



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO AMAZONAS  
CAMPUS MANAUS ZONA LESTE  
DEPARTAMENTO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**VINÍCIUS MARQUES DE LIMA**

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E HISTOLÓGICA DO APARELHO  
REPRODUTOR DE FÊMEAS DA SERPENTE SUAÇUBÓIA  
(*Corallus hortulanus*, SQUAMATA: BOIDAE)**

**MANAUS-AM  
2021**

VINÍCIUS MARQUES DE LIMA

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E HISTOLÓGICA DO APARELHO  
REPRODUTOR DE FÊMEAS DA SERPENTE SUAÇUBÓIA  
(*Corallus hortulanus*, SQUAMATA: BOIDAE)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), como requisito parcial para obtenção do Grau Bacharelado em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Kilma Cristiane Silva Neves

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Ermelinda do Espírito Santo Oliveira

**MANAUS - AM  
2021**

VINÍCIUS MARQUES DE LIMA

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E HISTOLÓGICA DO APARELHO REPRODUTOR DE  
FÊMEAS DA SERPENTE SUAÇUBÓIA  
(*Corallus hortulanus*, SQUAMATA: BOIDAE)**

Este trabalho de conclusão de curso foi julgado e aprovado como requisito parcial para a obtenção do grau de Médico Veterinário no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Kilma Cristiane Silva Neves

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Ermelinda do Espírito Santo Oliveira

Aprovado em 08 de abril de 2021.

**BANCA EXAMINADORA**

*Kilma*

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> KILMA CRISTIANE SILVA NEVES  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM)

*Jomel Francisco dos Santos*

---

Prof. Dr. JOMEL FRANCISCO DOS SANTOS  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM)

*Eduardo Sousa*

---

Prof. Me. EDUARDO LIMA DE SOUSA  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM)

MANAUS - AM  
2021

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD**

L732a Lima, Vinicius Marques de.  
Análise morfológica e histológica do aparelho reprodutor de fêmeas da serpente suaçubóia (*Corallus hortulanus*, Squamata: boidae). / Vinicius Marques de Lima. -- Manaus, 2021.  
29 f.; il : color, 30 cm

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas –  
Campus Manaus Zona Leste, Curso de Medicina Veterinária, 2021.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Kilma Cristiane Silva Neves  
Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup> Maria Ermelinda do Espírito Santo Oliveira

1. Serpentes. 2. Reprodução. 3. Amazônia. 4. *Corallus hortulanus*. I. Neves, Kilma Cristiane Silva. II. Oliveira, Maria Ermelinda do Espírito Santo. III. Título.

CDD – 615.942

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por me abençoar durante essa jornada, ser refúgio em momentos que mais precisei e por permitir que todas as coisas fluíssem de acordo com sua vontade;

À minha família, por ser meu único significado de refúgio e renovação, em especial à meus pais, Sidney e Lane, por ser o alicerce que precisei para dar meus primeiros passos e iniciar a construção dos meus sonhos, por todo o sacrifício e investimento feitos, incansavelmente, desde minha infância, para que eu chegasse aqui. Sem eles nada disso faria sentido;

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Estado do Amazonas, IFAM, Campus Manaus Zona Leste, por ter permitido a realização deste sonho e as oportunidades ofertadas durante a graduação.

A todos aqueles que tiveram papel fundamental no meu processo de aprendizagem, dispondo de paciência e disponibilidade para me passar os conhecimentos necessários, dividindo comigo além do que lhes era imposto, sua rotina, experiências pessoais e profissionais.

As minhas orientadoras, por aceitar o desafio de orientação, por todo o suporte e dedicação durante a realização deste trabalho.

Aos meus preciosos amigos, por dividirem momentos bons e ruins durante todos esses anos, me mostrando o verdadeiro significado de amizade, sempre apoiando meus passos e acreditando no meu potencial, quando, por vezes, nem eu mesmo acreditava.

“Talvez não tenha conseguido ser o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas, graças a Deus, não sou o que era antes”

**Martin Luther King**

## **RESUMO:**

A reprodução faz parte do ciclo de vida dos animais permitindo a perpetuação e a conservação das espécies. O conhecimento de informações sobre o ciclo reprodutivo das serpentes da Amazônia é escasso, considerando a grande diversidade de espécies, e a maioria dos dados obtidos são de serpentes em cativeiro. Desta forma, este estudo objetivou avaliar o aparelho reprodutor de fêmeas de *Corallus hortulanus*, a partir da observação de caracteres morfológicos e histológicos dos folículos ovarianos, vagina e infundíbulo. Para tal, foram coletados dados biométricos e fragmentos de tecidos para análise histológica de 21 exemplares. O ciclo reprodutivo foi estimado através da relação de alterações visualizadas na morfologia e na histologia das gônadas ao longo do ano, como descrito na literatura, onde observou-se variações ovarianas, desde a ausência de folículos, quando a serpente ainda não está reprodutivamente madura, até o começo do desenvolvimento com aumento folicular variando o tamanho e a forma entre as serpentes estudadas. Neste estudo, os folículos em vitelogênese primária mediram de 1,47 a 7,8 mm e foram observados ao longo de todo o ano. O maior desenvolvimento folicular observado neste estudo, supostamente estágio de vitelogênese secundária, foi detectado nos meses de maio e junho, período da estação mais chuvosa, e foi observado em fêmeas com tamanho corporal de 1.480 mm, apresentando folículos ovarianos com tamanhos de 10,0 a 12,57 mm. A análise histológica foi de encontro com o que já é descrito para a espécie e não detectou a presença de espermatozoides. Embora os resultados sobre o ciclo das fêmeas não tenham sido conclusivos, a observação do desenvolvimento folicular nos meses de maio e junho, comparados com dados disponíveis para a espécie, sustentam a hipótese de sincronidade entre os ciclos de machos e fêmeas, necessitando aumentar o número amostral. Os resultados obtidos neste estudo contribuem para uma maior compreensão do conhecimento da história natural e do ciclo reprodutivo de fêmeas de *C. hortulanus* da Amazônia.

**Palavras-chave:** Serpentes. Reprodução. Amazônia. *Corallus hortulanus*.

## **ABSTRACT:**

Reproduction is part of the life cycle of animals allowing the perpetuation and conservation of species. Information on the reproductive cycle of Amazonian snakes is scarce, considering the great diversity of species, and most of the data obtained are from snakes in captivity. Thus, this study aimed to evaluate the reproductive system of *Corallus hortulanus* females, from the observation of morphological and histological characters of the ovarian follicles, vagina and infundibulum. For this purpose, biometric data and tissue fragments were collected for histological analysis from 21 specimens. The reproductive cycle was estimated through the ratio of changes visualized in the morphology and histology of the gonads throughout the year, as described in the literature, where ovarian variations were observed, from the absence of follicles, when the snake is not yet reproductively mature, to the beginning of development with follicular enlargement varying in size and shape among the snakes studied. In this study, follicles in primary vitellogenesis measured from 1.47 to 7.8 mm and were observed throughout the year. The greatest follicular development observed in this study, presumably secondary vitellogenesis stage, was detected in the months of May and June, the period of the rainiest season, and was observed in females with body size of 1,480 mm, presenting ovarian follicles with sizes from 10.0 to 12.57 mm. The histological analysis was in line with what is already described for the species and did not detect the presence of spermatozoa. Although the results on the cycle of the females were not conclusive, the observation of follicular development in the months of May and June, compared to data available for the species, support the hypothesis of synchronicity between the cycles of males and females, requiring an increase in sample size. The results obtained in this study contribute to a greater understanding of the natural history and reproductive cycle of Amazonian females of *C. hortulanus*.

**Keywords:** Snakes. Reproduction. Amazon. *Corallus hortulanus*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Suaçubóia, <i>Corallus hortulanus</i> .....	12
<b>Figura 2.</b> Aparelho reprodutor de fêmeas de serpentes .....	18
<b>Figura 3.</b> Ciclo reprodutivo de fêmeas de <i>Corallus hortulanus</i> : variação do diâmetro do maior folículo ovariano em fêmeas em comparação com o tamanho total das fêmeas (mm). Círculos pretos = folículos ovarianos.....	21
<b>Figura 4.</b> Ciclo reprodutivo de fêmeas de <i>Corallus hortulanus</i> : variação do diâmetro do maior folículo ovariano em fêmeas ao longo do ano (mês 1 ao mês 12) .....	22
<b>Figura 5.</b> Ciclo reprodutivo de fêmeas de <i>Corallus hortulanus</i> : variação da média do tamanho dos folículos ovarianos direito (MFOD) e esquerdo (MFOE).....	23
<b>Figura 6.</b> Corte histológico do infundíbulo (Objetiva 40x): epitélio cuboidal simples, constituído por células ciliadas e células secretoras.....	24
<b>Figura 7.</b> Corte histológico do útero (Objetiva 100x): estrutura espessa de lâmina própria e camada muscular.....	25
<b>Figura 8.</b> Corte histológico da vagina (Objetiva 100x): epitélio cilíndrico simples com poucas células ciliadas.....	25

## LISTA DE ABREVIações

<b>CC</b>	– Comprimento da Cauda
<b>CRC</b>	– Comprimento Rostro-Cloacal
<b>CZPM</b>	– Coleção Zoológica Paulo Bürnheim
<b>FOD</b>	– Folículo Ovariano Direito
<b>FOE</b>	– Folículo Ovariano Esquerdo
<b>INPA</b>	– Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
<b>MM</b>	– Milímetro
<b>MT</b>	– Massa Total
<b>MFOD</b>	– Média do Folículo Ovariano Direito
<b>MFOE</b>	– Média do Folículo Ovariano Esquerdo
<b>UA</b>	– Útero Anterior
<b>UFAM</b>	– Universidade Federal do Amazonas
<b>UP</b>	– Útero Posterior

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>15</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
3.1. OBJETIVO GERAL .....	<b>16</b>
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	<b>16</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>17</b>
4.1. EXEMPLARES EXAMINADOS.....	17
4.2. MORFOMETRIA DOS EXEMPLARES .....	17
4.3. TECNICA HISTOLOGICA .....	18
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>20</b>
5.1. BIOMETRIA DOS EXEMPLARES.....	20
5.1.1. COMPRIMENTO DO CORPO .....	20
5.1.2. MASSA CORPORAL.....	20
5.1.3. TAMANHO DOS FOLÍCULOS OVARIANOS.....	21
5.2. HISTOLOGIA.....	23
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>27</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Serpentes da família Boidae estão entre as maiores serpentes do mundo e possuem ampla distribuição geográfica, estando presentes em região Neotropical, ilhas do Pacífico, Índia e Brasil (PIZZATTO *et al.*, 2007a). As espécies registradas no Brasil são: *Boa constrictor* (jiboia); *Eunectes murinus* (sucuri), *Epicrates cenchria* (cobra arco-íris); *Corallus caninus* (periquintabóia); *C. hortulanus* (suaçubóia); e *C. copranii* (jiboia amarela) (MACHADO-FILHO *et al.*, 2011; AMIGO, 2017).

As Suaçuboias (Figura 1) são serpentes arborícolas encontradas em florestas de regiões úmidas e áreas de savanas na Amazônia e na Mata Atlântica. Habitam as copas das árvores onde desenvolvem atividades predominantemente noturna, contudo, eventualmente são encontradas forrageando em ramificações mais baixas e podem ser ativas durante o dia. Apresentam dieta generalista, constituída por pequenos mamíferos, aves, morcegos, anuros e lagartos (MARTINS; OLIVEIRA, 1999; SCARTOZZONI; MOLINA, 2004).



Figura 1: Suaçubóia, *Corallus hortulanus*. Fonte: Ermelinda Oliveira, 2018.

Sob o aspecto de conservação essa espécie não sofre ameaça, pois possui ampla distribuição, inclusive em áreas protegidas, contudo poderá sofrer impacto nos locais em

que os centros urbanos apresentam grande e rápida expansão. Em Manaus a espécie pode ser encontrada nos fragmentos florestados da Universidade Federal do Amazonas-UFAM e na Reserva Florestal Adolpho Ducke (MARTINS; OLIVEIRA, 1999; CALDERON, 2016; ICMBIO, 2018)

Como característica de hábito arborícola, possuem corpo achatado dorso-lateralmente, o que permite maior estabilidade e habilidade sobre substrato arbóreo. Entre as espécies de boideos, *C. hortulanus* possui o menor tamanho corporal e menor robustez, mas possuem maior tamanho relativo da cauda, caráter adaptativo à arborealidade (PIZZATTO et al., 2007a). Outra característica das espécies é o polimorfismo cromático, onde há diversas variações de padrões de desenhos e coloração com tons de amarelo, vermelho, alaranjado, marrom, preto, caramelo, cinza, bege e diversas outras variações (DUARTE et al., 2015; VIANA, 2015).

A reprodução desses animais faz parte do ciclo básico da vida sendo parte crucial para a perpetuação e conservação da espécie. Dessa maneira o estudo da biologia reprodutiva se faz necessário para traçar medidas preventivas para o controle de preservação das espécies no habitat natural. Para isso, são levantados fatores fisiológicos, comportamentais, ecológicos e evolutivos da espécie em foco. Os ciclos reprodutivos das espécies são determinados a partir de aspectos inerentes aos sexos, tendo grande variabilidade de padrões reprodutivos e de características específicas, como dimorfismo sexual, tamanho de maturidade sexual, fecundidade, sazonalidade reprodutiva, padrões de comportamentos reprodutivos, entre outros (SHINE; BONNET, 2009; LIMA et al., 2019).

As Fêmeas de *C. hortulanus* caracterizam-se morfologicamente, por apresentarem órgãos reprodutivos pareados assimetricamente, onde o lado direito é mais cranial e maior em comparação ao lado esquerdo, essas estruturas são denominadas ovários e são facilmente identificáveis, independente da época do ano. Paralelos aos ovários estão os ovidutos, que se dividem em infundíbulo, útero e vagina. Mais cranialmente está o infundíbulo, em forma de funil formado por tecido fino que recebe os folículos durante a ovulação. O útero, estrutura alongada, é responsável por proporcionar o desenvolvimento embrionário. Após a região posterior do útero encontra-se a vagina, uma região mais alargada que receberá o hemipênis no momento da copula (PIZZATTO et al., 2007b; STETTER, 2013).

A transformação dos oócitos em folículos ovarianos recebe o nome de vitelogênese, a qual pode ser classificada em primária e secundária. A vitelogênese primária é lenta e produz folículos quiescentes a partir dos oócitos. A vitelogênese secundária é um processo em que há depósito de vitelo sobre os folículos quiescentes, os quais sofrem grande aumento do seu volume, sendo observados em fêmeas maduras. O processo de vitelogênese secundária pode estar restrito a determinado período do ano (reprodução descontínua ou sazonal), que ocorre na maioria das espécies de serpentes; ou ocorrer em qualquer época (reprodução contínua ou estendida), comum em serpentes de regiões tropicais (ALDRIDGE, 1979; SHINE; BONNET, 2009).

Estudos sugerem que a vitelogênese e nascimento de filhotes dessa espécie ocorre ao longo do período de chuvas e que pode se estender por muitos meses (BERNARDE et al., 2010; DUARTE et al., 2015). Os relatos de nascimentos em cativeiro ocorreram nos meses de janeiro a julho, outubro e novembro (ZACARIOTTI et al., 2010; BERNARDE et al., 2010). Porém isso pode ocorrer em períodos limitados ao longo do ano, considerando todas as variações por conta da sua ampla distribuição geográfica (BERNARDE et al., 2010). A observação de alterações, em diversos exemplares de serpentes coletadas ao longo do ano, no desenvolvimento reprodutivo destes órgãos pode elucidar o ciclo reprodutivo de uma espécie (PIZZATO et al, 2007a)

## 2. JUSTIFICATIVA

Para caracterizar o ciclo reprodutivo de *C. hortulanus* é necessário aumentar o número de estudos, uma vez que a maioria das informações disponíveis na literatura referem-se a animais de coleções científicas, de fêmeas coletadas prenhes ou mantidos em cativeiro e dessa forma não retratam as tendências naturais da espécie ocorridas na natureza (MARTINS; OLIVEIRA, 1998; GARCIA et al., 2015). Sabe-se que as Suacuboias são vivíparas e tanto machos como fêmeas estão maduros reprodutivamente com três anos em média; o período de gestação em cativeiro pode variar de 6 a 8 meses (MENDEZ, 2001).

Em machos de *C. hortulanus* as análises morfométricas e histológicas do aparelho reprodutivo indicaram que há intensa atividade testicular no período de chuvas, onde foi constatado a recrudescência testicular em dezembro, início da estação chuvosa, marcando o início da espermatogênese. Em nível individual o ciclo reprodutivo foi definido como descontínuo ao longo do período da seca. Enquanto há intensa atividade testicular no período chuvoso (OLIVEIRA, 2019; PINHEIRO, 2020)

Como não existem trabalhos suficientemente esclarecedores sobre o ciclo reprodutivo de fêmeas de *C. hortulanus*, este estudo visou contribuir para a ampliação do conhecimento científico acerca da biologia reprodutiva, pois ainda existem várias lacunas a serem elucidadas. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o aparelho reprodutor, a partir da análise de caracteres morfológicos e histológicos das gônadas, contribuindo assim, para a ampliação do conhecimento sobre a biologia reprodutiva de serpentes da família Boidae e conseqüentemente para auxílio na tomada de medidas de conservação e manejo desta espécie.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o aparelho reprodutor a partir da observação de caracteres morfológicos e histológicos das gônadas de fêmeas de *Corallus hortulanus*.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar características morfométricas dos exemplares amostrados;
- Descrever as mudanças dos órgãos nos estágios reprodutivos por meio de análise microscópica utilizando cortes histológicos.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. EXEMPLARES EXAMINADOS

Para seleção de fêmeas de *C. hortulanus* foram triados e sexados 59 exemplares pertencentes as coleções herpetológicas do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia (INPA), Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD).

Apenas 21 indivíduos atenderam aos critérios de inclusão para este estudo: 1. Possuir registro de data e local de coleta, 2. Não ter permanecido viva em cativeiro por mais de três meses, 3. Apenas indivíduos adultos (>1000 mm) (PIZZATTO; MARQUES, 2007b). Todos os espécimes estão depositados na Coleção de Anfíbios e Répteis do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA-H) e na Coleção Zoológica Paulo Bürnheim da Universidade Federal do Amazonas (CZPB/UFAM), em Manaus, e são provenientes de várias localidades da Amazônia Brasileira.

### 4.2. MORFOMETRIA DOS EXEMPLARES

Para cada espécime foram aferidas as medidas: 1. Comprimento Rostro-Cloacal (CRC); 2. Comprimento da Cauda (CC). 3. Massa Total (MT; após retira do excesso de líquido conservante). Estas variáveis auxiliaram nas análises para determinar tamanho mínimo reprodutivo (PIZZATTO et al., 2007b).

Após incisão ao longo do terço ventral posterior do corpo e visualização dos órgãos reprodutivos (Figura 2) foram aferidos os seguintes parâmetros: 1. Diâmetro do maior folículo ovariano, número de folículos em vitelogênese secundária e presença de embriões; 2. Presença/ausência de corpo lúteo; 3. Aspecto geral dos ovidutos (liso ou pregueado). As medidas de comprimento corporal foram aferidas com fita métrica de acurácia de 1,0 mm; e as gônadas aferidas com paquímetro digital (precisão 0,1).

Para a determinação dos folículos em vitelogênese secundária foi feita a plotagem das medidas dos folículos em gráfico de dispersão (ALMEIDA-SANTOS et al., 2014). Os folículos com diâmetro  $\geq 20$  mm foram considerados como folículos em estágio avançado de vitelogênese secundária; enquanto folículos ovarianos com diâmetro  $< 4$  mm foram

considerados como folículos pré-vitelogênicos, valores registrados previamente para a espécie através de ultrassonografia. (COSTA et al. 2015).

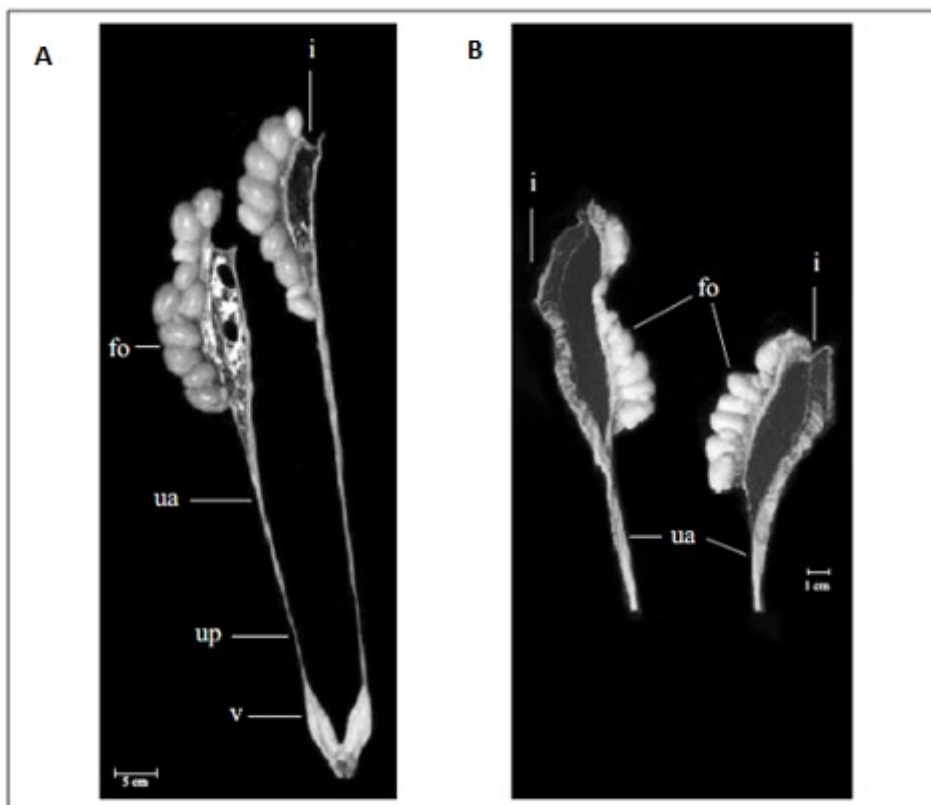


Figura 2: Aparelho reprodutor de fêmeas de serpentes. A. Ovarios: com folículos ovarianos (fo) em vitelogênese secundária; Infundíbulo (i); Ovidutos: útero anterior (ua), útero posterior (up); e Vagina (v). B. Detalhe da região do infundíbulo (i). Fonte: PIZZATTO et al., 2006.

#### 4.3. TÉCNICA HISTOLÓGICA

A análise microscópica do oviduto e do infundíbulo foi realizada para detectar as mudanças histológicas, assim como para visualização de espermatozoides pós cópula. Dessa forma, após tomada de medidas das gônadas, foram retirados fragmentos (1,0 cm) dos seguintes tecidos: 1. Útero posterior; 2. Vagina e 3. Infundíbulo posterior. (ALMEIDA-SANTOS, 2002).

Os fragmentos foram inseridos em cassetes histológicos e imersos em álcool etílico 70%. Para confecção das lâminas, o material foi submetido a desidratação e clarificação durante 40 minutos na sequência: álcool 95% - duas vezes, álcool etílico

absoluto, álcool etílico absoluto e xilol, xilol 100%. Posteriormente o material foi a estufa para impregnação da parafina nos tecidos e processado em blocos pelo método de parafina. Os blocos de parafina foram seccionados em cortes transversais com espessura de 5µm (adaptado de JUNQUEIRA et al., 1979; por Rosilene Ribeiro).

As lâminas passaram pelo processo de coloração com hematoxilina eosina: xilol I e xilol II (5 minutos), álcool etílico absoluto 100% (3 minutos); álcool etílico absoluto 100% (3 minutos), álcool etílico 96% (3 minutos), álcool etílico 70%; e lavagem em água destilada, eosina (60 segundos), lavagem em água destilada, hematoxilina (60 segundos); lavagem em álcool 100% duas vezes (10 segundos) (JUNQUEIRA et al., 1979).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. BIOMETRIA DOS EXEMPLARES

Vinte e uma fêmeas de *C. hortulanus* foram analisadas quanto a características morfológicas e do ciclo reprodutivo. Embora esta espécie não seja rara em coleções herpetológicas, vários fatores limitaram o número da amostragem. Em uma primeira triagem nas coleções, foram encontrados 59 exemplares entre machos, fêmeas e juvenis. Posteriormente, 39 fêmeas foram submetidas aos critérios de inclusão, resultando em 21 exemplares. A necessidade de pré-requisitos (ver Métodos) para a seleção dos animais foi fundamental, principalmente em relação a data de coleta, tamanho, estágio de desenvolvimento reprodutivo da serpente, assim como potenciais fatores de influência do meio sobre o ciclo, como permanência em cativeiro.

#### 5.1.1. COMPRIMENTO DO CORPO

A menor fêmea da amostra mediu 570 mm de comprimento total (CRC 450 mm + CC 120 mm) e a maior fêmea mediu 1.860 mm (CRC 1460 + CC 400 mm). A média do comprimento total da amostragem foi 1.279 mm (CRC + CC). As serpentes apresentaram cauda encurvada e longa em proporção ao corpo, uma característica de serpentes arborícolas, que também apresentam o corpo dorso lateralmente comprimido.

#### 5.1.2. MASSA CORPORAL

A serpente de menor robustez da amostra registrou 17,9 g e a de maior robustez 700 g, sendo que a média de massa corporal foi 289,3 g. Serpentes arborícolas tendem ter menor massa como característica adaptativa, em relação a serpentes de hábitos terrestres (MARTINS; OLIVEIRA, 1998). As dimensões e proporções corporais robustas, lhes permitem grande estocagem de reservas energéticas, podendo ser explicado pelo fato de que fêmeas maiores têm maior capacidade de gestar filhotes, uma maneira adaptativa de manter o sucesso reprodutivo da espécie (PIZZATTO, 2006). Essas características corroboram com estudos comparativos realizados entre as espécies de bóideos, onde *Corallus hortulanus* é a espécie que possui o menor tamanho corporal e

menor robustez, mas possuem maior tamanho relativo da cauda, um caráter adaptativo à arborealidade da espécie dentro do grupo (PIZZATTO et al., 2007a).

### 5.1.3. TAMANHO DOS FOLÍCULOS OVARIANOS

Os resultados desta amostragem revelam que as maiores fêmeas tiveram folículos medindo  $\geq 10$  mm, o que provavelmente indica o início da vitelogênese secundária (Figura 3), diferente do que foi descrito no estudo de Garcia et al. (2012), onde o desenvolvimento folicular do exemplar de *C. hortulanus* analisado foi descrito medindo 20 mm, o qual muito provavelmente já se encontrava em estágio bem avançado de vitelogênese secundária.

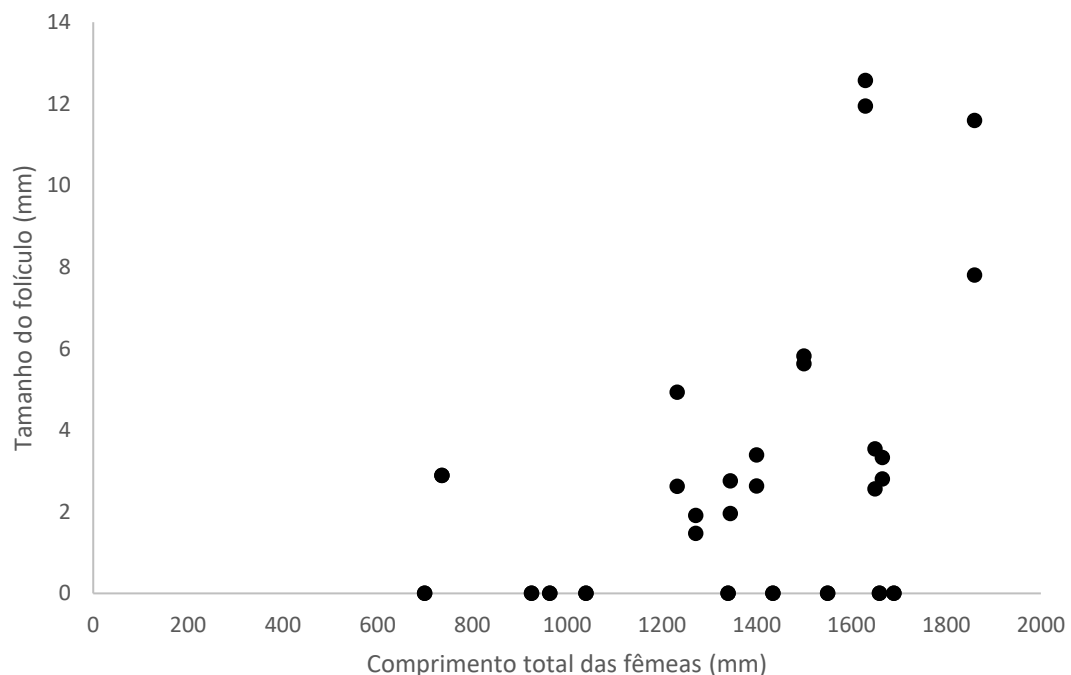


Figura 3: Ciclo reprodutivo de fêmeas de *Corallus hortulanus*: variação do diâmetro do maior folículo ovariano em comparação ao comprimento total das fêmeas (mm). Círculos pretos = folículos ovarianos.

Quanto a estrutura dos órgãos reprodutivos, foi observada a disposição assimétrica dos órgãos (folículos ovarianos, infundíbulo, útero anterior, útero posterior, ovidutos e vagina), sendo o lado direito disposto mais cranial que o lado esquerdo. Foi observado também variações ovarianas, desde a ausência de folículos, quando a

serpente ainda não está reprodutivamente madura, até o começo do desenvolvimento com aumento folicular variando o tamanho e a forma entre as serpentes estudadas, características que corroboram com estudos previamente publicados (PIZZATTO et al., 2007b; GARCIA et al., 2015). Neste estudo, os folículos em vitelogênese primária mediram de 1,47 a 7,8 mm e foram observados ao longo de todo o ano. Folículos em vitelogênese secundária mediram de 10,0 a 12,57 mm e foram observados entre os meses de maio e junho (Figura 4).

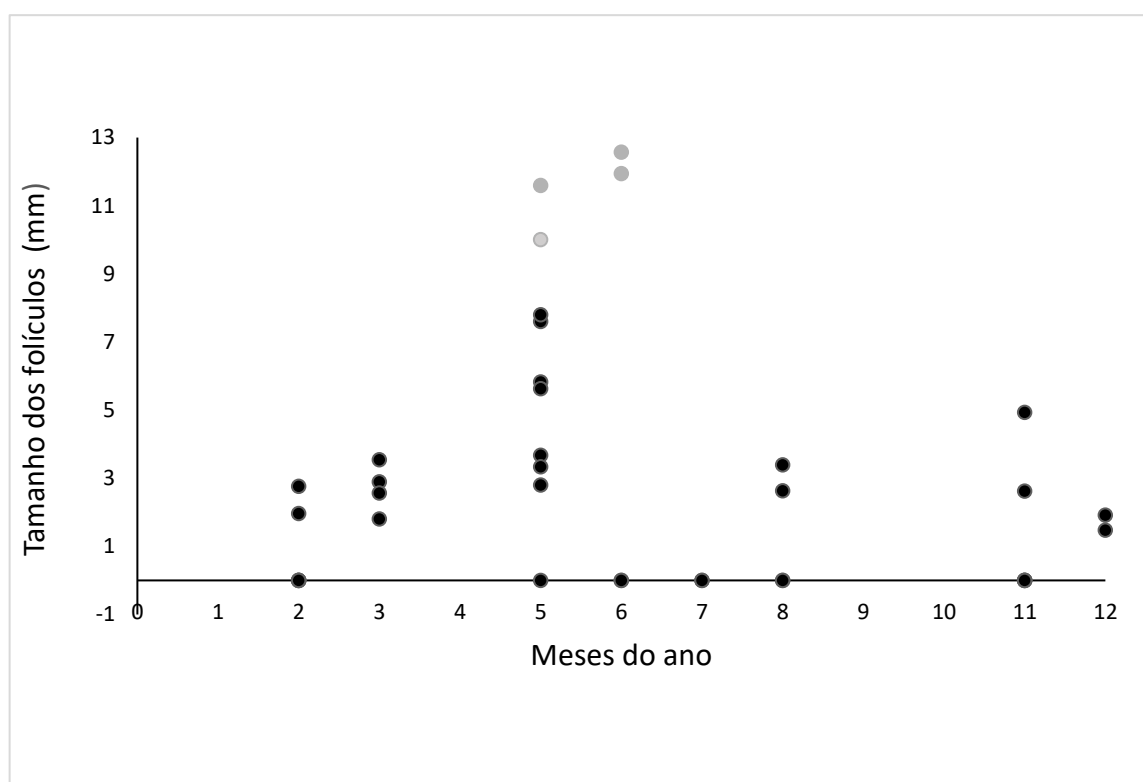


Figura 4: Ciclo reprodutivo de fêmeas de *Corallus hortulanus*: variação do diâmetro do maior folículo ovariano em fêmeas ao longo do ano (mês 1 ao mês 12). Círculos pretos = folículos pré-vitelogênicos; círculos cinza = folículos vitelogênicos.

Em algumas serpentes foi observada flacidez do útero posterior, indicando que já estavam reprodutivamente ativas e já haviam desenvolvido embriões ao menos uma vez, característica que auxilia na determinação de maturidade do indivíduo. Não foram observadas nesta amostragem, serpentes com embriões ou com formação fetal. A vitelogênese secundária, momento em que as fêmeas estão prontas para o acasalamento, aparenta ocorrer nos meses de maio e junho, onde os folículos ovarianos apresentam maior desenvolvimento (Figura 5). Segundo Alvares et al. (2013) essa época

do ano caracteriza-se pela estação mais chuvosa, onde há maior disponibilidade de alimentos, abrigo e maior registro de atividade reprodutiva entre as espécies, levando a crer que os indivíduos desta espécie evoluíram para o sucesso reprodutivo (SAINT-GIRONS, 1982; MATHIES, 2011). Esse achado coincide com o que foi descrito para os machos desta espécie, onde apresentaram maior desenvolvimento do segmento sexual renal, responsável por determinar a maturidade sexual, no mesmo período em que houve maior desenvolvimento folicular das Fêmeas (OLIVEIRA, 2019; PINHEIRO, 2020). Isso nos leva a pensar que o ciclo reprodutivo é anual, como descrito na literatura (PIZZATTO, 2006), mas ainda não é possível caracterizá-lo, necessitando de uma amostragem representativa maior ao longo do ano.

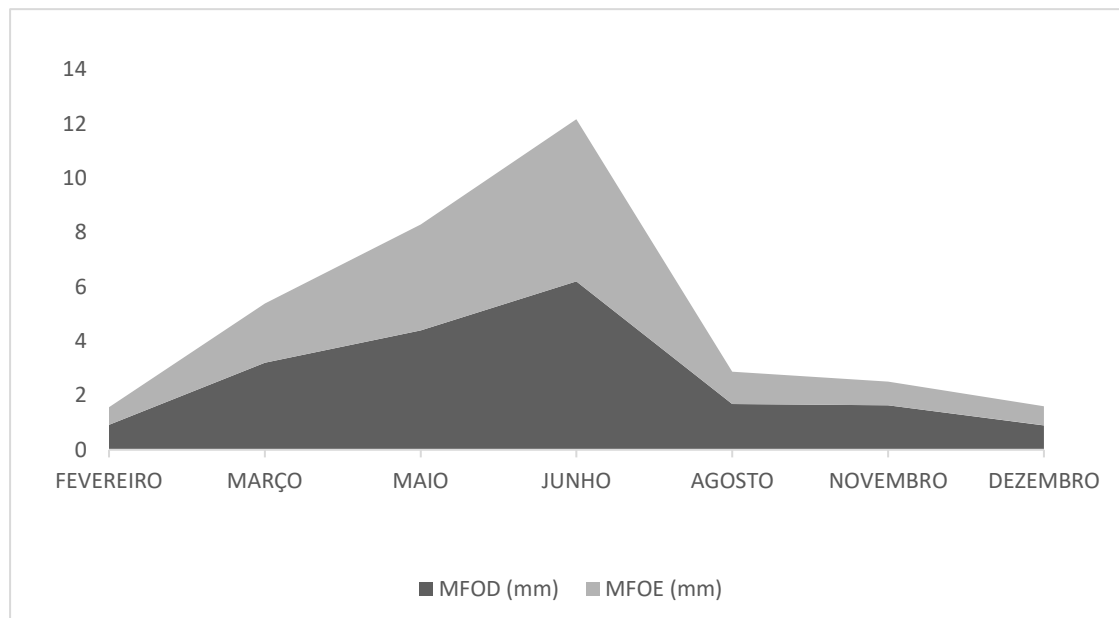


Figura 5: Ciclo reprodutivo de fêmeas de *Corallus hortulanus*: variação da média dos folículos ovarianos direito (MFOD) e esquerdo (MFOE) ao longo do ano.

## 5.2. HISTOLOGIA

Neste estudo 90,4% da amostragem apresentaram características de imaturidade sexual, à medida que 9,6% apresentaram Infundíbulo anterior sem glândulas e vascularizado; Útero posterior com epitélio pseudoestratificado bem desenvolvido, aparentemente espesso com células bem ciliadas. Esses exemplares que possuíram maior desenvolvimento sexual da amostra foram encontrados nos meses de maio e junho.

Estes dados corroboram a afirmativa de sincronidade entre os ciclos de ambos os sexos desta espécie, descritos em dois estudos recentemente publicados, onde a análise morfológica e histológica dos segmentos sexuais de machos de *C. hortulanus* indicam que os maiores exemplares em fase de maturidade sexual (1.100 mm a 1.640 mm) apresentaram intensa atividade testicular no período de chuvas (OLIVEIRA, 2019; PINHEIRO, 2020).

A análise histológica não detectou a presença de espermatozoides estocados em infundíbulos, útero posterior e vagina das serpentes amostradas (figuras 6 a 8). A estocagem e a sobrevida de espermatozoides são pouco compreendidas. Em vertebrados, principalmente em aves e répteis os espermatozoides podem ter sobrevida de horas a anos no trato reprodutivo de fêmeas (FOX, 1956; MAGNUSSON, 1979). Isso garante o sucesso reprodutivo das espécies. É sugerido que existam receptáculos, presentes em região infundibular ou no útero, que de alguma forma garantem nutrição e refúgio (FOX, 1956; HOFFMAN; WIMSATT, 1972; HALPERT et al., 1982).

O infundíbulo é uma estrutura em forma de cone com epitélio cuboidal simples, constituído por células ciliadas e células secretoras. A ausência destas características e o epitélio bem vascularizado, são características de serpentes maduras reprodutivamente (Figura 6). GIRLING (2002) sugere que a fertilização ocorre principalmente nessa estrutura ou na tuba uterina e conseqüentemente a estocagem de espermatozoide pode ser observada sempre nessa região.

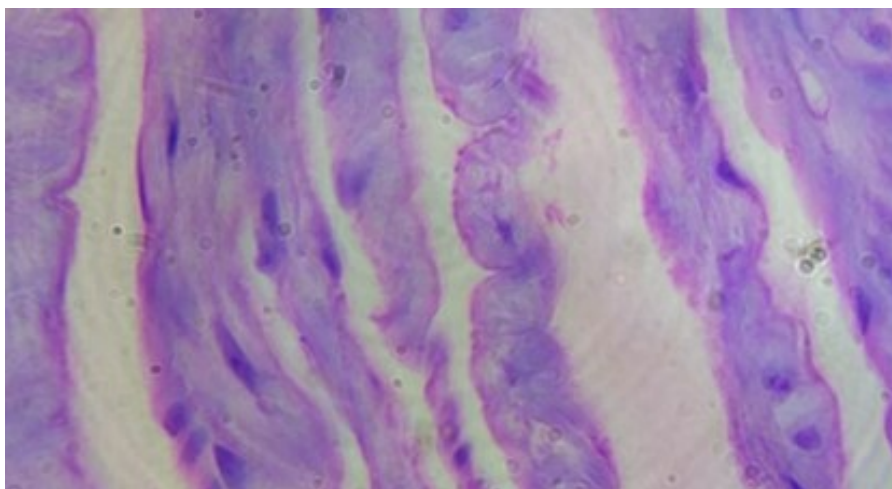


Figura 6. Corte histológico do infundíbulo (Objetiva 40x): epitélio cuboidal simples, constituído por células ciliadas e células secretoras. Fonte: Ermelinda Oliveira, 2018.

O útero apresentou estruturas dobradas que acompanham a forma anatômica, apresentando uma espessa lâmina própria e camada muscular (Figura 7). Desta forma, a configuração anatômica corrobora em estudos histológicos descritivos e levam a crer que estas estruturas foram adaptadas para favorecer a manutenção dos espermatozoides no lúmen (GIRLING, 2000).

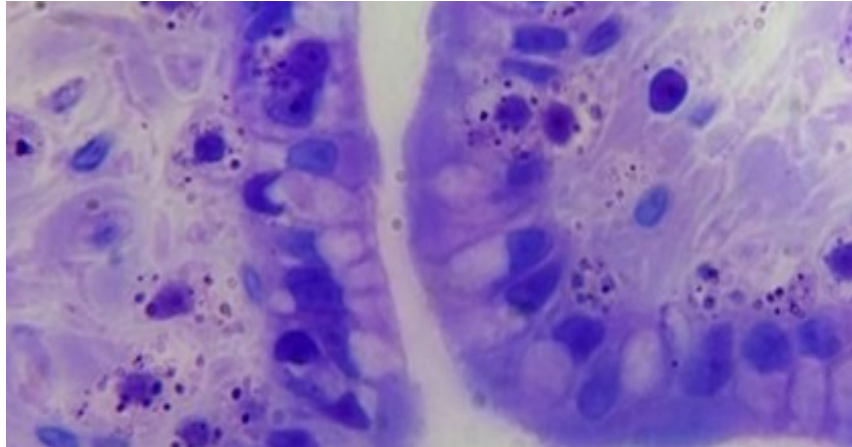


Figura 7. Corte histológico do útero (Objetiva 100x): estrutura espessa de lâmina própria e camada muscular. Fonte: Ermelinda Oliveira, 2018.

A vagina, dentre outras funções é a responsável por acomodar o hemipênis e receber os espermatozoides durante a cópula, apresentou epitélio cilíndrico simples com numerosas células caliciformes e células ciliadas (Figura 8). Corroborando com GIRLING (2002), que descreveram e relacionam a presença dessas estruturas, além de correlacionar células secretoras e células ciliadas com o transporte de esperma, movimento do muco e/ou fragmentos liberados do oviduto.

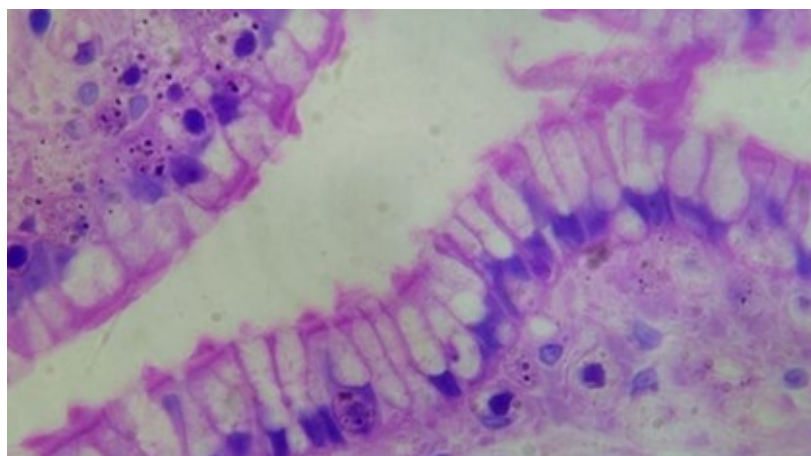


Figura 8. Corte histológico da vagina (Objetiva 100x): Epitélio cilíndrico simples com poucas células ciliadas. Fonte: Ermelinda Oliveira, 2018.

## 6. CONCLUSÃO

O ciclo reprodutivo foi estimado através da relação de alterações visualizadas na morfologia e na histologia das gônadas ao longo do ano como sugere ALMEIDA-SANTOS (2014). Observou-se, a partir desta amostragem, que fêmeas de *Corallus hortulanus* com comprimento total do corpo inferior a 1000 mm ainda não desenvolveram folículos ovarianos em estágio de vitelogênese, condição que caracteriza desenvolvimento sexual.

Em algumas serpentes foi observada flacidez do útero posterior, indicando que já estavam reprodutivamente ativas e já haviam desenvolvido embriões ao menos uma vez, característica que auxilia na determinação de maturidade do indivíduo. Não foram observadas nesta amostragem, serpentes com embriões ou com formação fetal.

O maior desenvolvimento folicular observado neste estudo, supostamente estágio de vitelogênese secundária, foi detectado nos meses de maio e junho, período da estação mais chuvosa, e foi observado em fêmeas com tamanho corporal de 1.480 mm, apresentando folículos ovarianos com tamanho acima de 10 mm.

Embora os resultados sobre o ciclo das fêmeas não tenham sido conclusivos, a observação do desenvolvimento folicular nos meses de maio e junho, comparados aos resultados de OLIVEIRA (2019), que observou o maior desenvolvimento testicular no mesmo período, sustentam a hipótese de sincronidade entre os ciclos de machos e fêmeas. Contudo, só poderá ser comprovada com a continuação dos estudos, aumentando o número amostral das análises.

Os resultados obtidos neste estudo, através da utilização de análises morfométricas e histológicas, contribuem para uma maior compreensão do conhecimento da história natural e do ciclo reprodutivo de fêmeas de *C. hortulanus* da Amazônia, servindo como ponto de partida para novas pesquisas que busquem compreender o ciclo reprodutivo nesta espécie.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-SANTOS, S.M.; ORSI, A. M. Ciclo Reprodutivo de *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae): morfologia e função do oviduto. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 26(2): 109-112, 2002.
- ALMEIDA-SANTOS, S.M.; BRAZ, H.B.; SANTOS, L.C.; 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**, 3(1): 14-24, 2014.
- AMIGO, I. A Snake Species Not Seen Alive for 64 Years Appears in Brazil. **The scientist**. 2017. Disponível em: <<https://www.the-scientist.com/notebook/a-snake-species-not-seen-alive-for-64-years-appears-in-brazil-31430>>. Acessado em 15. Jan. 2021.
- ALVARES, C.A. et al. Climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**. 22(6): 711-728, 2013.
- BERNARDE, P.S.; MACHADO, R.A. *Corallus hortulanus* (Amazon Tree Boa). **Timing of reproduction. [Notes]**. *Herp. Rev.* 41(1): 89, 2010.
- CALDERÓN, M. et al. *Corallus hortulanus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Brasília, DF: **ICMBio**. 2016.
- DUARTE, M.O.; FREITAS, T.M.S.; PRUDENTE, A.L.C. Polychromatism of populations of *Corallus hortulanus* (Squamata: Boidae) from the southern Amazon Basin, Brazil. **Acta Amazônica**. 45(4) 2015: 373 – 382, 2015.
- FOX, W. Seminal receptacles of snakes. **Anatomic Record**, v. 124, p 519-539, 1956.
- GARCIA, V.C.; VAC, M.H.; BADIGLIAN, L.; ALMEIDA-SANTOS, S.M. Avaliação ultrassonográfica do aparelho reprodutor em serpentes vivíparas da família Boidae. **Pesq. Vet Bras**, v.35, p.311-318, 2015.
- 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.

HALPERT, A.P.; GARSTKA, W.R; CREWS, D. Sperm transport and storage and its relation to the annual sexual cycle of the female red-sided garter snake, *Thamnophis sirtalis parietalis*. **Journal of Morphology**, v. 174, p. 149-159, 1982.

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

ICMBio/MMA. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção: Volume I. 1a. Ed.** Brasília, DF: p.1492, 2018.

JUNQUEIRA, L.C.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemical Journal**, 11: 447-55, 1979.

LIMA, T.O.; SALDANHA, A.; MYLLER, G.; ELEUTERIO, N.F.; ALMEIDA, E.C. Manejo reprodutivo de jiboias e outros bóideos criados em cativeiro. **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**; Gramado, Rio Grande do Sul, 2019.

MACHADO-FILHO, P.; R DUARTE, M.; DO CARMO, L. F.; FRANCO, F. **New record of Corallus cropanii (Boidae, Boinae): a rare snake from the Vale do Ribeira, State of São Paulo, Brazil**. Salamandra. 47. 112-115, 2011.

MATHIES, T. Reproductive cycles of tropical snakes. In: Aldridge RD, Sever DM. (Ed.). Reproductive biology and phylogeny of snakes. **New Hampshire: Science Publishers, Enfield**. 1: 511-550, 2011.

MAGNUSSON, W.E. Production of an embryo by an *Acrochordus javanicus* isolated for seven years. **Copeia**, p 744-745, 1979.

MARTINS, M.; OLIVEIRA, M.E. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. **Herpetological Natural History**, 6: 78-150, 1999.

MENDEZ, D. **An Introduction to Amazon Tree Boas by DM**. 2001. Disponível em: <<http://www.urbanjungles.com/bamazontreeboasb.htm>>. Acesso em 15. Jan. 2021.

OLIVEIRA, M. E. Ciclo reprodutivo de machos de Suaçuboia *Corallus hortulanus* (SERPENTE: BOIDAE) na Amazônia. Manaus. **Monografia (graduação)**. Universidade Nilton Lins – UNL. 2019.

PIZZATTO, L.; ALMEIDA-SANTOS, S.M.; MARQUES, O.A.V. Biologia reprodutiva de serpentes brasileiras. In: Nascimento, L.B.; Oliveira, M.E. (Ed.). **Herpetologia no Brasil II**, 202-221, 2006.

PIZZATTO, L.; ALMEIDA-SANTOS, S.M.; SHINE, R.. Life history adaptations to arboreality in snakes. **Ecology, Durham**, 88(2): 359-266, 2007a.

PIZZATTO, L.; ALMEIDA-SANTOS, S.M.; MARQUES, O.A.V. Biologia reprodutiva de serpentes brasileiras. In: Nascimento, L.B.; Oliveira, M.E. (Ed.). **Herpetologia no Brasil II**, 201-211, 2007b.

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

SHINE, R.; BONNET, X. Reproductive biology, population viability, and options for field management. In: Mullin SJ and Seigel RA (Eds). Snakes: **Ecology and Conservation**, Ithaca: Cornell University Press, p. 172-200, 2009.

STETTER, M.D. Ultrasonography. In: Mader DR. **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia:W.B. Saunders; 2013, p.665-74. 2013

VIANA, P.F. Citogenética clássica e molecular de espécies neotropicais de serpentes da família Boidae (Gray, 1825). **Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**. Manaus, AM. 2015.

ZACARIOTTI, R.L.; GUIMARÃES, M.A.B.V. Aplicações da biotecnologia na reprodução de serpentes. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte. 34 (2): 98-104, 2010.