

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA – ECMV CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO

YASMIM RAMOS CELLI

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Amphisbaena fuliginosa* Linnaeus, 1759 (AMPHISBAENIA, AMPHISBAENIDAE) NO BRASIL CENTRAL

GOIÂNIA

YASMIM RAMOS CELLI

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Amphisbaena fuliginosa* Linnaeus, 1759 (AMPHISBAENIA, AMPHISBAENIDAE) NO BRASIL CENTRAL

Monografia apresentada à Escola de Ciências Médicas e da Vida da Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Wilian Vaz Silva

GOIÂNIA

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO

BANCA EXAMINADORA DA MONOGRAFIA

Aluna: YASMIM RAMOS CELLI

Orientador: Prof. Dr. Wilian Vaz Silva

Membros:

- 1. Dr. Darlan Tavares Feitosa
- 2. Dr. Matheus Godoy Pires

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Wilian Vaz Silva, pela confiança depositada em mim para a realização deste trabalho e pelos inestimáveis auxílios ao longo de sua execução.

Ao Prof. Dr. Francisco Leonardo Tejerina-Garro, pelo valioso suporte nas questões estatísticas deste estudo.

Ao Prof. Me. Rodrigo Mariano da Silva, por sua orientação durante a elaboração do primeiro esboço deste trabalho, que foi essencial para sua construção.

À Profa. Dra. Maira Barberi, pelos ensinamentos marcantes e pelo apoio constante ao longo da graduação.

Estendo minha gratidão aos demais professores que contribuíram com minha formação acadêmica durante minha trajetória na universidade.

Agradeço também à Marta e ao Raimundo, por acreditarem no meu potencial durante o estágio e por me proporcionarem aprendizados e experiências que enriqueceram minha formação.

Ao Mestrando Igor Gerolineto Alves, minha gratidão por todo o auxílio prestado em diversos momentos deste trabalho, seja nas questões de escrita, na compreensão do conteúdo ou na busca por conhecimentos externos que enriqueceram esta pesquisa.

A Jessica Rocha Gonçalves, Nathany Geraldino Nogueira, Matheus Felipe Rodrigues Freire e aos demais funcionários do CETAS GO e do Floresta Cheia, por todo os ensinamentos, conselhos, risadas e pelas valiosas experiências que me proporcionaram ao longo de um ano e meio em que estagiei nessa instituição.

A minha melhor amiga e colega Jordanna Maria das Serra Santos, pela colaboração com trabalhos acadêmicos e pelo suporte constante durante toda a minha graduação e no desenvolvimento do TCC. Como também pelas risadas compartilhadas, pelos passeios memoráveis e por sempre estar disposta a embarcar comigo em ideias aparentemente fúteis, mas que trouxeram leveza e alegria a essa jornada.

Ao meu companheiro de vida, Weliton Vitalino dos Santos Junior, minha eterna gratidão por estar sempre ao meu lado, me ajudando a superar minhas limitações, confiar e incentivar a persistir e sempre elogiando minha dedicação, coisas que me deixaram mais confiante para prosseguir. Obrigada por compartilhar comigo todos os momentos, sejam de tristeza ou alegria, nunca deixando de acreditar que eu conseguiria. Sem o seu apoio durante essa fase da minha vida, talvez eu não tivesse chegado até aqui da maneira que cheguei, e certamente teria desistido de muitos sonhos ao longo do caminho.

Ao meu amigo Állefe Victor de Freitas, minha profunda gratidão por todo o apoio ao longo da graduação. Sempre disposto a ler e contribuir com este trabalho, e por me auxiliar em diversos desafios do curso, além de um grande amigo e ouvinte, presente em todos os momentos, sejam eles de alegria ou de dificuldade. As idas à academia, os encontros nos bares de sinuca e as sessões no cinema foram não apenas ocasiões de

descontração, mas verdadeiros respiros em meio aos períodos mais desafiadores, tornando esses dias mais leves e alegres.

Aos demais colegas e amigos que fizeram parte desse período da minha vida, minha gratidão pelo apoio constante e por acreditarem em mim, ajudando a passar por essa fase.

Agradeço profundamente à minha mãe por toda a criação e por todo o apoio ao longo da minha vida. Sou grata por cada conselho, pelos momentos de carinho e por estar sempre ao meu lado, me ajudando a superar desafios e acreditando no meu potencial. Seu apoio foi muito importante para mim durante esses anos.

Ao meu pai, por me apoiar de todas as formas ao longo desta jornada. Sua ajuda, não apenas financeira, que me permitiu cursar esta universidade, mas também emocional, foi fundamental. Sou grata por cada momento de desabafo e descontração ao telefone, pelos conselhos, mesmo os mais simples, e pelos sonhos que compartilhamos e nos permitimos acreditar. Na reta final, sua confiança em mim foi essencial para que eu pudesse concluir este trabalho.

A minha avó e a minha tia Patrícia por me receberem e acolherem em Goiânia, e por me incentivarem a fazer a faculdade aqui, sempre acreditando que eu conseguiria passar. Sempre estiveram interessadas nas minhas conquistas e acompanhando meus passos, além de me ajudarem a enfrentar os desafios de morar sozinha e conciliar tudo com a faculdade. Seus conselhos e ensinamentos sobre a vida e sobre o curso foram essenciais para que eu continuasse em frente com confiança.

Sou grata também aos meus padrinhos, tios e outros familiares, que sempre me incentivaram e acreditaram em mim ao longo do curso, oferecendo apoio e motivação em cada etapa dessa jornada.

Agradeço à Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás) por me proporcionar a oportunidade de cursar minha graduação em uma instituição de excelência. Sou grata a todos os funcionários que, com dedicação, contribuíram para o bom andamento da minha jornada acadêmica. Em especial, agradeço a bolsa do vestibular social, que foi fundamental para que eu pudesse realizar este sonho e seguir em frente com minha formação.

RESUMO

A família Amphisbaenidae apresenta ampla distribuição geográfica e uma grande diversidade de espécies. Possuem hábitos fossoriais e, por conta disso, estudos relacionados a fisiologia, comportamento e reprodução são escassos na literatura. O presente estudo teve como objetivos, estudar aspectos da biologia reprodutiva de Amphisbaena fuliginosa, além de correlacioná-la com aspectos sazonais e avaliar a presença de dimorfismo sexual. Para a descrição dos aspectos reprodutivos de Amphisbaena fuliginosa foram analisados 92 espécimes de quatro localidades do Estado de Goiás (Goiandira, Luziânia, São Domingos e Minaçu). Todos os espécimes passaram por uma avaliação macroscópica para a identificação de sexo, maturidade e posição das gônadas. Para a avaliação do dimorfismo sexual foram aferidos o comprimento rostrocloacal e caudal, comprimento, largura e altura da cabeça e posteriomente realizados testes estatísticos para essa verificação, além da observação e contagem dos poros précloacais. Na análise dos espécimes foi observado um ciclo reprodutivo sazonal nas fêmeas (nos meses de maio a setembro) e asssazonal nos machos. Foi determinada a maturidade das fêmeas com a presença de folículos maiores que 5 mm e com CRC maior que 340mm, e nos machos com CRC entre 293 e 358 mm. Na disposição das gônadas, a direita estava na posição superior a esquerda em ambos os sexos e com tamanhos variados entre os lados. Não foi observado dimorfismo sexual em nenhum dos aspectos analisados entre os machos e fêmeas da A. fuliginosa. Os resultados são inéditos e contribuem com o conhecimento científico da espécie, dando subsídios a futuros estudos ecológicos e conservacionistas.

Palavras-chave: Anfisbênios, Reprodução, Cerrado.

ABSTRACT

The family Amphisbaenidae has a wide geographical distribution and great species diversity. They exhibit fossorial habits, which has resulted in a scarcity of studies on their physiology, behavior, and reproduction in the literature. This study aimed to investigate the reproductive biology of Amphisbaena fuliginosa, correlate it with seasonal aspects, and assess the presence of sexual dimorphism. To describe the reproductive aspects of Amphisbaena fuliginosa, 92 specimens were analyzed from four locations in the State of Goiás (Goiandira, Luziânia, São Domingos, and Minaçu). All specimens underwent macroscopic evaluations to determine sex, maturity, and gonad positioning. Measurements were taken for snout-vent and tail length, head length, width, and height for the evaluation of sexual dimorphism. Statistical tests were then conducted to verify differences, and precloacal pores were observed and counted. The analysis revealed a seasonal reproductive cycle in females (from May to September) and an aseasonal cycle in males. Female maturity was determined by the presence of follicles larger than 5 mm and a snout-vent length (SVL) greater than 340 mm, while males exhibited maturity with an SVL between 293- and 358-mm. Gonad positioning showed the right gonad to be superior to the left in both sexes, with varying sizes between sides. No sexual dimorphism was observed in any of the analyzed aspects between male and female A. fuliginosa. These results are novel and contribute to the scientific knowledge of the species, providing a basis for future ecological and conservation studies.

Keywords: Amphisbaenians, Reproduction, Cerrado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Amphisbaena fuliginosa. Foto: Giuseppe Mazza
Figura 2 - Distribuição geográfica de Amphisbaena fuliginosa. A: registros pontuais
(símbolos e cores representam as diferentes subespécies) (adaptado de Roberto et al.,
2021); B = área de distribuição estimada (Fonte: Repfocus)
Figura 3 – Locais de procedência das amostras utilizadas no estudo. $1 = \text{Minaçu}; 2 = \text{S}$ ão
Domingos; 3 = Luziânia; 4 = Goiandira
Figura 4 - Fêmea de <i>Amphisbaena fuliginosa</i> (RSD II -425) dissecada (f = folículos
ovarianos; i = intestino; R = rim; ovd = oviduto). Fonte: a autora
Figura 5 - Macho de <i>Amphisbaena fuliginosa</i> (CEPB 656) dissecado (T = testículo; dd =
ducto deferente; R = rim; i = intestino). Fonte: a autora
Figura 11- Gráfico de dispersão do maior folículo encontrados em cada fêmea da
espécies por meses do ano.
Figura 12 - Fêmea (CEPB 676) de 465 mm com 6 ovos no seu interior (i = intestino).23
Figura 13- Ovidutos (ovd) das fêmeas evidenciando os aspectos: 1 = liso e translúcido
(CEPB 685); 2 = liso e opaco (CEPB 707); 3 = pregueado e opaco (CEPB 1711). Escala
= 1mm. 24
Figura 14 - Gráfico de dispersão do Comprimento rostro-cloacal (mm) e do maior
folículo ou ovo (mm) das fêmeas de <i>Amphisbaenia fuliginosa</i>
Figura 15 - Relação entre o volume do testículo e meses do ano
Figura 16 - Gráfico de dispersão do CRC dos machos durante o ano e com indicação de
enovelamento dos ductos deferentes
Figura 17 – Aspectos do ducto deferente nos machos analisados. 1 = liso e translúcido
(CEPB 684); 2 = enovelado e translúcido (CEPB 700); 3 = liso e opaco (CEPB 691); 4 =
enovelado e opaco (CEPB 712). Escala =1mm. 28
Figura 18 - Gráfico de dispersão do CRC dos machos durante o ano, com ênfase na
indicação das diferenças observadas no ducto deferente

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número e volume médio de ovos encontrados em fêmeas de	Amphisbaena
fuliginosa	23
Tabela 2 - Número mínimo e máximo de ovos relatados para espécies de A	Amphisbaena.
	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3 METODOLOGIA	17
4 RESULTADOS	21
4.1 Biologia reprodutiva de <i>Amphisbaena fuliginosa</i>	21
4.1.1 Fêmeas	21
4.1.2 Machos	25
4.2 Dimorfismo sexual	30
5 DISCUSSÃO	31
6 CONCLUSÃO	36
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1 INTRODUÇÃO

Os anfisbênios (subordem Amphisbaenia) pertencem a ordem Squamata, que é compreendida também por serpentes (Serpentes) e lagartos (Sauria). Atualmente são reconhecidas 203 espécies de Amphisbaenia distribuídas em 6 famílias: Amphisbaenidae (184 espécies); Trogonophidae (6 espécies); Bipedidae (3 espécies); Rhineuridae (1 espécie); Blanidae (7 espécies); e, Cadeidae (2 espécies) (Uetz et al., 2024). A família Amphisbaenidae possui uma ampla distribuição geográfica, com ocorrência na África, América do Sul e América Central (Uetz et al., 2024).

As espécies dessa família são popularmente conhecidas como "cobra-de-duas-cabeças" pela semelhança entre a cabeça e a cauda e por conseguir se locomover em ambas as direções (Gans, 1969; Cameron e Gans, 1977) e como "cobra-cega" por seus olhos reduzidos. Uma característica comum a todos desse grupo é o hábito fossorial, o que dificulta a obtenção de exemplares e, por conta disso, estudos relacionados a história de vida dessa família são escassos na literatura, principalmente estudos que abordam aspectos relacionados à sua fisiologia, seu comportamento e reprodução (Andrade et al., 2006; Navega-Gonçalves, 2009).

Os integrantes da família Amphisbaenidae se alimentam de insetos, larvas e vermes, e sua dentição forte e pleurodonte possibilita essa variedade de alimentos na sua dieta. Apesar da dentição variar na quantidade de dentes entre as espécies, uma característica marcante é um grande dente central e pré-maxilar que se encaixa nos dentes da mandíbula (Navega-Gonçalves e Benites, 2019).

A biologia reprodutiva das espécies que compõe a família Amphisbaenidae é pouco descrita, sendo que as mais conhecidas são ovíparas, com exceção da espécie *Trogoniphis wiergmanni*, na qual foi registrada a ocorrência de viviparidade (Santos, 2009). A reprodução é caracterizada por poucos ovos/embriões por ninhada e com rápida maturação e, de acordo com Santos (2013) e Andrade et al. (2006), a maioria das espécies possui a período reprodutivo alinhado com as estações do ano (quente e chuvoso) e com a latitude. Outro fator interessante, observado na reprodução dos anfisbênios, e citado por Santos (2009), é a preferência de formigueiros para a oviposturas, que de acordo com Gans (1971) e Vaz-Ferreira et al. (1973), relaciona-se à capacidade de algumas formigas conseguirem controlar as condições de umidade, ventilação e temperatura no interior do formigueiro.

Ainda sobre a reprodução das espécies de Amphisbaenidae, uma característica que aparenta ser geral entre os indivíduos da família, é a disposição das gônadas, na qual, estão presentes na cavidade abdominal e de maneira assimétrica, na maioria com a gônada direita superior a esquerda (Crook e Parson, 1980). Essa peculiaridade, é vantajosa para o grupo, pois evita que o diâmetro do corpo seja aumentado durante a fecundação, facilitando assim, a locomoção subterrânea (Santos, 2009). Os folículos vitelogênicos e ovos são dispostos enfileirados e possuem formato alongado, impedindo também a distensão lateral do corpo da fêmea (Andrade et al., 2006). Já em relação ao dimorfismo sexual, foi relatado em algumas espécies do gênero *Amphisbaena*, diferenças no tamanho corporal, largura da cabeça, comprimento da cauda e a presença ou ausência de porospré-cloacais, variando essas características em machos e fêmeas (Navega-Gonçalves, 2019).

Amphisbaena fuliginosa Linnaeus, 1758 (**Figura 1**) é uma espécie pertencente à família Amphisbaenidae. Segundo Vanzolini (2002) e Lemos (2007), a espécie é originária da Amazônia, possui uma ampla distribuição, sendo registrada nos estados de Goiás e Minas Gerais, Amazonas, Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Roraima, Pará e Rondônia (Silveira, 2007; Oliveira, 2016), além da Bolívia, Colômbia, Equador, Panamá, Peru, Trindade e Venezuela (Oliveira, 2016) (**Figura 2**). Acredita-se que ela tenha conseguido expandir sua área de distribuição através de seus hábitos fossoriais, que permite sua sobrevivência em ambientes antropogênicos (Lemos, 2007).



Figura 1 - Amphisbaena fuliginosa. Foto: Giuseppe Mazza.

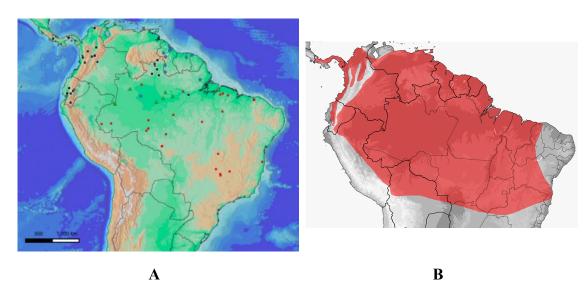


Figura 2 - Distribuição geográfica de *Amphisbaena fuliginosa*. A: registros pontuais (símbolos e cores representam as diferentes subespécies) (adaptado de Roberto et al., 2021); B = área de distribuição estimada (Fonte: Repfocus).

Vanzolini (2002) reconheceu cinco subespécies para *A. fuliginosa*, portanto, uma espécie politípica e, como observado por Oliveira (2016), há padrões de coloração distintos, variando em intensidade da cor preta (espécies com machas pretas desbotadas) e da localização dessas machas no dorso, no ventre e na cabeça. A subespécie com ocorrência para o Brasil Central é *Amphisbaena fuliginosa wiedi* (Vanzolini, 2002). Em relação à sua morfologia, apresenta um focinho saliente com a cabeça robusta e formato maciço. O escudo rostral é de tamanho moderado, enquanto os nasais são grandes e entram em contato com o segundo supralabial. O comprimento médio é de 420 mm e a cauda é cilíndrica, com capacidade de autotomia. Os escudos pré-frontais têm tamanho moderado e o ocular é visível. A espécie possui três escudos supralabiais e três ou quatro infralabiais, sem sulcos dorsais ou ventrais, além de poros pré-cloacais (Vanzolini, 1951; Oliveira, 2016).

Apesar de não haver estudos específicos sobre a reprodução da *Amphisbaena fuliginosa*, com base no padrão observado em outras espécies do gênero, ela é descrita como ovípara, com um número relativamente baixo de ovos (geralmente entre 2 e 6, podendo atingir no máximo 8). Essa estratégia reprodutiva é comum em animais fossoriais, que tendem a investir energia em poucos descendentes (Gans, 1978; Navega-Gonçalves, 2019). Além disso, assim como outras anfisbênos espera-se e o ciclo reprodutivo da espécie esteja associado à sazonalidade, com fêmeas ovulando e depositando ovos durante a estação chuvosa, um período que favoreceria a sobrevivência dos filhotes devido à maior disponibilidade de recursos. Em estudos como o de Colli e Zamboni (1999), sugerem que a reprodução de *Amphisbaena alba* é anual ou bianual e essa variação depende de condições climáticas locais.

O cuidado parental não está presente no gênero, possivelmente incluindo a espécie em estudo. No entanto, a postura dos ovos ocorre em locais protegidos (subterrâneos ou sob folhagem), e os filhotes nascem em um estágio de desenvolvimento mais avançado, o que significa que apresentam características morfológicas e fisiológicas bem definidas desde o nascimento, possibilitando maior independência logo nos primeiros momentos de vida (Vitt & Caldwell, 2014). O crescimento e maturação desses filhotes, como estudado por Andrade (2006), são lentos e ocorrem geralmente no segundo ano de vida, com macho e fêmea se tornando ativos sexualmente em idades próximas, porém, dependendo ainda de condições ambientais.

Estudos específicos relacionados ao dimorfismo sexual de *A. fuliginosa* são escassos, principalmente quando comparada com as demais espécies do gênero. Porém, há

trabalhos de outras espécies da família, como a *A. nigracauda* e *Leposternon microcephalum*, em que o dismorfismo é presente (Filogonio et al., 2009; Souza e Lima et al., 2014), podendo sugerir padrões semelhantes em *A. fuliginosa*, ainda que mais estudos específicos sejam necessários para confirmar essa tendência.

A relação entre *Amphisbaena fuliginosa* e algumas espécies de Amphisbaenidae, como a *A. alba, A. munoai e Leposternon microcefalum,* pode ser feita considerando a vasta diversidade do grupo e, principalmente pelas semelhanças em diversos parâmetros comparativos, como na morfologia, ecologia e aspectos reprodutivos. Essas espécies citadas se assemelham com a *A. fuliginosa* em hábitos alimentares generalistas, ciclos reprodutivos influenciados pela sazonalidade, caracterizados por oviposição durante períodos de maior disponibilidade de recursos (Santos, 2013; Balestrin e Capellari, 2011), e ainda no caso da *L. microcefalum,* há comparação quanto ao dimorfismo sexual e adaptações reprodutivas (Filogonio et al., 2009; Santos, 2009). Além de, ser os estudos disponíveis sobre ciclo reprodutivo de Amphisbaenidae para utilizar de comparação para esse estudo.

A partir do exposto, nota-se uma lacuna de conhecimento no que tange à biologia reprodutiva das espécies da família Amphisbaenidae, dentre elas, Amphisbaena fuliginosa. Portanto, a partir deste estudo, objetiva-se uma avaliação dos aspectos reprodutivos de Amphisabena fuliginosa e uma comparação com outras espécies de anfisbênios. Diferenças são esperadas principalmente devido a características morfológicas como o tamanho e, com base em estudos anteriores, como os de Santos (2009) para Leposternon microcephalum e de Balestrin e Cappellari (2011) para Amphisbaena munoai e A. kingi, sugere-se que a maturidade sexual em Amphisbaena fuliginosa seja atingida em machos com cerca de 240 mm de comprimento rostro-cloacal e em fêmeas a partir de 250 mm, com folículos maduros entre 4 e 6 mm. Essa hipótese considera que espécies menores, como A. munoai e A. kingi, atingem a maturidade em tamanhos menores, enquanto A. fuliginosa, sendo de maior porte, deve apresentar padrões reprodutivos mais próximos aos de L. microcephalum. Além disso, espera-se encontrar dimorfismo sexual quanto ao comprimento rostro-cloacal, comprimento caudal e na presença ou ausência de poros pré-cloacais, entre machos e fêmeas maduros. Sendo assim, a realização de um estudo comparativo da biologia reprodutiva dessa espécie poderá complementar estudos já realizados, além de trazer novos elementos ao tema.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar aspectos da biologia reprodutiva de Amphisbaena fuliginosa.

2.2 Objetivos Específicos

- 1. Analisar e descrever o ciclo reprodutivo de *Amphisbaena fuliginosa* com base no grau de maturação gonadal em machos e fêmeas;
- 2. Relacionar os ciclos reprodutivos com aspectos sazonais;
- 3. Avaliar a presença de dimorfismo sexual na espécie.

3 METODOLOGIA

Para a análise dos aspectos reprodutivos de *Amphisbaena fuliginosa* foram utilizados espécimes do acervo da Coleção Herpetológica do Centro de Estudo de Pesquisas Biológicas (CEPB) da PUC Goiás (**Apêndice 1**). Foram analisados 92 espécimes provenientes de quatro localidades do Brasil Central, Luziânia (N = 59; 37 machos e 22 fêmeas), São Domingos (N = 11; 2 machos e 9 fêmas), Goiandira (N = 19; 11 machos e 8 fêmeas) e Minaçu (N = 3; 1 macho e 2 fêmeas) (**Figura 3**). Todos os espécimes analisados tiveram seu comprimento rostro-cloacal (CRC) e comprimento caudal (CC) com um paquímetro digital (resolução 0,1 mm), com execeção do CRC, que foi medido com uma fita métrica. O comprimento da cabeça (CCa) foi medido da ponta rostronasal até a margem posterior do escudo parietal. A largura (LCa) e altura anterior da cabeça (ACa) foram medidas ao nível da narina. A largura posterior da cabeça (LPCa) foi medido ao nível do segundo supralabial e a altura posterior da cabeça (APCa) foi medida ao nível do linha pós-malar (Santos, 2013).

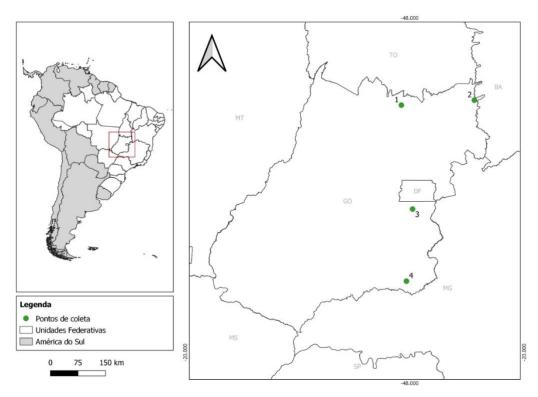


Figura 3 – Locais de procedência das amostras utilizadas no estudo. 1 = Minaçu; 2 = São Domingos; 3 = Luziânia; 4 = Goiandira.

Para determinar o sexo de cada espécime, foi feita uma pequena na porção ventral anterior a cloaca, para avaliar a presença de oviduto ou testículos (**Figura 4 e 5**). Posteriormente, realizou-se a análise da maturação dos machos e das fêmeas. Classificou-se as fêmeas com ovidutos lisos e transparentes como imaturas, enquanto aquelas com ovidutos opacos ou translúcidos e com a região anterior pregueada foram classificadas como maduras, assim como a presença de ovos ou folículos em vitelogênese secundária. Os machos foram considerados imaturos quando os ductos deferentes apresentavam-se lisos e transparentes, e maduros quando se apresentarem opacos e enovelados (Balestrin e Capellari, 2011). O material foi examinado sob estereomicroscópio ZEISS SV6 e fotografado com um smartphone (Apple, iPhone 8 Plus), de câmera de 12 MP.

Nas fêmeas, registrou-se o comprimento do maior folículo ovariano ou ovo observado, medido com um parquímetro digital (resolução de 0,1 mm) e o estágio de deposição de vitelo (primário ou secundário), para uma correlação com os meses de captura (Balestrin e Capellari, 2011). Na análise da vitelogênese, o aspecto do folículo foi determinado como formato esférico e coloração branco leitosa indicando estágio primário, enquanto folículos elipsóides e amarelados corresponde à vitelogênese secundária (Almeida-Santos e Orsi, 2002). Além disso, caso houvesse a presença de ovos, estes foram medidos em comprimento e largura para o cálculo do volume atrás da fórmula do volume de um elipsóide: $V = 4/3 \pi$ ab2, onde "a" é ½ do comprimento do maior eixo e "b" é ½ da maior largura.



Figura 4 - Fêmea de *Amphisbaena fuliginosa* (CEPB 2374) dissecada (f = folículos ovarianos; i = intestino; R = rim; ovd = oviduto). Fonte: a autora



Figura 5 - Macho de *Amphisbaena fuliginosa* (CEPB 656) dissecado (T = testículo; dd = ducto deferente; R = rim; i = intestino). Fonte: a autora

Já as medições realizadas nos machos incluíram o comprimento e largura dos testículos, a fim de calcular seu volume (Santos, 2013). O volume médio dos testículos foi calculado usando a fórmula do volume do elipsoide. Foi realizado a remoção do efeito do CRC sobre o volume dos testículos, a fim de avaliar a variação ao longo do ano no volume dos mesmo. Para isso, calculamos os resíduos da regressão entre CRC e o volume dos testículos e realizamos uma análise da distribuição mensal do volume ajustado dos testículos adultos (Balestrin e Capellari, 2011).

Para a verificação de dimorfismo sexual, foi realizada a comparação das medidas entre os machos e fêmeas da espécie (CRC, CC, Cca, Lca, Aca). Inicialmente, todas as amostras foram testadas juntas em relação à normalidade, utilizando Shapiro-Wilk, e em homocedasticidade, utilizando o teste de Levene. No teste de normalidade foi verificado que as variáveis não eram normais e, portanto, estas foram transformadas utilizando logaritimo na base 10 (log 10 x) e, posteriormente, Box-Cox. Porém, em ambas as transformações, os dados permaneceram seguindo uma distribuição não normal. No teste de Levene, obteve-se como resultado variâncias não homogêneas. Nesse caso, não é possível realizar a análise atráves do teste de t-Student (comparação de cada variável separadamente) ou ANOVA (comparação de todas as varáveis simultaneamente).

Portanto, para seguir com a análise, foi utilizado um teste não paramétrico, o teste de Mann-Whitney, ideal para para comparar pares de dados sem pressupor normalidade. Além disso, como foram realizadas várias comparações durante a análise, para reduzir o risco de ocorrer erro do tipo I (falso positivo), foi aplicado a correção de Bonferroni e ajustando o valor de p. Todos os testes foram feitos usando o PAST Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis versão 5.0 (Hammer et al., 2001).

4 RESULTADOS

4.1 Biologia reprodutiva de Amphisbaena fuliginosa

4.1.1 Fêmeas

Foram analisadas 41 fêmeas, 22 do municípios de Luziânia, nove de São Domingos, oito de Goiandira e duas de Minaçu. Dessas, duas não foi possível realizar as medições da cabeça, pois estavam sem crânio (possivelmente, devido a análises de trabalhos anteriores); outras duas haviam realizado autotomia da cauda, portanto, não tiveram o comprimento caudal medido; e em uma não foi possível realizar a análise do aparelho reprodutivo, pois os orgãos internos apresentavam danos extensivos caracterizados por lacerações e fragmentação dos tecidos. A menor fêmea analisada apresentou comprimento CRC (Comprimento rostro-cloacal) de 263 mm, e a maior, 487 mm.

A partir da análise das medidas do maior folículo de cada fêmea, da maturação e vitelogênese (primária ou secundária), e do gráfico de distribuição da maturação folicular ao longo do ano (**Figura 11**), foi evidenciado que os folículos de vitelogênese primária possuíam o comprimento do maior folículos inferior a 5,5 mm, sugerindo que a maturação gonadal se inicia a partir desse comprimento. Quando comparado aos meses, nota-se que os folículos de vitelogêse secundária apareceram entre os meses de maio e setembro, não havendo fêmas maduras nos meses seguintes. Durante esse período, o comprimento dos folículos variou de 5,5 mm a 8,16 mm.

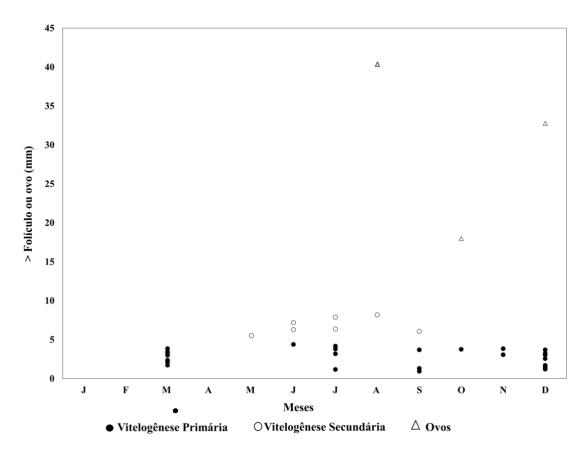


Figura 6- Gráfico de dispersão do maior folículo e ovos encontrados em cada fêmea da espécies por meses do ano.

Durante a análise, foram encontradas apenas três fêmeas com presença de ovos, que estavam destribuídos de maneira linear nos lados direito e esquerdo, ocupando um espaço da cloaca até próximo ao intestino, como observado na **Figura 12**. Dentre elas, apenas uma apresentava os ovos estourados e com um viável para medidas (**Tabela 1**).



Figura 7 - Fêmea (CEPB 676) de 465 mm com 6 ovos no seu interior (i = intestino).

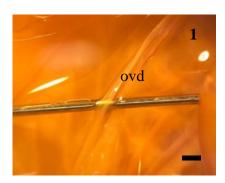
Tabela 1 - Número e volume médio de ovos encontrados em fêmeas de *Amphisbaena fuliginosa*.

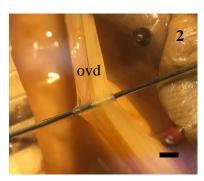
Espécime	Quantidade de ovos	Volume -médio (mm ³)
CEPB 676	6 ovos	520,26
CEPB 690	2 ovos	849,83
CEPB 696	3 ovos	266,62

Analisando o ciclo reprodutivo das fêmeas durante os meses do ano, pode-se concluir que a fêmea de *Amphisbaenia fuliginosa* possui ciclo sazonal, com reprodução e maturidade ocorrendo nos meses de seca do Cerrado (de maio a setembro). Supõe-se que a ovipostura dos ovos ocorra no periodo chuvoso, possívelmente com filhotes nascendo ainda na mesma estação.

Durante a dissecação e análise de maturidade, foi observado que haviam três aspectos de ovidutos: pregueados e opacos, lisos e opacos, e lisos e translúcidos (**Figura 13**). Esses aspectos quando comparados ao CRC, também pode ser indicativos de maturidade. As fêmeas de menor comprimento rostro-cloacal (menor com 263mm e maior com 393mm) ou jovens, tinham seus ovidutos lisos e transparentes. Já as maiores (menor com 426mm e maior com 468mm) ou adultas, com folículos maiores que 5 mm,

aparentavam ovidutos pregueados e opacos. Foram observadas fêmeas com os ovidutos lisos e opacos, com comprimento intermediarios entre jovens e adultas, e folículos variando em valores próximos a 5mm, o que pode indicar o início da maturação ou fêmeas maduras mas que ainda não haviam reproduzido.





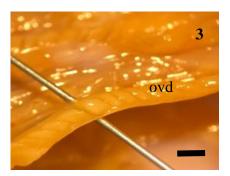


Figura 8- Ovidutos (ovd) das fêmeas evidenciando os aspectos: 1 = liso e translúcido (CEPB 685); 2 = liso e opaco (CEPB 707); 3 = pregueado e opaco (CEPB 1711). Escala = 1mm.

Houve algumas exceções em 10 fêmeas, das quais uma delas possuía comprimento de 340 mm, com o maior foliculo medindo 6,26 mm, porém estava com o oviduto liso e transparente. Outras nove fêmeas, com comprimentos entre 430 e 461 mm, estavam com o oviduto pregueado e opaco, porém o maior folículo era menor que 5 mm (variando de 2,18 a 3,74 mm).

Outra análise realizada com as fêmeas foi a maturidade com o seu CRC. A partir dessa comparação, supõe-se que a maturidade é atingida com comprimento a partir de 340 mm, e a presença de ovos foi vista apenas em fêmeas de comprimento superior a 430 mm (**Figura 14**).

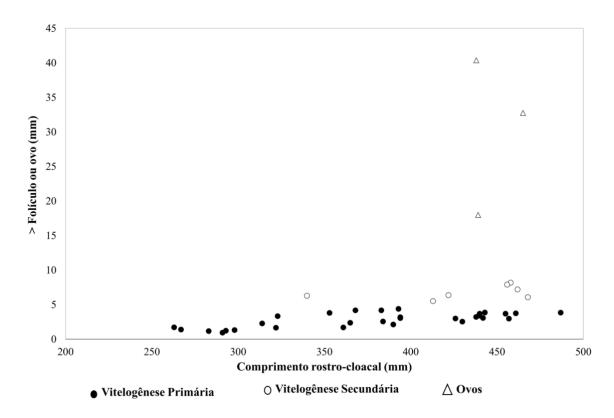


Figura 9 - Gráfico de dispersão do Comprimento rostro-cloacal (mm) e do maior folículo ou ovo (mm) das fêmeas de *Amphisbaenia fuliginosa*.

Quanto à disposição das gônadas, pôde-se observar, durante a dissecação, que os ovidutos são tubos longos, aderidos a lateral dos folículos (na região abdominal) e aos rins (próxima a cloaca). Além disso, os folículos do lado direito estavam superiores quando comparados com o lado esquerdo, portanto, em uma posição mais anterior. Outra observação que pode ser feita é que a distribuição do maior folículo entre o lado direito e esquerdo é quase igual, sendo 20 fêmeas com o maior folículo no lado direito, e 22 com o maior no lado esquerdo.

4.1.2 Machos

Foram analisados 51 machos , sendo 37 do município de Luziânia, 11 de Goiandira, dois de São domingos e um de Minaçu. Desses, dois não tiveram seu comprimento caudal medidos, pois haviam feito autotomia da cauda. O macho analisado com o menor CRC foi de 202 mm, e o de maior, 500 mm. O gráfico de dispersão do volume ajustado dos testículos (calculo de regressão entre CRC e volume dos testículos) pelos meses do ano, demostrou que durante todos os meses há um aumento dos mesmos,

porém o maior aumento (>20 mm³) ocorreu nos meses de abril, maio, junho, julho, setembro e dezembro (**Figura 15**).

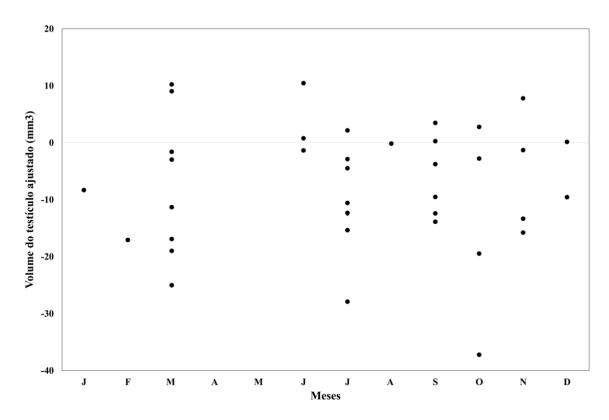


Figura 10 - Relação entre o volume do testículo e meses do ano.

Com os dados de CRC e maturidade, produziu-se um gráfico de dispersão ao longo do ano, comparando o tamanho com a maturidade. Nele, é possível observar que a maioria dos machos com tamanhos superiores a 340 mm tinham seus ductos deferentes enovelados. Porém, houve exceções: há cincos machos com tamanho superior a 340 mm, mas com seus ductos ainda não enovelados, e um macho com tamanho de 293 mm e seus ductos envelados (**Figura 16**). Ainda em relação a esse gráfico, pôde-se concluir que, diferente das fêmeas, os machos da *A. fuliginosa* não têm um ciclo reprodutivo sazonal, pois há uma distribuição de machos maduros em todos os meses do ano, com com um aumento relativo de machos já maduros, nos meses de maio, julho e setembro, equivalente aos meses de reprodução das fêmeas.

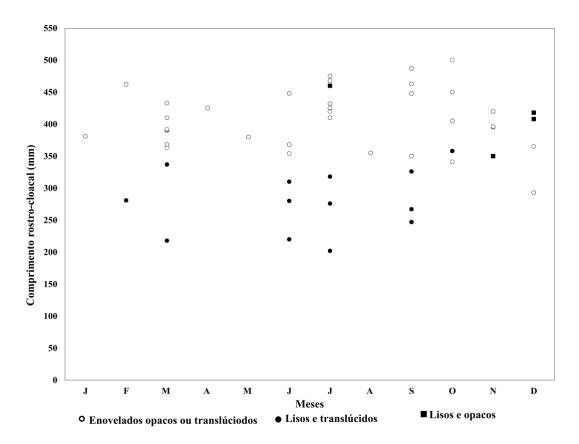


Figura 11 - Gráfico de dispersão do CRC dos machos durante o ano e com indicação de enovelamento dos ductos deferentes.

Durante a dissecação dos machos, observaram-se alguns aspectos sobre os ductos, além do enovelamento. Percebe-se que a maioria dos ductos deferentes que estão enovelados também estavam opacos, porém houve espécimes em que, apesar de apresentar-se lisos, estavam opacos e outros com o enovelamento presente e translúcidos, como também haviam ductos lisos e translúcidos (**Figura 17 e 18**). Essa opacidade dos ductos deferentes indica a presença ou ausência de esperma no canal (Santos, 2009). Portanto, aqueles lisos e opacos também podem indicar a maturidade do indíviduo (**Figura 19**).

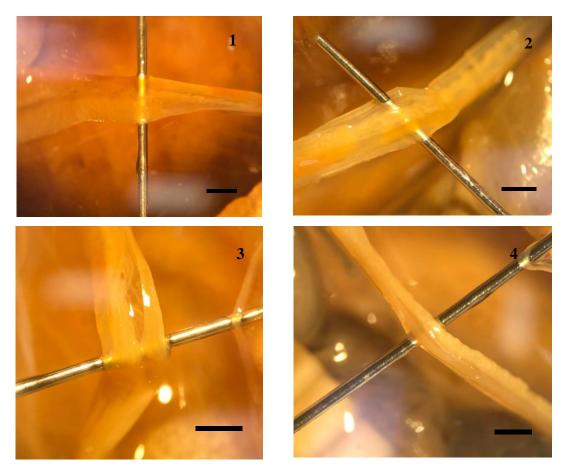


Figura 12 – Aspectos do ducto deferente nos machos analisados. 1 = liso e translúcido (CEPB 684); 2 = enovelado e translúcido (CEPB 700); 3 = liso e opaco (CEPB 691); 4 = enovelado e opaco (CEPB 712). Escala =1mm.

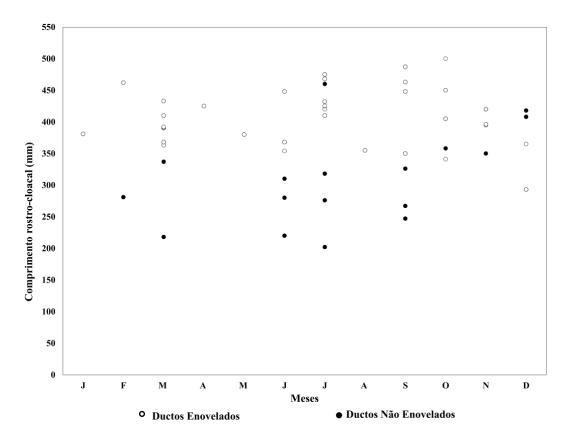


Figura 13 - Gráfico de dispersão do CRC dos machos durante o ano, com ênfase na indicação das diferenças observadas no ducto deferente.

O maior macho, com os ductos deferentes lisos e translúcidos (classificado como macho imaturo), tinha o comprimento rostro-cloacal de 358 mm. O menor, com os ductos lisos e opacos (considerados como maduros), possuía 350 mm de CRC. Já o menor macho, com os ductos enovelados possuía um comprimento de 293 mm. Conclui-se, assim, que os machos de *A. fuliginosa* atingem sua maturidade sexual entre os comprimento de 293 e 358 mm de CRC.

Quanto à disposição das gonodas, os testículos possuem um formato alongado e apresentam uma leve assimétria entre eles, sendo o direito mais anterior em comparação ao esquerdo, com ambas as gonodas entre os intestinos, portanto afastados da cloaca. Os ductos deferentes são unidos a lateral do testículo, seguiam até a região caudal e também eram unidos a lateral dos rins até a cloaca. Quanto ao volume, 29 dos espécimes possuíam o testículo esquerdo sendo maior e 24 deles com o comprimento do direito maior.

4.2 Dimorfismo sexual

Os testes estatísticos de Mann-Whitney realizados para avaliar o dimorfismo sexual em *Amphisbaena fuliginosa* não indicaram diferenças significativas entre machos e fêmeas para as variáveis analisadas, com comprimento rostro-cloacal (p = 0,227), comprimento caudal (p = 0,572), largura da cabeça anterior (p = 0,231) e posterior (p = 0,570), altura da cabeça anterior (p = 0,612) e posterior (p = 0,445) apresentando resultados de p maiores que 0,05 para os casos. Esses resultados sugerem que as características morfométricas avaliadas são similares entre os sexos, não evidenciando dimorfismo sexual na espécie.

Durante a dissecação, também foi observada a presença ou ausência de poros-précloacais em todas os indivíduos não multilados, e em todas as espécimes estavam presentes, não havendo dimorfismo quanto a essa variável. Além disso, a quantidade de poros era equivalente entre os dois sexos, em ambos eles variam entre 8, 9 e 10 poros précloacais.

5 DISCUSSÃO

Os resultados evidenciaram que o ciclo reprodutivo da fêmea dessa espécie é sazonal e ocorre no período de seca da região do Cerrado, já que os folículos encontrados com vitelogênese secundária e considerados maduros, determinado também como maiores de 5,5 mm e em fêmeas com CRC superiores a 340mm, foram encontrados nos meses de maio a setembro. Estes resultados sugerem que a ovipostura dos ovos ocorra no período chuvoso, pois os espécimes encontrados com ovos nos folículos, todas com tamanho superior a 430 mm de CRC, foram coletadas nos meses de agosto, outubro e dezembro.

Essa característica de sazonalidade, também foi observada em fêmeas de *Amphisbaena alba* por Santos (2013), espécie também com distribuição para o Cerrado. De acordo com Santos (2013) a deposição de vitelo não depende da temperatura e precipitação, porém se inicia na estação de seca ou final do inverno, para que a ovipostura seja na estação chuvosa, pois essa sim depende do volume de chuvas e temperatura. No estudo de Balestrin e Cappellari (2011), as duas espécies estudadas também tinham fêmeas com ciclo sazonal, *A. munoai* e *A. kingii* apresentavam vitelogênese de junho a outubro, e fêmeas ovígeras em novembro e dezembro. Apesar do estudo ter sido na região sul, o período reprodutivo é levemente semelhante com a *A. fuliginosa*, pois ambos ocorrem no verão e com a ovipostura também em período de chuvas. Ainda de acordo com esse estudo, a sazonalidade no ciclo reprodutivo de fêmeas é um padrão entre escamados de regiões temperadas.

De acordo com Andrade et al. (2006) algumas espécies como *A. alba* e *A. mertensii* depositam seus ovos até setembro ou outubro, diferenciando da *A. fuliginosa*, na qual ainda havia fêmeas com ovos no mês de dezembro. Também foi visto nesse estudo, que há um padrão de baixa produção reprodutiva em anfisbênios, com um número de ovos em torno de 2 a 6 por fêmea, além de ovos grandes, alongados e em disposição linear, características essas vistas durante a dissecação da espécie em estudo (máximo de 6 ovos e mínimo de 2). No estudo de Balestrin e Cappellari (2011), *A. munoai* e *A. kingii* também seguiam esse padrão, e ainda acrescentam que o tamanho da fêmea pode interferir na quantidade de ovos por ninhada. Nas duas espécies estudadas o número foi menor, de 1 a 2 ovos, podendo ser justificada pelo pequeno tamanho dos adultos,

característica que não é vista em *A. alba, Leporternon microcephalum* e em *A. fuliginosa,* que tiveram de 6 a 8 ovos por ninhada.

Tabela 2- Número mínimo e máximo de ovos relatados para espécies de Amphisbaena.

Espécies	Total de ovos	Referência
Amphisbaena alba	5 – 8	Andrade et. al., 2006;
		Santos, 2013.
Amphisbaena anaemariae	3	Martins, 2024
Amphisbaena coeca	3	Schmidt, 1920
Amphisbaena darwinii	2 - 8	Andrade, 2006
Amphisbaena dúbia	1 - 3	Santos, 2013
Amphisbaena heathi	1 – 6	Oliveira et al., 2019
Amphisbaena innocens	4	Schwartz e Henderson,
		1991
Amphisbaena kingii	1 - 4	Vega, 2001; Balestrin e
		Cappellari, 2011; Santos,
		2013.
Amphisbaena munoai	1–3	Balestrin e Cappellari,
		2011; Santos, 2013.
Amphisbaena roberti	1 – 6	Santos, 2013
Leposternon microcephalum	3 - 7	Jared et al. 1997; Santos,
		2009.
Amphisbaena mertensi	6 - 8	Santos, 2013.
Leposternon infraorbitale	2 - 6	Andrade et al. 2006;
		Santos, 2013.
Amphisbaena trachura	9	Santos, 2013
Amphisbaena vermicularis	4	Barros-Filho et al., 1996
Amphisbaena fuliginosa	2 - 6	Presente estudo

Quanto à disposição das gônadas, percebe-se um padrão entre espécies, como vistos por Navega-Gonçalves (2009) e Santos (2009), os folículos direitos são mais craniais em comparação com o esquerdo, além da disposição geral entre os folículos,

ovidutos e os rins serem os mesmo de *A. fuliginosa*. Porém, nota-se que na espécie estudada não há um padrão de tamanho entre os folículos direito e esquerdo, comumente é discutido que o lado direito é mais alongado quando comparado com o esquerdo, essa característica não é vista nesse estudo, já que há uma distribuição quase igual nesse quesito.

Em relação aos machos os resultados evidenciaram que o ciclo reprodutivo deles ocorre durante todo o ano, com um aumento significativo dos testículos durante o período reprodutivo das fêmeas. Também foi determinado a maturidade através do enovelamento do ducto deferente do espécime, e com ele o comprimento do rostro-cloacal que condiz com essa maturação, sendo a partir de 340mm.

Santos (2013), observa que os machos de *A. alba* seguiam esse mesmo padrão de ciclo assazonal, com a presença de machos reprodutivos durante todo o ano, e que portanto nessa espécie assim como na *A. fuliginosa*, não há uma dependência em chuvas e secas, como há nas fêmeas. Diferentemente do trabalho do Balestrin e Cappellari (2011), em que tanto para *A. kingii* quando para *A. munoai*, o ciclo reprodutivo se apresentou sazonal, com o volume dos testículos elevados entre junho e setembro, mesmo período da vitelogênese das fêmeas. O primeiro autor, enfatiza essa distinção entre espécies, destacando que as espécies com ciclo sazonal eram normalmente da região sul, onde há uma maior variação de clima e, portanto, sugerindo que a temperatura e a vitelogênese das fêmeas, seja algo determinante para o ciclo dos machos, porém destacando que baixas temperaturas não interrompem o ciclo.

Na maturidade, determinou-se que os machos maduros eram aqueles com ductos opacos e/ou enovelados, e atingiam essa condição com tamanhos entre 293 e 358 cm de comprimento rostro-cloacal. Os mesmos critérios de maturação foram utilizados por Santos (2009), na espécie *Leposternon microcefalum*, e ainda obteve resultados semelhantes ao apresentado (244 e 327 cm de CRC). Já no estudo de Balestrin e Cappellari (2011), foi utilizado a determinação da maturidade através apenas no enovelamento dos ductos deferentes e obtiveram o CRC de machos maduros entre 102 mm e 137 mm para *Amphisbaena munoai* e 163 mm a 220 mm para *A. kingi*, diferença de CRC possivelmente resultante por serem espécies de pequeno porte.

Outro fator observado quanto a fase reprodutiva dos machos, é que em espécies como *Leporternon microcefalum*, considerada uma espécie com machos de ciclo reprodutivos sazonal (Santos, 2009), percebe-se que após o período reprodutivo, seus ductos deferentes já não se encontram enovelados e opacos, indicando que o macho já

não está mais em fase reprodutiva, fato que não é visto em *A. fuliginosa*, pois ainda há machos com ambas as características em dezembro, período em que já se encontra fêmeas com ovos e fora do período reprodutivo, demostrando que eles permanecem em condição reprodutiva mesmo após não haver fêmeas para reprodução. Além disso, o autor supõe que o enovelamento do ducto, precede a estocagem de esperma, portanto há machos com ductos levemente enovelados, porém ainda translúcidos, característica compartilhada com a espécie em estudo.

Na disposição das gônadas, Navega–Gonçalves (2009) fez uma descrição precisa de coloração, formato e posição, demostrando que o formato varia de acordo com a espécie podendo ser alongado, oval ou reniformes. Assim como em *A. kingii, A. vermicularis*, e *L. microcephalum*, a *A. fuliginosa* também possui testículos mais longos do que largos, e com o mesmo padrão de cor (amarelo-leitosa) e distribuição interna (dorsalmente aos intestinos), como descritos neste trabalho. Ainda no mesmo estudo, o autor descreve a assimetria do órgão, concluindo que o direito está em uma posição mais cranial do que o esquerdo em todos os espécimes analisados. Essa característica também foi padrão nos estudos de Balestrin e Cappellari (2011) e Santos (2009), porém houve exceções no estudo de Souza e Lima (2014), a maioria tinha a assimetria do direito mais cranial, com apenas dois invertendo a posição (esquerdo superior) e cinco com os testículos simétricos, demostrando que essa característica não é padronizada em Amphisbaenidae, apesar de na literatura haver essa padronização para anfisbênios e serpentes (Crook e Parsons 1980, Navega-Gonçalves e Souza 2001, Navega-Gonçalves 2009).

Outra característica relacionada às gônadas é o tamanho de ambas, havendo uma grande variação entre o direito ou o esquerdo ser o maior, ou ambos serem do mesmo tamanho. Em *A. kingii* o esquerdo era maior em dois espécimes e em *A. anomala* um espécime tinha os dois com o mesmo tamanho, já no restante dos indivíduos dessas duas espécies e em *A. vermicularis* e *L. microcephalum*, o direito era maior que o esquerdo. Já em *Amphisbaena fuliginosa*, percebe-se uma distribuição quase igual em relação ao tamanho, praticamente metade dos indivíduos analisados tinham o testículo direito com maior comprimento e a outra metade o esquerdo era o maior. Essa variação pode ser explica novamente pela presença de subespécies dentro desse grupo, alterando características específicas em alguns indivíduos.

No estudo de Souza e Lima (2014) é explorado sobre o dimorfismo sexual da *Amphisbaena nigracauda*, e nele pôde-se observar diferenças no tamanho entre os sexos,

em que os machos possuíam comprimento rostro-cloacal e largura da cabeça maiores do que das fêmeas, sugerindo que essa diferença seja por conta de competição sexual e predatória. Outro dimorfismo observado, foi a ausência de poros pré-cloacais em todas as fêmeas analisadas e de quatro a cincos poros arredondados nos machos. No trabalho de Balestrin e Cappellari (2011), também foram percebidos dimorfismos sexuais em relação ao tamanho corporal, nas espécies *A. munoai e A.kingii*, as fêmeas apresentavam CRC maiores que os machos, porém a cauda dos indivíduos do sexo masculino de *A. munoai*, eram maiores, podendo estar relacionado com a necessidade de guardar o hemipênis. A falta de dimorfismo no comprimento da cauda de *A. kingii*, de acordo com o autor, pode ser justificada por um comportamento de defesa, já que a autotomia apesar de presente na *A. munoai*, não foi vista durante a captura e na outra espécie foi vista com frequência.

Durante a análise de *A. fuliginosa* não foi observado dimorfismo sexual entre os machos e fêmeas. Os comprimentos corporais (cabeça, cauda e rostro-cloacal) foram distribuídos de maneira semelhante entre os sexos, não havendo distinção. Como também há a presença de poros pré-cloacais em ambos os sexos e ainda em quantidades semelhantes (variando de 8, 9 e 10 em machos e em fêmeas). A distinção no comprimento entre os gêneros, não é algo padronizado entre anfisbênios, sendo uma característica exclusiva de algumas espécies.

6 CONCLUSÃO

- As fêmeas de A. fuliginosa apresentam um ciclo reprodutivo sazonal, ocorrendo na seca e com ovipostura durante as chuvas, sugerindo uma maior dependência da precipitação e temperatura para o acasalamento;
- A maturidade foi determinada quando os folículos estavam com comprimento superior a 5,5 mm e em fêmeas com comprimento rostro-cloacal maiores que 340 mm;
- Há um padrão de baixa fecundidade em espécies de Amphisbaena, e quando menor o tamanho menor o número de ovos. Na espécie estudada, foram observados a presença de 2 a 6 ovos;
- Quanto aos machos, observou-se que o ciclo é assazonal, com espécimes ativos sexualmente o ano todo, porém com um aumento nos meses em que havia fêmeas em atividade reprodutiva;
- A maturidade dos machos foi determinada através do enovelamento dos ductos deferentes e em machos com comprimento rostro-clocal entre 293 e 358 mm.
- Percebeu-se quando aos ductos deferentes, que o enovelamento precede a estocagem de espermas, e apresentando ducto enovelado, porém transparente, e, portanto, não indicando imaturidade;
- Na disposição das gônadas, tanto em machos quando em fêmeas, percebeu-se uma assimetria, e uma posição mais cranial do órgão genitor direito em relação ao esquerdo;
- Quando ao tamanho, houve uma distribuição quase igual em ambos os sexos, portanto tanto o testículo/folículo direito quando o esquerdo pode ser maior em A. fuliginosa;
- Não foi identificado a presença de dimorfismo sexual na Amphisbaena fuliginosa
 em nenhuma das características analisadas, demostrando que externamente os
 machos e fêmeas tem características muito semelhantes e sem distinção;
- Na presença ou ausência dos poros pré-cloacais, observou a presença deles em ambos os sexos, e com a mesma quantidade, porém havendo variação de 8, 9 e 10 poros.
- Durante a análise, percebeu-se diferenças individuais como coloração, tamanho das gônadas e quantidade de poros;

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA-SANTOS, S. M.; ORSI, A. M. Ciclo reprodutivo de *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae): morfologia e função de oviduto. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 26, p. 109-112, 2002.
- 2. **ANDRADE, D. V.; NASCIMENTO, L. B.; ABE, A. S.** Habits hidden underground: a review on the reproduction of the Amphisbaenia with notes on four neotropical species. *Amphibia-Reptilia*, v. 27, p. 207-217, 2006.
- 3. **BALESTRIN, R. L.; CAPPELLARI, L. H.** Reproduction and feeding ecology of *Amphisbaena munoai* and *Anops kingii* (Amphisbaenia, Amphisbaenidae) in the Escudo Sul-Rio-Grandense, southern Brazil. *Iheringia, Série Zoologia*, v. 101, n. 1-2, p. 93-102, 2011.
- 4. **BARROS-FILHO, J. D.; VALVERDE, M. C. C.** Notas sobre os Amphisbaenia (Reptilia, Squamata) da microrregião de Feira de Santana, estado da Bahia, Brasil. *Sitientibus*, v. 14, p. 57-68, 1996.
- 5. **CAMERON, H. D.; GANS, C.** The *Amphisbaena* of antiquity: thoughts about the origin of the name. *British Journal of Herpetology*, v. 5, p. 603-606, 1977.
- 6. COLLI, G. R.; ZAMBONI, D. S. Ecologia de répteis do Cerrado. In: MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; OLIVEIRA, P. G. P.; LIMA, E. S. (Orgs.). *Biodiversidade do Cerrado: técnicas de avaliação e conservação*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 1999. p. 221-249.
- 7. **CROOK, M. J.; PARSONS, T.** Visceral Anatomy of the Amphisbaenia. *Journal of Morphology*, v. 163, p. 99-133, 1980.
- 8. FILOGÔNIO, R.; GALDINO, C. A. B.; CABRAL, D. P. R.; RIGHI, A. F.; LOPES, M. F.; NASCIMENTO, L. B. Dimorfismo sexual em *Leposternon microcephalum* e *L. wuchereri* (Squamata: Amphisbaenidae) de Minas Gerais, Sudeste do Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, v. 99, p. 285-289, 2009.
- 9. **GANS**, **C**. Amphisbaenians—reptiles specialized for a burrowing existence. Endeavour, v. 28, p. 146-151, 1969.

- 10. **GANS, C.** Studies on amphisbaenians (Amphisbaenia, Reptilia). 4. A review of the amphisbaenid genus *Leposternon*. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 144, p. 379-464, 1971.
- 11. **GANS, C.** The characteristics and affinities of the Amphisbaenia. *Transactions of the Zoological Society of London*, v. 34, p. 347-416, 1978.
- 12. **HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D.** PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, v. 4, n. 1, p. 9-18, 2001. Disponível em: https://folk.uio.no/ohammer/past/. Acesso em: 25 nov. 2024.
- JARED, C.; ANTONIAZZI, M. M.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Leposternon infraorbitale (Two-headed Snake). Reproduction. Herpetological Review, v. 28, p. 44-45, 1997.
- 14. **LEMOS, F. G.** Registro de *Amphisbaena fuliginosa* no sul de Goiás: expansão da distribuição no Cerrado. *Biota Neotropica*, v. 7, n. 1, 2007.
- 15. **MARTINS, A.** A note on the reproduction of *Amphisbaena anaemariae* Vanzolini, 1997 (Squamata: Amphisbaenidae). *Herpetologia Brasileira*, v. 13, n. 1, 2024. DOI: https://doi.org/10.5281/zenodo.13308208. Acesso em: 22 nov. 2024.
- NAVEGA-GONÇALVES, M. E. Anatomia visceral comparada de seis espécies de Amphisbaenidae (Squamata: Amphisbaenia). *Zoologia*, v. 26, p. 511-526, 2009.
- 17. NAVEGA-GONÇALVES, M. E. C.; BENITES, J. P. A. Amphisbaenia: adaptações para o modo de vida fossorial. *Revista Brasileira de Zoociências*, v. 20, n. 2, p. 1-30, 2019. DOI: https://doi.org/10.34019/2596-3325.2019.v20.26103. Acesso em: 25 nov. 2024.
- 18. NAVEGA-GONÇALVES, M. E. C.; SOUZA, A. M. Anatomia visceral de *Amphisbaena mertensi* Strauch, 1881 (Reptilia, Amphisbaenia, Amphisbaenidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 41, n. 26, p. 489-518, 2001.

- 19. **OLIVEIRA**, **T. T.** Novas observações sobre a distribuição e ecologia de *Amphisbaena fuliginosa* no Brasil e países vizinhos. *Zoologia (Curitiba)*, v. 33, n. 2, p. 155-167, 2016.
- 20. **SANTOS, L. C.** Biologia reprodutiva comparada de Amphisbaenidae (Squamata, Amphisbaenia) do Brasil. 2013. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 21. SANTOS, L. C. Biologia reprodutiva de *Leposternon microcephalum* (Squamata, Amphisbaenidae) do sudeste do Brasil. 134 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- 22. **SCHMIDT, K. P.** Descriptions of new genera and species of amphisbaenians. *American Museum Novitates*, n. 37, p. 1-11, 1920. Disponível em: https://digitallibrary.amnh.org/. Acesso em: 24 nov. 2024.
- 23. SCHWARTZ, A.; HENDERSON, R. W. Amphibians and reptiles of the West Indies: descriptions, distributions, and natural history. Gainesville: University of Florida Press, 1991.
- 24. **SILVEIRA**, **L. G.** Distribuição geográfica de *Amphisbaena fuliginosa* no Cerrado e suas adaptações a habitats perturbados. Relatório técnico, 2007.
- 25. SOUZA E LIMA, F. A. N.; et al. Sexual dimorphism in Amphisbaena nigricauda (Reptilia, Squamata, Amphisbaenidae) from Southeastern Brazil. Iheringia, Série Zoologia, v. 104, p. 299-307, 2014.
- 26. **UETZ, P.; FREED, P.; HOSEK, J.** The Reptile Database. 2024. Disponível em: https://reptile-database.reptarium.cz. Acesso em: 24 nov. 2024.
- 27. VAZ-FERREIRA, R.; ZOLESSI, L. C.; ACHAVAL, F. Oviposición e desarollo de ofídios y lacertilios en hormigueros de *Acromyrmex*. *Trabajos del V Congreso Latinoamericano de Zoología*, Montevideo, v. 1, p. 232-244, 1973.
- 28. **VEGA, L. E.** Reproductive and feeding ecology of the amphisbaenian *Anops kingii* in east-central Argentina. *Amphibia-Reptilia*, v. 22, p. 447-454, 2001.
- 29. VITT, L. J.; CALDWELL, J. P. Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles. Oxford: Academic Press, 2014.

- 30. **VANZOLINI, P. E.** An aid to the identification of the South American species of *Amphisbaena* (Squamata, Amphisbaenidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 42, p. 351-362, 2002.
- 31. **VANZOLINI, P. E.** *Evolution, adaptations and distribution of the amphisbaenid lizards (Sauria: Amphisbaenidae).* Thesis (Doctor of Philosophy in Biology) Harvard University, Cambridge, EUA, 1951.

Apêndice 1. Material analisado.

Amphisbaena fuliginosa: Luziânia, Goiás: CEPB 651, 662, 663, 665, 667, 671, 673, 674, 676, 682, 685, 688, 690, 692, 694, 696, 697, 703, 704, 707,709, 710,653, 655 – 659, 661, 664, 666, 668 – 670, 672, 675, 677 – 679, 683, 684, 686, 687, 689, 691, 693, 695, 698 – 700, 702, 705, 708, 711 – 715; Goiandira, Goiás: 1698 – 1716; Minaçu, Goiás: 2388, 2402, 2412; São Domingos, Goiás: 2387 – 2397.