas. Assim, esse trabalho conseguiu descrever um padrão pontual do ciclo espermatogênico dessas populações. Estudos adicionais devem ser conduzidos a fim de

se descrever o ciclo completo dessas espécies, que podem apresentar um padrão diferenciado, assim como o encontrado em *Bothrops insularis* (KASPEROVICZUS, 2009).

O rim é visto como um importante órgão sexual acessório (KUHNEL; KRISCH, 1974; ALDRIDGE et al., 2011). Diversos trabalhos em serpentes têm demonstrado a ligação entre o segmento sexual renal (SSR) e a reprodução (CARDIER; 1928; VOLSØE, 1944; KUHNEL; KRISCH, 1974; ALDRIDGE et al., 2001; ROJAS et al., 2013). A influência do SSR na reprodução tem sido estudada há muito tempo em serpentes de zonas temperada. No entanto, praticamente não existem estudos que envolvam análises do SSR na caracterização da biologia reprodutiva de serpentes neotropicais. Segundo Sever et al. (2002), não se pode compreender verdadeiramente a biologia reprodutiva de machos de Squamata sem levar em consideração o SSR. Recentemente, pesquisadores no Brasil têm demonstrado a importância da análise conjunta do SSR e do ciclo reprodutivo de machos (SANTOS, 2009; ROJAS, 2009; ROJAS et al., 2013; SANTOS, 2013). Assim como os testículos, os rins também exibem uma variação sazonal no diâmetro ocasionado pelo aumento das células do SSR (SAINT-GIRONS; KRAMER, 1963; PRASAD; REDDY, 1972; ALDRIDGE; DURVAL, 2002; SEVER et al., 2002; ALDRIDGE et al., 2009; ALDRIDGE et al., 2011; ROJAS et al., 2013).

Análises histológicas do rim de *Bothrops jararaca* do CN e do CS revelaram uma sazonalidade na hipertrofia do SSR. A hipertrofia do SSR em *B. jararaca* de ambos os clados acontece na primavera e verão, coincidindo com a época de produção de espermatozoides nos testículos. No outono e no inverno, são observados menores quantidade de grânulos nas células do SSR, indicando uma diminuição da secreção e coincidindo com a inatividade encontrada nos testículos. Assim, a hipertrofia do SSR em machos de *B. jararaca* parece estar ligada a espermatogênese nos testículos. Resultados semelhantes foram encontrados em *Natrix piscator* (SAINT-GIRONS; PFEFFER, 1971) e *Seminatrix pygaea* (SEVER et al., 2002).

Embora a sazonalidade do SSR possa variar bastante entre as espécies de serpentes (ALDRIDGE et al., 2011), existe consenso na literatura que a hipertrofia do SSR corresponde a época de acasalamento para a maioria das espécies (ALDRIDGE; DURVALL, 2002; GRAHAM et al., 2008). No entanto, em *B. jararaca* a hipertrofia do SSR acontece em uma época pré-cópula. Uma plausível explicação para isso foi dada por Sever et al. (2002) com *Seminatrix pygaea*. Nesse trabalho, os autores também encontraram uma relação entre a hipertrofia do SSR e o ciclo espermatogênico que culmina com uma queda dos grânulos de secreção do SSR

juntamente com a queda da produção de espermatozoides nos testículos. Isso se dá em uma época que precede a estação de acasalamento. Os autores justificam que essa pausa da hipertrofia do SSR antes da época de cópula é necessária para proporcionar tempo para que a secreção produzida pelo SSR se misture aos espermatozoides, ou seja, saia do ureter para o ducto deferente (SEVER et al., 2002). A hipertrofia do SSR é andrógeno dependente (KROMER, 2004) e está associada a elevados níveis de testosterona no plasma (FOX, 1977; KROMER, 2004).

A secreção do SSR é composta principalmente por proteínas de base (SEVER et al., 2002) e é transferida para a fêmea durante a cópula (FOX, 1977; ALDRIDGE et al., 2011). Desse modo, diversas funções são atribuídas à secreção do SSR, como a de nutrir os espermatozoides durante a estocagem, a função de lubrificação (BISHOP, 1959) além de um papel fundamental na formação do plug copulatório em fêmeas (DEVINE, 1975; ALDRIDGE et al., 2011). Esse plug copulatório é gelatinoso e teria como principal função criar uma barreira fisiológica evitando múltiplas cópulas (DEVINE, 1975; SHINE et al., 2000). No entanto, estudo recente mostrou que o plug copulatório, funciona também como um tampão que além de evitar a cópula com outros machos evitaria também o escorrimento e perda de espermatozoides da cloaca da fêmea (FRIESEN et al., 2013).

Recentemente, nós descobrimos um plug gelatinoso que obstruía a entrada da vagina de fêmeas de diversas espécies de *Bothrops* entre elas *B. jararaca* de ambos os clados e das ilhas. Todavia, a histologia não revelou espermatozoides, mas uma massa amorfa (ALMEIDA-SANTOS; KASPEROVICZUS, 2012). Nós acreditamos tratar-se de um plug copulatório semelhante ao encontrado em *Thamnophis sirtalis* e que provavelmente também teria origem no produto do SSR, porém investigações mais a fundo são ainda necessárias.

Assim, o SSR de machos de *B. jararaca* apresentou uma variação morfológica sazonal entre as estações do ano e parece estar relacionado ao ciclo espermatogênico, pois a hipertrofia do SSR foi observada nos mesmos períodos da espermatogênese nos testículos (primavera e verão) em ambos os clados.

Em resumo, os ciclos reprodutivos tanto de machos como de fêmeas do CN e do CS são semelhantes. Todos os principais eventos reprodutivos (cópula, vitelogênese, estocagem de espermatozoides nas fêmeas, gestação, nascimento dos filhotes e espermatogênese) foram observados acontecendo nas mesmas épocas do ano, indicando um marcado conservatismo na

espécie. Mesmo os ciclos reprodutivos dos machos, que frequentemente tendem a sofrer variações, não diferiram neste estudo, comportando-se da mesma maneira independente do clado.

6 CONCLUSÕES

- ✓ Concluímos que existem variações significativas entre machos e fêmeas de *B. jararaca* do clado norte e do clado sul. Foram observadas estratégias diferenciadas em relação às histórias de vida das jararacas e das características morfológicas avaliadas, tais como: tamanho na maturidade sexual, fecundidade e tamanho dos filhotes;
- ✓ Machos e fêmeas do CN foram significativamente maiores que machos do clado sul, no entanto tiveram menores tamanhos de cabeça e foram menos robustos. Fêmeas de *B. jararaca* do clado norte apresentaram uma maior fecundidade e filhotes maiores no nascimento do que *B. jararaca* do clado sul (provavelmente reflexo do maior tamanho corpóreo);
- ✓ *Bothrops jararaca* da ilha dos Franceses apresentou um menor tamanho corporal quando comparado as jaracacas da ilha de Búzios e Ilhabela;
- ✓ Ciclos reprodutivos de machos e fêmeas de ambos os clados são sazonais. Os principais eventos dos ciclos reprodutivos, como época de cópula, estocagem de esperma nas fêmeas durante outono e inverno e nascimento dos filhotes no final do verão, são semelhantes. Nos machos foram observados fenômenos como espermatogênese e estocagem de esperma nos ductos deferentes na mesma época, em ambos os clados;
- ✓ Esta sincronia dos eventos reprodutivos nos mesmos períodos do ano, independente do clado, indicam que os ciclos reprodutivos de machos e fêmeas são conservados e independam do clima ou da distribuição geográfica dos espécimes;
- ✓ Foi constatado pela primeira vez espermatozoides estocado na região infundíbular de fêmeas de viperídeos neotropicais;

- ✓ Sugere-se haver dois tipos de estocagem de esperma (uterina e infundibular) com funções diferenciadas em fêmeas de *B. jararaca* de ambos os clados.
- ✓ O ciclo reprodutivo de machos e fêmeas das jararacas insulares avaliadas parece ser semelhante ao de *B. jararaca* do continente, no entanto, para confirmar tal premissa é necessária a avaliação de um maior número de animais.

REFERÊNCIAS

ADOLPH, S. C.; PORTER, W. P. Temperature, activity, and lizard life histories. **The American Naturalist**, v. 142, p. 273-95, 1993.

ALDRIDGE, R. D. Environmental control of spermatogenesis in the rattlesnake *Crotalus viridis*. **Copeia**, v. 1975, n.3, p. 493-496, 1975.

ALDRIDGE, R. D. Female reproductive cycles of the snakes *Arizona elegans* and *Crotalus viridis*. **Herpetologica**, v. 35, p. 256-261, 1979.

ALDRIDGE, R. D. Reproductive Anatomy, mating season and cost of reproduction in the glossy snake (*Arizona elegans*). **Amphibia-Reptilia**, v. 22, p. 243-249, 2001.

ALDRIDGE, R. D.; DUVALL, D. Evolution of the mating season in the pitvipers of North America. **Herpetological Monographs**, v.16, p. 1-25, 2002.

ALDRIDGE, R. D.; GOLDBERG, S. R.; WISNIEWSKI, S. S. The Reproductive Cycle and estrus in the Colubrid snakes of Temperate North America. **Contemporary Herpetology**, v. 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**. Enfield: CRC Press, 2011. p. 477-509.

ALMEIDA-SANTOS, S. M. **Modelos reprodutivos em serpentes: estocagem de espermatozoides e placentação em *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)** - Tese (Doutorado) - 204 f. [Tese]. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005,

ALMEIDA-SANTOS, S. M.; 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 Physiology**, v. 139, p. 169-74, 2004.

ALMEIDA-SANTOS, S. M.; KASPEROVICZUS, K. N. Copulatory plugs in the neotropical viperid snakes. In: **7 World Congresso f Herpetology**. Vancouver, Canadá, 2012.

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: Crotalidae). **Japanese Journal of Herpetology**, v. 17, p. 46-52, 1997.

ALMEIDA-SANTOS, S. M.; SALOMÃO, M. G. Reproduction in neotropical pitvipers, with emphasis on species of the genus *Bothrops*. In: SCHUETT, G.; HÖGGREN, M.; DOUGLAS, M. E.; GREENE, H. W. **Biology of the vipers**. Carmel: Eagle Mountain, 2002. p. 445-62.

ALTWEGG, R.; CRAWFORD, R. J. M.; UNDERHILL, L. G.; MARTIN, A. P.; HITTINGTON, P. A. Geographic variation in reproduction and survival of Kelp Gulls *Larus dominicanus vetula* in Southern Africa. **Journal of Avian Biology**, v. 38, p. 580-6, 2007.

ALVES, M. L. M.; ARAUJO, M. L.; WITT, A. A. Aspectos da biologia reprodutiva de *Bothrops jararaca* em cativeiro (Serpentes, Viperidae). **Iheringia, Série Zoologia**, v. 89, p. 187-192, 2000.

ALDRIDGE, R. D.; DURVALL, D. Evolution of the mating season in the pitvipers of North America. **Herpetological Monographs**, v. 16, p. 1-25, 2002.

ANDREN, C. Effect of prey density on reproduction, foraging and other activities in the adder, *Vipera berus*. **Amphibia-Reptilia**, v. 3, p. 81-96, 1982.

ANDRÉN, C.; NILSON, G. Reproductive tactics in island population of adders, *Vipera berus* (L.), with a fluctuating food resource. **Amphibia-Reptilia**, v. 4, p. 63-79, 1983.

ANDREWS, R. M. Patterns of growth in reptiles. In: GANS, C., POUGH, F. H. (ed.). **Biology of the reptilia**. Physiology D – Physiol Ecol. New York: Academic Press, 1982. v. 13, p. 273-332.

ANGILLETTA, M. J.; NIEWIAROWSKI, P. H.; DUNHAM, A. E.; LEACHÉ, A. D.; PORTER, W. D. Bergmann's clines in ectotherms: illustrating a life-history perspective with Sceloporine lizards. **The American Naturalist**, v. 164, p. 168-183, 2004.

ARNOLD, S. J. Foraging theory and prey-size-predator-size relation in snakes. In: SEIGEL, R. A.; COLLINS, J. T. **Snakes: Ecology and Behavior**, 1993. p. 87-115.

ASHTON, K. G. Body size variation among mainland populations of the western rattlesnake (*Crotalus viridis*). **Evolution**, v.55, p. 2523-33. 2001.

BALLINGER, R. E. Reproductive strategies: food availability as a source of proximal variation in a lizard. **Ecology**, v. 58, p. 628–635, 1977.

BALLINGER, R. E. Intraspecific variation in demography and life history of the lizard, *Sceloporus jarrovi*, along an altitudinal gradient in southeastern Arizona. **Ecology**, v. 60, p. 901-909, 1979.

BARBO, F. E.; GRAZZIOTIN, F. G.; MARTINS, M.; SAWAYA, R. J. A New threatened insular species of lancehead from southeastern Brazil. **Herpetologica**, v. 68, n. 3, p. 418-429, 2012.

BARROS, V. A. **Biologia reprodutiva de três espécies de serpentes da Família Viperidae da região neotropical** - Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2011.

BARROS, V. A.; SUEIRO, L. R.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Reproductive biology of the neotropical rattlesnake *Crotalus durissus* from northeastern Brazil: a teste of phylogenetic conservatism of reproductive pattern. **Herpetological Journal**, v. 22, p. 97-104, 2012.

BELL, G. The costs of reproduction and their consequences. **The American Naturalist**, v. 116, p. 45-76, 1980;

BLEM, C. R. Biennial reproduction in snakes: an alternative hypothesis. **Copeia**, v. 1982, p. 961-963, 1982.

BERRY, R. J.; JAKOBSON, M. E.; PETERS, J. Inherited differences within an island population of the house mouse (*Mus domesticus*). **Journal of Zoology**, v. 211, p. 605-18, 1987.

BISHOP, J. E. A histological and histo-chemical study of the kidney tubule of the common garter snake, *Thamnophis sirtalis*, with special reference to the sexual segment in the male. **Journal of Morphology**, v. 104, p. 307-358, 1959.

BOBACK, S. M. Body evolution in snakes: Evidence from island populations. **Copeia**, v. 2003, n. 1, p. 81-94, 2003.

BONNET, X.; BRADSHAW, D.; SHINE, R. Capital versus income breeding: an ectothermic perspective. **Oikos**, v. 83, p. 333-342, 1998.

BONNET, X.; LOURDAIS, O.; SHINE, R.; NAULLEAU, G. Reproduction in a typical capital breeder: costs, currencies, and complications in the aspic viper. **Ecology**, v. 83, p. 2124-2135, 2002.

BONNET, X.; NAULLEAU, G.; SHINE, R.; LOURDAIS, O. Short-term versus long-term effects of food intake on reproductive output in a viviparous snake, *Vipera aspis*. **Oikos**, v. 92, p. 297-308, 2001.

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

BOOTH, W.; SCHUETT, G. W. Molecular genetic evidence for alternative reproductive strategies in North American pitvipers (Serpentes, Viperidae): long-term sperm storage and facultative parthenogenesis. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 104, n. 4, p. 934-942, 2011.

BRONIKOWSKI, A. M. Experimental evidence for the adaptative evolution of growth rate in the garter snake *Thamnophis elegans*. **Evolution**, v. 64, p. 1760-1767, 2000.

BROWN, G. P.; SHINE, R. Why do most tropical animals reproduce seasonally? Testing hypotheses on an Australian snake. **Ecology**, v. 87, p. 133-43, 2006.

CADLE, J. E.; GREENE, H. W. Phylogenetic patterns, biogeography, and the ecological structure of neotropical snake assemblages. In: RICKLEFS, R. E.; SCHLUTER, D. **Species diversity in ecological communities: historical and geographical perspectives**. Chicago: University of Chicago Press, 1993. p. 281-293,

CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. The venomous reptiles of the western hemisphere. New York: Cornell University Press, 2004.

CASE, T. J. A general explanation for insular body size trends in terrestrial vertebrates. **Ecology**, v. 59, p. 1-18, 1978.

CENTENO, F. C.; SAWAYA, R. J.; MARQUES, O. A. V. Snakes from coastal islands of State of São Paulo, Southeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 63-8, 2008.

CICCHI, P. J. P.; SENA, M. A.; PECCININI-SEALE, D. M.; DUARTE, M. R. Snakes from coastal islands of State of São Paulo, Southeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 7, p. 227-40, 2007.

CORDIER, R. Itudes histophysiologiques sur le tube urinaire des reptile. **Archives de Biologie**, v. 38, p. 111-171, 1928.

DERICKSON, W. K. Lipid storage and utilization in reptiles. **American Zoologist**, v. 16, p. 711-723, 1976.

DEVINE, M. C. Copulatory plugs in snakes; enforced chastity. **Science**, v. 187, p. 844-845, 1975.

DUNHAM, A. E.; MILES, D. B.; REZNICK, D. N. Life history patterns in squamate reptiles. In: GANS, C.; HUEY, R. B, eds. **Biology of the reptilia**. New York: A.R. Liss, 1988. p. 441-522,

EBENHARD T. A colonization strategy in field voles (*Microtus agrestis*): Reproductive traits and body size. **Ecology**, v. 71, p. 1833-48, 1990.

EINUM, S.; FLEMING, I. A. Highly fecundity mothers sacrifice offspring survival to maximize fitness. **Nature**, v. 405, p. 565-7, 2000.

FITCH, H. S. Reproductive cycles of lizards and snakes. University of Kansas Museum of Natural History. **Miscellaneous Publication**, v. 52, p. 1-247, 1970.

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.

FORD, N. B.; SEIGEL, R. A. Intra-individual variation in clutch and offspring size in an oviparous snake. **Journal of Zoology**, v. 268, p. 171–6, 2006.

FORD, N. B.; SEIGEL, R. A. Offspring size variation in snakes. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M, (ed.). **Reproductive biology and phylogeny of snakes**. Enfield: Science Publishers, 2011. p 574-586.

FORSMAN, A.; SHINE, R. Parallel geographic variation in body shape and reproductive life history within the Australian scincid lizard *Lampropholis delicata*. **Functional Ecology**, v. 9, n. 6, p. 818-828, 1995.

FOX, W. Seasonal variation in the male reproductive system of Pacific Coast garter snake. **Journal of Morphology**, v. 90, p. 481-533, 1952.

FOX, H. The urogenital system of reptiles. In: GANS, C.; PARSONS, T. S. **Biology of the reptilia**. Academy press, New York, 1977. v. 6, p. 1-157.

FOWLER, I. R.; SALOMÃO, M. G.; JORDÃO, R. S. A description of the female reproductive cycle in four species from the neotropical colubrid snake *Philodryas* (Xenodontinae). **Snake**, v. 28, p. 71-8, 1998.

FRIESEN, C. R.; SHINE, R.; KROHMER, R. W.; MASON, R. T. Not just a chastity belt: the functional significance of mating plugs in garter snakes, revised. **Biological Journal of the Linnean Society**, 2013.

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.

GOMES, C. A.; MARQUES, O. A.V. Food habits, reproductive biology, and seasonal activity of the dipsadid snake, *Echinanthera undulata* (WIED, 1824), from the Atlantic Forest in southeastern Brazil. **South American Journal of Herpetology**, v. 7, n. 3, p. 233-240, 2012.

GOULD, S. J. **Ontogeny and Phylogeny**. Harvard University Press, Cambridge, MA: 1977.

GRAHAM, S. P.; EARLEY, R. L.; HOSS, S. K.; SCHUETT, G. W.; GROBER, M. S. The reproductive biology of male cottonmouths (*Agkistrodon piscivorus*): Do plasma steroid hormones predict the mating season? **General and Comparative Endocrinology**, v. 159, p. 226-235, 2008.

GRAZZIOTIN, F. G.; MONZEL, M.; ECHEVERRIGARAY, S.; BONATTO, S. L. Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation

and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Ecology**, v. 15, p. 3969-82, 2006.

HARTMANN, M. T.; MARQUES, O. A. V.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Reproductive biology of the southern Brazilian pitviper *Bothrops neuwiedi pubescens* (Serpentes, Viperidae). **Amphibia-Reptilia**, v. 25, p. 77-85, 2004.

HOGUE, A. R.; ROMANO-HOGUE S. A. R. W. D. L. Sinopse das serpentes peçonhentas do Brasil. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 42/43, p. 373-496, 1981.

HOGUE, A. R.; BELLUOMINI, H. E.; FERNANDES, W. Variação do número de placas ventrais de *Bothrops jararaca* em função dos climas (Viperidae, Crotalinae). **Memórias do Instituto Butantan**, v. 40/41, p. 11-7, 1977.

HOGUE, A. R.; BELLUOMINI, H. E.; SCHREIBER, G.; PENHA, A. M. Sexual abnormalities in *Bothrops insularis* (Amaral, 1921) (Serpentes). **Memórias do Instituto Butantan**, v. 29, p. 17-88, 1959.

HOUSTON, D.; SHINE, R. Sexual dimorphism and niche divergence: feeding habits of the Arafura filesnake. **Journal of Animal Ecology**, v. 62, p. 737-748, 1993.

HOYOS ARGÁEZ, M. A. A cascavel neotropical *Crotalus durissus*: uma abordagem morfológica e da história natural em populações do Brasil - Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

JANEIRO-CINQUINI, T. R. F.; LEINZ, F. F.; FARIAS, E. C. Seasonal variation in weight and length of the testicles and the quantity of abdominal fat of the snake *Bothrops jararaca*. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 55, p. 15-9, 1993.

JANEIRO-CINQUINI, T. R. F.; LEINZ, F. F.; FIGUEIREDO, V. C. F. Sexual dimorphism in adult *Bothrops jararaca*. **Bulletin Chicago Herpetological Society**, v. 25, p. 84-85, 1992.

JAZEN, F. J.; WARNER, D. A. Parent-offspring conflict and selection on egg size in turtles. **Journal of Evolutionary Biology**, v.22, p. 2222-2230, 2009.

JENKINS, C. L.; PETERSON, C. R.; DOERING, S. C.; COBB, V. A. Microgeographic variation in reproductive characteristics among western rattlesnake (*Crotalus oreganus*) Populations. **Copeia**, v. 2009, p. 774-80, 2009.

JIA, X.; WANG, W. Z. Geographic variation in reproductive traits and trade-offs between size and number of eggs of the Chinese cobra (*Naja atra*). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 85, p. 27-40, 2005.

JOHNSON, L. F.; JACOB, J. S.; TORRANCE, P. Annual testicular and androgenic cycle of the cottonmouth (*Agkistrodon piscivorus*) in Alabama. **Herpetologica**, v. 38, n. 1, p. 16-25, 1982.

KASPEROVICZUS, K. N. **Biologia reprodutiva da jararaca ilhoa, *Bothrops insularis* (Serpentes: Viperidae), da Ilha da Queimada Grande, São Paulo** – Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

KING, R. B. Body size variation among island and mainland snake populations. **Herpetologica**, v. 45, p. 84-8, 1989.

KROHMER, R. W. The Male Res-sided Garter Snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*): Reproductive pattern and Bbehavior. **ILAR Journal**, v. 45, n. 1, p. 65-74, 2004.

KUHNEL, W., KRISCH, B. On the sexual segment of the kidney in the snakes (*Natrix natrix*). **Cell and Tissue Research**, v. 148, p. 417-429, 1974.

LIMOLINO, V. M. Body size evolution in insular vertebrates: generality of the island rule. **Journal of Biogeography**, v. 32, p. 1683-99, 2005.

LINDELL, L. E. The evolution of vertebral number and body size in snakes. **Functional Ecology**, v. 8, p. 708-19, 1994.

LINDELL, L. E.; FORSMAN, A.; MERILA, J. Variation in number of ventral scales in snakes: effects on body size, growth rate and survival in the adder, *Vipera berus*. **Journal of Zoology**, v. 230, p. 101-15, 1993.

LITZGUS, J. D.; MOUSSEAU, T. A. Geographic variation in reproduction in a freshwater turtle (*Clemmys guttata*). **Herpetologica**, v. 62, n. 2, p. 132-140, 2006.

MACARTNEY, J. M.; GREGORY, P. T. Reproductive biology of female rattlesnakes (*Crotalus viridis*) in British Columbia. **Copeia**, v. 1988, p. 47-57, 1988.

MADSEN, T.; SHINE, R. Phenotypic plasticity in body sizes and sexual size dimorphism in European grass snakes. **Evolution**, v. 47, p. 321-5, 1993.

MADSEN, T.; SHINE, R. The adjustment of reproductive threshold to prey abundance in a capital breeder. **Journal of Animal Ecology**, v. 68, p. 571-580, 1999.

MADSEN, T.; SHINE, R. Rain, fish and snakes: climatically driven population dynamics of arafura filesnakes in tropical Australia. **Oecologia**, v. 124, p. 208-15, 2000.

MARQUES, O. A. V. Reproduction, seasonal activity and growth of the *Micrurus corallinus* (Serpentes, Elapidae). **Amphibia-Reptilia**, v. 17, p. 277-85, 1996a.

MARQUES, O. A. V. Biologia reprodutiva da cobra-coral *Erythrolamprus aesculapii* (Colubridae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 13, p. 747-53, 1996b.

MARQUES, O. A. V.; ETEROVIC, A.; ENDO, W. Seasonal activity of snakes in the Atlantic forest in southeastern Brazil. **Amphibia Reptilia**, v. 20, p. 103-111, 2001.

MARQUES, O. A. V.; MARTINS, M.; DEVELEY, P. F.; MACARRÃO, A.; SAZIMA, I. The golden lancehead *Bothrops insularis* (Serpentes: Viperidae) relies on two seasonally plentiful bird species visiting its island habitat. **Journal of Natural History**, v. 46, p. 885-895, 2012.

MARQUES, O. A. V.; MARTINS, M.; SAZIMA, I. A new insular species of pitviper from Brazil, with comments on evolutionary biology and conservation of the *Bothrops jararaca* group (Serpentes, Viperidae). **Herpetologica**, v. 58, p. 303-12, 2002a.

MARQUES, O. A. V.; MARTINS, M.; SAZIMA, I. A jararaca da ilha da Queimada Grande. **Ciência Hoje**, v. 186, p. 56-9, 2002b.

MARQUES, O. A. V.; PIZZATTO, L.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Reproductive strategies of new world coral snakes, genus *Micrurus*. **Herpetologica**, v. 69, n. 1, p. 58-66, 2013.

MARTINS, M.; ARAÚJO, M. S.; SAWAYA, R. J.; NUNES, R.. Diversity and evolution of macrohabitat use, body size and morphology in a monophyletic group of neotropical pitvipers (*Bothrops*). **Journal of Zoology**, v. 254, p. 529-38, 2001.

MARTINS, M.; MARQUES, M.; SAZIMA, I. Ecological and phylogenetic correlates of feeding habits in Neotropical pitvipers of the genus *Bothrops*. In: SCHUETT, G.; HÖGGREN, M.; GREENE, H. W. **Biology of the vipers**. Carmel: Biological Sciences Press, 2002. p. 307-328.

MATHIES, T. Reproductive cycles of tropical snakes. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M, editors. **Reproductive biology and philogeny of snakes**. Enfield: Science Publishers, 2011. p. 511-550.

MATIAS, N. R.; ALVES, M. L. M.; ARAUJO, M. L.; JUNG, D. M. H. Variação morfométrica em *Bothropoides jararaca* (Serpentes, Viperidae) no Rio Grande do Sul. **Iheringia, Serie Zoologica**, v. 101, n. 4, p. 275-282, 2011.

MCKINNEY, M. L.; MCNAMARA, K. J. Heterochrony. **The Evolution of Ontogeny**. Plenum Press, New York, 1991.

MCPHERSON, R. J.; MARION, K. R. Seasonal testicular cycle of the stinkpot turtle (*Sternotherus odoratus*) in Central Alabama. **Herpetologica**, v. 37, p. 33-40, 1981.

MENDONÇA, F.; DANNI-OLIVEIRA, I. M. Climatologia: noções básicas e climas do Brasil. São Paulo: **Oficina de textos**, 2007.

MONTEIRO, C.; MONTEGOMERY, C. E.; SPINA, F.; SAWAYA, R. J.; MARTINS, M. Feeding, reproduction, and morphology of *Bothrops mato grossoensis* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) in the brazilian Pantanal. **Journal of Herpetology**, v. 40, n. 3, p. 408-413, 2006.

MORAES, R. A. **Variação em caracteres morfológicos e ecológicos em populações de *Bothrops jararaca* (Serpentes-Viperidae) no Estado de São Paulo** - Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

- MORI, A. Ecological and morphological characteristics of the Japanese rat snake, *Elaphe climacophora*, on Kammuri-jima Island: a possible case of insular gigantism. **Snake**, v. 26, p. 11-18, 1994.
- MORI, A.; HASEGAWA, M. Early growth of *Elaphe quadrivirgata* from an insular giant population. **Current Herpetology**, v. 21, p. 43-50, 2002.
- MORRISON, C.; HERO, J. M. Geographic Variation in life-history characteristics of amphibians: a review. **Journal of Animal Ecology**, v. 72, p. 270-279, 2003.
- NOGUEIRA, C.; SAWAYA, R. J.; MARTINS, M. Ecology of the Pitviper, *Bothrops moojeni*, in the Brazilian Cerrado. **Journal of Herpetology**, v. 37, p. 653-659, 2003.
- NUNES, S. F.; KAEFER, I. L.; LEITE, P. T.; CEOHIN, S. Z. Reproductive and feeding biology of the pitviper *Rhinocerothis alternatus* from subtropical Brazil. **Herpetological Journal**, v. 20, p. 31-39, 2010.
- OLSSON, M.; MADSEN, T.; SHINE R. Is sperm really so cheap? Costs of reproduction in male adders, *Vipera berus*. **Proceedings of the Royal Society London B**, v. 264, p. 455-459, 1997.
- OLSSON, M.; MADSEN, T. Sexual selection and sperm competition in reptiles. In: Birkhead T, Moller AP. **Sexual selection and sperm competition**. San Diego: Academic Press, 1998. p. 503-578.
- OROFINO, R. P.; PIZZATTO, L.; MARQUES, O. A. V. Reproductive biology and food habits of *Pseudoboa nigra* (Serpentes: Dipsadidae) from the Brazilian cerrado. **Phyllomedusa**, v. 9, p. 53-61, 2010.
- PARKER, W. S.; PLUMMER, M. V. Population ecology. In: SEIGEL, R. A., COLLINS, J. T, Novak SS. **Snakes: ecology and evolutionary biology**. New York: MacMillan Publ Co, 1987. p. 253-301.
- PEARSON, D.; SHINE, R.; WILLIAMS, A. Geographic variation in sexual size dimorphism within a single snake species (*Morelia spilota*, Pythonidae). **Oecologia**, v. 131, p. 418-426, 2002.
- PINCHEIRA-DONOSO, D.; HODGSON, D. J.; TREGENZA, T. The evolution of body size under environmental gradients in ectotherms: why should Bergmann's rule apply to lizards? **BMC. Evolutionary Biology**, v. 8, p. 68, 2008.
- PIZZATTO, L.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; MARQUES, O. A. V. Biologia reprodutiva de serpentes brasileiras. In: NASCIMENTO LB, OLIVEIRA ME. **Herpetologia no Brasil II**. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2007. p. 201-21.
- PIZZATTO, L.; JORDÃO, R. S.; MARQUES, O. A. V. Overview of reproductive strategies in Xenodontini (Serpentes: Colubridae: Xenodontinae) with new data for *Xenodon newwiedii* and *Waglerophis merremii*. **Journal of Herpetology**, v. 42, p. 153-62, 2008.

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.

PIZZATTO, L.; MARQUES, O. A. V. Interpopulational variation in sexual dimorphism, reproductive output, and parasitism of *Liophis miliaris* (Colubridae) in the Atlantic forest of Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v. 27, p. 37-46, 2006.

PIZZATTO, L.; MARQUES, O. A. V. Reproductive ecology of boine snakes with emphasis on brazilian species and a comparison to pythons. **South American Journal of Herpetology**, v. 2, p. 107-22, 2007.

PLUMMER, M. V. Annual variation in stored lipids and reproduction in green snakes (*Opheodrys aestivus*). **Copeia**, v. 1983, p. 741-745, 1983.

PRAZAD, M. R. N.; REDDY. Physiology of the sexual segment of the kidney in reptiles. **General and Comparative Endocrinology**, v. 3, p. 649-662, 1972.

RAHN, H. Sperm viability in the uterus of the garter snakes, *Thamnophis*. **Copeia**, v. 1940, p. 107-115, 1940.

RAHN, H. The reproductive cycle of the prairie rattler. **Copeia**, v. 1942, p. 233-240, 1942.

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

ROJAS, C. A.; BARROS, V. A.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. The Reproductive Cycle of the Male Sleep Snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) from Southeastern Brazil. **Journal of Morphology**, v. 274, n. 2, 215-228, 2013.

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

SAINT-GIRON, H.; KRAMER, E. Le cycle sexuel chez *Vipera berus* (L) em Montage. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 282, p. 1017-1019, 1963.

SAINT-GIRON, H.; PFEFFER, P. Le cycle sexuel des serpents du Cambodge. **Annales Des Sciences Naturelles Comprenant la Zoologie Series**, v. 13, p. 543-572, 1971.

SANTOS, L. C. **Biologia reprodutiva de *Leposternon microcephalum* (Squamata, Amphisbaenidae) do Sudeste do Brasil** – Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SANTOS, L. C. **Biologia reprodutiva comparada de Amphisbaenidae (Squamata, Amphisbaenia) do Brasil** – Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

SAZIMA, I.; MANZANI, P. R. *Bothrops fonscai* (Fonseca's Lancehead). Reproduction and size. **Herpetological Reviews**, v. 29, p. 102-103, 1998.

SCARTOZZONI, R. R. **Estratégias reprodutivas e ecologia alimentar de serpentes aquáticas da tribo Hydropsini (Dipsadidae, Xenodontinae)** – Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SCHUETT, G. W. Is long-term sperm storage an important component of the reproductive biology of temperate pitvipers? In: CAMPBELL, J. A.; BRODIE, J. R., ED. **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. **Biology of the vipers**. Carmel: Eagle Mountain, 2002. p. 515-532.

SEVER, D. M.; HAMLETT, W. C. Female sperm storage in reptiles. **Journal of Experimental Zoology**, v. 292, p. 187-199, 2002.

SEVER, D. M.; RYAN, T. J. Ultrastructure of the Reproductive System of the Black Swamp Snake (*Seminatrix pygaea*): Part I. Evidence for Oviducal Sperm Storage. **Journal of morphology**, v. 241, p. 1-18, 1999.

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

SIEGEL, R. A.; FITCH, H. S. Annual variation in reproduction in snakes in a fluctuating environment. **Journal of Animal Ecology**, v. 54, p. 497-505, 1985.

SIEGEL, R. A.; FORD, N. B. Reproductive ecology. In: SEIGEL, R. A.; COLLINS, J. T.; NOVAK, S. S. **Snakes: ecology and evolutionary biology**. New York: MacMillan Publ Co, p, 1987. 210-52.

SEIGEL, R. A.; FORD, N. B. Phenotypic plasticity in the reproductive characteristics of an oviparous snake, *Elaphe guttata*: implications for life history studies. **Herpetologica**, v. 47, p. 301-307, 1991.

SEIGEL, R. A.; FORD, N. B. Effects of energy input on variation in clutch size and offspring size in a viviparous reptile. **Functional Ecology**, v. 6, p. 382-385, 1992.

SIEGEL, R. A.; FORD, N. B. Phenotypic plasticity in reproductive traits: geographical variation in plasticity in a viviparous snake. **Functional Ecology**, v. 15, p. 36-42, 2001.

SEIGEL, D. S.; MIRALLES, A.; CHABARRIA, R. E.; ALDRIDGE, R. D. Female reproductive anatomy: cloaca, oviduct and sperm storage. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. **Reproductive biology and phylogeny of snakes**. Enfield: CRC Press, 2011. p. 347-409.

SIEGEL, D. S.; SEVER, D. M. Sperm Aggregations in Female *Agkistrodon piscivorus* (Reptilia:Squamata): A Histological and Ultrastructural Investigation. **Journal of Morphology**, v. 269, p. 189-206, 2006.

SIEGEL, D. S.; SEVER, D. M.; RHEUBERT, J. L.; GRIBBINS, K. M. Reproductive Biology of *Agkistrodon piscivorus* Lacépède (Squamata, Serpentes, Viperidae, Crotalinae). **Herpetological Monographs**, v. 23, p. 74-107, 2009.

SHINE, R. Reproduction in Australian elapid snakes. I. 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 and male combat in snakes. **Oecologia**, v. 33, p. 269-278, 1978.

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

SHINE, R. Sexual differences in morphology and niche utilization in an aquatic snake, *Acrochordus arafurae*. **Oecologia**, v. 69, p. 260-297, 1986.

SHINE, R. Sexual dimorphism in snakes. In: SEIGEL, R. A.; COLLINS, J. T. **Snakes: Ecology and behaviour**. New York: McGraw-Hill and Co, 1993. p. 49-86.

SHINE, R. Sexual dimorphism in snakes revisited. **Copeia**, v. 1994, p. 326-46, 1994.

SHINE, R. Reproductive strategies in snakes. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v. 270, p. 995-1004, 2003.

SHINE, R. Does viviparity evolve in cold-climate reptiles because pregnant females maintain stable (not high) body temperatures? **Evolution**, v. 58, p. 1809-1818, 2004.

SHINE, R.; BRANCH, W. R.; HARLOW, P. S.; WEBB, J. K. Reproductive biology and food habits of the horned adders, *Bitis caudalis* (Viperidae), from Southern Africa. **Copeia**, v. 1998, p. 391-401, 1998.

SHINE, R.; BROWN, G. P. Adapting to the unpredictable: reproductive biology of vertebrates in the Australian wet-dry tropics. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 363, p. 363-73, 2008.

SHINE, R.; CREWS, D. Why male garter snakes have small heads: the evolution and endocrine control of sexual dimorphism. **Evolution**, v. 42, p. 1105-1110, 1988.

SHINE, R.; MADSEN, T. Prey abundance and predator reproduction: rats and pythons on a tropical Australian floodplain. **Ecology**, v. 78, p. 1078-1086, 1997.

SHINE, R.; OLSSON, M. M.; MASON, R. T. Chastity belts in gartersnakes: the functional significance of copulatory plugs. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 70, p. 377-390, 2000.

SHINE, R.; OLSSON, M. M.; MOORE, I. T.; LEMASTER, M. P.; MASON, R. T. Why do male snakes have longer tails than females? **Proceedings of the Royal Society London B**, v. 266, p. 2147-2151, 1999.

SIMPFENDORFER, C. A.; GOODREID, A. B.; MCAULEY, R. B. Size, sex and geographic variation in the diet of the tiger shark, *Galeocerdo cuvier*, from Western Australian waters, **Environmental Biology of Fishes**, v. 61, p. 37-46, 2001.

SINERVO, B. The evolution of maternal investment in lizards: and experimental and comparative analyses of egg size and its effects on offspring performance. **Evolution**, v. 44, p. 279-94, 1990.

SINERVO, B.; LICHT, P. Proximate constraints on the evolution of egg size, number, and total clutch mass in lizards. **Science**, v. 252, p. 1300-2, 1991.

SOLÓRZANO, A.; CERDAS, L. Reproductive biology and distribution of the terciopelo, *Bothrops asper* Garman (Serpentes: Viperidae), in Costa Rica. **Herpetologica**, v. 45, p. 444-450, 1989.

STEARNS, S. C. Trade-offs in life-history evolution. **Functional Ecology**, v. 3, p. 259-68, 1989.

STEARNS, S. C. The evolution of life histories. New York: **Oxford University Press**, 1992.

SUZUKI, H.; FURTADO, M. F. D. Mitochondrial DNA Polymorphism in *Bothrops jararaca* and *Bothrops alcatraz* (Serpentes, Viperidae): Evidence from RFLP Analysis, **Current Herpetology**, v. 27, p. 81-92, 2008.

TINKLE, D. W. Geographic variation in reproduction, size, sex ration and maturity of *Sternothaerus odoratus* (Testudinata: Chelydridae). **Ecology**, v. 42, n. 1, p. 68-76, 1961.

TINKLE, D. W.; BALLINGER, R. E. *Sceloporus undulatus*: A study of the intraspecific comparative demography of a lizard. **Ecology**, v. 53, p. 570-584, 1972.

TINKLE, D. W.; WILBUR, H. M.; TILLEYS, S.G. Evolutionary strategies in lizard reproduction. **Evolution**, v. 24, p. 55-74, 1970.

TRAVAGLIA-CARDOSO, S. R. **Estratégias reprodutivas de *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae)** - Dissertação (Mestrado) -. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

TYLOR, P. D.; WILLIAMS, G. C. Demographic parameters at evolutionary equilibrium. **Canadian Journal of Zoology**, v. 62, p. 2264-2271, 1984.

VALDUJO, P. H.; NOGUEIRA, C.; MARTINS, M. Ecology of *Bothrops Neuwiedi pauloensis* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae) in the Brazilian Cerrado. **Journal of Herpetology**, v. 36, p. 160-176, 2002.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, 1996.p. 196.

VINCENT, S. E.; HERREN, A.; IRSCHICK, D. J. Sexual dimorphism in head shape and diet in the cottonmouth snake (*Agkistrodon piscivorus*). **Journal of Zoology**, v. 264, p. 53-59, 2004.

VITT, L. J. Strategies among Brazilian lizards and snakes: The significance of lineage and adaptation. In: HAMLETT, W. C, (ed.). **Reproductive biology of South American vertebrates**. New York: Springer-Verlag, New York, Inc, 1992. p. 135-49.

VOLSØE, H. Structure and seasonal variation of the male reproductive organs of *Vipera berus* (L.). **Spolia Zoologica Musei Hauniensis**, v. 5, p. 1-157, 1944.

WAPSTRA, E.; SWAIN, R.; O'REILLY, J. M. Geographic variation in age and size at maturity in a small australian viviparous skink. **Copeia**, v. 2001, p. 646-55, 2001.

WEBB, J. K.; SHINE, R.; CHRISTIAN, K. A. The adaptive significance of reptilian viviparity in the tropics: testing the maternal manipulation hypothesis. **Evolution**, v. 60, p. 115-122, 2006.

YAMPOLSKY, L. Y.; SCHEINER, S. M. Why larger offspring at lower temperatures? A demographic approach. **The American Naturalist**, v. 147, p. 86–100, 1996.

ZAR, J. R. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. p. 875.

ZUFFI, M. A. L.; GENTILI, A.; CECCHINELLI, E.; PUPIN, F.; BONNET, X.; FILIPPI, E.; LUISELLI, L. M.; BARBANERA, F.; DINI, F.; FASOLA, M. Geographic variation of body size and reproductive patterns in Continental versus Mediterranean asp vipers, *Vipera aspis*. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 96, p. 383-391, 2009.

Apêndice A - Número do tombo e coleção dos animais analisados em diversas coleções zoológicas.

ESPÍRITO SANTO

MZUSP - 14401; 4459.

MNRJ – 19844; 19845; 2959; 10580; 21545; 21543; 21544; 23319; 7969; 4857; 24743; 24741; 24742; 24905; 14401; 3121; 3123; 3122; 3117; 2939; 3493; 4843; 4459; 7970; 9299; 23318.

ILHA DOS FRANCESES

RJS- 5012; 5011; 5008; 5023; 5028; 5022; 5019; 5026; 5027; 5014; 5015; 427; 308; 5019; 5024; 5017; 5020; 5029; 5016; 5013; 5006; 5018; 5005; 5030; 5025; 5021; 5010.

ILHA DE BÚZIOS

MZUSP- 3898; 3887; 3908; 3884; 3880; 3879; 3930; 3906; 3872; 3869; 3870; 3924; 3927; 3897; 3920; 3921; 3919; 3916; 3918; 3888; 3911; 3932; 3904; 3926; 3914; 3922; 3886; 3885; 3864; 3867; 3868; 3866; 3895; 3915; 3912; 3883; 3877; 3876; 3928; 3931; 3929; 3907; 3905; 3913; 3881; 3878; 3925; 3895.

IBSP- 13133; 56952.

ILHABELA

IBSP- 73377; 62271; 61714; 66667; 64636; 66666; 64803; 72524; 64637; 71274; 68675; 57249;
61732; 68021; 62280; 72725; 73042; 62915; 66910; 71303; 57250; 73408.

RJS- 457; 04; 03; 20; 559; 26; 11; 02; 458; 33; 06; 18; 23; 915.

MINAS GERAIS

PUC-MG - 1745; 2065; 1388; 1548; 1528; 1549; 1389; 1738; 1746.

MZUSP - 17987; 17888; 18031; 18037; 41210; 14081; 17080.

ZEUC – 45.

MCNR – 22.

MNRJ – 19917; 14141; 9220; 20689; 19964; 21167; 21157; 19401; 7899; 20690; 17857; 19965;
7898; 8413; 15050; 3000; 2999; 10594; 8599; 21094; 21166; 4850; 21169; 21168; 14139.

PARANÁ

MHNCI- 608; 1066; 480; 482; 530; 492; 1434; 489; 1495; 435; 449; 1334; 498; 486; 477; 496;
13618; 11485; 11725; 491; 6553; 5937; 5935; 7628; 6844; 4131; 12970; 9172; 8287; 9759; 9418;

9650; 9437; 9402; 9443; 9755; 9757; 9762; 9221; 8070; 9185; 7787; 9415; 8939; 8991; 8978; 9008; 9167; 7947; 11835; 11170; 7808; 1409; 4138; 252; 185; 494; 13065; 490; 12839; 934; 9733; 12034; 11808; 7242; 11208; 12373; 12375; 12374; 12353; 12185; 12354; 11481; 12186; 12170; 1031; 2120; 12197; 503; 9761; 10481; 9760; 10488; 10400; 9814; 9786; 9787; 9417; 10298; 10294; 9821; 8965; 922; 438; 11186; 1420; 603; 1065; 483; 799; 1470; 1429; 484; 3505; 11724; 11423; 11175; 7746; 12936; 7400; 12939; 7462; 6929; 6855; 7063; 3013; 3674; 2904; 2819; 2818; 3014; 2208; 11722; 11505; 11479; 11250; 12355; 12341; 11981; 11978; 12198; 10273; 9451; 10309; 10302; 8941; 9812; 9785; 9629; 9222; 8198; 8311; 7786; 9191; 7810; 8324; 6448; 11863; 5268; 5320.

Filhotes – 2277; 3591; 3834; 4366; 4367; 5263; 5272; 5273; 5274; 5278; 5279; 5280; 5281; 5282; 5285; 5286; 5287; 5288; 5290; 5294; 5295; 5297; 5298; 5465; 6612; 6646; 6655; 6688; 6689; 6690; 6740; 6741; 6803; 6856; 6862; 6864; 6866; 6893; 6894; 6895; 6948; 6949; 7005; 9255; 9734; 9822; 9823; 9824; 9825; 9826; 9827; 9828; 9829; 9830; 9831; 9833; 9834; 9835; 9836; 9837; 9838; 9839; 9983; 10056; 10517; 10947; 10990; 10994; 11117; 11477; 11855; 11856; 11948; 12012; 12014; 12050; 12292; 12472; 12612; 12614; 12638; 12808; 12809; 12929; 13605; 9832; 12055; 6591; 6593; 6596; 6594; 6592; 6595; 6590; 6588; 6137; 6136; 6138; 6135; 6141; 6144; 6140; 6139; 6143; 6142.

MCP *filhotes* – 17162; 17126; 17140; 17116; 17121; 17169; 17359; 17131; 17173; 17113; 17175; 17125; 17145; 17129; 2524; 2421.

RIO GRANDE DO SUL

MCP- 14292; 11815; 14329; 11810; 17803; 12127; 11010; 11004; 12855; 14486; 14763; 14635; 11005; 10525; 14128; 12264; 14849; 9909; 14135; 12172; 14856; 11007; 12405; 12800; 12754; 12277; 15580; 14288; 12854; 205; 3192; 9319; 18199; 18280; 18989; 18917; 8380; 11394; 14512; 18298; 18495; 4603; 8912; 9160; 11272; 13374; 8383; 7969; 5135; 8386; 7478; 9178; 7481; 6367; 10720; 9320; 9177; 12799; 12048; 11244; 12418; 14136; 12775; 14129; 174; 7970; 1875; 11111; 12263; 1514; 12270; 7140; 12275; 11016; 11006; 8382; 10110; 4660; 1745; 12371; 8914; 4057; 6370; 11969; 8379; 7480; 6069; 11991; 11162; 8730; 493; 7776; 7873; 14291; 14290; 9044; 11110; 11036; 11565; 12664; 12798; 10469; 11729; 12261; 12260; 8423; 12262; 11008; 14767; 11009; 10483; 10932; 12397; 12269; 9180; 10626; 12200; 14421; 12268; 10534; 14520; 12406; 12408; 14487; 12276; 12863; 9910; 12271; 12807.

Filhotes – 2122; 1812; 2525; 3217; 2994; 6608; 4612; 4608; 4614; 4615; 4605; 4705; 4609; 6307; 6454; 11875; 15834; 15624; 2002; 3348; 1351; 5100; 4995; 4992; 4996; 4998; 4992; *4993; 8488; 8490; 11256; 11561; 11564; 11559; 11562; 11563; 12407; 12176; 12174; 12178; 12349; 12345; 2343; 12177; 14484; 14313; 14309; 14315; 14314; 14319; 14310; 14327; 14327; 14764; 15569; 5729; 5728; 3049; 1961; 1988; 1998; 1811; 12179; 14328; 14328; 14308; 12350; 12341; 12175; 12347; 12347; 12346; 14848; 12348; 14317; 14311; 14318; 14312; 12344; 12796; 14519; 14316; 12661; 12173; 12176; 14313; 12349; 12174; 12345; 12177; 14309; 14327; 14484; 14327; 14315; 14764; 14314; 14319; 15834; 14310; 12178; * 12343; 15624; 12407; 15569

UFRS- 1631; 1368; 4017; 1763; 1751; 1709; 1 1765; 1375.;

SANTA CATARINA

MCP- 7112; 13369; 17217; 17105; 17209; 17213; 17104; 17222; 17214; 17212; 17221; 17228; 17215; 17226; 17218; 17224; 17220; 17180; 514; 505; 3362; 7251; 18329; 17223; 17240; 17351; 17273; 17239; 17230; 17361; 17356; 17355; 17367; 17231; 17348; 17346; 13176; 16328; 17148; 17374; 17370; 17360; 17352; 17363; 17371; 17097; 17229; 17101; 17112; 17117; 17118; 540; 476; 7971; 998; 3224; 18330; 17100; 17255; 17249; 17235; 17242; 17265; 18039; 492; 531.

Filhotes – 17141; 17137; 17156; 17168; 17159; 17157; 17134; 17264; 17263; 17267; 17163; 17136; 17133; 17142; 17170; 17160; 17165; 17251; 17375; 17257; 17153; 17120; 17135; 17376; 16770; 16768; 16763; 16767; 16766; 16762; 16756; 16773; 16758; 16772; 16771; 16765; 16760; 16769; 16764; 16759; 16757; 16761.

UFRS- 1828; 1453; 1832; 1467; 3487; 1827; 1629; 1831; 1752; 1753; 1894; 1893; 1707; 1767; 1884; 1754; 1769; 1830; 1826; 1829; 1710; 1755; 1895.

MHNCI- 7266; 12252; 9656; 1346; 2622; 12063; 12060; 497; 478; 7943; 9756; 11905.

RIO DE JANEIRO

MNRJ- 7959; 15109; 15562; 16903; 13735; 14865; 14680; 14866; 14435; 12571; 7883; 7934; 7935; 7933; 7937; 16390; 19947; 916; 918; 6502; 19016; 9091; 2054; 12095; 5407; 17730; 18112; 12505; 18175; 14124; 18174; 17107; 98880; 9221; 18803; 13114; 19493; 15089; 13184; 15161;

16531; 14078; 14090; 928; 10031; 2642; 950; 2643; 2641; 7884; 7972; 7973; 16499; 16501; 923; 925; 3490; 7908; 2725; 2830; 7942; 17864; 17873; 10825; 18965; 15210; 18398; 18403; 7906; 17848; 19163; 12806; 19494; 15609; 10061; 19093; 19694; 19660; 926; 7907; 7926; 7901; 14097; 7958; 12804; 12665; 9786; 13108; 7056; 19421; 14741; 15611; 20360; 20347; 14253; 14882; 15100; 19611; 19609; 16559; 10957; 10981; 7909; 16498; 16500; 12141; 16443; 2680; 2677; 2702; 2644; 7929; 14681; 12575; 12572; 7949; 7956; 7957; 7952; 917; 19946; 17530; 7900; 9093; 2890; 19162; 12923; 7945; 17107; 7941; 17865; 4809; 18177; 18397; 18178; 7919; 7921; 18404.

Filhotes- 1755; 2783; 919; 7639; 1281; 9327; 7350; 8882; 6458; 2905; 7946; 7943; 7924.

UFRJ- 33; 1379; 27; 139; 1721; 1593; 382; 1625; 479; 799; 1592; 21; 1365; 1758; 1578.

MZUSP- 8860; 5523.

SÃO PAULO

IBSP- 81544; 81543; 81546; 81550; 81545; 81549; 81551; 81542; 81746; 81745; 79578; 79593; 81741; 81739; 81738; 81854; 81725; 81868; 81925; 81938; 81875; 81869; 81909; 81872; 79851; 79895; 79934; 80097; 80104; 80106; 80099; 80028; 80006; 80049; 80051; 80048; 80010; 80025; 80061; 80024; 80041; 80017; 82434; 82426; 82438; 82439; 80654; 80656; 80657; 80652; 80659; 80660; 80662; 80669; 80667; 80665; 80664; 80668; 80666; 82591; 82593; 82589; 82590; 82555; 82594; 80839; 80838; 80829; 80833; 80834; 80925; 80973; 82718; 81004; 81026; 80990; 80997; 81025; 81001; 81010; 80999; 81044; 81034; 81186; 81177; 81265; 81251; 81266; 81245; 81264;

81249; 81250; 81246; 81286; 81279; 81277; 79855; 79987; 79986; 79902; 79936; 80029; 80062; 80094; 80107; 80110; 80111; 80831; 80897; 80910; 80913; 80926; 80928; 80998; 81002; 81003; 81024; 81033; 81036; 81164; 81253; 81255; 81275; 81285; 81547; 81737; 81743; 81853; 81878; 82419; 82554; 82958; 81541; 81855; 79632; 79607; 79648; 79614; 79612; 79630; 79604; 79596; 79605; 81880; 81883; 81740; 79942; 79943; 79939; 79937; 79938; 79912; 80095; 80096; 80101; 80102; 80009; 82288; 82277; 82403; 82357; 82437; 82429; 82400; 82360; 82430; 82427; 82428; 82431; 80653; 80655; 80650; 80661; 80663; 80651; 80827; 80832; 80911; 80912; 80927; 81011; 81028; 81035; 81012; 81000; 81005; 81259; 81257; 81254; 81244; 81252; 81261; 81263; 81256; 81287; 81276; 81288; 81280; 82956; 82955; 81730; 81731; 81726; 81733; 80830; 80914; 81027; 81013; 81248; 81263; 81247; 81262; 81292; 81548; 81552; 81540; 80836; 80108; 80837

ZUEC- 1564; 1561; 1517; 193; 1911; 1879; 548; 1962; 1945; 877; 1035; 108; 1681; 1673; 850; 2708; 2098.

HVB- 99266.

Dados morfológicos de filhotes de São Paulo ($n = 123$) são referentes de recém-nascidos em cativeiro, filhos de fêmeas recém-chegadas da natureza no Instituto Butantan. Esses filhotes ainda não estão tombados em coleção. Esses exemplares encontram-se no Laboratório de Ecologia e Evolução Leev.