



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

CAMPUS AVARÉ

CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

NATHALLY GABRIELLE ALBUQUERQUE ROBERTO

**ANÁLISE DE FEROMÔNIOS NOS RÉPTEIS DA ESPÉCIE *Tropidurus torquatus*
(SQUAMATA, TROPIDURIDAE) NA CIDADE DE AVARÉ: COMPOSIÇÃO
QUÍMICA E INFLUÊNCIA NA REPRODUÇÃO**

AVARÉ

2019

NATHALLY GABRIELLE ALBUQUERQUE ROBERTO

**ANÁLISE DE FEROMÔNIOS NOS RÉPTEIS DA ESPÉCIE *Tropidurus torquatus*
(SQUAMATA, TROPIDURIDAE) NA CIDADE DE AVARÉ: COMPOSIÇÃO
QUÍMICA E INFLUÊNCIA NA REPRODUÇÃO**

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: Profa. Dra). Lívia Cristina dos Santos

AVARÉ

2019

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

Roberto, Nathally Gabrielle Albuquerque

Análise de feromônios nos répteis da espécie *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) na cidade de Avaré: composição química e influência na reprodução / Nathally Gabrielle Albuquerque Roberto. – Avaré, 2019.

48 p.

Orientadora: Lívia Cristina dos Santos

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

1. Glândulas cloacais. 2. Variação sazonal. 3. Histologia. 4. Cromatografia gasosa. I. Santos, Lívia Cristina dos Santos. III.. Análise de feromônios nos répteis da espécie *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) na cidade de Avaré: composição química e influência na reprodução.

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: Nathally Gabrielle Albuquerque Roberto

Título: Análise de feromônios nos répteis da espécie *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) da cidade

Curso: Licenciatura em Ciências Biológicas de Avaré: composição química e influência na reprodução

BANCA EXAMINADORA

Nome: Julio Cesar Pissuti Damalio

Instituição/Departamento:

Instituto Federal de São Paulo - câmpus Avaré

Nota: 9,9

Julgamento: Aprovado () Reprovado

Assinatura:

Julio C. P. Damalio

Nome: Raíssa Maria Mattos Gonçalves

Instituição/Departamento:

Instituto Federal de São Paulo - câmpus Avaré

Nota: 9,52

Julgamento: Aprovado () Reprovado

Assinatura:

Raíssa Maria Mattos Gonçalves

Nome: Lívia Cristina dos Santos

Instituição/Departamento:

Instituto Federal de São Paulo - câmpus Avaré

Nota: 9,46

Julgamento: () Aprovado () Reprovado

Assinatura:

Lívia C. dos Santos

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 aprovado pela Comissão Examinadora, com média final 9,63.

Avaré, 07 de dezembro de 2019.

Para Ariel, como um incentivo
para seguir seus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos Bem Feitores espirituais que estiveram presentes em minha caminhada, me protegendo e iluminando meu caminho.

Agradeço a minha família, minha mãe, minha irmã e irmãos por estarem sempre dispostos a me ajudar e me ouvir. Agradeço especialmente minha mãe por ser um exemplo de luta, força, persistência e amor, pois ser mulher é isso e ser mãe solo também, agradeço por me incentivar a ser melhor e a alcançar meus objetivos, por sempre ser meu apoio quando quis cair.

Agradeço especialmente também a minha irmã, por ser minha segunda mãe, por me proteger desde de sempre, por também ser um exemplo de luta e força, por ser incrível, por ser minha melhor amiga e por ter me dado o maior presente, a Ariel.

Agradeço a todos os meus amigos por estarem ao meu lado, por serem uma família pra mim em Avaré, por todas as vezes que me ouviram desabafar ou chorar, por todas as vezes que saímos e criamos ótimas lembranças, pelos almoços, jantás, ceias de natal, idas a represa, churrascos, festas, conversas e afins. Vocês são incríveis e me ajudaram a suportar a saudade de casa e a ter forças para estar aqui agora, vocês são parte do meu sucesso e eu agradeço muito. Cito aqui Wallace Kauati, Luis Otávio, Mateus Aurélio, Daniel Freitas, Joyce Silva e Lucas Miranda que são minhas raízes aqui em Avaré e minha primeira família aqui. E não menos importante, cito minhas companheiras de república, Amanda Torezan, Nathalia Barbosa, Ana Laura, Laisa Silva e Julia Borgo, vocês são minha casa e família, meu porto seguro.

Agradeço aos meus amigos e colegas de turma por esses quatro anos, pelas brincadeiras, estudos e trabalhos em grupo, pelos desesperos pré-provas, pelas jantinhas e roles e por todo apoio. Vocês tornaram as aulas sempre muito melhores, cito aqui, Carmélia Ferreira, Vitória Sanches, Raphaela Neto, Jessica Teodoro, Thales Gomes, Daiane Sofia, Marina Ferreira e Isabela Stati.

Agradeço também à Marina Ziviani, pelos 24 anos de amizade, pela parceria e amor, por estar presente mesmo longe, por nada mudar.

Faço um agradecimento especial ao meu parceiro, Leonardo Augusto, por caçar *Tropidurus* comigo, por organizar meu computador, por facilitar a minha vida com atalhos de teclado, tabelas e cálculos no excel, mas principalmente por organizar minha mente, me fazer refletir, me fazer respirar, me fazer falar, por me respeitar e

fazer com que nosso amor seja livre e cada um seja como é. Obrigada por tanto, pelo incentivo, apoio, preocupação e muito amor.

Agradeço à minha orientadora por tudo que me ensinou, por ser um exemplo como pesquisadora, por ser minha referência, até literalmente. Por ter me mostrado uma área tão linda e que me apaixonei na biologia, por ter me dado a oportunidade de fazer pesquisa e aprender muito. Agradeço também ao Professor Hugo Souza pela imensa ajuda com análises e por me ensinar a trabalhar com cromatografia.

Agradeço as pessoas que ajudaram no meu trabalho, principalmente o Alex Ávila, com as coletas, fotos, desenhos e conselhos.

Por fim agradeço a minha faculdade e ao curso de ciências biológicas por me proporcionar ótimos professores que ficarão marcados para sempre, por me permitir ter ótimas experiências e muito crescimento intelectual, pessoal e social.

“Eu posso não ter ido para onde eu pretendia ir, mas acho que acabei terminando onde eu pretendia estar.”

(DOUGLAS ADAMS, 2004)

RESUMO

Dentre as estratégias reprodutivas de répteis Squamata existem os feromônios, que são hormônios secretados por glândulas exócrinas. Considera-se que as secreções dessas glândulas têm papel importante na comunicação química, que é bastante utilizada entre os Squamata para reprodução, permitindo que os indivíduos de uma espécie sejam capazes de se reconhecer. O objetivo deste estudo é investigar a presença de glândulas exócrinas, que liberam feromônios, através de análises histológicas na região pré-cloacal dos lagartos da espécie *Tropidurus torquatus*, além da análise da composição química das secreções cloacais. Para as análises histológicas da região pré-cloacal, foram utilizados espécimes previamente depositados em coleção zoológica. Para as análises de composição química e época de produção de feromônios, foram realizadas coletas na região de Avaré, cidade do interior de São Paulo, uma vez por semana, ao longo de nove meses. A busca dos indivíduos foi visual e a captura manual, e os lagartos capturados passaram então pelo método de esfregaço na região pré-cloacal para coleta de secreções glandulares, antes de serem soltos no mesmo local. A análise química das secreções foi realizada em um cromatógrafo gasoso. Como resultado, encontramos 27 compostos distintos, pertencentes a diferentes classes como, ácidos graxos, ácidos carboxílicos, alcanos e aldeídos. Muitos desses compostos aparecem na literatura em diversos trabalhos sobre composição química de glândulas femorais em Squamata, e têm características propícias para atuarem como feromônios, entretanto não foi observada a variação sazonal desses compostos ao longo dos meses. As análises histológicas permitiram identificar glândulas acinosas próximas ao canal cloacal, o que até então não havia sido demonstrado na literatura para essa espécie. Também foi possível observar variação morfológicas nessas glândulas nas fêmeas que foram coletadas em período reprodutivo em comparação com as que não foram, indicando uma maior produção de secreção glandular na época reprodutiva da espécie.

Palavras-chave: Glândulas cloacais. Variação sazonal. Histologia. Cromatografia gasosa.

ABSTRACT

Among the reproductive strategies of Squamata reptiles are pheromones, which are hormones secreted by exocrine glands. Secretions of these glands are considered to play an important role in chemical communication, which is widely used among Squamata for reproduction, allowing individuals of a species to be able to recognize each other. The objective of this study is to investigate the presence of exocrine glands, which release pheromones, using histological analyzes in the pre-cloacal region of *Tropidurus torquatus* lizards, as well as to analyze the chemical composition of pheromones, and to identify at what period of the year this species produces pheromones. For the histological analyzes of the pre-cloacal region, specimens previously deposited in zoological collection were used. For the analysis of chemical composition and time of pheromone production, collections were performed in the region of Avaré, an inland city of São Paulo, once a week, during nine months. The individuals were searched visually and manually captured. Smear collection in the pre-cloacal region was then made to obtain glandular secretions before releasing the lizard to the same site. Chemical analysis of secretions was performed on a gas chromatograph. As a result, we found 27 different compounds belonging to different classes such as fatty acids, carboxylic acids, alkanes and aldehydes. Many of these compounds appear in several published works on chemical composition of femoral glands in Squamata, and present characteristics suitable for acting as pheromones. Histological analysis allowed to identify acinous glands near the cloacal canal. It was also possible to observe morphological variation among females that were collected in the reproductive period compared to those that were not, indicating a higher secretion production in the reproductive season of the species.

Key-words: Cloacal glands. Seasonal variation. Histology. Gas chromatography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – <i>Tropidurus torquatus</i>	16
Figura 2 – Localização dos principais pontos de coleta e observação em campo de <i>Tropidurus torquatus</i>	19
Figura 3 – <i>Tropidurus toquatus</i> termorregulando em cima do muro (ponto de coleta A)	20
Figura 4 – Ponto de observação D.....	20
Figura 5 – Pontos de observação F e G.....	21
Figura 6 – Ponto de observação C.....	21
Figura 7 – Principal ponto de coleta (A e B)	22
Figura 8 – Dimorfismo sexual presente na espécie. (A) Indivíduo macho com manchas melânicas na parte ventral dos membros inferiores. (B) Indivíduo fêmea.....	23
Figura 9 – Esfregaço cloacal realizado em um indivíduo macho da espécie <i>Tropidurus torquatus</i>	23
Figura 10 – Pinça com ponta envolta em algodão usada para os esfregaços cloacais.	24
Figura 11 – Extrator de óleos.....	24
Figura 12 – Amostras de cada indivíduo dissolvidas em n-hexano.....	25
Figura 13 – Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massa.	27
Figura 14 – Representação da região da cloaca retirada para histologia.....	28
Figura 15 – Porcentagens de cada classe de compostos químicos encontrados, separados por sexo.....	32
Figura 16 – Microscopia óptica mostrando região próxima a cavidade cloacal com glândulas acinosas. (A) Fêmea de agosto de 2017. (B) Fêmea de outubro de 2017. (*) Cavidade cloacal.....	33
Figura 17 – Microscopia óptica mostrando região próxima a cavidade cloacal com glândulas acinosas. (A) Macho de julho de 2017. (B) Macho de setembro de 2017. (*) Cavidade cloacal.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Amostras organizadas em meses.....	25
Tabela 2 – Porcentagens de cada composto encontrado nas quatro amostras de fêmeas de <i>Tropidurus torquatus</i> . Os compostos exclusivos de fêmeas estão em negrito. RT – tempo de retenção.....	30
Tabela 3 – Porcentagens de cada composto encontrado nas seis amostras de machos de <i>Tropidurus torquatus</i> . Os compostos exclusivos de machos estão em negrito. RT – tempo de retenção.....	31
Tabela 4 – Média dos diâmetros glandulares registrados em fêmeas.....	33
Tabela 5 – Média dos diâmetros glandulares registrados em machos.....	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	19
4 RESULTADOS	28
5 DISCUSSÃO	34
5 CONCLUSÃO	41
6 REFERÊNCIAS	42
APÊNDICE A – PERFIS CROMATOGRÁFICOS	48

1 INTRODUÇÃO

A ordem Squamata, pertencente à classe Sauropsida, abrange o grupo Iguania, composto por cinco famílias (Iguanidae, Hoplocercidae, Tropicuridae, Polychrotidae e Leiosauridae) e o grupo Scleroglossa que inclui as serpentes, anfisbenas e as famílias de lagartos Teiidae, Gymnophthalmidae, Scincidae, Gekkonidae e Anguidae (SILVA; ARAÚJO, 2008). A família Tropicuridae, portanto, está incluída dentro da ordem Squamata, no grupo Iguania, e contém de nove a doze gêneros. São lagartos de tamanho pequeno a moderado (SILVA; ARAÚJO, 2008).

A biologia reprodutiva de répteis Squamata inclui diversos aspectos, como: modos reprodutivos, ciclos reprodutivos, fecundidade, idade e tamanho na maturidade sexual, dimorfismo sexual, acasalamento e comportamento na reprodução (SEIGEL; FORD, 1987 apud ALMEIDA-SANTOS et al., 2014). Para o estudo do ciclo reprodutivo é necessário o conhecimento sobre a gametogênese, crescimento folicular, acasalamento, estocagem de esperma, ovulação, gravidez/gestação e época de nascimento de filhotes (ALMEIDA-SANTOS et al., 2014), sendo esses eventos parte das estratégias reprodutivas da espécie, que são um conjunto de adaptações que permite a sobrevivência ao meio e a condições particulares do ambiente (FERREIRA et al., 2011). Entender essas adaptações permite identificar populações que indiquem mudanças ambientais (FERREIRA et al., 2011). Também dentre as estratégias reprodutivas de Squamata existem os feromônios, que são hormônios secretados por glândulas exócrinas (ESCOBAR et al., 2001), com papel importante na comunicação química intraespecífica (KHANNON; EL-GENDY; HARDIGE, 2011). Esse tipo de comunicação é bastante utilizado nas famílias de répteis da ordem Squamata, e tem um importante papel social e na reprodução, permitindo que os indivíduos de uma espécie sejam capazes de se reconhecer (ALBERTS, 1990; COOPER, 1994). Apesar disto, há poucos estudos que investiguem a composição química dos feromônios (qualitativa e quantitativamente) e o papel dessas secreções neste grupo (KHANNON; EL-GENDY; HARDIGE, 2011; COOPER, 1994), especialmente entre os lagartos (RAMIRO, 2015).

Em algumas famílias de lagartos, observou-se que os feromônios permitem que os machos identifiquem outro indivíduo como sendo macho ou fêmea, e em caso de fêmea, se esta se encontra em época reprodutiva, se é receptiva ou não (COOPER; MELLADO, 2002). Também permitem a diferenciação entre fêmeas de

sua espécie e de outras espécies, evitando dessa forma desperdícios em esforços reprodutivos (COOPER; MELLADO, 2002). Os feromônios também são importantes para marcação de território (ALBERTS, 1992) e reconhecimento sexual (KHANNOON et al., 2010) entre os lagartos. Embora a comunicação por feromônios seja evidente em muitas famílias de lagartos (COOPER, 1994), até o momento não há estudos nesse campo na família Tropicuridae.

Entre os Squamata, várias espécies possuem glândulas epidérmicas que podem estar relacionadas com a produção de feromônios, e que constituem uma característica importante nesses répteis (JARED et al., 1999). Os principais locais em que os lagartos produzem esses compostos químicos são a cloaca, os poros pré-cloacais e os poros femorais (ESCOBAR et al., 2001; IMPARATO et al., 2007). As glândulas epidérmicas femorais, que se abrem nos poros femorais, estão presentes em muitas famílias de lagartos (ALBERTS, 1990), mas estão ausentes na família Tropicuridae (RODRIGUES, 1986), bem como os poros pré-cloacais. No entanto, não há estudos sobre a presença de glândulas na região cloacal de espécies dessa família. No estudo de Cole (1966a) observou-se que as glândulas femorais de lagartos da espécie *Crotaphytus collaris* são evidentes nos estágios embrionários, mas elas apenas se tornam ativas quando o indivíduo atinge a maturidade sexual. Além disso, a atividade dessas glândulas atinge seu pico durante a época de acasalamento (COLE, 1966b), sugerindo que esses feromônios tenham um papel importante na reprodução (ALBERTS, 1990).

Alberts (1990) realizou a análise química das secreções das glândulas femorais de *Dipsosaurus dorsalis* (Iguanidae), identificando que elas são compostas por 80% de proteínas e 20% de material lipídico, e que esse material lipídico atuaria como feromônios, mas também é possível que as proteínas tenham a mesma função comunicativa ou apenas atuem como uma matriz para manter os lipídios. Já no estudo um pouco mais detalhado acerca da composição química das secreções glandulares de lagartos do gênero *Liolaemus*, de Escobar e colaboradores (2001), foi encontrado um total de 49 compostos que pertenciam a três famílias principais: n-alcanos, ácidos carboxílicos e esteroides. Colesterol e três tipos de ácidos carboxílicos foram encontrados em todas as espécies analisadas. Os autores supõem que os lagartos depositam no substrato uma determinada quantidade de feromônios que permita a sua comunicação com outras espécies, entretanto a duração desses feromônios no

substrato depende da volatilidade dos compostos e do clima no local. Portanto, a composição da secreção pode ter relação com o clima do local, de modo a produzir maiores quantidades de secreção ou secreções menos voláteis e quimicamente mais estáveis.

As espécies do gênero *Tropidurus* (família Tropiduridae) estão distribuídas na América do Sul continental (RODRIGUES, 1987). A espécie *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) (figura 1), da família Tropiduridae, se encontra amplamente distribuída no Brasil, sendo encontrada no litoral, entre os estados do Rio de Janeiro e Bahia, no Arquipélago de Abrolhos (Bahia), e também no interior do país, desde o Paraná até os estados de Mato Grosso e Goiás, incluindo todos os estados do Sudeste (RODRIGUES, 1987; ARRUDA; ARRUDA; CECHIN, 2008). São comuns em áreas abertas, apresentam hábitos forrageiros diurnos e onívoros, e geralmente com ciclo reprodutivo sazonal (FERREIRA et al., 2011). Essa sazonalidade na reprodução pode estar associada à liberação de feromônios, em determinados períodos, que influenciam na comunicação entre os indivíduos e conseqüentemente nos eventos reprodutivos. Nos lagartos desse gênero, no entanto, não se observam poros pré-cloacais ou femorais (RODRIGUES, 1986). É possível que, nas espécies desse gênero, haja a presença de glândulas secretoras de feromônios na cavidade cloacal, ou glândulas epidérmicas com poros inconspícuos, o que até o momento não foi analisado.



FONTE: ÁVILA, A.C.

Figura 1: *Tropidurus torquatus*.

Dada a falta de conhecimentos sobre feromônios nos répteis da ordem Squamata, incluindo a espécie *Tropidurus torquatus* (Tropiduridae), na literatura, se faz necessário esse estudo para que possamos conhecer melhor o comportamento reprodutivo dessa espécie, contribuindo dessa forma com o desenvolvimento de estratégias de conservação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar a ocorrência e características da produção de feromônios em répteis da espécie *Tropidurus torquatus*.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar a composição química da secreção cloacal;
- Analisar a produção de feromônios quanto à sazonalidade;
- Verificar a existência de glândulas na região pré-cloacal por meio de análises histológicas;
- Discutir quais são as possíveis influências dos feromônios na reprodução da espécie, considerando o ciclo reprodutivo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local de estudo

As coletas foram realizadas em Avaré, cidade do interior de São Paulo, sudeste do Brasil, caracterizada por apresentar clima subtropical, com uma estação seca e outra chuvosa, sendo observados os menores índices pluviométricos no meio do ano (PEEL et al, 2007). Na região são observados fragmentos de mata estacional semidecidual, de cerrado e de mata ciliar (JORGE, MOREIRA, 2000).

A espécie *Tropidurus torquatus* tem hábito forrageiro (SCHOENER, 1971), e pode ser encontrada em locais abertos e com substrato rochoso (RODRIGUES, 1987). Sendo assim, as coletas foram realizadas uma vez por semana, durante nove meses (agosto de 2018 a maio de 2019) no bairro Vila Cidade Jardim, onde há uma estação de trem desativada ($23^{\circ}06'41.8''S$ $48^{\circ}55'37.3''W$) (figura 2) que apresenta características propícias para ocorrência dos lagartos *T. torquatus*, como o substrato rochoso (figura 4). Outros dois estudos anteriores com a espécie já foram realizados nesse mesmo local (ÁVILA, 2017; FIORAVANTE, 2017), de modo que é conhecida a ocorrência de uma população naquela área.

Nas figuras 4 a 7 são mostrados os principais pontos de coleta e observação da espécie utilizados neste estudo.



FONTE: Google maps. Disponível em: <<https://www.google.com/maps/@-23.1114009,-48.9270522,382m/data=!3m1!1e3!5m1!1e4>> Acesso em: 03, nov. 2019.

Figura 2: Localização dos principais pontos de coleta e observação em campo de *Tropidurus torquatus* no bairro Vila Cidade Jardim, em estação de trem desativada.

O ponto A (figura 2) foi o ponto onde foi possível coletar todos os espécimes, por conta da facilidade em captura-los, por estarem em cima de um muro (figura 3).



FONTE: ÁVILA, A.C.

Figura 3: *Tropidurus toquatus* termorregulando em cima do muro (ponto de coleta A).



FONTE: ÁVILA, A.C. e ROBERTO, N.G.A.

Figura 4: Ponto de observação D.



FONTE: ÁVILA, A.C. e ROBERTO, N.G.A.
Figura 5: Pontos de observação F e G.



FONTE: ÁVILA, A.C. e ROBERTO, N.G.A.
Figura 6: Ponto de observação C.



FONTE: ÁVILA, A.C. e ROBERTO, N.G.A.
Figura 7: Principais pontos de coleta (A e B).

3.2. Obtenção de amostras

As coletas ocorreram no período da manhã (9h às 12h) ou no período da tarde (14h às 18h). A busca pela espécie foi visual e a captura manual. Aqueles que foram coletados foram medidos e identificados como macho ou fêmea por meio do dimorfismo sexual presente nessa espécie (figura 8): a presença de manchas de cor escura na região ventral em machos e ausência dessas manchas nas fêmeas (PINTO, 2005). Em seguida, os espécimes passaram pelo método de esfregaço na região cloacal (figura 9) para coleta de secreções (RAMIRO, 2015). Esse método foi escolhido por conta da impossibilidade de se coletar plugs de secreções como em outras espécies de Squamata com poros femorais (RAMIRO, 2015). Após isso, os indivíduos foram liberados no mesmo local de captura.



FONTE: ÁVILA, A.C.

Figura 8: Dimorfismo sexual presente na espécie. (A) Indivíduo macho com machas melânicas na parte ventral dos membros inferiores. (B) Indivíduo fêmea.



FONTE: ROBERTO, N.G.A.

Figura 9: Esfregaço cloacal realizado em um indivíduo macho da espécie *Tropidurus torquatus*.

No início das coletas foram usados hastes flexíveis (swab) para o esfregaço cloacal, entretanto nas amostras em que estes swabs foram usados o resultado da análise química foi prejudicado, pois apareceram diversos compostos derivados do plástico (presente no swab). Portanto, para melhores resultados usamos pinças com a ponta envolta em algodão (figura 10) que foi lavado com n-hexano em um Extrator de Óleos e Graxas Soxhlet (figura 11), assim como as pinças também foram esterilizadas com n-hexano, de modo a evitar interferência nas análises químicas.



FONTE: ROBERTO, N.G.A.

Figura 10: Pinça com ponta em envolta em algodão usada para os esfregaços cloacais.



FONTE: ROBERTO, N.G.A.

Figura 11: Extrator de óleos.

3.3. Preparação das amostras

As secreções coletadas de cada indivíduo foram dissolvidas em n-hexano, e as amostras (figura 12) de indivíduos do mesmo sexo que foram coletadas no mesmo mês foram misturadas (tabela 1) para que as amostras apresentassem maior concentração de compostos, pois as secreções liberadas não são sólidas e também não saem em grande quantidade.

Tabela 1: Amostras organizadas em meses.

AMOSTRA	MÊS	Nº DE INDIVÍDUOS	SEXO
1	set/18	1	Macho
2	out/18	2	Macho
3	nov/18	1	Fêmea
4	jan/19	2	Fêmea
5	jan/19	2	Macho
6	mar/19	4	Fêmea
7	mar/19	4	Macho
8	mar/19	1	Macho
9	abr/19	1	Fêmea
10	abr/19	2	Macho



FORNE: ROBERTO, N.G.A.

Figura 12: Amostras de cada indivíduo dissolvidas em n-hexano.

3.4. Cromatografia gasosa e espectrometria de massa

A análise química foi realizada em um cromatógrafo gasoso (CG) Thermo Scientific modelo Trace 1300 (figura 13), acoplado a um espectrômetro de massas modelo ISQ, com fonte de ionização do tipo EI a 70 eV e analisador de M/Z tipo single quadrupolo, utilizando hélio como gás de arraste em uma coluna TR-5MS de 30m x 0,25 mm ID e 0,25 µm de 5% difenil / 95% dimetil polisiloxano, que consiste em um equipamento que utiliza a técnica da cromatografia para fazer a separação de moléculas presentes em misturas. As secreções coletadas foram misturadas a um solvente, sendo ele o n-hexano, e então armazenadas a -18°C até o momento da análise. Posteriormente foi injetado 1µl de cada amostra no CG para análise do perfil cromatográfico. O programa de temperatura foi o seguinte: 50°C por 5 min, seguido de elevação de 5°C / min até 320°C. Esse processo permitiu identificar substâncias presentes nas secreções coletadas. Considerando os dados de coleta de cada amostra, foi possível determinar em quais períodos do ano cada substância pôde ser observada ou uma variação de compostos nas estações do ano. Foi então produzido um gráfico com os meses do ano no eixo X e as porcentagens médias de cada substância registrada nas secreções no decorrer das estações no eixo Y, possibilitando dessa forma verificar a sazonalidade na produção dos feromônios. Para se testar a sazonalidade dos compostos foi feita uma Análise de Variância (ANOVA). Também foi feita a comparação entre as secreções de machos e fêmeas quanto à composição, identificando compostos em comum e exclusivos de cada sexo.

Os dados obtidos com as análises químicas e com o teste para sazonalidade dos feromônios foram comparados com estudos já publicados sobre a fisiologia reprodutiva de Squamata e sobre o ciclo reprodutivo da espécie em estudo, para discussão sobre as possíveis influências dos feromônios na reprodução da espécie, ressaltado que há estudos sobre a fisiologia reprodutiva e comportamento dos lagartos *Tropidurus torquatus* na mesma localidade deste estudo.



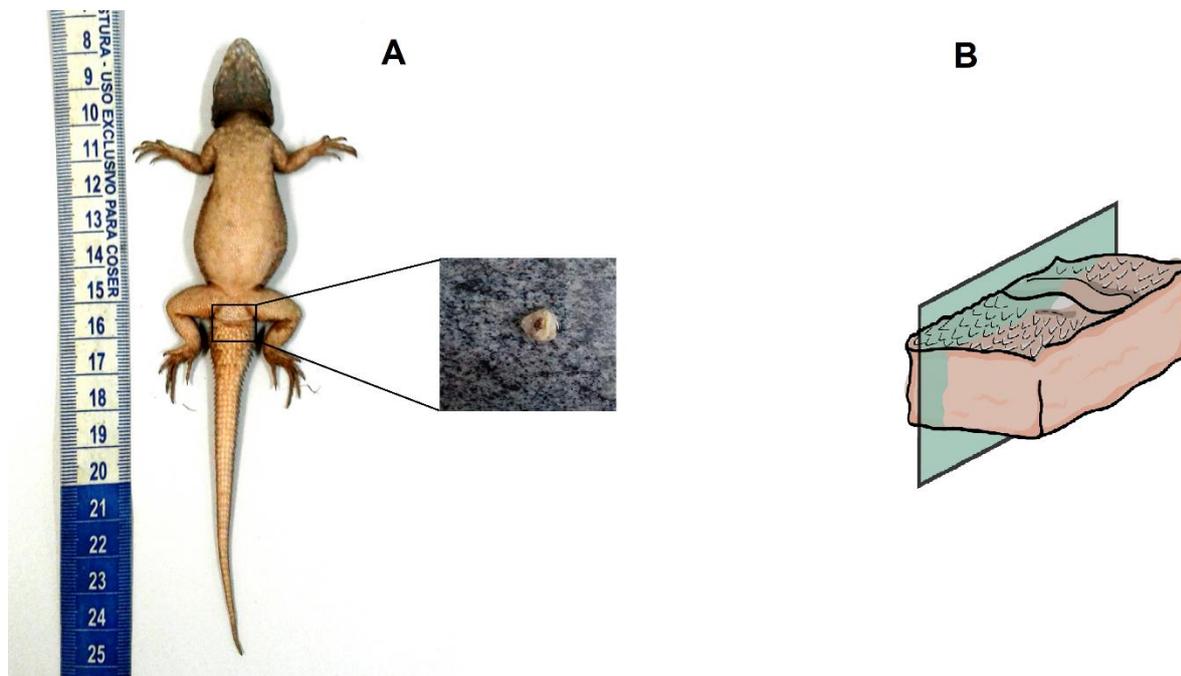
FONTE: ROBERTO, N.G.A.

Figura 13: Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massa.

3.5. Histologia da região cloacal

Durante o estudo foi feita a análise histológica da região pré-cloacal (figura 14) de dois machos e duas fêmeas *T. torquatus* disponíveis na coleção zoológica do IFSP – Campus Avaré, sendo um macho coletado no mês de julho e outro no mês de setembro de 2017, e uma fêmea coletada no mês de agosto e outra no mês de outubro de 2017. Os espécimes haviam sido fixados em formaldeído 10% e encontram-se conservados em etanol 70%. As amostras coletadas foram alocadas em frascos com etanol 70% e enviadas ao laboratório de análises clínicas veterinárias VETPAT, em Campinas (SP), para produção das lâminas. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina, e então analisados. Para as análises foi utilizado microscópio trinocular Zeiss® com câmera e software de captura de imagens Axio Vision®, para obtenção de fotos dos cortes e medidas das estruturas observadas. Para testar a variação de diâmetro das glândulas das fêmeas e machos entre os meses de amostragem, foi feita uma média de diâmetro dessas glândulas em cada

um dos meses amostrados meses e feita a análise estatística (ANOVA) para testar se há variação significativa.



FONTE: ÁVILA, A.C. e ROBERTO, N.G.A.

Figura 14: (A) Representação da região da cloaca retirada para histologia. (B) Representação do corte histológico.

4 RESULTADOS

4.1. Amostras coletadas

Durante os meses de setembro de 2018 a abril de 2019 foram coletados 52 indivíduos da espécie *Tropidurus torquatus*, sendo 30 fêmeas e 22 machos. As coletas de alguns meses, como agosto e setembro, foram dificultadas pelas condições climáticas de muitas chuvas e tempo nublado, e conseqüentemente pouca atividade dos *T. torquatus*. Além disso, grande parte das amostras já coletadas não foram analisadas por conta de problemas referentes ao uso do laboratório em que as amostras estavam guardadas, fazendo com elas se perdessem e impedindo sua análise.

4.2. Análise química

O resultado da análise química é correspondente a amostras de fêmeas coletadas em novembro de 2018 e janeiro, março e abril de 2019, e amostras de machos coletados em setembro e outubro de 2018 e janeiro, março e abril de 2019.

Os perfis cromatográficos obtidos fora analisados, vide anexo A com imagens de alguns perfis. Da análise foi possível identificar 27 compostos diferentes ao total, pertencendo a diferentes classes, sendo 16 alcanos, 1 composto artefato do equipamento (Silane), 1 aldeído (dodecanal), 1 fenol, 3 ácidos graxos (ácido oleico, ácido dodecanóico e ácido hexadecanóico), 1 benzeno, 2 plastificantes, 1 ácido carboxílico (ácido hexanedióico) e 1 composto não identificado.

Como é possível observar nas tabelas 2 e 3, dos 27 compostos encontrados, 23 aparecem tanto em machos quanto em fêmeas, 3 aparecem apenas em fêmeas (ácido hexadecanóico, ácido oleico e alcano c23) e 2 apenas em machos (alcano c24 e ácido dodecanóico). O plastificante de tempo de retenção 57,84 e 57,97 encontrado aparece em quantidade significativa em duas das 4 amostras de fêmea e em uma amostra de macho, já o plastificante de tempo de retenção 50,73 está presente em todas as amostras de fêmeas (em baixas quantidades) e em duas amostras de macho. O composto não identificado (RT = 57,87) aparece em quantidade significativa em duas amostras dos machos e em uma amostra de fêmea.

O fenol está presente em todas as amostras, tanto em machos como em fêmeas. O ácido graxo (ac. Hexadecanóico) apareceu apenas em duas amostras (novembro e março) de fêmeas. O ácido oleico apareceu somente em uma amostra (novembro) de fêmea. O squalene (alcano C30) apareceu em três das quatro amostras de fêmea (novembro, março e abril) e em quatro das seis amostras de macho (outubro, janeiro, março e abril). O ácido hexanedióico aparece em três amostras de fêmeas (janeiro, março e abril) em grande quantidade e em cinco de seis amostras dos machos (outubro, janeiro, março e abril), sendo quatro delas em grande quantidade.

Tabela 2: – Porcentagens de cada composto encontrado nas quatro amostras de fêmeas de *Tropidurus torquatus*. Os compostos exclusivos de fêmeas estão em negrito. RT – tempo de retenção (min).

RT - MÉDIO	COMPOSTOS	Nov/18	Jan/19	Mar/19	Abr/19
58,87	Benzeno	8,8	-	-	-
7,66	Alcano C11	0,45	0,89	0,39	0,49
10,02	Alcano C13	2,64	0,76	0,25	0,19
18,67	Alcano C14	0,65	2,69	1,3	0,3
19,83	Alcano C15	9,69	6,29	3,03	3,18
26,78	Alcano C16	7	3,18	0,58	0,61
27,65	Alcano C17	1,8	0,82	1,04	0,22
33,12	Alcano C18	0,63	1,39	0,98	0,3
40,38	Alcano C19	0,7	-	-	1,13
36,41	Alcano C20	2,42	4,73	1,1	0,23
32,20	Alcano C21	17,88	1,58	0,5	0,5
52,6	Alcano C23	-	0,15	0,11	0,06
35,75	Alcano C27	9,28	5,7	3,75	2,13
64,09	Alcano C30	0,64	-	1,69	0,31
3,875	Alcano C8	4,62	-	-	0,01
2,975	Alcano C9	0,55	0,13	0,06	0,03
57,84	Plastificante	-	-	10,7	10,4
57,87	NI	-	8,52	-	-
22,10	Dodecanal (aldeído)	0,51	0,26	28	0,17
40,52	Ácido hexadecanóico (ácido graxo)	0,44	-	0,42	-
53,85	Ácido hexanedióico	-	54,3	66,42	76,04
62,2	Ácido oleico (ácido graxo)	0,75	-	-	-
27,00	Phenol	1,3	1,33	1,59	0,42
11,65	Silane (artefato)	1,15	0,83	0,33	0,33
50,73	Plastificante	0,26	1,21	2,04	1,64

Tabela 3: Porcentagens de cada composto encontrado nas seis amostras de machos de *Tropidurus torquatus*. Os compostos exclusivos de machos estão em negrito. RT – tempo de retenção (min).

RT - MÉDIO	COMPOSTO	Set/18	Out/18	Jan/19	Mar/19	Mar/19	Abr/19
40,34	Benzeno	66,53	18,93	-	-	-	-
7,96	Alcano C11	-	1,93	0,07	-	-	0,3
9,15	Alcano C13	0,73	3,85	1,41	0,65	0,15	0,54
19,79	Alcano C14	-	5,85	0,44	0,1	0,47	1,24
18,85	Alcano C15	0,51	15,39	1,93	2,69	0,36	1,62
24,41	Alcano C16	10,84	5,92	2,99	2,31	-	0,88
30,24	Alcano C17	-	-	1,19	0,42	-	-
32,64	Alcano C18	-	1,78	1,36	0,76	-	0,45
35,12	Alcano C19	1,25	1,22	-	-	-	0,42
34,46	Alcano C20	0,65	5,35	0,49	1,24	0,3	1,13
40,08	Alcano C21	4,32	0,95	3,81	0,99	0,21	0,81
45,99	Alcano C24	0,98	1,01	0,47	-	-	0,21
38,40	Alcano C27	-	17,85	6,08	2,59	0,32	2,26
64,07	Alcano C30	-	0,74	0,33	0,67	-	0,26
3,76	Alcano C8	2,11	0,54	-	-	-	-
3,22	Alcano C9	-	3,36	0,03	0,06	-	0,01
57,97	Plastificante	-	-	-	-	7,91	-
57,87	NI	-	-	18,87	9,44	-	9,33
22,19	Dodecanal (aldeído)	-	-	0,34	0,15	-	0,15
30,23	Ácido dodecanóico (ácido graxo)	-	1,09	-	-	-	-
53,95	Ácido hexanedióico	-	1,02	51,67	72,94	85,67	75,77
27,21	Phenol	0,55	2,51	1,03	0,56	0,28	0,44
11,88	Silane (artefato)	0,39	1,98	0,75	0,37	-	0,3
50,75	Plastificante	-	-	2,26	1,52	-	1,52

Durante as análises do perfil cromatográfico foram selecionados apenas os picos mais evidentes ou aqueles que apresentaram maior confiabilidade na identificação dos compostos, dessa forma a soma das porcentagens de cada

composto em uma amostra não resultará 100 %, já que não foram analisados todos os picos.

Não foram observadas variações da porcentagem de cada composto entre as amostras de fêmeas ao longo dos meses ($p=0,94$), e entre as amostras de machos também não foi possível observar tal variações da porcentagem ($p=0,99$).

Na comparação entre os sexos, observamos que a maioria dos compostos aparecem em comum tanto em machos como em fêmeas, porém em diferentes porcentagens, como é possível observar na figura 15. O ácido hexadecanóico, o alcano de 23 carbonos e o ácido oleico aparecem apenas nas fêmeas e o ácido dodecanóico e o alcano de 24 carbonos apareceram somente em machos.

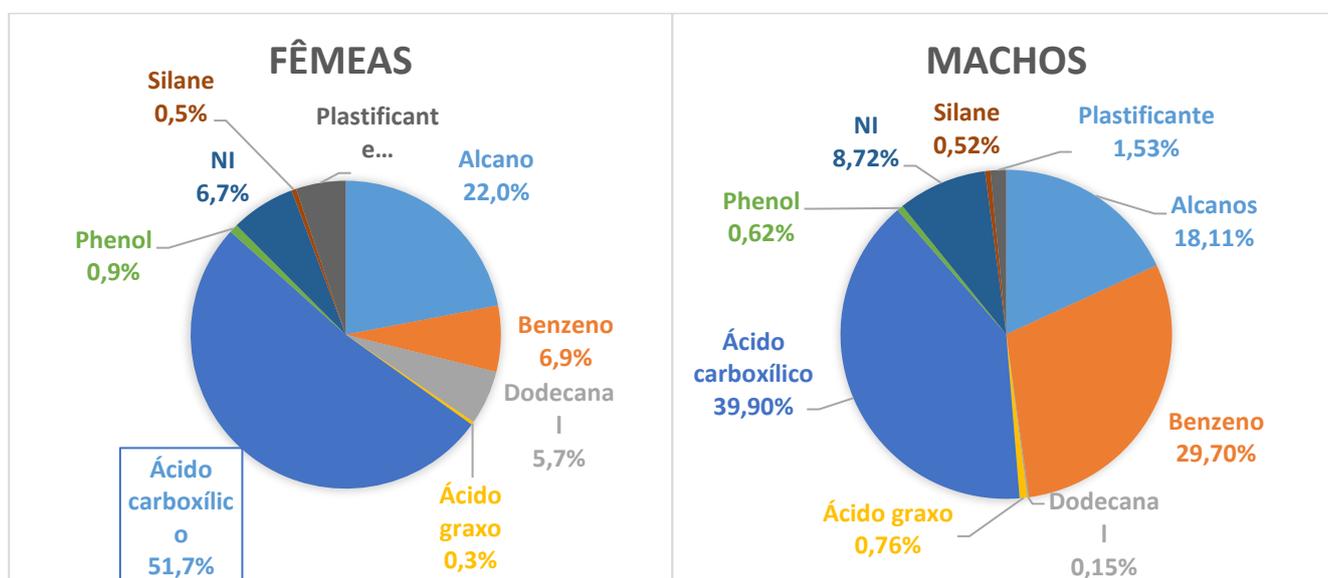


Figura 15. Porcentagens de cada classe de compostos químicos encontrados, separados por sexo.

4.3. Análise histológica

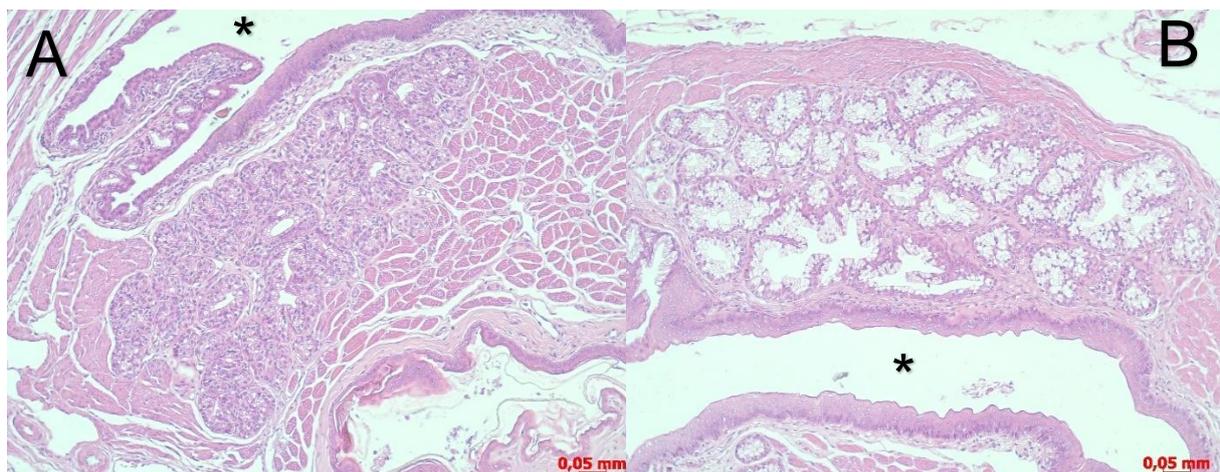
O resultado dessa análise é correspondente a quatro amostras de tecido da região cloacal de *Tropidurus torquatus* presentes na coleção zoológica do IFSP – Campus Avaré, sendo duas delas de machos, um coletado no mês de julho de 2018 e outro no mês de setembro de 2018, e duas de fêmeas, coletadas em agosto e outubro de 2018.

4.3.a Fêmeas

Nos cortes histológicos das duas fêmeas analisadas foi possível observar regiões do tecido em que há uma concentração de glândulas acinosas em locais próximos à cavidade cloacal, como é possível observar na figura 16. Foi possível notar também uma diferença no diâmetro médio das glândulas entre as duas amostras. Para testar a variação de diâmetro das glândulas das fêmeas e machos entre os meses de amostragem, foi feita uma média de diâmetro dessas glândulas em cada um dos meses amostrados (tabelas 4 e 5) e feita a análise estatística (ANOVA) para testar se há variação significativa.

Tabela 4: Média dos diâmetros glandulares registrados em fêmeas.

Fêmea – Agosto 2017	Fêmea - Outubro 2017
0,008 mm	0,027 mm



FORNTE: ROBERTO, N.G.A., 2019

Figura 16. Microscopia óptica mostrando região próxima a cavidade cloacal com glândulas acinosas. (A) Fêmea de agosto de 2017. (B) Fêmea de outubro de 2017. (*) Cavidade cloacal.

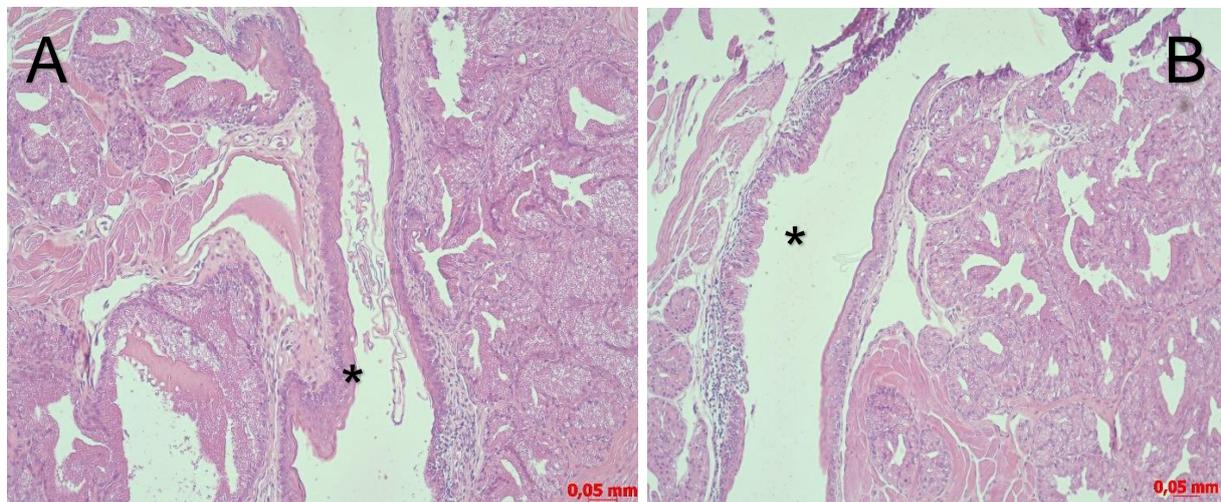
A variação no diâmetro médio das glândulas entre os meses de agosto e outubro de 2017 mostrou-se significativa ($p=0,0004$), conforme resultado obtido por ANOVA.

4.3.b Machos

Nas duas amostras analisadas dos machos também foi possível observar regiões do tecido em que há uma concentração de glândulas acinosas em locais próximos à abertura e canal cloacal, como indicado na figura 17.

Tabela 5: Média dos diâmetros glandulares registrados em machos.

Macho – Julho 2017	Macho – Setembro 2017
0,0269 mm	0,0260 mm



FONTE: ROBERTO, N.G.A., 2019

Figura 17. Microscopia óptica mostrando região próxima a cavidade cloacal com glândulas acinosas. (A) Macho de julho de 2017. (B) Macho de setembro de 2017. (*) Cavidade cloacal.

Diferente das fêmeas, os machos não apresentaram variação significativa no diâmetro médio das glândulas entre os meses de julho e setembro ($p=0,44$), conforme resultado obtido por ANOVA.

5 DISCUSSÃO

Os machos de *T. torquatus* apresentam hábito territorialista para proteger seus haréns e territórios, podendo-se observar essas características em comportamentos como a flexão da cabeça (CARREIRA et. al, 2005). Apesar de os machos ficarem mais expostos por conta desse comportamento, as fêmeas foram as mais coletadas. Esse resultado pode se dever ao fato de a espécie apresentar haréns (CARREIRA et. al, 2005), ou seja, um macho “cuida” de várias fêmeas. As coletas ocorreram principalmente na localidade do ponto A (figura 7), essa localidade apresenta uma área pequena, dessa forma, se nesse local há dois machos, por exemplo, haverá pelo menos três fêmeas para cada macho, portanto a população presente nesse habitat apresentará mais fêmeas do que machos.

Durante o período de coleta e observação, também foi possível observar comportamentos como abrir a boca, arquear a região dorsal, permanecer estático,

cabecear (movimentos para cima e para baixo com a cabeça), flexionar (flexão e distensão dos membros anteriores), inflar a região gular, levantar a cauda (inclusive em fêmeas na presença do macho) e lambida de inspeção (no substrato ou em outro indivíduo), tais comportamentos também são mencionados por Ávila (2017) e Scandelai (2005). Destacamos que as observações feitas por Ávila (2017) foram feitas com a mesma população do presente estudo.

Scandelai (2005) em seu trabalho com *Tropidurus torquatus* evidencia que alguns desses comportamentos, antes mencionados, aparecem também no ritual de corte, como por exemplo a lambida de inspeção. No presente estudo a lambida de inspeção, realizada pelo macho e o levantamento da cauda, realizado pela fêmea foram observados em grande quantidade no mês de outubro, mês que coincide com o período reprodutivo da espécie (ARRUDA, 2009). Esse comportamento apresentado pelo macho permite que verifique o estado reprodutivo das fêmeas (SCANDELA, 2005) como também permite que identifique substâncias no substrato, através do órgão vomeronasal (POUGH; JANIS; HEISER, 2008).

Os Squamata são caracterizados muitas vezes por apresentar a reprodução sazonal (PIZZATTO; ALMEIDA-SANTOS; MARQUES, 2007), permitindo que reservem recursos e se reproduzam somente em períodos de condições ambientais favoráveis para desenvolvimento da prole, como a disponibilidade de fonte de energia (CAMPBELL; REECE, 2012). Os *T. torquatus* apresentam variação na reprodução ao longo do ano, segundo dados de estudos de Arruda (2009) e Ávila (2017). Arruda (2009) em seu estudo com os espécimes do sul do Brasil no bioma Pampa, observou que as fêmeas apresentavam atividade reprodutiva durante os meses de setembro a janeiro, sendo seu ápice no mês de outubro, enquanto os machos produziam espermatozoides por todo o ano, mas com mudança no volume testicular no período de reprodução das fêmeas, atribuindo a produção de espermatozoides no ano todo como restos do período reprodutivo e consequência da produção de testosterona (importante no comportamento territorialista). Enquanto que o estudo de Ávila (2017), que ocorreu na mesma localidade do presente estudo e que apresentou análises histológicas dos ovidutos de fêmeas e gônadas e ductos genitais de machos, foi observado que os machos apresentaram aumento testicular ao longo dos meses e esse aumento foi maior no mês de setembro. Naquele estudo, foi ainda observado que todas fêmeas coletadas no período de estudo (maio a outubro) apresentaram

folículos em vitelogênese secundária, sendo o maior folículo observado no mês de outubro.

O fato de os *Tropidurus torquatus* apresentarem reprodução sazonal torna a comunicação química um possível fator de influência, pois através dos feromônios liberados e do órgão vomeronasal os indivíduos podem identificar a época reprodutiva, além de comunicar-se (SCANDELAI, 2005; POUGH; JANIS; HEISER, 2008).

Na maior parte dos estudos sobre caracterização química de secreções glandulares, cloacais e epidérmicas, os compostos comumente encontrados são os lipídios, esteroides, ácidos graxos e ácidos carboxílicos (ALBERTS, 1990; ESCOBAR et. al, 2001; LOPÉZ E MARTÍN, 2005), compostos estes que também foram encontrados no presente trabalho, porém em baixas porcentagens. Essa baixa porcentagem pode ser explicada pela dificuldade de se obter quantidades massivas de secreções cloacais de répteis pequenos, dificuldade também citada no trabalho de Kummrow e colaboradores (2010), dessa forma justifica-se a necessidade de haver mais de um indivíduo em uma mesma amostra.

Entre as amostras analisadas, foram obtidos 27 compostos químicos distintos. Nas fêmeas, as amostras dos meses de janeiro, março e abril apresentam grande abundância do ácido hexanedióico, enquanto na amostra do mês novembro há maior porcentagem de alcanos. Nos machos as amostras de janeiro, março e abril apresentam grande quantidade do ácido hexanedióico, enquanto nas amostras de setembro e outubro há grande quantidade de benzeno e alcanos.

O fenol é um cristal incolor ou branco e tem odor característico (GOULART, 2012). Essa substância apareceu entre os compostos das amostras analisadas e também foi encontrado no trabalho de Simpson et. al (1993) ao analisar a secreções de glândulas de cheiro da jiboia *Acrantophis dumerili* Jan, 1860, sendo um composto volátil. Não se sabe a exata função do fenol, mas as características de volatilidade e odor próprio são favoráveis para compostos que atuam como feromônios, pois permitem sua dispersão e sua percepção.

Os ácidos graxos estão presentes em muitas formas de vida, onde podem desempenhar diferentes e importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos. São considerados de extrema importância aos organismos vivos pelo fato constituírem componentes fundamentais de rotas

metabólicas específicas, além de apresentar também sua importância energética (MARTIN et al, 2006).

O ácido hexadecanóico, um ácido graxo também conhecido como ácido palmítico, que apareceu somente em duas amostras de fêmeas, é frequente em diversos trabalhos com Squamata (KOPENA, 2009; LOPÉZ; MARTÍN, 2005; LOUW et. al, 2007; GABIROT et. al, 2008; KHANNOON et. al, 2011) aparecendo em quantidades significativas. Esse ácido costuma ser abundante em lagartos (MARTÍN; LOPÉZ, 2013a), porém não se sabe ao certo a função desempenhada por esse composto. No trabalho de Silva (2019) o composto foi encontrado na gordura corporal de *Salvator merianae*, assim como o ácido oleico.

O ácido oleico, que apareceu somente na amostra de fêmea do mês de novembro (época reprodutiva), também foi mencionado por Nicolaidis (1974) como um composto normalmente presente entre tecidos internos e em secreções holócrinas de glândulas exócrinas, afirmando que a presença deste composto sugere a natureza holócrina dessas glândulas. Esse composto também foi presente em trabalhos como de Pruett (2016), que estudou o gênero *Sceloporus*, Louw et. al (2011), que fizeram a caracterização química da secreção de glândulas epidérmicas de *Cordylus giganteus*, e no trabalho de Simpson et. al (1988), na identificação de compostos nas glândulas de cheiro da jiboia *Acrantophis dumerili*.

O ácido hexanedióico (ácido carboxílico), que aparece em grande quantidade na maioria das amostras, só foi apresentado no trabalho de Khannoon (2009) em seu estudo com *Acanthodactylus boskianus*, porém em baixa quantidade, não havendo discussões sobre sua possível função. Entretanto, a ocorrência desse composto pode ser exclusiva de algumas espécies de lagartos, o que pode ser uma explicação para a sua baixa ocorrência entre os trabalhos presentes na literatura.

O ácido dodecanóico, presente apenas em uma amostra de macho, foi identificado no estudo de Ortiz (2019), como um composto que protege ovos de flebotomíneos contra a dessecação, além de estimular a oviposição. Entretanto não se sabe a função desse composto em répteis Squamata.

O squalene (alcano C30) é mencionado no trabalho de Yoder e colaboradores (2003) como um composto liberado por alguns carrapatos como forma de proteção, afastando formigas predadoras. Caso o squalene permaneça com a mesma função nos lagartos, pode ser uma forma de alertar outros indivíduos sobre o perigo, já que todos os indivíduos de *T. torquatus* foram manipulados para a retirada da secreção.

O composto também foi mencionado pelos autores López e Martín (2005) ao analisarem a composição química da glândula pré-cloacal da amphisbena *Blanus cinereus*, pelo autor Simpson et. al (1993) e Louw et. al (2007) na caracterização química de glândulas femorais de *Cordylus giganteus*, Gabirot et. al (2008) com *Lacerta vivipara*, Kopena et. al (2009) no estudo com *Lacerta viridis* e Lopez et. al (2006) no estudo com *Lacerta monticola*.

Os alcanos foram detectados em diferentes trabalhos (ESCOBAR *et al.*, 2001; LABRA *et al.*, 2001, LÓPEZ; MARTÍN, 2005), e hoje são considerados compostos naturais de secreções importantes na comunicação química, pois demoram para serem oxidados, o que permite que permaneçam no substrato por um grande período de tempo (HEMPTINNE *et. al*, 2001).

Os aldeídos (dodecanal) são compostos altamente odoríferos e podem contribuir para a detecção de secreções de glândulas femorais, após o seu depósito no substrato (MARTÍN *et. al*, 2011). A sua presença pode depender do ambiente e do comportamento da espécie (MARTÍN *et. al*, 2011).

O benzeno apareceu nas amostras 1 e 2 de machos e 3 de fêmeas, que foram as únicas amostras que ainda apresentavam o uso de hastes flexíveis para o esfregaço, o que pode sugerir que o composto vem desse material. Assim como os plastificantes, que foram compostos contaminantes nas amostras provindos possivelmente dos swabs ou do próprio frasco onde as amostras foram guardadas (eppendorf).

Foi possível notar que há uma diferença de composição entre os machos e as fêmeas da espécie. As fêmeas apresentam maior proporção de ácidos carboxílicos e aldeído em comparação com os machos. O aldeído, como já mencionado, é altamente odorífero, podendo estar mais presente nas fêmeas exatamente por conta dessa característica, já que as fêmeas precisam sinalizar aos machos quando estão em época reprodutiva, pois apresentam ciclo sazonal (ARRUDA, 2009), para que a cópula possa ocorrer. Já os ácidos carboxílicos, por não haver na literatura discussões sobre sua possível função até o momento, não se pode inferir aqui o porquê de sua maior ocorrência nas fêmeas.

Diferente de outras espécies de Squamata, os *Tropidurus torquatus* não apresentam glândulas femorais (FROST; ETHERIDGE, 1989), órgãos especializados na produção de feromônios (BRENNAN; ZUFALL, 2006), porém esse fato não exclui os tropidurídeos de se comunicar quimicamente, característica presente em muitos

Squamatas (COOPER, 1994). As histologia das estruturas cloacais de lagartos foram pouco estudadas na literatura, entretanto é nesse local que pode haver glândulas que podem produzir feromônios, quando na ausência de um órgão especializado como os poros ou glândulas femorais ou pré-anais presentes em outras espécies. Não foi encontrado na literatura qualquer tipo de estudo histológico da região cloacal na família Tropiduridae, estudo que foi realizado no presente trabalho, encontrando na região cloacal glândulas acinosas que podem atuar na secreção de feromônios nos *Tropidurus torquatus*. No trabalho de De-Lima e colaboradores (2018) foi encontrado um órgão glandular, presente na borda caudal da cloaca, nos lagartos do gênero *Gymnodactylus*, que até então era desconhecido; essa espécie também não apresenta glândulas ou poros femorais.

Quanto à sazonalidade na produção de feromônios, que pode ser um fator importante na reprodução sazonal, não foi observada no presente estudo. A análise estatística usada para testar a sazonalidade dos feromônios demonstra que não podemos afirmar que há uma variação sazonal dos compostos. Esse resultado pode ter sido obtido tanto por conta da falta de amostragem dos outros meses do ano, tanto por conta da baixa quantidade de secreções cloacais obtida através do esfregaço, impedindo que outros compostos fossem identificados ou que houvesse uma variação em suas quantidades. Ressaltamos também que a análise de variação foi de cunho qualitativo, não permitindo que identificássemos a quantidade específica de cada composto ao longo dos meses, já que o resultado que se obtém no perfil cromatográfico é a sua abundância relativa. Entretanto, a análise estatística para testar a variação de diâmetro médio das glândulas observadas nas lâminas de fêmeas demonstra que há uma variação significativa, o que pode indicar que há uma variação no volume de secreção entre os meses. Além disso, a fêmea que apresentou média de diâmetro glandular maior foi coletada no mês de outubro e, segundo Arruda (2009) o ciclo reprodutivo das fêmeas de *T. torquatus* é sazonal, de setembro a janeiro, o que indica que a fêmea em questão estava em época reprodutiva, apresentando maior volume de secreção, enquanto a fêmea do mês de agosto, que não estava em período reprodutivo, apresentou média de circunferência glandular menor. Já nos machos o ciclo não é sazonal, produzem espermatozoides o ano inteiro, apresentando apenas mudança no volume testicular de acordo com a reprodução das fêmeas (ARRUDA, 2009), dessa forma, o resultado obtido na análise estatística, para também testar a variação de diâmetro médio das glândulas observadas nas lâminas

de machos, evidenciou que a variação não é significativa, o que pode estar associado ao ciclo não sazonal dos machos.

Ressaltamos que nenhum estudo presente na literatura com feromônios de répteis Squamata apresentou análise de variação dos compostos ao longo dos meses, o que é importante já que muitas espécies desse grupo apresentam reprodução sazonal (ALMEIDA-SANTOS, et. al, 2014), e os feromônios são um importante aspecto dessa sazonalidade, pois permitem a comunicação química entre os indivíduos indicando a época reprodutiva. No trabalho de Martín e López (2013b) o resultado de um experimento indicou que o perfume (feromônios) dos machos da espécie *Iberolacerta cyreni* atrai as fêmeas para uma determinada área, aumentando as oportunidades de acasalamento. Esse indício reforça a influência dos feromônios na reprodução, principalmente quando ela é sazonal. A variação do diâmetro glandular das fêmeas contribui para a hipótese de que há uma variação nos compostos durante os meses, sendo essa variação maior no período reprodutivo da espécie.

5 CONCLUSÃO

Dessa forma, concluímos que a nossa hipótese sobre a presença de feromônios pode ser reforçada pela presença de compostos como ácidos carboxílicos e ácidos graxos nas análises, comumente presentes em trabalhos com feromônios. Já a hipótese de sazonalidade dos compostos não pode ser observada, entretanto ressaltamos a necessidade de maiores estudos com a espécie, obtendo maior número amostral, para melhor identificar compostos presentes nas secreções de cada mês e dessa forma testar a hipótese, já que ela ainda pode ser válida. Quanto à análise histológica, foi possível confirmar a presença de glândulas exócrinas, sendo elas acinosas, identificando também uma maior atividade dessas glândulas no período reprodutivo, principalmente nas fêmeas, mas ainda ressaltamos a necessidade de diferentes colorações da lâmina para identificar o tipo de secreção dessas glândulas.

6 REFERÊNCIAS

- ALBERTS, A.C. Chemical properties of femoral gland secretions in the desert Iguana, *Dipsosaurus dorsalis*. **Journal of Chemical Ecology**, v.16, n. 1, 13-22, 1990.
- ALBERTS, A.C. Pheromonal self-recognition in desert iguanas. **Copeia**, 229-232, 1992.
- ALMEIDA-SANTOS, S.M.; BRAZ, H.B.; SANTOS, L.C.; SUEIRO, L.R.; BARROS, V.A.; ROJAS, C.A.; KASPEROVICZUS, K.N. Biologia reprodutiva de serpentes: recomendações para coleta e análise de dados. **Herpetologia brasileira**, v.3, No. 1, 14-24, 2014.
- ARRUDA, J. L. S.; ARRUDA, D. A.; CECHIN, S. Z. Reptilia, Squamata, Tropiduridae, *Tropidurus torquatus*: Distribution extension. **Check List**, v.4, n.3, p. 269–271, 2008.
- ARRUDA, J. L. S.; Ecologia de *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) no bioma Pampa, extremo Sul do Brasil. **Tese (mestrado em Biodiversidade Animal) – Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria**, 2009.
- ÁVILA, A.C. Ciclo reprodutivo de *Tropidurus torquatus* (SQUAMATA: TROPIDURIDAE) do sudeste do Brasil. **Trabalho de Conclusão de curso (graduação) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo Campus Avaré**, 2017.
- BRENNAN, P.A. E ZUFALL, F. Pheromonal communication in vertebrates. **Nature**, v.444, 2006.
- CAMPBELL, N. A.; REECE, J. B. **Biologia**. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1464p.
- CARREIRA, S.; MENEGHEL, M.; ACHAVAL, F. **Reptiles de Uruguay**. Montevideo: Universidad de la República Facultad de Ciencias, 2005. 640p.
- COLE, C.J. Femoral gland of the lizards, *Crotaphytus collaris*. **J. Morphol**, v. 118, 119-127, 1966a.
- COLE, C.J. Femoral gland in lizards. **Herpetologica**. v. 22, p. 199-206, 1966b.

- COOPER, W.E. Chemical discrimination by tongue-flicking in lizards: a review with hypotheses on its origin and its ecological and phylogenetic relationships. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, No. 2, 439-487, 1994.
- COOPER JR., W.E.; MELLADO, V.P. Pheromonal discriminations of sex, reproductive condition, and species by the Lacertid lizard *Podarcis hispanica*. **Journal of Experimental Zoology**, v.292, 523-527, 2002.
- DE-LIMA, A.K.S.; DOMINGOS, F.M.C.B.; CHAVES, S.B.; KLACZKO, J. E SEBBEN, A. Caracterização morfoestrutural de uma glândula cloacal de *Gymnodactylus amarali* Barbour, 1925 (Squamata: Phyllodactylidae). **70º reunião anual da SBPC**, Maceió / AL, 2018.
- ESCOBAR, C.A.; LABRA, A.; NIEMEYER, H.M. Chemical composition of precloacal secretions of *Liolaemus* lizards. **Journal of chemical ecology**, departamento de ciencias ecológicas da universidade do Chile, v.27, n. 8, 1677-1690, 2001.
- FERREIRA, A.; KIHARA, V.O.; MEHANNA, M. Reproductive Strategies of Brazilian Lizards of the Genus *Tropidurus* Rodrigues, 1987 (Squamata, Tropiduridae) in the Temporal and Spatial. **Int. J. Morphol**, v.29, No. 4, 1414-1421, 2011.
- FIORAVANTE, V.C. **Efeito da temperatura ambiental e sazonalidade no comportamento termorregutatório de *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) na região de Avaré, interior de São Paulo**. Trabalho de Conclusão de curso (graduação) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo Campus Avaré, 2017.
- FROST, D.R. E ETHERIDGE, R. A phylogenetic analysis and taxonomy of Iguanian lizards (Reptilia: Squamata). **Miscellaneous publications**, n. 81, p. 1-65, 1989.
- GABIROT, M.; LÓPEZ, P.; MARTÍN, J.; FRAIPONT, M.; HEULIN, B.; SINERVO, B.; CLOBERT, J. Chemical composition of femoral secretions of oviparous and viviparous types of male common lizards *Lacerta vivipara*. **Biochemical systematics and ecology**, v. 36, p. 539-544, 2008.
- GOULART, H. F. **Desenvolvimento de feromônios para controle de pragas, novos caminhos de síntese, formulação, imobilização e liberação**

- controlada.** Tese de doutorado na rede nordeste de biotecnologia - Universidade federal de Alagoas, 2012.
- HEMPTINNE, J.L.; LOGNAY, G.; DOUMBIA, M. E DIXON, A.F.G. Chemical nature and persistence of the oviposition deterring pheromone in the tracks of the larvae of the two spot ladybird, *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Chemoecology**, v. 11, p. 43-47, 2001.
- IMPARATO, B. A.; ANTONIAZZI, M. M.; RODRIGUES, M. T.; JARED, C. Morphology of the Femoral Glands in the Lizard *Ameiva ameiva* (Teiidae) and Their Possible Role in Semiochemical Dispersion. **Journal of Morphology**, v. 268, n. 7, p. 636-648, 2007.
- JARED, C.; ANTONIAZZI, M.M.; SILVA, J.R.M.C.; FREYMÜLLER, E. Epidermal Glands in Squamata: Microscopical Examination of Precloacal Glands in *Amphisbaena alba* (Amphisbaenia, Amphisbaenidae). **Journal of Morphology**, v. 241, p. 197-206, 1999.
- JORGE, L. A. B.; MOREIRA, M. P. Padrões da fragmentação do habitat na Cuesta de Botucatu (SP). **Ciência Florestal**, v.10, n.1, p.141-157, 2000.
- KHANNOON, E.R. **Comparative chemical ecology, behaviour, and evolutionary genetics of *Acanthodactylus boskianus* (Squamata: Lacertidae)**. A Phd Thesis - The University of Hull, 2009.
- KHANNOON, E.R.; BREITHAUPT, T.; EL-GENDY, A.; HARDEGE, J. D. Sexual differences in behavioural response to femoral gland pheromones of *Acanthodactylus boskianus*. **Herpetological Journal**, v. 20, p. 225-229, 2010.
- KHANNOON, E.R.; EL – GENDY, A. e HARDIGE, J.D. Scent marking pheromones in lizards: cholesterol and long chain alcohols elicit avoidance and aggression in male *Acanthodactylus boskianus* (Squamata: Lacertidae). **Chemoecology**, v. 21, 143–149, 2011.
- KOPENA, R.; LÓPEZ, P.; MARTÍN, J. Lipophilic Compounds from the Femoral Gland Secretions of Male Hungarian Green Lizards, *Lacerta viridis*. **Z. Naturforsch**, v.64c, p. 434-440, 2009.

- KUMMROW, M.S.; SMITH, D.A.; CRAWSHAW, G.; MASTROMONACO, G.F. Characterization of fecal hormone patterns associated with the reproductive cycle in female veiled chameleons (*Chamaeleo calyptratus*). **General and comparative endocrinology**, v. 168, p. 340-348, 2010.
- LABRA, A.; ESCOBAR, C.A. & NIEMEYER, H.M. Chemical discrimination in *Liolaemus* lizards: comparison of behavioral and chemical data. **Chemical Signals in Vertebrates**, v. 9, p.439-444, 2001.
- LÓPEZ, P.; AMO, L.; MARTÍN, J. Reliable signaling by chemical cues of male traits and health state in male lizards, *Lacerta monticola*. **Journal of chemical ecology**, v.32, n.2, p. 473-488, 2006.
- LÓPEZ, P.; MARTÍN, J. Intersexual differences in chemical composition of precloacal gland secretions of the amphisbaenian *Blanus cinereus*. **Journal of chemical ecology**, v.31, n.12, p. 2913-2921, 2005.
- LOUW, S.; BURGUER, B.V.; ROUX, M.L.; VAN WYK, J.H. Lizard Epidermal Gland Secretions I: Chemical Characterization of the Femoral Gland Secretion of the Sungazer, *Cordylus giganteus*. **Journal of chemical ecology**, v.33, p.1806-1818, 2007.
- LOUW, S.; BURGUER, B.V.; ROUX, M.L.; VAN WYK, J.H. Lizard Epidermal Gland Secretions. II. Chemical Characterization of the Generation Gland Secretion of the Sungazer, *Cordylus giganteus*. **Journal of Chemical Ecology**, 2011.
- MARTIN, C.A.; ALMEIDA, V.V.D.; RUIZ, M.R.; VISENTAINER, J.E.L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E.D. E VISENTAINER, J.V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista nutrição**, v. 19, n.6, 2006.
- MARTÍN, J.; CHAMUT, S.; MANES, M.E. E LÓPEZ, P. Chemical constituents of the femoral gland secretions of male Tegu lizards (*Tupinambis merianae*) (Family Teiidae). **Z. Naturforsch**, v.66, n.7-8, p. 434-440, 2011.
- MARTÍN, J. E LÓPEZ, P. Responses of female rock lizards to multiple scent marks of males: effects of male age, male density and scent over-marking. **Behavioural processes**, v.94, p.109-114, 2013a.

- MARTÍN, J. E LÓPEZ, P. Effects of global warming on sensory ecology of rock lizards: increased temperatures alter the efficacy of sexual chemical signals. **Functional ecology**, v. 27, p. 1332-1340, 2013b.
- NICOLAIDES, N. Skin lipids: their biochemical uniqueness. **Science**, v. 186, p. 19-26, 1974.
- ORTIZ, D.G.S. **Investigação da presença de feromônios em quatro espécies de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e atratividade de caimões humanos em campo**. Tese de doutorado - Universidade estadual de Campinas, 2019.
- PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences Discussions**, v. 11, n. 5, p.1633-1644, 2007.
- PINTO, A.C.S.; WIEDERHECKER, H.C.; COLLI, G.R. Sexual dimorphism in the neotropical lizards, *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae). **Amphibia-Reptilia**, v. 26, 127-137, 2005.
- PIZZATTO, L.; ALMEIDA-SANTOS, S. M.; MARQUES, O. A. V. Biologia reprodutiva de serpentes brasileiras. In: Herpetologia no Brasil II. Primeira Ed. **Sociedade brasileira de Herpetologia**, Belo Horizonte, MG, Brasil, p. 354, 2007.
- POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4ª ed. São Paulo: Atheneu Editora, p. 684, 2008.
- PRUET, J.A.; VEGA, J.J.Z.; CAMPOS, S.M.; et. al. Evolutionary Interactions Between Visual and Chemical Signals: Chemosignals Compensate for the Loss of a Visual Signal in Male *Sceloporus* Lizards. **Journal of chemical ecology**, v. 42, p. 1164-1174, 2016.
- RAMIRO, C. N. **Biologia reprodutiva de três espécies simpátricas de lagartos da família Gymnophthalmidae na região das dunas do rio São Francisco, BA**. 2015. 144 f. Dissertação (mestrado em Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- RODRIGUES, M. T. Um novo *Tropidurus* com crista dorsal do Brasil, com comentários sobre as suas relações, distribuição e origem (Sauria, Iguanidae). **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 36, n. 17, p. 171-179, 1986.

- RODRIGUES, M. T. Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *Torquatus* ao Sul do Rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). **Arquivos de Zoologia**, v. 31, n.3, p. 105–230, 1987.
- SCANDELAI, C. S. **Comportamento territorial e de corte do lagarto *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) na ilha da Marambaia, Estado do Rio de Janeiro**. Monografia (grau em Bacharel) – Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná, 2005.
- SCHOENER, T.W. Theory of feeding strategies. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 2, p. 369-404, 1971.
- SEIGEL, R. A.; FORD, N. B. Reproductive ecology. In: R. A. Seigel, J. T. Collins e S. S. Novak (Eds.), **Snakes: Ecology and Evolutionary Biology**. McMillan, New York, 1987. Pp. 210-252.
- SILVA, T.K.S. **Ação antimicrobiana de gordura corporal do lagarto Téju (*Tupinambis meriana*)**. Monografia (graduação) - Universidade federal rural do semi-árido, Mossoró, 2019.
- SILVA, V.N. E ARAÚJO, A.F.B. **Ecologia dos lagartos brasileiros**. 1º Ed. Rio de Janeiro: Editora Technical Books, p. 271, 2008.
- SIMPSON, J.T.; SHARP, T.R.; WOOD, W.F.; WELDON, P.J. Further analysis of lipids from the scent gland secretions of Dumeril's ground boa (*Acrantophis dumerili* Jan). **Z. Naturforsch**, v.48c p. 953-955, 1993.
- SIMPSON, J.T.; SHARP, T.R.; WELDON, P.J. Identification of Major Lipids from the Scent Gland Secretions of Dumeril's Ground Boa (*Acrantophis dumerili* Jan) by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Z. Naturforsch**, v.43v, p. 914-917, 1988.
- YODER, J.A. E DOMINGUS, J.L. Identification of hydrocarbons that protect ticks (Acari: Ixodidae) against fire ants (Hymenoptera: Formicidae), but not lizards (Squamata: Polychrotidae), in an allomonal defense secretion. **Internat. J. Acarol.**, v. 29, n. 1, 2003.

APÊNDICE A – PERFIS CROMATOGRÁFICOS

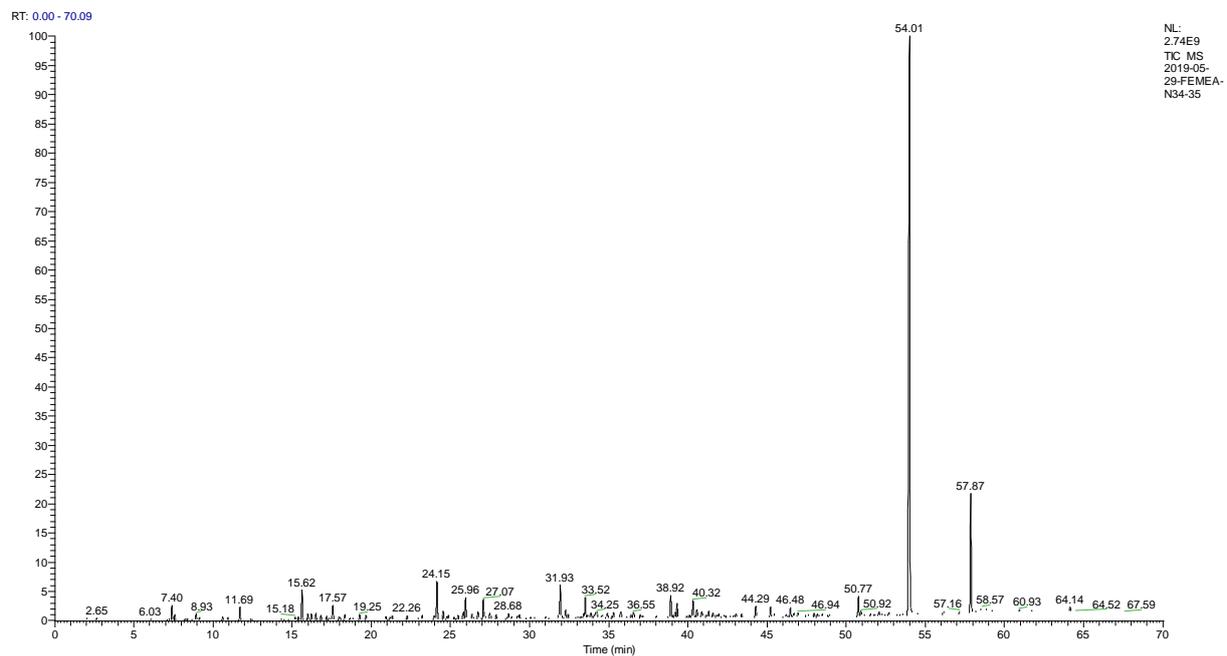


Figura 10. Perfil cromatográfico da amostra 4 (fêmea) coletada no mês de janeiro de 2019.

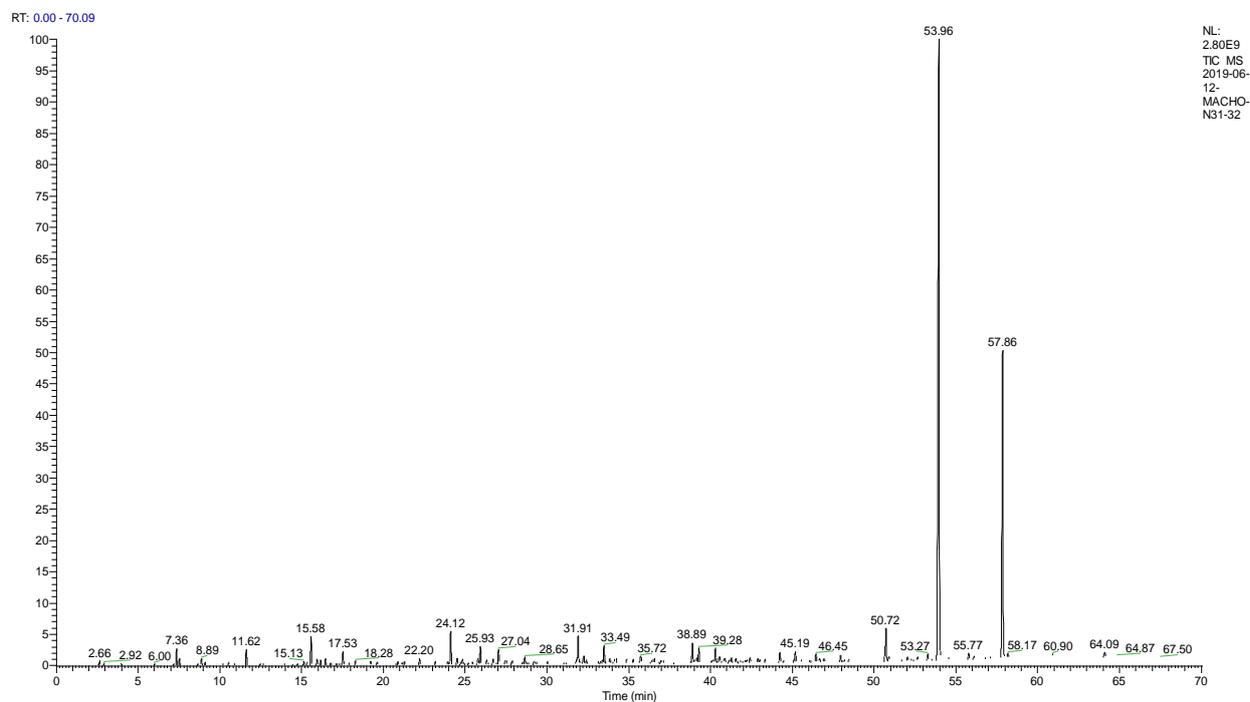


Figura 11. Perfil cromatográfico da amostra 5 (macho) coletado no mês de janeiro de 2019.