

REPRODUÇÃO, DIETA E VARIAÇÕES NA FOLIOSE DE *Xenopholis scalaris* (SERPENTES: COLUBRIDAE)

Camila Batista VIEIRA¹; Rafael de FRAGA²; Vinícius Tadeu de CARVALHO³; Richard Carl VOGT⁴

¹Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; ²Colaborador CBIO/INPA; ³Colaborador Coleção de Anfíbios e Répteis/INPA; ⁴Orientador CBIO/INPA

1. Introdução

O gênero *Xenopholis* (Colubridae, Dipsadinae) abriga três espécies de serpentes de pequeno porte e hábito críptico (Cunha e Nascimento, 1978; Carvalho e Nogueira, 1998). *Xenopholis undulatus* (Jensen, 1900) é distribuída do planalto central brasileiro até o Paraguai, *X. werdingorum* (Jansen *et al.*, 2009) foi registrada apenas na Bolívia e noroeste do Brasil, e *X. scalaris* (Wucherer, 1861), espécie-alvo deste estudo, está amplamente distribuída ao longo da Bacia Amazônica, na Bolívia, Peru, Equador, Colômbia, Guiana Francesa e Brasil, nos estados do Amazonas, Pará, Mato Grosso e Rondônia (Martins e Oliveira, 1998). Devido ao pequeno porte corporal e ao comportamento de passar longos períodos sob a camada de matéria orgânica em decomposição sobre o solo de florestas (Martins e Oliveira, 1998), *X. scalaris* tem sido pouco amostrada em estudos de comunidades, e é relativamente mal representada em coleções herpetológicas (Jansen *et al.*, 2009). Por isso a literatura disponível sobre biologia alimentar e reprodutiva da espécie é usualmente baseada em poucos espécimes, e pouco sabemos sobre a variação geográfica nesses e outros fatores, como morfologia hemipeniana, morfometria corpórea e padrões de contagem de escamas. No presente estudo investiguei a biologia alimentar e reprodutiva de *X. scalaris*, e determinei a variação na morfologia hemipeniana, morfometria e contagem de escamas para 42 espécimes provenientes de 14 localidades na Amazônia brasileira, nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia e Mato Grosso. Adicionalmente, teste variações sexuais no tamanho corpóreo e contagem de escamas.

2. Material e Métodos

2.1 Área de estudo

Determinei a área de estudo pela disponibilidade de espécimes de *X. scalaris* depositados nas coleções herpetológicas do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus, e Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT, Cuiabá. O material analisado foi proveniente de 14 localidades da Amazônia brasileira, abrangendo quatro estados: Amazonas: Lago Ayapuí, rio Purus; Boa Esperança, Amanã; Boa Vista, Amanã; Parque Nacional Nascente do Lago Jari, Resex Camutama; Rondônia: Fazenda Jaburi, município de Espigão do Oeste; UHE Santo Antônio; Trecho I da UHE Santo Antônio; Alto alegre dos Parecis; Pará: Flona Trairão; Jacareacanga; Mato Grosso: Colniza, Aripuanã, Apicás.

Foram examinados 41 espécimes *X. scalaris*, 26 espécimes (17 machos e 9 fêmeas) depositados na Coleção de Anfíbios e Répteis do INPA e 15 espécimes (10 fêmeas, 1 indefinido e 4 machos) provenientes da coleção Herpetológica da Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT, todos conservados em via líquida (álcool 70%). Utilizamos apenas os espécimes depositados na Coleção do INPA para os estudos de dieta e reprodução. Os espécimes provenientes da Coleção da UFMT foram emprestados apenas para os estudos morfológicos, para os estudos de dieta e reprodução dependíamos de uma autorização, e não obtivemos resposta a tempo de realizar os procedimentos de coleta dos dados.

2.2 Caracteres Morfológicos

Para cada espécime foi registrado os caracteres morfológicos e verificado a existência de variações significativas entre os sexos e as localidades de coleta. A determinação do sexo foi realizado uma pequena incisão na base da cauda onde observamos a presença de músculos retratores do hemipênis caracterizava machos e a ausência fêmeas. Para cada espécime analisado no trabalho observei os seguintes caracteres: comprimento rostro-cloacal (CRC) e comprimento da cauda (CC), medidos com fita métrica flexível, para observar o tamanho mínimo de machos e fêmeas em estado reprodutivo e o dimorfismo sexual entre os espécimes. Foram contadas com auxílio de lupa as fileiras de escamas dorsais, em três regiões do corpo, sendo uma próxima à cabeça, outra na região mediana do corpo e a terceira próxima à cloaca; as ventrais, contadas desde a primeira escama mais larga do que longa, até a escama imediatamente anterior à escama cloacal; as sub-caudais, iniciada na escama imediatamente posterior à cloaca, até a extremidade da cauda; cloacal, será registrada como simples ou dividida; as supralabiais, infralabiais, pré-oculares, pós-oculares e temporais. Foram descritos apenas os hemipênis preservados evertidos, utilizando o método descrito por Pesantes (1994), provenientes das localidades com maior representatividade e depositados na Coleção do INPA. Para observação adequada, a superfície ventral da cauda é cortada abaixo da cloaca. Os órgãos foram removido e submersos em solução 2 % de KOH por 24 horas, para que os tecidos recuperassem a flexibilidade buscando assim um aspecto mais parecido com aquele encontrado em um espécime vivo. Quando o tecido se tornou

translúcido e flexível foram preenchidos com ágar em pó, dissolvido em água destilada e aquecido para ganhar textura gelatinosa. Após o esfriamento, os órgãos foram acondicionados em álcool 70 %, para evitar ressecamento (Manzani et al., 1988). Observei em cada órgão os seguintes caracteres morfológicos: Forma do ápice, localização da bifurcação, disposição do sulco espermático, disposição dos espinhos, bilobação, número dos espinhos e até qual escama subcaudal se estende.

2.3 Dieta

Os espécimes foram dissecados através de uma incisão na região ventral para a retirada e análise do conteúdo estomacal. Para uma avaliação qualitativa da dieta de *X. scalaris*, os conteúdos encontrados foram taxonomicamente identificados ao nível mais específico possível, considerando diferentes graus de digestão. As identificações foram conduzidas por meio de bibliografia especializada, comparações com exemplares depositados nas coleções zoológicas do INPA e ajuda de especialistas.

2.4 Reprodução

Os espécimes foram dissecados por meio de incisão ventral acima da cloaca para observação das gônadas, sendo registrados para as fêmeas o tamanho do maior folículo ovariano ou ovo medidos com paquímetro digital de precisão 0,01mm, números de ovos ou folículos ovarianos maduros (>10 mm), estado do oviduto (pregueados ou não) e presença ou ausência de corpo lúteo (sugerindo recente ovoposição). medi o volume do testículo direito e observei o estado de turgidez do testículo e o estado do ducto deferente. Fêmeas foram consideradas reprodutivamente maduras quando possuíam folículos em vitelogênese secundária (>10 mm), ovos nos ovidutos ou ovidutos pregueados. Os machos foram considerados reprodutivamente maduros quando apresentaram testículos túrgidos, ducto deferente opaco e envelado.

2.5 Análises dos dados

Utilizei modelos separados de análise de variância ANOVA para testar diferenças sexuais para CRC, CC, ventrais e subcaudais. Para determinar a variação geográfica no CRC, CC, dorsais no meio do corpo, ventrais e subcaudais, utilizei o índice de Bray-Curtis para calcular as dissimilaridades entre espécimes provenientes de diferentes bacias hidrográficas. Submeti a matriz resultante a ordenação por Escalonamento Não Métrico Multidimensional (NMDS), usando o programa livre R V.2.15.1 (R Development Core Team, 2010), para reduzir as dimensionalidades e visualizar a distribuição da variação nas variáveis medidas entre localidades ao longo de dois eixos.

3. Resultados e Discussão

3.1.1 Variáveis no Comprimento

Não houve dimorfismo sexual para CRC (ANOVA $F_{1,36} = 1,212$; $P = 0,27$) e para CC e (ANOVA $F_{1,36} = 0,096$; $P = 0,76$). A distribuição da variação morfológica ao longo de dois eixos NMDS não evidenciou nenhum agrupamento de espécimes, e aparentemente as populações não são morfológicamente distintas para as variáveis testadas. Embora a área de amostragem deste estudo tenha mais de 900 km de extensão longitudinal e mais de 700 km latitudinal, os caracteres medidos foram bastante consistentes, as populações não diferiram. De fato, as variações em caracteres morfológicos e merísticos entre espécimes de diferentes localidades foram bastante sutis, embora as populações do sul da Amazônia possam ter diferido levemente em padrões de coloração. É possível que as populações de *X. scalaris* estejam reprodutivamente conectadas, ou os eventos geológicos que possam influenciar a dispersão da espécie são relativamente recentes, de modo que não houve tempo suficiente para que o isolamento reprodutivo e a pressão ambiental fossem expressados fenotipicamente nas variáveis medidas neste estudo.

3.1.2 Variáveis na Contagem das Escamas (Folidose)

Os padrões de contagem de escamas também foram relativamente consistentes com a literatura. A literatura apresenta para *X. scalaris* 129 a 144 escamas ventrais, 32 a 38 subcaudais, 17 dorsais, nove infralabiais, oito supralabiais, uma pré-ocular, duas pós-oculares, uma temporal anterior e duas temporais posteriores (Cunha e Nascimento, 1978). Para este estudo encontrei 128 a 143 escamas ventrais, 30 a 41 subcaudais, 17 dorsais, dois espécimes com sete escamas infralabiais e quatro espécimes com oito, um espécime com sete escamas supralabiais e três espécimes com nove, cinco espécimes com duas pré-oculares, dois espécimes com duas escamas pós-oculares e um com três, três espécimes com duas temporais anteriores, duas temporais posteriores e um espécime com um temporal anterior e uma posterior.

O número de escamas ventrais variou entre os sexos ($F_{1,36} = 5,55$; $P = 0,02$), com maior amplitude para os machos (128 a 143) e nenhuma fêmea teve menos de 130 escamas Cunha & Nascimento (1975) também observaram que machos apresentaram escamas ventrais em menor número quando comparadas com às fêmeas. Diversos autores têm mencionado elevado número de ventrais para fêmeas de diversas espécies de serpentes, relacionado à maior comprimento corpóreo, possivelmente pelo fato de que a porção final do corpo é adaptada para a produção de ovos (Shine, 1994). No entanto, o CRC de *X. scalaris* não variou entre os sexos neste estudo, e o número de ventrais não esteve relacionado ao comprimento da corpo. Embora o CC não tenha variado entre os sexos, o número de subcaudais variou

fracamente (ANOVA $F_{1,36} = 3,13$; $P = 0,08$). Machos tiveram amplitude mais elevada, mas cinco indivíduos apresentaram contagens elevadas, acima da contagem máxima para as fêmeas. Inversamente ao registrado para as escamas ventrais, os machos apresentaram escamas subcaudais em maior número quando comparado às fêmeas. A maioria das serpentes apresenta dimorfismo sexual em relação ao comprimento da cauda, em que os machos têm cauda relativamente maior que as fêmeas (Kaufman & Gibbons, 1975). Isso pode ser um reflexo da necessidade dos machos de caudas maiores para comportar os músculos de retração do hemipênis (King, 1989).

3.1.3 Variáveis nos Caracteres Morfológicos do Hemipênis

A observação dos caracteres morfológicos do hemipênis diferiram sutilmente entre as localidades amostradas, o gênero na descrição de hemipênis apresenta caracteres bilobado ou simples, não capitado, com sulco espermático bifurcado, espinhos proximais e cálices distais (Sánchez-Martínez) Exceto um espécime (INPA-H 12080) apresentou variações sutis das mencionadas na literatura.

3.2 Dieta

Eu encontrei conteúdos alimentares em 46% ($N = 12$) dos espécimes analisados. Mais de 30% não puderam ser identificados, devido ao estado avançado de digestão. Anfíbios anuros foram os itens com maior frequência de ocorrência (cerca de 40%) sendo representados por indivíduos parcialmente digeridos, fragmentos de ossos e pele, seguidos de formigas (25%) e outros invertebrados (10%). Bernarde (2004) considerou *X. scalaris* como pertencente a um grupo de serpentes batracófogas, terrícola e diurna com registros de forrageio à noite. Outros estudos anteriores a este consideraram *X. scalaris* como especialista em predação anfíbios anuros de pequeno porte (Martins & Oliveira 1998; Cunha e Nascimento, 1978) que possuem hábito de forrageio terrícola e vivem em camada de folhiço no solo de florestas (*Leptodactylus*, antes *Adenomera*, e *Microhylidaeos*) (Bernarde, 2004).

E embora mais da metade dos espécimes analisados estivessem com tratos digestórios vazios, aparentemente o hábito batracófago foi consistente ao longo da área de estudo. Os resultados confirmam os estudos anteriores ao encontrar fragmentos de pequenos anuros em quatro machos. Um espécime (INPA-H 28223) ingeriu um *Leptodactylus sp.*, outro espécime (INPA-H 12081) ingeriu um *Leptodactylus andrea*, o terceiro (INPA-H 12080) ingeriu um Microhílideo e o último (INPA-H 27879) ingeriu um anuro não identificado em processo muito avançado de digestão, todos encontrados no estômago. Os demais fragmentos como pele e ossos foram encontrados nos outros espécimes ao longo do tubo digestório mas em estágio avançado de digestão, sem condições de identificação.

Formigas e invertebrados encontrados ao longo do tubo digestório podem ser resultado de conteúdos estomacais secundários, ou seja, possivelmente são provenientes do trato digestório de algum anfíbio anuro ingerido pela serpente (Martins & Gordo, 1993), já que foram encontrados entre o conteúdo não identificado, pele e ossos.

3.3 Reprodução

3.3.1 Maturidade sexual

A menor fêmea considerada reprodutivamente madura (folículos > 10 mm) teve 254 mm de CRC e 40 mm de CC. Aspectos reprodutivos de *X. scalaris* são bastante desconhecidos, possivelmente devido à baixa amostragem. O menor macho reprodutivo teve 234 mm CRC e 62 mm CC, sendo bem aproximado com o tamanho mínimo para as fêmeas. O número de folículos ovarianos foi influenciado pelo CRC, embora a relação não tenha sido muito forte ($R^2 = 0,28$; $P = 0,08$). Para os machos, o volume do testículo direito foi fortemente influenciado pelo CRC ($R^2 = 0,58$; $P < 0,001$). Foram encontradas cinco fêmeas maduras das nove analisadas, variando de 254 mm a 293 mm para o CRC e 40 mm a 59 mm para o CC. Na localidade do Lago Ayapuá foi encontrada uma fêmea madura (INPA-H 13980) no período de outubro, Espigão do Oeste e UHE Santo Antonio foram registradas três fêmeas maduras (INPA-H 12077, 28219 e 28221) no período de março e na Resex Camutama foi registrada uma fêmea madura (INPA-H 27654) em agosto. Dos sete machos encontrados maduros um (INPA-H 13981) foi excluído por não ter a data de coleta registrada. Para a localidade do Espigão do Oeste foi registrado dois machos maduros (INPA-H 12078 e 12080) em maio, no mesmo período que a fêmea madura coletada. Flona do Trairão apresentou dois machos maduros (INPA-H 28218 e 28223) em setembro. Para UHE Santo Antonio foram registrados dois machos maduros (INPA-H 28218 e 28223) um em março e outro em junho. Os resultados de maturidade sexual diferentes naqueles indivíduos provenientes do mesmo local de coleta, mesmo período e de tamanhos corporais semelhantes pode ser em função do método adotado. Oliveira (2003) considerou o método parcialmente ineficaz, tanto pela dificuldade de visualizar os ductos em exemplares mal conservados, como pela própria detecção de enovelamento dos ductos e de testículos túrgidos, sugerindo que um método mais eficaz seria o exame histológico do testículo.

4. Conclusão

Xenopholis scalaris é amplamente distribuída ao longo da Bacia Amazônica, e os eventos geológicos que geraram os atuais padrões de distribuição possivelmente isolaram populações geograficamente. No entanto, não encontrei variações geograficamente consistentes, mesmo testando 11 variáveis morfométricas e merísticas, mais morfologia hemipeniana, para uma área relativamente grande, que

abrangeu quatro estados da Amazônia brasileira. Não sabemos se populações geograficamente distantes estão reprodutivamente isoladas, ou as características ambientais, como disponibilidade de recursos, que podem influenciar variações morfológicas. Se esses fatores estão atuando sobre a evolução da espécie, possivelmente os processos são recentes, de modo que variações morfológicas consistentes não podem ser atualmente detectadas.

Os resultados encontrados para dieta e reprodução foram relativamente consistentes com a literatura, e não variaram em relação à distância geográfica. No entanto, mais da metade dos tratos digestórios estiveram vazios, e não foi possível obter dados consistentes de reprodução ao longo dos meses, devido à baixa disponibilidade de espécimes nas coleções herpetológicas. Desse modo, os resultados obtidos devem ser considerados como informações adicionais, e necessitam de complemento para a determinação de padrões.

5.Referências Bibliográficas

- Arnolds, S. J. Foraging theory and prey-size-predator-size relations in snakes. In Snakes: ecology and behavior. R.A. Seigel & Collins (eds). New York. Me graw –Hill. 1993. P. 87-115.
- Bernarde, P. S. 2004. Hábitos alimentares de serpents em Espigão do Oeste, Rondônia, Brasil. *Biota Neotrop.* 10, 167-173.
- Bérnils, R.S (org). 2012. Brazilian reptiles –List of species. Accessible at <http://www.sbherpetologia.org.br/>. Sociedade Brasileira de Herpetologia. Acessado em : 13/01/12.
- Burbrink, F.T., Pyron, R.A. 2008. The taming of the skew: estimating proper confidence intervals for divergence dates. *Syst. Biol.* 57, 317–328.
- Carvalho, M.A. e Nogueira, F. 1998. Serpentes de área urbana de Cuiabá, Mato Grosso: aspectos ecológicos e acidentes ofídicos associados. *Caderno de Saúde Pública*, 14, 753-763.
- Cunha, O.R. e Nascimento, F.P. 1978. Ofídios da Amazônia X – As cobras da região leste do Pará. Publicações Avulsas do Museu Paraense Emílio Goeldi 31: 1-218.
- Greene, H.W.; McDiarmid, R.W. 1981. Coral snake mimicry: does it occur? *Science* 213: 1207–1212.
- Houston, D.L.; R. Shine. Sexual dimorphism and niche divergence: feeding habits of the Arafura filesnake. *J. Anim. Ecology.* 62:737-749. 1993.
- Jasen, M.; Álvarez, L.G.; Kohler G. 2009. Description of a new species of *Xenopholis* (Serpentes: Colubridae) from the Cerrado of Bolivia, With Comments on *Xenopholi scalaris* in Bolivia. *Zootaxa* 2222: 31-45
- Jensen, A.S. 1901. Lagoa Santa Engens Slinger. *Videnskabelige Meddelelser fra den Naturhistoriske Forening I Kjøbenhavn*, 99-111.
- Kaufman, E.A.; J.W. Gibbons, 1975. Weight-length relationships in thirteen species of snakes in the southcentral United States. *Herpetologica.* 31 : 31-37.
- Losos, J.B. 1994. Integrative approaches to evolutionary ecology: Anolis lizards as model systems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 25: 467–493.
- Manzani, P. R., Anda. S. ABE. 1988. Sobre dois novos métodos de prepara do hemipênis de serpentes. *Mem. Inst. Butantan* 50(1):15–20.
- Martins, M.; Gordo, M. 1993. *Bothrops atros* (Common Lancehead). *Diet. Herpetol. Rev.* 24(4):151-152.
- Martins, M. e Oliveira, M.E. 1998. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. *Herpetological Natural History.* 6: 78 – 150.
- Oliveira, M.E.S., 2003. História Natural de Jararacas Brasileiras do Grupo *Bothrops atrox* (Serpentes: Viperidae). Tese de Doutorado, Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo, 131pp.
- Pesantes, O. S. 1994. A method for preparing the hemipenis of preserved snakes. *J. Herpetol.* 28:93–95.
- Pyron, R.A., Burbrink, F.T, Colli, G.R., Montes de Oca, A.N., Vitt, L.J., Kuczynski, C.A., and J.J. Wiens. 2011. The phylogeny of advanced snakes (Colubroidea), with Discovery of a new subfamily and comparison of support methods for likelihood trees. *Molecular Pylogenetics and Evolution* 58: 329-342.
- Ricklefs, R.E., Losos, J.B. & Townsend, T.M. 2007. Evolutionary diversification of clades of squamate reptiles. *Journal of Evolutionary Biology*, 20, 1751–1762.
- Sánchez-Martínez, P.M., 2011. Anatomia comparada da tribo Nothopsini (Serpentes, Dipsadidae). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo-USP, São Paulo, Brasil, 127pp.
- Shine, R. 1994. Sexual size dimorphism in snakes revisited. *Copeia.* 326-346.
- Vitt, L.J. 1983. Ecology of an anuran-eating guild of terrestrial tropical snakes. *Herpetologica*, 39(1):52-66.
- Wiens J.J., Graham CH (2005) Niche conservatism: integrating evolution, ecology, and conservation biology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 519–539.
- Weir, J.T., Schluter, D., 2007. The latitudinal gradient in recent speciation and extinction rates of birds and mammals. *Science* 315, 1574–1576.
- Wucherer, O. 1862. Description of a new species of *Elapomorphus* from Brazil. *The Annals and Magazine of Natural History including Zoology, Botany, and Geology*, 3, 318-319