

# RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 12/12/2024.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de São José do Rio Preto

Gabrieli Santos de Araújo

**Biologia reprodutiva das espécies de *Chironius***  
**(Serpentes, Colubridae)**

São José do Rio Preto

2023

Gabrieli Santos de Araújo

**Biologia reprodutiva das espécies de *Chironius*  
(Serpentes, Colubridae)**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CNPq

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Selma Maria de Almeida Santos

São José do Rio Preto

A663b Araújo, Gabrieli Santos de  
Biologia reprodutiva das espécies de Chironius (Serpentes,  
Colubridae) / Gabrieli Santos de Araújo. -- São José do Rio Preto,  
2024  
125 p. : il., tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio  
Preto

Orientadora: Selma Maria Almeida-Santos

1. Zoologia. 2. Reprodução. 3. História Natural. 4. Morfologia  
animal. 5. Histologia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Gabrieli Santos de Araújo

**Biologia reprodutiva das espécies de *Chironius*  
(Serpentes, Colubridae)**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CNPq

Comissão Examinadora

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Selma Maria de Almeida Santos (Orientadora)  
Instituto Butantan – São Paulo  
Orientadora

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Letícia Ruiz Sueiro  
Escola Superior do Instituto Butantan – São Paulo

Prof. Dr. Otavio Augusto Vuolo Marques  
Instituto Butantan – São Paulo

São Paulo

12 de dezembro de 2023

*Dedico este trabalho ao crescimento pessoal que esta jornada acadêmica me proporcionou, as emoções fortemente vividas e os desafios superados que resultaram em uma melhor versão de mim mesma.*

## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). O qual agradeço imensamente, pois sem financiamento, essa pesquisa científica encontraria diversas dificuldades e não seria possível desenvolvê-la.

À UNESP e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade do IBILCE (São José do Rio Preto). Ao Coordenador do Programa, Antonio Carlos Lofego, e todos os demais funcionários que me auxiliaram ao longo destes dois anos. À concessão de auxílios diários para realização de viagens para coleta de dados e participação em eventos científicos.

Aos curadores e funcionários das coleções herpetológicas, Dr. Felipe Grazziotin e Valdir Germano (IBSPCR/LCZ), Dr. Luis Felipe Toledo, Paulo Manzani e Karina Elisiário (ZUEC), Dr. Renato Feio (MZUFV), Dr. Paulo Passos, Dra. Manoela Cardoso e Dr. Pedro Pinna (MNRJ), Dr. Francisco Neto e Dra. Liliana Piatti (ZUFMS), Dr. Júlio Leite (MHNCI), Dr. Thiago Soares e Francieli Pugal (MBML), Dr. Henrique Costa (CHUFJF), Dr. Santiago Fisher, Dr. Carlos Lucena e Juliano Romanzini (MCP), Dra. Noeli Zanella (CRUPF), Dra. Luciana Nascimento (MCNR), Dr. Pedro Nunes e Dr. Pedro Simões (CHRUPE), MSc. Giselle Cotta e Dra. Flávia Resende (FUNED), pelo apoio e acolhimento durante as visitas realizadas e/ou logística para envio dos exemplares sob seus cuidados.

À Dra. Marta Maria Antoniazzi, Dr. Carlos Jared e Dra. Adriana Neves pela disponibilização dos equipamentos do Laboratório de Biologia Estrutural e Laboratório de Genética para o preparo das lâminas histológicas e fotografias microscópicas. Aos técnicos Pedro Fontana, Beatriz Mauricio, Luciana Sato e Dener Souza por todo apoio durante as atividades realizadas.

À minha orientadora, Dra. Selma Maria de Almeida-Santos, por me receber de forma tão acolhedora desde a iniciação científica, por acreditar em minha capacidade, pelas longas conversas cheias de conhecimento e carinho pela linha de pesquisa. Por ser uma grande referência como pesquisadora e mulher. Por me transmitir ainda mais amor pela ciência.

Ao Dr. Otavio Marques e Dra. Letícia Sueiro por aceitarem participar da banca da minha defesa e pelas considerações relevantes feitas. Aos Doutores Ricardo Sawaya e Henrique Braz por participarem como membros suplentes. Aos Doutores Alexandre Missassi e Luis Miguel Lobo pelas revisões e sugestões para com a dissertação durante a fase de qualificação.

À Dra. Serena Najara Migliore e Dr. Luis Miguel Lobo pelos ensinamentos quanto a dissecação, coleta e análise de dados ainda na iniciação científica, além da amizade que criamos ao longo desses anos. À Karina Silva por me ensinar a técnica de sutura dos animais após a dissecação e coleta, e assim permitir uma boa conservação dos órgãos internos dos mesmos.

À todos os amigos do LEEV/GERES!! À Érica, Rafael, Gabi Ramos, Isa, Fabiano, Lígia, Eletra, Tati, Rebeca e Bruno por todas as conversas úteis e inúteis, momentos de descontrações, muito apoio “técnico” e emocional. Que sorte a minha ter feito tantos amigos que levarei pra vida.

Em especial agradeço ao Renan, meu querido amigo de longa data, companheiro de viagens e de todas as atividades da graduação/pós-graduação, desde as coletas de dados até as revisões da dissertação. Agradeço a parceria em todos os momentos, bons e ruins, fáceis e difíceis. A nossa amizade tornou este processo muito mais leve e mais bem vivido. Obrigada de coração!

À Érica, Tyelli e Luan Lucas pela hospedagem durante as viagens para eventos da pós-graduação e coleta de dados, pelos passeios que fizemos, comilanças e tudo mais.

Aos técnicos do LEEV, Adriano, Bruno, Cristiene, Cinthia, Kelly, Márcia e Poli, por estarem dispostos a ajudar os alunos quando necessário.

Aos funcionários do LEEV, Regina, Dona Vera, Dona Maria, Darina, Dona Marta, Sr. Déda e alguns outros que eu possa ter esquecido de mencionar, por realizarem a manutenção e organização do laboratório.

À minha querida e grande família! À minha mãe, Francilene, por ter me proporcionado a vida! Obrigada por estar comigo e me apoiar em todas as minhas escolhas, por me ensinar a ser uma pessoa melhor a cada dia e por ser a minha referência como mulher e ser humano. Ao meu pai, Givanildo, por seu amor incondicional. Aos meus irmãos, Renato, Júlia e Sthefany. Em especial, ao Gabriel, por ser um grande exemplo de irmão mais velho, por ser a minha inspiração e me acolher sempre que preciso.

Aos meus avós, Suzete e Domingos, por cuidarem de mim de uma forma tão próxima e amorosa, por sempre estarem dispostos a me acompanhar onde for. À minha avó, Dona Dalva, por me acolher durante semanas em sua casa durante a graduação/pós-graduação e por todo amor demonstrado.

Aos meus tios, Francisco, Franklin e Daiana, por cuidarem de mim em diversas situações e todo amor e carinho. À minha tia Alda, pelo apoio e incentivo durante meu início no meio acadêmico, por ser uma referência em minha vida e por todo amor que existe entre nós.

À minha prima, Emilyn, pelas diversas conversas e trocas extremamente relevantes, pelas fases que compartilhamos juntas, por todo amor e carinho.

À todas as pessoas que de certa forma acompanharam este processo comigo.

Agradeço à Deus, Nossa Senhora Aparecida e esse grande universo, pois sei que forças maiores me auxiliaram durante todos esses anos e me trouxeram até aqui. Que as mesmas forças me guiem por todos os meus caminhos.

"Na diversidade da vida, encontramos a harmonia da natureza e a riqueza de nosso próprio entendimento."

- Thomas Berry

“Juntos, como uma grande família, podemos superar qualquer obstáculo e preservar a biodiversidade.”

(Saldanha, Carlos; A Era do Gelo 2, 2006.)

## RESUMO

O gênero *Chironius* é um grupo de serpentes inserido na família Colubridae e subfamília Colubrinae, e é caracterizado por sua ampla distribuição na região Neotropical. *Chironius bicarinatus* e *C. laevicollis* são encontradas na Mata Atlântica, ao passo que *C. flavolineatus* é encontrada principalmente no Cerrado brasileiro. As três espécies são ovíparas, de hábitos diurnos e alimentação baseada em anuros. *Chironius bicarinatus* e *C. flavolineatus* possuem hábito semi-arborícola e *C. laevicollis* hábito terrestre. Para compreender a biologia reprodutiva de uma espécie, diversos parâmetros devem ser analisados, como a morfologia dos tratos reprodutivos de machos e fêmeas, ciclo da gametogênese, vitelogênese, estocagem de espermatozoides, ciclo do segmento sexual renal (SSR), fecundidade, nascimento dos filhotes, maturidade e dimorfismo sexual, além dos comportamentos reprodutivos como corte, cópula, combate e agregação. Os trabalhos encontrados na literatura sobre as espécies em estudo, geralmente descrevem aspectos da história natural por meio de observações em campo e dados morfológicos macroscópicos. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo descrever e comparar aspectos da biologia reprodutiva de machos e fêmeas das espécies *C. bicarinatus*, *C. flavolineatus* e *C. laevicollis* por meio de análises macro e microscópicas dos aparelhos reprodutores ao longo das estações do ano, bem como a morfologia geral e as táticas reprodutivas adotadas pelas espécies. Os machos das três espécies seguem o padrão reprodutivo contínuo cíclico em nível individual. As fêmeas de *C. bicarinatus* e *C. flavolineatus* possuem o padrão reprodutivo descontínuo cíclico, ao passo que *C. laevicollis* aparenta adotar o padrão contínuo cíclico. Em nível populacional, as três espécies possuem o padrão reprodutivo sazonal semi-sincrônico para machos e fêmeas. Para os machos das três espécies, bem como para as fêmeas de *C. flavolineatus*, o pico da atividade gonadal (espermiogênese e ovulação) é associado ao período de cópula. Já para as fêmeas de *C. bicarinatus* e *C. laevicollis*, a ovulação ocorre dissociada ao período de acasalamento, ocasionando em uma estocagem de espermatozoides obrigatória nos ovidutos.

**Palavras-chave:** Ciclos reprodutivos, Dimorfismo sexual, Comportamento reprodutivo, Estocagem de espermatozoides, Segmento sexual renal.

## ABSTRACT

The genus *Chironius* is a group of snakes included in the Colubridae family and Colubrinae subfamily and is characterized by its wide distribution in the Neotropical region. *Chironius bicarinatus* and *C. laevicollis* are found in the Atlantic Forest, while *C. flavolineatus* is found mainly in the Brazilian Cerrado. The three species are oviparous, with diurnal habits and feeding based on anurans. *Chironius bicarinatus* and *C. flavolineatus* have a semi-arboreal habit and *C. laevicollis* a terrestrial habit. To understand the reproductive biology of a species, several parameters must be analyzed, such as the morphology of the reproductive tracts of males and females, gametogenesis cycle, vitellogenesis, sperm storage, sexual segment of the kidney cycle (SSK), fecundity, birth of offspring, maturity and sexual dimorphism, in addition to reproductive behaviors such as courtship, copulation, combat and aggregation. The works found in the literature on the species under study generally describe aspects of their natural history through field observations and macroscopic morphological data. Therefore, this work aims to describe and compare aspects of the reproductive biology of males and females of the species *C. bicarinatus*, *C. flavolineatus* and *C. laevicollis* through macroscopic and microscopic analyzes of the reproductive systems throughout the seasons, as well as such as the general morphology and reproductive tactics adopted by the species. Males of the three species follow the continuous cyclical reproductive pattern at the individual level. Females of *C. bicarinatus* and *C. flavolineatus* have a discontinuous cyclical reproductive pattern, while *C. laevicollis* appears to adopt a continuous cyclical pattern. At a population level, the three species have a semi-synchronous seasonal reproductive pattern for males and females. For males of the three species, as well as for females of *C. flavolineatus*, the peak of gonadal activity (spermiogenesis and ovulation) is associated with the copulation period. For females of *C. bicarinatus* and *C. laevicollis*, ovulation occurs dissociated from the mating period, resulting in obligatory sperm storage in the oviducts.

**Keywords:** Reproductive cycles, Sexual dimorphism, Reproductive behavior, Sperm storage, Sexual segment of the kidney.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Distribuição geográfica dos exemplares examinados e utilizados no presente estudo. ....	29
Figura 2 – Climogramas de quatro cidades na Mata Atlântica representando o padrão termopluviométrico para o bioma.....	30
Figura 3 – Climogramas de duas cidades no Cerrado representando o padrão termopluviométrico para o bioma.....	31
Figura 4 – Maturidade sexual em fêmeas e machos de <i>Chironius</i> .. ....	32
Figura 5 – Classificação da visualização/formação da UMC macroscopicamente. ....	34
Figura 6 – Medidas microscópicas coletadas para os machos (hematoxilina-eosina, 40x). ....	36
Figura 7 – Medidas microscópicas coletadas para as fêmeas (hematoxilina-eosina).....	37
Figura 8 – Classificação da visualização/formação da UMC microscopicamente.....	38
Figura 9 – Distribuição do número de machos e fêmeas de <i>Chironius</i> coletados ao longo do ano. ....	41
Figura 10 – Número de machos e fêmeas apresentados de acordo com a maturidade sexual. ....	43
Figura 11 – Dimorfismo sexual no comprimento rostro-cloacal de indivíduos maduros machos e fêmeas de <i>Chironius</i> . ....	45
Figura 12 – Correlação entre o comprimento caudal e o comprimento rostro-cloacal (A-C) e comparação do dimorfismo sexual no comprimento da cauda (D) de indivíduos maduros machos e fêmeas de <i>Chironius</i> . ....	46
Figura 13 – Correlação entre o comprimento da cabeça e o comprimento rostro-cloacal (A-C) e comparação do dimorfismo sexual no comprimento da cabeça (D) de indivíduos maduros machos e fêmeas de <i>Chironius</i> . ....	47
Figura 14 – Correlação entre a largura da cabeça e o comprimento rostro-cloacal (A-C) e comparação do dimorfismo sexual na largura da cabeça (D) de indivíduos maduros machos e fêmeas de <i>Chironius</i> . ....	48
Figura 15 – Correlação entre a altura da cabeça e o comprimento rostro-cloacal (A-C) e comparação do dimorfismo sexual na altura da cabeça (D) de indivíduos maduros machos e fêmeas de <i>Chironius</i> . ....	49
Figura 16 – Gráfico de comparação entre os índices de dimorfismo sexual de <i>Chironius</i> . ....	50
Figura 17 – Ciclo espermatogênico de <i>Chironius</i> (hematoxilina-eosina). ....	52

Figura 18 – Média e variação do diâmetro e da altura do epitélio do túbulo seminífero dos machos de <i>Chironius</i> .....	54
Figura 19 – Estocagem de espermatozoides nos ductos deferentes de machos de <i>Chironius</i> (hematoxilina-eosina).....	55
Figura 20 – Média e variação do diâmetro e da altura do epitélio do ducto deferente dos machos de <i>Chironius</i> .....	57
Figura 21 – Ciclo do segmento sexual renal de <i>Chironius</i> (hematoxilina-eosina).....	58
Figura 22 – Média e variação do diâmetro e da altura do epitélio do SSR dos machos de <i>Chironius</i> .....	60
Figura 23 – Resumo dos eventos do ciclo reprodutivo dos machos de <i>Chironius</i> .....	62
Figura 24 – Ciclo reprodutivo de fêmeas de <i>C. bicarinatus</i> .....	63
Figura 25 – Ciclo reprodutivo de fêmeas de <i>C. flavolineatus</i> .....	64
Figura 26 – Ciclo reprodutivo de fêmeas de <i>C. laevicollis</i> .....	65
Figura 27 – Correlação entre o comprimento rostro-cloacal das fêmeas reprodutivas e o tamanho da ninhada em <i>Chironius</i> .....	68
Figura 28 – Infundíbulo posterior das fêmeas de <i>Chironius</i> (hematoxilina-eosina).....	70
Figura 29 – Variação da altura do epitélio infundibular ( $\mu\text{m}$ ) considerando as estações do ano e o estágio reprodutivo das fêmeas.....	71
Figura 30 – Útero glandular das fêmeas de <i>Chironius</i> (hematoxilina-eosina).....	74
Figura 31 – Variação da altura do epitélio uterino ( $\mu\text{m}$ ) considerando as estações do ano e o estágio reprodutivo das fêmeas.....	75
Figura 32 – Variação do diâmetro das glândulas uterinas ( $\mu\text{m}$ ) considerando as estações do ano e o estágio reprodutivo das fêmeas.....	76
Figura 33 – Variação na altura da camada da granulosa ( $\mu\text{m}$ ) de acordo com o estágio reprodutivo das fêmeas.....	77
Figura 34 – UMC observada em fêmeas de <i>C. bicarinatus</i> .....	78
Figura 35 – Espermatozoides ao longo do oviduto de fêmeas de <i>C. bicarinatus</i> (hematoxilina-eosina).....	80
Figura 36 – Espermatozoides ao longo do oviduto de fêmeas de <i>C. flavolineatus</i> (hematoxilina-eosina).....	82
Figura 37 – Espermatozoides ao longo do oviduto de fêmeas de <i>C. laevicollis</i> (hematoxilina-eosina).....	83
Figura 38 – Resumo dos eventos do ciclo reprodutivo das fêmeas de <i>Chironius</i> .....	85
Figura 39 – Resumo dos ciclos reprodutivos de machos e fêmeas de <i>Chironius</i> .....	86

Figura 40 – Combate entre machos de <i>C. bicarinatus</i> em Guarapari, Espírito Santo (outono) registrado e disponibilizado por Cacá Lima. ....	88
Figura 41 – Comportamento reprodutivo das espécies estudadas. ....	89

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número total de exemplares analisados divididos por espécie. ....	29
Tabela 2 – Classificação dos túbulos seminíferos nos estágios da espermatogênese. ....	36
Tabela 3 – Classificação dos estágios da hipertrofia do segmento sexual renal. ....	37
Tabela 4 – Médias $\pm$ desvio padrão, valores mínimo e máximo e <i>n</i> amostral das medidas morfológicas dos indivíduos maduros machos e fêmeas de <i>Chironius</i> . ....	44
Tabela 5 – Médias $\pm$ desvio padrão, valores mínimo e máximo e <i>n</i> amostral das medidas morfológicas macroscópicas do trato reprodutivo dos machos de <i>Chironius</i> . ....	51
Tabela 6 – Número de exemplares distribuídos de acordo com cada estágio da espermatogênese nas estações do ano. ....	52
Tabela 7 – Número de exemplares distribuídos de acordo com cada estágio da hipertrofia do segmento sexual renal (SSR). ....	58
Tabela 8 – Frequência reprodutiva nas espécies de <i>Chironius</i> estudadas. ....	66
Tabela 9 – Médias $\pm$ erro padrão, valores mínimo e máximo e <i>n</i> amostral da altura do epitélio do infundíbulo posterior das fêmeas de <i>Chironius</i> . ....	70
Tabela 10 – Médias $\pm$ erro padrão, valores mínimo e máximo e <i>n</i> amostral das medidas microscópicas do útero glandular das fêmeas de <i>Chironius</i> . ....	73
Tabela 11 – Estocagem de espermatozoides e presença da UMC nas fêmeas de <i>C. bicarinatus</i> . ....	79
Tabela 12 – Estocagem de espermatozoides nas fêmeas de <i>C. flavolineatus</i> . ....	81
Tabela 13 – Estocagem de espermatozoides nas fêmeas de <i>C. laevicollis</i> . ....	83
Tabela 14 – Eventos reprodutivos observados nas espécies estudadas. ....	87

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

<b>AEU</b>	Altura do epitélio uterino
<b>Altcab</b>	Altura da cabeça
<b>ANCOVA</b>	Análise de covariância
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>CC</b>	Comprimento da cauda
<b>Ccab</b>	Comprimento da cabeça
<b>Cm</b>	Camada muscular
<b>CRC</b>	Comprimento rostro-cloacal
<b>CT</b>	Comprimento testicular
<b>Dd</b>	Ducto deferente direito
<b>DDD</b>	Diâmetro do ducto deferente
<b>DGU</b>	Diâmetro das glândulas uterinas
<b>e.g.</b>	Por exemplo
<b>Ep</b>	Epitélio germinativo
<b>EpI</b>	Epitélio infundibular
<b>EpU</b>	Epitélio uterino
<b>EpV</b>	Epitélio vaginal
<b>ER</b>	Estágio reprodutivo
<b>et al</b>	E outros
<b>Gr</b>	Camada da granulosa
<b>Gs</b>	Grânulos secretores
<b>Gu</b>	Glândulas uterinas
<b>HE</b>	Hematoxilina-Eosina
<b>i.e</b>	Isto é
<b>INMET</b>	Instituto Nacional de Meteorologia
<b>in prep</b>	Em preparação
<b>JA</b>	Julho/agosto
<b>JF</b>	Janeiro/fevereiro
<b>JUV</b>	Junção útero-vaginal
<b>L</b>	Lúmen
<b>Log</b>	Logaritmo

<b>Lcab</b>	Largura da cabeça
<b>MA</b>	Março/abril
<b>Mc</b>	Camada muscular circular interna
<b>MJ</b>	Maiο/junho
<b>MI</b>	Camada muscular circular longitudinal
<b>mm</b>	Milímetros
<b><i>n</i></b>	Número amostral
<b>ND</b>	Novembro/dezembro
<b>OVe</b>	Ovário esquerdo
<b><i>p</i></b>	<i>p</i> -valor
<b>Rd</b>	Rim direito
<b>Rs</b>	Receptáculos de espermatozoides
<b>SO</b>	Setembro/outubro
<b>Spz IP</b>	Espermatozoides estocados no infundíbulo posterior
<b>Spz JUV</b>	Espermatozoides estocados na junção útero-vaginal
<b>Spz UG</b>	Espermatozoides no útero glandular
<b>Spz Vag</b>	Espermatozoides na vagina
<b>Sr</b>	Serosa
<b>SSD</b>	Índice de dimorfismo sexual de tamanho
<b>SSR</b>	Segmento sexual renal
<b>UGd</b>	Útero glandular direito
<b>UGe</b>	Útero glandular esquerdo
<b>UMC</b>	Uterine muscular coiling
<b>UMT</b>	Uterine muscular twisting
<b>V1</b>	Folículos primários / pré-vitelogênicos
<b>V2</b>	Folículos secundários / vitelogênicos
<b>Vag</b>	Vagina
<b>vs.</b>	Versus
<b>VT</b>	Volume Testicular

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\pi$	Valor de pi
$\mu\text{m}$	Micrômetro
$<$	Menor
$\leq$	Menor ou igual
$>$	Maior
$\geq$	Maior ou igual
$+$	Mais / positivo / presença
$-$	Menos / negativo / ausência
$=$	Igual
$\pm$	Mais ou menos
$\bar{x}$	Média amostral
$\%$	Porcentagem
$\text{♀}$	Fêmea
$\text{♂}$	Macho

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	20
<b>1.1 Modelos de estudo</b>	20
<b>1.2 Biologia reprodutiva</b>	21
<b>2 OBJETIVO</b>	28
<b>2.1 Objetivo geral</b>	28
<b>2.2 Objetivos específicos</b>	28
<b>3 MÉTODOS</b>	29
<b>3.1 Espécimes amostrados e padrão de atividade</b>	29
<b>3.2 Área de estudo</b>	30
3.2.1 Mata Atlântica	30
3.2.2 Cerrado	31
<b>3.3 Maturidade e dimorfismo sexual</b>	31
<b>3.4 Caracterização do ciclo reprodutivo</b>	33
3.4.1 Análise macroscópica: Morfometria linear	33
3.4.2 Análise microscópica: Histologia	34
<b>3.5 Comportamentos reprodutivos</b>	38
<b>3.6 Análises estatísticas</b>	38
<b>4 RESULTADOS</b>	40
<b>4.1 Espécimes amostrados e padrão de atividade</b>	40
<b>4.2 Maturidade e dimorfismo sexual</b>	42
4.2.1 Maturidade sexual	42
4.2.2 Dimorfismo sexual	43
4.2.3 Resumo do dimorfismo sexual de tamanho (SSD) nas três espécies	49
<b>4.3 Caracterização dos ciclos reprodutivos dos machos</b>	50
4.3.1 Variação do comprimento, volume testicular e diâmetro do ducto deferente	50
4.3.2 Ciclo espermatogênico	52
4.3.3 Estocagem e sazonalidade do ducto deferente	55
4.3.4 Sazonalidade do segmento sexual renal (SSR)	58
4.3.5 Resumo dos ciclos reprodutivos dos machos	61
<b>4.4 Caracterização dos ciclos reprodutivos das fêmeas</b>	62
4.4.1 Sazonalidade da vitelogênese, prenhez e nascimento de filhotes	62

4.4.2	Frequência reprodutiva e tamanho da ninhada	66
4.4.3	Variação sazonal do infundíbulo posterior	69
4.4.4	Variação sazonal do útero glandular	72
4.4.5	Variação na camada da granulosa	77
4.4.6	Estocagem de espermatozoides e UMC	78
4.4.7	Resumo dos ciclos reprodutivos das fêmeas	84
<b>4.5</b>	<b>Resumo dos ciclos reprodutivos de machos e fêmeas das espécies de <i>Chironius</i></b>	<b>86</b>
<b>4.6</b>	<b>Comportamentos reprodutivos</b>	<b>87</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>89</b>
<b>5.1</b>	<b>Padrão de atividade</b>	<b>89</b>
<b>5.2</b>	<b>Maturidade e dimorfismo sexual</b>	<b>90</b>
<b>5.3</b>	<b>Fecundidade</b>	<b>94</b>
<b>5.4</b>	<b>Ciclos reprodutivos</b>	<b>96</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>104</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>106</b>
	<b>APÊNDICE A – Identificação dos exemplares analisados.</b>	<b>121</b>
	<b>APÊNDICE B – Fêmeas ovígeras de <i>C. bicarinatus</i>.</b>	<b>124</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Modelos de estudo

A ordem Squamata é uma linhagem evolutiva na qual as serpentes, lagartos e anfisbenas estão alocados. Atualmente, Squamata é o grupo com a maior diversidade de répteis existentes, incluindo mais de 11 mil espécies reconhecidas (UETZ et al., 2023). Para o grupo das serpentes, são registradas mais de 4 mil espécies, divididas em aproximadamente 30 famílias (UETZ et al., 2023). No Brasil, atualmente são reconhecidas 10 famílias e 430 espécies de serpentes (COSTA et al., 2023).

O gênero *Chironius* (Fitzinger, 1826) está inserido na família Colubridae, subfamília Colubrinae, tribo Colubrini (FERRAREZZI, 1994), alocando atualmente 23 espécies descritas (DIXON et al., 1993; HOLLIS, 2006; KOK, 2010; PYRON et al., 2013; FERNANDES; HAMDAN, 2014, 2015; NOGUEIRA et al., 2019; UETZ et al., 2023). O grupo possui uma larga distribuição geográfica na região Neotropical, abrangendo desde a Nicarágua até todo o território da América do Sul, exceto a Patagônia (NOGUEIRA et al., 2019).

As serpentes deste gênero habitam, de modo geral, florestas pluviais tropicais e florestas úmidas de altitude, além de áreas abertas do Cerrado, sendo encontradas até 2800 metros de altitude do nível do mar (DIXON et al., 1993; NOGUEIRA et al., 2019). São serpentes ovíparas, apresentam dentição áglifa, hábitos diurnos e embora a alimentação seja baseada principalmente em anuros, a composição desta dieta pode variar de acordo com o substrato utilizado por cada espécie, como por exemplo hilídeos (arbóreos) e leptodactilídeos (terrestres) (DIXON et al., 1993; MARQUES; SAZIMA, 2004; ROBERTO; SOUZA, 2020; BANCI et al., 2022).

*Chironius bicarinatus* (Wied-Neuwied, 1820) é encontrada na Argentina, no Paraguai, no Uruguai e no Brasil, sendo no último, amplamente distribuída na região da Mata Atlântica desde baixas à grandes altitudes (NOGUEIRA et al., 2019). Apresenta hábito semi-arborícola e dieta baseada em anuros arborícolas e terrestres, como hilídeos e leptodactilídeos, além de lagartos como *Hemidactylus mabouia* (DIXON et al., 1993; MARQUES; SAZIMA, 2004; OLIVEIRA, 2008; VRCIBRADIC; EISFELD, 2016; BANCI et al., 2022). Possui grande porte, cabeça de tamanho médio, cauda longa e atinge até 1800 mm de comprimento total (DIXON et al., 1993; BANCI et al., 2022).

*Chironius flavolineatus* (Jan, 1863) ocorre na Bolívia, no Paraguai e no Brasil, sendo no último, registrada principalmente no Cerrado, desde grandes altitudes a altitudes intermediárias, ocorrendo ainda em enclaves de savana da Amazônia, Pantanal, Caatinga e Mata Atlântica

(NOGUEIRA et al., 2019). Apresenta hábito semi-arborícola e alimentação baseada em anuros da família Hilydae e Leptodactylidae, além do lagarto *Hemidactylus mabouia* (DIXON et al., 1993; PINTO et al., 2008; VRCIBRADIC; EISFELD, 2016). Possui médio porte e corpo mais delgado, cabeça pequena, cauda de tamanho médio e atinge cerca de 1300 mm de comprimento total (DIXON et al., 1993; PINTO et al., 2008).

*Chironius laevicollis* (Wied-Neuwied, 1824) é endêmica do Brasil, com ocorrência na costa leste da América do Sul, no domínio da Mata Atlântica, principalmente em baixas elevações (NOGUEIRA et al., 2019). Possui hábito terrestre e composição alimentar baseada em anuros terrestres da família Leptodactylidae (DIXON et al., 1993; MARQUES, 1998; BANCI et al., 2022). Apresenta o corpo mais robusto, cabeça grande, cauda curta e atinge cerca de 2400 mm de comprimento total (DIXON et al., 1993; BANCI et al., 2022).

## 1.2 Biologia reprodutiva

Estudar a biologia reprodutiva das serpentes nos permite compreender aspectos importantes, tais como o ciclo da gametogênese (oogênese e espermatogênese), a estocagem de espermatozoides, o ciclo do segmento sexual renal, a fecundidade (tamanho, massa relativa da ninhada e frequência reprodutiva), o período de prenhez/gestação, oviposição/parturição, o nascimento de filhotes, a maturidade e dimorfismo sexual, além dos sistemas de acasalamento e comportamentos reprodutivos como corte, cópula e cuidado parental (GOLDBERG; PARKER, 1975; KROHMER, 2004; ALMEIDA-SANTOS et al., 2014; SILVA et al., 2020).

No que diz respeito a morfologia do trato reprodutivo feminino das serpentes, sua composição é feita por dois ovários alongados (direito e esquerdo) que se localizam no plano dorso medial da cavidade celomática do animal e, paralelo a eles, os ovidutos, constituídos pelo infundíbulo anterior e posterior, útero, junção útero-vaginal e vagina (SIEGEL et al., 2011; ALMEIDA-SANTOS et al., 2014). Algumas espécies de serpentes (e.g. *Tantilla coronata* e *Amerotyphlops brongersmianus*) podem apresentar o oviduto esquerdo reduzido ou até mesmo ausente (ALDRIDGE, 1992; BLACKBURN, 1998; KHOURI, 2020). Os órgãos reprodutivos apresentam assimetria bem definida, sendo o ovário e o oviduto localizados no antímero direito mais cranial em relação ao antímero esquerdo (SIEGEL et al., 2011). Nas fêmeas, a estocagem de espermatozoides ocorre em duas regiões do oviduto: no infundíbulo posterior, que apresenta túbulos especializados formados por invaginações do epitélio luminal e são denominados receptáculos de esperma ou seminais; e na junção útero-vaginal, que apresenta sulcos profundos formados por projeções longitudinais da lâmina própria (SIEGEL et al., 2011; ROJAS et al., 2015). Em algumas serpentes, tais como os viperídeos, ocorre um fenômeno na porção da

junção útero-vaginal denominado *uterine muscular coiling*, a UMC (MUNIZ-DA-SILVA et al., 2018; SOUZA et al., 2020), onde os sulcos formados podem reter espermatozoides (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 1997, 2002; BARROS et al., 2012). A formação da UMC ocorre a partir da contração da camada muscular circular interna presente no oviduto e juntamente com a mucosa, se dispõem em uma helicoidal (MUNIZ-DA-SILVA et al., 2018).

O período reprodutivo das fêmeas de serpentes é caracterizado pelo crescimento folicular (vitelogênese). Os folículos ovarianos pré-vitelogênicos são pequenos e esbranquiçados e à medida em que ocorre a deposição de vitelo, se tornam folículos vitelogênicos, que apresentam maiores diâmetros e coloração amarelada (PIZZATTO et al., 2007). O processo da vitelogênese tem início quando os lipídios estocados em forma de gordura abdominal são metabolizados no fígado. A transformação de gordura abdominal em vitelo é mediada pela vitelogenina e a deposição de vitelo nos folículos ocorre via corrente sanguínea (SHERIDAN, 1994; SILVA et al., 2013; SUEIRO, 2013). Ainda durante esse processo, partículas de vitelogenina presentes na corrente sanguínea são liberadas para o meio externo por meio das escamas, atuando como um feromônio que é facilmente detectado pelos machos (GILLINGHAM, 1987; DEL-CLARO et al., 2004; SUEIRO, 2013).

O aparelho reprodutor masculino de serpentes é constituído por dois testículos, ductos deferentes (onde ocorre a estocagem de espermatozoides) e um par de hemipênis (VOLSOE, 1944; FOX, 1977; ROJAS et al., 2013). O sistema reprodutor está localizado no plano dorso-medial da cavidade celomática e o testículo localizado no antímero direito é mais cranial que o esquerdo (GRIBBINS; RHEUBERT, 2011). Além dessas estruturas, os machos de serpentes possuem os rins como órgãos acessórios devido ao segmento sexual renal (SSR), originado a partir da hipertrofia de porções do néfron que pode variar entre as espécies (túbulos contorcidos proximais e distais, ductos coletores e ureter) (SAINT GIRONS, 1972). A atividade do SSR é andrógeno-dependente e a hipertrofia é observada quando existe um aumento na concentração de testosterona na corrente sanguínea, geralmente associada à época de acasalamento, quando os testículos estão produzindo grandes quantidades de espermatozoides (VOLSOE, 1944; BISHOP, 1959; FOX, 1977; SCHUETT et al., 2002).

Os ciclos reprodutivos de machos e fêmeas de serpentes apresentam algumas variações e são caracterizadas em nível individual, seguindo três padrões: ciclo descontínuo, ciclo contínuo e acíclico (MATHIES, 2011). O ciclo descontínuo é caracterizado pela total quiescência das gônadas (i.e. pausa na produção de gametas) e órgãos acessórios (i.e. pausa na atividade secretora dos ductos deferentes, SSR, infundíbulo posterior e útero glandular) durante um período do ano. No ciclo contínuo ocorre apenas uma diminuição na atividade das gônadas e

órgãos acessórios durante um período do ano. No padrão acíclico as gônadas e órgãos acessórios apresentam constante atividade durante todo o período do ano (MATHIES, 2011).

As variações dos ciclos reprodutivos de machos e fêmeas em nível individual são, de modo geral, determinantes para avaliar o tipo de ciclicidade reprodutiva que se expressa em nível populacional, que pode ser dividida em três categorias: sazonal sincrônico, semi-sincrônico e assazonal assincrônico (MATHIES, 2011). No ciclo sazonal sincrônico o período reprodutivo ocorre simultaneamente em machos e fêmeas. No ciclo sazonal semi-sincrônico o período reprodutivo ocorre sem uma sincronia marcadamente fechada em machos e fêmeas. No ciclo assazonal assincrônico o período reprodutivo não apresenta nenhum nível de sincronia em machos e fêmeas (MATHIES, 2011).

Existe uma outra classificação dos ciclos reprodutivos, a qual relaciona o pico de atividade gonadal (ovulação e espermiacção) com o período de cópula (CREWS, 1984). Em serpentes cujo pico de atividade testicular e a ovulação ocorrem sincrônicos ao período de cópula, o ciclo é classificado como pré-nupcial (ou associado). Em contrapartida, serpentes que não apresentam uma sincronia entre o período de cópula e a ovulação e espermiacção possuem um ciclo classificado como pós-nupcial (ou dissociado), resultando em uma estocagem de espermatozoides obrigatória nas fêmeas (SAINT GIRONS, 1982; CREWS, 1984).

O dimorfismo sexual (e.g., tamanho da cabeça, do corpo e cauda) tem sido observado em vários táxons de serpentes (e.g. Boidae, Colubridae, Dipsadidae, Elapidae, Viperidae) e a análise desta característica reprodutiva pode fornecer pistas acerca do comportamento reprodutivo da espécie (ALMEIDA-SANTOS et al., 2014) e ser determinante para o tipo de sistema de acasalamento que a espécie exibe (PIZZATTO et al., 2007). De acordo com Shine (1978, 1994), espécies onde os machos atingem tamanhos corporais maiores do que as fêmeas, é esperado que ocorra o ritual de combate. Lovich e Gibbons (1992) realizaram uma revisão literária sobre fórmulas propostas para calcular o índice de dimorfismo sexual. E a partir disso, Shine (1994) formulou um índice de dimorfismo sexual de tamanho (Sexual Size Dimorphism - SSD) para analisar e comparar o tamanho do corpo entre machos e fêmeas com base em diferentes tipos de dados: (1) utilizando a média do comprimento rostro-cloacal (CRC) de machos e fêmeas, (2) considerando o tamanho corporal (CRC) máximo atingido por cada um dos sexos, (3) comparando o CRC com que machos e fêmeas atingem a maturidade sexual.

Os sistemas de acasalamento são definidos de acordo com o número de parceiros que um sexo pode acumular durante o período reprodutivo e são caracterizados com base no potencial ecológico e comportamental de monopolizar os parceiros e pelos meios com os quais essa monopolização ocorre (EMLEN; ORING, 1977). A monogamia é um tipo de sistema de

acasalamento no qual existe a união entre uma fêmea e um macho por período reprodutivo e nenhum dos sexos tem a oportunidade de monopolizar membros adicionais do sexo oposto; e a aptidão a este sistema é maximizada por meio do cuidado parental compartilhado (EMLEN; ORING, 1977). O sistema de acasalamento monogâmico tem sido observado em algumas espécies de lagartos (e.g. *Tiliqua rugosa* e *Anolis limifrons*), mas é inexistente em serpentes (BULL et al., 1998; HARRISON, 2013). A poligamia é um outro tipo de sistema de acasalamento no qual ocorre a formação de mais de um casal por período reprodutivo e quanto maior o potencial de monopolização de recursos ou parceiros, maior será a intensidade da seleção sexual e o potencial para a poligamia (EMLEN; ORING, 1977). O sistema de acasalamento poligâmico pode ser dividido em poliginia (um macho para mais de uma fêmea), poliandria (uma fêmea para mais de um macho) e poliginandria/promiscuidade (ambos os sexos copulam com mais de um parceiro) e a definição de cada um desses sistemas poligâmicos irá depender do referencial que está sendo levado em consideração (i.e. se são os machos ou as fêmeas) (EMLEN; ORING, 1977; RIVAS; BURGHARDT, 2005; KARL, 2008; RUBENSTEIN; ALCOCK, 2019).

Alguns trabalhos que abordam os sistemas de acasalamento das serpentes as consideram poligínicas (e.g. DUVALL et al., 1992, 1993; DUVALL; SCHUETT, 1997; SHINE; FITZGERALD, 1995). Isso ocorre devido ao fato de analisarem o sistema de acasalamento apenas pela perspectiva do macho. No entanto, Rivas e Burghardt (2005) trazem a contraproposta de que o sistema de acasalamento das serpentes, na verdade, é a poliginandria, pois as fêmeas também podem acasalar com mais de um macho por estação reprodutiva, inclusive, sendo constatada múltipla paternidade em algumas espécies (e.g. *Nerodia sipedon* PROSSER et al., 2002; *Pantherophis obsoletus* BLOUIN-DEMERS et al., 2005).

Aspectos comportamentais também estão envolvidos no estudo da biologia reprodutiva de serpentes, como por exemplo: corte, cópula, combate entre machos, agregações reprodutivas e cuidado parental (SHINE, 2003; SHINE; BONNET, 2009). Comportamento reprodutivo é qualquer comportamento que se torne uma vantagem adaptativa desde que resulte em mais oportunidades de acasalamento e, conseqüentemente, um maior número de filhotes (KREBS; DAVIES, 1997).

Antes de discorrer sobre os comportamentos reprodutivos das serpentes, é importante compreender como elas se comunicam. Os meios de comunicação em serpentes se dão, principalmente, pelos sinais químicos (órgão vomeronasal) e táteis (CARPENTER, 1977; SHINE; MASON, 2012). As serpentes possuem um sistema vomeronasal bem desenvolvido e de extrema importância na comunicação interespecífica (i.e. presas) e intraespecífica (i.e.

fêmeas, machos, filhotes) (MASON; PARKER, 2010; SHINE; MASON, 2012). As pistas químicas deixadas no ar ou substrato são captadas pela língua bifurcada e identificadas pelo órgão vomeronasal, localizado no palato ou passagens nasais, permitindo ao macho, por exemplo, distinguir fêmeas maiores das menores e fêmeas que copularam recentemente das que não copularam, como observado em *Thamnophis sirtalis* (GARSTKA; CREWS, 1981; LEMASTER; MASON, 2002; O'DONNELL et al., 2004; MASON; PARKER, 2010). A comunicação tátil se dá por meio do contato físico com outro (s) indivíduo (s) na tentativa de estimular a corte, cópula e agregação reprodutiva, ou na definição de dominância (combate entre machos) (CARPENTER, 1977).

O combate entre machos de serpentes é uma interação agonística observada em vários táxons, como por exemplo: Boidae (e.g. PIZZATTO et al., 2006), Colubridae (e.g. ARAÚJO et al., 2022a), Elapidae (e.g. MISSASSI et al., 2022) e Viperidae (e.g. FONSECA et al., 2022) (SENTER, 2022). Este comportamento é um exemplo de seleção intra-sexual, onde os machos competem pelo acesso a fêmea, territorialidade ou dominância (ALMEIDA-SANTOS et al., 1999; GUEDES et al., 2019; BATISTA et al., 2021). As principais características do combate incluem o contato corporal entre os machos, onde os oponentes exercem pressão por meio de empurrões ou entrelaçamentos, com o objetivo de subjugar fisicamente o rival (CARPENTER, 1977). Algumas espécies de serpentes combatem de forma ritualizada, realizando sempre os mesmos movimentos durante a disputa (ALMEIDA-SANTOS et al., 2002; MUNIZ-DASILVA et al., 2014). Entretanto, existem relatos de espécies (e.g. *Corallus hortulanus*, *Oxybelis aeneus*, *Xenopeltis unicolor*) que disputam de forma mais agressiva, realizando mordidas na cabeça e corpo do rival (CAPULA; LUISELLI, 1997; GOODYEAR; GILBERT, 2018; SANTOS et al., 2020; ARAÚJO et al., 2022a).

Os comportamentos de corte observados em serpentes são realizados pelos machos, e caracterizam-se por: seguir a fêmea, montagem dorsal e alinhamento paralelo, fricção da região gular no dorso da fêmea, movimentos ondulatórios da cauda à cabeça (i.e. ondas caudocefálicas), busca pela cauda e mordidas (CARPENTER, 1977). Uma vez estabelecido o pareamento, as caudas se entrelaçam e a fêmea deve expor a cloaca para que ocorra a intromissão do hemipênis (CARPENTER, 1977).

A corte e cópula podem se tornar um evento complexo, ocorrendo com mais de dois indivíduos da mesma espécie. As denominadas *mating balls* se tratam de agregações entre uma fêmea e mais de um macho durante a estação reprodutiva, geralmente isenta de interações agonísticas e/ou agressividade entre os machos, onde a fêmea tem a possibilidade de copular com mais de um macho (CREWS; GARSTKA, 1982; FEIO et al., 1999; RIVAS;

BURGHARDT, 2001; COUTO et al., 2022). Esse comportamento reprodutivo já foi descrito para os boídeos (e.g. *Eunectes murinus* e *Boa constrictor*, RIVAS; BURGHARDT, 2001; ALMEIDA-SANTOS; SAWAYA, 2022) e colubrídeos (e.g. *Thamnophis sirtalis* e *Philodryas olfersii*, CREWS; GARSTKA, 1982; BANCI et al., 2021).

Marques (1998) analisou cinco espécies de serpentes do gênero *Chironius* que habitam a Mata Atlântica, incluindo *C. bicarinatus* e *C. laevicollis*. Segundo o estudo, ambas apresentam reprodução sazonal restrita à estação chuvosa, o que pode ser vantajoso em relação às temperaturas mais adequadas para o desenvolvimento embrionário e disponibilidade de alimento.

O estudo da biologia reprodutiva por meio de observações em campo e dados morfológicos macroscópicos do trato reprodutivo de *C. bicarinatus* indica que sejam animais sazonais com o padrão reprodutivo dissociado (MARQUES, 1998; MARQUES; SAZIMA, 2004; MARQUES et al., 2009). A cópula foi observada em quatro eventos, sempre no mês de abril, com duração de até 180 minutos. A vitelogênese inicia no outono e a ovulação deve acontecer no início da primavera, onde fêmeas são encontradas ovíferas. A ovipostura foi observada em outubro e novembro e o nascimento dos filhotes em fevereiro (MARQUES, 1998; MARQUES; SAZIMA, 2004; MARQUES, et al., 2009). A espécie apresenta dimorfismo sexual, onde os machos são maiores que as fêmeas no comprimento rostro-cloacal (CRC) e possuem uma cauda mais longa (RODRIGUES, 2007). O combate entre machos de *C. bicarinatus* foi observado em novembro (primavera) com uma disputa bem ritualizada (ALMEIDA-SANTOS et al., 2002). O ritual de combate entre machos está associado a vitelogênese das fêmeas, mas não necessariamente com o período da cópula (ALMEIDA-SANTOS et al., 2002; MARQUES et al., 2009).

Para *C. laevicollis* é descrito que as fêmeas se reproduzem sazonalmente, com a vitelogênese ocorrendo de agosto a dezembro e fêmeas ovíferas encontradas em outubro e novembro (primavera) (MARQUES, 1998). A ovipostura foi observada em setembro, novembro e janeiro e o nascimento dos filhotes de janeiro a maio (RIBEIRO DA COSTA et al., 2005). O dimorfismo sexual no tamanho do corpo e da cauda é ausente (RODRIGUES, 2007). A corte e cópula de *C. laevicollis* foi observada em setembro (primavera), com uma provável disputa entre machos e como resultado disso, a fêmea apresenta um mecanismo de escolha de parceiros que mimetiza o comportamento sexual intraespecífico de combate por meio de levantamento da cabeça (i.e. *head lifting*) (ARAÚJO et al., 2022b). Disputas entre machos de *C. laevicollis* foram observadas durante a primavera (ALMEIDA-SANTOS et al.,

*in prep*) e ocorrem em sincronia com a vitelogênese e o período de acasalamento (MARQUES, 1998; ARAÚJO et al., 2022b).

Pinto et al. (2010) descreveram que as fêmeas de *C. flavolineatus* possuem um ciclo reprodutivo sazonal, com fêmeas vitelogênicas e ovígeras ocorrendo principalmente durante a primavera e verão e a postura de ovos concentrada nos meses mais quentes e úmidos (verão). Para os machos, os autores descreveram uma produção contínua de espermatozoides nos testículos e uma estocagem constante nos ductos deferentes. *Chironius flavolineatus* apresenta dimorfismo sexual, onde as fêmeas são significativamente maiores que os machos no comprimento rostro-cloacal (CRC); por outro lado, os machos apresentam uma cauda mais longa (PINTO et al., 2008). No que diz respeito ao comportamento reprodutivo, uma corte de *C. flavolineatus* envolvendo uma fêmea e seis machos foi observada em outubro (primavera) e houve uma certa disputa entre os machos para permanecer em contato com a fêmea, mas nenhum comportamento agressivo ou combate foi observado (FEIO et al., 1999). Devido ao estresse da fêmea, os autores interromperam o evento, onde as últimas fases de corte (alinhamento tátil, intromissão e cópula) não foram observadas.

Contudo, os trabalhos que abordam aspectos da biologia reprodutiva das espécies de *Chironius*, baseiam-se principalmente em observações de campo ou cativeiro e, quando se trata do delineamento do ciclo reprodutivo, utilizam como base apenas características macroscópicas do trato reprodutivo, tais como o tamanho e/ou volume dos testículos, ductos deferentes e folículos ovarianos, bem como a presença de ovos nos ovidutos, sendo este método não fidedigno para determinar o ciclo reprodutivo de uma espécie (MATHIES, 2011; ALMEIDA-SANTOS et al., 2014). Portanto, estudos que englobam análises microscópicas do aparelho reprodutor de machos e fêmeas se fazem extremamente necessários para delinear o ciclo reprodutivo de uma espécie e então associar aos demais eventos reprodutivos passíveis de serem observados em campo (MATHIES, 2011).

Além disso, por se tratar de um grupo diverso e amplamente distribuído na região Neotropical, definir espécies de *Chironius* como “modelos” por meio da compreensão dos ciclos reprodutivos, bem como de outras estratégias reprodutivas adotadas, pode nortear e encorajar pesquisas futuras com os outros congêneres, buscando avaliar a existência de padrões conservados no gênero, assim como é observado em viperídeos, por exemplo (ALMEIDA-SANTOS; SALOMÃO, 2002).

## 6 CONCLUSÃO

A diferença observada no padrão de atividade dos machos de *C. flavolineatus*, provavelmente está relacionada à recrudescência que ocorre no primeiro período de queda da temperatura e dos níveis de precipitação (outono). Os machos voltam a ficar mais ativos quando entram no estágio de espermiogênese e período de cópula (inverno). Embora outros fatores ecológicos possam influenciar a distribuição dos animais. Para *C. bicarinatus* e *C. laevicollis*, não foi observada variação sazonal significativa no padrão de atividade de machos e fêmeas.

Machos se tornam sexualmente maduros com comprimento menor que as fêmeas nas três espécies estudadas. Entretanto, quando relacionado ao CRC médio dos adultos, machos e fêmeas de *C. flavolineatus* e *C. laevicollis* atingem a maturidade sexual com tamanhos similares, enquanto *C. bicarinatus*, as fêmeas maduram sexualmente com comprimento relativamente maior que os machos.

Fêmeas sexualmente maduras de *C. flavolineatus* são maiores que os machos e o SSD é direcionado para as fêmeas. Esses dados corroboram com o sistema de acasalamento que a espécie exibe (agregação entre os indivíduos). Em *C. bicarinatus* não existe diferença estatística entre o tamanho corporal dos sexos e o SSD é direcionado para os machos. Essas informações também reforçam o sistema de acasalamento que é descrito para a espécie (combate entre machos). A exceção foi *C. laevicollis*, na qual as fêmeas sexualmente maduras são maiores que os machos coespecíficos e o SSD também é direcionado para as fêmeas, entretanto, o sistema de acasalamento adotado pela espécie é o combate entre machos.

*Chironius laevicollis* possui uma ninhada maior quando comparada à *C. bicarinatus* e *C. flavolineatus* e isso está relacionado ao tamanho materno, uma vez que *C. laevicollis* é a espécie que apresentam maior tamanho, ao contrário de *C. flavolineatus*, embora essa relação (tamanho da ninhada *versus* tamanho materno) não tenha sido estatisticamente comprovada.

Nas três espécies estudadas, machos apresentam o ciclo reprodutivo contínuo e sazonal semi-sincrônico, uma vez que não foram observados indivíduos em quiescência testicular e os estágios da espermatogênese são encontrados em mais de uma estação do ano (ou todas), porém em proporções distintas. A estocagem de espermatozoides é observada ao longo do ano nas três espécies, bem como a hipertrofia do SSR, sugerindo que o acasalamento pode ocorrer em qualquer período, desde que fêmeas estejam receptivas. Além disso, os machos apresentam o padrão reprodutivo associado, uma vez que o pico de atividade testicular coincide com o período de cópula.

Para as fêmeas de *C. bicarinatus* e *C. flavolineatus*, o padrão reprodutivo adotado é descontínuo cíclico, uma vez que foi observada quiescência dos ovários e/ou órgãos acessórios

durante alguma época do ano. Já para *C. laevicollis*, é sugerido que o padrão adotado é contínuo cíclico, devido ao fato de não ter sido observada quiescência ovariana durante algum período do ano. Entretanto, mais estudos são encorajados com *C. laevicollis* para determinar o padrão reprodutivo adotado, a partir de uma maior amostragem. A nível populacional, as fêmeas das três espécies possuem o padrão reprodutivo sazonal semi-sincrônico, isso porque em um mesmo período do ano são encontradas fêmeas em diversos estágios reprodutivos. Para *C. flavolineatus*, a ovulação aparenta ocorrer no mesmo período em que inicia o acasalamento, indicando um padrão reprodutivo associado, assim como os machos coespecíficos. Já para *C. bicarinatus* e *C. laevicollis*, a ovulação ocorre depois que o período de cópula é iniciado, fazendo-se obrigatória a estocagem de espermatozoides nos ovidutos, caracterizando um ciclo dissociado para ambas as espécies.

## REFERÊNCIAS

- ALDRIDGE, R. D. Oviductal anatomy and seasonal sperm storage in the Southeastern Crowned Snake (*Tantilla coronata*). **Copeia**, v. 1992, n. 4, p. 1103-1106, 1992.
- ALDRIDGE, R. D.; BROWN, W. S. Male Reproductive Cycle, Age at Maturity, and Cost of Reproduction in the Timber Rattlesnake (*Crotalus horridus*). **Journal of Herpetology**, v. 29, n. 3, p. 399-407, 1995.
- ALDRIDGE, R. D.; DUVALL, D. Evolution of the Mating Season in the Pitvipers of North America. **Herpetological Monographs**, v. 16, n. 1, p. 1, 2002.
- ALMEIDA-SANTOS S. M.; SAWAYA R. J. *Boa constrictor* (Red-tailed Boa): Reproduction and Mating Aggregation. **Herpetological Review**, v. 53, n. 4, p. 690-691, 2022.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; BARROS, V. A.; ROJAS, C. A.; SUEIRO, L. R.; NOMURA, R. H. C. Reproductive Biology of the Brazilian Lancehead, *Bothrops moojeni* (Serpentes, Viperidae), from the State of São Paulo, Southeastern Brazil. **South American Journal of Herpetology**, v. 12, n. 2, p. 174-181, 2017.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; BRAZ, H. B.; SANTOS, L.; SUEIRO, L. R.; BARROS, V. A.; ROJAS, C. A.; KASPEROVICZUS, K. N. Biologia reprodutiva de serpentes: recomendações para a coleta e análise de dados. **Herpetologia Brasileira**, v. 3, p. 14-24, 2014.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; MARQUES, O. A. V. Male-male ritual combat in the colubrid snake *Chironius bicarinatus* from the Atlantic Forest, southeastern Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v. 23, n. 4, p. 528-533, 2002.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; PENETI, E. A.; DA GRAÇA SALOMÃO, M.; GUIMARÃES, E. S.; DE SENA, P. S. Predatory combat and tail wrestling in hierarchical contests of the Neotropical rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes: Viperidae). **Amphibia-Reptilia**, v. 20, p. 88-96, 1999.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; SALOMÃO, M. G. Long-term sperm storage in the female Neotropical Rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* (Viperidae: Crotalinae). **Japanese Journal of Herpetology**, v. 17, n. 2, p. 46-52, 1997.

ALMEIDA-SANTOS, S. M.; SALOMÃO, M. G. Reproduction in Neotropical pitvipers, with emphasis on species of the genus *Bothrops*. **Biology of the Vipers**, v. 1, p. 445-462, 2002.

ARAÚJO, G. S.; RAMALHO, R. A.; MARQUES, O. A. V.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. First record of male-male combat and courtship in the brown vine snake *Oxybelis aeneus*. **Herpetological Bulletin**, v. 162, p. 45-46, 2022a.

ARAÚJO, G. S.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; MIGLIORE, S. N.; LOBO, L. M. *Chironius laevicollis* (Brazilian Sipo): Mating behavior. **Herpetological Review**, v. 53, n. 2, p. 335-336, 2022b.

BANCI, K. R. D. S.; GUIMARÃES, M.; SIQUEIRA, L. H. C.; MUSCAT, E.; SAZIMA, I.; MARQUES, O. A. V. Body shape and diet reflect arboreality degree of five congeneric snakes sympatric in the Atlantic Forest. **Biotropica**, v. 54, n. 4, p. 839-851, 2022.

BANCI, K. R. S.; BATISTA, S. F.; MARQUES, O. A. V. *Philodryas Olfersii* (Lichtenstein's Green Racer): Reproductive Aggregation. **Herpetological Review**, v. 52, n. 4, p. 881, 2021.

BARROS, V. A.; ROJAS, C. A.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Is rainfall seasonality important for reproductive strategies in viviparous Neotropical pit vipers? A case study with *Bothrops leucurus* from the Brazilian Atlantic Forest. **The Herpetological Journal**, v. 24, n. 2, p. 69-77, 2014.

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**, v. 22, n. 2, p. 97-104, 2012.

BATISTA, S.; MUNIZ-DA-SILVA, D. F.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Dominant and submissive behaviour in the rattlesnake *Crotalus durissus* under semi-natural conditions. **Herpetological Bulletin**, v. 157, p. 21-24, 2021.

BELLINI, G. P.; ARZAMENDIA, V.; GIRAUDO, A. R. Reproductive life history of snakes in temperate regions: what are the differences between oviparous and viviparous species? **Amphibia-Reptilia**, v. 40, n. 3, p. 291-303, 2018.

BISHOP, J. E. A histological and histochemical study of the kidney tubule of the common garter snake, *Thamnophis sirtalis*, with special reference to the sexual segment in the male. **Journal of Morphology**, v. 104, n. 2, p. 307-357, 1959.

BLACKBURN, D. G. Structure, function, and evolution of the oviducts of squamate reptiles, with special reference to viviparity and placentation. **Journal of Experimental Zoology**, v. 282, n. 4-5, p. 560-617, 1998.

BLANCKENHORN, W. U. Behavioral causes and consequences of sexual size dimorphism. **Ethology**, v. 111, n. 11, p. 977-1016, 2005.

BLOUIN-DEMERS, G.; GIBBS, H. L.; WEATHERHEAD, P. J. Genetic evidence for sexual selection in black ratsnakes, *Elaphe obsoleta*. **Animal Behaviour**, v. 69, n. 1, p. 225-234, 2005.

BONNET, X.; SHINE, R.; NAULLEAU, G.; VACHER-VALLAS, M. Sexual dimorphism in snakes: different reproductive roles favour different body plans. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 265, n. 1392, p. 179-183, 1998.

BRAZ, H. B.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; MURPHY, C. R.; THOMPSON, M. B. Uterine and eggshell modifications associated with the evolution of viviparity in South American water snakes (*Helicops* spp.). **Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution**, [s. l.], v. 330, n. 3, p. 165-180, 2018.

BROWN, G. P.; SHINE, R. Beyond size–number trade-offs: clutch size as a maternal effect. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1520, p. 1097-1106, 2009.

CAPULA, M.; LUISELLI, L. A tentative review of sexual behaviour and alternative reproductive strategies of the Italian colubrid snakes (Squamata: Serpentes: Colubridae). **Herpetozoa**, v. 10, p. 107-119, 1997.

CARPENTER, C. C. Communication and Displays of Snakes. **Oxford Journals**, Oxford, v. 17, n. 1, p. 217-223, 1977.

COSTA, H. C.; GUEDES, T.; BÉRNILS, R. S. (eds.) Lista Brasileira de Répteis, 2023. **Sociedade Brasileira de Herpetologia (SBH)**. <https://sbherpetologia.org.br/lista-repteis-sbh-copy-copy>, acessada em 19 de Maio de 2023.

COUTO, R. M. P.; MIGUEL, M. C.; QUIROGA, C. L.; FERREIRA, V. L. Mating mode observation for *Hydrodynastes gigas* (Squamata, Dipsadidae) in Argentina. **Herpetology Notes**, v. 15, p. 101-104, 2022.

CREWS, D. Gamete production, sex hormone secretion, and mating behavior uncoupled. **Hormones and behavior**, v. 18, n. 1, p. 22-28, 1984.

CREWS, D.; GARSTKA, W. R. The ecological physiology of a garter snake. **Scientific American**, v. 247, n. 5, p. 158-171, 1982

DA FONSECA, W. L.; CORREA, R. R.; DE SOUZA OLIVEIRA, A.; BRAZ, H. B.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; BERNARDE, P. S. First report of male–male combat in free-ranging Amazonian Common Lanceheads (*Bothrops atrox*). **Canadian Journal of Zoology**, v. 100, n. 3, p. 239-242, 2022.

DE SOUZA, E.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Reproduction in the bushmaster (*Lachesis muta*): uterine muscular coiling and female sperm storage. **Acta Zoologica**, v. 103, n. 2, p. 244-255, 2022.

DEL-CLARO, K.; PREZOTO, F.; SABINO J. **Comportamento animal: As distintas faces do comportamento animal**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Etologia/Editora e Livraria Conceito, v. 1, p. 10-13, 2004.

DENARDO, D. F.; TAYLOR, E. N. Hormones and Reproduction in Free-ranging snakes. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. (Eds.), **Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes**, CRC Press, p. 265–287, 2011.

DIXON, J. R.; WIEST, J. A.; CEI, J. M. Revision of the Neotropical snake genus *Chironius* Fitzinger (Serpentes, Colubridae). **Monografie dei Museo Regionale di Scienze Naturali di Torino**, v. 13, p. 279, 1993.

DUVALL, D.; ARNOLD, S. J.; SCHUETT, G. W. Pitviper mating systems: ecological potential, sexual selection, and microevolution. **Biology of the Pitvipers**, p. 321-336, 1992.

DUVALL, D.; SCHUETT, G. W. Straight-line movement and competitive mate searching in prairie rattlesnakes, *Crotalus viridis viridis*. **Animal Behaviour**, v. 54, n. 2, p. 329-334, 1997.

DUVALL, D.; SCHUETT, G. W.; ARNOLD, S. J. Ecology and evolution of mating systems. In: SEIGEL, R. A.; COLLINS, J. T. (Eds.). **Snakes: Ecology and behavior**. New York: McGraw-Hill, p. 165-200, 1993.

EMLEN, S. T.; ORING, L. W. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. **Science**, v. 197, n. 4300, p. 215-223, 1977.

FEIO, R.; SANTOS, P. S.; FERNANDES, R.; DE FREITAS, T. S. *Chironius flavolineatus*: Courtship. **Herpetological Review**, v. 30, p. 99, 1999.

FERNANDES, D. S.; HAMDAN, B. A new species of *Chironius* Fitzinger, 1826 from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Serpentes: Colubridae). **Zootaxa**, v. 3881, n. 6, p. 563-575, 2014.

FERRAREZZI, H. Uma sinopse dos gêneros e classificação das serpentes (Squamata): II. Família Colubridae. In: **Herpetologia do Brasil**, p. 81-91, 1994.

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

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

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

FOX, W. Seminal receptacles of snakes. **The Anatomical Record**, v. 124, n. 3, p. 519-539, 1956.

GARSTKA, W. R.; CREWS, D. Female sex pheromone in the skin and circulation of a garter snake. **Science**, v. 214, p. 681-683, 1981.

GIBBONS, J. W.; SELMLITSCH, R. D. Activity patterns. In: **Snakes, Ecology and Evolutionary Biology**. SEIGEL, R. A.; COLLINS, J. T.; NOVAK, S. S. (Eds.). New York, McMillan Publishing Company, p. 396-421, 1987.

GILLINGHAM, J. C. Social behavior. In: **Snakes, Ecology and Evolutionary Biology**. SEIGEL, R. A.; COLLINS, J. T.; NOVAK, S. S. (Eds.). New York: McGraw-Hill, p. 184-209, 1987.

- GIRLING, J. E. The reptilian oviduct: A review of structure and function and directions for future research. **Journal of Experimental Zoology**, v. 293, n. 2, p. 141-170, 2002.
- GOODYEAR, J.; GILBERT, E. First record of male-male combat in *Xenopeltis unicolor*. **Herpetological Bulletin**, v. 143, p. 45-56, 2018.
- GOLDBERG, S. R.; PARKER, W. S. Seasonal Testicular Histology of the Colubrid Snakes, *Masticophis taeniatus* and *Pituophis melanoleucus*. **Herpetologica**, v. 31, n. 3, p. 317-322, 1975.
- GOLDBERG, S. R.; WHITTIER, C. A. Note on Reproduction of Whipsnakes, Genus *Chironius* (Serpentes: Colubridae), from Costa Rica. **Bulletin of the Chicago Herpetological Society**, v. 42, p. 148-149, 2007.
- GORMAN, G. C.; LICHT, P; MCCOLLUM, F. Annual reproductive patterns in three species of marine snakes from the central Phillipines. **Journal of Herpetology**, p. 335-354, 1981.
- GRIBBINS, K. M.; RHEUBERT, J. L. The ophidian testis, spermatogenesis, and mature spermatozoa. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. (Ed). **Reproductive biology and phylogeny of snakes**, v. 9, p. 183-264, 2011.
- GRIBBINS, K. Reptilian spermatogenesis: a histological and ultrastructural perspective. **Spermatogenesis**, v. 1, n. 3, p. 250-269, 2011.
- GUEDES, T.; GUEDES, A.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Male-male fighting, dominance, and mating in *Epicrates assisi* (Serpentes: Boidae) in captivity. **Phyllomedusa: Journal of Herpetology**, v. 18, n. 1, p. 131-135, 2019.
- HAMDAN, B.; FERNANDES, D. S. Taxonomic revision of *Chironius flavolineatus* (Jan, 1863) with description of a new species (Serpentes: Colubridae). **Zootaxa**, v. 4012, n. 1, p. 97-119, 2015.
- HOLLIS, J. L. Phylogenetics of the genus *Chironius* Fitzinger, 1826 (Serpentes, Colubridae) based on morphology. **Herpetologica**, v. 62, n. 4, p. 435-453, 2006.
- JUNQUEIRA, C. L.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- KARL, S. A. The effect of multiple paternity on the genetically effective size of a population. **Molecular Ecology**, v. 17, n. 18, p. 3973-3977, 2008.

KHOURI, R. S.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; FERNANDES, D. S. Anatomy of the reproductive system of a population of *Amerotyphlops brongersmianus* from southeastern Brazil (Serpentes: Scolecophidia). **The Anatomical Record**, v. 303, n. 9, p. 2485-2496, 2020.

KOK, P. J. R. A new species of *Chironius* Fitzinger, 1826 (Squamata: Colubridae) from the Pantepui region, northeastern South America. **Zootaxa**, v. 2611, n. 1, p. 31-44, 2010.

KREBS, J. R.; DAVIES, N. B. (Eds.). **Behavioural ecology: an evolutionary approach**. John Wiley & Sons, 2009.

KROHMER, R. W. Variation in seasonal ultrastructure of sexual granules in the renal sexual segment of the northern water snake, *Nerodia sipedon sipedon*. **Journal of Morphology**, v. 261, n. 1, p. 70-80, 2004.

LEITE, P. T.; KAEFER, I. L.; CECHIN, Z. S. Diet of *Philodryas olfersii* (Serpentes, Colubridae) during hydroelectric dam flooding in southern Brazil. **North-Western Journal of Zoology**, v. 5, n. 1, 2009.

LEITE, P. T.; NUNES, S. D. F.; KAEFER, I. L.; CECHIN, S. Z. Reproductive biology of the swamp racer *Mastigodryas bifossatus* (Serpentes: Colubridae) in subtropical Brazil. **Zoologia** (Curitiba), v. 26, p. 12-18, 2009.

LEMASTER, M. P.; MASON, R. T. Variation in a female sexual attractiveness pheromone controls male mate choice in garter snakes. **Journal of chemical ecology**, v. 28, p. 1269-1285, 2002.

LOEBENS, L.; ROJAS, C. A.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; CECHIN, S. Z. Reproductive biology of *Philodryas patagoniensis* (Snakes: Dipsadidae) in south Brazil: Female reproductive cycle. **Acta Zoologica**, v. 99, n. 2, p. 105-114, 2018.

LOEBENS, L.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; CECHIN, S. Z. Reproductive biology of the Sword Snake *Tomodon dorsatus* (Serpentes: Dipsadidae) in South Brazil: comparisons within the tribe Tachymenini. **Amphibia-Reptilia**, v. 41, n. 4, p. 445-459, 2020.

LOEBENS, L.; THEIS, T. F.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; CECHIN, S. Z. Reproductive biology, sperm storage, and sexual maturity of *Thamnodynastes strigatus* (Serpentes: Dipsadidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, p. e20211087, 2022.

LOVICH, J. E.; GIBBONS, J. W. A review of techniques for quantifying sexual size dimorphism. **Growth Development and Aging**, v. 56, p. 269, 1992.

MARQUES, O. A. V. **Composição faunística. História natural e ecologia de serpentes da Mata Atlântica, na região da Estação Ecológica Juréia-Itatins, São Paulo, SP.** Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo, p.142. 1998.

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**, v. 1, n. 4, p. 76-80, 2009.

MARQUES, O. A. V.; MURIEL, A. P. Reproductive biology and food habits of the swamp racer *Mastigodryas bifossatus* from southeastern South America. **The Herpetological Journal**, v. 17, n. 2, p. 104-109, 2007.

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

MARQUES, O. A. V.; SAZIMA, I. História natural dos répteis da Estação Ecológica Juréia-Itatins. In: MARQUES, O. A. V.; DULEBA, W. (Eds). **Estação Ecológica Juréia-Itatins: Ambiente Físico, Flora e Fauna.** Editora Holos. Ribeirão Preto, p. 257-277, 2004.

MARQUES, R.; MEBERT, K.; FONSECA, É.; RÖDDER, D.; SOLÉ, M.; TINÔCO, M. S. Composition and natural history notes of the coastal snake assemblage from Northern Bahia, Brazil. **ZooKeys**, n. 611, p. 93, 2016.

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

MASON, R. T.; PARKER, M. R. Social behavior and pheromonal communication in reptiles. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 196, p. 729-749, 2010.

MATHIES, T. Reproductive cycles of tropical snakes. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. (Ed). **Reproductive biology and phylogeny of snakes.** New Hampshire: Science Publishers, Enfield, v. 1, p. 511-550, 2011.

MATHIES, T.; CRUZ, J. A.; LANCE, V. A.; SAVIDGE, J. A. Reproductive biology of male brown treesnakes (*Boiga irregularis*) on Guam. **Journal of Herpetology**, v. 44, n. 2, p. 209-221, 2010.

MEAD, R. A.; EROSCHENKO, V. P.; HIGHFILL, D. R. Effects of progesterone and estrogen on the histology of the oviduct of the garter snake, *Thamnophis elegans*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 45, n. 3, p. 345-354, 1981.

MELO, G. C.; NASCIMENTO, L. B.; GALDINO, C. A. B. Lizard reproductive biology beyond the gonads: an investigation of sperm storage structures and renal sexual segments. **Zoology**, v. 135, p. 125690, 2019.

MENDONÇA, F.; DANNI-OLIVEIRA, I. M. **Climatologia: Noções básicas e climas do Brasil**. São Paulo: Oficina de Textos, cap. 7, p. 83-112, 2007

MESQUITA, P. C. M. D.; BORGES-NOJOSA, D. M.; BEZERRA, C. H. Dimorfismo sexual na “cobra-cipó” *Oxybelis aeneus* (Serpentes, Colubridae) no Estado do Ceará, Brasil. **Biotemas**, v 23, p. 65-69, 2010.

MISSASSI, A. F.; COETI, R. Z.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; PRUDENTE, A. L. Intense male-male ritual combat in the *Micrurus ibiboboca* complex (Elapidae) from northeastern South America. **Herpetological Conservation and Biology**, v. 17, n. 1, p. 204-216, 2022.

MUNIZ-DA-SILVA, D. F. **Reprodução em crotalíneos: Uterine Muscular Twisting *in vivo***. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Cirurgia, São Paulo, p. 75, 2016.

MUNIZ-DA-SILVA, D. F. **Ciclo reprodutivo da caninana, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (Serpentes: Colubridae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 135. 2012.

MUNIZ-DA-SILVA, D. F.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Male-male ritual combat in *Spilotes pullatus* (Serpentes: Colubrinae). **Herpetological Bulletin**, v. 126, p. 25-29, 2014.

MUNIZ-DA-SILVA, D. F.; PASSOS, J.; SIEGEL, D. S.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Caudal oviduct coiling in a viperid snake, *Crotalus durissus*. **Acta Zoologica**, v. 101, n. 1, p. 69-77, 2018.

NASCIMENTO, L. P.; SIQUEIRA, D. M.; SANTOS-COSTA, M. C. Diet, reproduction, and sexual dimorphism in the vine snake, *Chironius fuscus* (Serpentes: Colubridae), from Brazilian Amazonia. **South American Journal of Herpetology**, v. 8, n. 3, p. 168-174, 2013.

NOGUEIRA, C. C.; ARGÔLO, A. J.; ARZAMENDIA, V.; AZEVEDO, J. A.; BARBO, F. E.; BÉRNILS, R. S.; BOLOCHIO, B. E.; BORGES-MARTINS, M.; BRASIL-GODINHO, M.; BRAZ, H. B.; BUONONATO, M. A.; CISNEROS-HEREDIA, D. F.; COLLI, G. R.; COSTA, H. C.; FRANCO, F. L.; GIRAUDO, A.; GONZALEZ, R. C.; GUEDES, T.; HOOGMOED, M. S.; MARQUES, O. A.V.; MONTINGELLI, G. G.; PASSOS, P.; PRUDENTE, A. L.C.; RIVAS, G. A.; SANCHEZ, P. M.; SERRANO, F. C.; SILVA, N. J.; STRÜSSMANN, C.; VIEIRA-ALENCAR, J. P. S.; ZAHER, H.; SAWAYA, R. J.; MARTINS, M. Atlas of Brazilian snakes: verified point-locality maps to mitigate the Wallacean shortfall in a megadiverse snake fauna. **South American Journal of Herpetology**, v. 14, p. 1-274, 2019.

O'DONNELL, R. P.; FORD, N. B.; SHINE, R.; MASON, R. T. Male red-sided garter snakes, *Thamnophis sirtalis parietalis*, determine female mating status from pheromone trails. **Animal Behaviour**, v. 68, n. 4, p. 677-683, 2004.

OLIVEIRA, J. L. **Ecologia de três espécies de dormideira, *Sibynomorphus* (Serpentes: Colubridae)**. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 60, 2001.

OLIVEIRA, S. V. Observação do comportamento predatório de *Chironius bicarinatus* (Serpentes, Colubridae) em *Hypsiboas pulchellus* (Anura, Hylidae), Serra do sudeste, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biodiversidade Pampeana**, v. 6, n. 2, 2008.

PERKINS, J. M.; 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.

PINTO, R. R.; FERNANDES, R.; MARQUES, O. A. V. Morphology and diet of two sympatric colubrid snakes, *Chironius flavolineatus* and *Chironius quadricarinatus* (Serpentes: Colubridae). **Amphibia-Reptilia**, v. 29, n. 2, p. 149-160, 2008.

PINTO, R. R.; MARQUES, O. A. V.; FERNANDES, R. Reproductive biology of two sympatric colubrid snakes, *Chironius flavolineatus* and *Chironius quadricarinatus*, from the Brazilian Cerrado domain. **Amphibia-Reptilia**, v. 31, n. 4, p. 463-473, 2010.

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

PIZZATTO, L.; JORDÃO, R. S.; MARQUES, O. A. V. Overview of reproductive strategies in *Xenodontini* (Serpentes: Colubridae: Xenodontinae) with new data for *Xenodon newwiedii* and *Waglerophis merremii*. **Journal of Herpetology**, v. 42, n. 1, p. 153-162, 2008.

PIZZATTO, L.; MANFIO, R. H.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Male-male ritualized combat in the Brazilian rainbow boa, *Epicrates cenchria crassus*. **Herpetological Bulletin**, v. 95, p. 16, 2006.

PIZZATTO, L.; MARQUES, O. A. V. Interpopulational variation in reproductive cycles and activity of the water snake *Liophis miliaris* (Colubridae) in Brazil. **The Herpetological Journal**, v. 16, n. 4, p. 353-362, 2006.

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

PROSSER, M. R.; WEATHERHEAD, P. J.; GIBBS, H. L.; BROWN, G. P. Genetic analysis of the mating system and opportunity for sexual selection in northern water snakes (*Nerodia sipedon*). **Behavioral Ecology**, v. 13, n. 6, p. 800-807, 2002.

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**, v. 13, n. 1, p. 1-54, 2013.

RIBEIRO DA COSTA, A. C. O.; HAUZMAN, E.; SCARTOZZONI, R. R. *Chironius laevicollis* (Pale-necked whipsnake): Reproduction. **Herpetological bulletin**, n. 92, p. 26-27, 2005.

RIVAS, J. A.; BURGARDT, G. M. Snake mating systems, behavior, and evolution: the revisionary implications of recent findings. **Journal of Comparative Psychology**, v. 119, n. 4, p. 447, 2005.

RIVAS, J. A.; BURGARDT, G. M. Understanding sexual size dimorphism in snakes: wearing the snake's shoes. **Animal Behaviour**, v. 62, n. 3, p. 1-6, 2001.

ROBERTO, I. J.; SOUZA, A. R. Review of prey items recorded for snakes of the genus *Chironius* (Squamata, Colubridae), including the first record of *Osteocephalus* as prey. **Herpetology Notes**, v. 13, p. 1-5, 2020.

RODRIGUES, M. G. **Ecomorfologia e uso de recursos das espécies de *Chironius* (Serpentes, Colubridae) na Serra do Mar**. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, p. 75, 2007.

ROJAS, C. A.; BARROS, V. A.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Sperm storage and morphofunctional bases of the female reproductive tract of the snake *Philodryas patagoniensis* from southeastern Brazil. **Zoomorphology**, v. 134, p. 577-586, 2015.

ROJAS, C. A.; BARROS, V. A.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. The reproductive cycle of the male sleep snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) from southeastern Brazil. **Journal of Morphology**, v. 274, n. 2, p. 215-228, 2013.

RUBENSTEIN, D. R.; ALCOCK, J. **Animal behavior: an evolutionary approach**. Eleventh Edition. Manhattan, New York, USA. Oxford University Press, 2019.

SAINT GIRONS, H. Morphologie comparée du segment sexuel du rein des squamates (Reptilia). **Archives d'Anatomie Microscopique et de Morphologie Expérimentale**, v. 61, p. 243-266, 1972.

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

SANTOS, M. L. S.; NASCIMENTO, P. H.; TAVARES, I. V. N. M.; CORREIA, J. M. S.; DOS SANTOS, E. M. *Corallus hortulana* (Suacuboia): Male Combat. **Herpetological Review**, v. 51, p. 611-612, 2020.

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**, v. 4, n. 1, p. 81-89, 2009.

SCHUETT, G. W.; CARLISLE, S. L.; HOLYCROSS, A. T.; O'LEILE, J. K.; HARDY, D. L.; VAN KIRK, E. A.; MURDOCH, W. J. Mating system of male Mojave rattlesnakes (*Crotalus scutulatus*):

Seasonal timing of mating, agonistic behavior, spermatogenesis, sexual segment of the kidney, and plasma sex steroids. In: SCHUETT, G. W.; HÖGGREN, M.; DOUGLAS, M. E.; GREENE, H. W. (Eds.), **Biology of the Vipers**. Eagle Mountain, Carmel, p. 515-532, 2002.

SENER, P. J. Phylogeny of Courtship and Male-male Combat Behavior in Snakes: An Updated Analysis. **Current Herpetology**, v. 41, n. 1, p. 35-81, 2022.

SHERIDAN, M. A. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, v. 107, n. 4, p. 495-508, 1994.

SHINE, R. Activity patterns in Australian elapid snakes (Squamata: Serpentes: Elapidae). **Herpetologica**, v 35, p. 1–11, 1979.

SHINE, R. “Costs” of Reproduction in Reptiles. **Oecologia**, v. 46, n. 1980, p. 92-100, 1980.

SHINE, R. Reproduction in Australian elapid snakes I. Testicular cycles and mating seasons. **Australian Journal of Zoology**, v. 25, n. 4, p. 647-653, 1977.

SHINE, R. Reproductive strategies in snakes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1519, p. 995-1004, 2003.

SHINE, R. Sexual size dimorphism and male combat in snakes. **Oecologia**, v. 33, p. 269-278, 1978.

SHINE, R. Sexual size dimorphism in snakes revisited. **Copeia**, p. 326-346, 1994.

SHINE, R.; BONNET, X. Reproductive biology, population viability, and options for field management. In: MULLIN, S. J.; SEIGEL, R. A. (Eds.). **Snakes – Ecology and Conservation**. Cornell University Press, Ithaca, p. 172-200, 2009.

SHINE, R.; FITZGERALD, M. Variation in mating systems and sexual size dimorphism between populations of the Australian python *Morelia spilota* (Serpentes: Pythonidae). **Oecologia**, p. 490-498, 1995.

SHINE, R.; MASON, R. T. An airborne sex pheromone in snakes. **Biology letters**, v. 8, n. 2, p. 183-185, 2012.

SEIGEL, R. A.; FORD, N. B. Reproductive Ecology. In: SEIGEL, R. A.; COLLINS, J. T.; NOVAK, S. S. (Eds.). **Snakes: Ecology and Evolutionary Biology**. New York: MacMillan Publishing Company, 1987.

SEIGEL, R. A.; HUGGINS, M. M.; FORD, N. B. Reduction in locomotor ability as a cost of reproduction in gravid snakes. **Oecologia**, v. 73, p. 481–485, 1987.

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

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

SILVA, K. M. P. **Biologia reprodutiva de serpentes neotropicais dos grupos *Bothrops atrox* e *Bothrops jararacussu* (Viperidae: Crotalinae)**. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 127, 2019.

SILVA, K. M. P.; SUEIRO, L. R.; GALASSI, G. G.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Reprodução de *Bothrops* spp. (Serpentes, Viperidae) em criadouro conservacionista. **Veterinária e Zootecnia** v. 20, p. 632–642, 2013.

SILVA, K. M.; BRAZ, H. B.; KASPEROVICZUS, K. N.; MARQUES, O. A. V.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Reproduction in the pitviper *Bothrops jararacussu*: large females increase their reproductive output while small males increase their potential to mate. **Zoology**, v. 142, p. 125816, 2020.

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

SOLÓRZANO, A. **Snakes of Costa Rica: Distribution, taxonomy and natural history**. Instituto Nacional de Biodiversidad, (INBio), Costa Rica, 2004.

SOUZA, E. **Biologia reprodutiva da surucucu-pico-de-jaca (*Lachesis muta*): de Norte a Nordeste do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, p. 142, 2020.

SOUZA, E.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Reproduction in the bushmaster (*Lachesis muta*): uterine muscular coiling and female sperm storage. **Acta Zoologica**, v. 103, n. 2, p. 244-255, 2022.

SUEIRO, L. R. **Custos Reprodutivos em *Crotalus durissus* (Serpentes, Viperidae) do Estado de São Paulo, Brasil**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 104, 2013.

TRAUTH, S. E.; SEVER, D. M. Male urogenital ducts and cloacal anatomy. In: ALDRIDGE, R. D.; SEVER, D. M. (Eds). **Reproductive biology and phylogeny of snakes**, CRC Press, p. 423-488, 2016.

TRENBERTH, K. E. What are the seasons? **Bulletin of the American Meteorological Society**, v. 64, n. 11, p. 1276-1282, 1983.

UETZ, P.; FREED, P.; AGUILAR, R.; REYES, F.; HOŠEK, J. (eds.) **The Reptile Database**, 2023. <http://www.reptile-database.org>, accessed on 19 May 2023.

VOLSØE, H. Structure and seasonal variation of the male reproductive organs of *Vipera berus*. **Spolia Zool. Mus. Hauniensis**, v. 5, p. 1-157, 1944.

VRCIBRADIC, D.; EISFELD, A. Predation on a tropical house gecko, *Hemidactylus mabouia* by a juvenile colubrid snake, *Chironius bicarinatus*, in a Brazilian Atlantic Rainforest area. **Cuadernos de Herpetologia**, v. 30, n. 2, p. 75-77, 2016.

YAMANOUYE, N.; SILVEIRA, P. F.; ABDALLA, F. M. F.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; BRENO, M. C.; SALOMÃO, M. G. Reproductive cycle of the Neotropical *Crotalus durissus terrificus*: II. Establishment and maintenance of the uterine muscular twisting, a strategy for long-term sperm storage. **General and comparative endocrinology**, v. 139, n. 2, p. 151-157, 2004.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. ed. Princeton-Hall, New Jersey, P. 663, 1999.