



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PAULO MAURÍCIO ALMEIDA GUIMARÃES REIS

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Bothrops erythromelas* AMARAL, 1923
(SERPENTES, VIPERIDAE), ESPÉCIE ENDÊMICA DO SEMIÁRIDO
BRASILEIRO

Petrolina

2016

PAULO MAURÍCIO ALMEIDA GUIMARÃES REIS

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Bothrops erythromelas*
AMARAL, 1923 (SERPENTES, VIPERIDAE), ESPÉCIE
ENDÊMICA DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Leonardo Barros Ribeiro

Petrolina

2016

R375b Reis, Paulo Maurício Almeida Guimarães.
Biologia reprodutiva de *Bothrops erythromelas* Amaral, 123
(serpentes, viperidae) espécie endêmica do seminário brasileiro/ Paulo
Maurício Almeida Guimarães Reis.-- Petrolina, 2016.
XIII; 54 f. : il. ; 29cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências
Biológicas) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campo
Ciências Agrárias, Petrolina, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Barros Ribeiro.

1. Dimorfismo sexual. 2. Ciclo reprodutivo. 3. Fecundidade. 4.
Embrões I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 636.0824

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

Paulo Maurício Almeida Guimarães Reis

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Bothrops erythromelas* AMARAL, 1923
(SERPENTES, VIPERIDAE), ESPÉCIE ENDÊMICA DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 03 de Novembro de 2016.

Banca Examinadora



Drº Leonardo Barros Ribeiro, Universidade Federal do Vale do São Francisco



Drº Felipe Silva Ferreira, Universidade Federal do Vale do São Francisco



Drº Samuel Cardozo Ribeiro, Universidade Federal do Cariri

Dedico este trabalho à toda minha família, em especial as minhas mães Evanice, Dilza (dinda) e Guiomar (avó).

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

À minha mãe Evanice e minha dinda Dilza por todo amor, apoio e compreensão na busca desse sonho, e exemplo de vida que sempre fizeram tudo por mim. Ao meu irmão Neto Almeida, grande amigo e companheiro, por todo apoio, alegria e ensinamentos. Às minhas irmãs Daniela Almeida e Juliana Almeida pelo amor, apoio, amizade e tudo que me ensinaram.

À esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior.

Aos amigos INSANOS (Matheus, Riani, Teka, Verenna, Eden, Gessica Miranda, Lais, Thais e Tati) companheiros de vida, irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza.

Ao meu orientador Dr Leonardo Ribeiro, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

Aos professores Luiz Cesar e Patricia Nicola, por me aceitarem como estagiário no CEMAFAUNA, me proporcionando grandes oportunidades e enriquecimento científico em diversas áreas de atuação do biólogo.

Às parceiras do Laboratório de Morfofisiologia: Verenna e Lislei, pelos momentos de descontração, conversas, músicas e conhecimentos transmitidos. A todos os amigos do Laboratório de Citogenética. Sou especialmente grato à Palloma Lima pelas conversas, apoio durante a execução deste trabalho e principalmente por sempre guardar bolo pra mim.

Aos analistas ambientais Marlla e Everton, pela ajuda e paciência na hora de rodar as estatísticas.

À analista ambiental e grande amiga Vivi, pessoa que sempre me salva na hora de fazer meus mapas, pela sua paciência e bondade.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O estudo da biologia reprodutiva em caracteres da história de vida dos organismos constitui um dos aspectos mais importantes para a compreensão da evolução, ecologia e história natural das espécies, pois a reprodução é um componente essencial do valor adaptativo dos indivíduos e afeta profundamente a contribuição de seus genótipos para as gerações futuras. As serpentes do gênero *Bothrops* têm um ciclo reprodutivo sazonal, apresentando uma fase ativa de crescimento folicular, acasalamento e gestação em um ano e uma fase de parturição, seguida de quiescência folicular em outro ano, caracterizando um ciclo bienal. A cópula ocorre durante o outono com gestação em torno de quatro e cinco meses e os filhotes nascem no verão. Nessa perspectiva o presente trabalho teve como objetivos descrever o ciclo reprodutivo das fêmeas e machos de *Bothrops erythromelas*, verificar a existência de dimorfismo sexual, analisar a fecundidade, estrutura dos órgãos reprodutivos e determinar os estágios de desenvolvimento embrionário nessa serpente. Todos os espécimes analisados estão depositados na Coleção Herpetológica do Museu de Fauna da Caatinga (MFCH), e são provenientes de diferentes localidades do semiárido nos estados de Pernambuco, Paraíba e Ceará. Machos atingiram a maturidade sexual a partir de 238 mm e fêmeas a partir de 296 mm de comprimento rostro-cloacal. Fêmeas adultas foram maiores que os machos e apresentaram folículos em vitelogênese primária ao longo de todo o ano, já folículos em vitelogênese secundária foram encontrados apenas entre os meses de junho a janeiro (estações seca e chuvosa), porém embriões nos ovidutos (5 a 21) foram encontrados somente em setembro, novembro, dezembro e janeiro. Para a caracterização dos estágios de desenvolvimento embrionário (EDE) foram analisadas as principais características da morfologia externa de 56 embriões provenientes de 6 ninhadas de diferentes fêmeas e foram classificados do estágio 21 ao 37. O comprimento dos testículos dos machos sexualmente maduros foi positivamente correlacionado ao comprimento rostro-cloacal. O diâmetro do ducto deferente foi maior na estação seca do que na chuvosa, esse aumento demonstra atividade no ciclo espermatogênico de *B. erythromelas* o que indica uma sazonalidade reprodutiva.

Palavras-chave: Dimorfismo sexual; Ciclo reprodutivo; Fecundidade; Embriões.

ABSTRACT

The study of reproductive biology in characters of the life history of organisms is one of the most important aspects for understanding the evolution, ecology and natural history of the species, because reproduction is an essential component of the adaptive value of individuals and profoundly affects the contribution of their genotypes for future generations. The serpent of the genus *Bothrops* has a seasonal reproductive cycle, showing an active phase of follicular growth, mating and a period of follicular quiescence in another year, featuring a biennial cycle. Copulation occurs during the fall with gestation around four to five months and the cubs are born during the summer. In this perspective the present study aimed to describe the reproductive cycle of females and males of *Bothrops erythromelas*, verify the existence of sexual dimorphism, analyze the fertility and structure of the reproductive organs and determine the embryonic stages of development of *Bothrops erythromelas*. All specimens examined are deposited in the Coleção Herpetológica do Museu de Fauna da Caatinga (MFCH), and come from different parts of the semiarid region in the states of Pernambuco, Paraíba and Ceará. The males reach sexual maturity from 238 mm and females from 296 mm snout-vent length. Adult females are larger than males and showed follicles in primary vitellogenesis throughout the year, since follicles in secondary vitellogenesis were found only in the months from June to January (dry and rainy season), however, embryos in the oviduct (5-21) were found only in september, november, december and january. To characterize the embryonic stages of development (EDE), the main features of external morphology of 56 embryos from 6 litters of different females were analyzed and were classified in stages from 21 to 37. The length of the testicles of sexually mature males was positively correlated to the snout-vent length. The diameter of the ductus deferens was higher in the dry season than in the wet season, and this increase shows activity in spermatogenic cycle of *B. erythromelas* indicating a reproductive seasonality.

Keywords: sexual dimorphism; reproductive cycle; fertility; embryos.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Localidades de coleta de <i>Bothrops erythromelas</i> e sua distribuição no Semiárido brasileiro.....	21
Figura 2 - Estruturas morfofisiológicas do sistema reprodutor dos machos de <i>Bothrops erythromelas</i> . A) Testículo direito; B) Canal deferente direito; C) Rim direito; D) Canal deferente pregueado; E) Hemipênis.....	27
Figura 3 - Estruturas morfofisiológicas do sistema reprodutor das fêmeas de <i>Bothrops erythromelas</i> . A) Ovário direito com folículos em vitelogênese secundária (v 2); B) Ovário esquerdo com folículos em vitelogênese secundária e primária (v 1); C) Rim direito; D) Oviduto esquerdo; E) Vagina bilobada.....	28
Figura 4 - Ciclo reprodutivo das fêmeas de <i>Bothrops erythromelas</i> em relação a distribuição dos folículos ovarianos em vitelogênese primária (v.1), secundária (v.2) e presença de embriões no oviduto ao longo dos anos de 2008 a 2015.....	30
Figura 5 - Ciclo testicular de <i>Bothrops erythromelas</i> em relação ao diâmetro do canal deferente ao longo dos anos de 2008 a 2015. Estação chuvosa (dezembro à março) estação seca (maio à novembro)	31
Figura 6 - Relação entre comprimento rostro-cloacal das fêmeas de <i>Bothrops erythromelas</i> e números de folículos em vitelogênese secundária e embriões.....	32
Figura 7 - Relação entre comprimento rostro-cloacal dos machos de <i>Bothrops erythromelas</i> e o comprimento dos testículos.....	32
Figura 8 - Embriões nos estágios de desenvolvimento embrionário 21(B) e 23 (C)..	34
Figura 9 - Embriões no estágio de desenvolvimento embrionário 29.....	35
Figura 10 - Embriões no estágio de desenvolvimento embrionário 33.....	36
Figura 11 - Embriões no estágio de desenvolvimento embrionário 35.....	37
Figura 12 - Embriões no estágio de desenvolvimento embrionário 37.....	38
Figura 13 - Ovo atrésico de <i>Bothrops erythromelas</i> apresentando apenas vitelo sem desenvolvimento aparente de embrião.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização merística de <i>Bothrops erythromelas</i>	25
Tabela 2 - Dados morfológicos dos machos e fêmeas adultos de <i>Bothrops erythromelas</i> . CRC = comprimento rostro-cloacal; CC = comprimento da cauda; CT = comprimento total.....	29
Tabela 3 - Dados do tamanho das ninhadas, das fêmeas pós-parto e da massa relativa da ninhada (MRN) de <i>Bothrops erythromelas</i> (CRC – comprimento rostro-cloacal).....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CL	Escama Cloacal
CRC	Comprimento Rostro-Cloacal
DO	Número de Dorsais
EDE	Estágio de Desenvolvimento Embrionário
GV	Gulares Encostando nas Pré-Ventrais
IL	Infralabiais
IL/Me	Infralabiais encostando nas Mentonianas
Me	Número de Escamas Mentonianas
MFCH	Coleção Herpetológica do Museu de Fauna da Caatinga
Mm	Milímetros
MRN	Massa Relativa da Ninhada
N	Nasal
PISF	Projeto de Integração do São Francisco
PosO	Placa Pós-Ocular
PreO	Placa Pré-Ocular
SC	Subcaudais
SL	Supralabiais
Te	Temporais
UMT	“Uterine Muscular Twisting” (contração muscular uterina)
UNIVASF	Universidade Federal do Vale do São Francisco
VE	Ventrais
DP	Desvio Padrão
SSD	Índice de Dimorfismo Sexual
CC	Comprimento da Cauda
CT	Comprimento Total
N	Número
V.1	Vitelogênese Primária
V.2	Vitelogênese Secundária

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
OBJETIVOS	16
Objetivo Geral.....	16
Objetivos Específicos	16
REFERENCIAL TEÓRICO	17
<i>Bothrops</i>	16
Reprodução em <i>Bothrops</i>	18
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
Área de Estudo.....	21
Dados Merísticos	22
Sexagem.....	22
Dados Morfométricos.....	22
Dados Reprodutivos.....	22
Reprodução e Fecundidade.....	23
Estágios de desenvolvimento embrionário.....	24
RESULTADOS.....	26
DISCUSSÃO.....	39
CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

INTRODUÇÃO

Os Squamata formam um táxon monofilético, constituindo o maior e mais diverso grupo de répteis (HEDGES; VIDAL, 2009; UETZ, 2009). Apresentam alta diversidade ecológica para os representantes de lagartos, serpentes e anfisbenas, que ocorrem em uma extensa variedade de habitats, tais como desertos, florestas, rios e oceanos de todos os continentes, com exceção da Antártida (POUGH et al., 2008; OGUIURA et al., 2010).

O modo reprodutivo prevalente entre os Squamata é a oviparidade, entretanto, apresentam uma grande plasticidade reprodutiva, com animais ovíparos e vivíparos nos diversos clados e com diferentes adaptações estruturais em ambos os modos reprodutivos. Na viviparidade, o desenvolvimento embrionário ocorre inteiramente no oviduto, podendo os embriões serem mantidos inteiramente pelos nutrientes do vitelo (viviparidade lecitotrófica) ou pela transferência de nutrientes da mãe via placenta (viviparidade substancialmente placentotrófica) (YARON, 1985; STEWART; THOMPSON, 2000). A sazonalidade reprodutiva é um fenômeno bastante discutido em répteis Squamata de zonas temperadas, onde as variações na temperatura e fotoperíodos são bastante acentuadas (MARION, 1982). Por outro lado, na região tropical, o que se observa com mais frequência é um ajuste entre o calendário reprodutivo e a sazonalidade da precipitação pluvial. Essa tendência parece estar relacionada com a disponibilidade de alimento, que pode diminuir bastante durante a estação mais seca do ano (JANZEN; SCHOENER, 1968). A maioria dos dados disponíveis sobre reprodução de serpentes refere-se às regiões temperadas e subtropicais do globo (AMARAL, 1977; VANZOLINI et al., 1980; DE MESQUITA et al., 2011; DAVID; LEWIS 2011; FIGUEROA et al., 2013). As serpentes da região neotropical foram até recentemente pouco estudadas com relação à reprodução (AMARAL, 1977; VANZOLINI et al., 1980; SEIGEL; FORD, 1987). No entanto, este cenário tem mudado consideravelmente e vários estudos têm produzido uma quantidade substancial de informações, aumentando significativamente o conhecimento sobre a reprodução de serpentes neotropicais (DAVID; LEWIS 2011; DE MESQUITA et al., 2011; GOMES; MARQUES 2012; BELLINI et al., 2013; FIGUEROA et al., 2013; MARQUES et al., 2013; PANZERA; SIQUEIRA et al., 2013; SOUSA et al 2014; REIS et al., 2015).

O gênero *Bothrops* tem um ciclo reprodutivo sazonal, apresentando uma fase ativa de crescimento folicular, acasalamento e gestação em um ano e uma fase de parturição, seguida de quiescência folicular em outro ano, caracterizando um ciclo bienal. O aparelho reprodutor das fêmeas apresenta dois ovários e dois ovidutos (GOMES; PUORTO, 1993). A cópula ocorre durante o outono (abril e maio) com gestação em torno de quatro a cinco meses e os filhotes nascem no verão (janeiro e fevereiro) (ALMEIDA-SANTOS; ORSI, 2002). Para os machos, alguns autores citaram que em *B. jararaca*, de população de altitude, a espermatogênese tem início e pico de ocorrência entre a primavera e o verão (outubro a março), o que caracteriza um ciclo reprodutivo sazonal (JANEIRO-CINQUINI; LEINZ, 1993; ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002; ALMEIDA-SANTOS, 2005), porém para os machos de população litorânea, a espermatogênese parece ser contínua ao longo do ano, o que caracteriza um ciclo reprodutivo contínuo (SAINT-GIRONS, 1982; SCHUETT, 1992). Segundo Almeida-Santos; Salomão (2002), esse padrão parece estar fixado na grande maioria das espécies de *Bothrops*, sugerindo a existência de conservatismo filogenético para esse caráter em todo o gênero.

Bothrops constitui um clado bastante diversificado com origem e radiação recente na região Neotropical, possuindo atualmente 44 espécies distribuídas principalmente na América do Sul (WÜSTER et al., 2002; CAMPBELL; LAMAR, 2004; UETZ; HOŠEK, 2015). No domínio das Caatingas são reconhecidas quatro espécies, *Bothrops erythromelas* Amaral, 1923, *Bothrops lutzi* (Miranda-Ribeiro, 1915), *Bothrops neuwiedii* Wagler, 1824 e *Bothrops leucurus* Wagler, 1824. Destas serpentes, *B. erythromelas* é a única endêmica e que se encontra amplamente distribuída nas Caatingas, além de brejos de altitudes ou regiões de mata remanescente no Nordeste do Brasil (ZAPPELLINI, 1991; SOARES 2001; JUNIOR 2008; BARROS et al., 2014). *Bothrops erythromelas* é uma serpente vivípara, de hábito noturno e terrestre, conhecida popularmente, como jararaca-malha-de-cascavel, jararaca-avermelhada ou simplesmente jararaca-da-seca, pertencente ao grupo *Bothrops neuwiedii* (WÜSTER et al., 2002). Apresenta escamas avermelhadas na região ventral e dorsal, sendo considerada uma serpente pequena (55-60 cm de comprimento rostro-cloacal, tamanho médio principalmente das fêmeas), de hábito alimentar generalista, com variação ontogenética, de modo que os exemplares juvenis alimentam-se preferencialmente de presas ectotérmicas (centípedes, lagartos e anfíbios) e os adultos, de presas endotérmicas (roedores e aves)

(MARTINS et al., 2002). O estudo dos aspectos reprodutivos de *B. erythromelas* tem o intuito de aumentar as informações sobre a biologia desta espécie endêmica da Caatinga, e, além disso, representam informações críticas para a elucidação da dinâmica e evolução dos modos reprodutivos.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Descrever o ciclo reprodutivo das fêmeas e machos de *Bothrops erythromelas* através de exame do trato reprodutor de espécimes provenientes de diferentes localidades do semiárido nos estados de Pernambuco, Paraíba e Ceará.

Objetivos Específicos

Investigar se existe dimorfismo sexual;

Descrever a estrutura macroscópica dos órgãos reprodutivos;

Avaliar a fecundidade (tamanho da ninhada, relação tamanho da ninhada e tamanho da fêmea);

Determinar os estágios de desenvolvimento embrionário;

Verificar se os ciclos reprodutivos das fêmeas e machos são sazonais e ocorrem em épocas semelhantes do ano.

REFERENCIAL TEÓRICO

Bothrops

Os Squamata (lagartos, serpentes e anfisbenas) estão entre as mais diversas irradiações de vertebrados terrestres que inclui 10.450 espécies até abril de 2016 (UETZ; HOSEK, 2016). Atualmente são encontrados em todos os continentes, exceto nas regiões árticas, devido aos répteis serem ectotérmicos e dependerem essencialmente da temperatura ambiental para termorregular (KAY, 1998). Estes animais ocupam uma extensa variedade de habitats, apresentam uma diversidade de formas do corpo e modos de vida, desde escavadores até arborícolas (PYRON et al, 2013).

De acordo com Bérnils e Costa (2015), a fauna de répteis do Brasil consiste de 773 espécies, deixando o país na terceira colocação na relação dos que apresentam maior riqueza de espécies do mundo, sendo que deste total, 392 são serpentes. As serpentes pertencem à linhagem dos Lepidosauria (SOERENSEN, 1996). Estas evoluíram a partir de uma linhagem de lagartos que foram perdendo os membros locomotores durante a evolução. Algumas serpentes possuem vestígios externos dos membros posteriores, sob a forma de esporões e/ou vestígios internos da cintura pélvica, tais como na família Boidae (SOERENSEN, 1996). Apenas duas famílias, Elapidae e Viperidae, reúnem as serpentes peçonhentas que possuem interesse médico no Brasil, estas estão distribuídas em cinco gêneros: *Bothrocophias*, *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis*, pertencentes à família Viperidae, e *Micrurus*, pertencente à família Elapidae (BERNARDE, 2011). Viperidae é a família de serpentes peçonhentas encontrada em quase todo o mundo, com dentição solenóglifa, altamente especializada para inoculação do veneno (MCDIARMID et al., 1999; PYRON et al., 2011). Sua radiação mais diversificada ocorre em Crotalinae, representante exclusiva dessa família no Novo Mundo, sendo uma subfamília amplamente distribuída. Possuem um órgão termorreceptor de cada lado da cabeça localizado entre os olhos e as narinas, denominado fosseta loreal, como a principal sinapomorfia. Incluso na subfamília Crotalinae, o gênero *Bothrops* Wagler, 1824, compreende várias espécies de serpentes distribuídas no continente americano, desde o México até a Argentina (CAMPBELL; LAMAR, 2004). Recentemente, Fenwick et al. (2009) confirmaram o monofiletismo do grupo por meio de análises

moleculares e morfológicas além de sugerir a divisão do gênero *Bothrops* (*sensu lato*) em vários gêneros (*Rhinocerophis*, *Bothropoides*, *Bothriopsis* e *Bothrops*). Porém, Carrasco et al. (2012) publicaram uma nova proposta taxonômica para o grupo por meio de uma nova hipótese filogenética, conservando apenas os gêneros *Bothrops* e *Bothrocophias*. Esta proposta taxonômica mais recente (CARRASCO et al. 2012) e mais simples é mais adotada em estudos, favorecendo a estabilidade da nomenclatura neste grupo de serpentes.

A linhagem de *Bothrops* (*sensu lato*) para a América do Sul, apresenta o maior número de espécies (48) (CADLE, 1992; WÜSTER et al., 2002; CARRASCO et al., 2012), sendo que 27 ocorrem no Brasil (BÉRNILS; COSTA, 2015).

Nesta ampla área de distribuição, as serpentes do grupo *Bothrops* ocorrem em todos os ecossistemas brasileiros, como Amazônia, Cerrado, Caatinga, Pampas, Mata Atlântica e ilhas continentais (FURTADO, 2007), com uma grande variação na forma do corpo, associada a diferentes estratégias de uso dos ambientes disponíveis, onde uma linhagem pode apresentar hábitos semi-arborícolas, arborícolas ou terrícolas (MARTINS et al., 2001). Mais recentemente, Guedes et al. (2014) afirmaram que no domínio das caatingas podem ser reconhecidas nove serpentes da família Viperidae, *Bothrops* aff. *atrox* (Linnaeus, 1758), *Bothrops erythromelas* (Amaral, 1923), *Bothrops jararaca* (Wied, 1824), *Bothrops leucurus* (Wagler in Spix, 1824), *Bothrops lutzi* (Miranda-Ribeiro, 1915), *Bothrops moojeni* (Hoge, 1966), *Bothrops neuwiedii* (Wagler, 1824), *Crotalus durissus* (Linnaeus, 1758) e *Lachesis muta* (Linnaeus, 1766).

De todas essas serpentes, *Bothrops erythromelas* é a única espécie endêmica da Caatinga, sendo registrada em todas as fisionomias que compõem este ecossistema, no qual a maioria dos registros são para áreas de baixa altitude, inferiores a 600 m, na Caatinga semiárida. Esta serpente é uma espécie conspícua, encontrada na caatinga arbórea, arbustiva e herbácea em latossolos vermelho-amarelo com inselbergs e afloramentos rochosos. No entanto, ela pode ser encontrada em áreas de contato com a Mata Atlântica nordestina, nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Bahia, talvez como resultado do desmatamento dessas áreas anteriormente florestadas (VANZOLINI et al., 1980; VITT; VANGILDER, 1983; MARTINS et al., 2002; GUEDES, 2006; GUEDES et al., 2014).

REPRODUÇÃO EM *Bothrops*

O estudo da biologia reprodutiva em répteis Squamata envolve uma diversidade de fatores biológicos importantes para vários campos da ciência, levando em consideração aspectos comportamentais, fisiológicos, ecológicos e evolução da espécie em estudo (SEIGEL; FORD, 1987; SHINE, 2003; SHINE; BONNET, 2009).

Os ciclos reprodutivos em Squamata são classificados em descontínuos (sazonais), contínuos e acíclicos. Nos ciclos descontínuos ou sazonais, as gônadas tornam-se quiescentes sem deposição de vitelo por períodos curtos durante o ano, já nos ciclos contínuos as gônadas apresentam uma redução da atividade por um pequeno período do ano, e no tipo acíclico, as gônadas ou órgãos acessórios exibem basicamente níveis constantes de atividade durante todo o ano (MATHIES, 2011).

Tradicionalmente têm sido utilizadas duas classificações para designar os modelos reprodutivos em vertebrados tetrápodes: oviparidade e viviparidade (POUGH et al. 2008). Uma visão mais abrangente e aceita pelos autores destes trabalhos admite dois tipos de reprodução: a oviparidade para aquelas espécies que põem ovos, e a viviparidade caracterizada por uma gestação extensa e formação de placenta corioalantóide. Uma das características consideradas essenciais na evolução da viviparidade foi sem dúvida a formação da placenta, a qual é definida como uma aposição ou fusão do tecido parenteral e fetal que permite trocas fisiológicas (MOSSMAN, 1937). Essa associação entre o epitélio coriônico e o epitélio uterino, varia de uma simples aposição celular materno-fetal, até formas mais complexas com aproximação atenuada de capilares maternos fetais (WOODDING; FLINT, 1994). Em espécies vivíparas o oviduto pode interagir com as membranas extra-embriônicas na troca de gases, água e transferência de nutrientes entre a fêmea e o feto (BLACKBURN, 1998). O oviduto também funciona como local de fertilização e, em algumas espécies, como local de estocagem de gametas masculinos (ALMEIDASANTOS; SALOMÃO, 2002).

Do ponto de vista morfológico e anatômico, o sistema reprodutor das fêmeas de *Bothrops* é composto por dois ovários e dois ovidutos, dispostos assimetricamente. Os ovidutos abrem-se na cloaca unidos parcialmente na vagina

bilobada (GOMES; PUORTO, 1993), no entanto em várias descrições do oviduto de Squamata (serpentes, lagartos e anfisbenas), o infundíbulo e o útero são divididos em porção anterior e posterior (GUILLETTE et al., 1989; BLACKBURN, 1998; ALMEIDA-SANTOS, ORSI, 2002; ROJAS, 2009). Recentemente alguns autores propõem a divisão do útero de serpente em porção glandular (glândulas uterinas) e porção aglandular (ausência de glândulas uterinas). Além de caracterizar a região da tuba uterina como infundíbulo posterior por não existir uma homologia entre essas estruturas (SIEGEL et al., 2011). O sistema reprodutor de machos de serpentes compreende um par de testículos quase sempre alongados e cilíndricos, dispostos assimetricamente (GRIBBINS; RHEUBERT, 2011).

A maioria das serpentes do gênero *Bothrops* apresenta ciclo reprodutivo sazonal e bienal que podem estar relacionados com as variações climáticas, característica aparentemente exibida pelo gênero como mostrada nos estudos realizados (LELOUP, 1975; SOLORZANO; CERDAS, 1989; SAZIMA, 1992; MARTINS, 1998). Algumas serpentes, bem como outros animais ectotérmicos, não se reproduzem até acumularem energia suficiente para custear a reprodução (AUBRET et al., 2002; BONNET, 2011), assim, essas espécies são classificadas como “capital breeders” (reprodutores capitais), de acordo com Stearns, (1992). Dessa forma, em muitas espécies de serpentes, as fêmeas requerem um investimento energético para darem início ao período reprodutivo e, em viperídeos, o tempo necessário entre um evento reprodutivo e outro, varia entre dois a três anos ou até mais, configurando a bienalidade ou trienalidade dos ciclos (ALMEIDA-SANTOS, 2005; KASPEROVICZUS, 2009; BARROS et al, 2012). Segundo Callard; Kleis (1987) e Mathies (2011), a descontinuidade dos ciclos reprodutivos das fêmeas, com padrão sazonal, se dá porque o recrutamento dos folículos para iniciar a vitelogênese secundária geralmente é longo e requer um custo energético muito alto. A vitelogênese é a transformação dos oócitos em folículos e é classificada em vitelogênese primária (quiescência folicular) de crescimento lento, transparentes ou esbranquiçados e sem deposição de vitelo e secundária com folículos amarelos com deposição de vitelo em fase ativa (ALDRIDGE, 1979).

De forma geral, nas espécies do gênero *Bothrops* o padrão de cópula é outonal, com estocagem de esperma no inverno, ovulação, fertilização na primavera e parturição no verão assegurando condições climáticas propícias para a fêmea durante a gestação. Dessa forma, altas temperaturas propiciam maior

disponibilidade de alimento (presas ectotérmicas) para os filhotes após o nascimento no verão (entre janeiro e março).

Registros sobre o tamanho da ninhada são as mais abundantes fontes de informação a respeito da reprodução em serpentes (TURNER, 1977). O tamanho da ninhada é facilmente obtido contando o número de ovos/embriões presentes no oviduto de diversas formas como: apalpação abdominal de fêmeas grávidas (FITCH, 1987), dissecação de exemplares (SCARTOZZONI et al., 2009) ou observação do produto expelido (GREGORY et al., 1992). A relação entre o tamanho da ninhada e o tamanho do corpo da fêmea tem sido documentada em uma ampla variedade de répteis, mostrando uma correlação significativa entre elas na maioria das espécies (FITCH, 1963; BAUMAN; METTER, 1977; KOFRON, 1983; KIHARA, 1985; KING, 2000). Para o entendimento do potencial reprodutivo das serpentes inclui-se, dentre outras informações, o número de filhotes por ninhada (GIBBONS, 1972). Numerosas espécies de serpentes produzem ninhadas pequenas, com um a quatro ovos ou filhotes, contudo, algumas espécies podem produzir 100 ou mais ovos (FITCH, 1970). Espécies de serpentes podem apresentar diferenças entre os sexos em diversas características ecológicas e morfológicas (SHINE, 1978, 1994; FITCH, 1981; KING, 1989; VINCENT et al., 2004).

Em machos de serpentes, geralmente o ciclo reprodutivo é inferido pelo aumento do comprimento/massa que ocorre nos testículos devido à intensa atividade espermatogênica durante a fase ativa, influenciado principalmente por variáveis ambientais onde a temperatura propicia a recrudescência testicular, ou seja, o reinício do crescimento do epitélio germinativo após um período de quiescência (ALDRIDGE, 1975; DUVALL, 1982; SCHUETT et al., 2002; KROMER; MARTINEZ; MASON, 2004). Além dos testículos, o ducto deferente é muito utilizado para verificar o status de maturidade sexual e é o principal órgão de estocagem de esperma nos machos (SHINE, 1977).

O dimorfismo no tamanho do corpo e no tamanho da cauda é o mais abordado em estudos de reprodução. A diferença intersexual no tamanho da cauda (tipicamente maior em machos) é frequentemente associada à acomodação dos hemipênis e de seus músculos retratores (KING, 1989), embora a causa exata de sua evolução permaneça incerta (SHINE et al., 1999). A análise do dimorfismo sexual no tamanho do corpo é especialmente importante, pois pode fornecer pistas

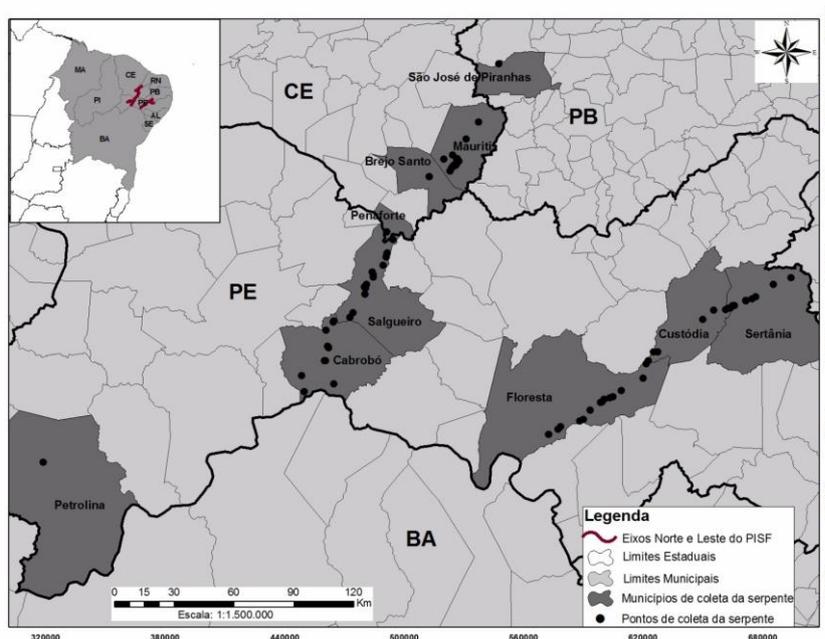
sobre o sistema de acasalamento da espécie como a presença de combate entre machos (SHINE, 1978, 1994).

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

Foram examinados 111 exemplares de *Bothrops erythromelas* (63 fêmeas e 48 machos) depositados na Coleção Herpetológica do Museu de Fauna da Caatinga (MFCH), UNIVASF, Petrolina, Pernambuco, Brasil. Os indivíduos foram coletados entre 2008-2015 nos seguintes estados da região Nordeste do Brasil: Pernambuco com 81 espécimes provenientes dos municípios de Cabrobó, Custódia, Floresta, Ibimirim, Petrolina, Salgueiro, Sertânia e Terra Nova; Ceará com 24 espécimes provenientes dos municípios de Brejo Santo, Mauriti e Pena Forte; Paraíba com 6 espécimes provenientes do município de São José de Piranhas (Figura1). Os espécimes que foram coletados nos meses de dezembro a março foram classificados na estação chuvosa e os de abril a novembro foram classificados na estação seca.

Figura 1- Localidades de coleta de *Bothrops erythromelas* nos eixos norte e leste do Projeto de Integração do São Francisco no Semiárido brasileiro.



Dados merísticos

Para a identificação dos exemplares de serpentes foram considerados os seguintes caracteres merísticos, segundo Dowling e Savage (1960), com as respectivas abreviações: número de dorsais (DO), ventrais (VE), subcaudais (SC), escama cloacal (Cl), supralabiais (Sl), placa pré-ocular (PreO), placa pós-ocular (PosO), temporais, (Te), nasal (N), infralabiais (IL), número de escamas mentonianas (Me), infralabiais encostando nas mentonianas (IL/Me), gulares encostando nas pré-ventrais (GV) em seguida foi elaborado uma tabela diferenciando os machos e fêmeas.

Sexagem

O sexo dos exemplares foi examinado e determinado através de presença do hemipênis evertido nos machos, e quando não visíveis foi realizado um corte longitudinal, com o uso de bisturi, na parte ventral de cada indivíduo, para observação direta das gônadas ou dos folículos e ovários no caso das fêmeas.

Dados morfométricos

Após o registro do comprimento rostro-cloacal com auxílio de fita métrica de acurácia de 10 mm, foram registrados com auxílio de paquímetro digital (precisão 0,1 mm) os seguintes dados: comprimento da cabeça (medido da escama rostral até a articulação quadrado-mandibular, em milímetros), comprimento da cauda, circunferência (medido no meio do corpo da serpente) e massa total do corpo (após drenar o excesso de líquido através de uma incisão ventral; em gramas).

Dados reprodutivos

Depois da dissecação ventral dos indivíduos realizada para exame das gônadas e vias genitais, foi determinado o sexo, fase de desenvolvimento (imaturo ou adulto) de cada serpente.

Para as fêmeas foram registrados: diâmetro do maior folículo ovariano ou presença de embriões; presença/ausência de contração muscular uterina (UMT –

uterine muscular twisting) na porção distal do útero. As fêmeas que apresentaram folículos em vitelogênese secundária ou embriões no oviduto, ovidutos pregueados, foram consideradas adultas (sexualmente maduras). Fêmeas que não apresentaram nenhuma destas características foram consideradas jovens (sexualmente imaturas).

Para os machos adultos foram registrados: comprimento dos testículos; largura dos ductos deferentes direito e esquerdo na sua porção mais alargada, na região distal próxima à região da cloaca (MARTINS et al., 2001). Foram considerados adultos (sexualmente maduros), machos com testículos desenvolvidos e canais deferentes alargados (SHINE 1982).

Reprodução e fecundidade

Foram registrados os números referentes aos folículos não vitelogênicos (folículos primários), folículos vitelogênicos (folículos secundários) localizados no ovário e número de ovos/embriões (SHINE, 1988). O diâmetro do maior folículo, do maior ovo e do maior embrião foi medido com um paquímetro digital Mitutoyo® (precisão de 0,01 mm).

A massa relativa da ninhada (MRN) foi calculada através da massa total da ninhada/massa da fêmea após desova ou parturição (SHINE, 1980), com ajuda de uma balança de precisão digital Pesola®. A fecundidade foi considerada através do número de folículos vitelogênicos e número de embriões (SEIGEL; FORD, 1987).

Os ciclos reprodutivos de machos maduros foram analisados considerando alterações macroscópicas (tamanho e volume) dos testículos e ductos deferentes ao longo do ano (VOLSØE, 1944; GOLDBERG; PARKER, 1975; GRIBBINS; GIST, 2003; ROJAS et al., 2013).

A correlação entre o comprimento dos testículos e o comprimento do corpo (CRC) foi testada por meio de regressão linear. As diferenças no diâmetro do canal deferente entre as estações foram analisadas usando ANOVA.

O teste de Mann-Whitney foi empregado para a análise de dimorfismo sexual quanto ao tamanho do corpo entre machos e fêmeas. O dimorfismo sexual foi confirmado tendo como referência o Índice de Dimorfismo Sexual em Tamanho (SSD: *Sexual Size-Dimorphism index*):

$$SSD = \frac{\bar{X} CRC (fêmea)}{\bar{X} CRC (macho)}$$

onde: $CRC_{(fêmea)}$ = CRC das fêmeas

$CRC_{(macho)}$ = CRC dos machos

onde: $SSD > 0$ = fêmeas maiores que machos, e $SSD < 0$ = machos maiores que fêmeas (SHINE, 1994).

Estágios de desenvolvimento embrionários

Para a caracterização do desenvolvimento embrionário, os úteros foram seccionados e examinados em estereomicroscópio modelo XTD 217, para o registro fotográfico dos caracteres morfológicos externos dos embriões e anexos embrionários. A classificação dos estágios de desenvolvimento embrionário (EDE) foi feita segundo a tabela de Zehr (1962), descrita para o desenvolvimento embrionário de *Thamnophis sirtalis* (Serpentes: Natricidae) e Cavlac (2009) com a caracterização do desenvolvimento e da hematopoese embrionária da serpente falsa-coral *Oxyrhopus guibei* (Dipsadidae).

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Bioestat (versão 5.00), assumindo $p < 0,05$ como critério de significância. Os gráficos foram elaborados no software Microsoft Office Excel 2010.

RESULTADOS

Dados merísticos

Todos os 111 exemplares foram identificados como *Bothrops erythromelas*, através da análise dos caracteres merísticos (Tabela 1), segundo Dowling e Savage (1960) e da chave de identificação para serpentes peçonhentas do Brasil (CAMPBELL; LAMAR, 2004). O número de indivíduos não foi o mesmo para todos os caracteres analisados, pois alguns exemplares estavam danificados.

Tabela 1 - Caracterização merística de *Bothrops erythromelas*.

Variáveis	Machos			Fêmeas		
	Média ± DP	Mínimo-Máximo	<i>n</i>	Média ± DP	Mínimo-Máximo	<i>n</i>
DO	19,98 ± 0,94	163-542	48	20,33 ± 2,85	150-621	63
VE	147,19 ± 5,88	23-87	48	137,42 ± 4,66	21-90	63
SC	77,59 ± 7,45	187-629	48	60,69 ± 18,95	172-699	63
CI	5,04 ± 0,77	24-62	48	4,96 ± 0,82	10-90	63
SI	8,22 ± 0,74	7-10	45	8,11 ± 0,62	7-10	56
PreO	2,53 ± 0,55	2-4	45	4,52 ± 5,36	2-4	56
PosO	2,20 ± 0,46	2-4	45	4,40 ± 6,80	2-4	56
Te	11,16 ± 1,78	8-15	45	10,88 ± 1,37	8-15	56
N	2,00	2-2	45	2,00	1-3	56
IL	8,40 ± 0,81	7-10	45	8,80 ± 0,72	7-11	56
Me	1,00	1-1	45	1,00	1-1	56
II/Me	2,00	2-2	45	2,00	2-2	56

Caracterização morfofisiológica do sistema reprodutor

Nos machos sexualmente maduros podem ser visualizados dois testículos, dois canais deferentes e um par de hemipênis. Os testículos, rins e canais deferentes estão posicionados em região ventrolateral e dispostos assimetricamente, sendo o direito mais cranial em relação ao esquerdo e localizados no terço médio a final da cavidade celomática, enquanto os canais deferentes são caracterizados como linhas paralelas que se originam dos testículos e são mais fáceis de serem observados em serpentes de maiores tamanhos (Figura 2). Nos machos imaturos os testículos e os canais deferentes são muito pequenos e em alguns espécimes são imperceptíveis.

O trato reprodutor das fêmeas da espécie estudada é constituído por dois ovidutos pareados e posicionados dentro de uma fina serosa ou pleuroperitônio visceral. O oviduto direito é mais cranial que o esquerdo, sendo constituído por quatro regiões diferentes. A região mais caudal do trato reprodutor da fêmea é a vagina, seguida pela junção útero-vaginal, útero, infundíbulo posterior e anterior. A vagina é bilobada, a mesma estrutura se encontra fundida à cloaca e pode ser observada macroscopicamente. A junção útero-vaginal se caracteriza como uma região de tecido mais fino e com menor diâmetro. O útero ocupa a maior área ovidutal como uma estrutura flácida e é responsável por abrigar os embriões durante o período de gravidez ou gestação. Na época do período reprodutivo o útero se apresenta pregueado. Nas fêmeas prenhes ou grávidas os embriões são alojados em uma série de câmaras separadas por constrições (câmaras incubatórias) e podem ser facilmente diferenciadas das demais porções ovidutais.

Nos ovários encontram-se folículos em vitelogênese secundária com bastante presença de vitelo (alaranjado) e em vitelogênese primária com ausência de vitelo (esbranquiçado) (Figura 3).

Dimorfismo sexual e dados morfométricos

Foi encontrado dimorfismo sexual no comprimento rostro-cloacal em indivíduos adultos de *B. erythromelas*, com fêmeas (amplitude 296 – 621 mm) apresentando maior tamanho corporal ($Z = 5.20$, $p < 0.0001$; Tabela 2) que os machos (amplitude 238 – 542 mm). O índice de dimorfismo sexual (SSD) foi de 1.267.

Em relação à maturidade sexual, dos 111 exemplares, 89 estavam sexualmente maduro, onde o menor macho sexualmente maduro possuiu 238 mm de CRC, apresentando ductos deferentes enovelados. Já a menor fêmea madura apresentou 296 mm de CRC, contendo folículos vitelogênicos de 2.05 mm.

Figura 2. Estruturas morfofisiológicas do sistema reprodutor dos machos de *Bothrops erythromelas*. A) Testículo direito; B) Canal deferente direito; C) Rim direito; D) Canal deferente pregueado; E) Hemipênis.

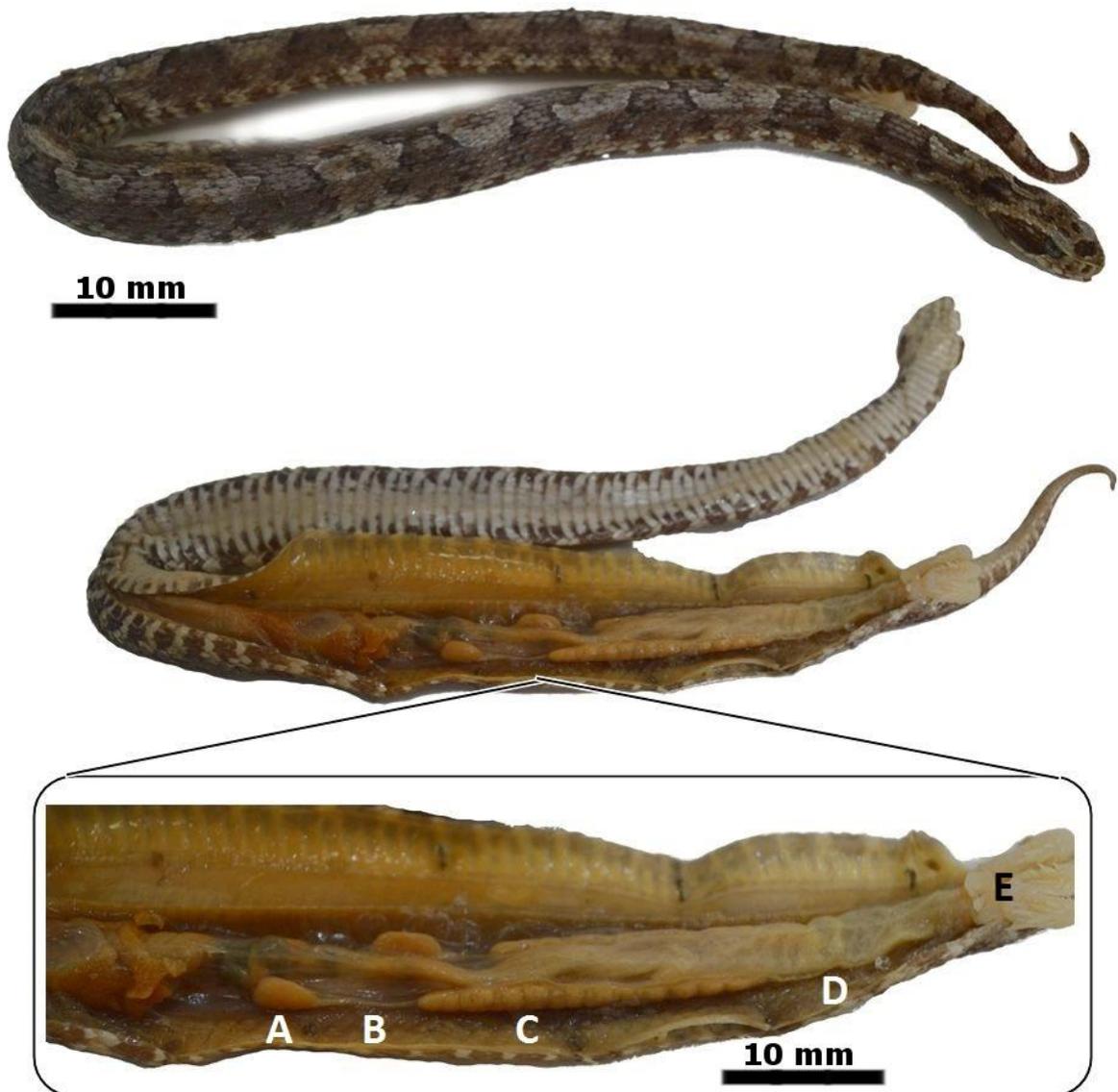


Figura 3. Estruturas morfofisiológicas do sistema reprodutor das fêmeas de *Bothrops erythromelas*. A) Ovário direito com folículos em vitelogênese secundária (v 2); B) Ovário esquerdo com folículos em vitelogênese secundária e primária (v 1); C) Rim direito; D) Oviduto esquerdo; E) Vagina bilobada.

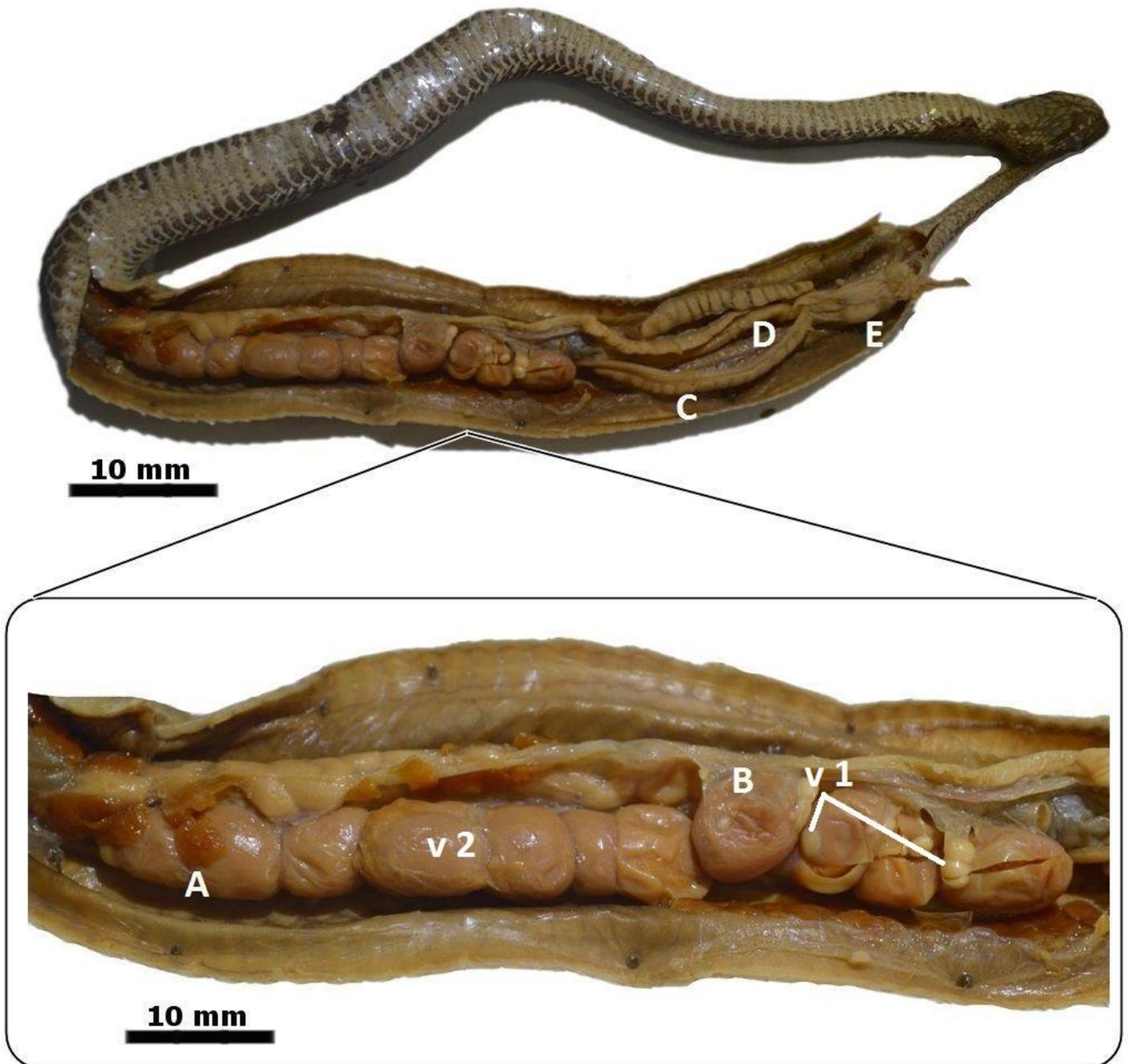


Tabela 2 – Dados morfológicos dos machos e fêmeas adultos de *Bothrops erythromelas*. CRC = comprimento rostro-cloacal; CC = comprimento da cauda; CT = comprimento total.

Variável	Machos			Fêmeas		
	Média ± DP	Mínimo-Máximo	<i>n</i>	Média ± DP	Mínimo-Máximo	<i>n</i>
CRC (mm)	375,7 ± 68,36	238 - 542	40	475,93 ± 81,74	296 - 621	49
CC (mm)	61,12 ± 13,34	35 - 87	40	62,79 ± 11,88	39 - 84	49
CT (mm)	436,82 ± 79,04	283 - 629	40	538,73 ± 91,27	336 - 699	49
CIRCUNFERÊNCIA (mm)	47,12 ± 8,88	30 - 62	40	60,91 ± 14,51	10 - 90	49

Ciclo Reprodutivo das Fêmeas

As fêmeas apresentaram folículos em vitelogênese primária ao longo de todo o ano, já folículos em vitelogênese secundária foram encontrados apenas entre os meses de junho a janeiro (estações seca e chuvosa). Fêmeas prenhes foram encontradas no final da estação seca em setembro ($n = 2$), com embrião no início do desenvolvimento, em novembro ($n = 2$) com embrião visível, mas apresentando vitelo ainda abundante e no início da estação chuvosa em Dezembro ($n = 1$) e janeiro ($n = 1$) com embrião em estágio avançado de desenvolvimento, com pouco ou nenhum vitelo. As fêmeas prenhes ou com folículos vitelogênicos secundários apresentaram depósito de gordura no abdômen e a contração muscular uterina (UMT) não foi encontrada em nenhuma das fêmeas analisadas.

O número de embriões nos ovidutos variou de 5 a 21 (Figura 4) e a massa relativa da ninhada (MRN) foi de 0,27 a 0,7. Dados do tamanho das ninhadas, tamanho das fêmeas e MRN, estão apresentados na Tabela 3.

Figura 4. Ciclo reprodutivo das fêmeas de *Bothrops erythromelas* em relação a distribuição dos folículos ovarianos em vitelogênese primária (v.1), secundária (v.2) e presença de embriões no oviduto ao longo dos anos de 2008 a 2015.

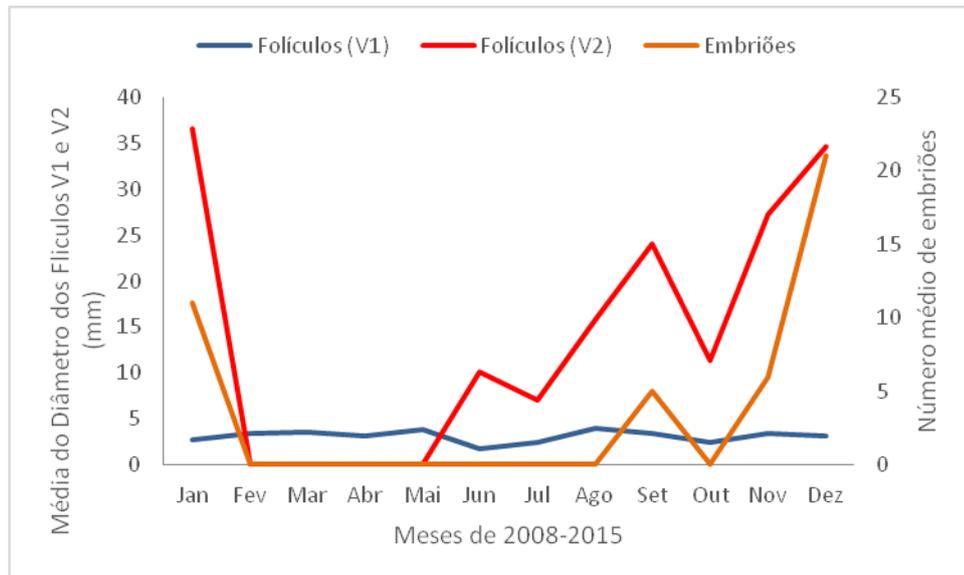


Figura 5. Ciclo testicular de *Bothrops erythromelas* em relação ao diâmetro do canal deferente ao longo dos anos de 2008 a 2015. Estação chuvosa (dezembro a março) estação seca (abril a novembro).

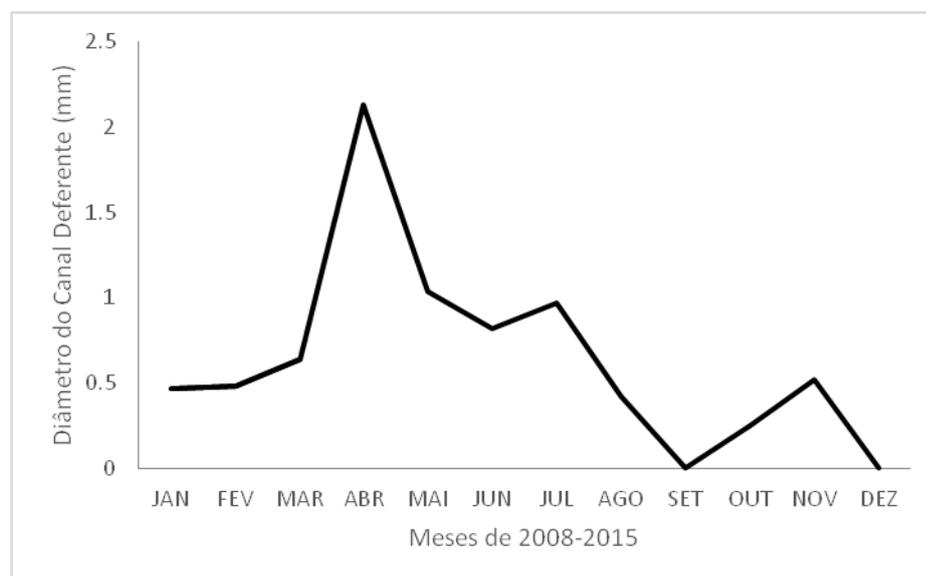
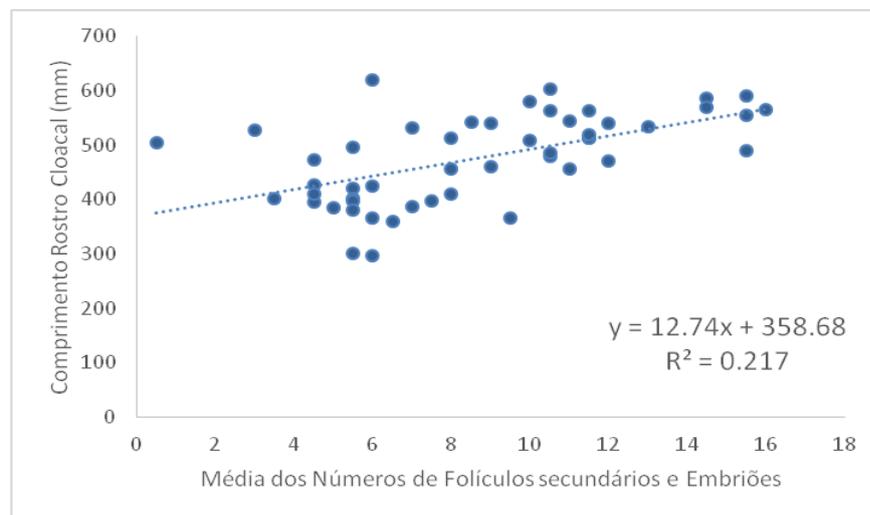


Tabela 3. Dados do tamanho das ninhadas, das fêmeas pós-parto e da massa relativa da ninhada (MRN) de *Bothrops erythromelas* (CRC – comprimento rostro-cloacal).

Fêmea	CRC da fêmea (mm)	Número de embriões	Massa pós-parto (g)	Massa total da ninhada (g)	MRN
I MFCH 4091	528	6	48	24	0,5
II MFCH 3589	540	5	92	26	0,28
III MFCH 3008	496	11	78	56	0,7
IV MFCH 2999	480	6	72	22	0,3
V MFCH 3000	563	21	160	60	0,37
VI MFCH 2993	540	7	124	34	0,27

A fecundidade (número de folículos secundários e embriões) foi positiva e significativamente relacionada com o comprimento rostro-cloacal das fêmeas ($R^2 = 0,21$; $p < 0,0001$; Figura 6).

Figura 6. Relação entre comprimento rostro-cloacal das fêmeas de *Bothrops erythromelas* e números de folículos em vitelogênese secundária e de embriões.

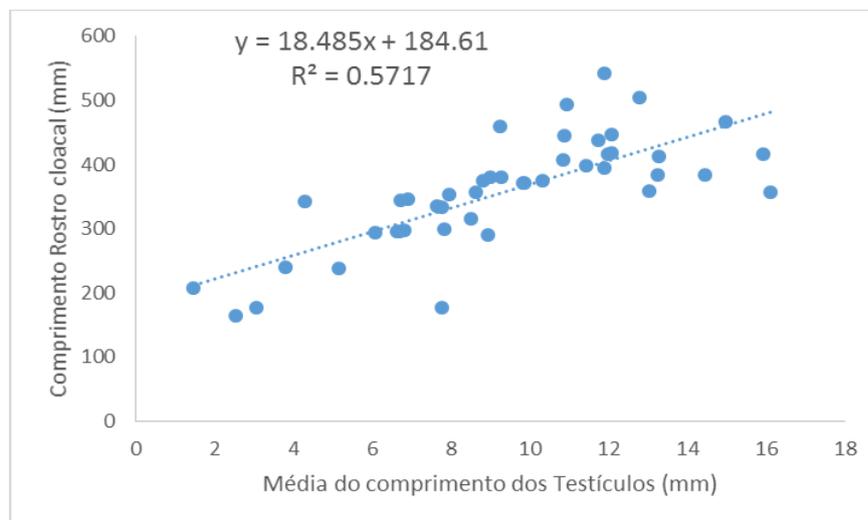


Ciclo Reprodutivo dos Machos

O comprimento dos testículos dos machos sexualmente maduros foi positivamente correlacionado ao comprimento rostro-cloacal ($F = 57,39$; $R^2 = 0,57$; $p < 0,0001$; Figura 5). O diâmetro do ducto deferente foi maior na estação seca do que na chuvosa ($t = 1,9073$; $p = 0,0386$; Figura 7). Com o ducto deferente alto e com dobras, mudanças morfológicas indicativas de estocagem de esperma. Os machos sexualmente imaturos apresentaram testículos pequenos com ductos deferentes translúcidos e não enovelados.

Analisando os gráficos da figura 4 e 5 pode observar um padrão em que os machos estão com os ductos deferentes em maior diâmetro em sincronia com o decréscimo de disponibilidade de fêmeas em período fértil, indicando que estes armazenam os espermatozoides, e quando as fêmeas estão no período em que ocorre a cópula (estação seca), os machos apresentam ductos deferentes com diâmetros menores.

Figura 7. Relação entre comprimento rostro-cloacal dos machos de *Bothrops erythromelas* e o comprimento dos testículos.

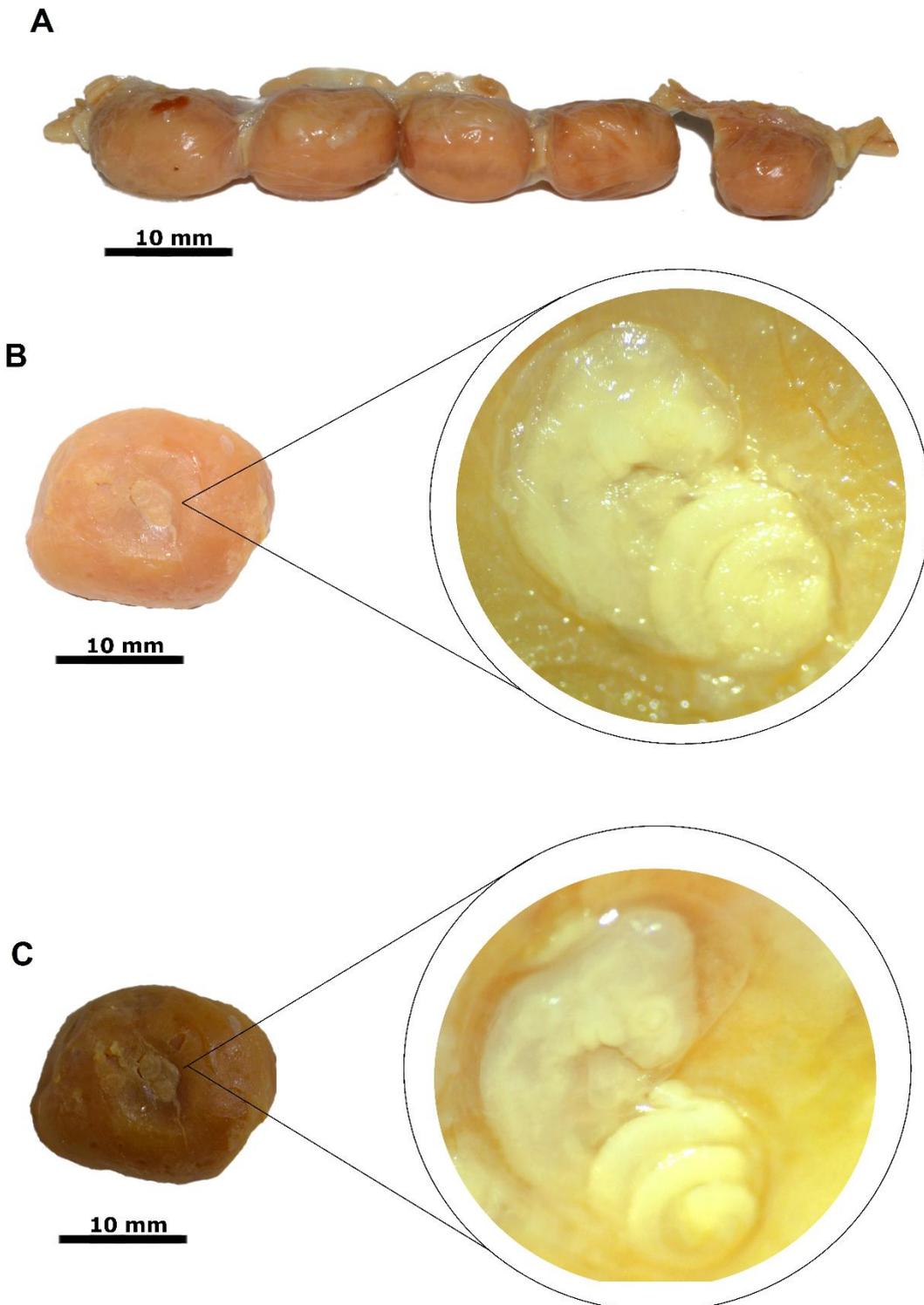


Estágios de desenvolvimento embrionário de *Bothrops erythromelas*.

Para a caracterização dos estágios de desenvolvimento embrionário (EDE) segundo a tabela de Zehr (1962) e Cavlac (2009), foram analisadas as principais características da morfologia externa de 56 embriões provenientes de 6 ninhadas de diferentes fêmeas e foram classificados do estágio 21 ao 37 (Figuras 8 a 12). Além disso, foi possível identificar a presença de ovos atrésicos em três fêmeas que apresentaram embriões em fase de desenvolvimento, sendo que na fêmea VI (Tabela III) foram encontrados três ovos atrésicos representando 42,8% da sua ninhada, enquanto nas demais, só foi encontrado um ovo atrésico por fêmea (Figura 13).

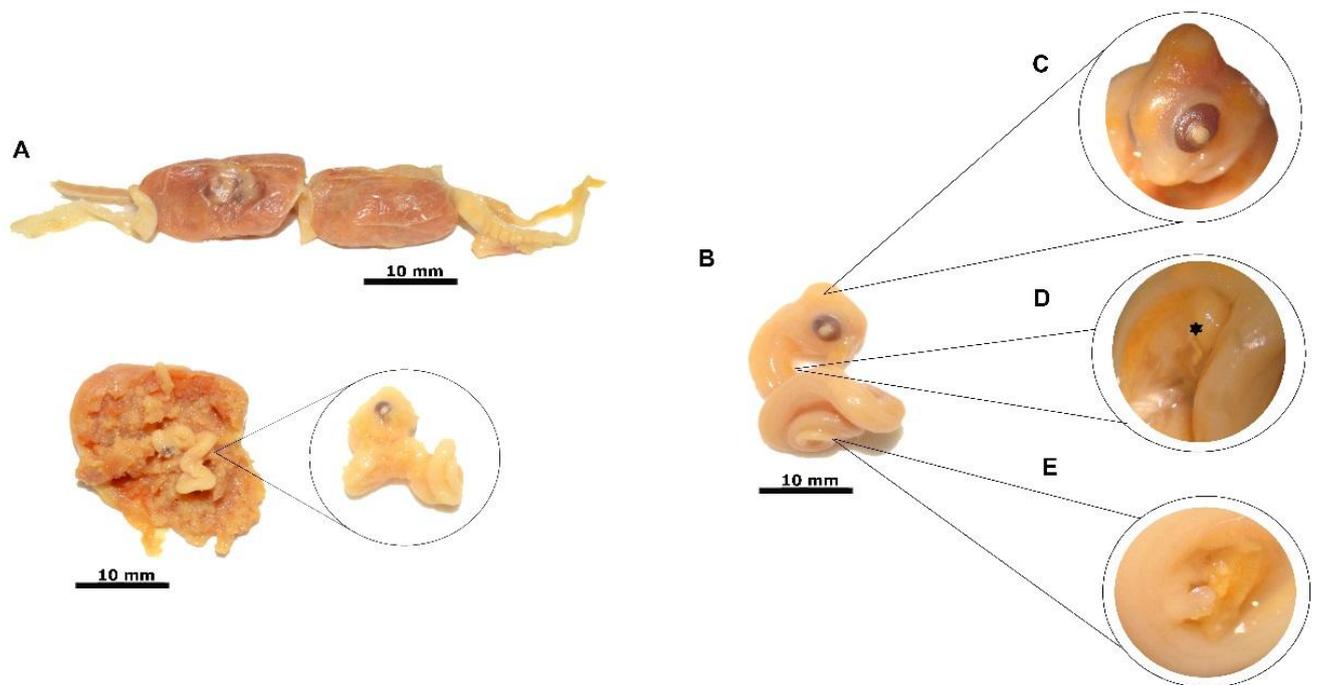
EDE 21. (A) Embriões recobertos por câmaras isolados por constrição. A parede uterina apresenta-se distendida ao redor dos embriões e abaixo dela observa-se uma fina membrana do corioalantóide; (B) Embrião com o corpo enrolado em uma a duas voltas; início da formação cardíaca; e o alantóide inflado, início da formação ocular, fenda nasal presente, cavidade cardíaca mais desenvolvida e o tubo neural aberto na sua porção anterior. EDE 23. (C) Embrião enrolado em duas a três voltas e meia; além dos caracteres anteriores, observa-se o aumento do hemisfério cerebral dos embriões e olhos ainda não pigmentados (Figura 8).

Figura 8. Embriões de *Bothrops erythromelas* nos estágios de desenvolvimento 21(B) e 23(C).



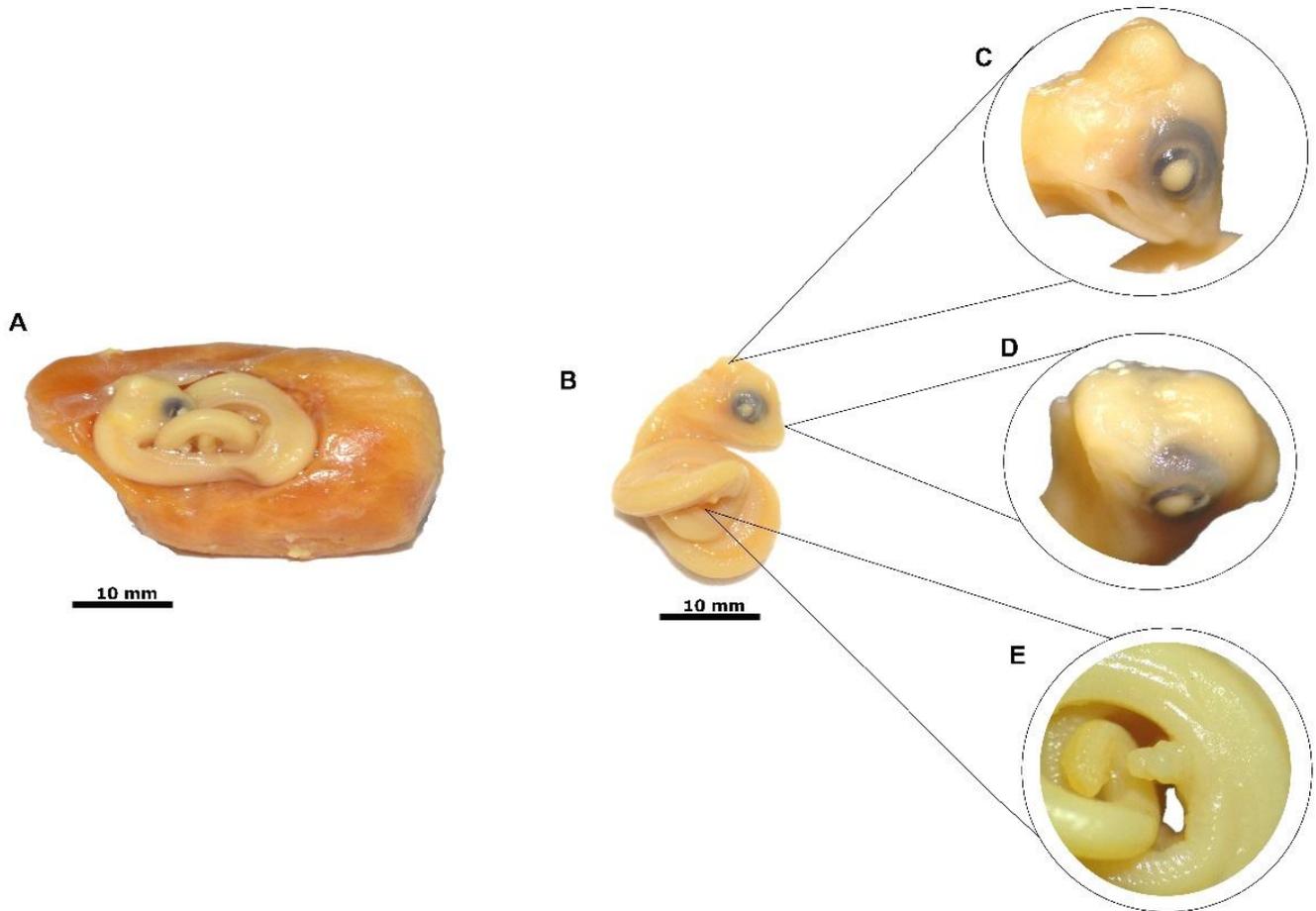
EDE 29. (A) Embrião enrolado em quatro a três voltas e meia dentro da cavidade vitelínica; (B) escamas ainda não visíveis e a pele ainda sem pigmentação; (C) o cérebro é pouco visível através da transparência dos tecidos neurocraniais; a membrana palpebral recobre parcialmente o olho que não apresenta densa pigmentação; as narinas externas não estão presentes nos processos nasais que foram fusionados; (D) coração visível pela delgada e transparente parede ventral; (E) e se observa a presença das glândulas cloacais evertidas (Figura 9).

Figura 9. Embriões de *Bothrops erythromelas* no estágio de desenvolvimento 29.



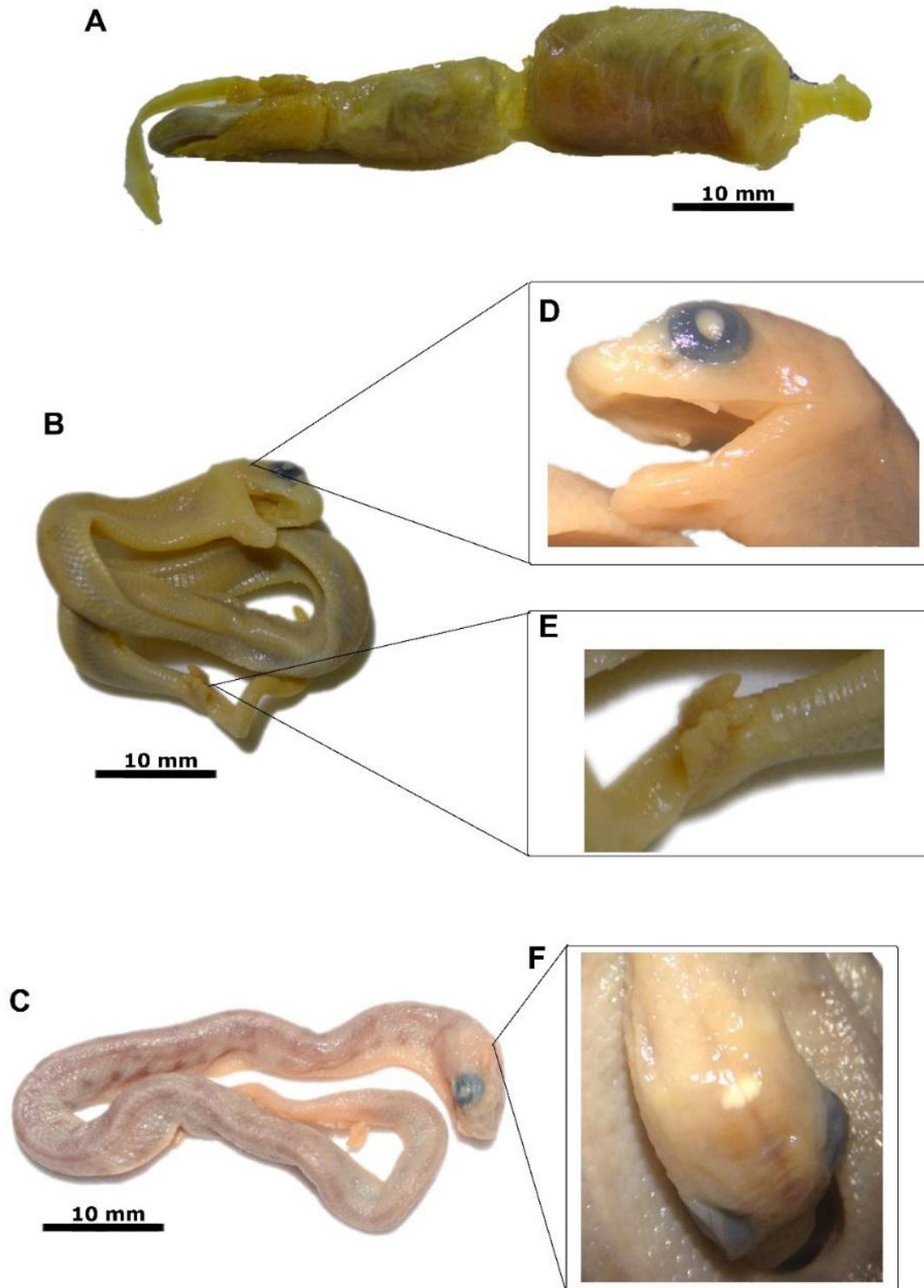
EDE 33. (A) Embrião enrolado em três voltas dentro da cavidade formada por bastante vitelo e recoberto pela membrana do corioalontóide; (B) o embrião apresenta as escamas ventrais mais próximas medialmente, dificultando a visualização do coração; (C) as escamas recobrem todo o corpo, exceto a cabeça e já foram fusionadas na região pré-cardíaca; a membrana palpebral recobre parcialmente o olho que apresenta densa pigmentação; (D) as narinas externas estão em formação nos processos nasais que foram fusionados e os processos mandibulares também estão fusionados; a pele ainda sem pigmentação; (E) se observa a presença das glândulas cloacais evertidas (Figura 10).

Figura 10. Embriões de *Bothrops erythromelas* no estágio de desenvolvimento 33.



EDE 35. (A) Embriões recobertos por câmeras separadas por uma constrição isolando cada embrião. A parede uterina apresenta-se distendida ao redor dos embriões e abaixo dela observa-se uma fina membrana do corioalontóide; (B) A musculatura da parede do corpo e as escamas ventrais foram completamente fusionadas na linha mediana ventral, mas a pigmentação ainda é ausente; (C) a pigmentação já está presente, mas o padrão ainda não é bem desenvolvido; (D) as escamas ao redor da boca e dos olhos são visíveis, escamas da fosseta loreal ainda não fusionadas e já é possível observar a formação de dente; (E) os machos apresentam hemipênis ainda evertidos; (F) as escamas que recobrem a cabeça não estão completamente formadas (Figura 11).

Figura 11. Embriões de *Bothrops erythromelas* no estágio de desenvolvimento 35.



EDE 37 (último estágio da tabela). (A) Embriões recobertos por câmeras separadas por uma constrição isolando cada embrião. A parede uterina apresenta-se distendida ao redor dos embriões e abaixo dela observa-se uma fina membrana do corioalontóide, com embrião enrolado entre uma a três voltas alongadas; apresenta densa pigmentação, com o típico padrão da espécie, sendo um pouco mais clara que nos filhotes recém-nascidos; (B) cordão umbilical ligando o embrião ao vitelo; (C) o cérebro já não pode ser visto através das escamas craniais; (D) e os hemipênis, estão em processo de inversão para o interior da base da cauda (Figura 12).

Figura 12. Embriões de *Bothrops erythromelas* no estágio de desenvolvimento 37.

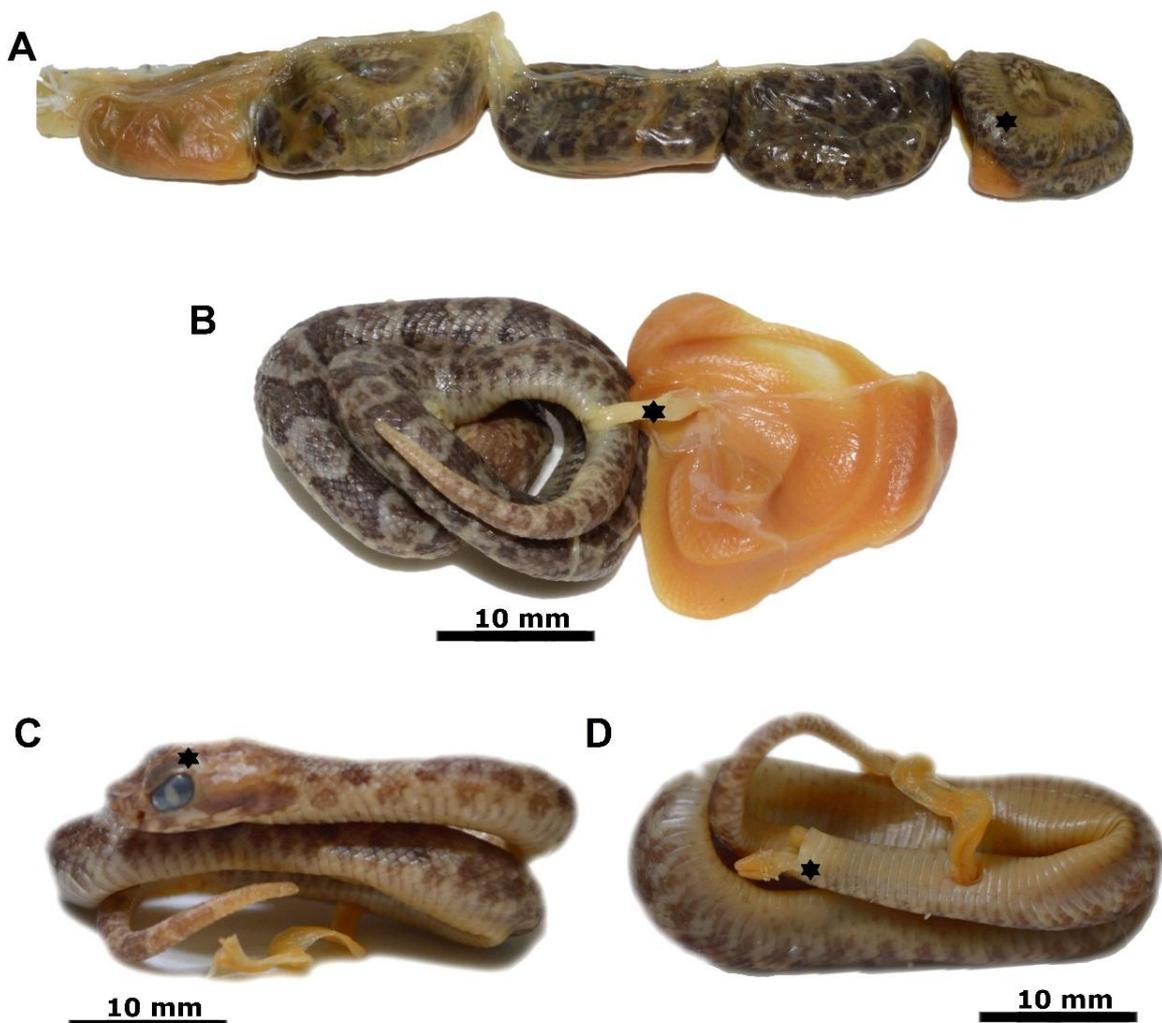


Figura 13. Ovo atrésico de *Bothrops erythromelas* apresentando apenas vitelo sem desenvolvimento aparente de embrião.



DISCUSSÃO

De acordo com os resultados, o oviduto de *Bothrops erythromelas* não apresentou diferenças em relação às demais descrições existentes na literatura (KARINA et al., 2013; BARROS; ROJAS; ALMEIDA-SANTOS, 2014; REIS et al., 2015). Sendo observado um padrão assimétrico caracterizado por um oviduto direito (maior) mais cranial e um esquerdo (menor) mais caudal. Esse padrão macroscópico é observado comumente na maioria das serpentes, porém, essa assimetria pode variar dependendo da espécie em questão (BLACKBURN, 1998; GIRLING, 2002; SIEGEL et al., 2011). Segundo Perkins e Palmer (1996) a diferença do comprimento de cada oviduto, tem por objetivo otimizar o espaço na cavidade celomática durante a gravidez ou gestação. Nas espécies vivíparas, o desenvolvimento fetal é completado dentro do útero, o qual contribui para a formação da placenta que sustenta o feto (BLACKBURN, 1998).

O dimorfismo sexual no tamanho do corpo e cauda é comumente observado entre as espécies do gênero *Bothrops*, com fêmeas apresentando maiores tamanhos corporais e machos caudas maiores (ALMEIDA-SANTOS, 2005; MONTEIRO et al., 2006; NUNES et al., 2010; BARROS, 2011; MARQUES, 2013). Corroborando em parte com este trabalho, pois as fêmeas apresentaram todos os tamanhos corporais,

maiores que os machos (Tabela 2), característica que indica que essa espécie não realiza o comportamento de combate entre os machos. Além disso, as fêmeas de *B. erythromelas* atingiram a maturidade sexual com um tamanho corporal maior do que os machos, assim como em outras espécies de serpentes (PARKER; PLUMMER, 1987), inclusive do gênero *Bothrops* (NOGUEIRA et al., 2003; ALMEIDA-SANTOS, 2005; HARTMANN et al., 2004). A vantagem de fêmeas atingirem maiores tamanhos e maturidade sexual tardia em relação aos machos coespecíficos está relacionada aos benefícios reprodutivos, o qual aumentariam as possibilidades de gerarem mais descendentes pois os custos reprodutivos das fêmeas com a produção da prole são mais altos e fêmeas maiores geralmente produzem ninhadas maiores (SHINE, 1994; BONNET et al., 2003). A baixa fecundidade em *B. erythromelas* pode estar relacionada ao tamanho pequeno do corpo desta espécie, como ocorre com outras espécies do grupo *B. neuwiedi* (VALDUJO et al., 2002; HARTMANN et al., 2004; MONTEIRO et al., 2006). O tamanho da ninhada em *B. erythromelas* pode variar entre 3 a 11 filhotes (LIRA-DA-SILVA et al., 1994) com exceção da ninhada encontrada por Reis et al. (2015) com 21 filhotes de *B. erythromelas* sendo que esses exemplares fazem parte do presente estudo, indicando que a fêmea investe alta proporção de suas reservas energéticas na produção de uma ninhada.

O ciclo reprodutivo das fêmeas de *B. erythromelas* é sazonal e a época de ocorrência dos eventos reprodutivos como cópula, ovulação/fertilização é na estação seca e o nascimento dos filhotes no verão, apresentando um padrão conservativo em relação ao gênero *Bothrops* como foi proposto por Almeida-Santos e Salomão (2002). A vitelogênese primária é encontrada ao longo de todo o ano e a secundária, geralmente tem início na estação seca e sendo finalizada na estação chuvosa. Durante a vitelogênese secundária, a gordura abdominal é transformada em vitelo, e essa transformação é mediada pela vitelogenina (proteína precursora do vitelo) e então ocorre a deposição de vitelo nos folículos via corrente sanguínea (MARQUES et al., 2009). Entre a cópula e o término da vitelogênese secundária, os espermatozoides permanecem estocados até a fertilização durante a estação seca. A prenhez ocorre na estação seca e os nascimentos no verão (estação chuvosa) (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002). O mesmo padrão também foi encontrado por Reis et al. (2015) e Ribeiro et al. (2012), em espécimes de *B. erythromelas* mantidos em cativeiro no nordeste do Brasil onde foram observados nascimentos nos meses de dezembro e janeiro (estação chuvosa), mesmo em condições

ambientais (fotoperíodo, temperatura e umidade) completamente diferentes do habitat natural. Dessa forma, defende-se que as altas temperaturas propiciam maior disponibilidade de alimento (presas ectotérmicas) para os filhotes após o nascimento no verão (entre janeiro e março) (ALMEIDA-SANTOS, 2005).

A contração muscular uterina (UMT), onde ocorre a estocagem de esperma no trato reprodutivo de fêmea dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*, principalmente durante a estação seca (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 1997; ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002), não foi identificada nas fêmeas de *B. erythromelas* examinadas neste estudo. O mesmo ocorreu em um estudo realizado por Almeida-Santos e Salomão (2002) sobre estocagem de esperma no gênero *Bothrops*, em que das 13 espécies estudadas, somente em *B. erythromelas* não foi encontrada a UMT, principalmente porque é mais difícil a visualização da UMT em fêmeas de menor tamanho. Porém, como a cópula e a ovulação também são eventos dissociados nesta espécie, é esperado que ocorra estocagem de esperma no trato reprodutivo das fêmeas.

Mesmo que os resultados desse estudo (e.g. comprimento dos testículos e diâmetro do canal deferente) indiquem que o ciclo reprodutivo dos machos de *B. erythromelas* seja sazonal, Barros (2011, 2014) diz que as características mais específicas do seu ciclo reprodutivo somente podem ser descobertas por meio de análises histológicas, como ocorre com outras espécies de serpentes. Não obstante, o testículo das serpentes geralmente aumenta de tamanho durante a espermatogênese (VOLSØE, 1944; GRIBBINS; RHEUBERT, 2011), de forma que medidas macroscópicas como tamanho e volume (PLEGUEZUELOS; FERICHE, 1999) são comumente utilizadas como indicador da atividade espermatogênica (ALVES et al., 2005; SCARTOZZONI et al., 2009; NUNES et al., 2010; GOMES; MARQUES, 2012; BELLINI et al., 2013).

Segundo Almeida-Santos e Salomão (2002), a espermatogênese ocorre durante a estação chuvosa e os espermatozoides permanecem estocados no ducto deferente até o momento da cópula que ocorre na estação seca (abril e maio – outono), quando o epitélio germinativo do testículo encontra-se inativo e o epitélio do ducto deferente encontra-se alto e secretivo. Assim, corroborando esse estudo que deixa bem claro que existe um padrão relacionando o diâmetro do ducto deferente com período fértil das fêmeas, indicando claramente que os machos realizam a estocagem de esperma durante a estação seca. Desta forma, mais estudos são

necessários para confirmar ou revelar outras estratégias reprodutivas do ciclo desses machos.

Descrições morfológicas são os primeiros passos na biologia do desenvolvimento para estabelecer padrões e conhecer as diferenças estruturais entre os organismos. Isto só é possível com a identificação das estruturas que são formadas ao longo do desenvolvimento do embrião dos diversos grupos de vertebrados (*c.f.* CAVLAC, 2009). Ainda são poucas as tabelas de estágios de desenvolvimento embrionário de espécies modelos (ZEHR, 1962; YNTEMA, 1968), mas essa realidade vem mudando com o surgimento de novos trabalhos (HUA et. al., 2004; IUNGMAN et. al., 2008; CAVLAC, 2009), porém, informações sobre a biologia do desenvolvimento de répteis (não avianos) ainda são muito escassas na literatura científica (CAVLAC, 2009).

O desenvolvimento embrionário de *Bothrops erythromelas* é relativamente similar ao descrito para outras serpentes, apesar de não apresentar os estágios mais iniciais de desenvolvimento das serpentes ovíparas (JACKSON, 2002; BOUGHNER et. al., 2007). Para as serpentes vivíparas, a tabela de Zehr (1962) é a mais completa tabela de desenvolvimento embrionário, com descrições que vão desde a fecundação até o nascimento (estágio 1 ao 37). Porém, apesar de ser a mais abrangente no desenvolvimento de serpentes, as descrições dos estágios e as figuras ilustrativas são em geral pouco detalhadas, e há ausência de informações sobre muitos caracteres ou a informação sobre um caráter em um estágio pontual, dificulta a classificação comparativa dos estágios. Dessa forma, as informações da tabela de Cavlac (2009) para *Oxyrhopus guibei*, uma espécie ovípara, contribui significativamente na complementação das descrições dos embriões.

Os ovos atrésicos são caracterizados pela presença de uma massa dura de vitelo e decorrentes de uma falha no processo de desenvolvimento do embrião (JANEIRO-CINQUINI, 2004). Como causa para esse fenômeno, tanto da presença quanto do número de ovos atrésicos, algumas hipóteses podem ser inferidas. Segundo Goulart (2004), a atresia em serpentes pode ter diferentes causas, desde distocias nos estágios gestacionais ou relacionada à migração incompleta do vitelo para o abdômen e deficiência nutricional. Silva et al. (2014) observaram a liberação de ovos atrésicos por uma fêmea de *B. moojeni* ao estudar reprodução de espécies do gênero *Bothrops* em cativeiro, julgando que a causa pode se tratar de uma deficiência de compatibilidade ambiental encontrada em animais que são

condicionados ao cativeiro ou à dificuldade de adaptação de serpentes ao confinamento.

CONCLUSÕES

Os machos de *Bothrops erythromelas* alcançam a maturidade sexual com comprimento menor que as fêmeas e os ciclos reprodutivos de machos e fêmeas são sazonais, assim como em outras espécies do gênero *Bothrops*.

O período reprodutivo em fêmeas é semelhante ao de outras espécies de *Bothrops* que vivem em diferentes biomas.

Para os machos, o tempo da espermatogênese está ligado à estação chuvosa para a maioria dos indivíduos. Em fêmeas de *B. erythromelas*, os folículos vitelogênicos primários são encontrados em todas as estações do ano.

A estocagem de esperma nas fêmeas de *B. erythromelas* não foi confirmada neste estudo, pois fêmeas apresentando contração muscular uterina não foram identificadas.

Quanto ao dimorfismo sexual as fêmeas foram maiores que os machos coespecíficos em todas as categorias analisadas (Comprimento rostro-cloacal, comprimento da cauda e circunferência).

Além de apresentar o primeiro relato de descrição de desenvolvimento embrionário para *Bothrops erythromelas*, formando uma base inicial para estudos comparativos entre as serpentes, tendo como ponto crítico, não a definição do número absoluto de estágios ou a classificação exata dentro de um estágio criado em uma tabela, mas sim a identificação ou a comparação de estruturas homólogas observadas com o desenvolvimento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

ALMEIDA-SANTOS, S.M. **Modelos reprodutivos em serpentes: estocagem de esperma e placentação em *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)**. Dissertação de Doutorado em Ciências. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Cirurgia. Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005. 204p.

ALMEIDA-SANTOS, S. M.; SALOMÃO, M. G. Long-term sperm storage in the neotropical rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* (Viperidae: Crotalinae). **Japanese Journal of Herpetology**, 17: 4652. 1997.

ALMEIDA-SANTOS, S.M.; ORSI, A.M. Ciclo reprodutivo de *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae): morfologia e função dos ovidutos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. 2002. v.26: 109-112

ALMEIDA-SANTOS, S.M.; SALOMÃO, M.G. Reproduction in neotropical pitvipers, with emphasis on species of the genus *Bothrops*. Pp. 445-462. In: G.W. Schuett; M. Höggren; M.E. Douglas; H.W. Greene (Eds.). **Biology of the vipers**. Eagle Mountain, Utah, 2002. 580p.

ALVES, F. Q.; ARGOLO, A. J. S.; JIM, J. Biologia reprodutiva de *Dipsas neivai* Amaral e *D. catesbyi* (Santzen) (Serpentes, Colubridae) no sudeste da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 22: 573-579. 2005.

AMARAL, A. DO. **Serpentes do Brasil**. Iconografia colorida. São Paulo, Edições Melhoramentos, Editora da Universidade de São Paulo. 2ª ed., 1977. 246p.

AUBRET, F.; BONNET, X.; SHINE, R.; LOURDAIS, O. Fat is sexy for females but not males: the influence of body reserves on reproduction in snakes (*Vipera aspis*). **Hormones and Behavior**. 2002. 42, 135–147.

BARROS, V. A. **Biologia reprodutiva de três espécies de serpentes da Família Viperidae da região neotropical** [dissertação]. São José do Rio Preto: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, 2011.

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

BARROS, V. A.; ROJAS, C. A.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Reproductive biology of *Bothrops erythromelas* from the Brazilian Caatinga. **Advances in Zoology**, v.

2014, 2014.

BAUMAN, M. A.; METTER, D. E. Reproductive cycle of the northern watersnake, *Natrix s. sipedon* (Reptilia, Serpentes, Colubridae). **Journal of Herpetology**. 1977. 11:51-59.

BELLINI, G. P.; ARZAMENDIA, V.; GIRAUDO, A. R. Ecology of *Thamnodynastes hypoconia* in subtropical-temperate South America. **Herpetologica**. 2013. 69: 67-79.

BERNARDE, P. S. Mudanças na Classificação de Serpentes Peçonhentas Brasileiras e suas Implicações na Literatura Médica. Universidade Federal do Acre, **Gazeta Médica da Bahia**. 2011. V. 81, p.55-63.

BÉRNILS, R. S.; COSTA, E H. C. (org.). **Brazilian reptiles: List of species**. Version 2015. Sociedade Brasileira de Herpetologia. Acessado em 17 de agosto de 2016. www.sbherpetologia.org.br.

BLACKBURN, D. G. Structure, function and evolution of the oviducts of squamate reptiles, with special reference to viviparity and placentation. **Journal of experimental zoology**. 1998. 282: 560-617.

BONNET, X.; SHINE, R.; LOURDAIS, O.; NAULLEAU, G. Measures of reproductive allometry are sensitive to sampling bias. **Functional Ecology** 17: 39–49. 2003.

BONNET, X. In the evolution of semelparity. In: Aldridge RD, Sever DM. Reproductive biology and phylogeny of snakes. Enfield, **New Hampshire: Science Publishers**. 2011. p.645-74.

BOUGHNER, J. C.; BUCHTOVÁ, M.; FU, K.; DIEWERT, V.; HALLGRÍMSSON, B.; RICHMAN, J. M. Embryonic development of *Python sebae*–I: Staging criteria and macroscopic skeletal morphogenesis of the head and limbs. **Zoology**, v. 110, n. 3, p. 212-230, 2007.

CALLARD, I. P.; KLEIS, S. M. Reproduction in reptiles. In: CHESTER-JONES, I.; INGLETON, P. M.; PHILLIPS, J. G. **Fundamentals of comparative vertebrate endocrinology**. New York: Plenum, 1987. p. 187-205.

CAMPBELL, J.A.; LAMAR, W.W. **The venomous reptiles of the Western Hemisphere**. Vol I and II. Cornell University Press, New York. 2004. 71 pp.

CARRASCO, P. A.; MATTONI, C.I.; LEYNAUD, G.C.; SCROCCHI, G.J. Morphology, phylogeny and taxonomy of South American bothropoid pitvipers (Serpentes, Viperidae). **Zoologica Scripta**, 1. 2012. 1-16.

CADLE, J.E. Phylogenetic relationships among vipers: immunological evidence. Pp. 41 -48 in J.A. Campbell and E.D.B. Jr (Eds.), **Biology of the Pitvipers**. Selva, Tyler. 41-48. 1992.

- CAVLAC, C. L. **Caracterização do desenvolvimento e da hematopoese embrionária da serpente falsa-coral *Oxyrhopus guibei* (Serpentes: Dipsadidae) a partir da oviposição.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2009.
- DAVID, G.; LEWIS, T. R. Hatching neonates of *Sibon annulatus* (Günther, 1872) in a Manicaria swamp forest. Costa Rica. **Herpetology Notes**. 4: 269. 2011.
- DE MESQUITA, P. C. M. D.; BORGES-NOJOSA, D. M.; PASSOS, D. C.; BEZERRA, H. Ecology of *Philodryas nattereri* in the Brazilian semi-arid region. **Herpetological**. 21, pp. 193-198. 2011.
- DOWNLING, H. G.; SAVAGE, J. M. A guide to the snake hemipenis: a survey of basic structure and systematic characteristics. **Zoologica** 45:17-28.52(4):439-459. 1960.
- DUVALL, D. Environmental control of reptilian reproductive cycles. In: GANS, C.; POUGH, F. H. (Eds.). **Biology of Reptilia**. New York: Academic Press, p.201-231. 1982.
- FENWICK, A.M.; GUTBERLET JR, R. L.; EVANS, J. A.; PARKINSON, C. L. Morphological and molecular evidence for phylogeny and classification of South American pitvipers, genera *Bothrops*, *Bothriopsis*, and *Bothrocophias* (Serpentes: Viperidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v.156, p. 617–640, 2009.
- FIGUEROA, A.; LEWIS, T. R.; MOONEY, P. Notes on Reproduction in *Oxybelis fulgidus* from Costa Rica. **Herpetology Notes**. volume 6: 29-31. 2013.
- FITCH, H. S. Natural history of the racer, *Coluber constrictor*. University of Kansas, **Museum of Natural History Miscellaneous Publication**. Lawrence:351 -468. 1963.
- FITCH, H. S. Reproductive cycles in lizards and snakes. University of Kansas, **Museum of Natural History Miscellaneous Publication**. 52: 1247. 1970.
- FITCH, H. S. Sexual size differences in reptiles. University of Kansas, **Museum of Natural History Miscellaneous Publication**. 70: 172. 1981.
- FITCH, H. S. Collecting and life-history techniques. **Snakes: ecology and evolutionary biology**, p. 143-164, 1987.
- FURTADO, M.F.D. Aspectos sistemáticos e biológicos que atuam na diversidade da composição de venenos em serpentes peçonhentas brasileiras. Pp. 183-200 in L.B. Nascimento and M.E. Oliveira (Eds.), **Herpetologia no Brasil II. Sociedade Brasileira de Herpetologia**, Belo Horizonte.2007. 183-200.
- GIBBONS, J. W. Reproduction, growth, and sexual dimorphism in the canebrake rattlesnake (*Crotalus horridus attricaudatus*). **Copeia**. Lawrence, 1972:222-226. 1972.

- GIRLING, J.E. The reptilian oviduct: a review of structure and function and directions for future research. **Journal of Experimental Zoology**, v. 293, p. 141-170, 2002.
- GOLDBERG, S. R.; PARKER, W. S. Seasonal testicular histology of the colubrid snakes, *Masticophis taeniatus* and *Pituophis melanoleucus*. **Herpetologica**, 31: 317-322. 1975.
- GOMES, N.; PUORTO, G. Atlas Anatômico de *Bothrops jararaca* Wied, 1824 (Serpentes: Viperidae). **Memórias do Instituto Butantan**. 55(1):69-100. 1993.
- GOMES, C.A.; MARQUES, O.A.V. Food habits, reproductive biology, and seasonal activity of the dipsadid snake, *Echivanthera undulata* (Wied, 1824), from the Atlantic forest in southeastern Brazil. **South Am. J. Herpetol**, 7: 233-240. 2012.
- GOULART, C. E. S. Herpetologia, Herpetocultura e Medicina de Répteis. 1. ed. Rio de Janeiro, **L. f. Livros de Veterinária**, 2004.
- GREGORY, P. T.; LARSEN, K. W.; FARR, D. R. Snake litter size = live young + dead young + yolks. **Herpetological Journal**. 2: 145-146. 1992.
- GRIBBINS, K. M.; GIST, D. H. The cytological evaluation of spermatogenesis within the germinal epithelium of the male European wall lizard, *Podarcis muralis*. **Journal of Morphology**. 258: 296-306. 2003.
- GRIBBINS, K. M.; RHEUBERT, J. M. 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. 2011.
- GUEDES, T.B. **Estrutura da comunidade de serpentes de uma área de Caatinga do Nordeste Brasileiro**. (Dissertação). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil. 2006.
- GUEDES, T. B.; NOGUEIRA, C.; MARQUES, O. A. V. **Diversity, natural history, and geographic distribution of snakes in the Caatinga, Northeastern Brazil**. (Zootaxa3863) 93 pp.; 19 Sept. 2014.
- GUILLETTE, L. J.; FOX, S. L. ; PALMER, B. D. Oviductal morphology and egg shelling in the oviparous lizards *Crotaphytus collaris* and *Eumeces obsoletus*. **Journal of Morphology**, v. 201, p. 145–159, 1989.
- HARTMANN, M.T.; MARQUES, O.A.V. E; ALMEIDA-SANTOS, S.M. Reproductive biology of the southern Brazilian pitviper *Bothrops neuwiedi pubescens* (Serpentes, Viperidae). **Amphibia-Reptilia** 25:77-85. 2004.
- HEDGES, S.B.; VIDAL, N. **Lizards, snakes, and amphisbaenians (Squamata)**. In: HEDGES, S.B.; KUMAR, S. (Eds.). The Timetree of Life. New York: Oxford University, 2009, p. 383-389.

- HUA, T. M.; WANG, C. L.; CHEN, B. H. Stages of embryonic development for *Alligator sinensis*. **Zoological Research**, v. 25, n. 3, p. 263-271. 2004.
- IUNGMAN, J.; PIÑA, C. I.; SIROSKI, P. Embryological development of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae). **genesis**, v. 46, n. 8, p. 401-417, 2008.
- JACKSON, K. Post-ovipositional development of the monocled cobra, *Naja kaouthia* (Serpentes: Elapidae). **Zoology**, v. 105, n. 3, p. 203-214, 2002.
- JANEIRO-CINQUINI, T.R.F.; LEINZ, F.F. Ovarian cycle of the snake *Bothrops jararaca*. **Mem Inst Butantan**. 55:33-6, 1993.
- JANEIRO-CINQUINI, T. R. F. Reproductive capacity of *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae). **Iheringia. Série Zoologia**, v. 94, n. 4, p. 429-431, 2004.
- JANZEN, D. H.; SCHOENER, T. W. Differences in insect abundance and diversity between wetter and drier sites during a tropical dry season. **Ecology**. 49, 96-110. 1968.
- JUNIOR, N. C. C. Comparação do potencial neutralizante dos soros antibotróbico comercial e experimental frente as atividades biológicas dos venenos de *Bothrops jararaca* e *Bothrops erythromelas*, **Instituto Butantan**. 2008. 79 p.
- KASPEROVICZUS, K. N. **Biologia reprodutiva da jararaca Ilhoa, *Bothrops insularis*, (Serpentes: Viperidae) da Ilha da Queimada Grande, São Paulo [dissertação]**. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2009.
- KAY, I. Thermoregulation in animals. In: _____. Introduction to Animal Physiology. Oxford: **BIOS Scientific Publishers**, Cap. 6. p. 91-105. 1998.
- KIHARA, H. Sex composition and reproduction of habu, *Trimeresurus flavoviridis*, the venomous snake. **The Snake**, *Nugata*. 17:135-139. 1985.
- KING, R. Sexual dimorphism in snakes tail length: sexual selection, natural selection, or morphological constraint? **Biological Journal of the Linnean Society**. 1989. 38: 133-154.
- KING, R. B. Analyzing the relationship between clutch size and female body size in reptiles. **Journal of Herpetology**, Kansas. 34(1):148-150. 2000.
- KROHMER, R. W., MARTINEZ, D. E MASON, R. T. Development of the renal sexual segment in immature snakes: Effect of sex steroid hormones. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 139: 5564. 2004.
- KOFRON, C.P. Female reproductive cycle of the Neotropical snail-eating snake *Sibon sanniola* in Northern Yucatan, México. **Copeia**. 4:963-969. 1983.
- LELOUP, P. Observation sur la reproduction de *Bothrops moojeni* en captivité. **Acta Zoologica et Pathologica Antverpiensia**, Antwerpen. 65: 173-201. 1975.

LIRA-DA-SILVA, R. J.; CASAIS-E-SILVA, L. L.; QUEIROZ, I. B.; NUNES, T. B. Contribuição à biologia de serpentes da Bahia, Brasil. L vívparas. **Revista Brasileira Zoologia**. 1994;11:187-93.

MARION, K. R. Reproductive cues for gonadal development in temperate reptiles: temperature and photoperiod effects on the testicular cycle of the lizard *Sceloporus undulatus*. **Herpetologica**. 38, 29-39. 1982.

MARQUES O.A.V.; ALMEIDA-SANTOS S.M.; RODRIGUES M.; CAMARGO R. Mating and reproductive cycle in the neotropical colubrid snake *Chironius bicarinatus*. **South American Journal of Herpetology**.4:76-80. 2009.

MARQUES, O.A.V.; KASPEROVICZUS, K.N.; ALMEIDA-SANTOS, S.M. Reproductive ecology of the threatened pitviper *Bothrops insularis* from Queimada Grande Island, southeast Brazil. **Journal of Herpetology** 47: 393-399. 2013.

MARTINS, M.; OLIVEIRA, M.E. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. **Herpetological Natural History**. 6:78-150. 1998.

MARTINS, M.; ARAUJO, M. S.; SAWAYA, R. J.; NUNES, R. Diversity and evolution of macrohabitat use, body size and morphology in a monophyletic group of Neotropical pitvipers (*Bothrops*). **Journal of Zoology (London)**, 254. 529-538. 2001.

MARTINS, M.; MARQUES, O. A. V.; SAZIMA, I. Ecological and phylogenetic correlates of feeding habits in neotropical pitvipers of the genus *Bothrops*. In *Biology of the Vipers*, G. W. Schuett, M. Hoggren, M. E. Douglas, and H. W. Greene, Eds., **Eagle Mountain Publishing, Eagle Mountain**, Utah, Utah, 2002.

MATHIES, T. Reproductive Cycles of Tropical Snakes In *Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes*.511–550. Aldridge, R. D.; Sever, D. M. (eds). Enfield: **Science Publishers**. 2011.

MCDIARMID, R. W.; CAMPBELL, J. A.; TOURÉ, T. A. Snake species of the world: a taxonomic and geographic reference. **The Herpetologists' League**, Washington, 512. 1999.

MONTEIRO, C.; MONTGOMERY, C.E.; SPINA, F.; SAWAYA, R.J.; MARTINS, M. Feeding, reproduction, and morphology of *Bothrops mattogrossensis* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) in the Brazilian Pantanal. **Journal of Herpetology**. 40: 408-413. 2006.

MOSSMAN, H. W. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. **Carnegie of Institute Contributions Embriology**.. v. 26, p. 129-246. 1937.

NOGUEIRA, C.; SAWAYA, R. J.; MARTINS, M. Ecology of the pitviper, *Bothrops moojeni* in the Brazilian Cerrado. **Journal of Herpetology**. 37: 653-659. 2003

NUNES, S.F.; KAEFER, I.L.; LEITE, P.T.; CECHIN, S.Z. Reproductive and feeding biology of the pitviper *Rhinocerophis alternatus* from subtropical Brazil. **The Herpetological Journal** 20:31-39. 2010.

OGUIURA, N.; FERRAREZZI, H.; BATISTIC, R. F. Cytogenetics and molecular data in snakes: a phylogenetic approach. **Cytogenetic and Genome Research**. v. 127, p. 128-142. 2010.

PARKER, W.S., PLUMMER, M.V. Population ecology. In: Snakes: ecology and evolutionary biology, p. 253-301. Seigel, R.A., Collins, J.T., Novak, S.S., Eds., New York, **MacMillan Publ Co.** 1987

PANZERA, A.; MANEYRO, R. Reproductive biology of the snake *Liophis anomalus* (Günther, 1858, Dipsadidae, Xenodontinae). **The Herpetological Journal**. 23: 81-87. 2013.

PERKINS, M. J.; PALMER, B. D. Histology and functional morphology of the oviduct of an oviparous snake, *Diadophis punctatus*. **Journal of Morphology**, v. 227, p. 67–79, 1996.

PLEGUEZUELOS, J. M.; FERICHE, M. Reproductive ecology of the horseshoe whip snake, *Coluber hippocrepis*, in the southeast of the Iberian Peninsula. **Journal of Herpetology**, 33: 202-207. 1999.

POUGH, F.H.; HEISER, J.B.; JANIS, C.M. **A vida dos vertebrados**. Editora Atheneu, São Paulo. 2008. 718.

PYRON, R.A.; et al. The phylogeny of advanced snakes (Colubroidea), with discovery of a new subfamily and comparison of support methods for likelihood trees. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 58:329-342. 2011.

PYRON, R. A.; BURBRINK, F.T.; WIENS, J. J. A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. **BMC Evolutionary Biology** 13: 93. 2013.

REIS, P. M. A.; COELHO, R. D.; MENEZES, L. M.; RIBEIRO, L. B. Contribution to the Reproductive Biology of Bothrops erythromelas (Squamata: Viperidae) in the Semiarid Region of Brazil. **Herpetological Review**, v. 46, n. 3, p. 327-331, 2015.

RIBEIRO, S. C; SILVA, C. C. ; MAGALHAES, M. L. L. ; CAMPOS, H. M. P.; CABRAL, A. N. ; VALENCA, N. S. M. S. ; MOURA, H. V. C. ; GUARNIERI, M. C. *Bothropoides erythromelas* (Caatinga Lancehead) Reproduction. **Herpetological Review**, v. 43, p. 618-618, 2012.

ROJAS, C. A. **Modulação fisiológica do ciclo reprodutivo, comportamento sexual e atividade sazonal em *Sibynomorphus mikanii* e *Sibynomorphus neuwiedii* (dormideira)**. 2009. 118 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

ROJAS, C. A.; BARROS, V. A.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. The reproductive cycle of the male sleep snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) from southeastern Brazil. **Journal of Morphology**, 274: 215228. 2013.

SAINT-GIRONS, H. Reproductive cycles of male snakes and their relationships with climate and female reproductive cycles. **Herpetologica**. 38(1): 5-16. 1982.

SAZIMA, I. Natural history of the jararaca pitviper, *Bothrops jararaca*, in southeastern Brazil. Pp. 199-216. In: J.A. Campbell & E.D. Brodie-Jr (Eds.). **Biology of the Pitvipers**. Selva, Tyler, Texas, 452p. 1992.

SCARTOZZONI, R. R.; SALOMÃO, M. G.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Natural history of the vine snake *Oxybelis fulgidus* (Serpentes, Colubridae) from Brazil. **South American Journal of Herpetology**. 4: 8189. 2009.

SCHUETT, G.W. Is long-term sperm storage an important component of the reproductive biology of temperate pitvipers?. Pp. 169-184. In: J.A. Campbell; E.D. Brodie-Jr (Eds.). **Biology of the Pitvipers**. Selva, Tyler, Texas. 452p. 1992.

SCHUETT, GORDON W.; Carlisle, S. L.; Holycross, A. T.; O'LEILE, J. K.; HARDY SR, D. L.; VAN KIRK, E. A.; MURDOCH, W. J. Mating system of male Mojave rattlesnakes (*Crotalus scutulatus*): seasonal timing of mating, agonistic behavior, spermatogenesis, sexual segment of the kidney, and plasma sex steroids. **Biology of the Vipers**. Eagle Mountain Publishing, Eagle Mountain, Utah, USA, p. 515-532, 2002.

SEIGEL, R. A.; FORD, N. B. Reproductive Ecology. In: _____. **Snakes: ecology and evolutionary biology**. New York: Macmillan. p. 210-252. 1987.

SHINE, R. Sexual size dimorphism and male combat in snakes. **Oecologia**, 33, 269278. 1978.

SHINE, R. "Costs" of reproduction in reptiles. **Oecologia**, 46: 92100. 1980.

SHINE, R. Food habits and reproductive biology of small Australian snakes of the genera *Uroechis* and *Suta* (Elapidae). **Journal of Herpetology**, 22: 307-315. 1988.

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

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

SHINE, R. Reproductive strategies in snakes. **The Royal Society Review**, Berlin, v. 270, p. 995-1004, 2003.

SHINE, R.; BONNET, X. Reproductive biology, population viability, and options for field management. In: S. J. Mullin e R. A. Seigel (Eds.), *Snakes – Ecology and*

Conservation. **Cornell University Press**, Ithaca. 2009.172-200.

SIEGEL, D. S.; MIRALLES, A.; CHABARRIA, R. E.; ALDRIDGE, R. D. Female reproductive anatomy: cloaca, oviduct and sperm storage. pp. 347-409. *In*: R. D. Aldridge e D. M. Sever (Eds.), **Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes**. Science Publishers, Enfield. 2011.

SILVA, K. M. P. D.; SUEIRO, L. R.; GALASSI, G. G.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. D. Reprodução de *Bothrops* spp. (Serpentes, Viperidae) em criadouro conservacionista. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 4, p. 632-642, 2014.

SIQUEIRA, D. M.; NASCIMENTO, L. P.; MONTINGELLI, G. G.; SANTOS-COSTA, M. C. D. Geographical variation in the reproduction and sexual dimorphism of the Boddaert's tropical racer, *Mastigodryas boddaerti* (Serpentes: Colubridae). **Zoologia** 30: 475-481. 2013.

SOARES, M. M. S. **Identificação taxonômica das serpentes coletadas no estado de Pernambuco**. 65f. (Monografia do Bacharelado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2001.

SOERENSEN, B. **Animais Peçonhentos: reconhecimento, distribuição geográfica, produção de soros, clínica e tratamento dos envenenamentos**. Livraria Atheneu Editora, São Paulo, 138. 1996.

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

SOUSA, K. R. M.; PRUDENTE, A. L. C.; MASCHIO, G. F. Reproduction and diet of *Imantodes cenchoa* (Dipsadidae: Dipsadinae) from the Brazilian Amazon. **Zoologia** 31: 8-19. 2014.

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

STEWART, J. R.; THOMPSON, M. B. Evolution of placentation among squamate reptiles: Recent research and future directions. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**. 127: 411-431. 2000.

TURNER, F. B. The dynamics of populations of squamates and crocodylians. *In*: GANS, C.; TINKLE, D. W. eds. **Biology of Reptilia**, New York, Academic. 1977. v. 7, p. 157-264.

UETZ, P. **The reptile database**. Karlsruhe: Research Center, 2009. Disponível em: <<http://www.reptile-database.org>> Acesso em 18 de mai. 2015.

UETZ, P.; HOŠEK, J. **The reptile database**. Disponível em: <<http://www.reptile-database.org>> Acesso em 20 de abr. 2016.

VALDUJO, P.H.; NOGUEIRA, C.; MARTINS, M. Ecology of *Bothrops neuwiedi pauloensis* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae) in the Brazilian Cerrado. **Journal of**

Herpetology, 36: 169-176. 2002.

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

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

VITT, L.J.; VANGILDER, L.D. Ecology of a snake community in Northeastern Brazil. **Amphibia-Reptilia**, 4, 273–296. 1983.

VOLSØE, H. Structure and seasonal variation of the male reproductive organs of *Vipera berus* (L.). **Spolia Zoologica Musei Hauniensis**, 5: 1157. 1944.

WOODDING, F. B.; FLINT, A. P. F. Placentation. In: LAMMING, G. E. **Marshall's physiology of reproductive**. 4. ed. London: Chapman and Hall, 1994. p. 186.

WÜSTER, W.; SALOMÃO, M. G.; QUIJADA-MASCAREÑAS, J. A.; THORPE, R. S.; DUCKETT, G. J.; PUORTO, M. G.; WARRELL, D. A. **Origin and evolution of the South American pitviper fauna: evidence from mitochondrial DNA sequence analysis**. in *Biology of the Vipers*, G. W. Schuett, M. Hoggren, M. E. Douglas, and H. W. Greene, Eds., Eagle Mountain Publishing, Eagle Mountain, Calif, USA, 2002.

YARON, Z. Reptile placentation and gestation: structure, function, and endocrine control. Pp. 527-603 in C. Gans and F. Billet (eds.), **Biology of the Reptilia**, vol. 15, Wiley, New York. 1985.

YNTEMA, C. L. A series of stages in the embryonic development of *Chelydra serpentina*. **Journal of Morphology**, v. 125, n. 2, p. 219-251, 1968.

ZAPPELLINI, A. **Estudos Bioquímico e Farmacológico da Peçonha de *Bothrops erythromelas***. UNICAMP, Campinas – SP. 57p. 1991.

ZEHR, D. R. Stages in the normal development of the common garter snake, *Thamnophis sirtalis sirtalis*. **Copeia**, p. 322-329, 1962.