

DÉBORAH FANTUZZI LUCAS

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DA SERPENTE FOSSORIAL *Elapomorphus quinquelineatus* (RADDI, 1820) (DIPSADIDAE, ELAPOMORPHINI) EM MINAS GERAIS, BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2019

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

L933b  
2019 Lucas, Déborah Fantuzzi, 1992-  
Biologia reprodutiva da serpente fossorial *Elapomorphus quinquelineatus* (Raddi, 1820) (Dipsadidae, Elapomorphini) em Minas Gerais, Brasil / Déborah Fantuzzi Lucas. – Viçosa, MG, 2019.

xiii, 26 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Renato Neves Feio.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 20-25.

1. Cobras. 2. Reprodução. 3. *Elapomorphus quinquelineatus*. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. II. Título.

CDD 22. ed. 597.96

DÉBORAH FANTUZZI LUCAS

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DA SERPENTE FOSSORIAL *Elapomorphus quinquelineatus* (RADDI, 1820) (DIPSADIDAE, ELAPOMORPHINI) EM MINAS GERAIS, BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 14 de março de 2019.



---

Sérgio Luis Pinto da Matta



---

Henrique Caldeira Costa



---

Renato Neves Feio  
(Orientador)

*Dedico este trabalho aos meus pais, Iracema  
Fantuzzi Lucas e José de Lima Lucas, por todo  
apoio, carinho e amor incondicional.*

*"O homem é a mais insana das espécies.  
Adora um Deus invisível e mata a natureza visível...  
Sem perceber que a natureza que ele mata é esse Deus invisível que ele adora."*

Hubert Reeves

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer toda minha família, em especial meus pais Iracema Fantuzzi Lucas e José de Lima Lucas, e meu irmão Davi. Sem o incentivo de vocês, jamais chegaria até aqui! Amo vocês infinitamente. Obrigada!

Agradeço ao meu companheiro Leonardo, por viver essa fase comigo, compartilhar sonhos e inseguranças e deixar tudo mais leve! Te amo.

Agradeço as minhas melhores amigas maravilhosas (Nádyá, Mirele, Larissa, Carla, Luana e Naira), que estão ao meu lado há tantos anos, sempre torcendo e festejando comigo a cada vitória, amo todas vocês.

Gostaria de agradecer ao meu orientador Renato e aos professores Sérgio e José Lino, por todos os ensinamentos, ajudas, conversas, orientações e por acreditarem em mim. Vocês foram fundamentais para o meu crescimento e amadurecimento.

Agradeço à Larissinha, pelo início na “jornada” de biologia reprodutiva, pela paciência em me ensinar e pela amizade.

Agradeço à minha “Chefa” Ana Luiza, por ser tão presente, me ajudar em tudo, me acalmar e me orientar. Muito obrigada!

Agradeço ao Henrique, que mesmo com todos os percalços, aceitou participar da minha banca e enriquecer o meu trabalho. Obrigada!

Agradeço ao melhor lugar da UFV: Museu de Zoologia João Moojen, por tudo que aprendi, pelos amigos lindos que fiz, e por todos momentos que passei lá. Um agradecimento especial aos amigos Jhonny, Filipe, Sofis, Adrielli, Rosado, Clodoaldo e Joaquim, que me ajudaram nas minhas dúvidas, desesperos, mapas, fotos, testes estatísticos e viagens. Muito obrigada!

Agradeço ao Laboratório de Biologia Celular e Estrutural, pelos equipamentos e materiais, por todos que me acolheram e me ajudaram em um “mundo novo”, Prof Serrão, Bete, Amanda e Diane.

Agradeço à Rafa (Butantan) por sanar todas as minhas dúvidas de biologia reprodutiva de serpentes, sempre estar disposta a me ajudar, enviar trabalhos, e por tornar tudo mais fácil.

Agradeço a todos os professores das instituições visitadas, por me receberem muito bem e por cederem os materiais utilizados no trabalho: Maria Rita e Paula

(UFOP), Bernadete (UFJF), Luciana (PUC-Minas), Giselle e Flávia (FUNED) e Paulo Garcia (UFMG).

Agradeço a todos os meus amigos da Biologia Animal e da Bio12, que de alguma forma me ajudaram neste trabalho ou tornaram tudo mais divertido!

Agradeço também à CAPES pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

**LISTA DE SIGLAS**<sub>x</sub>

**LISTA DE TABELAS**<sub>xi</sub>

**LISTA DE FIGURAS**<sub>xii</sub>

**RESUMO**<sub>xiii</sub>

**ABSTRACT**<sub>xv</sub>

**1. INTRODUÇÃO**<sub>1</sub>

**2. MATERIAL E MÉTODOS**<sub>2</sub>

**2.1. Coleta de dados**<sub>2</sub>

**2.2. Análises dos dados**<sub>4</sub>

**3. RESULTADOS**<sub>6</sub>

3.1. Maturidade sexual<sub>6</sub>

3.2. Recém-nascidos<sub>6</sub>

3.3. Dimorfismo sexual<sub>6</sub>

3.4. Biologia reprodutiva das fêmeas<sub>7</sub>

3.5. Biologia reprodutiva dos machos<sub>9</sub>

**4. DISCUSSÃO**<sub>13</sub>

**5. CONCLUSÃO**<sub>18</sub>

**6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**<sub>20</sub>

**ANEXOS**<sub>26</sub>

## LISTA DE SIGLAS

CRC: Comprimento rostro-cloacal

CC: Comprimento caudal

EV: Escamas ventrais

Sub-C: Escamas subcaudais

SSD: Sexual size dimorfism (Índice de dimorfismo sexual)

GLM: Generalised Linear Models (Modelo linear generalizado)

DP: Desvio padrão

CTe: Comprimento do testículo

VTe: Volume do testículo

MC: Massa corporal

MT: Massa testicular

MA: Massa da albugínea

MP: Massa do parênquima

IGS: Índice gonadossomático

VT: Volume tubular

VE: Volume epitélio germinativo

VP: Volume da túnica própria

VL: Volume do lúmen

ITS: Índice tubulossomático

IES: Índice epiteliossomático

DT: Diâmetro tubular

AE: Altura do epitélio

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1-** Dados morfológicos dos adultos de *E. quiquelineatus*.7

**Tabela 2-** Dados morfológicos e merísticos sobre as duas fêmeas gravídicas de *Elapomorphus quinquelineatus*.8

**Tabela 3-** Comprimento do maior folículo e a data de coleta das três fêmeas maduras de *E. quinquelineatus* encontradas estocando espermatozoides.9

**Tabela 4-** Comprimento rostro-cloacal, comprimento caudal, produção de espermatozoides, comprimento do testículo e data dos machos de *Elapomorphus quinquelineatus* submetidos à histologia dos testículos.10

**Tabela 5-** Parâmetros biométricos, corporal e testicular, e índice gonadossomático (IGS) de *Elapomorphus quinquelineatus*.11

**Tabela 6-** Densidade volumétrica, índices e volumetria dos elementos tubulares do testículo de *Elapomorphus quinquelineatus*.11

**Tabela 7-** Diâmetro, altura e comprimentos tubulares de *Elapomorphus quinquelineatus*.12

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1-** Mapa da distribuição geográfica dos indivíduos de *Elapomorphus quinquelienatus* utilizados no estudo.3

**Figura 2-** Variação sazonal do diâmetro do maior folículo ou ovo encontrado em fêmeas adultas de *Elapomorphus quinquelineatus*.8

**Figura 3-** Duas fêmeas grávidas de *E. quinquelineatus*, MZUFV1711 (A) e MZUFV1801 (B).9

**Figura 4-** A: Aparelho reprodutor feminino da espécie *Elapomorphus quinquelineatus*; B: Espermatozóides estocados no útero aglandular da fêmea MZUFV ; C: Aparelho reprodutor masculino de *E. quinquelineatus* e D: túbulo seminífero, (seta) intertúbulo, (\*) epitélio seminífero e (x) lumen.13

## RESUMO

LUCAS, Déborah Fantuzzi, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2019. **Biologia reprodutiva da serpente fossorial *Elapomorphus quinquelineatus* (Raddi, 1820) (Dipsadidae, Elapomorphini) em Minas Gerais, Brasil.** Orientador: Renato Neves Feio.

As análises das características reprodutivas dos ofídios são de extrema importância para a compreensão de sua ecologia e resolução de táticas de conservação de espécies vulneráveis ou ameaçadas de extinção. O estudo da biologia reprodutiva de serpentes inclui vários tópicos, entre eles os comportamentos reprodutivos, fecundidade, acasalamento, maturidade sexual, ciclos reprodutivos e dimorfismo sexual. *Elapomorphus quinquelineatus* é uma espécie da tribo Elapomorphini, endêmica da Mata Atlântica do Brasil, sendo escassos dados sobre sua reprodução. Assim, o objetivo principal do nosso trabalho foi estudar aspectos da biologia reprodutiva de *E. quinquelineatus* presente em coleções herpetológicas de instituições do estado de Minas Gerais. No presente estudo foram utilizados métodos de análise da biologia reprodutiva de 66 indivíduos da espécie *E. quinquelineatus* como medidas do comprimento rostro-cloacal (CRC) e comprimento caudal (CC) para análise de dimorfismo sexual; técnicas macroscópicas e microscópicas, como sexagem, análise de maturidade, histomorfometria dos túbulos seminíferos, estocagem de esperma no oviduto, espermatogênese, peso dos indivíduos e das gônadas, análise de ductos deferentes enovelados e testículos volumosos, presença de pregas no oviduto e folículos primários e/ou secundários, época de nascimento dos filhotes, contagem dos ovos/folículos para análise da fecundidade. Nas análises reprodutivas da espécie, a menor fêmea madura apresentou um CRC de 590 mm, já o menor macho adulto, um CRC de 226 mm. Quanto ao dimorfismo sexual, o CRC, CC e EV médio foi maior para as fêmeas, e o número médio das escamas subcaudais foi maior nos machos, sendo todos estes resultados estatisticamente significativos. Os folículos primários ocorrem quase o ano todo (exceto agosto e setembro), já os folículos secundários e ovos se desenvolvem nos meses de maio a julho (estação seca), sendo o ciclo reprodutivo classificado como sazonal. Os folículos em vitelogênese secundária mediam aproximadamente 6 mm de comprimento e o tamanho médio da ninhada foi de 13 ovos por fêmea. Os machos foram espermatogênicos durante os meses de janeiro,

março, abril, outubro e novembro (média do comprimento dos testículos foi 11,95 mm), e não espermatogênicos em abril e novembro (média do comprimento dos testículos foi 6,63 mm), sendo o ciclo reprodutivo classificado como acíclico. A massa corporal média dos machos foi 9,75g, sendo desta 0,048g do testículo, 0,010 da albugínea e 0,038 do parênquima. Os túbulos seminíferos apresentaram média de diâmetro, altura, comprimento tubular total e comprimento tubular /g de testículo de 211,13; 58,23; 13,64 e 174,38 respectivamente. O volume dos parâmetros tubulares foram VT=0,031ml; VE=0,028ml; VP=  $1,71 \times 10^{-3}$ ml; VL= $2,19 \times 10^{-3}$ ml; VTe=0,09ml, e a densidade volumétrica (%) foi: túbulo seminífero = 81,29; intertúbulo = 18,71; epitélio = 72,17 e lúmen = 5,45.

## ABSTRACT

LUCAS, Déborah Fantuzzi, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2019. **Reproductive biology the fossorial snake *Elapomorphus quinquelineatus* (Raddi, 1820) (Dipsadidae, Elapomorphini) from state Minas Gerais, Brazil.** Adviser: Renato Neves Feio.

The analyzes of the reproductive characteristics of snakes are extremely important for understanding their ecology and solving conservation tactics for species that are vulnerable or threatened with extinction. The study of the reproductive biology of snakes includes several topics, among them reproductive behaviors, fecundity, mating, sexual maturity, reproductive cycles and sexual dimorphism. *Elapomorphus quinquelineatus* is a species of the Elapomorphini tribe, endemic to the Brazilian Atlantic Forest, with few data on its reproduction. Thus, the main objective of our work was to study aspects of the reproductive biology of the species *E. quinquelineatus* present in herpetological collections of institutions of the state of Minas Gerais. In the present study, methods of analysis of the reproductive biology of 66 individuals of the species *E. quinquelineatus* were used as measures of snout-vent length (SLV) and tail length for analysis of sexual dimorphism; macroscopic and microscopic techniques, such as sexing, maturity analysis, histomorphometry of the seminiferous tubules, sperm storage in the oviduct, spermatogenesis, weight of individuals and gonads, analysis of endovenous ducts and bulky testes, presence of folds in the oviduct and primary follicles and / or secondary, recruitment time, egg / follicle count, and clutch size. In the reproductive analyzes of the species, the lowest mature female had a SLV of 590 mm, the lowest adult male, a SLV of 226 mm. As for sexual dimorphism, SLV and mean tail length were higher for females, and the number of ventral scales were higher for females, and subcaudal for males, both statistically significant. Primary follicles occur almost all year (except August and September), as secondary follicles and eggs develop in the months of May to July (dry season), being the reproductive cycle classified as seasonal. The follicles in secondary vitellogenesis were approximately 6 mm in length and the mean litter size was 13 eggs per female. Males were spermatogenic during the months of January, March, April, October and November (mean testicle length was 11.95 mm), and non-spermatogenic in April and November (mean testis length was 6.63 mm), reproductive cycle being classified as acyclic. The mean body mass of males was

9.75g, being 0.048g of testis, 0.010 of albuginea and 0.038 of parenchyma. The seminiferous tubules presented mean diameter, height, total tubular length and tubular length / g of testis of 211.13; 58.23; 13.64 and 174.38 respectively. The volume of the tubular parameters were  $V_T = 0.031$  ml;  $V_E = 0.028$ ml;  $V_P = 1.71 \times 10^{-3}$ ml;  $V_L = 2.19 \times 10^{-3}$ ml;  $V_{Te} = 0.09$  ml, and the volumetric density (%) was: seminiferous tubule = 81.29; intertubule = 18.71; epithelium = 72.17 and lumen = 5.45.

## 1. INTRODUÇÃO

Os estudos reprodutivos são fundamentais para a compreensão da biologia de qualquer espécie (Almeida-Santos et al., 2014). Recentemente, estudos realizados com espécimes depositados em coleções científicas foram fundamentais para o incremento do conhecimento sobre a biologia reprodutiva das serpentes do Brasil, estabelecendo um novo cenário onde é possível determinar novos padrões entre as serpentes neotropicais (Pizzatto e Marques, 2006).

Tópicos como maturidade sexual, fecundidade, dimorfismo sexual, ciclos reprodutivos, acasalamentos e comportamentos reprodutivos são frequentemente estudados para uma melhor compreensão da biologia reprodutiva, e conseqüentemente, da história natural dos ofídios (Shine, 2003; Shine e Bonnet, 2009). Tal entendimento é fundamental para elaboração de estratégias de conservação, compreensão da evolução destas espécies e também dos efeitos da fossorialidade na biologia reprodutiva. No que diz respeito às espécies de répteis fossoriais e semi-fossoriais, a ausência de dados é tão expressiva que torna inviável a determinação do real status de ameaça dessas espécies (Böhm et al., 2013). O alto número de espécies fossoriais deficientes de dados afeta diretamente a conservação destes táxons, uma vez que pode afetar a eficiência dos planos de conservação (Colli et al., 2016). Segundo um estudo amplo sobre conservação de Böhm et al. (2013), existe uma insuficiência de dados para a exatidão quanto às espécies de répteis fossoriais e semi-fossoriais ameaçadas no mundo.

O hábito de vida fossorial pode impor muitos desafios à morfologia e termorregulação (Pough, 1980; Shine, 1983) que pode acabar restringindo as oportunidades de alimentação, afetando, assim, a reprodução (Böhm et al., 2013).

Elapomorphini engloba 45 espécies de serpentes no Brasil, distribuídas em quatro gêneros: *Apostolepis*; *Coronelaps*; *Elapomorphus*; e *Phalotris* (Costa e Bérnils, 2018). Estas serpentes possuem ampla distribuição na América do Sul, presentes tanto em áreas florestais quanto abertas, incluindo todos os biomas brasileiros (IBGE, 2004). Por possuírem hábito fossorial, estes ofídios compartilham características como o crânio fortalecido, corpo cilíndrico, olhos reduzidos, cauda curta e o tamanho da cabeça sem distinção do corpo (Savitzky, 1983; Ferrarezzi, 1993; Harvey, 1999). Devido a tal hábito de vida, o número de indivíduos em coleções científicas é escasso (Harvey, 1999; Hofstadler-Deiques e Lema, 2005), conseqüentemente afetando o número de trabalhos relacionados a estas espécies.

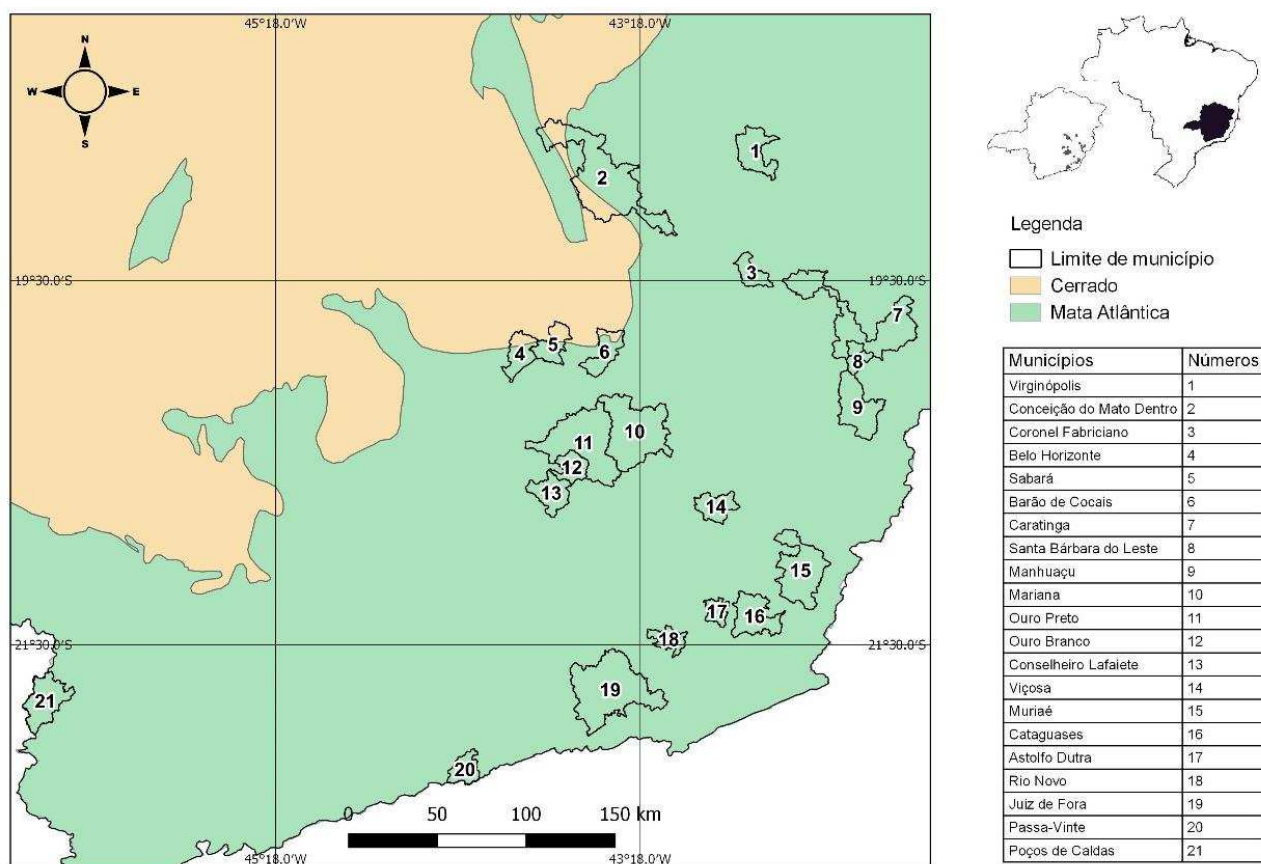
Quanto à reprodução, pouco se sabe até o momento, mas fêmeas vitelogênicas e a postura de ovos foram relatadas no final da primavera e início do verão, já o tamanho da ninhada varia de dois a oito ovos (Travaglia-Cardoso et al., 2001; Leynaud, 2003; Braz et al., 2009; Barbo et al., 2011).

*Elapomorphus quinquelineatus* é uma espécie endêmica da Mata Atlântica dos estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Bahia e Santa Catarina (Costa e Bérnils, 2018) e são escassos os estudos sobre sua biologia reprodutiva, principalmente relacionada à sazonalidade, sabe-se apenas, segundo Travaglia-Cardoso et al. (2001), que os filhotes nascem no fim da estação chuvosa e início da seca. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi apresentar dados reprodutivos sobre maturidade sexual, dimorfismo sexual, ciclos reprodutivos, fecundidade e descrição histomorfométrica testicular da espécie *E. quinquelineatus*, sendo o primeiro estudo reprodutivo aprofundado sobre este gênero e apenas o terceiro da tribo Elapomorphini, demonstrando de suma importância para a contribuição sobre a biologia de serpentes fossoriais.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Coleta de dados**

Neste estudo examinamos um total de 66 espécimes de *Elapomorphus quinquelineatus* encontradas em ambientes de floresta estacional semidecidual, em municípios do bioma Mata Atlântica e ecótono com o Cerrado (figura 1). Para a coleta dos dados, foram visitadas as coleções das instituições: Universidade Federal de Viçosa (UFV), Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-Minas), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e Fundação Ezequiel Dias (FUNED). Os espécimes analisados foram fixados em formol e estavam preservados em álcool 70%.



**Figura 1-** Mapa da distribuição geográfica dos indivíduos de *Elapomorphus quinquelienatus* utilizados no estudo.

Para cada serpente foram coletados os seguintes dados: peso, comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento caudal (CC) com o auxílio de uma fita métrica simples; contagem das escamas ventrais, subcaudais, dorsais (nas três regiões), infralabiais e supralabiais (Peters e Orejas-Miranda, 1986) para análise do dimorfismo sexual. Posteriormente, foi realizada uma incisão ventral para a coleta dos dados como o sexo; o maior diâmetro do folículo, ovo e testículos – mensurado em milímetros com o uso de paquímetro digital; números de ovos; condição dos testículos, ductos deferentes (como opaco e enovelado, respectivamente) e dos ovidutos (presença de pregas); peso dos testículos, albugínea e parênquima; e, por último, a retirada de tecido para análise histológica.

Nas fêmeas, foram coletados fragmentos do oviduto de 28 indivíduos com o CRC de 550 mm a 750 mm (100 mm a mais e a menos em torno da média de 650

mm). As regiões coletadas foram o infundíbulo posterior e o útero aglandular, segundo a classificação de Siegel et al. (2011), ambas para análises histológicas de estocagem de espermatozoides. Estes fragmentos foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, incluídos em 2-hidroxietil metacrilato (Historesin<sup>®</sup>, Leica), seccionados na espessura de 3 $\mu$ m, mantendo-se um intervalo de cinco cortes entre secções, e corados com Giemsa, para melhor visualização de espermatozoides. As preparações foram montadas com Entellan<sup>®</sup> (Siman et al., 2017).

Fragmentos do testículo direito de nove machos, destinados ao estudo em microscopia de luz, também seguiram os mesmos critérios, porém foram corados com azul de toluidina - borato de sódio 1% (Siman et al., 2017). Imagens dos túbulos seminíferos e das regiões do oviduto foram obtidas em microscópio Olympus AX-70. As imagens dos túbulos seminíferos foram analisadas utilizando-se o software de análise de imagens ImageJ e Image-Pro Plus.

## **2.2. Análises dos dados**

Foram considerados maduros os machos cujos testículos se encontravam opacos, ductos deferentes esbranquiçados e enovelados, e presença de espermatozoides nos túbulos seminíferos (Shine, 1977; Almeida-Santos et al., 2006). A maturidade nas fêmeas foi confirmada após a presença de folículos em vitelogênese secundária ou ovos e/ou espermatozoides estocados no oviduto. Todos os indivíduos com um CRC  $\leq$  195 mm foram considerados recém-nascidos de acordo com Travaglia-Cardoso (2001).

Para calcular o dimorfismo sexual da espécie, foi realizado um teste t-Student no programa estatístico R versão 3.3.2, com a normalidade e homogeneidade dos dados testados pelos testes Shapiro Wilk e Levene, respectivamente. Também foi

realizado o cálculo do índice do dimorfismo sexual (Sexual Size Dimorfism – SSD) representado pela média do CRC do sexo maior, dividido pela média do CRC do sexo menor subtraído 1, onde, um resultado positivo, indica que as fêmeas são maiores que os machos, e negativo, que os machos são maiores que as fêmeas (Shine, 1994). Os dados que não apresentarem distribuição normal foram analisados usando GLM (Generalised Linear Models), com distribuição *poisson* para eliminar o efeito da subdispersão presentes nestes dados.

A proporção volumétrica entre os elementos que compõem o parênquima testicular foi estimada a partir da contagem de 2.660 pontos por animal, utilizando-se retículo com 266 intersecções (pontos), em aumento de 200x, realizando-se a contagem de 10 campos aleatoriamente distribuídos nas preparações histológicas do testículo de cada animal. Foram anotados pontos sobre as estruturas do parênquima testicular, como túbulo seminífero, especificando-se aqueles sobre a túnica própria, o epitélio germinativo e lúmen, e sobre o intertúbulo. A proporção volumétrica tubular e dos componentes que compõe o túbulo foram calculadas utilizando-se a seguinte equação:  $\text{Proporção volumétrica (\%)} = (\text{NT} / \text{NTT}) \times 100$ , onde NT = Registro do número de pontos contados sobre o túbulo ou componente e NTT = Número de pontos totais contados.

O diâmetro tubular médio ( $\mu\text{m}$ ) por animal foi obtido a partir da mensuração, ao acaso, de 20 secções transversais de túbulos seminíferos que apresentavam contorno o mais circular possível, sem considerar o estágio do ciclo do epitélio seminífero. Nas mesmas secções utilizadas para se medir o diâmetro tubular foi mensurada a altura do epitélio germinativo ( $\mu\text{m}$ ) a partir da túnica própria até o lúmen tubular. O valor encontrado para a altura do epitélio, em cada túbulo, representou a média de duas medidas tomadas de forma diametralmente opostas.

### **3. RESULTADOS**

#### **3.1. Maturidade sexual**

O menor macho maduro examinado apresentou um CRC de 226 milímetros (tabela 1) e foi coletado no mês de janeiro. Através de análises histológicas e macroscópicas, foram verificados espermatozoides formados no lúmen dos túbulos seminíferos e ondulações no ducto deferente, respectivamente. A menor fêmea madura apresentou um CRC de 590 milímetros e espermatozoides estocados no útero aglandular, com data de coletada do mês de fevereiro.

#### **3.2. Recém-nascidos**

Foram examinados um total de sete espécimes recém-nascidas (CRC  $\leq$  195 mm), com CRC médio de  $180,5 \pm 1,24$ . O menor indivíduo encontrado apresentou um CRC de 159 milímetros e foi coletado em janeiro, os demais espécimes são de fevereiro (N=1), março (N=1), abril (N=1), maio (N=2) e junho (N=1). Demonstrando que os filhotes podem nascer tanto na estação seca quanto na estação chuvosa.

#### **3.3. Dimorfismo sexual**

O índice de dimorfismo do tamanho sexual (SSD) foi de 0,97. As fêmeas apresentaram um CRC e CC maior que os machos, e essa diferença foi estatisticamente significativa pelo teste T (CRC:  $t = 18,323$ , GL = 44,  $p < 0,01$ ; CC:  $t = 4,8053$ , GL = 44,  $p < 0,01$ ).

Quanto à foliose, as escamas dorsais foram 15-15-15, as infralabiais 8 e supralabiais 6, e não tiveram diferenças em relação ao sexo. Na tabela 1 podemos observar que a média das escamas ventrais foram maiores nas fêmeas ( $181,5 \pm 3,45$ ) (GLM = 19,143;  $p < 0,001$ ), e a média das escamas subcaudais foram maiores em machos ( $40,64 \pm 3,3$ ) ( $t = -12.603$ , GL = 44,  $p < 0,01$ ).

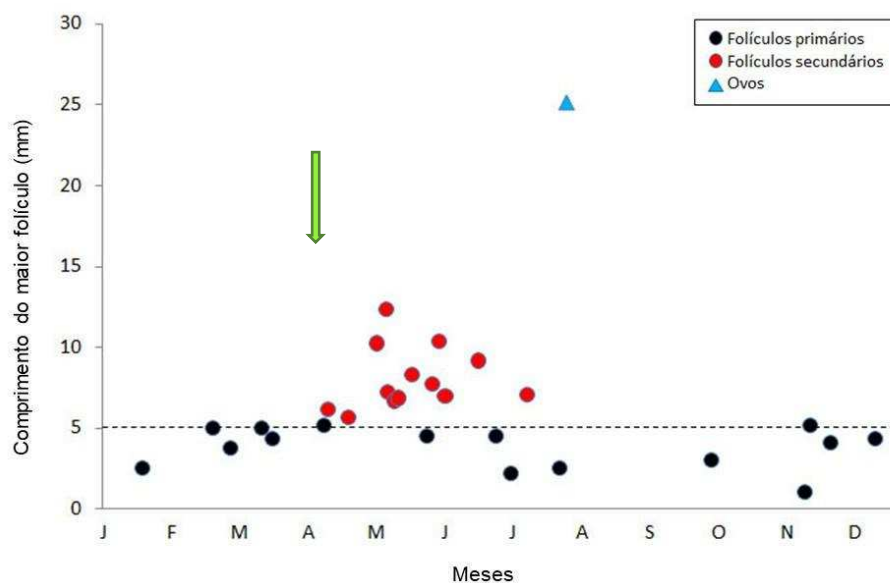
**Tabela 1-** Dados morfológicos dos adultos de *E. quiquelineatus*.

	Fêmeas		Machos	
	Média ± DP	Mín - Máx	Média ± DP	Mín - Máx
<b>CRC (mm)</b>	698 ± 6,65	590 - 898	325 ± 59,78	226 – 426
<b>CC (mm)</b>	67,5 ± 0,5	56 – 98	56 ± 0,57	39 – 78
<b>EV</b>	181,5 ± 3,45	178 - 188	168,21 ± 6,1	160 – 177
<b>Sub-C</b>	29,34 ± 2,5	24 – 36	40,64 ± 3,3	34 – 45

♀ n=32; ♂ n=14.

### 3.4. Biologia reprodutiva das fêmeas

O maior folículo de cada fêmea também foi analisado juntamente com a data de coleta dos indivíduos (figura 2), os folículos primários ocorrem quase o ano todo, não tendo relato apenas nos meses de agosto e setembro, já a vitelogênese secundária é sazonal, tendo início em abril, onde os folículos tem comprimento aproximado de 6 milímetros. Os folículos secundários e ovos se desenvolveram nos meses de abril a julho (estação seca). Uma das fêmeas prenha não tem registro de data de coleta, já a outra, foi encontrada grávida no mês de julho.



**Figura 2-** Variação sazonal do diâmetro do maior folículo ou ovo encontrado em fêmeas adultas de *Elapomorphus quinquelineatus*. Seta: início da vitelogênese secundária.

Quanto à fecundidade, o tamanho da ninhada para *E. quinquelineatus* apresentou média de  $13 \pm 2,82$  ovos ( $n = 2$ ). A primeira fêmea prenha tinha 11 ovos ( $23,32 \pm 5,28$ ) e a segunda fêmea, 15 ovos ( $15,35 \pm 3,70$ ) (tabela 2).

**Tabela 2-** Dados morfológicos e merísticos sobre as duas fêmeas grávidas de *Elapomorphus quinquelineatus*.

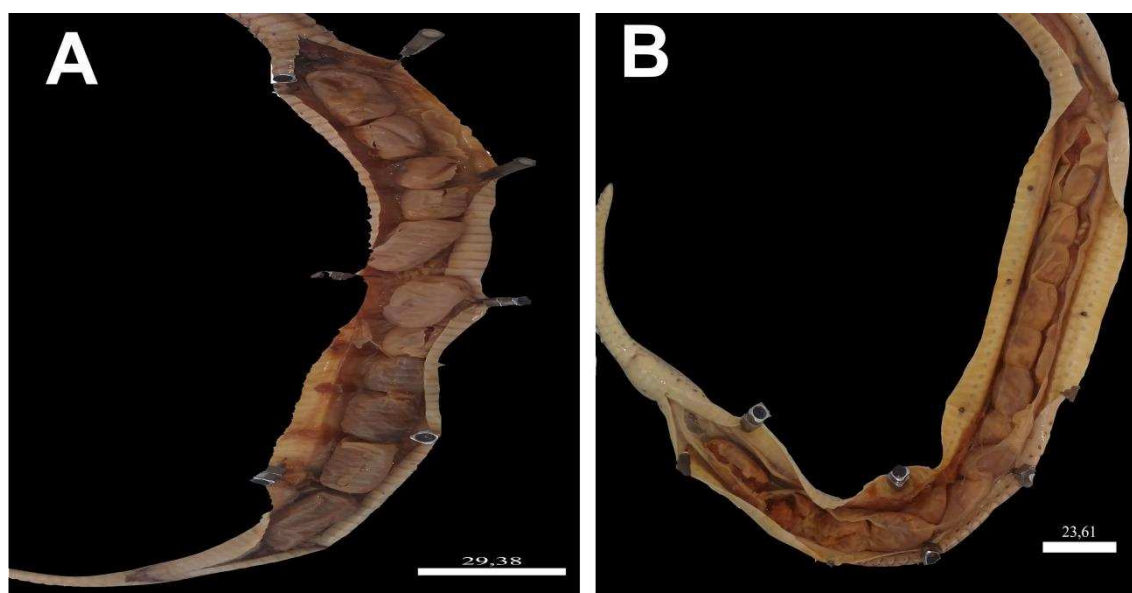
Nº	CRC (mm)	Número de ovos	Média $\pm$ DP
MZUFV1711	804	11	$23,32 \pm 5,28$
MZUFV1801	694	15	$15,35 \pm 3,70$

Foram encontradas três fêmeas ( $n=28$ ) com espermatozoides estocados no útero aglandular, coletadas nos meses de fevereiro, julho e dezembro (tabela 3). Uma fêmea (MZUFV179) apresentou folículos em vitelogênese secundária e estocagem de esperma, além disso, em julho também foi observado uma fêmea

gravídica (figura 2), sugerindo uma sincronia entre estocagem de esperma e prenhes, e também que a ovulação ocorre antes de julho.

**Tabela 3-** Comprimento do maior folículo e a data de coleta das três fêmeas maduras de *E. quinquelienatus* encontradas estocando espermatozoides.

Nº	>FOL (mm)	Estocagem esperma	Data de coleta
<b>MZUFV1051</b>	3,04	Sim	Fevereiro
<b>MZUFV179</b>	9,83	Sim	Julho
<b>MZUFV1630</b>	4,27	Sim	Dezembro



**Figura 3-** Duas fêmeas gravídicas de *E. quinquelineatus*, MZUFV1711 (A) e MZUFV1801 (B).

### 3.5. Biologia reprodutiva dos machos

Não foi encontrado um padrão quanto à produção de espermatozoides nos túbulos seminíferos e as estações do ano nos machos a nível populacional. A nível individual, os machos foram considerados acíclicos, pois houve pouca variação temporal na extensão da espermatogênese ao longo do ano (Mathies, 2011). Foram encontrados machos com inúmeros espermatozoides no lume tubular tanto na

estação seca quanto na chuvosa, além de machos espermatogênicos e não espermatogênicos nos meses de abril e novembro (tabela 4). O comprimento do testículo foi diferente para machos com produção de espermatozoides ( $11,95 \pm 5,87$ ) e sem produção de espermatozoides ( $6,63 \pm 0,10$ ).

Os machos foram classificados apenas como em “sim e não” com relação à espermatogênese, pois os indivíduos MZUFV1467 e 1570 (UFMG) não obtiveram padrões semelhantes à túbulos seminíferos quiescentes e recrudescentes para receberem tal classificação.

**Tabela 4-** Comprimento rostro-cloacal, comprimento caudal, produção de espermatozoides, comprimento do testículo e data dos machos de *Elapomorphus quinquelineatus* submetidos à histologia dos testículos.

<b>Nº</b>	<b>CRC (mm)</b>	<b>CC (mm)</b>	<b>Espermatogênese</b>	<b>CTe (mm)</b>	<b>Data da coleta</b>
<b>UFJF 1617</b>	364	65	Sim	1,8	Abril
<b>MZUFV 1476</b>	320	52	Sim	11,53	Novembro
<b>MZUFV 1467</b>	235	46	Não	6,71	Novembro
<b>MZUFV 1838</b>	364	66	Sim	18,92	Janeiro
<b>MZUFV 1465</b>	416	66	Sim	18,74	Janeiro
<b>MZUFV2225*</b>	226	39	Sim	10,42	Janeiro
<b>UFOP 297 S</b>	330	60	Sim	9,51	Outubro
<b>UFMG 2619</b>	301	60	Sim	12,73	Março
<b>UFMG 1570</b>	266	50	Não	6,56	Abril

N = 9; \* menor indivíduo produzindo espermatozoides.

Os parâmetros biométricos, corporal e testicular de *E. quinquelineatus*, estão dispostos na Tabela 5. A massa corporal (MC) foi de 13,90 g e a massa testicular (MT) atingiu 0,06 g, resultando em um IGS de 0,93%. A massa testicular líquida, correspondente à massa testicular menos a massa da albugínea, foi de 0,05 g.

**Tabela 5-** Parâmetros biométricos de *Elapomorphus quinquelineatus*.

Massa corporal (g)	9,75 ± 7,50
Massa testicular (g)	0,048 ± 0,040
Massa da albugínea (g)	0,010 ± 0,012
Massa do parênquima (g)	0,038 ± 0,036

Média ± desvio padrão; n = 4.

Os parâmetros volumétricos tubulares de *Elapomorphus quinquelineatus* encontram-se na tabela 6. O compartimento tubular corresponde a 81,29% do parênquima e, dentro deste, 72,17% equivalem ao epitélio, 5,45% ao lúmen e 3,67% à túnica própria. Dessa forma, os valores para volume tubular (VT), epitelial (VE), de túnica própria (VP) e de lúmen (VL) equivalem, respectivamente, a 0,031; 0,027;  $1,71 \times 10^{-3}$  e  $2,19 \times 10^{-3}$  mL. Com base nesses valores foi possível calcular os índices tubulossomático (31,41%) e epiteliossomático (18,49%).

**Tabela 6-** Densidade volumétrica e volumetria dos elementos tubulares do testículo de *Elapomorphus quinquelineatus*.

Túbulo seminífero (%)	81,29 ± 7,92
Intertúbulo (%)	18,71 ± 7,92
Epitélio (%)	72,17 ± 7,91
Túnica própria (%)	3,67 ± 1,45
Lúmen (%)	5,45 ± 3,75
Volume túbulo (ml)	0,03 ± 0,03
Volume epitélio (ml)	0,03 ± 0,03
Volume túnica (ml)	$1,71 \times 10^{-3} \pm 1,90 \times 10^{-3}$
Volume lúmen (ml)	$2,19 \times 10^{-3} \pm 1,65 \times 10^{-3}$
Volume testículos (ml)	0,09 ± 0,08

Média ± desvio padrão; n = 4.

Na Tabela 7 estão apresentados os dados morfométricos tubulares de *Elapomorphus quinquelineatus*. Os valores de diâmetro tubular (DT) e altura do epitélio (AE) foram de 211,13  $\mu\text{m}$  e 58,23  $\mu\text{m}$ , respectivamente. O comprimento tubular total foi de 13,64 m e o comprimento por grama de testículo, que permite comparações entre espécies diferentes, foi de 174,38 m.

**Tabela 7-** Morfometria dos aspectos tubulares de *Elapomorphus quinquelineatus*.

Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ )	211,13 $\pm$ 109,02
Altura do epitélio ( $\mu\text{m}$ )	58,23 $\pm$ 32,24
Comprimento tubular total (m)	13,64 $\pm$ 13,07
Comprimento tubular/g de testículo (m)	174,38 $\pm$ 93,55

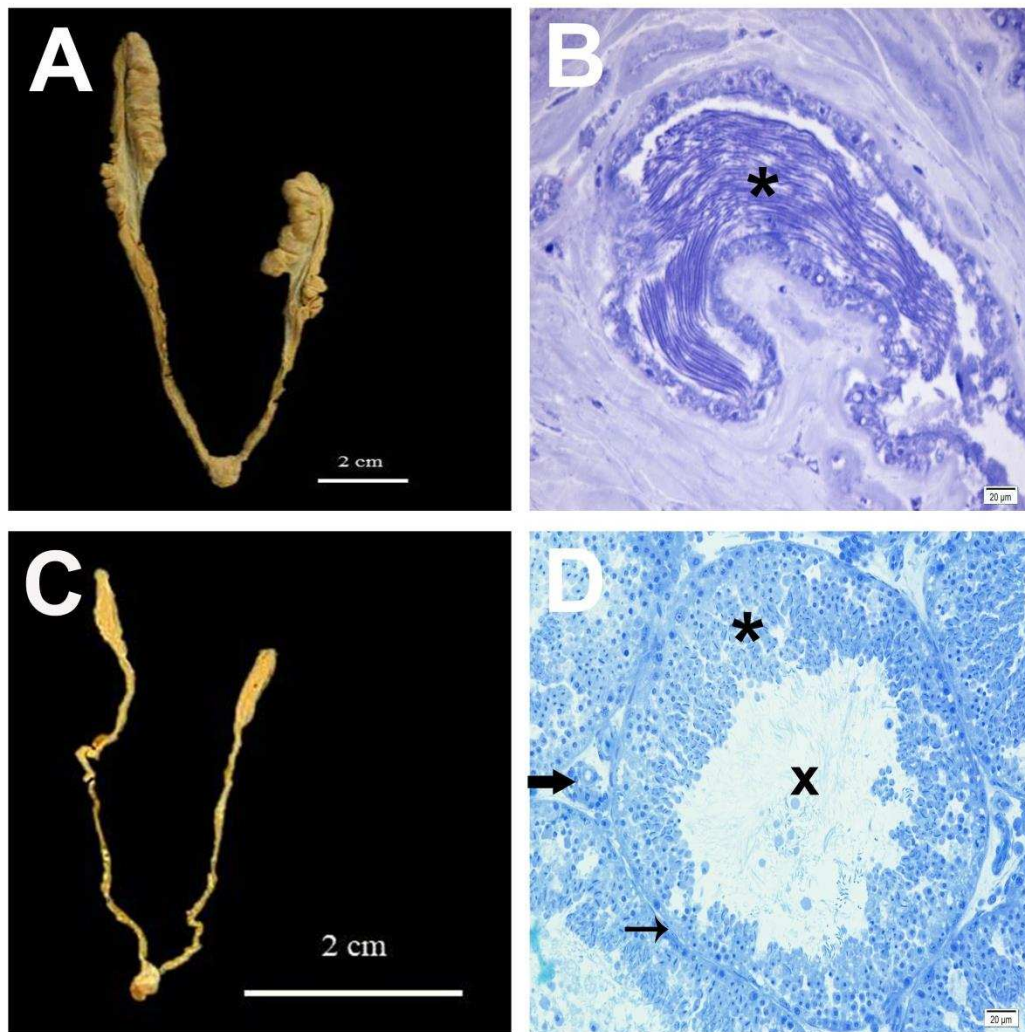
Média  $\pm$  desvio padrão; n = 4.

Com base nos valores de massa corporal, massa do testículo, massa do parênquima, porcentagem do túbulo e porcentagem do epitélio foi possível calcular os índices gonadossomático (0,93%), tubulossomático (31,41%) e epiteliossomático (18,49%), (tabela 8).

**Tabela 8-** Índices gonadossomático, tubulossomático e epiteliossomático da espécie *Elapomorphus quinquelineatus*.

IGS (%)	0,93 $\pm$ 0,21
ITS (%)	31,41 $\pm$ 15,8
IES (%)	18,49 $\pm$ 17,56

Média  $\pm$  desvio padrão; n = 4.



**Figura 4-** A: Aparelho reprodutor feminino da espécie *Elapomorphus quinquelineatus*; B: Região do útero aglandular da fêmea MZUFV 179 com espermatozoides estocados (\*); C: Aparelho reprodutor masculino de *E. quinquelineatus* e D: túbulo seminífero, (seta maior) intertúbulo, (seta menor) túnica própria, (\*) epitélio seminífero e (x) lúmen.

#### 4. DISCUSSÃO

Este foi o primeiro estudo detalhado sobre a biologia reprodutiva da espécie *Elapomorphus quinquelineatus*, incluindo uma descrição histomorfométrica dos túbulos seminíferos, dado ainda pouco estudado para répteis. Além disso, há um déficit de dados reprodutivos sobre as serpentes da tribo Elapomorphini, sendo de suma importância à elucidação de parâmetros reprodutivos desse grupo de serpentes fossoriais.

*Elapomorphus quinquelineatus* apresentou um índice de dimorfismo sexual positivo (SSD = 0,97), esse alto valor sugere que a espécie não possui comportamento de combate entre os machos (ver Shine, 1994), como em outras serpentes neotropicais (Pizzatto et al., 2008; Bizerra et al., 2005; Marques et al., 2006), além de não existirem relatos na literatura de combates para esta espécie. As fêmeas obtiveram médias significativamente maiores de comprimento rostro-cloacal que os machos. Em muitas espécies as fêmeas são maiores que os machos (Pizzatto, 2008) devido a sua capacidade em produzir e estocar mais ovos, e conseqüentemente gerar mais filhotes, acarretando um maior sucesso reprodutivo (Darwin, 1874; Shine, 1994). No caso dos machos, a diminuição do custo metabólico e a facilidade na locomoção são vantagens de um tamanho corporal menor (Darwin, 1874), principalmente em túneis subterrâneos. Os resultados obtidos para dimorfismo sexual quanto ao CRC coincidem com o trabalho de Braz et al. (2014) de uma serpente também Elapomorphini. Foram encontradas diferenças significativas no tamanho da cauda entre os sexos de *E. quinquelineatus*, onde os fêmeas apresentam maiores médias caudais que os machos, ao contrário do tipicamente descrito para serpentes. Segundo King (1989), funções durante a cópula como afastamento de outros machos e agregação reprodutiva são vantagens para maiores comprimentos caudais em machos, entretanto, os machos aqui estudados possuem a cauda proporcional ao seu CRC reduzido, sem perdas aparentes na reprodução, já que o grau de dimorfismo de sexual é influenciado pelo sistema de acasalamento (Shine, 2003) e não são relatadas agregações reprodutivas para esta espécie. Machos de espécies que não apresentam comportamento de combate com outros machos também tendem a possuir menores comprimentos caudais (King, 1989).

Apesar de possuírem caudas menores, os machos apresentaram um número maior de escamas subcaudais em relação às fêmeas ( $40,64 \pm 3,3$ ), segundo Faria e

Brites (2003), um maior número de escamas na cauda gera mais atrito, favorecendo a fixação dos machos nas fêmeas durante o acasalamento. Trabalhos semelhantes com dados merísticos também apontaram maiores médias de escamas ventrais em fêmeas, como Gomes et al. (1989) para *Boa constrictor* e tal fato pode ser explicado pela anatomia do sistema reprodutor, já que possui ovários e ovidutos, que são órgãos maiores comparados aos testículos nos machos (Gomes et al., 1989; Gomes e Puerto, 1993).

A maturação precoce dos machos de *Elapomorphus quinquelineatus* que observamos nesse estudo (CRC = 226 mm) é vantajosa segundo Pizzatto (2003), pois os mesmos podem encontrar as fêmeas antes dos machos que amadurecem tardiamente, copulando mais vezes. Além disso, a maturação sexual das fêmeas com um tamanho maior que os machos é um dado frequente para ofídios (Shine, 1988), por exemplo, Mesquita et al. (2013), Resende e Nascimento (2015), Braz et al. (2014); e pode ter relação direta com a fecundidade das fêmeas: quanto maior o CRC, maior o tamanho da ninhada e/ou dos ovos.

Neste trabalho, o ciclo reprodutivo das fêmeas é descontínuo a nível individual e sazonal (estação seca) a nível populacional. O ciclo reprodutivo sazonal para fêmeas é documentado em muitas espécies: *Tomodon dorsatus* (Bizerra et al, 2005), *Atractus pantostictus* (Resende e Nascimento, 2015), *Erythrolamprus miliaris* (Rojas et al., 2017), e também em outra Elapomorphini (Braz et al., 2014), podendo ser considerado uma característica da tribo (Braz et al., 2014). A vitelogênese começa no outono (abril, início da estação seca) assim como descrito para *Phalotris lativittatus* (Braz et al., 2014) e a única fêmea gravídica com data de coleta é de julho, no inverno, não coincidindo com outras espécies Elapomorphini: *Phalotris punctatus* (dezembro; Leynaud, 2003), *Phalotris lativittatus* (dezembro; Braz et al.,

2014), *Apostolepis assimilis* (março, possível ovo; Barbo et al., 2011) e para a própria espécie *Elapomorphus quinquelineatus* (novembro; Travaglia-Cardoso et al., 2001).

A presença de três fêmeas estocando espermatozoides no útero aglandular, nos meses de fevereiro, julho e dezembro, pode ser a resposta para a pouca sincronia entre a vitelogênese e a espermatogênese (que só coincidiram no mês de abril), porém, o baixo número amostral dos machos também pode ser um fator crucial nesse resultado. Estima-se que a espécie copule em qualquer época do ano e as fêmeas estoquem os espermatozoides até o período da ovulação, pois uma das fêmeas (MZUFV179) foi encontrada com folículos em vitelogênese secundária e espermatozoides armazenados no oviduto.

O nascimento dos filhotes de *E. quinquelineatus* (recém-nascidos CRC  $\leq$  195 mm) foi relatado nesse estudo em meados da estação chuvosa até meados da estação seca, e não somente no fim da estação chuvosa e início da seca, como comumente encontrado em outros ofídios na literatura (por exemplo, Braz et al., 2014; Pizzatto et al., 2008; Marques, 1996). As datas de nascimentos aqui apresentadas (janeiro n=1; fevereiro n=1, março n=1; abril n=1; maio n=2 e junho n=1), coincidem com a data do trabalho de Travaglia-Cardoso (2001), onde um ovo de *Elapomorphus quinquelineatus* eclodiu em março. Entretanto, o tamanho da ninhada descrito por Travaglia-Cardoso (2001) (2 ovos), é muito inferior ao encontrado (13 ovos) para esta espécie, tal fato pode ser explicado pois os ovos analisados aqui ainda estavam no oviduto, podendo diminuir o número antes ou depois de ovopositados, como por exemplo, atresia do ovo, ou ingestão dos ovos ovopositados, já relatado para a espécie por Travaglia-Cardoso (2014).

A classificação do ciclo reprodutivo dos machos foi considerada acíclica, devido a pouca variação na espermatogênese ao longo do ano, logo, infere-se que os machos produzam espermatozoides por todo o ano, como, por exemplo *Laticauda colubrina* (Gorman et al., 1981). Porém, um número amostral mais significativo e análises precisas dos testículos e ductos deferentes são necessários para a comprovação mais precisa de “acíclico” (Mathies, 2011).

Análises morfométricas dos testículos dos indivíduos da espécie *Elapomorphus quinquelineatus* não obtiveram um número amostral suficiente para comparação entre as estações e entre espécimes com produção de espermatozoides ou sem produção de espermatozoides nos túbulos seminíferos, portanto, foi feito apenas um estudo descritivo destes dados.

O tamanho e/ou volume dos testículos são dados frequentemente estudados para análise da atividade espermatogênica (Pizzatto, 2005; Pizzatto et al., 2008; Gomes e Marques, 2012; Bellinni et al., 2013; Gribbins et al., 2008), pois este órgão pode aumentar de tamanho durante a espermatogênese (Gribbins e Rheubert, 2011). Contudo, apenas essas medidas não são suficientes para a conclusão da atividade testicular (Braz et al., 2014; Rojas et al., 2013). O comprimento de um dos testículos (UFJF 1617) com espermatozoides nos túbulos seminíferos foi apenas 1,8 mm, entretanto, a média de comprimento para machos em espermatogênese foi de 11,95 mm (DP=5,87) e não espermatogênicos foi 6,63 mm (DP=0,10).

Este é o primeiro estudo a avaliar a morfometria tubular completa e os índices de produção espermática dos testículos da serpente *Elapomorphus quinquelineatus*. A média da altura do epitélio seminífero do testudinata *Graptemys pseudogeographica* em setembro (no ápice da sua espermatogênese) (Lancaster et al., 2014), é semelhante a média encontrada para *E. quinquelineatus* neste estudo.

*E. quinquelineatus* também apresentou parâmetros da densidade volumétrica semelhante ao testudine *Kinosternon scorpioides*, como o túbulo seminífero (81,29); intertúbulo (17,1) e epitélio (69,4) (Sousa et al., 2014), tais semelhanças podem ser comum a classe Reptilia. Entretanto, a porcentagem média do lúmen (6,39%) do roedor *Kannabateomys amblyonyx* (Siman et al., 2017) foi mais semelhante ao ofídio estudado. Com relação à morfometria, o diâmetro do túbulo seminífero de *K. amblyonyx* (214,33) foi muito parecido com *E. quinquelientus* (211,13), mesmo com todas as outras medidas sendo distintas (altura do epitélio, comprimento total do túbulo e comprimento do túbulo/ g de testículo) (Siman et al., 2017). O índice gonadossomático (IGS) foi baixo (0,93%), porém, os índices epiteliossomáticos (IES=18,49%) e tubulossomáticos (ITS=31,41%) da espécie foram relativamente altos, e não foram semelhantes aos dados de testudines e de mamíferos (rodentia e chiroptera) avaliados (Morais et al., 2013; Siman et al., 2017; Sousa et al., 2014; Lancaster et al., 2014).

Com base no total de indivíduos em relação ao sexo, o número de fêmeas foi extremamente maior do que os machos em todas as coleções visitadas, uma explicação plausível seria um maior risco de mortalidade dos machos pela intensa movimentação para procurar fêmeas e copular (Aldridge e Brown, 1995), ou até mesmo, já dito anteriormente, como os machos são menores, são mais ágeis e mais difíceis de serem capturados e representados em tais coleções.

## **5. CONCLUSÃO**

- Nosso trabalho foi o primeiro estudo detalhado sobre a biologia reprodutiva da espécie *Elapomorphus quinquelineatus*;
- A maturidade dos machos (CRC=226 mm) ocorre com um comprimento rostro-cloacal menor que nas fêmeas (CRC=590 mm);

- O recrutamento dos filhotes de *E. quinquelineatus* ocorre nos meses de janeiro a junho, em meados da estação chuvosa até meados da estação seca;
- O tamanho da ninhada da espécie varia de 2 a 13 ovos;
- Existe dimorfismo sexual na espécie em relação ao tamanho e o número de escamas; onde as fêmeas possuem um maior CRC; CC e um maior número de escamas ventrais que os machos, e os machos possuem maior número de escamas subcaudais que as fêmeas, além de um SSD positivo (0,97);
- O ciclo reprodutivo das fêmeas desta espécie é sazonal a nível populacional, com a vitelogênese ocorrendo na estação seca, e descontínuo a nível individual;
- O ciclo reprodutivo dos machos da espécie é acíclico a nível populacional, e incerto a nível individual, estimamos que os machos produzam espermatozoides ao longo de todo o ano;
- Estudos de mais aspectos reprodutivos e um número amostral significativo são necessários para comprovação do ciclo reprodutivo dos machos;
- Esse foi o primeiro estudo biométrico, volumétrico e morfométrico do testículo de uma serpente Elapomorphini;
- O número amostral das fêmeas foi maior que dos machos nas coleções das instituições visitadas, demonstrando uma dificuldade maior em capturar os machos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldridge, R. D. e Brown, W. S. (1995). Male reproductive cycle, age at maturity, and cost of reproduction in the timber rattlesnake (*Crotalus horridus*). *Journal of Herpetology*, 29: 399-407.

Almeida-Santos, S. M., Pizzatto, L. e Marques, O. A. V. (2006). Intra-sex synchrony and inter-sex coordination in the reproductive timing of the Atlantic coral snake *Micrurus corallinus* (Elapidae) in Brazil. *Herpetological Journal*, 16: 371-376.

Almeida-Santos, S. M., H. B. Braz, L. C. Santos, L. R. Sueiro, V. A. Barros, C. A. Rojas & K. N. Kasperoviczus. (2014). Biologia reprodutiva de serpentes: recomendações para a coleta e análise de dados. *Herpetologia Brasileira*, 3: 14-24.

Barbo, F.E., Marques, O.A.V., Sawaya, R.J. (2011). Diversity, natural history, and distribution of snakes in the Municipality of São Paulo. *South American Journal of Herpetology* 6, 135–160.

Bellini, G. P., Arzamendia, V. e Giraud, A. R. (2013). Ecology of *Thamnodynastes hypocoenia* in subtropical-temperate South America. *Herpetologica*, 69: 677-9.

Bizerra, A., Marques, O.A.V., Sazima, I. (2005). Reproduction and feeding of the colubrid snake *Tomodon dorsatus* from southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26, 33–38.

Böhm, M., Collen, B., Baillie, J.E.M., Bowles, P., Chanson, J. et al. (2013). The conservation status of the world's reptiles. *Biological Conservation* 157, 372–385.

Braz, H. B., Araujo, C. O. e Almeida-Santos, S. M. (2009). Life history traits of the snake *Phalotris lativittatus* (Xenodontinae: Elapomorhini) from the Brazilian Cerrado. *Herpetology Notes*, 2: 163-164.

Braz, H. B., Kasperoviczus, K. N. e Almeida-Santos, S. M. (2014). Reproductive ecology and diet of the fossorial snake *Phalotris lativittatus* in the Brazilian Cerrado. *Herpetological Journal*, 24: 495-7.

Darwin, C.R. (1874). *The descent of man, and selection in relation to sex*. 2nd ed. New York: Appletown. 688p.

Faria, R. G.; Brites, V. L. C. (2003). Aspectos taxonômicos e ecológicos de *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 (Serpentes: Crotalinae) do Triângulo e Alto Parnaíba, Minas Gerais, Brasil. *Biologia Geral e Experimental* 3(2):25-32.

Ferrarezzi, H. (1993). Nota sobre o gênero *Phalotris* com revisão do grupo *nasutus* e descrição de três novas espécies (Serpentes, Colubridae, Xenodontinae). *Memórias do Instituto Butantan* 55, 21–38.

Gomes, C. A. e Marques, O. A. V. (2012). Food habits, reproductive biology, and seasonal activity of the dipsadid snake, *Echivanthera undulata* (Wied, 1824), from the Atlantic forest in southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 7: 233-240.

Gomes, N M B; Puerto, G; Buononato, M A; Ribeiro, M F M. (1989) Atlas anatomico de boa constrictor linnaeus, 1758 (serpente, boidae). *Monografias do Instituto Butantan*, São Paulo, n. 2 , p. 1-59.

Gomes, N.; Puerto, G. (1993). Atlas anatômico de *Bothrops jararaca* Wied, 1824 (Serpentes: Viperidae). *Mem. Inst. Butantan*, 55.1: 69-100.

Gorman, G. C., Licht, P., McCollum, F. (1981). Annual reproductive patterns in three species of marine snakes from the central Philippines. *Journal of Herpetology* 15: 335-354.

Gribbins, K. M., Rheubert, J. L., Collier, M. H., Siegel, D. S., & Sever, D. M. (2008). Histological analysis of spermatogenesis and the germ cell development strategy within the testis of the male Western Cottonmouth Snake, *Agkistrodon piscivorus leucostoma*. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 190(5), 461-476.

Gribbins, K. M. e Rheubert, J. M. (2011). The ophidian testis, spermatogenesis, and mature spermatozoa; pp. 183-264. *In*: R. D. Aldridge e D. M. Sever (Eds.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes*. Science Publishers, Enfield.

Harvey, M.B. (1999). Revision of Bolivian *Apostolepis* (Squamata: Colubridae). *Copeia* 1999, 388–409.

Hofstadler-Deiques, C. & Lema, T. (2005). On the cranial morphology of *Elapomorphus*, *Phalotris* and *Apostolepis* (Serpentes: Colubridae), and its phylogenetic significance. *Zootaxa* 1042, 1–26.

IBGE (2004). Mapa de biomas do Brasil. Escala 1:5.000.000. Rio de Janeiro. Disponível em: <http://mapas.ibge.gov.br/biomas2/viewer.htm>. Acesso em: 1 junho 2019.

King, R. (1989). Sexual dimorphism in snakes tail length: sexual selection, natural selection, or morphological constraint? *Biological Journal of the Linnean Society*, 38: 133-154.

Lancaster, K., Trauth, S. E., Gribbins, K. M. (2014). Testicular histology and germ cell cytology during spermatogenesis in the Mississippi map turtle, *Graptemys pseudogeographica kohnii*, from Northeast Arkansas. *Spermatogenesis* 4:3, e992654

Leynaud, G.C. (2003). *Phalotris punctatus* (NCN). Oviposition. *Herpetological Review* 34, 153.

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

Marques, O.A.V., Sawaya, R.J. Stender-Oliveira, F. & França, F.G.R. (2006). Ecology of the colubrid snake *Pseudablables agassizii* in southeastern South America. *Herpetological Journal* 16, 37–45.

Mathies, T. (2011). Reproductive Cycles of Tropical Snakes. In *Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes*, 511–550. Aldridge, R.D. & Sever, D.M. (eds). Enfield: SciencePublishers.

Mesquita, P. C. M. D., Sá-Polidoro, G. L. e Cechin, S. Z. (2013). Reproductive biology of *Philodryas olfersii* (Serpentes, Dipsadidae) in a subtropical region of Brazil. *Herpetological Journal*, 23: 3944.

Morais, D. B., De Oliveira, L. C., Carmo Cupertino, M. D., De Freitas, K. M., De Freitas, M. B. D., De Paula, T. A. R., Da Matta, S. L. P. (2013). Organization and seasonal quantification of the intertubular compartment in the bat *Molossus molossus* (Pallas, 1776) testis. *Microscopy research and technique*, 76(1), 94-101.

Peters, J. A. e Orejas-Miranda, B. (1970). *Catalogue of Neotropical Squamata Part I. Snakes*. Bull. U.S. Natl. Mus. 297: 1-347.

Pizzatto, L. (2005). Reproductive Biology of the " Glass Snake" *Ophiodes fragilis* (Squamata: Anguillidae) in South-East Brazil. *The Herpetological Journal*, 15(1), 9-13.

Pizzatto, L. e Marques, O.A.V. (2006). Interpopulational variation in sexual dimorphism, reproductive output, and parasitism of *Liophis miliaris* (Colubridae) in the Atlantic forest of Brazil. *Amphibia-Reptilia* 27, 37–46.

Pizzatto, L., Almeida-Santos, S. M.; Marques, O. A. V. (2006). Biologia reprodutiva de serpentes brasileiras. *Herpetologia no Brasil*.

Pizzatto, L., Cantor, M., Oliveira, J. L., Marques, O. A. V., Capovilla, V. e Martins, M. (2008). Reproductive ecology of dipsadine snakes, with emphasis on south american species. *Herpetologica*, 64: 168-179.

Pontes, J. A. L., Figueiredo, J. P., Pontes, R. C. & Rocha, C. F. D. (2008). Snakes from the Atlantic Rainforest area of Serra do Mendanha, in Rio de Janeiro state, southeastern Brazil: a first approximation to the taxocenosis composition. *Brazilian Journal of Biology*, 68.3: 601-608.

Pough, F. H; Janis, C. M.; Heiser, J. B. (2008). *A Vida dos Vertebrados*. Atheneu Editora. 4 ed. São Paulo.

Raddi, G. (1820). Di alcune specie nuovi di rettili e piante brasiliana. *Memorie di Matematica e di Fisica della Società Italiana delle Scienze residente in Modena* 18: 313-343.

Resende, F. C., Nascimento, L. B. (2015). The Female Reproductive Cycle of the Neotropical Snake *Atractus pantostictus* (Fernandes and Puerto, 1993) from South-eastern Brazil. *Anatomia. Histologia Embryologia, Journal the Veterinary Medicine*. 44. 225–235.

Rojas, C. A., Barros, V. A. e Almeida-Santos, S. M. (2013). The reproductive cycle of the male sleep snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) from southeastern Brazil. *Journal of Morphology*, 274: 215228.

Savitzky, A. H. (1983). Coadapted character complexes among snakes: fossoriality, piscivory, and durophagy. *American Zoologist* 23, 397–409.

Shine, R. (1977). Reproduction in Australian elapid snakes. *Australian Journal of Zoology*, 25: 655666.

Shine, R. (1983). Reptilian viviparity in cold climates: Testing the assumptions of an evolutionary hypothesis. *Oecologia* 57, 397–405.

Shine, R. (1988). The evolution of large body size in females: a critique of Darwin's "fecundity advantage" model. *The American Naturalist*. Vol 131:124-131.

Shine, R., (1994). Sexual size dimorphism in snakes revisited. *Copeia* 1994, 326-346.

Shine, R. (2003). Reproductive strategies in snakes. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, 270: 9951004.

Shine, R. e Bonnet, X. (2009). Reproductive biology, population viability, and options for field management; pp. 172200. *In*: S. J. Mullin e R. A. Seigel (Eds.), *Snakes – Ecology and Conservation*. Cornell University Press, Ithaca.

Siegel, D. S., Miralles, A., Chabarria, R. E. e Aldridge, R. D. (2011). Female reproductive anatomy: cloaca, oviduct and sperm storage; pp. 347409. *In*: R. D. Aldridge e D. M. Sever (Eds.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes*. Science Publishers, Enfield.

Siman, V. A., Godoy, R. S., Dias, F. C., Silva, F. A., Del Giudice, G. M., Gomes, M. L., & Matta, S. L. (2017). Spermatogenic dynamics of the spiny rat *Kannabateomys amblyonyx* (Wagner, 1845) (Rodentia, Echimyidae). *Animal reproduction science*, 184, 36-43.

Sociedade Brasileira de Herpetologia - SBH. (2018). Répteis do Brasil e suas Unidades Federativas: Lista de espécies. *Herpetologia Brasileira* - Volume 8 - Número 1 - Fevereiro de 2018. Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br>>.

Sousa, A. L., Campos-Junior, P. H. A., Costa, G. M. J., França, L. R. (2014). Spermatogenic Cycle Length and Sperm Production in the Freshwater Turtle *Kinosternon scorpioides*. *Biology of Reproduction*, 90(2):35, 1–10.

Travaglia-Cardoso, S. R., Rocha, M. M. T. & Puerto, G. (2001). *Elapomorphus quinquelineatus* (Raddis's lizard-eating snake). Reproduction. *Herpetological Review* 32, 262–263.

Travaglia-Cardoso, Puerto, G R. S.; Marques, O. A. V. (2014). *Elapomorphus quinquelineatus* (five-lined burrowing snake): Feeding on squamate eggs. *The Herpetological Bulletin* 129, 2014: 28-29.

## ANEXOS

### Espécimes analisados:

MZUFV710            MZUFV 2124  
MZUFV 764           MZUFV 2118  
MZUFV 383           UFJF 856  
MZUFV 999           UFJF 231  
MZUFV 179           FUNED 1000  
MZUFV 1268          FUNED 2126  
MZUFV 1630          PUC-MINAS 4965  
MZUFV 1699  
MZUFV 1314  
MZUFV 1398  
MZUFV 800  
MZUFV 30  
MZUFV 14  
MZUFV 2446  
MZUFV 1935  
MZUFV 2199  
MZUFV 1831  
MZUFV 1764  
MZUFV 1051  
MZUFV 1050  
MZUFV 1711  
MZUFV 1058  
MZUFV 1229  
MZUFV 1460  
MZUFV 1230  
MZUFV 2417  
MZUFV 2223  
MZUFV 1801  
UFOP 852 S  
UFOP 353 S  
FUNED 2537  
FUNED 1814  
PUC-MINAS 4456  
PUC-MINAS 6290  
PUC-MINAS 4844  
UFMG 1961  
UFMG 1404  
UFJF 660  
UFJF 332  
UFJF 626  
UFJF 283  
UFJF 573  
UFJF 504  
UFJF 994  
UFJF 986  
UFJF 1617  
MZUFV 1476  
MZUFV 1303  
MZUFV 1467  
MZUFV 1838  
MZUFV 1465  
MZUFV 1432  
MZUFV 1231  
MZUFV 711  
MZUFV 2298  
MZUFV 2225  
UFOP 297 S  
UFMG 2619  
UFMG 1570