

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

**BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**VINICIUS INACIO MONTEIRO DOS SANTOS**

**Ciclo reprodutivo em machos de  
*Thamnodynastes hypoconia* (Serpentes: Dipsadidae) no sul  
do Brasil.**

**Porto Alegre**

**2018**

VINICIUS INACIO MONTEIRO DOS SANTOS

**Ciclo reprodutivo em machos de  
*Thamnodynastes hypoconia* (Serpentes: Dipsadidae) no sul  
do Brasil**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas na Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Prof. Dr. Laura Verrastro

Co-orientadora: Ma. Marluci Müller Rebelato

Co-orientadora: Dr. Júlia Gioria

**Porto Alegre**

**2018**

**Ciclo reprodutivo em machos de *Thamnodynastes hypoconia* (Serpentes: Dipsadidae) no Sul do Brasil.**

Vinicius Inacio Monteiro dos Santos<sup>1\*</sup>, <sup>1</sup>, Marlucci Muller Rebelato<sup>1</sup>, Julia Gioria<sup>2</sup>, Laura Verrastro<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves 9500, Prédio 43435, Porto Alegre, RS CEP 91501-970, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Ictiologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves 9500, Prédio 43435, Porto Alegre, RS CEP 91501-970, Brasil.

\* E-mail: [v.ims@hotmail.com](mailto:v.ims@hotmail.com), number: +55 51 992614984

**Abstract.** Reproduction is an important phase for snakes and it can be modulated by some factors like phylogeny, availability of prey and temperature. With logged specimens at scientific collection in Rio Grande do Sul state, we could describe the reproductive cycle of *Thamnodynastes hypoconia* Cope, 1860 at the Brazilian southernmost portion, under seasonal temperature regime. Through macroscopic (testicular mass and GSI) and histological analyses of the diameter and height of the epithelium of the seminiferous tubules wasn't seasonal, at the same histological analyses of the SSK we observe hypertrophy during summer. Besides, also through microscopic analyses, we observe spermatozoa filling the duct deferens throughout the year, indicating sperm storage. Despite the studied population was in a region with strong temperature variations over the year, males shown a continuous reproductive cycle. In addition, because Serpentes is a group with great reproductive diversity, this study joins others that elucidate this important aspect of their life in the neotropical temperate zone.

**Acknowledgements.** We thank to the heads of the scientific collections Daniel Loebmann, Alexandro Marques Tozetti, Gláucia Maria Funk Pontes e Márcio Borges-Martins for allowing us to access the specimens in this study.

## **Resumo**

A reprodução é uma fase importante para serpentes e pode ser modulada por fatores como filogenia, disponibilidade de presas e temperatura, entre outros. O objetivo deste estudo foi descrever o ciclo reprodutivo de *Thamnodynastes hypoconia* (Cope, 1860) na porção austral do Brasil, sob regime climático sazonal de temperatura. Os espécimes utilizados foram todos oriundos das coleções científicas do sul do Rio Grande do Sul, e analisados macroscopicamente (massa testicular e Índice Gonadossomático) e microscopicamente (diâmetro e altura do epitélio dos túbulos seminíferos e SSR). Os parâmetros macroscópicos foram estatisticamente iguais entre as estações. Os túbulos seminíferos não variaram sazonalmente de acordo com as variáveis amostradas. Atividade do segmento sexual-renal foi maior durante o verão (janeiro a março). Adicionalmente, os ductos deferentes dos exemplares histologicamente analisados se apresentaram preenchidos por espermatozoides durante o ano todo, indicado a estocagem destes para posterior liberação. Estes resultados demonstram que não houve relação entre o ciclo reprodutivo dos machos de *Thamnodynastes hypoconia* e a sazonalidade climática. Por se tratar de um grupo com grande diversidade reprodutiva, este estudo visa somar informações aos conhecimentos preexistentes sobre a reprodução de Serpentes na zona temperada neotropical.

Palavras-chave: sazonalidade. temperatura. túbulo seminífero, segmento sexual renal. ducto deferente. histologia.

## **Introdução**

A reprodução é um evento importante na vida de um organismo, por requerer grande custo energético (Vitt e Cadwell 2014) e seu sucesso representa a perpetuação da espécie. Ela pode ser modulada por fatores bióticos como filogenia, ecológicos como disponibilidade de alimento, e abióticos como a temperatura. O conhecimento sobre a biologia reprodutiva das espécies de serpentes de clima temperado-neotropical ainda é escasso, comparado a décadas de estudos no assunto em regiões como América do Norte, Europa e Austrália. Contudo, trabalhos recentes vêm enriquecendo o conhecimento sobre a reprodução das serpentes na América do Sul (Pizzato et al. 2007, Muniz-da-Silva 2012, Bellini et al. 2013, Rojas et al. 2013, Bellini et al. 2014, Loebens et al. 2016, Rebelato et al. 2016, Quintela et al. 2017, Mea 2018).

Neste cenário, as coleções científicas de museus e universidades têm mostrado sua importância, uma vez que os diversos trabalhos realizados acerca da biologia reprodutiva utilizam a

dissecação de espécimes fixados para acessar características específicas da história de vida das espécies, inspecionando o sistema reprodutor e órgãos acessórios (Pizzato et al. 2007).

O sistema reprodutor das serpentes macho é composto por testículo, ducto deferente, e hemipênis, todos são órgãos pares dispostos assimetricamente (Volsøe 1944). Estudos de biologia reprodutiva de serpentes comumente utilizam apenas medidas macroscópicas dos órgãos de interesse, como volume do testículo e largura do ducto deferente, para inferir os ciclos espermáticos e estocagem de esperma (Volsøe 1944, Yokoyama e Yoshida, 1993, Almeida-Santos et al. 2014).

O rim também tem participação no ciclo espermatogênico, através de secreções do segmento sexual-renal (SSR). Apesar de sua função não ser completamente elucidada, sabe-se que seus produtos são incorporados ao sêmem. Observa-se um aumento na sua atividade, identificado como hipertrofia do tecido na presença de testosterona (Krohmer et al. 2004, Rojas e Almeida-Santos 2008, Aldridge et al. 2011, Rojas et al. 2013).

O ciclo reprodutivo em machos de Squamata geralmente compreende três etapas: a espermatogênese, estocagem de espermatozoides nos ductos deferentes e a cópula. Esse ciclo pode ser contínuo ao longo do ano ou pode ser sazonal, neste caso ocorrendo somente nas estações mais favoráveis ao encontro de parceiros e nascimento da prole (Greene 1997). Por se tratarem de organismos ectodérmicos, a temperatura se torna fator abiótico de grande importância na determinação deste ciclo, já que todos os processos fisiológicos são dependentes da temperatura (Vitt e Cadwell 2014). No caso de serpentes que habitam regiões de clima temperado, onde as estações são bem definidas pelas mudanças de temperatura (Vieira 1984), as estações mais favoráveis para reprodução são primavera-verão, pois apresentam temperaturas mais elevadas, necessárias para tais processos fisiológicos (Pizzato et al. 2007).

São poucos e recentes aqueles que utilizam dados de estruturas microscópicas para determinar picos de produção e estocagem de esperma e assim definir se há sazonalidade na reprodução de Serpentes (Muniz-da-Silva 2012, Rojas et al. 2013, Loebens et al. 2016, Almeida-Santos et al. 2017, Barros et al. 2017, Mea 2018). Estudos a nível macroscópico que determinam ciclo apenas pelo aumento nas dimensões dos testículos por vezes trazem resultados ambíguos para mesma espécie para uma mesma região (Bellini et al. 2013, 2014).

*Thamnodynastes hypoconia* (Cope, 1860) é uma serpente Dipsadidae que pode atingir 70 cm de comprimento total (Giraudo 2001). Possui padrão de atividade sazonal, sendo encontrada principalmente entre dezembro e março (Sawaya 2004, Bellini et al. 2013, Rebelato et al. 2016).

De distribuição ampla no Brasil, possui registros desde o Nordeste, Centro-oeste, Sudeste e Sul do país, e também no Paraguai, Uruguai e Argentina (Franco 1999, Giraud 2001), onde habita campos e restingas, associados a corpos hídricos (Marques et al. 2001, Achaval e Olmos 2003). As fêmeas apresentam ciclo vitelogenético sazonal, e para machos o ciclo espermatogênico já foi relatado tanto como sazonal quanto contínuo, inferidos através de análises macroscópicas (Sawaya 2004, Bellini *et al.* 2013, 2014, Rebelato *et al.* 2016).

Sabendo que a variação sazonal climática pode modular o ciclo reprodutivo e que somente análises macroscópicas do sistema reprodutor podem mostrar resultados ambíguos, a análise microscópica torna-se fundamental para descrição do ciclo anual de serpentes (Rojas et al. 2013, Almeida-Santos et al. 2014). Ainda, sabendo que há divergência quanto a descrição dos ciclos reprodutivos em machos, este estudo tem como objetivos descrever o ciclo reprodutivo de machos de *Thamnodynastes hypoconia* no extremo sul do Brasil, baseados nas hipóteses (1) seu ciclo reprodutivo é sazonal, e que para garantir que ocorrerá fecundação durante a cópula e sendo o ciclo sazonal (2) os machos utilizam a estratégia de estocagem de esperma nos ductos deferentes, e sabendo que o SSR tem funções relacionadas a espermatogênese e possivelmente na manutenção do esperma nos ductos deferentes (3) o SSR apresenta atividade sazonal assim como os testículos.

## **Material e Métodos**

### **Área de estudo**

O extremo sul do Brasil, mais precisamente a porção sul da planície costeira é uma região caracterizada pela ocorrência de áreas úmidas, como lagoas, banhados temporários e permanentes, associados a um mosaico de dunas, campos e matas de restinga (Waechter 1985). O extremo sul está inserido na Zona Temperada Sul, com grande amplitude térmica durante o ano, classificada por Rossato 2011 como Subtropical Ia e com precipitação em torno de 1200-1500 mm anuais e temperatura anual média entre 17-20 °C.

### **Coleta de dados**

Foram analisados 24 exemplares machos maduros sexualmente, ou seja aqueles com ducto deferente enovelado na porção distal (Pizzatto et al 2007); tombados nas coleções científicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Universidade Federal de Rio Grande (FURG), Universidade do Vale dos Sinos (UNISINOS) e Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCT-PUCRS), coletados nos municípios Rio Grande, Pelotas e Jaguarão entre os anos 2001 e 2016. Foram utilizados

somente exemplares oriundos dessa região para garantir homogeneização das amostras em relação ao clima.

### **Análise macroscópica**

Aferimos o comprimento rostro-cloacal (CRC) e a massa corporal (g) de todos os exemplares. Ambas medidas foram feitas após os animais serem fixados e armazenados. A massa do testículo foi medida para o cálculo do Índice Gonadossomático (IGS), que expressa a porcentagem da massa corpórea apresentada pelo testículo, [IGS = (massa do testículo/massa corporal) x 100] (Clesson et al. 2002).

### **Análises histológicas**

Os órgãos selecionados para preparação de lâminas histológicas foram testículo, ducto deferente e rim. Determinamos a análise do órgão direito para padronização das amostras.

Fragmentos dos órgãos na porção mediana do testículo, na porção cranial do rim e caudal do ducto deferente (Rojas et al. 2013) foram desidratados numa série crescente de etanol (70-95%) e incluídos em resina de metacrilato de glicol Leica<sup>®</sup>. Posteriormente foram feitos cortes de 3 µm de espessura em um micrótomo Leica RM2245 e corados com corante azul de toluidina (Vanin et al. 2016).

A partir de lâminas histológicas foram obtidas 10 medidas de variáveis por indivíduo com auxílio de microscópio ocular com ocular milimétrica. As variáveis analisadas foram o diâmetro e altura do epitélio do túbulo seminífero e do segmento sexual renal, e presença ou ausência de espermatozoides no lúmen do ducto deferente. Após a obtenção das 10 medidas para cada variável por indivíduos, gerou-se uma média para a variável.

### **Análises estatísticas**

Para as análises sazonais da espermatogênese, mais precisamente da espermiogênese que é a formação de espermatozoides, em *T. hypoconia*, definimos as estações como verão (janeiro, fevereiro, março), outono (abril, maio, junho), inverno (julho, agosto, setembro) e primavera (outubro, novembro, dezembro) e as serpentes dispostas quanto a sua data de morte. O total de serpentes analisadas para cada estação foi cinco no verão, seis no outono, seis no inverno e sete na primavera, entretanto para cada parâmetro houve variação na quantidade de indivíduos analisados.

Para testar a normalidade foi aplicado teste Shapiro-Wilk. As amostras de IGS não apresentam distribuição normal ( $P < 0,05$ ), portanto foi aplicado o teste Kruskal-Wallis para dados não-

paramétricos para verificar as diferenças sazonais. A massa testicular, diâmetro dos túbulos seminíferos e do SSR e altura do epitélio dos túbulos seminíferos e do SSR apresentaram normalidade ( $P > 0,05$ ) e foram testados quanto a sazonalidade na Análise da Variância (ANOVA) e *post hoc* Tukey no programa Past 3.0 (ZAR 2014).

## Resultados

Os machos de *Thamnodynastes hypoconia* apresentaram um CRC médio de 391,96 mm (variação = 270-496 mm, DP = 57,84). A massa corporal média foi 24,71 g (variação = 11,33-47,57 g, DP = 8,62). A massa média dos testículos foi 0,0593 g (variação = 0,0173-0,1118 g, DP = 0,0281).

A massa dos testículos variou sazonalmente (ANOVA -  $F = 3,2218$ ,  $P = 0,0439$ ), entretanto o teste Tukey não identificou diferenças significativas nas médias entre as estações. Sendo as maiores no verão e primavera (0,0817 g e 0,0708 g, respectivamente) e as menores no inverno e outono (0,0418 g e 0,0482 g, respectivamente) (Tabela 1, Figura 1A).

O IGS não apresentou variação significativa entre as estações do ano em estudo (Kruskal-Wallis:  $H = 5,298$ ;  $P = 0,1512$ ), ou seja, a massa do testículo em relação a massa corporal não variou entre as estações, apesar da maior média ser no verão e a menor durante o inverno (Tabela 1, Figura 1B).

Dos 24 exemplares de *T. hypoconia*, 19,2 % ( $n = 19$ ) puderam ser analisados quanto o diâmetro do túbulo seminífero. 62,5 % ( $n = 15$ ) puderam ser medidos quanto à altura do epitélio germinativo e durante o inverno havia apenas um indivíduo viável para essas medições, inviabilizando a comparação com esta estação. No diâmetro e altura do epitélio do SSR foram 66,6 % ( $n = 16$ ). Os demais apresentavam variações estruturais, como túbulos não circulares em sessão transversal, colapsados ou não apresentavam lúmen, impossibilitando algumas medições. Haviam também exemplares cujos tecidos estavam despedaçados ou com estratos epiteliais ausentes, sugerindo má conservação.

No diâmetro dos túbulos seminíferos também não houve variação sazonal (ANOVA:  $F = 2,7303$ ,  $P = 0,2163$ ), ainda assim as maiores médias de diâmetros foram observados durante o verão e menores durante o inverno (Tabela 2, Figura 1C). A altura do epitélio germinativo também não variou significativamente entre as estações (ANOVA:  $F = 0,5971$ ;  $P = 0,5714$ ; Tabela 2, Figura 1D, Figura 2). Na luz dos túbulos a presença de espermatozoides quase nunca foi abundante, somente em um indivíduo no verão.



As medições do SSR obtidas apresentaram variação sazonal no diâmetro (ANOVA:  $F = 5,0049$ ,  $P = 0,0176$ ) diferentes apenas entre verão e inverno (Tukey:  $P < 0,05$ ; Tabela 3, Figura 1E). A altura do epitélio do SSR variou sazonalmente (ANOVA:  $F = 4,4089$ ,  $P = 0,0259$ ), porém somente entre verão e inverno (Tukey  $< 0,05$ ; Tabela 3, Figura 1F, Figura 3).

Foram observados espermatozoides no ducto deferente durante todo ano, indicando que os machos de *Thamnodynastes hypoconia* estocam esperma (Figura 4). No entanto, não foram todos indivíduos amostrados que apresentavam espermatozoides na luz do ducto, ainda que todos apresentassem essa estrutura enovelada. No verão, outono e inverno, somente uma serpente, em cada uma destas estações não apresentou essa condição. Na primavera quatro dentre sete serpentes não apresentavam espermatozoides nos ductos deferentes.

## **Discussão**

O ciclo reprodutivo de *Thamnodynastes hypoconia* já foi estudado anteriormente (Sawaya 2004, Bellini et al. 2013, 2014). Sawaya 2004, descreve o ciclo reprodutivo somente para fêmeas, definindo um ciclo sazonal durante a estação chuvosa, para uma população estudada no Cerrado brasileiro. Nos estudos de Bellini et al 2013, 2014, considerando fêmeas e machos, resultados ambíguos foram apresentados para os últimos, numa região com sazonalidade climática (seca e chuvosa) que abrangia a Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai. Mais recentemente Rebelato et al 2016, estudando espécimes do sul do Rio Grande do Sul determinou que os machos desta espécie apresentam ciclo contínuo, baseado somente em análises macroscópicas.

Nosso estudo revela resultados estatisticamente não significativos nas análises macroscópicas de IGS e massa testicular, e microscópicas para diâmetro do túbulo seminífero e altura do epitélio germinativo. De acordo com estes resultados não podemos aferir sazonalidade quanto a produção de gametas no ciclo reprodutivo de machos *T. hypoconia*.

O baixo número amostral dos parâmetros microscópicos dos testículos, principalmente a altura do túbulo seminífero, provavelmente é o motivo de não serem observadas diferenças estatísticas que indicariam a sazonalidade do ciclo esperada. Características como estratos epiteliais ausentes, túbulos colapsados, pouca impregnação de corante e consequentemente impossibilitando todas as medições, indicam que algum momento o processo de fixação e manutenção destes espécimes não foi adequado para que análises histológicas fossem realizadas posteriormente.

Ciclos contínuos já foram determinados para serpentes de região subtropical-temperada, como *Erythrolamprus miliaris* (Pizzatto e Marques 2006) e *Mastigodryas bifossatus* (Leite et al. 2009), e também contínuo na região de clima tropical em *Erythrolamprus aesculapii* (Marques 1996), *Oxyrhopus guibei* (Pizzatto e Marques 2002) e *Pseudoboa nigra* (Orofino et al. 2010), ressaltando que nestes estudos não foram aplicadas técnicas histológicas a fim de verificar realmente as mudanças a nível celular. Outros estudos que incluem indivíduos machos e análises histológicas determinaram ciclo sazonal na espermiogênese sob diferentes regimes climáticos (Almeida-Santos et al 2006, Rojas et al. 2013, Loebens et al. 2016, Mea 2018).

A hipertrofia do do SSR observada para o período do verão indica maior atividade dessa estrutura durante a época mais quente, diferentemente do que já foi registrado para outras serpentes no Sul do país, como *Erythrolamprus poecilogyrus* (Mea 2018) e *Philodryas pagatoniensis* (Loebens et al. 2016), onde a maior atividade do SSR foi registrado durante o inverno. A regressão desta estrutura, acontece após a cópula (Volsøe 1944, Bishop 1959, Fox 1977, Schuett et al., 2002; Krohmer et al. 2004, Graham 2006, Aldridge et al. 2011), e neste trabalho o início da regressão foi observada no outono até o inverno, com menores medidas de diâmetro e altura desse segmento. Com isso, estimamos que a estação da cópula da espécie na área de estudo inicie na primavera e dure até o final do verão, considerando que a espécie possua um sistema de acasalamento poligínico, ou seja, mais de uma cópula por estação reprodutiva (Pizzatto et al. 2007).

Nas análises histológicas do ducto deferente, verificamos a presença de espermatozoides na luz do ducto durante todo o ano e geralmente abundante, preenchendo-o quase por completo, contrastando a falta de espermatozoides nos túbulos seminíferos. Essa característica é observada nas serpentes de ciclo sazonal. E devido ao padrão de atividade de *T. hypoconia* ser sazonal, assim como as presas que compõem sua dieta e fêmeas da espécie apresentando ciclo sazonal, (Sawaya 2004, Bellini et al. 2013, 2014, Rebelato et al. 2016) esperávamos também observar um padrão sazonal na produção de espermatozoides, ao contrário do que foi observado.

## **Conclusão**

Ao final deste trabalho concluímos que:

1. Os machos de *Thamnodynastes hypoconia* da região austral do Brasil apresentam ciclo reprodutivo contínuo, ainda assim, essa informação deve ser vista com cautela devido ao baixo número amostral para a maioria dos parâmetros analisados.
2. O segmento sexual-renal apresentou atividade sazonal durante o verão e regressão no inverno, indicando que a primeira estação é quando ocorre a cópula.
3. Os machos fazem estocagem de esperma a fim de garantir a cópula em qualquer momento da estação reprodutiva.
4. As análises histológicas foram fundamentais para melhor compreensão do ciclo reprodutivo nos machos.
5. Ao mesmo tempo em que as coleções científicas se mostraram extremamente importantes para realização deste estudo, o aperfeiçoamento das técnicas de conservação de espécimes também se faz necessário.

## Referências Bibliográficas

- Achaval F, Olmos A (2003) Anfibios y reptiles Del Uruguay. 2 ed., Graphis Impresora, Montevideo, Uruguay
- Aldridge RD, Jellen BC, Siegel DS, Wisniewski SS (2011) The sexual segment of the kidney. In: Aldridge RD, Sever DM (ed) Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes. Enfield: Science Publishers. pp 477–509
- Almeida-Santos SM, Barros VA, Rojas CA; Sueiro LR, Nomura RHC (2017) Reproductive Biology of the Brazilian Lancehead *Bothrops moojeni* (Serpentes, Viperidae) from São Paulo, Southeastern Brazil. South American Journal of Herpetology, v. 12, p. 174-181
- Almeida-Santos SM, Braz HB, Santos LC, Sueiro LR, Barros VA, Rojas CA, Kasperoviczus Kn (2014) Biologia reprodutiva de serpentes: recomendações para a coleta e análise de dados. Herpetologia Brasileira 3: 14-24
- Almeida-Santos SM, Pizzato L, Marques OAV (2006) Intra-sex synchrony and inter-sex coordination in the reproductive timing of the atlantic coral snake *Micrurus corallinus* (elapidae) in Brazil. Herpetological Journal, Vol. 16, pp. 371-376
- Barros VA, Rojas CA, Almeida-Santos SM (2017). Mating plugs and male sperm storage in *Bothrops cotiara* (Squamata, Viperidae). Herpetological Journal, v. 27, p. 63-67
- Bellini GP, Arzamendia V e Giraudo AR (2013) Ecology of *Thamnodynastes hypoconia* in Subtropical-Temperate South America. Herpetologica 69: 67-79
- Bellini GP, Giraudo AR e Arzamendia V (2014) Comparative ecology of three species of *Thamnodynastes* (Serpentes, Dipsadidae) in subtropical-temperate South America. Herpetological Journal 24: 87-96
- Bishop JE (1959) 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. J Morphol 104:307–357
- Clesson D, Bautista A, Baleckaitis DD, Kromer RW (2002) Reproductive biology of male eastern garter snakes (*Thamnophis sirtalis sirtalis*) from a denning populations in Central Wisconsin. Am Midl Nat 147:376–386
- Duvall D, Guillette Lj Jr. and Jones RE (1982) Environmental control of reptilian reproductive cycles. In: GANS C and POUGH H (ed), Biology of the Reptilia, Academic Press: New York, p. 201-231
- Fitch HS (1980) Reproductive strategies of reptiles. In: Murphy JB and Collins JT (ed) Reproductive biology and diseases of captive reptiles, SSAR Contributions to Herpetology, p. 25-31
- Fox W (1977) Theurogenitalsystemofreptiles. In: Gans C, Parsons TS (ed). Biology of the Reptilia. New York: Academic Press: pp 1–157

- Franco FL (1999) Relações filogenéticas entre os gêneros da tribo Tachimenini Bailey (1967) (Serpentes, Colubridae). Dissertação, USP, São Paulo. 252 p
- Giraud A (2001) Serpientes de la Selva Paranaense y del Chaco Húmedo. Buenos Aires, L. O. L. A. 328 p
- Girons HS. (1982) Reproductive cycles of males snakes and their relationships with climate and female reproductive cycles. *Herpetol* 38: 5-16
- Graham S. (2006). An integrative analysis of reproduction and stress in free-living male cottonmouths, *Agkistrodon piscivorus*. Dissertation. Georgia: College of Arts and Sciences of the State University. 85 p. Available at: [http://digitalarchive.gsu.edu/biology\\_theses/6](http://digitalarchive.gsu.edu/biology_theses/6)
- Greene HW (1997). Snakes The Evolution of Mystery in Nature. University of California Press, Ltd. London, England.
- Krohmer RW, Martinez D and Mason RT (2004) Development of the renal sexual segment in immature snakes: Effect of sex steroid hormones. – *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 139: 55–64
- LEITE PT, NUNES SF, KAEFER IL, CECHIN SZ (2009) Reproductive biology of the swamp racer *Mastigodryas bifossatus* (Serpentes: Colubridae) in subtropical Brazil. *Zoologia* 26: 12-18
- Loebens, L, Cechin, SZ, Theis TF, Moura LB, Almeida-Santos, SM (2016) Reproductive biology of *Philodryas patagoniensis* (Snakes: Dipsadidae) in south Brazil: male reproductive cycle. *Acta Zoologica* 0: 1–11.
- Marques OAV (1996) Biologia reprodutiva da cobra-coral *Erythrolamprus aesculapii* Linneus (Colubridae), no sudeste do Brasil. *Revta bras. Zool.* 13(3):747-753
- Marques OAV, Eterovic A and Sazima I (2001) Serpentes da Mata Atlântica - guia ilustrado para a Serra do Mar. Holos. Ribeirão Preto. 184 p
- Mea POD (2018) Ciclo reprodutivo de machos de *Erythrolamprus poecilogyrus* (Serpentes: dipsadidae) na porção subtropical do Brasil. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil
- Muniz-da-Silva DF (2012) Ciclo reprodutivo da caninana, *Spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (Serpentes: Colubridae). Dissertação – USP. São Paulo
- Orofino RP, Pizzato L, Marques OAV (2010) Reproductive biology and food habits of *Pseudoboa nigra* (Serpentes: Dipsadidae) from the Brazilian cerrado. *Phyllomedusa* 9(1):53-61
- Pizzato L, Marques OAV (2002) Reproductive biology of the false coral snake *Oxyrhopus guibei* (Colubridae) from southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia* 23: 495-504
- Pizzato L, Marques OAV (2006) Interpopulational variation in reproductive cycles and activity of the water snake *Liophis miliaris* (Colubridae) in Brazil. *Herpetol* 116: 353-362
- Pizzato L, Almeida-Santos SM e Marques OAV (2007) Biologia reprodutiva de serpentes brasileiras. In: Nascimento LB E Oliveira ME (ed), *Herpetologia no Brasil II*, Sociedade Brasileira de Herpetologia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, p. 201-221.
- Quintela FM, Marques WC, Loebmann D (2017) Reproductive biology of the Green Ground Snake *Erythrolamprus poecilogyrus sublineatus* (Serpentes: Dipsadidae) in Subtropical Brazil. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3, supl. p. 2189-2197
- Rebelato, MM, Tozetti, AM, Pontes, GMF (2016) Reproductive biology of *Thamnodynastes hypoconia* (Serpentes: Dipsadidae) in Brazilian subtemperate wetlands. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, Rio de Janeiro, v. 88, n. 3, supl. p. 1699-1709
- Rojas CA, Barros VA and Almeida-Santos SM (2015) Sperm storage and morphofunctional bases of the female reproductive tract of the snake *Philodryas patagoniensis* from southeastern Brazil. *Zoomorphology* 134: 1–10
- Rojas CA, Barros VA. and Almeida-Santos SM (2013) The Reproductive Cycle of the Male Sleep Snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) in Southeastern Brazil. – *Journal of Morphology* 274: 215–228
- Rossato MS (2011) Os climas do Rio Grande do Sul: variabilidade, tendências e tipologia. Tese de doutorado. Programa de pós-graduação em geografia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Brasil.
- Sawaya RJ (2004). História natural e ecologia das serpentes de cerrado da região de Itaipina, Sp. Campinas. 145p. Tese de doutorado. Instituto de Biologia, Universidade Federal do Campinas.

- Schuett GW, Carlisle SL, Holycross AT, O'Leile JK, Hardy DL, Van Kirk EA, Murdoch WJ (2002) 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 GW, Höggren M, Douglas ME, Greene HW (ed) *Biology of the Vipers*. Carmel, Indiana: Eagle Mountain. pp 515–532
- Seigel RA E Ford NB (1987) Reproductive ecology. In: Seigel RA et al. (ed), *Snakes, Ecology and Evolutionary Biology*. McMillan Publishing Company, New York, USA, p. 210-252
- Vanin AS, Gioria J, Fialho CB (2017) Life history of *Gymnotus refugio* (Gymnotiformes; Gymnotidae): an endangered species of weakly electric fish. *Environ Biol Fish* 100:69–84.
- Vieira EF (1984) *Rio Grande do Sul: geografia física e vegetação*. Sagra: Porto Alegre, 184p
- Vitt LJ and Caldwell, JP (2014) Reproduction and life histories. In: Vitt LJ and Caldwell, JP (ed): *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, 4th edn, pp. 117–155. Academic Press, San Diego, CA
- Volsøe H (1944) Structure and seasonal variation of the male reproductive organs of *Vipera berus* (L.). *Spolia Zoologica Musei Hauniensis*, 157 p
- Waechter JL (1985) Aspectos ecológicos da vegetação de restinga no Rio Grande do Sul, Brasil. *Comun Mus Ci PUCRS Sér Bot* 33: 49-68
- Yokoyama F and Yoshida H (1993) The reproductive cycle of the male habu, *Trimeresurus flavoviridis*. *The Snake* 25: 55-62
- Zar JH (2014) *Biostatistical Analysis*. 5th Edition. Pearson Education Limited, Upper Saddle River.

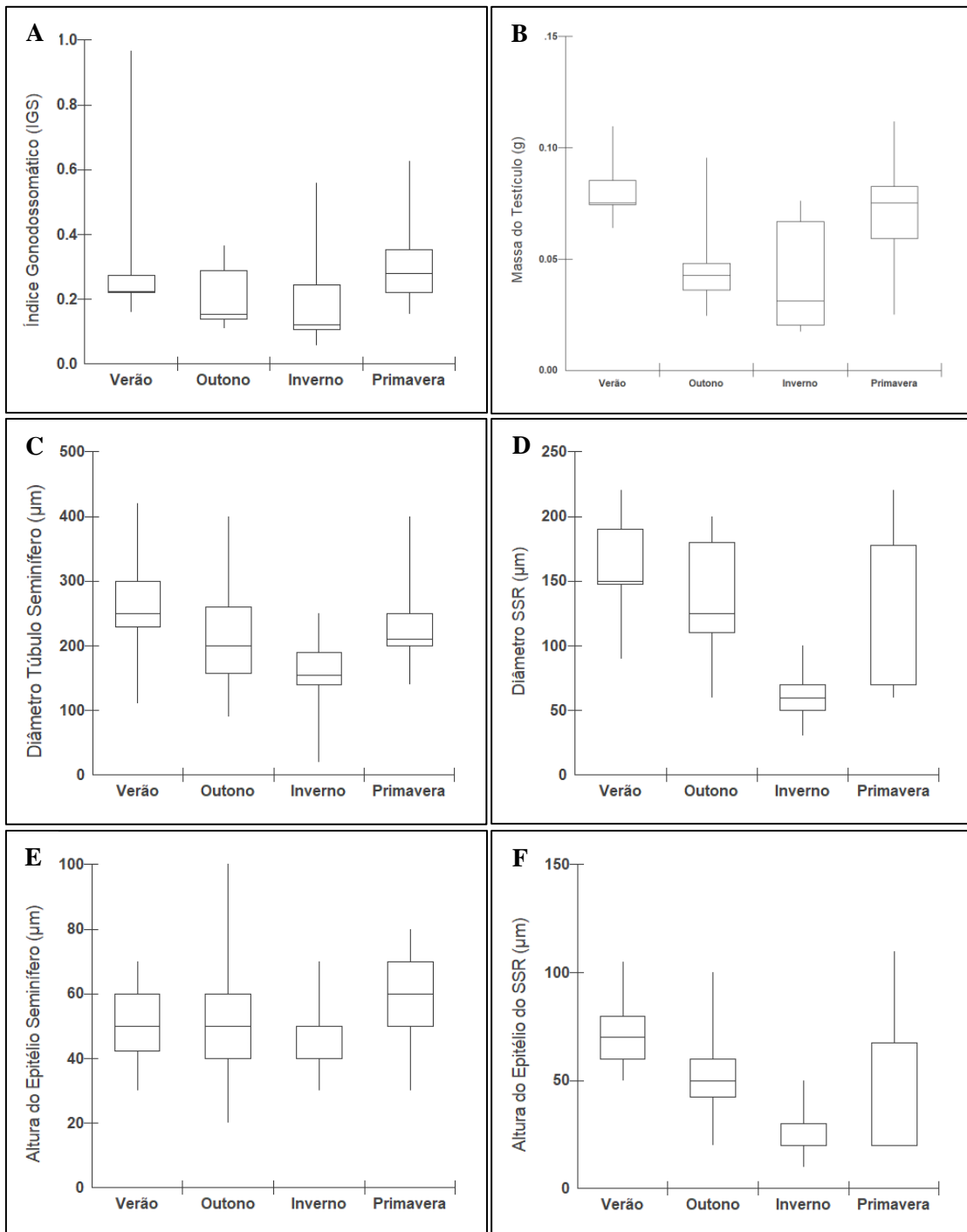
## Apêndice

Espécimes examinados tombados na Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Rio Grande (CHFURG), Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP), Coleção Zoológica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Coleção de Herpetologia do Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres da Universidade do Vale do Rio dos Sinos (CHLEVT).

CHFURG1102, CHFURG1106, CHFURG1188, CHFURG1565, CHFURG1566,  
 CHFURG1843, CHFURG1849, CHFURG1917, CHFURG1924, CHFURG2362,  
 CHFURG2363, CHFURG2364, CHFURG2523, CHFURG4720, CHFURG4993,  
 CHFURG809, CHFURG871, CHLEVT12, CHLEVT155, CHLEVT188, MCP12225,  
 MCP18721, MCP18864, UFRGS5072, UFRGS5209.

## Anexos

**Figura 1.** Variação sazonal do –**A.** IGS, –**B.** Massa testicular, –**C.** Diâmetro do túbulo seminífero, –**D.** Altura do epitélio germinativo, –**E.** Diâmetro do SSR, –**F.** Altura do epitélio do SSR, em machos de *Thamnodynastes hypoconia* no Sul do Brasil. As caixas representam o desvio padrão. A linha ao meio representa a mediana. As linhas verticais representam valores máximos e mínimos.



**Tabela 1. Variação nos valores de massa testicular e IGS de *Thamnodynastes hypoconia* entre as estações do ano.**

Estação	N	Massa testicular (g)	N	IGS (%)
Verão	5	0,0817 ±0,0173	5	0,3692 ±0,3369
Outono	6	0,0482 ±0,0246	6	0,2082 ±0,1099
Inverno	6	0,0418 ±0,0276	6	0,2072 ±0,1886
Primavera	7	0,0708 ±0,0271	7	0,3135 ±0,1559

Número de espécimes examinados (N), médias e desvios padrão (±) por estação. Índice Gonadossomático (IGS).

**Tabela 2. Variação nos valores de diâmetro e altura do epitélio dos túbulos seminíferos de *Thamnodynastes hypoconia* entre as estações do ano.**

Estação	N	Diâmetro Túbulo Seminífero (µm)	N	Altura Epitélio Germinativo (µm)
Verão	5	259,75 ±58,9866	5	50,4 ±9,8892
Outono	6	210,6667 ±69,523	5	50,4 ±15,1132
Inverno	4	157,75 ±40,9808	1	47 ±13,3749
Primavera	4	228,25 ±48,7741	4	56,5 ±11,4466

Número de espécimes examinados (N), médias e desvios padrão (±) por estação.

**Tabela 3. Variação nos valores de diâmetro e altura do epitélio do SSR de *Thamnodynastes hypoconia* entre as estações do ano.**

Estação	N	Diâmetro SSR (µm)	N	Altura Epitélio SSR (µm)
Verão (A)	4	157,5 ± 32,2 <sup>C</sup>	4	70,875 ±12,1364 <sup>C</sup>
Outono (B)	5	135 ±41,5	5	53,6 ±19,0338
Inverno (C)	4	60,5 ±16,5 <sup>A</sup>	4	23,75 ±8,9693 <sup>A</sup>
Primavera (D)	3	111,3 ±62,7	3	41,6667 ±32,2793

Teste Tukey: diferenças significativas ( $P < 0.05$ ) entre as estações representadas pelas letras. Número de espécimes examinados (N), médias e desvio padrão (±) por estação. Segmento sexual-renal (SSR).

Figura 2. Cortes histológicos do testículo de *Thamnodynastes hypoconia* do sul do Brasil evidenciando os túbulos seminíferos. (A) Verão. (B) Outono, (C) Inverno (D) Primavera. Barra de medição do diâmetro do SSR em (B) e da altura do epitélio do segmento em (C). Luz do túbulo (\*).

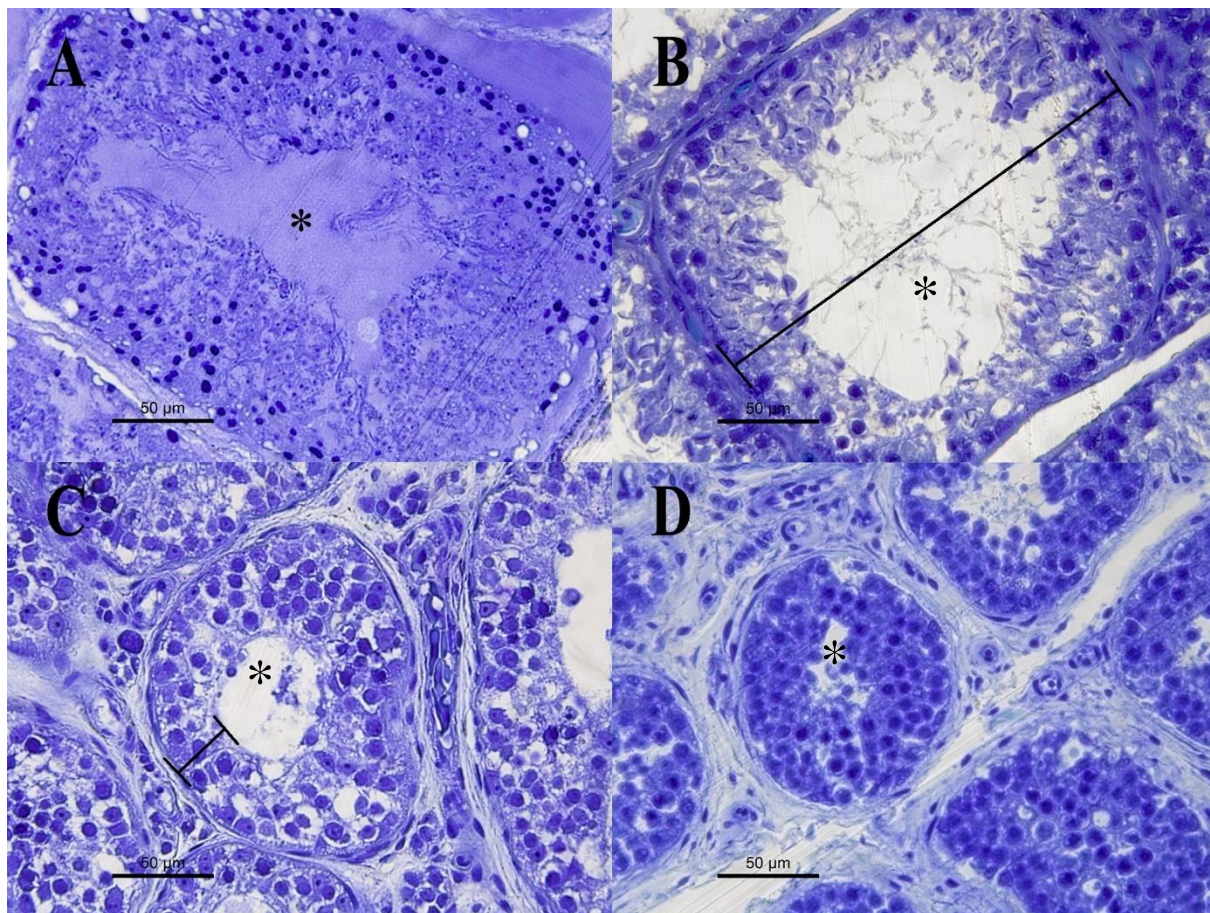




Figura 3. Cortes histológicos do rim de *Thamnodynastes hypoconia* do sul do Brasil evidenciando o segmento sexual renal (SSR). (A) Verão. (B) Outono, (C) Inverno (D) Primavera. Barra de medição do diâmetro do SSR em (B) e da altura do epitélio do segmento em (C). Luz do segmento (\*).

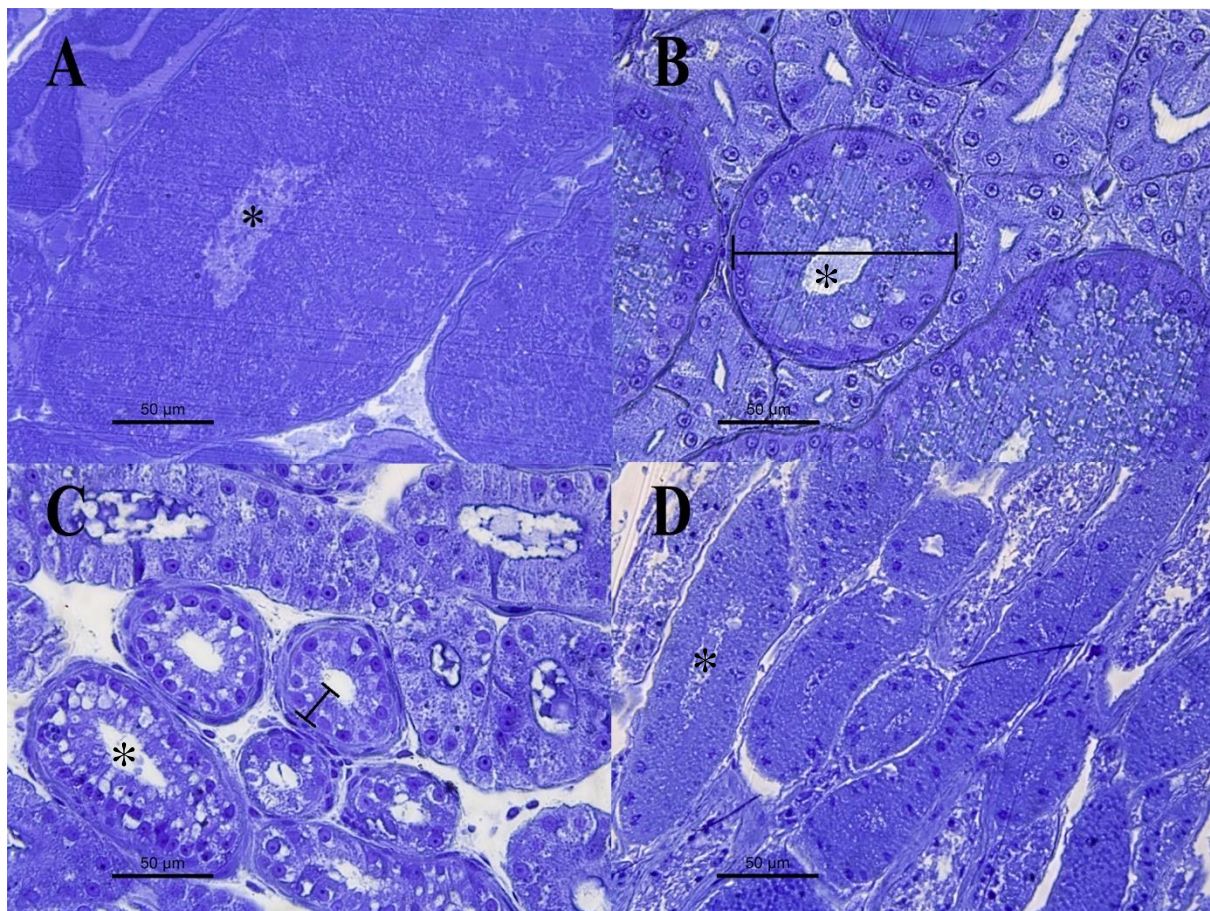


Figura 4. Cortes histológicos do ducto deferente de *Thamnodynastes hypoconia* do sul do Brasil, evidenciando espermatozoides (\*) na luz do ducto. (A) Verão. (B) Outono, (C) Inverno e (D) Primavera.

