

SERENA NAJARA MIGLIORE

**Biologia reprodutiva de *Enyalius perditus* (Jackson, 1978) e
Enyalius iheringii Boulenger, 1885 (Squamata: Leiosauridae)**

São Paulo

2016

SERENA NAJARA MIGLIORE

**Biologia reprodutiva de *Enyalius perditus* (Jackson, 1978) e *Enyalius iheringii*
Boulenger, 1885 (Squamata: Leiosauridae)**

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

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof. Dra. Selma Maria de Almeida Santos

São Paulo

2016

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. 3430
FMVZ

Migliore, Serena Najara
Biologia reprodutiva de *Enyalius perditus* (Jackson, 1978) e *Enyalius iheringii*
(Boulenger, 1885) (Squamata: Leiosauridae) / Serena Najara Migliore. -- 2016.
63 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2016.

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

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

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

1. *Enyalius*. 2. Biologia reprodutiva. 3. Ciclo reprodutivo. 4. Histologia. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Biologia Reprodutiva De *Enyallus perditus* (Jackson, 1978) e *Enyallus iheringii* (Boulenger, 1885) em área de Simpatría", protocolado sob o CEUA nº 3491021015, sob a responsabilidade de **Selma Maria De Almeida Santos** e equipe; *Serena Najara Migliore* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Butantan da Instituto Butantan (CEUA/IB) em reunião de 06/01/2016.

We certify that the proposal "Reproductive Biology of *Enyallus perditus* (Jackson, 1978) and *Enyallus iheringii* (Boulenger, 1885) in sympatric area.", utilizing 20 Reptiles (males and females), protocol number CEUA 3491021015, under the responsibility of **Selma Maria De Almeida Santos** and team; *Serena Najara Migliore* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes (or teaching) - it's in accordance with Law 11.794, of October 8 2008, Decree 6899, of July 15, 2009, with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Butantan Institute (CEUA/IB) in the meeting of 01/06/2016.

Vigência da Proposta: de 11/2015 a 02/2016

Área: Lab. Especial De Ecologia E Evolução

Procedência: Não se aplica

Espécie: Répteis

sexo: Machos e Fêmeas

idade: 2 a 9 anos

N: 10

Linhagem: *Enyallus perditus*

Peso: 15 a 40 g

Procedência: Não se aplica

Espécie: Répteis

sexo: Machos e Fêmeas

idade: 2 a 9 anos

N: 10

Linhagem: *Enyallus iheringii*

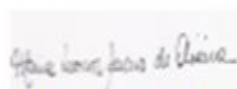
Peso: 15 a 40 g

Resumo: O presente projeto tem a proposta de estudar a Biologia Reprodutiva de duas espécies de lagartos *Enyallus perditus* e *Enyallus iheringii* do Estado de São Paulo, por meio de estudos de campo, estudos macroscópicos e microscópicos dos animais em questão. O projeto não pressupõe o transporte e a eutanásia dos animais coletados; Os Animais utilizados serão principalmente provenientes de Coleção (MUZUSP E LECZ- IB); Caso exista necessidade de eutanásia, os animais serão eutanasiados da seguinte maneira: anestesiados com cloridrato de xilazina (4mg/kg/IM) e cloridrato de quetamina (60mg/kg/IM) e eutanasiados pela administração de tiopental sódico a 2,5% (60mg/Kg/EV) através da canulação da veia jugular externa. o LICENÇA SISBIO PARA COLETA: Número: 47011-1

São Paulo, 04 de fevereiro de 2016



Jose Ricardo Jensen
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto Butantan



Maria Leonor Sarno de Oliveira
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto Butantan

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: MIGLIORE, Serena Najara

Título: Biologia reprodutiva de *Enyalius perditus* (Jackson, 1978) e *Enyalius iheringii* (Boulenger, 1885) (Squamata: Leiosauridae)

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus queridos pais **Pier Luigi Migliore** e **Dalcenira Barbosa Migliore**, ao meu irmão **Pier Paolo Migliore** e a minha melhor amiga e irmã **Letizia Janaína Migliore**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora **Selma Maria de Almeida- Santos** pela oportunidade, paciência, amizade, pelo grande entusiasmo, pelos grandes ensinamentos, por me transmitir o amor pela ciência e pela reprodução de répteis.

Aos meus pais por me apoiarem e me incentivarem e pelo amor incondicional.

Ao Prof. Dr, **Rogério Bertani** por fornecer gentilmente seu laboratório e por tirar fotos de algumas lâminas.

Ao Prof. **Dr. Miguel Trefaut Rodrigues** por me fornecer alguns exemplares utilizados nesse trabalho.

Ao **Mauro Teixeira Jr.** por toda a ajuda no campo e fora do campo e pela amizade, o meus mais sinceros agradecimentos.

Ao **Henrique Bartolomeu Braz**, obrigada pela paciência, incansáveis correções, parceria nos trabalhos, pela enorme ajuda e por me ensinar grande parte do que eu sei hoje.

A **Karina Nunes**, por ter sido a minha primeira orientadora, me ensinando desde a iniciação científica, obrigada pela oportunidade.

Obrigada a todos os meus amigos do LABORATÓRIO DE ECOLOGIA E EVOLUÇÃO DO INSTITUTO BUTANTAN em especial a **Silara** obrigada por compartilhar as horas do desespero mais "rápidas do Oeste", e por doar alguns exemplares de *Enyalius*. **Rafaela**, por me aturar, aturar todas as minhas perguntas, por toda a força durante todos os meses do mestrado, muitíssimo obrigada, **Juliana** primeiramente, obrigada pela força nos exercícios de fisiologia, sem você não teria conseguido, e por toda a ajuda, **Maisa**, por compartilhar todos os momentos que ri de desespero, por passar na catraca do refeitório comigo e assim ganhar uma filmagem digna de CSI. **Karina**, obrigada por toda ajuda nas estatísticas e demais partes do trabalho. Ao **Lucas**, por me aturar e me ajudar com as estatísticas e por me fazer rir durante meu desespero. MUITÍSSIMO obrigada a **Eletra, Diego, Kalena, Miguel, Antonio, Ivan, Leandro, Paty, Erick, Poly, Adriano, Kelly, Elisa , Bruno.**

Obrigada ao pessoal da UFOP em especial à **Prof. Rita , Antônio Cruz** (vulgo fifi), e todos os amigos e colegas que fiz em Ouro Preto.

Um agradecimento especial à Dra. **Caroline Sayuri** pela amizade, ajuda durante todo o mestrado, por suportar minhas choradeiras, pelas broncas quando eu

precisava (forma muitas) pelas aventuras, pelas risadas enfim por todos os momentos bons e ruins, obrigada por sempre estar ao meu lado e sentar comigo no “banquinho do sofrimento”.

Ao **Pedro Monteiro** pelas correções, pelas risadas por dividir conhecimento e comida.

A **Natália Torello** e **Tassiana Souza**, por passarem horas a fio me ajudando na hora do desespero mais desesperado, sempre mantendo o bom humor, obrigada pela impagável força, amizade, enfim por tudo. **Natália**, prometo nunca mais te agredir no futebol, nem te dar nenhuma “voadora” no queixo

Obrigada a todo meu time de futsal do Instituto Butantan em especial ao meu coach **Renan**, por ser compreensivo, professor e amigo.

Como não agradecer o meu melhor parceiro de escalada Dr. **Diego Muniz**, o meu obrigada por toda a ajuda, pela escalada, pelas músicas fofas, por aturar meu desespero e cuidar dos *Enyalius* (não vamos mais precisar nos jogar de cima da rocha!) Cadenaaaaaa!

A **Fernanda Magno** que agora está na Alemanha, obrigada por toda a ajuda pela grande amizade e também por compartilhar o “banquinho comigo” (Volta Fer! Rs).

Um muitíssimo obrigada ao pessoal da escalada da GEOBOULDER –USP.

Obrigada a todos os curadores das coleções que permitiram que esse trabalho fosse realizado.

Aos meus amigos de infância e família **Aline, Merylin, Lígia** obrigada por trazerem tanta felicidade à minha vida e por estarem sempre do meu lado, **Alex** grande amigo e sol na vida de todas as pessoas que te conhecem, obrigada pelo conhecimento, ajuda e pelas incansáveis risadas. A minha irmã e melhor amiga **Letizia Janaína Migliore**, por estar do meu lado desde sempre e compartilhar de todos os momentos, bons e não tão bons.

A todas as pessoas que de alguma forma me ajudaram nessa caminhada, se tivesse mais tempo seriam cinco páginas de agradecimentos.

“Quando troviamo la nostra strada, bisogna seguirla”

Reinold Messener, alpinista

RESUMO

MIGLIORE, S. N. **Biologia reprodutiva de *Enyalius perditus* (Jackson, 1978) e *Enyalius iheringii* Boulenger, 1885 (Squamata: Leiosauridae)**. [Reproductive biology of *Enyalius perditus* (Jackson, 1978) and *Enyalius iheringii* (Boulenger, 1885) (Squamata: Leiosauridae)]. 2016. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Enyalius perditus e *Enyalius iheringii* são duas espécies de lagartos semi-arborícolas pertencentes à nova família Leiosauridae. Apresentam hábitos diurnos, são forrageadores ativos, e estão distribuídos ao longo da Mata Atlântica. *E. perditus* ocorre na porção sudeste enquanto *E. iheringii* nas porções sudeste e sul com registros de co-ocorrência em áreas do Estado de São Paulo. Apesar de sua ampla distribuição pouco se conhece sobre a ecologia e menos ainda sobre a biologia reprodutiva do gênero *Enyalius*. Além disto, informações sobre o comportamento reprodutivo de corte, época de cópula, desova e nascimento dos filhotes são praticamente inexistentes. Para tanto, este estudo investigou a estratégia reprodutiva de ambas as espécies através da dissecação de animais provenientes de coleções científicas, de cativeiro e de coletas em campo. Machos e fêmeas de *E. iheringii* atingiram maturidade sexual em tamanhos similares. Ambas as espécies são mais abundantes durante a estação chuvosa do que na estação seca. Ciclo de fêmeas de *E. iheringii* são mais estendidos e há possibilidade dos machos estocarem o espermatozoides nos ductos deferentes durante todo o ano. Foram encontradas fêmeas de *E. iheringii* estocando espermatozoides durante a primavera no infundíbulo e no outono dentro das criptas de estocagem da junção uterino-vaginal. Nas fêmeas de *E. perditus* a reprodução é altamente sazonal e ocorre nos períodos mais quentes e úmidos do ano.

Palavras-chave: *Enyalius*. Biologia reprodutiva. Ciclo reprodutivo. Histologia.

ABSTRACT

MIGLIORE, S. N. **Reproductive biology of *Enyalius perditus* (Jackson, 1978) and *Enyalius iheringii* (Boulenger, 1885) (Squamata: Leiosauridae)**. [Biologia reprodutiva de *Enyalius perditus* (Jackson, 1978) e *Enyalius iheringii* (Boulenger, 1885) (Squamata: Leiosauridae)]. 2016. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Enyalius perditus and *Enyalius iheringii* are two semi-arboreal lizard species that belong to the new family Leiosauridae. These specimens present daytime behavior and are active foragers distributed across the Atlantic Rainforest. *E. perditus* are found in the Southeast and *E. iheringii* in the Southeast and South. They also present co-occurrence in some areas at São Paulo state. Despite their wide distribution, little is known about their ecology and even less about the reproductive biology of their genera. The information about the reproductive biology of these animals is scarce on the other hand data regarding courtship behavior, mating season, spawning and offspring birth is virtually absent. For this, this study investigated the reproductive strategy of both species through the dissection of animals from scientific collections, captivity and field collections. *E. iheringii* males and females reached sexual maturity in similar sizes. Both species are more abundant during the rainy season than in the dry season. Cycle of females of *E. iheringii* appear more extended and there is possibility of males stocking the spermatozoa in the vas deferens throughout the year. Females of *E. iheringii* were found stocking sperm during the spring in the infundibulum and in the fall within the storage crypts of the uterine-vaginal junction. In *E. perditus* females reproduction is highly seasonal and occurs during the hottest and wettest periods of the year.

Keywords: *Enyalius*. Reproductive biology. Reproductive cycle. Histology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Enyalius perditus</i> e <i>Enyalius iheringii</i> adultos.....	20
Figura 2 - Morfologia das fêmeas	23
Figura 3 - Morfologia dos folículos das fêmeas	24
Figura 4 - Morfologia dos machos	24
Figura 5 - Desova em <i>Enyalius perditus</i>	26
Figura 6 - Mapa de distribuição de <i>E. iheringii</i>	29
Figura 7 - Corte histológico do menor macho maduro de <i>E. iheringii</i>	34
Figura 8 - Corte histológico estocagem infundíbulo- <i>E. iheringii</i>	38
Figura 9 - Corte transversal da junção Útero-vaginal de <i>E. iheringii</i>	38
Figura 10 - Cortes transversais do infundíbulo	39
Figura 11 - Espermatozoides de <i>E. iheringii</i>	41
Figura 12 - Corte transversal do rim de <i>E. iheringii</i>	41
Figura 13 - Corte transversal de testículos de <i>E. iheringii</i>	Erro! Indicador não definido.
Figura 14 - Corte transversal do ducto deferente de <i>E. iheringii</i>	Erro! Indicador não definido.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Número de escamas presentes em *E. iheringii* e em *E. perditus*.....20
- Tabela 2 - Dados morfológicos dos machos e fêmeas de *E. iheringii*.....35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Lista de coleções visitadas.....	22
Quadro 2 - Correlação entre os morfológicos dos machos e fêmeas de <i>E. iheringii</i>	35
Quadro 3 - Amostras de eletroejaculação de <i>E. iheringii</i>	43

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Atividade sazonal de exemplares adultos de <i>Enyalius iheringii</i>	30
Gráfico 2 -	Atividade sazonal de filhotes e juvenis de <i>Enyalius iheringii</i>	31
Gráfico 3 -	Distribuição de filhotes de <i>E. iheringii</i> ao longo das estações	32
Gráfico 4 -	Distribuição de machos adultos <i>E. iheringii</i> ao longo das estações.....	32
Gráfico 5 -	Distribuição de fêmeas adultas <i>E. iheringii</i> ao longo das estações.....	33
Gráfico 6 -	Diâmetro dos folículos em <i>Enyalius iheringii</i>	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	16
2	MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1	Identificação das espécies:	19
2.2	Coleta de dados macroscópicos	20
2.3	Padrão de atividade sazonal	22
2.4	Amostras para histologia	22
2.5	Análises histológicas	25
2.6	Estudos cativoiro	25
2.7	Análises estatísticas	26

Capítulo 1- Biologia Reprodutiva de *Enyalius iheringii*

3	INTRODUÇÃO	27
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
5	RESULTADOS	30
5.1	Sazonalidade	30
5.2	Maturidade sexual	33
5.3	Dimorfismo sexual	34
5.4	Ciclo reprodutivo de fêmeas	35
5.5	Ciclo reprodutivo de machos	39
6	DISCUSSÃO	44
7	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS	49
	ANEXOS	49
	APÊNDICE	63

1 INTRODUÇÃO GERAL

A reprodução é sem dúvida o fator mais importante para a manutenção de uma espécie. A biologia reprodutiva compreende uma série de fatores que envolvem história de vida, comportamento, e processos fisiológicos. Assim, mudanças decorrentes desses processos são de fundamental importância para a conservação e manutenção de uma espécie (PIANKA, 1973). Enquanto estudos reprodutivos com lagartos estão concentrados em espécies do Velho Mundo, (eg. GRIBBINS, GIST 2003). Assim, pouco se conhece sobre os lagartos da América do Sul, principalmente sobre seus hábitos, suas estratégias e seus ciclos reprodutivos. Embora cada vez mais estudos venham sendo conduzidos (FERREIRA et al., 2009; VIEIRA et al., 2001; BALESTRIN; CAPELLARI; OUTEIRAL, 2010), o conhecimento sobre algumas espécies ainda é bastante escasso.

A família Leiosauridae compreende atualmente três gêneros de lagartos, *Anisolepis*, *Enyalius* e *Urostrophus* (SBH, 2015), anteriormente alocados na família Polychrotidae. São restritos à América do Sul e estão distribuídos ao longo de diversos domínios brasileiros (JACKSON, 1978).

Dentre os representantes dessa família está o gênero *Enyalius* (JACKSON, 1978), atualmente composto por dez espécies de lagartos arborícolas e semi-arborícolas de médio porte, popularmente conhecidos como camaleõezinhos ou papa-ventos. São animais diurnos, forrageadores ativos, alimentando-se principalmente de artrópodes (STURARO, SILVA, 2010; RAUTEMBERG, LAPS; BARRETO-LIMA, SOUSA, 2011). Apesar de distribuir-se principalmente ao longo da Mata Atlântica, há ocorrência de espécies na Amazônia (*E. lechii*; VITT et al., 1996), Chapada Diamantina (*E. erythrochonus*; RODRIGUES et al., 2006), em manchas de Cerrado (*E. catenatus*; SALES et al., 2015), e para a Caatinga na região do Espinhaço (*E. bilineatus*; TEIXERA, 2005). Representantes desse gênero possuem membros bem desenvolvidos, cauda longa e dimorfismo sexual evidente na coloração. Além disso, apresentam uma modesta capacidade de mudança de coloração quando expostos a stress e durante a cópula, mais acentuada em indivíduos machos (LIMA; SOUSA, 2006; MIGLIORE; BRAZ; ALMEIDA-SANTOS, 2014).

Enyalius perditus e *Enyalius iheringii* são espécies endêmicas da Mata Atlântica. *Enyalius perditus* distribui-se no sudeste do Brasil, ocorrendo em São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Já *E. iheringii* ocorre mais ao sul, nos estados de Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Em determinadas localidades do estado de São Paulo essas espécies apresentam simpatria. Jackson (1978) supôs que populações de *E. brasiliensis*, isoladas na Floresta Atlântica, sofreram diferenciação, devido a competição ou fatores climáticos, originando *E. perditus* e *E. iheringii*.

Apesar de sua ampla distribuição, a coleta dos indivíduos em campo muitas vezes se torna mais complexa devido à coloração críptica e a sazonalidade acentuada das espécies. Portanto, pouco se conhece sobre a ecologia do gênero. Informações sobre a biologia reprodutiva de *E. iheringii* e *E. perditus* são ainda mais escassas, exceto por dados pontuais como cópula de *E. perditus* em cativeiro (BARRETO-LIMA, SOUSA, 2006); e tentativa de cópula em *E. perditus* em campo (MIGLIORE et al., 2014). A dificuldade de coleta e manutenção de indivíduos em cativeiro dificulta pesquisas sobre comportamento e reprodução e consequentemente a obtenção de dados conclusivos.

Estudos reprodutivos em Squamata vêm avançando e atualmente é imprescindível associar as mudanças macroscópicas dos tratos reprodutivos de machos e fêmeas de mudanças microscópicas nas gônadas observadas apenas com análises histológicas (FITCH, 1970). Ciclos reprodutivos de lagartos são classificados quanto a sua sazonalidade (MÉNDEZ et al., 2015), assim como os de serpentes (MATHIES, 2011). A atividade testicular pode apresentar quatro estágios: quiescente, recrudescente, espermatogênese (máxima atividade) e em regressão (FITCH, 1970; FITCH, 1982, 2009; GRIBBINS, 2011).

Durante o ciclo de um indivíduo pode haver regressão total das gônadas em algum período do ano (descontínuo cíclico), somente uma regressão parcial (contínuo cíclico) ou ainda não haver regressão das gônadas em nenhum período (acíclico). Ao classificar a população, leva-se em consideração também o nível de sincronia entre machos e fêmeas. A população pode ser considerada sincrônica, quando há sincronia marcada entre machos e fêmeas, semi-sincrônica, quando a mesma não ocorre de forma marcadamente fechada, e assazonal, quando não ocorre.

Assim como mudanças observadas nos testículos, mudanças no segmento sexual renal (SSR) em machos vêm sendo estudadas em diversas espécies de Squamata. A variação sazonal do SSR possivelmente está relacionada com as células intersticiais testiculares, sendo uma característica andrógeno-dependente. Foi observado no lagarto *Scinella laterale* que o ciclo espermatogênico coincide com o máximo desenvolvimento do SSR (SEVER et al., 2005). Prasad e Sanyal (1969) demonstraram que esteróides andrógenos estimulam o desenvolvimento de SSR em machos e fêmeas do lagarto *Hemidactylus flaviviridis*. Além disso, o SSR parece também auxiliar na formação do plug copulatório inserido na cloaca de fêmeas que copulam com diversos machos durante a estação reprodutiva (MOREIRA; BIRKHEAD, 2003).

A estocagem de espermatozoides nas fêmeas vem sendo bastante estudada em diversos grupos tais como serpentes (HOFFMAN; WIMSATT, 1972) e tartarugas (GIST, CONGDON, 1998). Tal estratégia ocorre dentro de estruturas especializadas denominadas de receptáculos seminais (CELLULAR, 1966; SAINT-GIRONS, 1975; URIBE Et al., 1988; BLACKBURN, 1998; SEVER; HAMLETT, 2002; FERREIRA; DOLDER, 2007) e seu local de estocagem pode variar entre as espécies (ECKSTUT et al., 2009). Entretanto, estudos com histologia de lagartos neotropicais, ainda são bastante exíguos, e principalmente focados em ciclos de machos (VIEIRA et al., 2001; VIEIRA et al., 2009).

Lagartos que vivem em simpatria de fato tendem a diferir em um ou mais aspectos ecológicos, que podem ser causados, mantidos ou reforçados pela competição interespecífica (PIANKA, 1973). Assim, o estudo das espécies simpátricas pode nos fornecer dados sobre a existência ou não de influências de uma espécie sobre a outra e quais mecanismos de sobrevivência seriam adotados por cada espécie, como por exemplo, mudanças nos ciclos reprodutivos.

Dessa maneira o presente estudo tem como objetivo estudar a biologia reprodutiva de *E. perditus* e *E. iheringii* principalmente a partir de exemplares depositados em coleções, mas também *in situ* e em cativeiro, a partir de exemplares provenientes de áreas onde as populações ocorrem isoladamente ou em simpatia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Identificação das espécies

A identificação das espécies principalmente em campo é relativamente difícil pois, apesar de demonstrarem dimorfismo sexual evidente na coloração e as fêmeas apresentarem um acentuado polimorfismo cromático (Figura 1), machos e fêmeas de ambas as espécies possuem coloração críptica. Além disso, os machos possuem capacidade discreta de mudança de coloração quando estressados, durante a cópula, ou durante condições ambientais particulares, como, por exemplo, calor intenso (MIGLIORE; BRAZ; ALMEIDA-SANTOS, 2014; LIMA; SOUSA, 2006; comunicação pessoal¹).

Machos adultos de *E. perditus* são geralmente verdes e unicolores e relativamente menores que machos de *E. iheringii*, e apresentam a crista dorsal menos evidente. As fêmeas possuem coloração castanha, ou marrom e podem ou não apresentar as linhas paravertebrais. Muitas vezes apresentam também manchas triangulares ao longo do corpo. Machos de *E. iheringii* também possuem coloração verde e eventualmente apresentam manchas esbranquiçadas ao longo do corpo e da cauda. A região gular é amarelada e quando o exemplar se sente ameaçado é inflada (obs. pessoal Migliore)¹. As fêmeas apresentam listras paravertebrais geralmente brancas, cinzas ou creme e a coloração é verde oliva ou verde claro. A identificação segura pode ser realizada pela contagem de escamas (Tabela 1).

¹ Observação de Migliore, S. 2016, a partir dos exemplares mantidos em cativeiro.

Figura 1 - *Enyalius perditus* e *Enyalius iheringii* adultos

Fonte: (TEXEIRA, M. 2015C; MIGLIORE, S., 2015 A, B e D)

Legenda: A) Fêmea de *E. perditus* adulta e (B) macho de *E. perditus* adulto. (Foto B: Mauro Texeira)
(C) Fêmea de *E. iheringii* adulta e (D) macho de *E. iheringii* adulto.

Tabela 1 - Número de escamas presentes em *E. iheringii* e em *E. perditus*

Espécie	Número de Escamas			
	Vertebrais	Paravertebrais	Ventrais	Gular
<i>E. iheringii</i>	57-70 61.7 ± 1.24	122 -156 141.1 ± 3.18	45-62 56.9 ± 1.47	33-44 40.2 ± 1.07
<i>E. perditus</i>	68-89 76.1 ± 1.83	192-218 205.4 ± 2.25	52-64 58.4 ± 1.25	41-55 47.7 ± 1.28

Dados retirados de: Rodrigues, M.T., Freitas, M.A., Silva, T.F.S., Bertolotto, C.E.V. (2006)

2.2 Coleta de dados macroscópicos

Os exemplares analisados até o momento provêm de diversas coleções científicas ou são provenientes de coleta de outros projetos, doados para o presente

estudo e mantidos em cativeiro (Quadro 1). Para avaliar se há dimorfismo sexual, cada exemplar teve os seguintes dados coletados: (1) comprimento rostro-cloacal (CRC) e caudal (CC), ambas inferidas com régua de 30cm; (2) comprimento da cabeça (Ccab), altura da cabeça (ALTCab), largura da cabeça (LCab), inferidas com paquímetro digital. Também foi registrado a localidade e data de morte de cada exemplar (quando disponível).

Para avaliar a condição reprodutiva, alguns exemplares (machos e fêmeas) foram dissecados por meio de incisão ventral ao longo do corpo. Em seguida foram registrados dados de estágio folicular das fêmeas, classificados em: vitelogênese primária (V1), vitelogênese secundária (folículos aumentados pela deposição de vitelo – V2), presença de ovos e presença de corpo lúteo. Nos machos, foram tomados os seguintes dados: (1) comprimento, largura e espessura dos testículos direito e esquerdo, (2) largura do ducto deferente direito e esquerdo, próximo à região da cloaca (precisão de 0,1mm). Devido ao rim estar situado mais próximo à cloaca e embaixo da cintura escapular não foi possível medir os rins dos exemplares; dessa forma será considerada apenas a histologia dos rins. As estruturas foram observadas a olho nu e/ou com auxílio microscópio Nikon Eclipse E100 e em seguida fotografadas com máquina fotográfica digital NIKON D-3000. Para as medidas das gônadas foi utilizado paquímetro Digital Caliper, com precisão de 0,1mm. Para mapear a distribuição das espécies analisadas foi utilizada a localidade de coleta e os mapas foram elaborados com o auxílio do programa Simplemappr (SHORTHOUSE, 2010).

Quadro 1 -Lista de coleções visitadas

Coleção	Região	Espécies analisadas
Laboratório Especial de Coleções Zoológicas do Instituto Butantan (LE CZ)	Sudeste	<i>E. perditus</i> , <i>E. iheringii</i>
Museu de Zoologia Universidade Estadual de Campinas (ZUEC)	Sudeste	<i>E. perditus</i>
Museu de Zoologia João Moojen- (MZUFV)	Sudeste	<i>E. perditus</i>
Coleção Herpetológica Alfred Russel Wallace (CHARW)	Sudeste	<i>E. perditus</i>
Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Ouro Preto (LZV-UFOP)	Sudeste	<i>E. perditus</i>
Museu de História Natural Capão Imbuia (MHNCI)	Sul	<i>E. perditus</i> , <i>E. iheringii</i>
coleção Herpetológica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)	Sul	<i>E. iheringii</i>
Museu de Zoologia da USP (MZUSP)	Sudeste	<i>E. perditus</i> , <i>E. iheringii</i>

Fonte (MIGLIORE, 2016).

2.3 Padrão de atividade sazonal

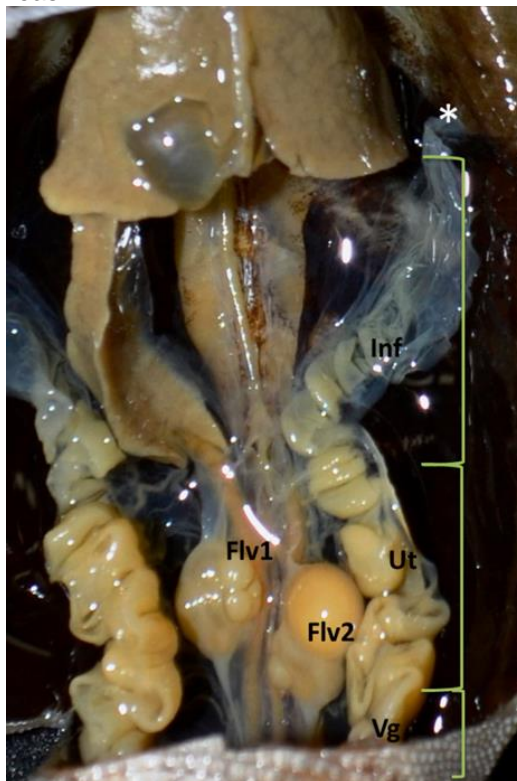
Para inferir a atividade sazonal de cada exemplar foi registrada a data de coleta (ou de morte quando esta era a mesma que coleta ou próxima) presente nos registros de coletas e nos livros tomo das coleções.

2.4 Amostras para histologia

Foram coletados fragmentos de aproximadamente 100mm dos espécimes analisados. Das fêmeas foram coletados: fragmentos do infundíbulo, do útero, da vagina e junção útero-vaginal. Dos machos foram coletados: fragmento do testículo direito, do ducto deferente e do rim direito para padronização das amostras. Tais

dados foram observados e fotografados na lupa Leica M205c e Microscópio de luz Olympus BX61VS.

Figura 2 - Morfologia das fêmeas



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: Oviduto esquerdo de fêmea madura de *Enyalius iheringii*, em vista ventral. Três regiões do oviduto são evidentes: o infundíbulo (I), útero (U) e vagina (V). O infundíbulo se abre para a cavidade pleuroperitoneal através do óstio (asterisco).

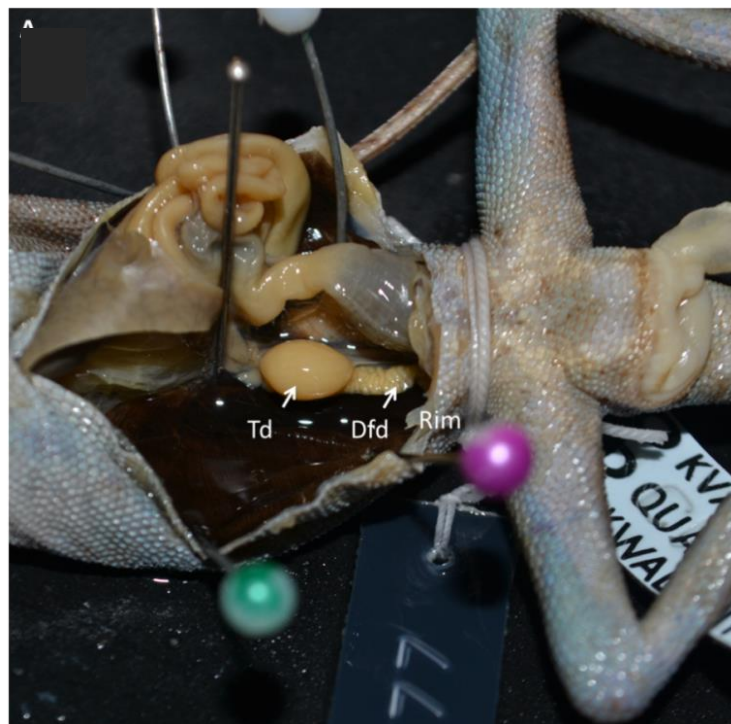
Figura 3 - Morfologia dos folículos das fêmeas



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: Fêmea de *E. perditus* em vitelogênese primária; (B) Fêmea de *E. perditus* no início da vitelogênese secundária (D) Fêmea de *E. perditus* no início da vitelogênese secundária avançada (d) Fêmea ovada de *E. perditus*.

Figura 4 - Morfologia dos machos



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: Sistema urogenital masculino, Td = testículo direito, = rim direito,; B) Dfd = ducto deferente direito.

2.5 Análises histológicas

As amostras passaram por procedimento padrão de desidratação, diafanização e inclusão em parafina, corte e coloração para a obtenção das lâminas. Para a desidratação, as amostras foram submersas em etanol e foi realizada a substituição em ordem crescente (etanol 70% até 100%). Cada submersão durou 30 minutos. Para a diafanização as amostras ficaram submersas em Xilol I e Xilol II por quarenta minutos. Em seguida foi realizado banho em parafina, um deles *overnight* e outro por aproximadamente 6 horas. Após esse procedimento, as amostras foram incluídas transversalmente em blocos de parafina. Os blocos de parafina foram seccionados em cortes de aproximadamente 5mm de espessura com auxílio de um micrótomo (Leica MODELO ZZZ). As fitas foram submersas em água morna e gelatina e aderidas às lâminas. Em seguida as lâminas foram submetidas ao processo de coloração por Hematoxilina Eosina. (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BERTANI, 1979) e foram coladas lamínulas utilizando-se permount. As lâminas histológicas foram fotografadas através do Microscópio Leica dm 2500.

2.6 Estudos cativoiro

São mantidos em cativoiro oito exemplares de *Enyalius* sendo cinco de *E. iheringii* e três de *E. perditus* (licença SISBIO Número: 47011-1). Os indivíduos são mantidos em terrários devidamente ornamentados e arejados em temperatura ambiente. Os animais são provenientes de coletas tanto de outros projetos, doados legalmente para este trabalho, como proveniente de coletas do presente projeto (licença SISBIO Número: 44913-3). Os exemplares de *E. iheringii* foram coletados no Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Curucutu e na Estação Biológica de Borácea do Estado de São Paulo. Os exemplares de *E. perditus* são provenientes também da Estação Biológica de Borácea. Os exemplares machos adultos são utilizados para testes de eletroejaculação e as fêmeas para avaliar comportamento reprodutivo e de desova (Fig 5) (CEUA nº 3491021015).

Figura 5 - Desova em *Enyalius perditus*



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: A) Fêmea grávida de *Enyalius perditus*, B) Desova da respectiva fêmea, ovos incubados na vermiculita.

2.7 Análises estatísticas

Os dados foram separados de acordo com cada espécie. Devido a presença de poucos exemplares machos de *E. iheringii*, os resultados analisados foram restringidos até o momento apenas para as fêmeas. Para verificar a normalidade dos dados foi realizado o teste Shapiro-Wilk e homogeneidade das variâncias com o programa InStat e Bioestat.e Statística 7. As análises estatísticas foram então realizadas utilizando testes paramétricos ou o similar não-paramétrico dependendo da natureza dos dados. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Para inferir o padrão de atividade sazonal dos exemplares, e foi realizado o teste Qui-quadrado.

CAPÍTULO 1

BIOLOGIA REPRODUTIA *DE ENYALIUS IHERINGII* (Boulenger,1985) SQUAMATA, LEIOSAURIDAE



Fonte: (BORDIGNON, A., 2009).

3 Introdução

Enyalius iheringii é um lagarto endêmico da Mata Atlântica brasileira que apresenta principalmente hábitos arbóreos, sendo encontrado geralmente sob a vegetação e em alguns casos no chão da floresta, camuflando-se com o meio. São predadores do tipo “senta e espera”, e sua dieta consiste predominantemente de artrópodes como besouros, larvas de lepidópteros e aranhas (RAUTENBERG; LAPS, 2010).

Sua principal defesa é a camuflagem; entretanto também podem apresentar comportamento de fuga, saltando e correndo. Quando manipulados, escancaram a boca e eventualmente podem morder (RAUTENBERG; LAPS, 2010, observação pessoal)².

As fêmeas em fase reprodutiva são encontradas de dezembro a fevereiro, sugerindo que haja sazonalidade quanto à época reprodutiva nessa espécie, provavelmente relacionado com o aumento da pluviosidade e da temperatura (MARQUES; SAZIMA, 2004; RAUTENBERG; LAPS, 2011). A eclosão dos ovos deve ocorrer frequentemente antes do início do inverno para que os jovens possam se alimentar.

A espécie apresenta dimorfismo sexual. Os machos adultos de *E. iheringii* são unicolores; sua coloração vai do verde ao castanho escuro, levemente amarelados na região gular. As fêmeas são geralmente verde-oliva e apresentam listras paravertebrais bem evidentes, brancas ou acinzentadas. Quando jovens indivíduos apresentam coloração similar às fêmeas (LIOU, 2008 e presente estudo).

Pouco se conhece sobre sua ecologia e biologia reprodutiva. Encontra-se na literatura apenas um trabalho sobre história natural de *E. iheringii* (RAUTENBERG; LAPS, 2011), com um número baixo de indivíduos analisados em relação a parte reprodutiva, e outros trabalhos com apenas registros pontuais sobre reprodução. (MARQUES; SAZIMA, 2004; MIGLIORE et al., 2014). Nesse capítulo apresentamos dados inéditos sobre sazonalidade e biologia reprodutiva de *E. iheringii*.

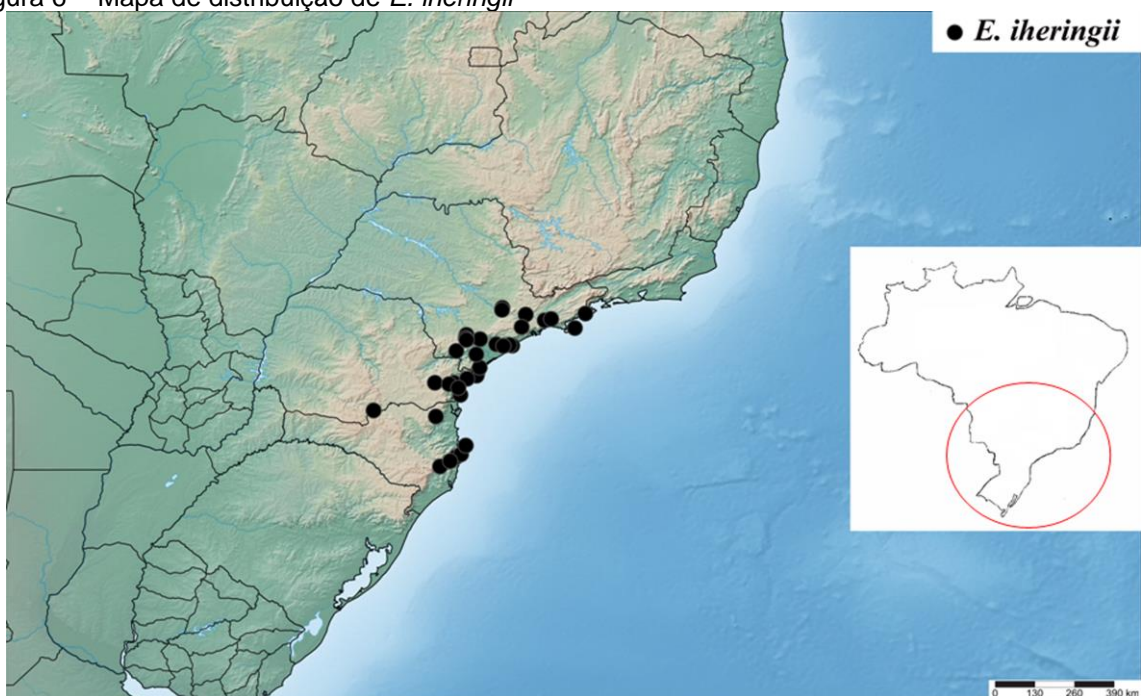
² Observação de Migliore, S. 2016, a partir dos exemplares mantidos em cativeiro.

4 Material e Métodos

Foram analisados 144 indivíduos, sendo 83 fêmeas, 42 machos (5 exemplares de cativo) e 19 filhotes/juvenis.

Os exemplares analisados provêm de importantes fragmentos de Mata Atlântica dos estados do Rio de Janeiro, de São Paulo, Paraná e Santa Catarina.(Figura 6). Cada exemplar foi dissecado por meio de incisão ventral e foram tomadas medidas morfológicas e foram coletadas amostras de tecido para a histologia. Foram realizadas análises estatísticas para testar correlação entre medidas corporais e testar se há dimorfismo sexual (ver detalhadamente Materiais e Métodos).

Figura 6 - Mapa de distribuição de *E. iheringii*



Fonte (MIGLIORE, 2016)

Legenda: Mapa de distribuição dos exemplares analisados.

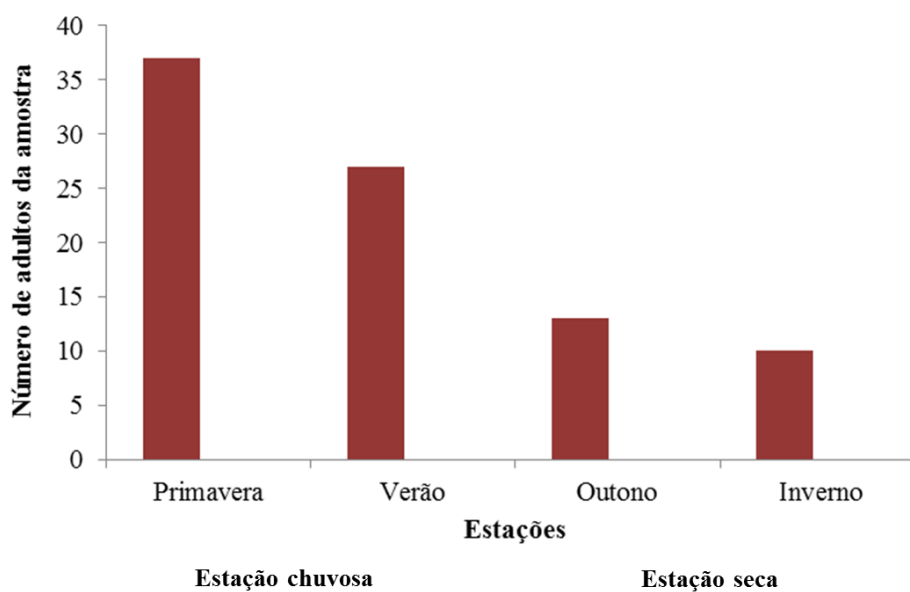
5 Resultados

5.1 Sazonalidade

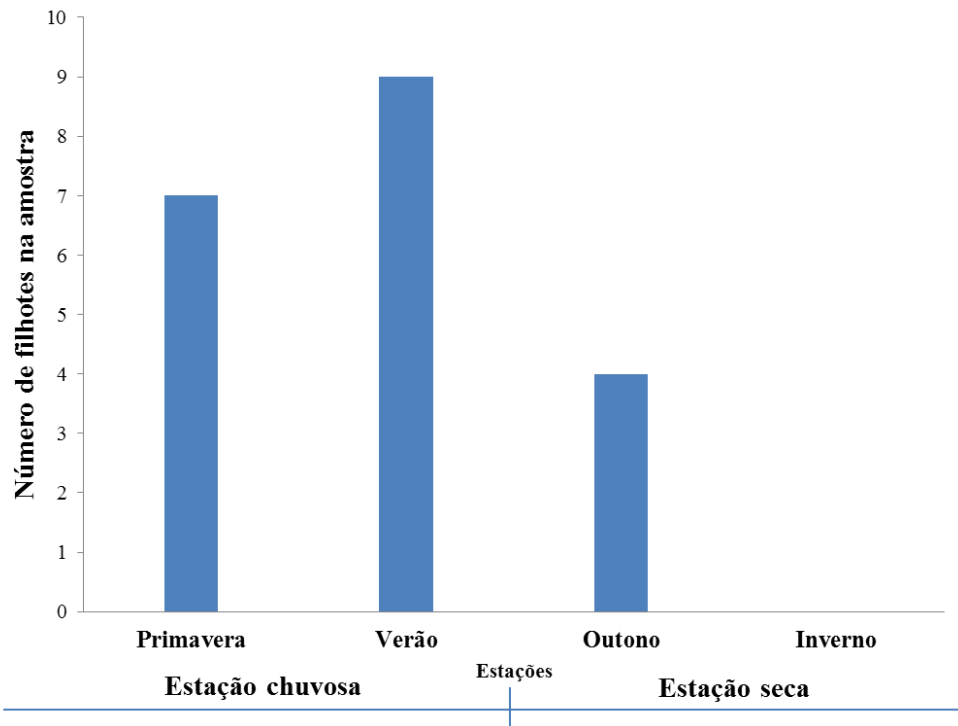
Machos e fêmeas são encontrados em maior número durante a estação quente e chuvosa (n= 81). Durante o outono e o inverno o número de adultos coletados diminuiu de forma significativa (n= 27 Qui-Quadrado = 27, $P < 0,05$.) (Gráficos, 1, 4 e 5).

Foram considerados filhotes e juvenis (n=20) animais que apresentaram CRC inferior a 60mm. Assim como os exemplares adultos, estes foram mais coletados durante a estação chuvosa (n=16) do que durante a estação seca (n=4). (Gráficos 2 e 3). Tamanhos corporais de machos e fêmeas não diferiram ao longo das estações amostradas, porém foram observados filhotes com maior CRC durante o final da estação chuvosa e começo da estação seca (Gráfico, 3).

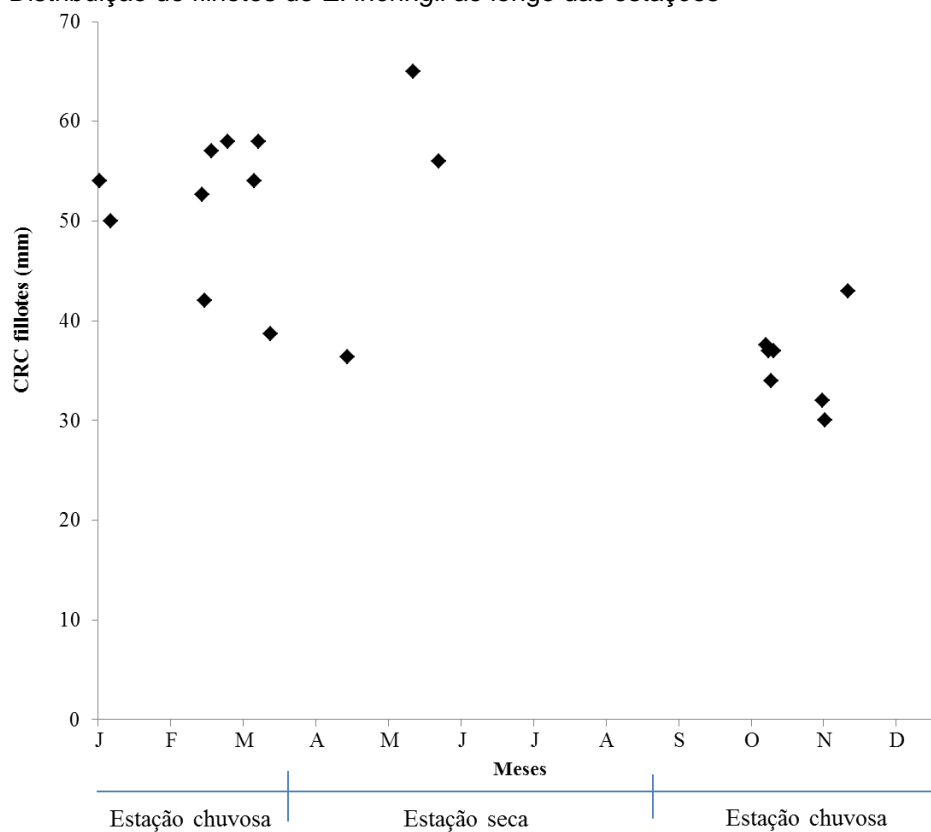
Gráfico 1 - Atividade sazonal de exemplares adultos de *Enyalius iheringii*



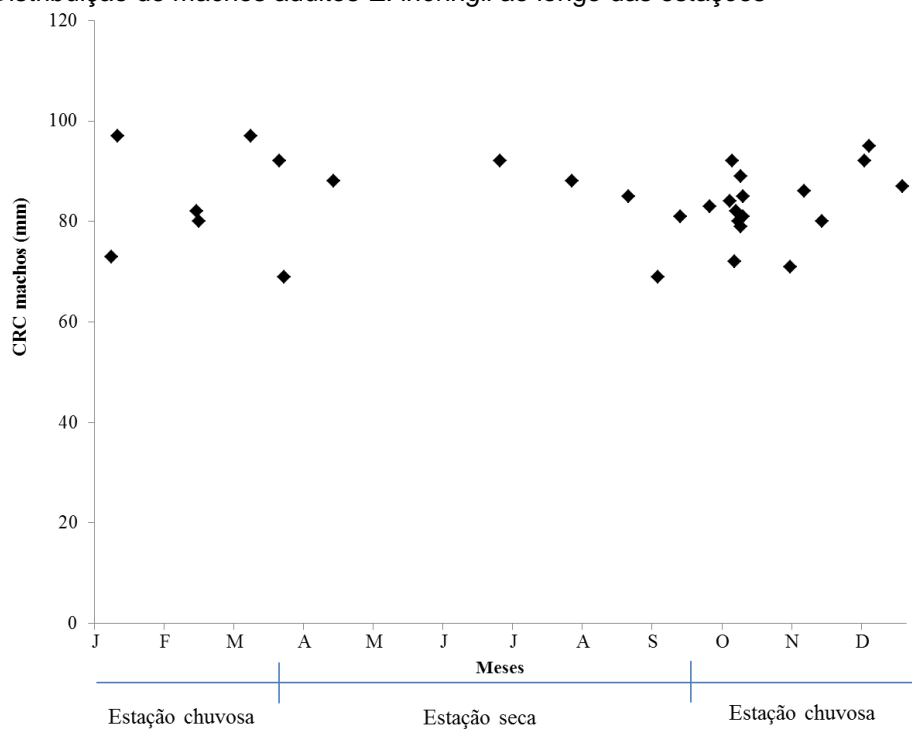
Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Gráfico 2 - Atividade sazonal de filhotes e juvenis de *Enyalius iheringii*

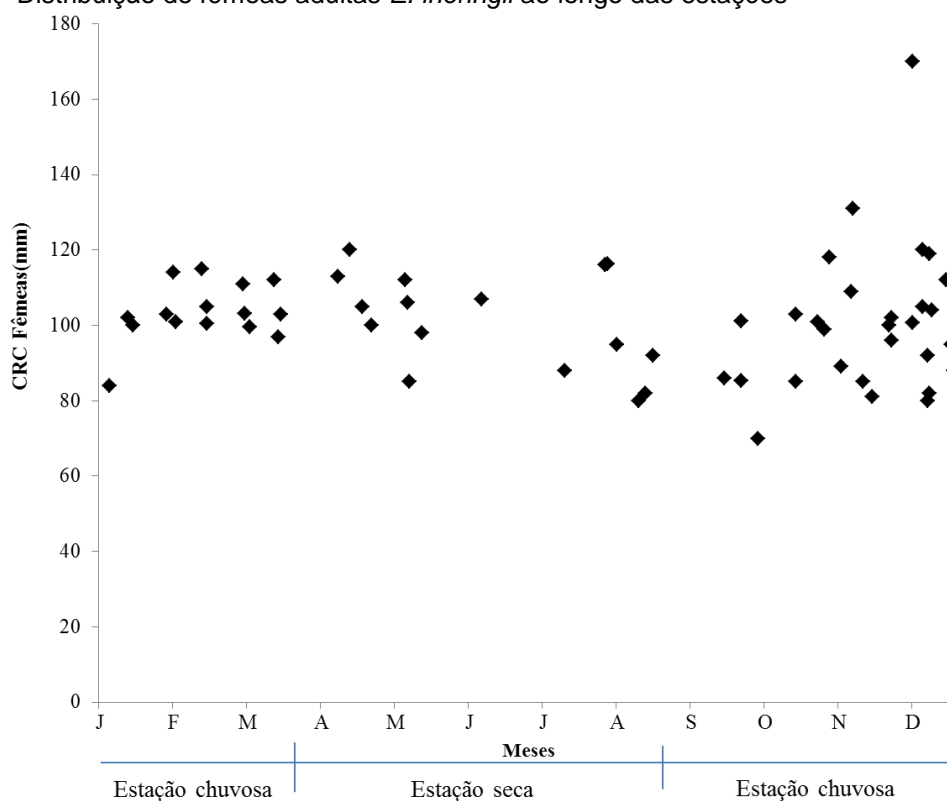
Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Gráfico 3 - Distribuição de filhotes de *E. iheringii* ao longo das estações

Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Gráfico 4 - Distribuição de machos adultos *E. iheringii* ao longo das estações

Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Gráfico 5 - Distribuição de fêmeas adultas *E. iheringii* ao longo das estações

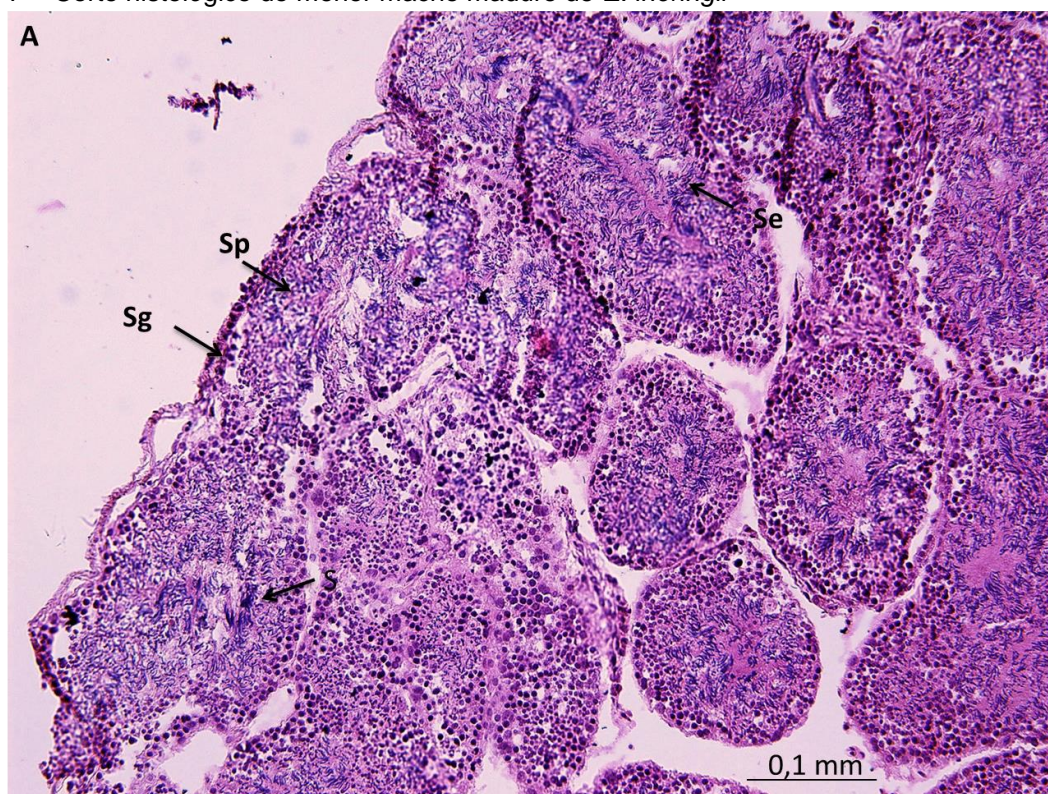
Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

5.2 Maturidade sexual

O menor macho sexualmente maduro da amostra é um exemplar coletado no outono que apresentou 69mm de CRC e 145mm de CC. É possível observar todas as linhagens espermáticas (espermatogônias, espermatócitos, espermátides) dentro dos túbulos seminíferos do testículo (Figura 7).

A menor fêmea considerada madura coletada durante a primavera estava no começo de vitelogênese secundária. Com 70mm de CRC e 154mm de CC, o folículo mediu cerca de 3,5mm, além de apresentar o oviduto pregueado.

Figura 7 - Corte histológico do menor macho maduro de *E. iheringii*



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: Sg: espermatogônias. Sp: espermatócitos. Se: espermatídes. S. espermatozoides; Aumento; 20x.

5.3 Dimorfismo sexual

Foi utilizado o teste de correlação de Pearson para testar a correlação do CRC com outros parâmetros. Dados preliminares mostraram que houve correlação entre os parâmetros testados e o CRC para *E. iheringii*

Quanto aos caracteres morfométricos, foi encontrado dimorfismo sexual no comprimento rostro-cloacal, sendo que as fêmeas apresentaram CRC maior que machos ANCOVA: U-statistic = 448.50; U' = 1963.5, (fêmeas 67, machos 36, testado em Log.) mas não diferiram quanto ao CC (ANCOVA F(1, 51)=.07244, p=.078890) e quanto ao tamanho da cabeça (ANCOVA F(1, 49)=3.6422, p=.06220) (Tabela 2).

Quadro 2

- Correlação entre os morfológicos dos machos e fêmeas de *E. iheringii*

Correlação (mm)	Variável
CRC e CC fêmeas	(r) = 0.5026 p< 0.0055
CRC e cc machos	(r) = 0.7132 p< 0.0001
CRC e Ccab Fêmeas	(r) = 0.9286; p< 0.0001
CRC e Ccab machos	(r) = 0.9543; p < 0.0001

Fonte:(MIGLIORE, S., 2015)

Tabela 2 - Dados morfológicos dos machos e fêmeas de *E. iheringii*

Variável	Média ± DP	Mínimo-Máximo (mm)	N
CRC (mm)	(M) 84.423 ± 1.511	(M) 69-97	(M) 26
	(F) 99.645 ± 2.571	(F) 70-120	(F) 30
CC (mm)	(M) 181.12 ± 5.216	(M) 104-219	(M) 25
	(F) 203.66 ± 5.650	(F) 130-280	(F) 29
Ccab (mm)	(M) 23.242 ± 2.144	(M) 18-27	(M) 24
	(F) 27.917 ± 3.970	(F) 20-35	(F) 28

Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: DP = desvio padrão, M = machos, F = fêmeas. Fonte: (MIGLIORE, 2016)

5.4 Ciclo reprodutivo de fêmeas

Fêmeas de *E. iheringii* apresentaram folículos em V1 ao longo de todo ano. O crescimento folicular foi observado quando folículos vitelogênicos atingiram cerca de 3mm.

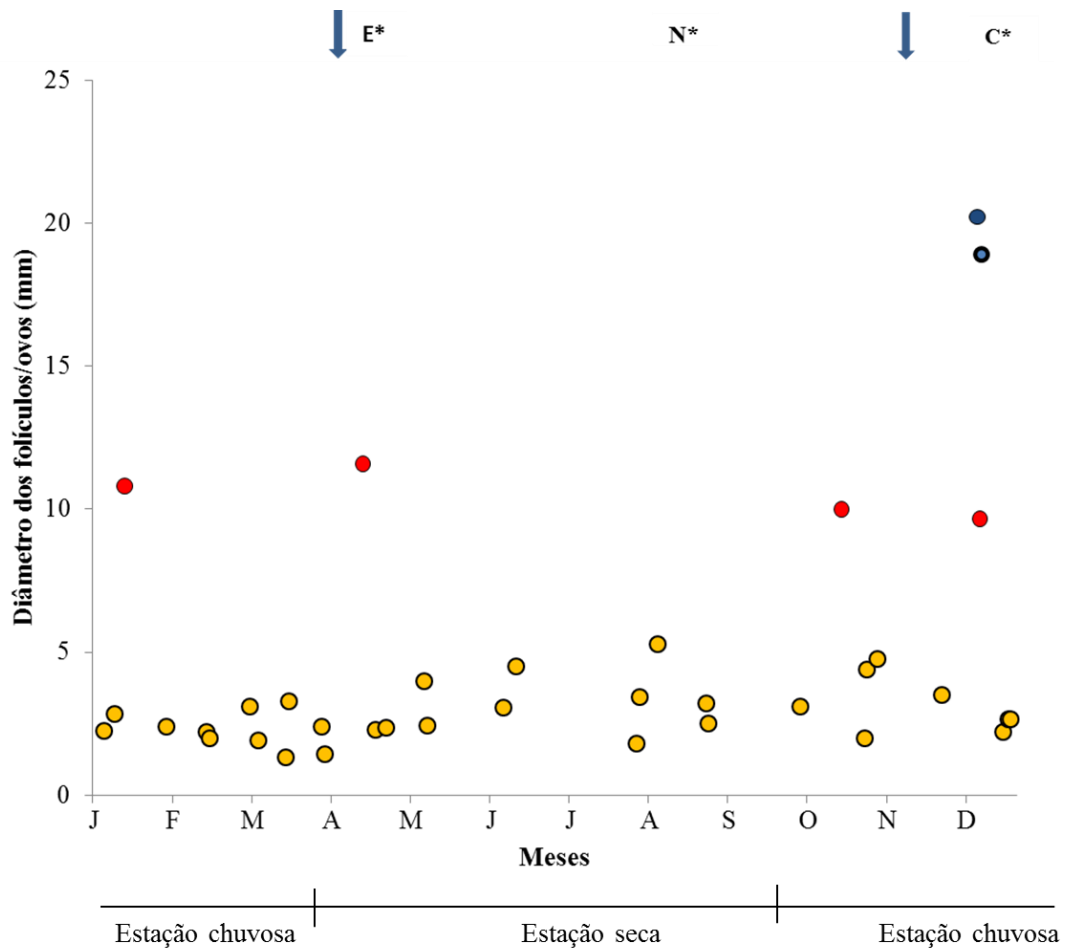
Foi observado aumento folicular de 6-18 folículos vitelogênicos. Não foi encontrada nenhuma fêmea apresentando ovos no oviduto simultaneamente com folículos vitelogênicos, indicando que as fêmeas podem produzir apenas uma ninhada por período reprodutivo.

Fêmeas no início de vitelogênese secundária distribuem-se ao longo de todo o ano, enquanto fêmeas em vitelogênese secundária avançada foram encontradas durante a estação chuvosa (primavera e verão) e começo da estação seca (outono).

Duas fêmeas grávidas foram encontradas na estação chuvosa (primavera). Foram observadas duas desovas, uma no outono com a eclosão dos ovos no inverno (MIGLIORE et al., 2014) e outra na primavera comunicação pessoal³.

Foi encontrada na amostra uma fêmea coletada durante a primavera em vitelogênese primária (CRC 100mm) com espermatozoides no infundíbulo, indicando cópula recente, onde já é possível observar os espermatozoides organizados ao longo do epitélio e diversas glândulas do infundíbulo (Figura 11A, B). Uma segunda fêmea coletada durante o outono, também em vitelogênese primária apresentou espermatozoides estocados na junção útero-vaginal, é possível observar os espermatozoides dentro das criptas de estocagem e uma grande quantidade de secreção dentro das mesmas (Figura 12A, B, C. Na primavera e no verão foi possível observar um epitélio mais pregueado do infundíbulo, quando comparado com o outono e inverno (Figura 13).

³ Dado fornecido por Antonio Bordignon, em exemplar analisado durante expedição científica.

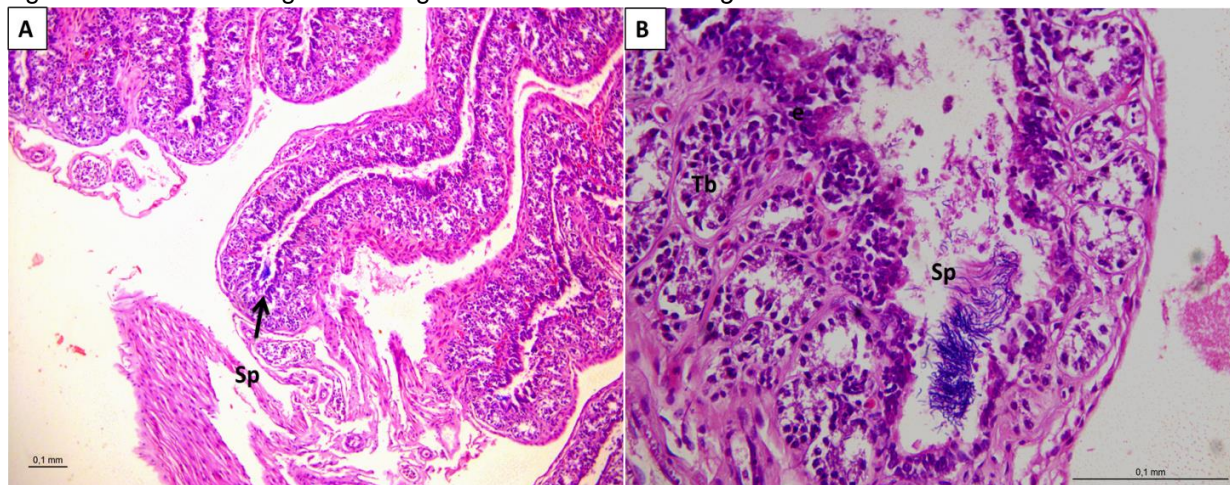
Gráfico 6 - Diâmetro dos folículos em *Enyalius iheringii*

Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: Círculo amarelo: Vitelogênese primária; Círculo vermelho, vitelogênese secundária; Círculo azul: Fêmea grávida; Setas: Desovas (Migliore, et al, 2014, e comunic pessoal⁴; E: Estocagem. C*: copula recente; N*: Nascimento de filhotes;

⁴ Informação fornecida por Antonio Bordignon durante coleta de campo

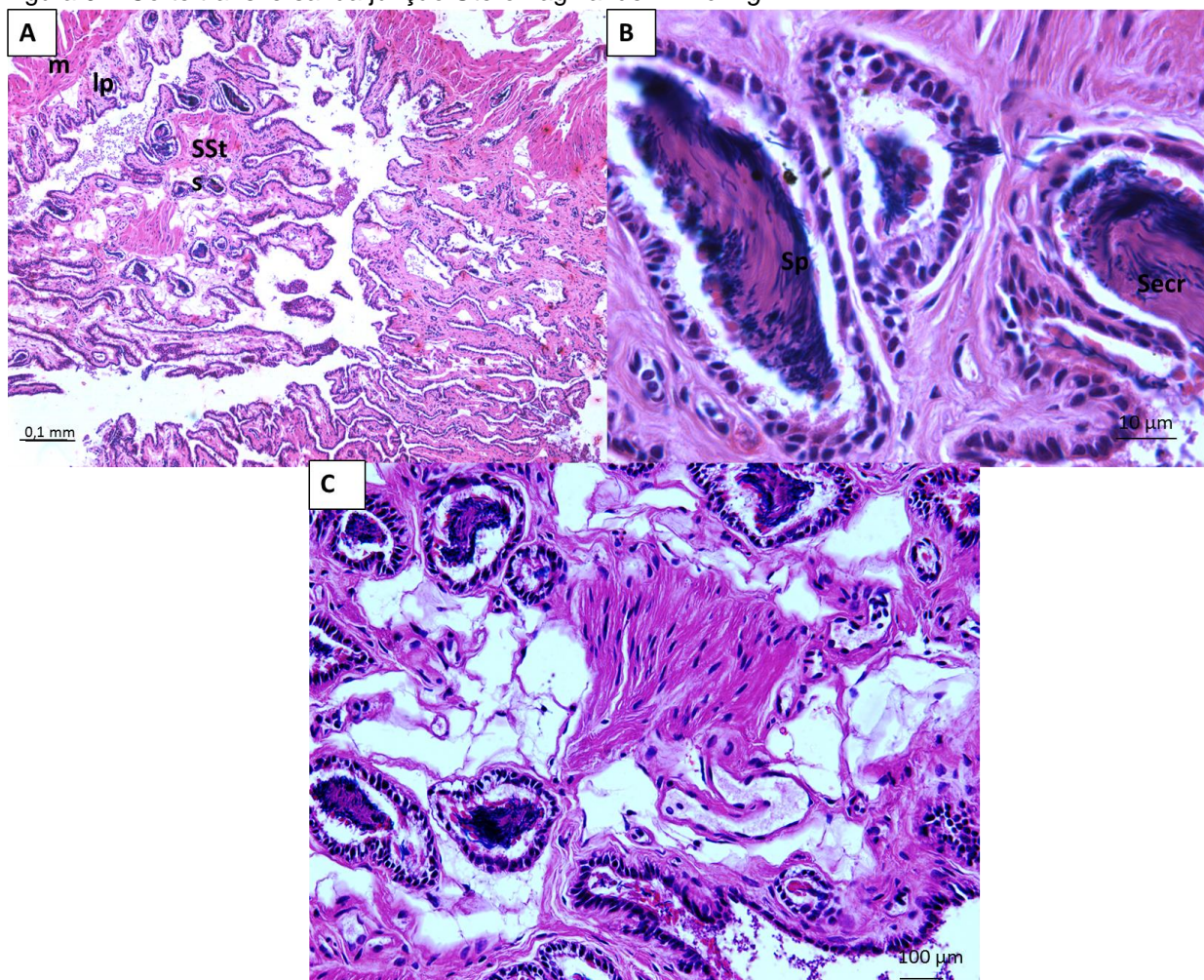
Figura 8 - Corte histológico estocagem infundíbulo- *E. iheringii*



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: Sp: Espermatozoides; Tb: Glândulas do Infundíbulo. Aumento A) 20x; B) 40x

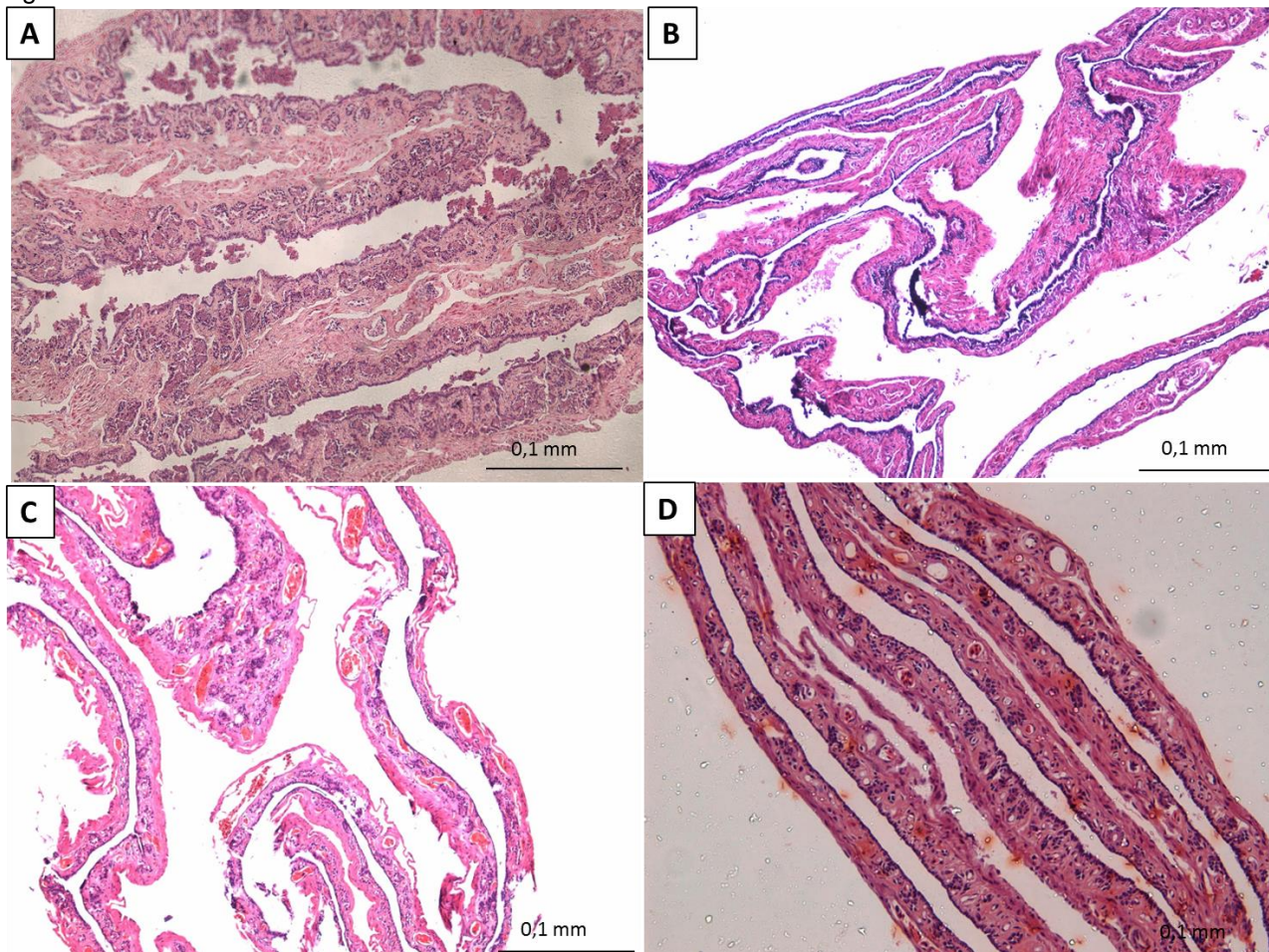
Figura 9 - Corte transversal da junção Útero-vaginal de *E. iheringii*



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: A, B e C: Sp: Espermatozoides; m: músculo Secr: Secreção; Sst: Túbulos de estocagem; lp: Lâmina própria. Aumento A) 10x; B) 100x, C) 40x

Figura 10 - Cortes transversais do infundíbulo



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: A) Primavera; B) Verão; C) Outono; D) Inverno. Aumento: 20x

5.5 Ciclo reprodutivo de machos

Machos de *E. iheringii* apresentaram testículos arredondados, dispostos dorsalmente na cavidade abdominal, sendo o direito mais cranial que o esquerdo. A análise histológica dos exemplares analisados nos mostrou uma variação individual na atividade testicular dos machos e não foi possível observar um padrão.

Durante todas as estações foi possível observar em alguns indivíduos túbulos seminíferos com linhagem espermática em diferenciação. No outono é possível observar todas as linhagens: espermatogônias na camada mais basal do testículo, espermatídes em diferenciação e a presença de alguns espermatozoides na luz do

túbulo seminífero. Testículos de alguns indivíduos na primavera e no verão também estavam em espermiogênese e foi possível observar espermatogônias, espermatócitos e espermatídes em maior número e alguns espermatozoides na luz do túbulo seminífero. No exemplar coletado no inverno o túbulo seminífero estava repleto de espermatozoides e quase não foi possível observar a luz do lúmen (Figura 12). Um exemplar coletado no começo do verão (CRC =92mm) apresentou o testículo quiescente (apenas espermatogônias), não estava estocando espermatozoides no ducto deferente e apresentou o SSR hipotrofiado, enquanto que um exemplar coletado na primavera apresentava o testículo quiescente, mas estocando espermatozoides no ducto deferente.

Quanto ao ducto deferente, durante a primavera e o verão é possível observar um maior número de espermatozoides estocados e um epitélio baixo. Durante o outono também foi possível observar espermatozoides estocados nos ductos deferentes, porém em menor quantidade e um epitélio mais alto (Figura 13).

O segmento sexual renal está mais hipertrofiado durante a primavera onde é possível observar um alto nível de secreção dentro dos túbulos. Durante o verão também é possível observar hipertrofia no SSR em alguns indivíduos, enquanto no outono o SSR dos indivíduos analisados estava hipotrofiado.(Figura 14).

Dados preliminares da eletroejaculação demonstram que os indivíduos analisados não mostraram um padrão sazonal nas amostras, mas sim uma variação individual durante as estações de coleta. Ou seja, cada exemplar variou individualmente quanto a presença ou ausência de espermatozoides estocados nos ductos deferentes (Tabela 5 e figura 13).

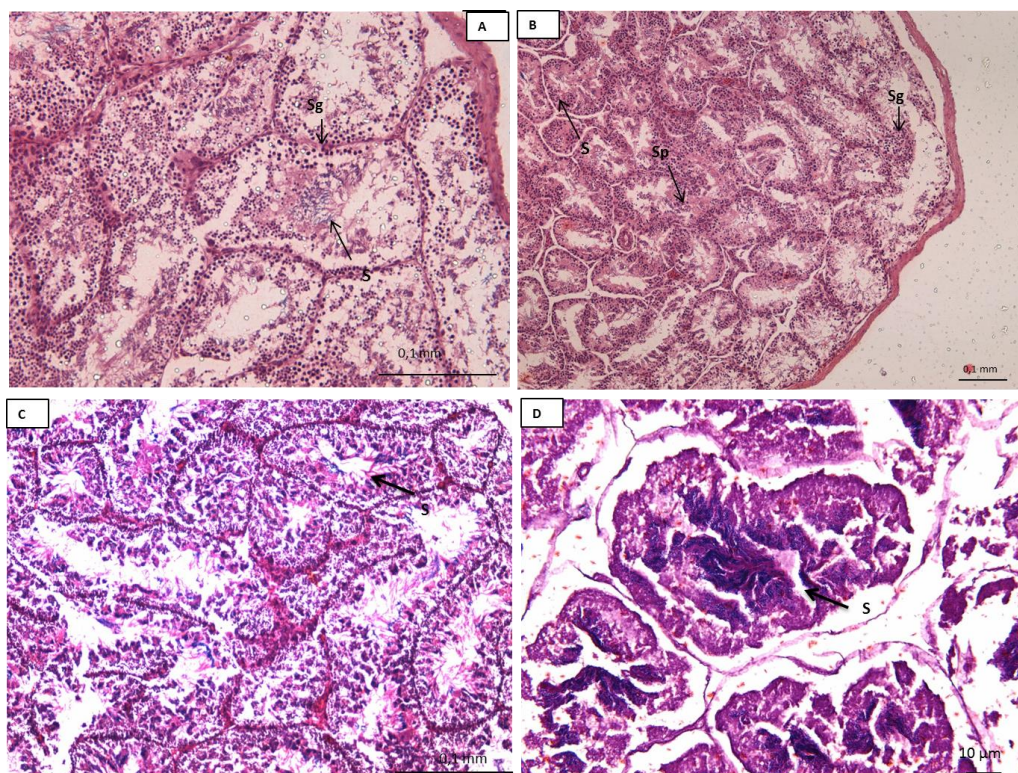
Figura 11 - Espermatozoides de *E. iheringii*



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: material coletado durante projeto de eletroejaculação de exemplares em cativeiro

Figura 12 - Corte transversal do testículo de *E. iheringii*

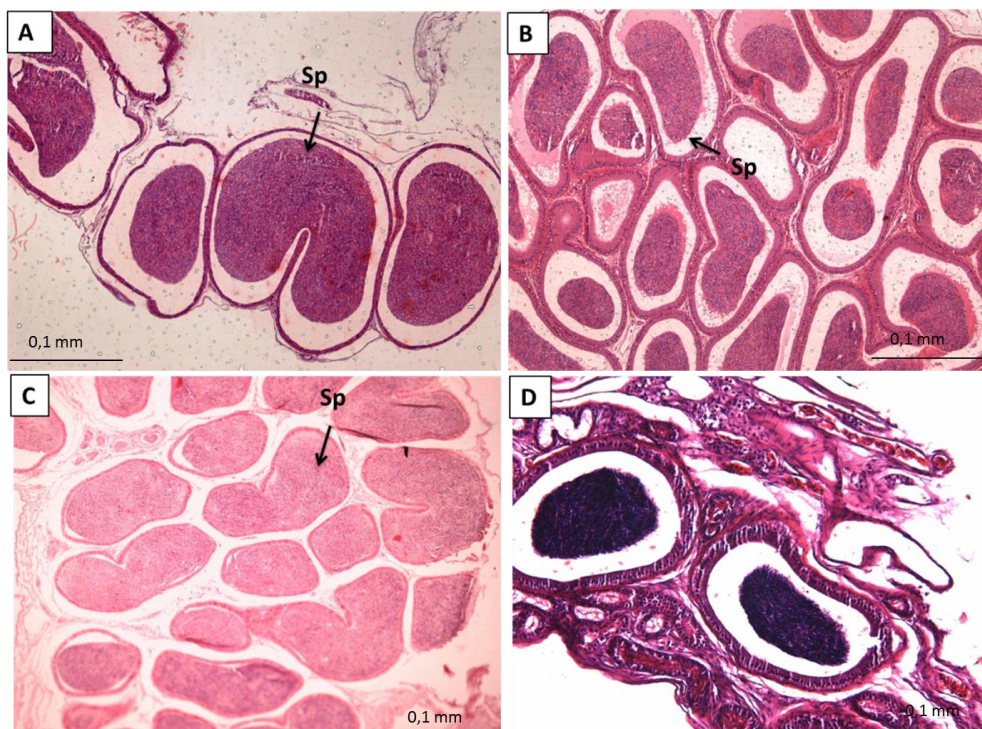


Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: A) Primavera, B) Verão C) Outono, D) Inverno; Sg: espermatogônias. Sp: espermatócitos.

Se: espermátides. S. espermatozoides;

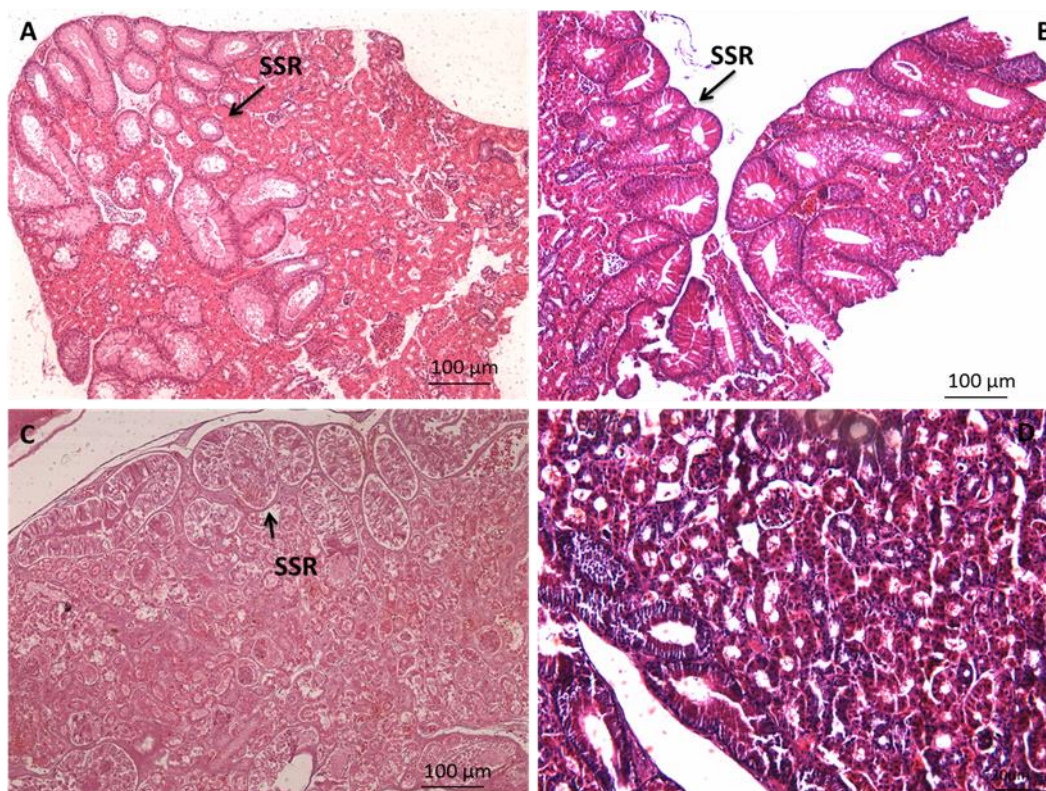
Figura 13: Corte transversal do ducto deferente de *E. iheringii*



Fonte: (MIGLIORE, S., 2015)

Legenda: A) Primavera; B) Primavera; C) Verão; D) Outono. Sp= Espermatozoides.20x

Figura 14- Corte transversal do rim de *E. iheringii*



Fonte: (MIGLIORE, S., 2016)

Legenda: A) Primavera; B) Primavera; C) Verão; D) Outono. SSR= Segmento Sexual Renal

Quadro 3 - Amostras de eletroejaculação de *E. iheringii*

Parte dos dados preliminares da eletroejaculação, indicando a presença ou ausência de espermatozoides na amostra (dados não publicados⁵).

Espécie	CRC + CC (mm)	Massa (g)	Data	Estação	Amostra (presença de espermatozoides)
<i>E. iheringii</i> 1	9 + 212 mm	22g	16/05/ 2016	Outono	Não
<i>E. iheringii</i> 2	81 + 17,5	15 g	16/05/ 2016	Outono	Não
<i>E. iheringii</i> 3	91 + 216 mm	24g	16/05/ 2016	Outono	Não
<i>E. iheringii</i> 4	80 + 12+n	17 g	16/05/ 2016	Outono	Sim
<i>E. iheringii</i> 5	90 + 225		16/05/ 2016	Outono	Sim
<i>E. iheringii</i> 1	95 + 212 mm	19 g	25/11/2016	Primavera	Sim
<i>E. iheringii</i> 2	80 + 180 mm	16 g	26/11/2016	Primavera	Não
<i>E. iheringii</i> 3	95 + 225 mm	27 g	27/11/2016	Primavera	Não
<i>E. iheringii</i> 4	85+ 13n mm	20 g	28/11/2016	Primavera	Não
<i>E. iheringii</i> 5	95+ 235 mm	33 g	29/11/2016	Primavera	Sim

Fonte (MIGLIORE, S., 2016).

Legenda: CRC = Comprimento Rostro-Cloacal, CC= Comprimento caudal.

⁵ Parte dos dados retirados de artigo em elaboração por MIGLIORE, BARROS, FRADIANE, 2016

6 DISCUSSÃO

A comparação do dimorfismo sexual entre os indivíduos analisados de ambos os sexos, mostrou que além do dimorfismo na coloração, fêmeas de *E. iheringii* apresentaram maior CRC quando comparadas com machos, porém não diferiram significativamente quanto ao tamanho da cauda e tamanho da cabeça, refutando Rautemberg e Laps, 2011. Tal dimorfismo também foi observado em outras espécies (e.g. *E. brasiliensis* e *E. bilineatus*, TEIXEIRA et al., 2005; *E. perditus*, STURARO; SILVA, 2010; BARRETO-LIMA, 2011). Tamanho corporal maior em fêmeas geralmente está relacionado com a fecundidade, fertilidade e investimentos reprodutivos (número de filhotes, capacidade de produzir ninhadas viáveis), assim sendo é esperado que fêmeas maiores possuam a capacidade de produzir ninhadas maiores (SHINE, 1987; DU et al., 2005).

Quanto à maturidade, a menor fêmea madura encontrada no nosso trabalho apresentou 70 mm de CRC, e não difere de forma significativa do macho que apresentou 69mm de CRC. Nossos dados indicam que a capacidade de se reproduzir nas fêmeas e machos de *E. iheringii* ocorre em um comprimento menor do que encontrado por Rautemberg e Laps (2011) onde encontraram fêmeas vitelogênicas apenas com CRC de 100mm. Fêmeas e machos de *E. iheringii* atingem a maturidade sexual similar ao tamanho observado em *E. brasiliensis* (TEIXEIRA et al., 2015).

Fêmeas grávidas foram encontradas durante a estação chuvosa e estação seca, assim como observado por Marques e Sazima (2004) e Migliore et al 2014, enquanto que Rautember e Laps (2011) encontraram apenas uma fêmea com ovos no oviduto durante a estação chuvosa. Espermatozoides encontrados na fêmea coletada durante primavera ainda estavam na luz do lúmen do infundíbulo indicando cópula recente. Cópula na primavera também foi observada em *Enyalius perditus* (MIGLIORE et al, 2016, BARRETO-LIMA, SOUSA, 2006).

Dentro do gênero *Enyalius* o modo reprodutivo parece variar interespecificamente sendo que é observada sazonalidade reprodutiva em *E. perditus* (BARRETO-LIMA; SOUSA, 2004; STURARO; SILVA, 2010; MIGLIORE;

BRAZ; ALMEIDA- SANTOS, 2014; MIGLIORE, 2016, ANEXO 1)⁶, onde os indivíduos parecem ter seus ciclos sazonais, associados e sincrônicos e fêmeas e machos provavelmente não estoquem espermatozoides (comunicação pessoal e Anexo 1)⁷, *E. leechii* (VITT et al., 1996) e *E. brasiliensis* (TEIXEIRA et al., 2005 a) e ciclos mais estendidos como observado em *E. bilineatus* (TEIXEIRA et al., 2005). Os ciclos associados são mais comuns em lagartos, que têm um período reprodutivo curto, geralmente concentrado nas estações quentes e consistem em machos e fêmeas atingirem a atividade máxima durante o mesmo período, (observado na maioria das espécies de lagartos), dessa forma a produção de espermatozoides e a ovulação ocorrem ao mesmo tempo e machos apresentam períodos alternados de atividade das gônadas (recrudescência-espermiogênese) com períodos de regressão e quiescência. (CREWS; GANZ ,1992; MÉNDEZ et al., 2014). Esse tipo de ciclo pode estar diretamente relacionado a diversos fatores externos como clima, altitude, temperatura disponibilidade de alimentos além de fatores filogenéticos (MENDEZ et al, 2014).

Fêmeas em vitelogênese primária, estocando espermatozoides, (ou seja, ainda não poderia ocorrer a fecundação dos folículos no infundíbulo), fêmeas no início de V2 ao longo de todo ano, em V2 avançada na primavera e no começo do outono, e desovas ocorrendo na estação seca e chuvosa confirmam que o ciclo em *E. iheringii* é de fato estendido. É provável que essa extensão seja possível por meio da estocagem de espermatozoides nos tratos reprodutivos das fêmeas. O padrão de estocagem encontrado em *E. iheringii* é observado em outras famílias de lagartos. Foi encontrada estocagem na região da vagina na família Polychrotidae, Scincidae, e no infundíbulo em Gekkonidae (HALEY 1996) e Lacertidae (CUELLAR, 1996). Este é o primeiro registro de estocagem de espermatozoides em fêmeas para a família Leiosauridae, e para o gênero *Enyalius*.

Duas hipóteses principais foram sugeridas para explicar a retenção de espermatozoides em fêmeas (BIRKHEAD E MOLLER, 1993): Seleção pré e pós copulatória envolvendo a inseminação por mais de um macho e posterior competição de esperma no trato da fêmea e assincronia dos ciclos reprodutivos de machos e fêmeas de uma determinada espécie.

⁶ MIGLIORE, S. N.; BRAZ, H. B.; BARRETO-LIMA, A. F.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Reproductive timing and fecundity in females of the lizard *Enyalius perditus* (Squamata: Leiosauridae). Acta Herpetologica, 2016. (no prelo)

⁶ MIGLIORE, S. N. dados do mestrado

Calsbeek et al. (2007) e Uller et al. (2013), discutem a possibilidade de competição espermática, múltipla paternidade, e ciclos estendidos em *Ctenophorus fordi* e em *Anolis* respectivamente, favorecida pela estocagem e seleção de espermatozoides nos tratos reprodutivos das fêmeas.

Foi encontrada variação individual nos machos analisados. Foi observada atividade testicular durante todas as estações em alguns indivíduos enquanto em outros foi observada quiescência testicular. Apesar da hipertrofia do SSR nos machos de *E. iheringii* ter sido observada na primavera e em alguns indivíduos do verão, enquanto no outono SSR não se encontra hipertrofiado, novas amostras deverão ser realizadas para obtermos resultados mais conclusivos. Durante a primavera e o verão foi possível observar também uma maior quantidade de espermatozoides estocados nos ductos deferentes.

Nossos machos mantidos em cativeiro (utilizados na eletroejaculação) que não se alimentaram ou se alimentaram com menor frequência apresentaram uma concentração menor ou nenhum espermatozoide na amostra. É observado que a quantidade de gordura, fotoperíodo e condições corporais estão relacionadas com o sucesso reprodutivo de diversas espécies de lagartos, (MENDEZ et al, 2014). Dessa forma é possível que estes animais mantidos em condições não naturais apresentassem alterações hormonais e conseqüentemente na atividade das gônadas, porém não podemos descartar a hipótese que a ausência de espermatozoides na amostras seja resultado de variação individual dos exemplares.

- Provavelmente machos e fêmeas de *E. iheringii* possuem seus ciclos reprodutivos dissociados) onde as gônadas de ambos atingem atividade das máximas em períodos diferentes e fêmeas necessitem estocar espermatozoides. Dessa forma é possível que o sucesso reprodutivo dependa da capacidade de manutenção de espermatozoides viáveis, como sugerido por GIRLING 2002, KAST 2007, OLSSON et al., 2007.

Durante a estação seca, tanto indivíduos adultos como filhotes e juvenis de *E. iheringii* são pouco coletados. A ausência de lagartos nessa estação pode estar relacionada com a queda da temperatura que possivelmente restringe a atividade física dos lagartos. Essas espécies provavelmente apresentariam uma dormência sazonal, como foi relatado para outras espécies de *Enyalius*. (GRANTS AU, 1966). Barreto-Lima et al. (2011) estudaram a correlação de disponibilidade de alimento,

temperatura ambiental para *E. perditus*, fazendo referência com aspectos reprodutivos e encontraram uma maior disponibilidade de presas durante a estação chuvosa, fêmeas reprodutivas e maior atividade dos lagartos assim que a temperatura ambiental aumentou.

Estudos com o gênero *Enyalius* ainda são bastante escassos principalmente quando se trata de reprodução. Apesar de termos obtidos dados inovadores nesse trabalho, novas amostras serão incluídas a fim de elucidar o ciclo reprodutivo de *Enyalius iheringii* e *Enyalius perditus*.

7 CONCLUSÕES

1- Foram descritos pela primeira vez registros de estocagem de espermatozoides em fêmeas para a Família Leiosauridae e para o gênero *Enyalius*.

2- *Enyalius iheringii* possui o ciclo mais estendido que *Enyalius perditus*, fato possivelmente favorecido pela estocagem de espermatozoides nas fêmeas.

3- Fêmeas de *Enyalius perditus* possuem o ciclo reprodutivo acíclico e provavelmente sincronizado e altamente sazonal, concentrado na estação chuvosa.

REFERÊNCIAS

- BARRETO-LIMA, A. F.; PIRES, E. O.; SOUSA, B. M. Activity, foraging mode and microhabitat use of *Enyalius perditus* (Squamata) in a disturbed Atlantic rainforest in southeastern Brazil. **Salamandra**, v. 49, p. 177-185, 2013.
- BARRETO-LIMA, A. F.; SOUSA, B. M. Court and copulation behaviors of *Enyalius perditus* Jackson, 1978 (Squamata, Leiosauridae) in captivity conditions, **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 8, p. 193-197, 2006.
- BÉRNILS, R. S.; COSTA, H. C. **Répteis brasileiros**: lista de espécie. Versão 2012.2. Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2012. Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br>>. Acesso em: 14 fev. 2016
- BLACKBURN, E. G. Structure, Function, and evolution of the oviducts of squamate reptiles, with special reference to viviparity and placentation. **Journal of Experimental Zoology**, v. 282, p. 560–617, 1998.
- BIRKHEAD, T. R. MØLLER, A. P. Sexual selection and temporal separation of reproductive events: sperm storage data from reptiles, birds and mammals. **Biological Journal of the Linnean Society**, 50: 295–311, 1993.
- CALSBEEK, R.; BONNEAUD, C.; PRABHU, S.; MANOUKIS, N.; SMITH, T. B. Multiple paternity and sperm storage lead to increased genetic diversity in the lizard, *Anolis*. **Evolutionary Ecology Research**, v. 9, p. 495–503, 2007.
- CREWS, D.; GANS, C. The interaction of hormones, brain, and behavior: an emerging discipline in herpetology. In: GANS, C.; CREWS, D. (Ed.). **Biology of the reptilian**. Chicago, Illinois: The University of Chicago Press, 1992. p. 1–23.
- CUELLAR, O. Oviductal anatomy and sperm storage structures in lizards. **Journal of Morphology**, v. 119, p. 7–19, 1996.
- DU, W.; JI, X.; SHINE, R. Does body volume constrain reproductive output in lizards? **Biology Letters**, v. 1, p. 98–100, 2005.
- ECKSTUT, M. E.; SEVER, D. M.; WHITE, M. E.; CROTHER, B. I. Phylogenetic analysis of sperm storage in female squamates. In: DAHNOF, L. T. **Animal reproduction**: new research developments. New York: Nova Science Publishers, 2009. p. 1-34.
- FERREIRA, A. A.; SILVA, D. N. A.; VAN SLUYS, M. B.; DOLDER, H. C. Seasonal changes in testicular and epididymal histology of the tropical lizard, *Tropidurus itambere* (Rodrigues, 1987), during its reproductive cycle. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 2, p. 429-435, 2009.
- FITCH, H. S. Reproductive cycles of lizards and snakes. University of Kansas **Publications of Museum of Natural History, Miscelanean Publications**, v. 52, p. 1–247, 1970

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

GIST, D. H.; CONGDON, J. D. Oviductal sperm storage as a reproductive tactic of turtles. **Journal of Experimental Zoology**, v. 282, p. 526-534, 1998.

GOLDBERG, S. R. Reproductive cycle of the ovoviviparous iguanid Lizard *Sceloporus jarrovi*. **Herpetologica**, v. 27, n. 2, p. 123-131, 1971.

GRANTSAU, R. *Enyalius catenatus*, das Brasilianische "Cameleon". **Aquarien Terrarien Zeitschrift**, v. 19, p. 217-219, 1966.

GRIBBINS K. M.; GIST D. H. Cytological evaluation of spermatogenesis within the germinal epithelium of the male european Wall Lizard, *Podarcis muralis*. **Journal of Morphology**, v. 258, p. 296–306, 2003.

GRIBBINS, K. M. Reptilian spermatogenesis: a histological and ultrastructural perspective. **Spermatogenesis**, v. 1, p. 250–269, 2011.

HOFFMAN, L. H.; WIMSATT, W. A. Histochemical and electron microscopic observations on the sperm receptacles in the garter snake oviduct. **American Journal of Anatomy**, v. 134, p. 71-96, 1972.

JACKSON, J. F. Differentiation in the genera *Enyalius* and *Strobilurus* (Iguanidae): implications for Pleistocene climatic changes in eastern Brazil. **Arquivos de Zoologia**, v. 30, p. 1-79, 1978.

KAST, J. Prolonged sperm storage in the Asian wáter dragon *Physignathus cocincinus*. **Herpetological Review**, 38, 172–173, 2007

LAPPIN, A. K.; HUSAK, F. J. Weapon performance, not size, determines mating success and potential reproductive output in the collared lizard (*Crotaphytus collaris*). **The American Naturalist**, v. 166. n. 3, p. 426-436, 2005.

LIOU, N. **História natural de duas espécies simpátricas de Enyalius (Squamata, Leiosauridae) na Mata Atlântica do sudeste brasileiro**. 2008. 107 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MATHIES, T. Reproductive cycles of tropical snakes. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. **Reproductive biology and filogeny of snakes**. Missuori: Enfield Science Publishers, 2011. p. 511-548.

MÉNDEZ-DE LA CRUZ, F. R.; MANRÍQUEZ, N. L. M.; RÍOS, E. A.; IBARGÜENGOYTÍA, N. Male reproductive cycles in lizards. In: RHEUBERT, J. L.; SIEGEL, D. S.; TRAUTH, S. T. (Ed.). **Reproductive biology and phylogeny of Lizard and Tuatara**. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, 2015. cap. 10, p. 302-339.

MIGLIORE, S. N.; BRAZ, H. B.; ALEMIDA-SANTOS, S. M. Reproductive aspects of two *Enyalius* lizards from the Atlantic forest in Southeastern Brazil. **Herpetology Notes**, v. 7, p. 273-276, 2014.

MIGLIORE, S. N.; BARRETO-LIMA, A. *Enyalius iheringii* (Ihering's Fat-headed Anole).DIET. **Herpetological Review**, v. 47, n. 2, p. 297-298, 2016.

MOREIRA, P. L.; BIRKHEAD, T. R. Copulatory plugs in the Iberian Rock Lizard do not prevent insemination by rival males. **Functional Ecology**, v. 17, p. 796–802, 2003.

OLSSON, M. MADSEN, T.; SHINE, R. Is sperm really so cheap? Costs of reproduction in male adders, *Vipera berus*. **Proceedings of the Royal Society of London**, (B) 264: 455–459, 1997.

PRASAD, M. R. N.; SANYAL, M. K. Effect of sex hormones on the sexual segment of kidney and other accessory reproductive organs of the Indian house lizard *Hemidactylus flaviviridis* Ruppell. **General and Comparative Endocrinology**, v. 12, p. 110–118, 1969.

RAUTENBERG, R.; LAPS, R. R. Natural history of the lizard *Enyalius iheringii* (Squamata, Leiosauridae) in southern Brazilian Atlantic forest. **Iheringia Série Zoologia**, v. 100, p. 287-290, 2010.

RODRIGUES, M. T.; FREITAS, M. A.; SILVA, T. F. S.; BERTOLOTTI, C. E. V. A new species of lizard genus *Enyalius* (Squamata, Leiosauridae) from the highlands of Chapada Diamantina, state of Bahia, Brazil, with a key to species. **Phyllomedusa**, v. 5, p. 11-24, 2006.

ROSE, B. Food intake and reproduction in *Anolis acutus*. **Copeia**, 322-330, 1982

SALES, R. F. D.; RIBEIRO, L. B.; FREIRE, E. M. X. New record and update on the geographic distribution of *Enyalius bilineatus* Duméril & Bibron, 1837 (Squamata: Leiosauridae). **Check List the Journal of Biodiversity Data**, v. 11, n. 6, p. 1785, 2015.

SANYAL, M. K.; PRASAD, M. R. N. Sexual segment of the kidney of the indian house lizard, *hemidactylus flaviviridis*. **Journal of Morphology**, v.118, p. 511–527, 1966.

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

SEVER, D. M.; HOPKINS, A. D. Renal sexual segment of the ground skink, *Scincella laterale* (Reptilia, Squamata, Scincidae). **Journal of Morphology**, v. 266, n. 1, p. 46-59, 2005.

SHINE, R. The evolution of large body size in females: a critique of darwin's "fecundity advantage" model. **The American Naturalist**, v 1, p. 124-131, 1988.

SHORTHOUSE, D. P. Simple mappr, an online tool to produce publication-quality point maps. Disponível em: <<http://www.simplemappr.net>>. Acesso em: 2016.

TEIXEIRA, R. L.; ROLDI, K.; VRCIBRADIC, D. Ecological Comparisons between the Sympatric Lizards *Enyalius bilineatus* and *Enyalius brasiliensis* (Iguanidae,

Leiosaurinae) from an Atlantic Rain-Forest Area in Southeastern Brazil. **Journal of Herpetology**, v. 39, n. 3, p. 504-509, 2005.

TELFORD JR, Sam R. Seasonal fluctuations in liver and fat body weights of the Japanese lacertid *Takydromus tachydromoides* Schlegel. **Copeia**, , 681-688, 1970

ULLER, T.; SCHWARTZ, T.; KOGLIN, T.; OLSSON, M. Sperm storage and sperm competition across ovarian cycles in the dragon lizard, *Ctenophorus fordi*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 319A, p. 404–408, 2013.

URIBE, M. C. A.; VELASCO, L. J.; GUILLETTE JR, E. E. F. Oviduct Histology of the lizard, *Ctenosaura pectinata*. **Copeia**, v. 4, p. 1035-1042, 1998.

VAN SLUYS, M.; FERREIRA, V. M.; ROCHA, C. F. D. Natural history of the lizard *Enyalius brasiliensis* (Lesson, 1828) (Leiosauridae) from an Atlantic forest of southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, p. 353-356, 2004.

VIEIRA, G. H .C. Seasonal changes in testicular and epididymal histology of the tropical lizard, *Tropidurus itambere* (Rodrigues, 1987), during its reproductive cycle. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 2, p. 429-435, 2009.

VIEIRA, G. H. C.; WIEDERHECKER, H. C.; COLLI, G. R.; BÁO, S. N. Spermiogenesis and testicular cycle of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) in the Cerrado of central Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v. 22, p. 217-233, 2001.

WEN-SAN, H. Ecology and reproductive patterns of the agamid lizard *Japalura swinhonis* on an East Asian Island, with comments on the small clutch sizes of island lizards. **Zoological Science**, v. 24, p. 81–188, 2007.

ANEXOS

ANEXO A – SUBMETIDO À REVISTA ACTA HERPETOLOGICA

Reproductive timing and fecundity in females of the lizard *Enyalius perditus* (Squamata: Leiosauridae)

SERENA N. MIGLIORE^{1,2,*}, HENRIQUE B. BRAZ^{2,3}; ANDRÉ F. BARRETO-LIMA⁴,
SELMA M. ALMEIDA-SANTOS^{1,2}

¹ *Setor de Anatomia, Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade São Paulo, Av. Orlando Marques de Paiva 87, 05508-270 Cidade Universitária, São Paulo, SP, Brazil*

² *Laboratório de Ecologia e Evolução, Instituto Butantan - Av. Dr. Vital Brazil, 1500 Butantã, São Paulo - SP, Brazil, CEP 05503-900*

³ *School of Life and Environmental Sciences, Heydon-Laurence Building, A08, University of Sydney, NSW, 2006, Australia*

⁴ *Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Campus Darci Ribeiro, Universidade de Brasília - DF, Brazil, CEP 70910-900*

* *Corresponding author. E-mail: serena_891@hotmail.com*

Abstract. *Enyalius perditus* is a semi-arboreal lizard species whose reproduction is poorly known. Here, we combine information obtained from preserved and live specimens to describe the reproductive timing (vitellogenesis, gravidity, and egg-laying) and fecundity (clutch size, egg size, and relative clutch mass) in females of *E. perditus*.

Female reproduction is remarkably seasonal and occurs in the warmer and wetter periods of the year. Secondary vitellogenesis occurs from mid to late spring, gravidity and egg-laying occur in early summer. Mating appears to be synchronized with secondary vitellogenesis, indicating an associated reproductive cycle. We suggest that females of *E. perditus* produce only a single clutch per reproductive season. Clutch size ranged from 3 to 11 eggs and was positively correlated with female body size. RCM is high, a recurrent feature in sit-and-wait foragers.

Keywords. Reproductive biology; reproductive cycle; clutch size.

Reproduction is a crucial factor regarding species maintenance since it is related to different life-history traits, behavior, and physiology of the studied taxa. Despite the recent increase in the number of studies on the reproduction of Neotropical lizards (e.g., Balestrin et al., 2010; Ferreira et al., 2009; Vieira et al., 2001), the knowledge about the reproductive biology of several species is still scarce. The genus *Enyalius* is composed of 10 species of insectivorous, diurnal, and arboreal or semi-arboreal lizards (Jackson, 1978; Vitt et al., 1996; Zamprogno et al., 2001; Van Sluys et al., 2004; Rodrigues et al., 2006; Rautenberg and Laps, 2010; Sturaro and Silva, 2010; Barreto-Lima and Sousa, 2011; Barreto-Lima et al., 2013; Uetz et al., 2016). Species of *Enyalius* are mostly distributed in Atlantic Forest areas but some species may also occur in the Amazon forest, forest galleries in Cerrado, and isolated forested areas in Caatinga (Barreto-Lima, 2012, Jackson 1978).

Enyalius perditus is commonly found in Atlantic forest areas in southeastern Brazil, where it may occur in sympatry with *E. brasiliensis*, *E. iheringii*, and *E. bilineatus* (Jackson, 1978; Barreto-Lima, 2012). Many studies have addressed several aspects of the natural history of the species, including feeding ecology, activity patterns, microhabitat use, sexual dimorphism, and behavior (Barreto-Lima and Sousa, 2006, 2011, Sturaro and Silva, 2010; Gomides and Sousa, 2011;

Barreto-Lima et al., 2013; Migliore et al., 2014). Migliore et al. (2014) summarized the reproductive information available for *E. perditus* and found that published data are limited to punctual observations on clutch size, courtship and mating behavior, and timing of mating and gravidity. This limited information impairs both an overview on the reproduction of the species and broad comparisons across other species. To fill this gap, we combine information obtained from both museum and live specimens to describe the reproductive timing (vitellogenesis, gravidity, and egg-laying) and fecundity (clutch size, egg size, and relative clutch mass) in females of *E. perditus*.

We analyzed 35 sexually mature females of *E. perditus* housed in six scientific collections from Brazil (Appendix 1). Females were considered sexually mature if they contained vitellogenic follicles, oviductal eggs or folded oviducts. The specimens were mostly collected in the Atlantic forest domain in southeastern Brazil (Appendix 1). For each individual, we recorded the (1) snout-vent length (SVL) to the nearest 1 mm, (2) number of ovarian follicles or eggs, (3) diameter of the largest ovarian follicle, and (4) length and width of oviductal eggs. Additional observations on body sizes, egg-laying, egg size, and clutch size were obtained from two gravid females collected in the Biological Reserve of Boracéia (permit number: SISBIO - 47011-4), São Paulo state, on 8 December 2015. These females were kept in terraria containing branches and leaf litter and allowed to oviposit naturally. Procedures for egg measurements and incubation were the same as those described in Migliore et al. (2014). All laboratory procedures were approved by the Butantan Institute Animal Ethics Committee (approval number 3491021015).

We determined the timing of secondary vitellogenesis using a scatterplot of the diameter of the largest ovarian follicle (Almeida-Santos et al. 2014). Relative clutch mass (RCM) was calculated by dividing the total clutch mass by maternal body mass after oviposition + total clutch mass (Vitt and Price, 1982). We used simple linear regression to determine the relationship between maternal SVL and clutch size (both log-transformed; King, 2000) and significance was assumed at $P \leq 0.05$. Mean values are followed by \pm standard deviation.

Table 1. Morphometrics of two clutches of *Eryalius perditus* from Biological Reserve of Boracéia, São Paulo state, Brazil. RCM: Relative clutch mass.

Individual	Date laid	Clutch size	Female mass ¹ (g)	Total clutch mass (g)	RCM ²	Egg length (mm)	Egg width (mm)	Egg mass (g)
Female 1	26 Dec 2015	8	12.3	6.91	0.36	16.71 ± 0.28	9.58 ± 0.12	0.86 ± 0.02
Female 2	1 Jan 2016	6	11.4	4.28	0.27	16.09 ± 0.43	8.66 ± 0.26	0.71 ± 0.01

¹Post partition mass

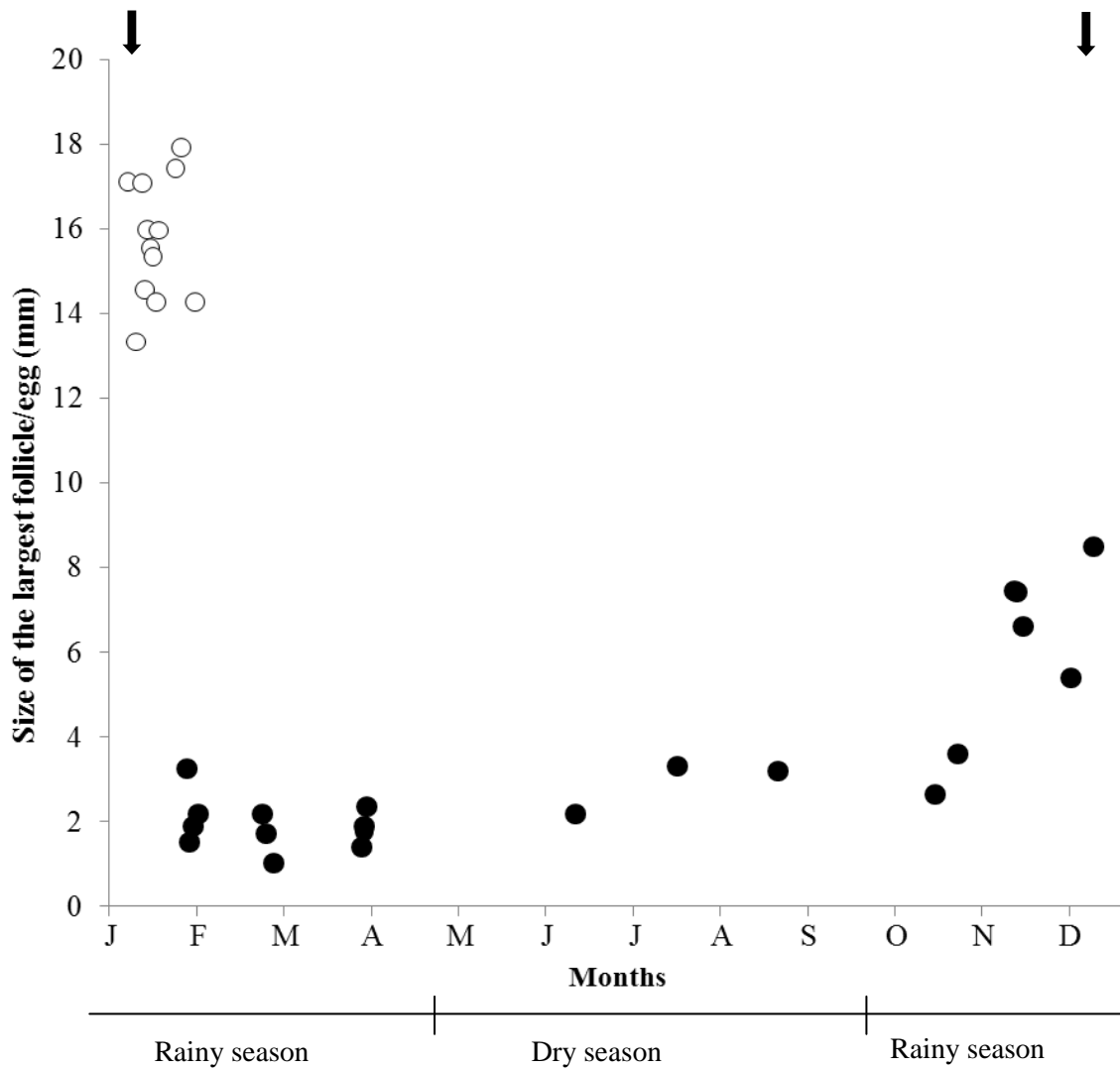
²RCM was calculated by dividing the total clutch mass by maternal body mass after oviposition + total clutch mass (Vitt and Price, 1982).

¹Post partition mass

²RCM was calculated by dividing the total clutch mass by maternal body mass after oviposition + total clutch mass (Vitt and Price, 1982).

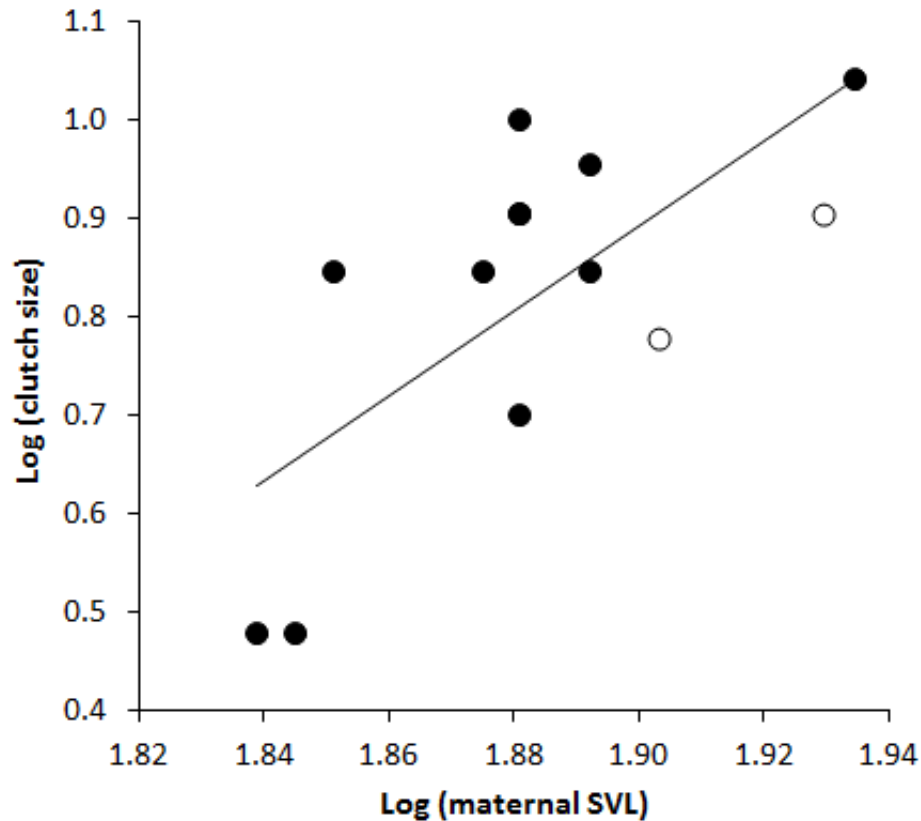
Body sizes of females of *E. perditus* ranged from 58 to 91 mm (mean = 74.7 ± 7.8 mm; n = 36). Females with follicles in primary vitellogenesis were found throughout the year (Figura 1). Females in secondary vitellogenesis were observed from mid to late spring (November-December; Figura 1). Gravid females (n = 12) were observed in early-summer (January; Figura 1). No female contained follicles in secondary vitellogenesis simultaneously with oviductal eggs. Egg-laying was recorded in early summer (Table 1). The two wild-caught females laid eight and six eggs each on 26 December 2015 and 1 January 2016, respectively (Figura 1). All eggs spoiled over incubation due to fungal contamination. Clutch size (including preserved and captive specimens) averaged 7.1 ± 2.4 eggs (range: 3–11 eggs; n = 13 clutches). Clutch size was positively correlated with maternal SVL (r = 0.70; n = 13; P = 0.008; Figura 2). Egg length in all gravid females averaged 15.45 ± 1.36 mm (range: 12.45-17.80 mm; n = 92 eggs from 13 females) and egg width averaged 8.15 ± 0.56 mm (range: 7.38-9.58 mm; n = 92 eggs from 13 females). RCM for the two wild-caught females that laid eggs in captivity was 0.27 and 0.36.

Figure 1. Reproductive timing in females of *Enyalius perditus*.



Legend: The graph shows the seasonal variation in the diameter of the largest ovarian follicle or oviductal egg and the timing of egg-laying. Closed circle: ovarian follicles; open circle: oviductal eggs; arrows: egg-laying.

Figure. 2. Relationship between maternal snout-vent length and clutch size (both log transformed) in *Enyalius perditus*.



Legend: 2. Closed circles: data from preserved specimens; open circles: data from freshly laid clutches.

Reproductive timing in females of *E. perditus* is remarkably seasonal, with secondary vitellogenesis, gravidity, and egg-laying occurring within three months, from November to January (see also Sturaro and Silva, 2010; Barreto-Lima and Sousa, 2011 for additional records of vitellogenesis and gravidity). Therefore, reproductive timing in female *E. perditus* is directly related to the warmer and wetter periods of the year. Reproductive information for other species of *Enyalius* is rather limited. However, the reproductive timing in *E. perditus* appears to be more restricted than in other *Enyalius* from the Atlantic forest (Marques and Sazima, 2004; Teixeira et al. 2005; Rautenberg and Laps, 2011; Migliore et al., 2014). This short reproductive season in females of *E. perditus* suggests that females produce only a

single clutch per reproductive season. Indeed, this suggestion is corroborated by the absence of females containing follicles in secondary vitellogenesis simultaneously with oviductal eggs (Almeida-Santos et al., 2014).

Associated reproductive cycles are common in lizards and consist of reproductive events in males and females (i.e., sperm production, mating, and ovulation) occurring at the same period (Crews and Gans, 1992; Méndez-de la Cruz et al., 2014). Courtship and mating in *E. perditus* have been reported in spring (November-December: Barreto-Lima and Sousa, 2006; Migliore et al., 2014) and thus are synchronized with the timing of secondary vitellogenesis and ovulation. This suggests that *E. perditus* exhibits associated reproductive cycles. However, histological investigations of the reproductive cycle of males of *E. perditus* are required to confirm if the species exhibits associated reproductive cycles.

Mean clutch size in *E. perditus* is low relative to at least three other congeneric (14.0 eggs in *E. iheringii*: Rautenberg and Laps, 2010; Migliore et al., 2014; 12.3 eggs in *E. leechi*: Vitt et al., 1996; and 11.5 eggs in *E. brasiliensis*: Teixeira et al., 2005) but high relative to another congeneric (4.4 eggs in *E. bilineatus*: Teixeira et al., 2005). These differences might be explained by interspecific differences in mean body size since all *Enyalius* species exhibiting higher clutch size than *E. perditus* also exhibit larger body sizes (see Rand, 1982; Vitt et al., 1996; Teixeira et al., 2005; Rautenberg and Laps, 2010). This idea is corroborated by our finding that clutch size in *E. perditus* increased with maternal SVL, as observed in other *Enyalius* species (Teixeira et al., 2005; but see Vitt et al., 1996) and in many lizards with variable clutch size (Fitch, 1970; Tinkle et al., 1970).

Apart from the values presented here for *E. perditus*, data on RCM is available only for a single individual of *E. iheringii* (RCM = 0.38; Migliore et al., 2014). In lizards, RCM tends to be relatively low in actively forager species and relatively high in “sit-and-wait” foragers (Vitt and Price, 1982). Females of *Enyalius* species appears to be “sit-and-wait” foragers (Sousa and Cruz, 2008; Borges et al., 2013) and move shorter distances than males (Barreto-Lima et al., 2013). The RCM values observed for *E. perditus* and *E. iheringii* (Migliore et al., 2014; present study) are relatively high and closer to those observed in “sit-and-wait” foragers (Vitt and Price, 1982) and thus congruent with such association.

Acknowledgments

We thank G. Puerto, P. R. Manzani, J. C. Moura-Leite, M. R. S. Pires, R. N. Feio, and V. Silva for allowing access to specimens under their care, M. T. Rodrigues for providing some specimens, M. Teixeira-Junior for assistance in field work. We also thank P. Monteiro, N. Torello-Vieira and K. Banci for criticism on an earlier draft. CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) provided financial support to S.N. Migliore.

References

- Almeida-Santos, S.M., Braz, H.B., Santos, L.C., Sueiro, L.R., Barros, V.A., Rojas, C.A. and Kasperoviczus, K.N. (2014): Biologia reprodutiva de serpentes: recomendações para a coleta e análise de dados. *Herpetol. Brasil.* 3: 14-24.
- Balestrin, R.L., Cappellari, L.H., Outeiral, A.B. (2010): Biologia reprodutiva de *Cercosaura schreibersii* (Squamata, Gymnophthalmidae) e *Cnemidophorus lacertoides* (Squamata, Teiidae) no Escudo Sul-Riograndense, Brasil. *Biota Neotrop.* 10: 131-139.
- Barreto-Lima, A.F., Sousa, B.M. (2006): Court and copulation behaviors of *Enyalius perditus* Jackson, 1978 (Squamata, Leiosauridae) in captivity conditions. *Rev. Brasil. de Zool.* 8: 193-197.
- Barreto-Lima, A.F., Pires, E.O., Sousa, B.M. (2013): Activity, foraging mode and microhabitat use of *Enyalius perditus* (Squamata) in a disturbed Atlantic rainforest in southeastern Brazil. *Salamandra.* 49, 177-185.
- Barreto-Lima, A.F., Sousa, B.M. (2011): Feeding ecology and sexual dimorphism of *Enyalius perditus* in an Atlantic forest, Brazil. *Herpetol. Bul.* 118: 1-9.
- Borges, V.S., Pires, R.C., Linares, A.M., Eterovick, P.C. (2013): Diet of *Enyalius bilineatus* (Leiosauridae: Squamata) at a site in southeastern Brazil: effects of phylogeny and prey availability. *J. of Nat. Hist.* 47: 2785-2794.
- Crews, D., Gans, C. (1992): The interaction of hormones, brain, and behavior: An emerging discipline in herpetology. In *Biology of the Reptilia* 18, pp. 1–23. Gans, C., D. Crews Eds. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- Ferreira, A.A., Silva, D.N.A., Van Sluys, M.B., Dolder, H.C. (2009): Seasonal changes in testicular and epididymal histology of the tropical lizard, *Tropidurus itambere* (Rodrigues, 1987), during its reproductive cycle. *Brazil. J. of Biol.* 69 (2): 429-435.

Ford, B.F., Seigel, R.A. (1987): Reproductive Ecology. In: Ford, BF, Collins, TJ, Novak, S.S. Snake, Ecology and Evolutionary Ecology. New York. Macmillan Publishing Company; p.210-254.

Gribbins, K. M., Gist, D. H. (2003): Cytological Evaluation of Spermatogenesis Within the Germinal Epithelium of the Male European Wall Lizard, *Podarcis muralis*. J. of Morphol. 258: 296-306.

Grantsau, R. (1966): *Enyalius catenatus*, das Brasilianische "Cameleon". Aquarien Terrarien Zeitschrift 19: 217-219.

King, R.B. (2000): Analyzing the relationship between clutch size and female body size in reptiles. J. of Herpetol. 34, 148–150.

Leviton, A.E., Gibbs, Jr., R.H., Heal, E., Dawson, C.E. (1985): Standards in Herpetology and Ichthyology: Part I. Standard Symbolic Codes for Institutional Resource Collections in Herpetology and Ichthyology. Copeia 1985 (3): 802-832.

Méndez-de la Cruz, F. R., Manríquez N. L. M., Ríos, E. A., Iburgüengoytía N. (2014): Male Reproductive Cycles in Lizards in Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara Edited by Justin L. Rheubert, Dustin S. Siegel, and Stanley E. Trauth. Cap.10 pp 302-339.

Migliore, S.N., Braz, H.B., Almeida-Santos, S.M. (2014): Reproductive aspects of two *Enyalius* lizards from the Atlantic forest in Southeastern Brazil. Herpetol. Notes. 7: 273-276.

Rand, A.S. (1982): Clutch and egg size in Brazilian iguanid lizards. Herpetol. 38: 171-178.

Rautenberg, R., Laps, R.R. (2010): Natural history of the lizard *Enyalius iheringii* (Squamata, Leiosauridae) in southern Brazilian Atlantic forest. Iheringia S Zool. 100: 287-290.

Saint-Girons, H. (1982): Reproductive cycles of male snakes and their relationships with climate and female reproductive cycles. Herpetol. 38 (1): 5-16.

Sturaro, M.J., Silva, V.X. (2010): Natural history of the lizard *Enyalius perditus* (Squamata: Leiosauridae) from an Atlantic forest remnant in southeastern Brazil. J. of Nat. Hist. 44: 1225-1238.

Shine, R. (1980a): "Costs" of reproduction in reptiles. Oecologia 1980: 92-100.

Shine, R. (2003): Effects of pregnancy on locomotor performance: an experimental study on lizards. Oecol. 136 (3), 450-456.

Sousa, B.M., Cruz, C.A.G. (2008): Hábitos alimentares de *Enyalius perditus* (Squamata, Leiosauridae) no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. *Iheringia, S. Zool.* 98: 260-265.

Teixeira, R.L., Roldi, K., Vrcibradic, D. (2005): Ecological Comparisons between the Sympatric Lizards *Enyalius bilineatus* and *Enyalius brasiliensis* (Iguanidae, Leiosaurinae) from an Atlantic Rain-Forest Area in Southeastern Brazil. *J. of Herpetol.* 39 (3): 504-509.

Trivers, R. L. (1976): Sexual selection and resource-accruing abilities in *Anolis garmani*. *Evol.* 30: 253-269.

Van Sluys, M., Ferreira, V.M., Rocha, C.F.D. (2004): Natural history of the lizard *Enyalius brasiliensis* (Lesson, 1828) (Leiosauridae) from an Atlantic forest of southeastern Brazil. *Brazil. J. of Biol.* 64: 353-356.

Vieira, G. H .C., Wiederhecker, H. C., Colli, G. R. Bão, S. N. (2001): Spermiogenesis and testicular cycle of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) in the Cerrado of central Brazil. *Amphibia-Reptilia* 22: 217-233

Vitt, L.J., Price, H.J. (1982): Ecological and evolutionary determinants of relative clutch mass in lizards. *Herpetol.* 38: 237-255.

Vitt, L.J., Ávila-Pires, T.C.S., Zani, P.A. (1996): Observations on the ecology of the rare Amazonian lizard, *Enyalius leechii* (Polychrotidae). *Herpetol. Nat. Hist.* 4: 77-82.

Vitt, L.J., Price, H.J. (1982): Ecological and evolutionary determinants of relative clutch mass in lizards. *Herpetol.* 38: 237-255.

Winck, G., R., Rocha F. D C. (2012): Reproductive trends of Brazilian lizards (Reptilia, Squamata): the relationship between clutch size and body size in females. *North-western J. of Zool.* 8 (1): 57-62.

APÊNDICE

Appendix 1. List of museums and voucher specimens of *Enyalius perditus* examined in this study. As far as possible, we followed Leviton et al. (1985) for institutional abbreviations.

Collection (Abbreviation)	Voucher numbers
Instituto Butantan, São Paulo, Coleção de Referência (IBSPCR)	SÃO PAULO: São José do Barreiro (IBSPCR 407).
Museu de Zoologia, Universidade Estadual de Campinas (ZUEC)	SÃO PAULO: Ilhabela (ZUEC 2934, 2935, 2936, 2938, 2942), Ubatuba (ZUEC 1887).
Museu de Zoologia João Moojen (MZUFV) Coleção Herpetológica Alfred Russel Wallace (CHARW)	MINAS GERAIS: Lambari (MZUFV 633). MINAS GERAIS: Lambari (CHARW 94, 155, 158, 160, 161, 194, 289, 293, 296, 321), Alfenas (CHARW 322), Boa Esperança (CHARW 317).
Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)	MINAS GERAIS: Itatiaia, Serra de Ouro Branco (UFOP 939s, 968s, 976s, 978s, 993s, 995s, 996s, 997s, 1042s, 1062s, 1077s, 1087s).
Museu de História Natural Capão da Imbuia (MHNCI)	PARANÁ: Telêmaco Borba (MHNCI 3128, 12956, 12966).