



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO PAULO**

**CAMPUS AVARÉ**

**CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**LETÍCIA SOARES MARQUES DE OLIVEIRA**

**TAXA DE RETENÇÃO DE OVOS EM AMPHISBAENIDAE (SQUAMATA, AMPHISBAENIA) DO BRASIL**

**AVARÉ-SP  
2019**

**LETÍCIA SOARES MARQUES DE OLIVEIRA**

**TAXA DE RETENÇÃO DE OVOS EM AMPHISBAENIDAE (SQUAMATA,  
AMPHISBAENIA) DO BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - *Campus Avaré*, como requisito parcial à obtenção do título de licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Livia Cristina dos Santos

**AVARÉ-SP  
2019**

Catálogo na fonte  
Instituto Federal de São Paulo – Campus Avaré  
Biblioteca Campus Avaré  
Bibliotecária: Anna Karolina Gomes Dias - CRB-8/9563

Oliveira, Letícia Soares Marques de  
Taxa de retenção de ovos em Amphisbaenidae (Squamata, Amphisbaenia) do Brasil / Letícia Soares Marques de Oliveira. – Avaré, 2019.  
38 p.

Orientadora: Livia Cristina dos Santos

Monografia (Graduação – Licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – Campus Avaré, Avaré, 2019.

1. Desenvolvimento embrionário. 2. Retenção de ovos. 3. Squamata. 4. Amphisbaenidae. I. Santos, Livia Cristina dos Santos. III.. Taxa de retenção de ovos em Amphisbaenidae (Squamata, Amphisbaenia) do Brasil.

## ANEXO IV



**INSTITUTO FEDERAL**  
São Paulo  
Campus Avaré

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo  
Campus Avaré

### FOLHA DE AVALIAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

#### IDENTIFICAÇÃO DO(A) ALUNO(A)

**Nome:** Letícia Soares Marques de Oliveira

**Título:** Taxa de retenção de ovos em Amphisbaenidae (Squamata, Amphisbaenia) do Brasil

**Curso:** Licenciatura em Ciências Biológicas

#### BANCA EXAMINADORA

**Nome:** Eduardo Antonio Bolla Junior

**Instituição/Departamento:**

Instituto Federal de São Paulo - câmpus Avaré

**Nota:** 9,8

**Julgamento:**  Aprovado ( ) Reprovado

**Assinatura:**

**Nome:** Ronald Ribeiro Alves

**Instituição/Departamento:**

Instituto Federal de São Paulo - câmpus Avaré

**Nota:** 9,84

**Julgamento:**  Aprovado ( ) Reprovado

**Assinatura:**

**Nome:** Lívia Cristina dos Santos

**Instituição/Departamento:**

Instituto Federal de São Paulo - câmpus Avaré

**Nota:** 9,36

**Julgamento:**  Aprovado ( ) Reprovado

**Assinatura:**

#### RESULTADO FINAL

Como parte das exigências para conclusão do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, o candidato(a)/aluno(a), em sessão pública, foi considerado aprovada pela Comissão Examinadora, com média final 9,67.

Avaré, 07 de dezembro de 2019.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, à força maior que me conduz nesta vida e me concede paz de espírito e calma na alma para seguir os dias e alcançar meus objetivos.

Um agradecimento à minha família, em especial à minha mãe Amarílis Soares, pelo suporte, apoio e cuidado.

À minha companheira da vida, pelo amor, companheirismo, compreensão e ensinamentos.

À minha querida orientadora, Prof<sup>ª</sup> Dra. Lívia Cristina dos Santos - meu exemplo de determinação e coragem – pela melhor orientação de todas, por me mostrar que nem o céu é o limite para quem se dedica e se esforça, pela paciência, amizade e contagiante entusiasmo com as anfibienas.

Aos embriões de anfibienas, que contribuíram para o desenvolvimento de mais um estudo sobre a biologia deste grupo pouco conhecido, mas tão interessante.

À todos os professores que me deram aula e contribuíram para a minha formação, proporcionando experiências valiosas e enriquecedoras ao longo do curso - nada seria possível sem vocês!

Ao PIBIFSP, pela concessão da bolsa, que permitiu o desenvolvimento da iniciação científica.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma maneira, contribuíram para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

“Dedico ao silêncio que existe dentro de nós e que nos permite escutar o barulho – d’ório, do vento, na mata dos bichos - lá fora.”

*Autor desconhecido*

## RESUMO

Os Squamata constituem o segundo mais diverso grupo de vertebrados terrestres existentes, com mais de 10.000 espécies presentes em todos os continentes. Incluem as subordens Serpentes, Amphisbaenia e os grupos tradicionalmente conhecidos como “lagartos”, apresentando hábitos de vida que variam de fossoriais até arborícolas. Os Amphisbaenia, porém, carecem de estudos acerca de sua biologia, pois seu hábito fossorial dificulta a coleta de dados. As informações existentes sobre anfisbenas na literatura são escassas e, em sua maioria, estão relacionadas à identificação de novas espécies e informações pontuais referentes à reprodução do grupo. Com relação à biologia reprodutiva, observa-se em Squamata ovíparos a retenção dos ovos no útero por um determinado período após a fertilização e a posterior deposição dos embriões parcialmente desenvolvidos. Oposto aos outros Squamata nota-se que não existem dados referentes à classificação de desenvolvimento embrionário de anfisbenas e o período de retenção dos ovos que o grupo apresenta. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estimar a taxa de retenção de ovos para espécies de anfisbenas do Brasil, o que foi feito a partir de análises de embriões coletados em fêmeas de coleções zoológicas, considerando as estruturas já desenvolvidas nesses embriões e tendo como base tabelas de desenvolvimento embrionário disponíveis na literatura. Foram analisados 20 ovos de cinco espécies de anfisbenas ocorrentes no Brasil (*Amphisbaena alba*, *Amphisbaena dubia*, *Amphisbaena kingii*, *Amphisbaena munoai* e *Leposternon infraorbitale*). Dez embriões foram encontrados, das espécies *A. munoai*, *A. kingii* e *L. infraorbitale*, e apresentaram-se em estágios variados do desenvolvimento embrionário. Para estimar o grau de retenção de ovos, foram consideradas estruturas como o primeiro esboço da cavidade nervosa, vesículas encefálicas subdivididas e crânio cartilaginoso e rostrum desenvolvidos. Para *L. infraorbitale*, foram observados embriões nos estágios 30 e 32 do desenvolvimento, em *A. munoai*, os estágios de 2 a 27, e em *A. kingii*, um embrião no estágio 11. Desta forma, concluiu-se que as fêmeas de Amphisbaenidae, para as espécies analisadas, apresentam retenção prolongada, condizendo com o que foi observado na literatura para outros Squamata. Além disso, considerando as datas de coleta das fêmeas, pode-se estimar que o período de cópula para *Leposternon infraorbitale* precede o mês de outubro, o que condiz com a estação chuvosa.

**PALAVRAS-CHAVE:** desenvolvimento embrionário; retenção de ovos; Squamata; Amphisbaenidae.

## ABSTRACT

The Squamata are the second most diverse group among the extant terrestrial vertebrates, with over 10,000 species occurring in all continents. Squamata includes the suborders Snakes and Amphisbaenia, as well as the groups traditionally known as 'lizards', and their habitats vary from fossorial to arboreal. However, there is lack of studies on the biology of Amphisbaenia, as their fossorial habitat makes data collection difficult. Existing information on amphisbaenians are scarce, and mostly related to the identification of new species and specific information related to group reproduction. With respect to reproductive biology, oviparous Squamata are known for the retention of eggs in the uterus for a period of time between fertilization and the oviposition of partly developed embryos. Different from other Squamata, there is no data on the egg retention period nor embryonic development classification of amphisbaenians. Therefore, the objective of the study was to estimate the egg retention rates for amphisbaenians of Brazil. For that, we analyzed embryos collected from females deposited on museum zoological collections, registering the embryonic structures already developed and comparing those data to embryonic development tables previously published for other squamates. We analyzed twenty eggs of five different species of amphisbaenians from Brazil (*Amphisbaena alba*, *Amphisbaena dubia*, *Amphisbaena kingi*, *Amphisbaena munoai* e *Leposternon infraorbitale*). Ten embryos were found, from *A. munoai*, *A. kingi* and *L. infraorbitale*. Those embryos were representative of various embryonic development stages. To estimate the degree of egg retention, we considered structures developed in the embryos, such as the first sketch of the nerve cavity, subdivided brain vesicles, and developed cartilaginous skull and rostrum. Embryos of *L. infraorbitale* on stages 30 and 32, embryos of *A. munoai* ranging from stage 2 to 27, and one embryo of *A. kingi* on stage 11 were observed. Thus, it was concluded that females of Amphisbaenidae of the analyzed species, present prolonged retention, which is consistent with what is reported in the literature for other Squamata species. Moreover, considering the dates of collection of females, it can be estimated that the mating period for *Leposternon infraorbitale* occurs before October, at the rainy season.

**KEY-WORDS:** embryonic development; egg retention; Squamata; Amphisbaenidae.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Embrião de *Leposternon infraorbitale* em estágio 30 do desenvolvimento.....17

**Figura 2.** Embriões de *Amphisbaena munoai* em diferentes estágios de desenvolvimento. (A) Massa embrionária (ME) (MCP 15805) em estágio 2. (B) Disco embrionário (MCP 12070) em estágio 3 do desenvolvimento, marcado pela fácil distinção entre as três categorias distintas de blastômeros. (C) Embrião em estágio 25 do desenvolvimento (MCP 15785). (D) Embrião em estágio 27 (MCP 15799), apresentando a vesícula cardíaca (VC) em desenvolvimento, por volta de 15 somitos e início da subdivisão das vesículas encefálicas (VE). ME: Massa embrionária; VC: Vesícula cardíaca; VE: Vesículas encefálicas; SV: Somitos vertebrais.....25

**Figura 3.** Embriões de *Leposternon infraorbitale* em diferentes estágios de desenvolvimento. (A) Embrião em estágio 30 (UFMT 3279). (B) Embrião em estágio 30 do desenvolvimento (UFMT 302), marcado pela fácil distinção das vesículas encefálicas (VE), fendas branquiais (FB), vesículas ópticas desenvolvidas e em processo de pigmentação (VO) e espiral da cauda com duas voltas e meia (EC). (C) Embrião em estágio 30 do desenvolvimento (UFMT 301). (D) Embrião em estágio 30 do desenvolvimento embrionário (UFMT 3313 (1)). Embrião em estágio 32 do desenvolvimento (UFMT 3313 (2)), apresentando vesícula óptica completamente desenvolvida e pigmentada, vesícula cardíaca (VC), somitos vertebrais (SV) desenvolvidos, crânio cartilaginoso formado e rostró proeminente. VE: Vesícula Encefálica; FB: Fendas Branquiais; VO: Vesícula Óptica; EC: Espiral da Cauda; VC: Vesícula Cardíaca.....27

**Figura 4.** Amostra de *Amphisbaena kingii* (MCP 15779) apresentando massa embrionária em estágio 11 do desenvolvimento, marcado pelo desenvolvimento de um blastóporo em formato de U invertido, representando a extremidade anterior do campo cefálico, além da presença do primeiro esboço da cavidade nervosa, caracterizado por um sulco mediano.....28

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Número de tombo dos espécimes a partir dos quais foram coletados os ovos utilizados neste estudo, respectivas espécies e data de coleta de cada fêmea.....20

**Tabela 2.** Identificação das amostras, medidas de comprimento (mm) e diâmetro (mm) do ovo e presença ou ausência de embrião desenvolvido.....23

**Tabela 3.** Número de registro em coleção, espécie dos embriões, diâmetro (mm), comprimento (mm) do embrião, estágio de desenvolvimento estimado e breve caracterização do estágio de desenvolvimento.....30

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1 Objetivo Geral .....</b>	<b>18</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos .....</b>	<b>18</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>19</b>
<b>3.1 Coleta dos dados .....</b>	<b>19</b>
<b>3.2 Registro fotográfico e dissecação das amostras .....</b>	<b>21</b>
<b>3.3 Análise das amostras .....</b>	<b>21</b>
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>22</b>
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>33</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>34</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Lepidosauria é considerado o maior grupo de répteis vivos e está distribuído por todos os continentes, exceto a Antártica (GAUTHIER et al., 1988). Este clado é formado pelos Rhynchocephalia e pelos Squamata (GAUTHIER et al., 1988). O primeiro possui apenas uma espécie viva (*Sphenodon punctatus*) habitando 32 pequenas ilhas ao redor da Nova Zelândia (FLORES; STUBBS; BENTON, 2017) e considerado, filogeneticamente, o grupo mais basal dentro dos lepidossauros. Os Squamata constituem o segundo mais diverso grupo de vertebrados terrestres (PYRON, 2013) com mais de 10.000 espécies (UETZ; FREED; HOŠEK, 2019) presentes em todos os continentes e incluem as subordens Serpentes, Amphisbaenia e os grupos tradicionalmente conhecidos como “lagartos”, apresentando inúmeros hábitos de vida que variam de fossoriais até arborícolas (PYRON, 2013). Os Squamata ainda compartilham características únicas e exclusivas (sinapomorfias), como a presença de um órgão copulatório par e eversível (hemipênis) (GAUTHIER et al., 1988). Outros caracteres compartilhados são as escamas e a bifurcação presente na ponta da língua (RIEPEL, 1988).

O Brasil apresenta uma grande diversidade de répteis Squamata, atualmente 753 espécies são encontradas no país (COSTA; BÉRNILS, 2018), distribuídas em 405 espécies de Serpentes, 276 espécies de “lagartos” e 72 espécies de anfisbenas (COSTA; BÉRNILS, 2018).

Este último grupo foi identificado há mais de dois séculos na América do Sul por Linnaeus (GANS, 2005). Ele observou que alguns possuíam hábitos fossoriais e olhos rudimentares, e ocorriam em habitats continentais e insulares, variando na preferência desde florestas úmidas a desertos (GANS, 2005).

Estes indivíduos caracterizam-se pelo corpo alongado, cilíndrico, com placas retangulares embutidas em anéis, cauda curta e contínua, olhos pequenos situados abaixo da pele, ausência de pálpebra, boca pequena, mandíbulas pouco extensas, ausência de membros, presença de hemipênis, crânio compacto e acinético - modificação relacionada ao hábito subterrâneo (fossorial) -, órbitas oculares incompletas, osso timpânico conectado ao crânio, osso parietal simples e ossos temporal e mastóide pouco separados (EVANS; YABUMOTO, 1988; GANS, 2005). Todos apresentam hábitos fossoriais, variando na profundidade do solo que habitam, além disso, a maioria apresenta uma condição ápode, com exceção do gênero *Bipes*,

ocorrente na América Central, que apresenta um par de membros anteriores bem desenvolvidos (VANZOLINI, 1997).

Assim como as serpentes, a subordem Amphisbaenia forma um grupo monofilético de Squamata (KEARNEY, 2003; MACEY et al., 2004) e possui 196 espécies reconhecidas e distribuídas em 19 gêneros pelo mundo, com ocorrência Neotropical, Etiópica, Neártica e Paleártica (UETZ; HOŠEK, 2019). É composta por seis famílias (UETZ; FREED; HOŠEK, 2019): Bipedidae (únicos com membros anteriores desenvolvidos), Amphisbaenidae, Rhineuridae, Trogonophidae, Blanidae e Cadeidae (KEARNEY, 2003; GANS, 2005; VIDAL et al., 2008).

Apesar de seis famílias pertencerem à subordem Amphisbaenia, apenas uma, Amphisbaenidae, ocorre no Brasil (GANS, 2005), representada pelos seguintes gêneros: *Amphisbaena*, *Mesobaena* e *Leposternon* (COSTA; BÉRNILS, 2018; UETZ; HOŠEK, 2019).

A questão dos gêneros que ocorrem no Brasil vem sendo objeto de discordância desde a revisão taxonômica baseada em estudos moleculares de Mott e Vieites (2009), que agrupou as espécies brasileiras em apenas um gênero, *Amphisbaena*. Entretanto, naquele mesmo ano, uma espécie do gênero *Mesobaena*, que até então havia sido registrado apenas na Colômbia e Venezuela, foi descrita no estado do Pará (HOOGMOED et al., 2009) e, em 2011, o gênero *Leposternon* foi reconstituído por Ribeiro et al. (2011), já que distingue-se facilmente dos outros anfisbenídeos sul-americanos pela presença de narinas abertas na superfície ventral do focinho, escamas rostral e nasal fundidas em um único escudo; região gular com escama segmentada e osso pré-frontal na região rostral, gerando um processo nasal longo e em forma de T (GANS, 1971). Estas características não permitem, portanto, que o gênero seja destituído e os indivíduos sejam incluídos no gênero *Amphisbaena* (RIBEIRO, 2011; RIBEIRO, 2019).

Os Amphisbaenia são carentes de estudos científicos, possivelmente por conta de seus hábitos fossoriais, o que impõe dificuldades para sua coleta e observação em campo. Atualmente, a maioria dos trabalhos disponíveis sobre o grupo estão relacionados à descrição de novas espécies (RIBEIRO, 2011; RIBEIRO, 2019). Estudos mais recentes contemplam a biologia reprodutiva da subordem (SANTOS, 2013). Desta forma, com relação ao estudo acerca da biologia reprodutiva de Amphisbaenia, muitos aspectos de sua história natural são desconhecidos.

Com relação à biologia reprodutiva, consideremos o termo ‘modo reprodutivo’. Este refere-se ao produto final da reprodução expelido pelas mães (BLACKBURN, 1994; BLACKBURN, 2000) e, de acordo com a proposta de Shine (1985), os animais que fazem a postura de ovos com casca e cujos filhotes completam seu desenvolvimento de forma extrauterina são considerados ovíparos; e os animais cujos filhotes nascem envoltos por uma membrana fina, da qual saem logo após o nascimento, com o desenvolvimento completo, são considerados vivíparos (BLACKBURN, 1999; BLACKBURN, 2006; SHINE, 1985).

A oviparidade está presente em todos os Testudines, Crocodylia e Sphenodontidae (POUGH et al., 2003; VITT; CALDWELL, 2009). Por outro lado, a viviparidade ocorre apenas na ordem Squamata (em parte das serpentes, lagartos e anfisbenas) e surgiu mais de 100 vezes distintas no grupo, mais vezes do que surgiu em todos os demais vertebrados somados (SHINE, 1985; BLACKBURN, 1999).

Este modo reprodutivo é observado em diferentes famílias de serpentes e lagartos (SHINE, 1985; BLACKBURN, 1999; BLACKBURN, 2006), além de uma espécie de *Amphisbaenia*, *Trogonophis wiegmanni* (BONS; SAINT-GIRONS, 1963). O restante dos anfisbenídeos mantém a oviparidade (VEGA, 2001), ou não se conhece seu modo reprodutivo.

Apesar de existirem formas vivíparas, a predominância entre os Squamata está nas formas ovíparas. Nos répteis ovíparos, a desova marca a transição entre o desenvolvimento embrionário intrauterino e o desenvolvimento no ambiente externo (ANDREWS; MATHIES, 2000). Ao contrário dos Testudines, Crocodylia e Sphenodontidae, em que os ovos são depositados quando os embriões estão nas fases de gástrula e nêurula (EWERT, 1985; FERGUSON, 1985; MOFFAT, 1985), os Squamata ovíparos retêm os ovos no útero por um determinado período após a fertilização e os depositam com os embriões parcialmente desenvolvidos (SHINE, 1985; BLACKBURN, 1995; ANDREWS; MATHIES, 2000). Isto significa que sempre haverá um período entre a fecundação e a ovipostura, durante o qual o desenvolvimento embrionário prossegue no interior do trato genital da fêmea (SHINE; THOMPSON, 2006). Esta informação é de grande importância para a compreensão da evolução dos modos reprodutivos de Squamata porque sugere que a viviparidade evoluiu como uma extensão especializada da retenção intrauterina dos ovos (SHINE, 1985; QUALLS, 1996).

Assim, a maioria dos autores considera que a evolução deste modo reprodutivo é uma característica derivada da oviparidade (LEE; SHINE, 1998), além de ser amplamente interpretada como uma estratégia adaptativa para aumentar a sobrevivência dos embriões (SHINE, 1985; TINKLE; GIBBONS, 1977). Alguns autores ainda sugerem que determinadas forças seletivas estimularam a evolução deste modo reprodutivo (SHINE, 1985; TINKLE; GIBBONS, 1977). Dentre estas forças estão os fatores climáticos, amplamente aceitos como principal fator de desenvolvimento desta característica (SHINE, 1985; SHINE et al., 2002). De acordo com essa hipótese de clima frio, baixas temperaturas favorecem a evolução da viviparidade, pois a retenção prolongada dos ovos fornece ao embrião um local mais quente e estável para o seu desenvolvimento, diferente da experiência que ele teria no ninho (SHINE, 1985; SHINE et al., 2002). A hipótese sugere, portanto, que o desenvolvimento da viviparidade em Squamata se deu como forma de adaptação a estas temperaturas, o que culminou num aumento gradativo do tempo de retenção dos ovos no útero até o momento de postura dos mesmos (SHINE, 1985). Nestes casos, a temperatura corpórea materna é maior que a temperatura dos ninhos em regiões de clima frio, o que não acontece em áreas mais quentes, nas quais a temperatura do ninho é maior que a temperatura do corpo da progenitora (BRAZ, 2013).

Algumas observações feitas em espécies reprodutivamente bimodais – que apresentam populações ovíparas e vivíparas, mas que habitam áreas geográficas distintas (ARRAYAGO et al., 1996; QUALLS et al., 1996; SHINE et al., 1997; HEULIN et al., 1999; SMITH et al., 2001) – como *Lacerta vivipara*, *Lerista bougainvilli* e *Saiphos equalis*, sugerem que essa evolução envolveu um aumento gradual na retenção dos ovos, que tornou-se tão extensa a ponto de o filhote ser expelido com o desenvolvimento completo, caracterizando, assim, viviparidade (ANDREWS; MATHIES, 2000).

Para os Amphisbaenia há poucas informações disponíveis. A ocorrência de viviparidade é conhecida até o momento apenas em *Trogonophis wiegmanni* (BONS; SAINT-GIRONS, 1963). Entre os representantes da família Amphisbaenidae, foram observadas fêmeas com embriões em avançado estágio de desenvolvimento e sem sinal de casca em *Loveridgea ionidesii* (GANS, 1962) e *Monopeltis capensis* (VISSER, 1967). Estas observações salientam a ocorrência de longos períodos de retenção do embrião pelas fêmeas destas espécies, embora não seja possível afirmar se as mesmas mantêm o embrião até o seu desenvolvimento completo (SANTOS, 2013).

Para estudos embriológicos, tabelas de desenvolvimento são ferramentas indispensáveis (HOPWOOD, 2007), pois dividem o processo de desenvolvimento em um conjunto de estágios que facilitam a identificação e alocação dos embriões (RAPPY-DANIEL et al., 2016). No estudo do desenvolvimento embrionário de répteis Squamata, é referência fundamental a tabela de Dufaure e Hubert (1961), proposta em estudo sobre o lagarto *Lacerta vivipara*. Nesta tabela, os autores classificam o desenvolvimento embrionário do estágio 0, correspondente à fecundação, ao estágio 40, que representa o nascimento. Eles utilizam eventos importantes para classificar o estágio de desenvolvimento em que o embrião se encontra, como por exemplo, a gastrulação, que ocorre entre os estágios 5 e 10; neurulação (10-15), desenvolvimento da vesícula cardíaca e subdivisão das vesículas encefálicas (23), formação das vesículas ópticas, cristalino e cúpula óptica (24-29), desenvolvimento e diferenciação das fendas branquiais (26-30), pigmentação dos olhos (30-35), aparecimento de brotos dos membros (27-40) e diferenciação completa dos dígitos (36). Oposto aos Testudines, Teídeos e *Chamaeleo chamaeleon* que põem seus ovos enquanto o embrião ainda está na fase de gástrula (BONS; BONS 1960), a ovipostura dos Squamata ocorre em torno do estágio 30, como foi observado em *L. vivipara* (DUFAURE; HUBERT, 1961), sendo a maioria das posturas de ovos das demais espécies de Squamata realizadas quando os embriões encontram-se entre os estágios 26 e 33 (ANDREWS; MATHIES, 2000).

A retenção uterina é considerada prolongada quando ultrapassa o estágio 33 e muito rara entre os estágios 33 e 40 (ANDREWS; MATHIES, 2000), ou seja, há poucas espécies ovíparas que realizam a postura dos ovos com embriões em estágios avançados de desenvolvimento, sugerindo que a transição da oviparidade para a viviparidade tenha ocorrido rapidamente ou que formas intermediárias sejam pouco adaptativas (BLACKBURN, 1995). Em contrapartida, as espécies bimodais, como lagartos das famílias Lacertidae e Scincidae, sugerem que a transição da oviparidade para a viviparidade pode ser gradual (ANDREWS; MATHIES, 2000).

Considerando os dados existentes atualmente sobre retenção de ovos em Squamata, nota-se que estão restritos apenas aos lagartos e serpentes (ANDREWS; MATHIES, 2000), sem nenhum estudo voltado para o período de retenção dos ovos em Amphisbaenia. Apenas Montero et al. (1999) apresenta um estudo dedicado a embriões de anfisbenas, analisando o desenvolvimento do crânio em *Amphisbaena darwini*.

Assim, faz-se necessário um estudo que tenha como objetivo obter mais informações acerca da biologia do desenvolvimento de Amphisbaenidae e da evolução dos modos reprodutivos no grupo.



Fonte: OLIVEIRA, L. S. M., 2019

**Figura 1.** Embrião de *Leposternon infraorbitale* em estágio 30 do desenvolvimento.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Estimar a extensão do período de retenção de ovos de cinco espécies de Amphisbaenidae ocorrentes no Brasil (*Amphisbaena alba*, *Amphisbaena dubia*, *Amphisbaena kingi*, *Amphisbaena munoai* e *Leposternon infraorbitale*), com base em análises de embriões.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Dissecar ovos de 5 espécies de Amphisbaenidae coletados previamente, para obtenção de embriões.
- Analisar as fases do desenvolvimento em que se encontram os embriões das espécies analisadas por meio da identificação das estruturas morfológicas desenvolvidas.
- Estimar a taxa de retenção de ovos de anfisbenas, comparando os embriões analisados com estudos já publicados sobre retenção e desenvolvimento embrionário em Squamata.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta dos dados

Para a obtenção dos dados no presente estudo, foram utilizadas 20 amostras de ovos anfisbenas de cinco espécies ocorrentes no Brasil – *Amphisbaena dubia* Muller 1924, *Amphisbaena munoai* Kapplenbach 1960, *Leposternon infraorbitale* Berthold 1859, *Amphisbaena kingii* Bell 1833 e *Amphisbaena alba* Linnaeus, 1758 – retirados diretamente do oviduto de fêmeas fixadas em coleções zoológicas brasileiras, em um projeto anterior. As fêmeas haviam sido fixadas em formaldeído 10%, e se mantêm preservadas em etanol 70% desde a data de coleta. O material coletado também está preservado em etanol 70%.

A tabela 1 apresenta o número de identificação dos espécimes nas suas coleções de origem, além das datas de coleta dos espécimes na natureza, segundo dados registrados nessas coleções.

**Tabela 1.** Número de tomo dos espécimes a partir dos quais foram coletados os ovos utilizados neste estudo, respectivas espécies e data de coleta de cada fêmea.

<b>ID - Coleção</b>	<b>Espécie</b>	<b>Data de coleta</b>
MCP 15799	<i>A. munoai</i>	12/12/2004
MCP 12070	<i>A. munoai</i>	15/11/2000
MCP 15785	<i>A. munoai</i>	28/11/2004
MCP 12073	<i>A. munoai</i>	02/12/2000
MCP 15805	<i>A. munoai</i>	23/11/2004
UFMT 3279	<i>L. infraorbitale</i>	02/10/2002
UFMT 3279	<i>L. infraorbitale</i>	02/10/2002
UFMT 301	<i>L. infraorbitale</i>	10/2002
UFMT 302	<i>L. infraorbitale</i>	10/2002
UFMT 3382	<i>L. infraorbitale</i>	1 a 3/10/2002
UFMT 3348	<i>L. infraorbitale</i>	3/10/2002
UFMT 3313 (1)	<i>L. infraorbitale</i>	01/10/2002
UFMT 3313 (2)	<i>L. infraorbitale</i>	01/10/2002
UFMT 3310 (1)	<i>L. infraorbitale</i>	03/10/2002
UFMT 3310 (2)	<i>L. infraorbitale</i>	03/10/2002
UFMT 3312	<i>A. alba</i>	08/10/2002
CRIB 410	<i>A. dubia</i>	24/11/2005
CRIB 409	<i>A. dubia</i>	22/11/2006
CRIB 384	<i>A. dubia</i>	11/2006
MCP 15779	<i>A. kingii</i>	23/11/2004

MCP: Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul;  
 UFMT: Universidade Federal do Mato Grosso; CRIB: Instituto Butantan.

### 3.2 Registro fotográfico e dissecação das amostras

Os ovos foram colocados em placas de Petri contendo etanol 70% para não haver ressecamento e possível perda do material. Com o auxílio de um paquímetro as medidas de diâmetro e comprimento dos ovos foram tiradas. A superfície dos ovos foi analisada por completo sob estereomicroscópio trinocular Zeiss ®, conectado ao sistema de captura e análise de imagens Axio Vision ®. Todos os ovos foram fotografados com o software antes de qualquer interferência no material. Após a identificação de regiões com potencial para abrigar um embrião - já que os mesmos geralmente desenvolvem-se na superfície do ovo (ELINSON, 1997) -, com o auxílio de pinça e estiletes de dissecação de ponta fina, iniciou-se a dissecação dos ovos.

A retirada do vitelo se deu de forma cuidadosa e inteiramente sob a lente do estereomicroscópio, a fim de preservar as regiões que poderiam conter o embrião em algum estágio de desenvolvimento. Após a dissecação de cada ovo, o vitelo retirado foi guardado em um recipiente com etanol 70% e identificado.

### 3.3 Análise das amostras

Os ovos fotografados foram fotografados e medidos. Todos os embriões encontrados foram fotografados com o auxílio do estereomicroscópio trinocular Zeiss ®, conectado ao sistema de captura e análise de imagens Axio Vision ®, além de medidos com o software, a fim de obter o comprimento total (mm), diâmetro total (mm) e, quando possível, comprimento da espiral da cauda (mm), diâmetro da vesícula do coração (mm), bem como o número de somitos desenvolvidos, e presença e quantidade de fendas branquiais abertas. Após análise, o material foi preservado em etanol 70% e identificado.

Com base nos estudos desenvolvidos por Dufaure e Hubert (1961), para o lagarto *Lacerta vivipara*, bem como o estudo de Rapp Py-Daniel et al. (2016), para *Tropidurus torquatus*, os embriões coletados nos ovos foram analisados considerando estruturas desenvolvidas, tais como: vesícula do coração, espiral da cauda, fendas faríngeas desenvolvidas, número de somitos visíveis, vesícula óptica desenvolvida e pigmentada, e vesículas encefálicas subdivididas.

#### 4. RESULTADOS

Foram analisados vinte ovos no total: cinco ovos de *Amphisbaena munoai*, dez de *Leposternon infraorbitale*, três de *Amphisbaena dubia*, um ovo de *Amphisbaena kingii* e um ovo de *Amphisbaena alba*. Após as análises dos ovos, dez embriões em estágios variados de desenvolvimento foram identificados e alguns foram destacados cuidadosamente do vitelo, a fim de preservar todas as suas estruturas.

A tabela 2 apresenta a identificação das amostras obtidas, bem como medidas de comprimento (mm) e diâmetro (mm) do ovo e dados sobre a presença ou ausência de embrião com estruturas desenvolvidas.

**Tabela 2.** Identificação das amostras, medidas de comprimento (mm) e diâmetro (mm) do ovo e presença ou ausência de embrião desenvolvido.

Espécie	ID	Diâmetro (mm)	Comprimento (mm)	Presença de embrião visível
<i>A. alba</i>	UFMT 3312	15	49	NÃO
<i>A. dúbia</i>	CRIB 384	8	26	NÃO
<i>A. dúbia</i>	CRIB 409	9	32	NÃO
<i>A. dúbia</i>	CRIB 410	7	28	NÃO
<i>A. munoai</i>	MCP 15799	3	18	SIM (bem desenvolvido)
<i>A. munoai</i>	MCP 12070	3	21	SIM (estágio precoce)
<i>A. munoai</i>	MCP 15785	3	16	SIM (estágio precoce)
<i>A. munoai</i>	MCP 12073	3	21	NÃO
<i>A. munoai</i>	MCP 15805	3	22	SIM (estágio precoce)
<i>A. kingii</i>	MCP 15779	6	27	SIM (estágio precoce)
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 3310	14	51	NÃO
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 3279	10	33	NÃO
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 3279	14	53	SIM (bem desenvolvido)
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 301	13	52	SIM (bem desenvolvido)
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 302	12	51	SIM (bem desenvolvido)
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 3382	12	51	NÃO
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 3348	13	59	NÃO
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 3313 (1)	15	51	SIM (bem desenvolvido)
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 3313 (2)	16	50	SIM (bem desenvolvido)
<i>L. infraorbitale</i>	UFMT 3310	14	52	NÃO

Os embriões analisados estão descritos a seguir e organizados por espécie, considerando o estágio estimado de desenvolvimento.

Dos cinco ovos de *Amphisbaena munoai* analisados, quatro apresentaram massa embrionária ou embrião em estágio avançado de desenvolvimento (MCP 15805, MCP 12070, MCP 15785, MCP 15799) (figura 2).

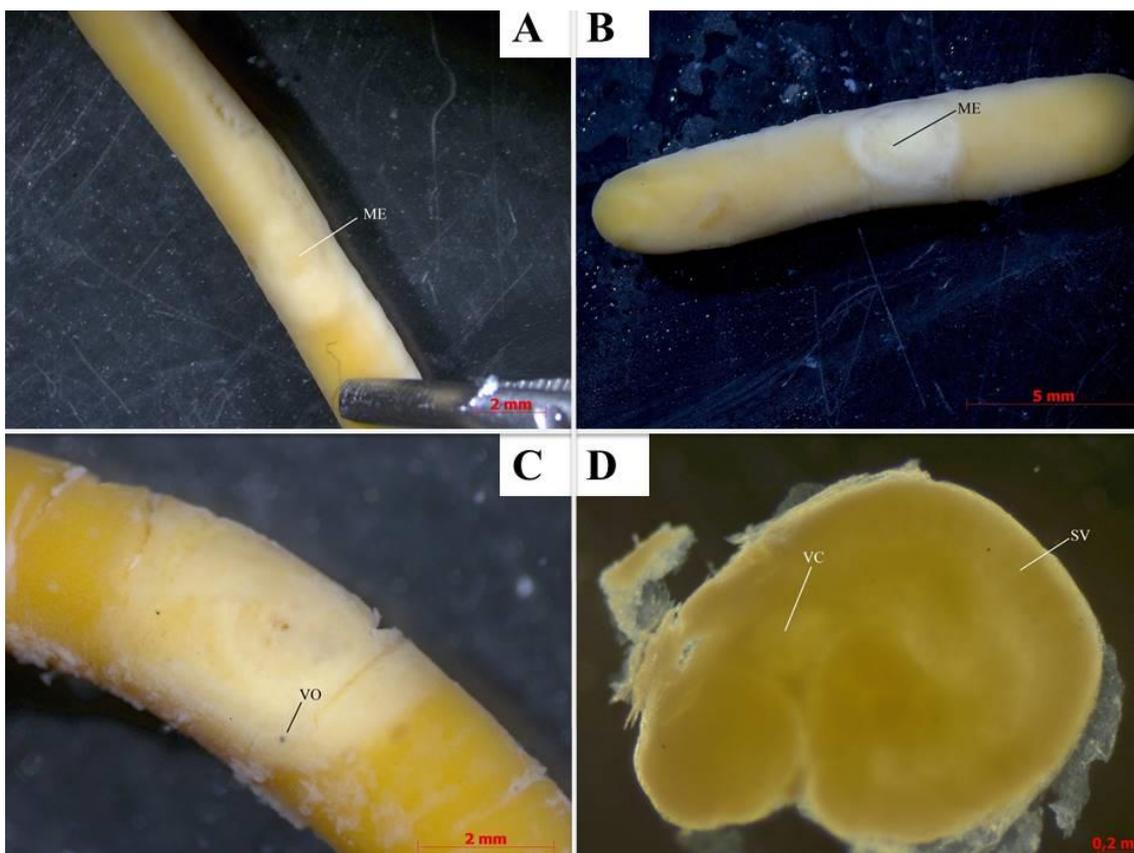
A amostra de *A. munoai* MCP 15805, retirada do oviduto de uma fêmea coletada em 23/11/2004, apresentou apenas uma massa embrionária precoce (figura 2.A). O ovo

possuía uma região disforme e de cor mais clara com relação à coloração do vitelo, mas nenhuma estrutura evidente desenvolvida. As características observadas correspondem às apresentadas no estágio 2 do desenvolvimento que, conforme o documentado na literatura (DUFAURE; HUBERT, 1961; KHANNOON; EVANS, 2013; RAPP PY-DANIEL; *et al.*, 2016), é marcado pela formação de um disco embrionário pavimentado composto de, em média, 6 pequenos blastômeros.

O ovo MCP 12070, de uma fêmea de *A. munoai*, coletada em 15/11/2000, apresentou uma região concêntrica, na forma de disco e com a periferia saliente, além de possuir uma coloração mais clara que o restante do ovo (figura 2.B). As características apresentadas na amostra são equivalentes ao estágio 3 do desenvolvimento que, de acordo com o estudo de Dufaure e Hubert (1961), é representado por um disco embrionário que possui três categorias distintas de blastômeros de tamanhos diferentes. Grandes células periféricas e de divisão mais lenta formam uma saliência ao redor da região central, que é subdividida e apresenta a mitose das células mais acelerada em um polo do que no outro.

O ovo MCP 15785 de *A. munoai*, de uma fêmea coletada em 28/11/2004, apresentou uma estrutura concêntrica e pigmentada localizada na superfície da região central da amostra (figura 2.C). Sugere-se que esta estrutura seja a vesícula óptica em estágio precoce de desenvolvimento. Com base no material de referência (DUFAURE; HUBERT, 1961), a vesícula óptica toma forma e a pigmentação inicia-se a partir do estágio 25 do desenvolvimento, juntamente com a torção completa do embrião e o início da individualização dos arcos mandibulares e do arco hioide.

A amostra MCP 15799, de 12/12/2004, também de *A. munoai*, apresentou um embrião bem desenvolvido localizado superficialmente na região central do ovo (figura 2.D). Com base nas características identificadas no embrião, tais como a vesícula do coração pouco protuberante, é possível estimar que o embrião encontra-se no estágio 27. Nesta fase do desenvolvimento, o embrião apresenta cerca de 15 somitos, vesícula cardíaca em desenvolvimento e início da subdivisão das vesículas encefálicas, o que foi observado na amostra.



Fonte: OLIVEIRA, L. S. M., 2019

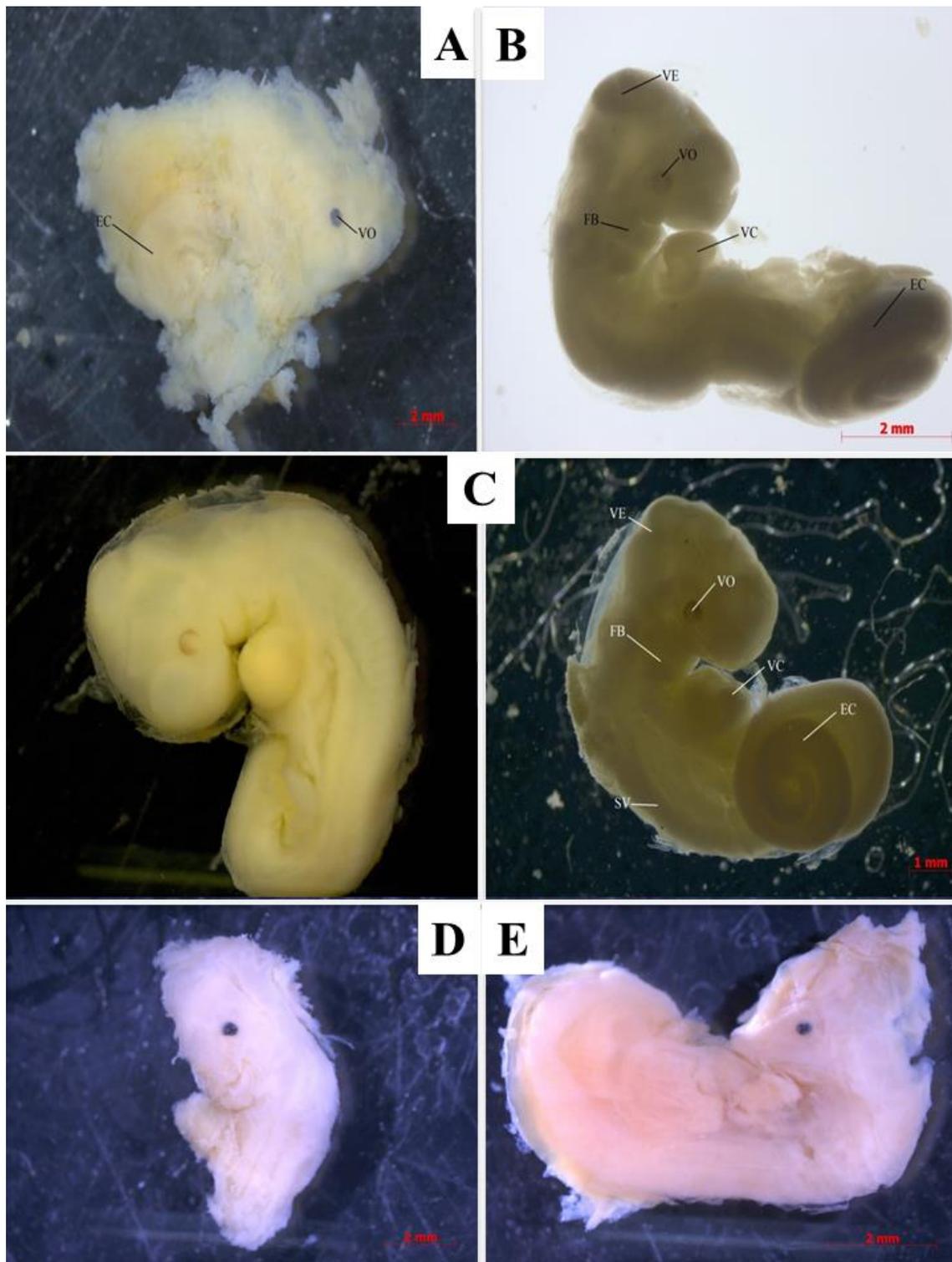
**Figura 2.** Embriões de *Amphisbaena munoai* em diferentes estágios de desenvolvimento. (A) Massa embrionária (ME) (MCP 15805) em estágio 2. (B) Disco embrionário (MCP 12070) em estágio 3 do desenvolvimento, marcado pela fácil distinção entre as três categorias distintas de blastômeros. (C) Embrião em estágio 25 do desenvolvimento (MCP 15785). (D) Embrião em estágio 27 (MCP 15799), apresentando a vesícula cardíaca (VC) em desenvolvimento, por volta de 15 somitos e início da subdivisão das vesículas encefálicas (VE).

ME: Massa embrionária; SV: Somitos vertebrais VC: Vesícula cardíaca; VE: Vesículas encefálicas; VO: vesícula óptica.

Dentre as dez amostras de *Leposternon infraorbitale* analisadas, cinco amostras continham um embrião em estágio avançado de desenvolvimento (UFMT 3279, UFMT 302, UFMT 301, UFMT 3313 (1), UFMT 3313(2)).

A amostra UFMT 3279 (figura 3.A), proveniente de uma fêmea coletada em 02/10/2002, assim como UFMT 302 (figura 3.B) de 10/2002, UFMT 301 (figura 3.C) de 10/2002 e UFMT 3313 (1) de 01/10/2002, todas de *L. infraorbitale*, apresentaram características facilmente observáveis, tais como o enrolamento da cauda (EC), e a vesícula óptica desenvolvida e pigmentada (VO). Além disso, as vesículas encefálicas apresentaram-se subdivididas e fendas branquiais completamente formadas e isoladas uma da outra. De acordo com o estudo para *Lacerta vivipara* (DUFAURE; HUBERT, 1961), estas estruturas desenvolvem-se a partir do estágio 30.

O embrião da amostra 3313 (2), de *L. infraorbitale* (figura 3.E) de 01/03/2002, apresentou coração e somitos desenvolvidos, vesículas encefálicas subdivididas e olho completamente formado e pigmentado. Além destas características, o crânio cartilaginoso provavelmente estava formado e o rosto, como visto na figura 2.E, desenvolvido. Estas características correspondem ao estágio 32 do desenvolvimento.

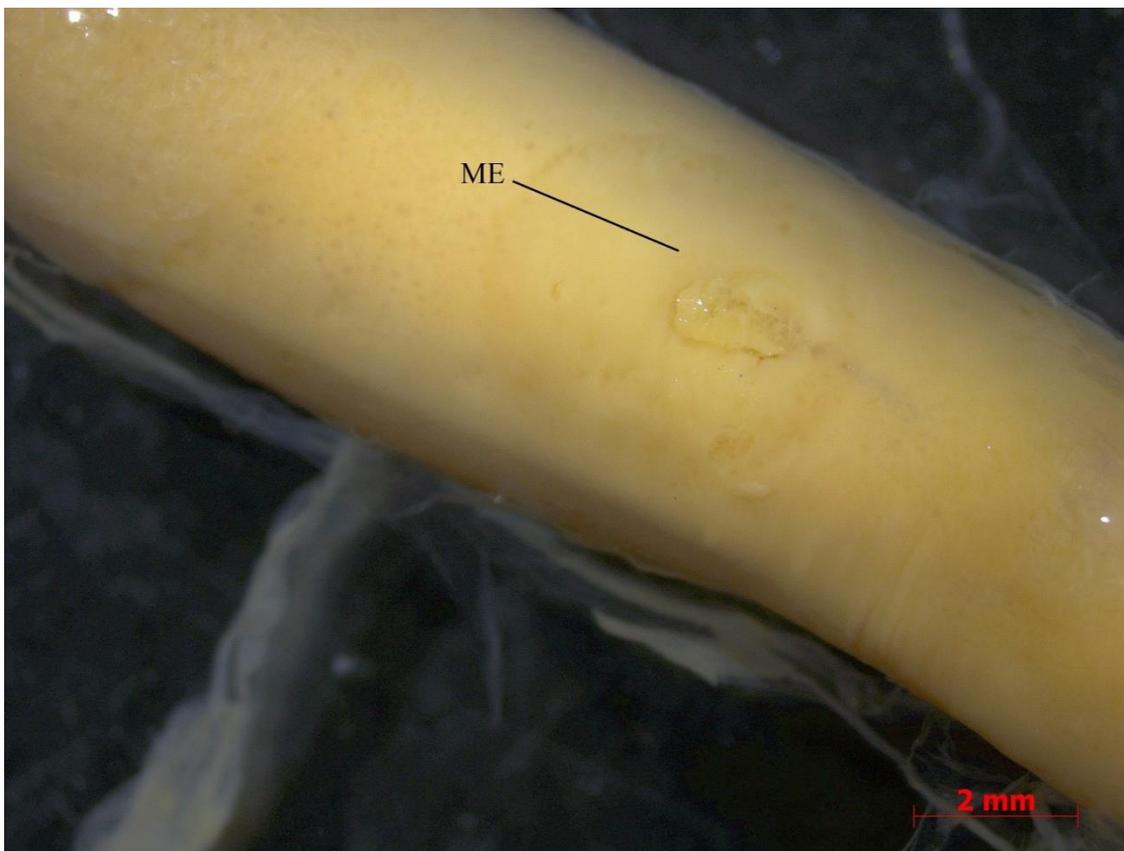


Fonte: OLIVEIRA, L. S. M., 2019

**Figura 3.** Embriões de *Leposternon infraorbitale* em diferentes estágios de desenvolvimento. (A) Embrião em estágio 30 (UFMT 3279). (B) Embrião em estágio 30 do desenvolvimento (UFMT 302), marcado pela fácil distinção das vesículas encefálicas (VE), fendas branquiais (FB), vesículas ópticas desenvolvidas e em processo de pigmentação (VO) e espiral da cauda com duas voltas e meia (EC). (C) Embrião em estágio 30 do desenvolvimento (UFMT 301). (D) Embrião em estágio 30 do desenvolvimento embrionário (UFMT 3313 (1)). Embrião em estágio 32 do desenvolvimento (UFMT 3313 (2)), apresentando vesícula óptica completamente desenvolvida e pigmentada, vesícula cardíaca (VC), somitos vertebrais (SV) desenvolvidos, crânio cartilaginoso formado e rostro proeminente. VE: Vesícula Encefálica; FB: Fendas Branquiais; VO: Vesícula Óptica; EC: Espiral da Cauda; VC: Vesícula Cardíaca.

Uma amostra de *Amphisbaena kingii* foi analisada e notou-se a presença de uma estrutura em relevo e de coloração mais clara, diferente do restante do ovo, que pode representar um embrião em desenvolvimento (MCP 15779). O ovo foi coletado em 23/11/2004 (figura 4) e encontra-se em um estágio precoce do desenvolvimento embrionário, pois apresentou apenas uma região de coloração distinta do restante do ovo. Além da massa embrionária em desenvolvimento inicial, a amostra possui um sulco mediano que representa o primeiro esboço da cavidade nervosa e um blastóporo em formato de U invertido. Considerando estas características, conclui-se, com base no estudo para *Lacerta vivipara* (DUFAURE; HUBERT, 1961), que o embrião encontra-se no estágio 11 do desenvolvimento.

A figura 4 apresenta o embrião em desenvolvimento precoce de *Amphisbaena kingii*.



Fonte: OLIVEIRA, L. S. M., 2019

**Figura 4.** Amostra de *Amphisbaena kingii* (MCP 15779) apresentando massa embrionária em estágio 11 do desenvolvimento, marcado pelo desenvolvimento de um blastóporo em formato de U invertido, representando a extremidade anterior do campo cefálico, além da presença do primeiro esboço da cavidade nervosa, caracterizado por um sulco mediano.

Três ovos de *Amphisbaena dubia* e um ovo de *Amphisbaena alba* foram analisadas, sem sinal de massa embrionária ou embrião em desenvolvimento.

A Tabela 3 apresenta o registro na coleção, espécie, informações de diâmetro (mm) e comprimento (mm) dos embriões, estágio estimado dos embriões, e estruturas características que permitiram inferir o estágio de desenvolvido embrionário, com base nas tabelas utilizadas como referência.

**Tabela 3.** Número de registro em coleção, espécie dos embriões, diâmetro (mm), comprimento (mm) do embrião, estágio de desenvolvimento estimado e breve caracterização do estágio de desenvolvimento.

ID – Coleção (data de coleta)	Espécie	Diâmetro (mm)	Comprimento (mm)	Estágio estimado	Caracterização do estágio
MCP 15805 (23/11/2004)	<i>A. munoai</i>	2	3	2	2: Formação de disco embrionário (6 blastômeros, em média).
MCP 12070 (15/11/2000)	<i>A. munoai</i>	2	3	3	3: Disco embrionário com três categorias de blastômeros.
MCP 15785 (28/11/2004)	<i>A. munoai</i>	3	3	25	25: Formação da vesícula óptica e início da pigmentação.
MCP 15799 (12/12/2004)	<i>A. munoai</i>	3	4	27	27: Desenvolvimento inicial da vesícula do coração; em torno de 15 somitos.
UFMT 3279 (02/10/2002)	<i>L. infraorbitale</i>	10	8	30	30: Vesículas encefálicas subdivididas, vesícula óptica pigmentada, coração desenvolvido, fendas branquiais formadas, espiral da cauda formada.
UFMT 302 (10/2002)	<i>L. infraorbitale</i>	11	7	30	
UFMT 301 (10/2002)	<i>L. infraorbitale</i>	12	7	30	
UFMT 3313(1) (01/10/2002)	<i>L. infraorbitale</i>	11	6	30	
UFMT 3313(2) (01/10/2002)	<i>L. infraorbitale</i>	13	8	32	32: Crânio cartilaginoso formado e rosto desenvolvido.
MCP 15779 (23/11/2004)	<i>A. kingii</i>	3	4	11	11: Formação do blastóporo e sulco mediano (cavidade nervosa).

## 5. DISCUSSÃO

Todos os embriões analisados encontram-se entre os estágios 2 e 32 do desenvolvimento embrionário. Os ovos das fêmeas de *A. munoai* MCP 15805 (estágio 2), MCP 12070 (estágio 3), MCP 15785 (estágio 25), MCP 15799 (estágio 27)) coletadas em 23/11/2004, 15/11/2000, 28/11/2004 e 12/12/2004, respectivamente, demonstram que, durante esse período – entre os estágios 1 e 27 - a fêmea permanece com os ovos retidos no útero. As datas representam o dia e mês em que as fêmeas foram coletadas e fixadas. Os dados sobre os estágios em que se encontram os embriões de *Amphisbaena munoai* sugerem que a cópula precede o mês de novembro, ou seja, ocorre durante a primavera, e a fêmea retém os ovos no útero até, pelo menos, o mês de dezembro. Estas informações corroboram os resultados obtidos por Balestrin e Capellari (2011) em seus estudos sobre ciclo reprodutivo de *Amphisbaena munoai* e *Amphisbaena kingii*. Segundo eles, ambas as espécies apresentam reprodução sazonal, com a cópula ocorrendo durante a primavera (BALESTRIN; CAPPELLARI, 2011).

As amostras de *L. infraorbitale* UFMT 3279 (estágio 30), UFMT 302 (estágio 30), UFMT 301 (estágio 30), UFMT 3313 (1) (estágio 30), e UFMT 3313 (2) (estágio 32)) provindas de fêmeas coletadas em 02/10/2002, 10/2002, 10/2002, 01/10/2002, 01/10/2002, respectivamente, demonstram que pelo menos até o estágio 32 o embrião permanece em desenvolvimento no interior do trato reprodutivo da fêmea, indicando que a retenção de ovos para as espécies analisadas ocorre por um período prolongado, assim como o observado em estudos para os outros Squamata (ANDREWS; MATHIES, 2000).

Além disso, segundo Santos (2013), os dados de ciclo reprodutivo de *L. infraorbitale* sugerem que a cópula se dá provavelmente entre agosto e setembro, ou seja, ocorrendo ao final da estação seca, o que coincide com os dados aqui obtidos, já que os embriões encontravam-se em um avançado estágio de desenvolvimento quando foram coletados em outubro, no início da estação chuvosa no Cerrado do Estado do Mato Grosso, região do Brasil com marcada sazonalidade (AB'SÁBER, 2007).

Além disso, as estruturas desenvolvidas nos embriões, como o crânio cartilaginoso e rostrum em UFMT 3313 (2) em estágio 32, demonstram que as fêmeas retêm os ovos por longos períodos, e sugerem que a retenção pode ser de prolongada para a espécie *Leposternon infraorbitale* e, portanto, a postura seja feita no final do desenvolvimento embrionário, ou ainda, que a espécie seja bimodal, considerando o registro de nascimento da espécie a partir de ovos feito por Jared et al. (1999).

Quanto à *Amphisbaena kingii*, um estudo realizado com espécimes da Argentina (VEGA, 2001) concluiu que a fase reprodutiva da espécie ocorre entre julho e novembro. Neste trabalho, um ovo de *A. kingii* foi analisado (MCP 15779) provindo de uma fêmea coletada em 23/11/2004 e um embrião em desenvolvimento precoce foi identificado. Características como o desenvolvimento do blastóporo e da cavidade nervosa estão presentes no estágio 11 do desenvolvimento, segundo a tabela de Dufaure e Hubert (1961). Este embrião corrobora as informações sobre estação reprodutiva de *A. kingii* (VEGA, 2001), sugerindo que a primavera é o período de cópula dessa espécie.

Os ovos de *Amphisbaena dubia* (CRIB 410, CRIB 409, CRIB 384) provenientes de fêmeas coletadas em 24/11/2005, 22/11/2006, 11/2006, respectivamente, e *Amphisbaena alba* (UFMT 3312) de fêmea coletada em 08/10/2002, não possuíam embrião visível em desenvolvimento, sugerindo, portanto, que a fecundação era recente ou que ainda não havia ocorrido.

Levando em conta que todos os embriões foram retirados diretamente do oviduto das fêmeas grávidas e, baseando-se nas estruturas desenvolvidas nos embriões, pode-se estimar, portanto, que o período de cópula de *Amphisbaena munoai* precede o mês de novembro, e de *Leposternon infraorbitale* precede o mês de outubro. Em *A. munoai*, a fêmea retém os ovos em desenvolvimento pelo menos até o mês de dezembro. Além disso, estima-se que a retenção de ovos para as espécies analisadas pode decorrer até os estágios 28 a 33, cerca de 2/3 a 3/4 do período total de desenvolvimento embrionário. Os resultados obtidos com este trabalho corroboram as informações presentes na literatura para a retenção de ovos em outros Squamata (DUFAURE; HUBERT, 1961; RAPP PY-DANIEL; *et al.*, 2016).

## 6. CONCLUSÃO

Para os Amphisbaenia a dificuldade de observação e coleta de espécimes impõe desafios para desenvolvimento de conhecimentos aprofundados acerca da biologia do grupo. Com relação aos Squamata, notou-se a existência de variados estudos sobre a biologia reprodutiva de serpentes e lagartos. Este trabalho demonstrou que, assim como para os demais Squamata, a retenção de ovos em Amphisbaenidae ocorre por períodos prolongados, sugerindo que a retenção seja o estágio intermediário no desenvolvimento da viviparidade.

Os embriões analisados trouxeram informações adicionais para estimar o período de cópula de espécies de Amphisbaenidae. Embriões encontrados nas fêmeas de *Amphisbaena munoai* sugerem que o período de retenção ocorre até os estágios 28 a 33 do desenvolvimento embrionário, como é observado para os demais Squamata. Características como vesícula cardíaca junto ao sistema circulatório, espiral da cauda e vesículas encefálicas, que se desenvolvem em estágios avançados do desenvolvimento demonstram que o período de retenção é prolongado. Além desta informação, os embriões encontrados nas fêmeas de *L. infraorbitale* demonstram que a retenção é prolongada (até, pelo menos, o estágio 32) e pode ser completa.

Com base nas datas de coleta das fêmeas grávidas e a área de ocorrência das espécies analisadas, pôde-se estimar que, para *Leposternon infraorbitale*, o período de cópula condiz com a estação da primavera e início do verão, representando a estação chuvosa. Não encontrar embriões nos ovos de *A. dubia* e *A. alba* demonstra que, possivelmente, a fecundação era recente ou ainda não havia ocorrido, sugerindo que o período de cópula para estas espécies difere das demais analisadas.

## 7. REFERÊNCIAS

- AB'SÁBER, A. **Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas**. 4ª edição. São Paulo: Ateliê Editorial, 2007. 160 p.
- ANDREWS, R. M.; MATHIES, T. Natural History of Reptilian Development: Constraints on the Evolution of Viviparity. **Bioscience**, v. 50, n. 3, p. 227-238, 2000.
- ARRAYAGO, M. J. BEA, A.; HEULIN, B. Hybridization experiment between oviparous and viviparous strains of *Lacerta vivipara*: A new insight into the evolution of viviparity in reptiles. **Herpetologica**, v. 52, n. 3, p. 333-342, 1996.
- BLACKBURN, D. G. Standardized criteria for the recognition of embryonic nutritional patterns in squamate reptiles. **Copeia**, v. 4, p. 925-935, 1994.
- BLACKBURN, D. G. Saltationist and punctuated equilibrium models for the evolution of viviparity and placentation. **Journal of Theoretical Biology**, v. 174, n. 2, p. 199-216, 1995.
- BLACKBURN, D. G. Viviparity and oviparity - Evolution and strategies. In: KNOBIL, T. E.; NEILL, J. D. (Ed.). **Encyclopedia of Reproduction**. New York: Academic Press, 1999.
- BLACKBURN, D. G. Reptilian viviparity: past research, future directions, and appropriate models. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 127(4), 391–409. doi:10.1016/s1095-6433(00)00272-5. 2000.
- BLACKBURN, D. G. Squamate reptiles as model organisms for the evolution of viviparity. **Herpetological Monographs**, v. 20, n. 1, p. 131-146, 2006.
- BONS, J.; BONS, N. Notes sur la reproduction et le developement de *Chamaeleo chamaeleon* L. **Bulletin de la Société de Sciences Naturelles et Physiques du Maroc**, 1960.
- BONS, J.; SAINT-GIRONS, H. Ecologie et cycle sexuel des Amphisbénien du Maroc. **Bulletin de la Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc**, v. 43, p. 117-168, 1963.
- BRAZ, H. B. P. **Evolução da viviparidade nas serpentes da tribo Hydropsini**. [Evolution of viviparity in snakes of the tribe Hydropsini]. 2013. 186 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- COSTA, H. C.; BÉRNILS, R. S. Répteis brasileiros: lista de espécies. **Herpetologia Brasileira**, v. 7, n. 1, p. 14, 2018.
- DUFAURE, J. P.; HUBERT, J. Table de développement du lézard vivipare: *Lacerta* (*Zootoca*) *vivipara* Jaquin. **Archives d'anatomie Microscopique et de Morphologie Expérimentale**, v. 50, p. 309-328, 1961.

- ELINSON, R. Amphibians. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: **Sinauer Associates**, p.409-436,1997.
- EVANS, S.E.; YABUMOTO, Y. A lizard from the Early Cretaceous Crato Formation, Araripe Basin, Brazil. **Neues Jahrbuch fur Geologie und Palaontologie**. v. 6, p. 349-364. 1988.
- EWERT, J. P. Concepts in vertebrate neuroethology. **Animal Behaviour**, v. 33, n. 1, p. 1–29, 1985. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(85\)80116-0](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(85)80116-0).
- FLORES, J. H.; STUBBS, T.; BENTON, M. Macroevolutionary patterns in Rhynchocephalia: Is the tuatara (*Sphenodon punctatus*) a living fossil?. **Paleontology**. 10.1111/pala.12284, 2017.
- FERGUSON, M. W. J. Reproductive biology and embryology of the crocodylians. In: GANS, C.; BILLET, F.; MADERSON, P. F. A. **Biology of the reptilia**. New York: John Wiley and Sons, 1985.
- GANS, C. Studies on amphisbaenians (Amphisbaenia: Reptilia). A review of the amphisbaenid genus *Leposternon*. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, 144:379–46, 1971.
- GANS, C.; ALEXANDER, A. Studies on amphisbaenids (Amphisbaenia: Reptilia). 2. On the amphisbaenids of the Antilles. **Bull. Mus. Camp. Zool.** 128: 65-158, 1962.
- GANS, C. Checklist and bibliography of the Amphisbaenia of the world. **Bulletin of the American Museum of Natural History**. 289: 1-30, 2005.
- GAUTHIER, J.; ESTES, R.; QUEIROZ, K. de, A phylogenetic analysis of Lepidosauromorpha. Phylogenetic relationships of the lizard families. **Essays commemorating Charles L. Camp**. Stanford University Press, Stanford, 1988.
- HEULIN, B.; SURGET-GROBA, Y.; GUILLER, A; GUILLAUME, C. P.; DEUNFF, J. Comparisons of mitochondrial DNA (mtDNA) sequences (16 rRNA gene) between oviparous and viviparous stains of *Lacerta vivipara*: a preliminary study. **Molecular Ecology**, 1999.
- HOOGMOED, M. S.; PINTO, R. R.; ROCHA, W. A.; PEREIRA, E. G. A new species of *Mesobaena* Mertens, 1925 (Squamata: Amphisbaenidae) from Brazilian Guiana, with a key to the Amphisbaenidae of the guianan region. **Herpetologica**, v. 65, n. 4, p. 436-448, 2009.
- HOPWOOD, N. A history of normal plates, tables and stages in vertebrate embryology. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 51, n. 1, p. 1–26. doi:10.1387/ijdb.062189nh, 2007.
- KEARNEY, M. Systematics of the Amphisbaenia based on morphological evidence from recent and fossil forms. **Herpetological monographs**, v.17, p.1-74, 2003.

KHANNOON, E. R.; EVANS, S. E. (2013). The embryonic development of the Egyptian cobra *Naja haje* (Squamata: Serpentes: Elapidae). **Acta Zoologica**, 95(4), 472–483. doi:10.1111/azo.12043, 2013.

LEE, M. S. Y.; SHINE, R. Reptilian viviparity and Dollo's law. **Evolution**, v. 52, n. 5, p. 1441-1450, 1998.

MACEY, J. R.; PAPENFUSS, T. J.; KUEHL, J. V.; FOURCADE, H. M.; BOORE, J. L. Phylogenetic relationships among amphisbenian reptiles based on complete mitochondrial genomic sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 33, 2004.

MOFFAT, L. A. Embryonic development and aspects of reproductive biology in the tuatara, *Sphenodon punctatus*. Pages 493-521. In GANS, C.; BILLET, F. MADERSON, P. F. A. eds. **Biology of the Reptilia**, Vol. 14, Development A. New York: John Wiley & Sons, 1985.

MONTERO, R.; GANS, C.; LIONS, M. L. Embryonic development of the skeleton of *Amphisbaena darwini heterozonata* (Squamata: Amphisbaenidae). **Journal of Morphology**, v. 239, p. 1–25, 1999.

MOTT, T.; VIEITES, D. R. Molecular phylogenetics reveals extreme morphological homoplasy in Brazilian worm lizards challenging current taxonomy. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 51, n. 2, p. 190-200, 2009.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 3 ed. São Paulo: Atheneu Editora. 307p., 2003.

PYRON, R. A.; BURBRINK, F. T.; WIENS, J. J. A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. **BCM Evolutionary Biology**, v. 13, n. 1, p. 93-146, 2013.

QUALLS, C. P.; ANDREWS, R. M.; MATHIES, T. The Evolution of Viviparity and Placentation Revisited. **Journal of Theoretical Biology**, v. 185, n. 1, p. 129-135, 1997.

RAPP PY-DANIEL, T.; KENNEDY SOARES DE-LIMA, A.; CAMPOS LIMA, F.; PIC-TAYLOR, A.; RODRIGUES PIRES JUNIOR, O.; SEBEN, A. A Staging Table of Post-Ovipositional Development for the South American Collared Lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae). **The Anatomical Record**, v. 300, n. 2, p. 277–290. doi:10.1002/ar.23500, 2016.

RIBEIRO, S.; NOGUEIRA, C.; CINTRA, C. E.; SILVA, N. J.; ZAHER, H. Description of a new pored Leposternon (Squamata, Amphisbaenidae) from the Brazilian Cerrado. **South American Journal of Herpetology**, v. 87, n. 2, 2011.

RIBEIRO, S.; SÁ, V.; SANTOS-JR, A. P.; GRABOSKI, R.; ZAHER, H.; GUEDES, A. G.; VAZ-SILVA, W. A new species of the Amphisbaena (Squamata, Amphisbaenidae) from the Brazilian Cerrado with a key for the two-pored species. **Zootaxa**, v. 4550, n. 3, p. 301, 2019. doi:10.11646/zootaxa.4550.3.1

RIEPEL, C. O. **Fundamentals of Comparative Biology**, Birkhäuser Verlag, Basel, 202 pp., 1988.

SANTOS, L. C. **Biologia reprodutiva comparada de Amphisbaenidae (Squamata, Amphisbaenia) do Brasil**. [Comparative reproductive biology of Amphisbaenidae (Squamata, Amphisbaenia) from Brazil]. 2013. 260f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

SHINE, R. The evolution of viviparity in reptiles: an ecological analysis. In: GANS, C.; BILLET, F. (Ed.). **Biology of the Reptilia**. New York: John Wiley and Sons, 1985.

SHINE, R.; ELPHICK, M. J.; HARLOW, P. S. The influence of natural incubation environments on the phenotypic traits of hatchling lizards. **Ecology**, v. 78, p. 2559–2568. 1997.

SHINE, R.; BARROT, E. G.; ELPHICK, M. J. Some like it hot: effects of forest clearing on nest temperatures of montane reptiles. **Ecology**, v. 83. n. 10, p. 2808-2815, 2002.

SHINE, R.; THOMPSON, M. B. Did Embryonic Responses to Incubation Conditions Drive the Evolution of Reproductive Modes in Squamate Reptiles? **Herpetological Monographs**, n. 20, p. 159-171, 2006.

SMITH, S. A.; SHINE, R. Intraspecific Variation in Reproductive Mode within the Scincid Lizard *Saiphos equalis*. **Australian Journal of Zoology**, v. 45, n. 5, p. 435-445, 1997. doi:10.1071/zo97023

SMITH, S. A.; AUSTIN, C. C.; SHINE, R. A phylogenetic analysis of variation in reproductive mode within an Australian lizard (*Saiphos equalis*, Scincidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 74, p. 131–139, 2001.

TINKLE, D.W.; GIBBONS, J. W. The distribution and evolution of viviparity in reptiles. **Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Michigan**, v. 154, p. 1– 55, 1977.

UETZ, P.; FREED, P.; HOSEK, J. **The Reptile database**, Available at <<http://www.reptile-database.org>>. Accessed on: 20 October 2019.

VANZOLINI, P. E. The silvestrii species group of Amphisbaena, with the description of two new brazilian species (Reptilia: Amphisbaenia). **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 40, n. 3, p. 65-85, 1997.

VEGA, L. E. Reproductive and feeding ecology of the amphisbaenian *Anops kingii* in east-central Argentina. **Amphibia-Reptilia**, v. 22, p. 447-454, 2001.

VIDAL, N. Origem of tropical American burrowing reptiles by transatlantic rafting. **Biology Letters**, v. 4, p. 115-118, 2008.

VISSER, J. First Report of Ovoviviparity in a Southern African Amphisbaenid, *Monopeltis C. capensis*, **Zoologica Africana**, v. 3, n. 1, p. 111-113, DOI: 10.1080/00445096.1965.11447356, 1967.

VITT, L. J.; CALDWELL, J. P. Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. Third Edition. Burlington, Massachusetts, U.S.A.: **Academic Press**, 2009.