

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Rhaiza Gama Esteves

**Comportamento alimentar e aspectos reprodutivos de *Bothrops insularis* (Amaral, 1921)
(Serpentes: Viperidae), na criação *ex-situ* no Instituto Vital Brazil**

Rio de Janeiro

2016

Rhaiza Gama Esteves

**Comportamento alimentar e aspectos reprodutivos de *Bothrops insularis* (Amaral, 1921)
(Serpentes: Viperidae), na criação *ex-situ* no Instituto Vital Brazil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Neotropical (PPGBIO), como pré-requisito para obtenção do grau de mestre em Ciências Biológicas.

Orientadores

Ana Maria Paulino Telles de Carvalho-e-Silva

Aníbal Rafael Melgarejo Gimenez

Rio de Janeiro

2016

Rhaiza Gama Esteves

**Comportamento alimentar e aspectos reprodutivos de *Bothrops insularis* (Amaral, 1921)
(Serpentes: Viperidae), na criação *ex-situ* no Instituto Vital Brazil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em biodiversidade Neotropical (PPGBIO), como pré-requisito para obtenção do grau de mestre em Ciências Biológicas.

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Ana Maria Paulino Telles de Carvalho-e-Silva (Orientadora) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Aníbal R. Melgarejo (Orientador) - Instituto Vital Brazil

Prof. Dr. Sérgio Potech Carvalho-e-Silva – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Jorge Antônio Lourenço Pontes – Universidade do Estado do Rio de Janeiro

AGRADECIMENTOS

Em especial aos meus pais Mônica Velloso Gama e José Francisco Garcia Esteves, que fizeram de mim quem eu sou, me ensinaram a batalhar pelo que acredito e correr atrás dos meus sonhos, independente do quão difícil possa ser o caminho. Sem dúvidas sem eles nada seria possível.

Ao meu irmão Igor, pelo tratamento de choque me ajudando a crescer; minha cunhada Lana, que me inspira com toda sua dedicação aos estudos; e minha princesa Alice, que deu um novo sentido as nossas vidas.

Aos meus avós; Osmar Gama, por todas as conversas trocadas sobre sua época de trabalho duro no laboratório e Araceli Velloso, pelo olhar que só ela sabia me dar acompanhada da sua frase clássica “Você vai conseguir, é minha guerreira”. Amo vocês.

A todos os meus familiares; minhas madrinhas Sandra e Rita, pelas conversas descontraídas com aquela cerveja gelada; meu tio Edson pela confiança de me ligar a cada dúvida que pudesse envolver um pouquinho de biologia; minha prima Thalassa pelo orgulho e confiança que deposita em mim, minhas eternas crianças Pedro Augusto, Micaella e minha afilhada linda, Giovanna.

Ao meu companheiro e amigo Eduardo Machado, que esta sempre ao meu lado, me segurando nos momentos mais difíceis, me incentivando a crescer, muitas vezes acreditando em mim mais do que eu mesma e se tornando até um pouco biólogo para poder me ajudar.

Ao meu mestre e orientador Aníbal Melgarejo, que me introduziu no mundo da herpetologia, me dando a oportunidade de estagiar sob sua orientação, dividindo comigo seu enorme conhecimento, tornando cada dia de trabalho mais leve e prazeroso com suas histórias e comentários únicos. Pela confiança que deposita em mim e pelo investimento que faz a cada dia na minha carreira profissional. Por todo o carinho, que junto com sua companheira Aniesse Aguiar, não se limitaram em me instruir só academicamente.

À minha orientadora Ana Telles por ter abraçado a mim e ao meu projeto, por todas as sugestões, ajuda e incentivo.

À bióloga e amiga Taís Vasques, que com toda a sua hiperatividade, foi peça chave para que eu me inscrevesse no processo seletivo, me acompanhou em todas as disciplinas me ajudando sempre no projeto, não só na parte prática, mas me salvando nas estatísticas. Aos meus também companheiros do dia a dia, Jessica Jung, Jorge Lennon e Lívia Barcellos que

me deram todo suporte nas rotinas diárias, o que foi fundamental para eu ingressar no mestrado sem ser preciso deixar a rotina junto à Zoologia Médica.

Ao Instituto Vital Brazil, nas pessoas do Antônio Joaquim Werneck de Castro e Luís Eduardo Ribeiro da Cunha pela oportunidade e apoio, não só no mestrado, mas na realização de muitos outros trabalhos, apoiando meu melhoramento profissional.

Ao PPGGIO da UNIRIO pela oportunidade de desenvolver meu projeto e por todo apoio financeiro.

À clínica PCA na pessoa do Dr. Frederico Guimarães, o Fred, que realizou todos os exames de radiografia, acompanhando desde o início o projeto sempre com uma simpatia e entusiasmo de quem tem real paixão pelo que faz.

Ao hospital de veterinária da UFF, na pessoa da Dr. Márcia Salomão; e a Dr. Mariana Araújo pelo acompanhamento com exames de ultrassonografia.

Ao veterinário Carlos Abrahão, pela oportunidade de participar, junto a sua equipe, da Expedição à Ilha da Queimada Grande, que sem dúvida foi uma das melhores experiências que já vivi e pela enorme ajuda durante a execução deste trabalho.

Ao Ricardo Dias, Marcelo Labruna, Airton Lourenço e Lígia Amorim, pela energia maravilhosa e profissionalismo que tornaram uma semana de trabalho duro na “tão temida Ilha das Cobras”, única.

A todos os meus amigos; os de longa data que me acompanham desde a época de escola, os que conheci em função destes, os que fiz no trabalho, na graduação, no mestrado, e em especial os de outras vidas Gilberto Salvador, Mara Benvenuti e Paloma Castro, por todos os momentos compartilhados, por me apoiarem nas minhas loucuras, escutarem minhas besteiras, pelas risadas incontroláveis, pelas palavras certas e aquelas erradas também, por conseguirem dar o sentido real da palavra amizade na minha vida.

Aos fotógrafos Frederico Figueiredo e João Rosa por cederem fotos maravilhosas.

Ao RAN, ICMbio, Instituto Butantan, e todos os profissionais da área, pelos conselhos, esclarecimentos e sugestões dadas.

Enfim, a todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para realização desse trabalho, que faz com que cada dia eu tenha mais certeza da minha escolha.

Muito Obrigada!

“... Penso que encontrei o que é necessário para a felicidade...

Trabalhar em algo que se espera ter alguma utilidade;
depois descanso, natureza, livros, música, amor pelo próximo

- essa é a minha ideia de felicidade...”

Leon Tolstoi

RESUMO

Bothrops insularis é uma espécie criticamente ameaçada de extinção e endêmica da Ilha da Queimada Grande (São Paulo). Descrita em 1921 por Afrânio do Amaral, possui coloração pardo-amarelada, hábitos diurnos, semi-arborícola condicionado por sua alimentação à base de aves migratórias e seu tamanho dificilmente ultrapassa um metro. O crescente número de espécies de serpentes ameaçadas de extinção torna a reprodução em cativeiro muito importante para seu manejo e preservação, sendo fundamental estudar seus hábitos e comportamentos para reprodução em cativeiro e possível reintrodução à natureza como estratégias de conservação. O presente estudo teve como objetivo registrar e analisar os hábitos alimentares, reprodutivos e comportamentais da *Bothrops insularis*, sendo realizado na Divisão de Zoologia Médica do Instituto Vital Brazil-RJ. As informações foram obtidas por meio de estudos no laboratório, bem como em coletas e observações em campo durante uma expedição à Ilha da Queimada Grande. Foram utilizados seis exemplares; 2 fêmeas e 4 machos, sendo 2 adultos nascidos em cativeiro em março de 2011. O crescimento, ganho de peso e comportamento reprodutivo desses seis exemplares foram acompanhados em laboratório e depois comparados com os dados coletados dos animais de vida livre. Exemplares adultos de *B. insularis* em cativeiro aceitaram bem a alimentação oferecida com camundongos, e o comportamento de desferir o bote e segurar a presa até a morte se manteve, independente da presa oferecida. Os animais mantidos em cativeiro têm comprimento rostro-cloacal (CRC) e peso maiores que os de vida livre, sendo as fêmeas maiores e mais pesadas que os machos. Para observação do comportamento reprodutivo, juntamos dois casais durante todo o período reprodutivo em 2014 e por um período restrito de tempo em 2015. O comportamento de corte foi observado em diversos horários do dia e os casais foram, muitas vezes, encontrados enrodilhados juntos. Entre os meses de junho e julho, foram registradas cópulas em ambos os casais, com uma delas finalizando só após um período de 10 horas. Durante a gestação, a fêmea passou a maior parte do tempo em cima do galho. Através de exames de imagem mensais (raio X e ultrassom) foi possível observar não só um número elevado de folículos, ultrapassando o número descrito para ninhadas de *B. insularis*, como também uma região hiperecogênica, indicativo de calcificação da coluna vertebral dos embriões. Devido ao tempo restrito para finalização deste trabalho, não foi possível incluir a parturição na análise. Porém, o monitoramento dos animais continuará mediante ajuste dos parâmetros para a criação de um grupo reprodutivo viável desta espécie criticamente ameaçada.

Palavras chave: serpente ameaçada, Ilha da Queimada Grande, reprodução em cativeiro.

ABSTRACT

Endemic from the Queimada Grande Island (São Paulo), the *Bothrops insularis* is a critically endangered species under threat of extinction. Described in 1921 by Afrânio do Amaral, the *B. insularis* is brown-yellowish, diurnal and semi-arboreal. It often feeds from migratory birds and its size rarely exceeds one meter. The increasing number of endangered snakes makes the captive breeding of great importance to their handling and preservation, being critical the study of their habits and behaviors for captive breeding and potential reintroduction to nature as a viable conservation strategy. The present study purpose was to record and analyze the feeding, reproductive and behavioral habits of the *Bothrops insularis*. The data utilized here was obtained through laboratory studies – fulfilled in the Medical Zoology Division of Vital Brazil Institute (Rio de Janeiro) – as well as through field observations and samplings during an expedition to the Queimada Grande Island. Six specimens were used; 2 females and 4 males, from which 2 young adults were born in captivity in March 2011. The growth, weight gain and reproductive behavior of these six specimens were monitored in the laboratory and then compared to the data collected from wild animals. Captive adult specimens of *B. insularis* accepted being fed with mice, and, regardless of which prey was offered, their behavior of striking and holding the prey until death persisted. Animals kept in captivity have snout-vent length (SVL) and weight greater than wild animals, with females being larger and heavier than males. For the observation of reproductive behavior, two couples were put together throughout the reproductive period in 2014 and for a limited period of time in 2015. The courtship behavior was observed at various times of the day and the couples were often found tangled together. Between the months of June and July, copulations were recorded in both couples, with one of them ending only after a period of 10 hours. During pregnancy, the female spent most of the time on top of the branch. Through monthly imaging (X-ray and ultrasound), it was possible to observe not only a high number of follicles, surpassing the number of litters described for *B. insularis*, as well as a hyperechoic region indicative of calcification of the embryos' spine. Due to the limited time for completion of this work, it was not possible to include the parturition in the analysis. However, the monitoring of animals will continue and adjustments will be made for the conception of a viable breeding group of this critically endangered species.

Keywords: Endangered viper, Queimada Grande Island, captive breeding.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ilha da Queimada Grande, litoral de SP	15
Figura 2: Alguns componentes da fauna da Ilha da Queimada Grande.	16
Figura 3: Fêmea de <i>Bothrops insularis</i> em cativeiro no Instituto Vital Brazil.	17
Figura 4: Ponta da cauda com coloração mais escura que o resto do corpo	18
Figura 5: Estampa de <i>Bothrops insularis</i> (Amaral, 1921)	20
Figura 6: Estampa de <i>Bothrops jararaca</i> Wied, 1824	20
Figura 7: Ninhada de <i>B. insularis</i> nascida no Instituto Vital Brazil	22
Figura 8: Caixa onde são acondicionados exemplares de <i>Bothrops insularis</i> no Instituto Vital Brazil	25
Figura 9: <i>Bothrops insularis</i> se alimentando com camundongo no Instituto Vital Brazil	26
Figura 10: Transecto percorrido na Ilha da Queimada Grande	27
Figura 11: Captura de <i>Bothrops insularis</i> com uso de pinção, na Ilha da Queimada Grande ..	28
Figura 12: Técnica utilizada para medir os animais no Instituto Vital Brazil	29
Figura 13: Uso de tubo para contenção	30
Figura 14: Identificação sexual de <i>Bothrops insularis</i>	30
Figura 15: Raio X em fêmea de <i>Bothrops insularis</i>	32
Figura 16: Ultrassom em fêmea de <i>Bothrops insularis</i>	32
Figura 17: Sequência do comportamento alimentar da <i>Bothrops insularis</i> no IVB.....	35
Figura 18: Comportamento de <i>Bothrops insularis</i> de segurar diferentes tipos de presa após o bote no IVB	36
Figura 19: Postura de cabeça e pescoço elevados em <i>Bothrops insularis</i> criadas no IVB	36
Figura 20: Postura de cabeça e pescoço elevados em <i>Bothrops insularis</i> criadas no IVB	36
Figura 21: Primeiro exemplar encontrado pela equipe, próximo ao local de desembarque.....	37
Figura 22: Exemplares de <i>Bothrops insularis</i> encontrados em diferentes substratos e alturas na Ilha da Queimada Grande.	37
Figura 23: Gráfico de colunas da média do CRC (mm) dos animais de ambiente natural e de cativeiro, com os resultados do teste <i>Mann-Whitney</i>	38
Figura 24: Gráfico de colunas da média do peso (g) dos animais de vida livre e de cativeiro, com os resultados do teste <i>Mann-Whitney</i>	42
Figura 25: Gráfico de colunas com a média do índice de eficiência alimentar comparando machos e fêmeas de <i>B. isularis</i> no IVB entre 2014 e 2016, com os resultados do teste <i>Mann-Whitney</i>	44

Figura 26: Comportamento de corte de <i>B. insularis</i> no IVB.	46
Figura 27: Comportamento de corte de <i>B. insularis</i> no IVB.	46
Figura 28: Casal encontrado enrodilhado durante o período reprodutivo.	47
Figura 29: Casal encontrado enrodilhado durante o período reprodutivo.	47
Figuras 30: Comportamento de corte de <i>B. insularis</i> no IVB	48
Figuras 31: Sequência do comportamento reprodutivo do casal n°2.	49
Figuras 32: Casal n°2 encontrado enrodilhado no dia seguinte da cópula.	50
Figuras 34: Sequência do comportamento reprodutivo do casal n°1.	51
Figura 34: Imagem de ultrassonografia ♀ 5774 (Outubro 2014).....	54
Figura 35: Imagem de ultrassonografia ♀ 5775 (Outubro 2014).....	54
Figura 36: Imagem de radiografia ♀ 5774 (Outubro 2014).....	54
Figura 37: Imagem de radiografia ♀ 5775 (Outubro 2014).....	54
Figura 38: Acompanhamento do desenvolvimento folicular da fêmea 5774	55
Figura 39: Acompanhamento do desenvolvimento folicular da fêmea 5775	55
Figura 40: Imagem de radiografia ♀ 5774 (Dezembro 2015)	56
Figura 41: Imagem de radiografia ♀ 5775 (Dezembro 2015)	56
Figura 42: Imagem de ultrassonografia ♀ 5774 (Fevereiro 2016).....	57
Figura 43: Imagem de ultrassonografia ♀5775(Fevereiro 2016).....	57
Figura 44: Imagem de radiografia ♀ 5774 (Fevereiro 2016).....	58
Figura 45: Imagem de radiografia ♀ 5775(Fevereiro 2016).....	58

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	ILHA DA QUEIMADA GRANDE	14
1.2	JARARACA-ILHOA	16
1.3	CRIAÇÃO <i>EX-SITU</i>	20
2	OBJETIVOS.....	23
2.1	OBJETIVO GERAL	23
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
3	METODOLOGIA.....	24
3.1	LOCAL DO ESTUDO E ANIMAIS UTILIZADOS.....	24
3.2	MANUTENÇÃO E MANEJO.....	24
3.3	ALIMENTAÇÃO.....	25
3.4	TRABALHO DE CAMPO	27
3.5	BIOMETRIA E SEXAGEM NO IVB	29
3.6	REPRODUÇÃO.....	31
3.7	EXAMES DE IMAGEM	31
3.8	ANÁLISE DOS DADOS	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1	COMPORTAMENTO ALIMENTAR.....	34
4.2	TRABALHO DE CAMPO	37
4.3	CRESCIMENTO E GANHO DE PESO.....	39
4.4	COMPORTAMENTO REPRODUTIVO	45
4.5	EXAMES DE IMAGEM	53
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
	ANEXOS.....	70

1 INTRODUÇÃO

Atualmente existem cerca de 10.272 espécies de répteis no mundo, com 3.567 serpentes, sendo o Brasil o terceiro país de maior riqueza dessas espécies, com 773 répteis e 392 serpentes (BÉRNILS & COSTA, 2015; UETZ & HOSEK, 2015). O grupo das serpentes é um dos maiores e mais diversos dentre os répteis, apresentando diferentes graus de especialização para ocupação de uma grande diversidade de nichos. Ocuparam praticamente todos os ambientes disponíveis, desde terrestres, subterrâneos e arbóreos, até as águas continentais e oceânicas, diversificando-se notavelmente para se adaptar a exigências tão díspares (MELGAREJO, 2009; ROCHA-BARBOSA *et al.*, 2015).

A família Viperidae, com cerca de 331 espécies (UETZ & HOSEK, 2015) distribuídas pelo mundo, é formada por serpentes com aparelho inoculador do tipo solenóglifo (MELGAREJO, 2009; BERNARDE, 2012).

Todas as serpentes são carnívoras, alimentam-se de diversas presas, incluindo lesmas e outros moluscos, artrópodes (insetos e miriápodos), peixes, anfíbios, répteis (incluindo outras serpentes), aves e mamíferos. A dieta varia de acordo com a espécie, podendo ser generalista ou especialista (MELGAREJO 2009; BERNARDE, 2014; ROCHA-BARBOSA *et al.*, 2015).

Algumas espécies de serpentes podem apresentar mudanças ontogenéticas na sua dieta; por exemplo, filhotes e juvenis se alimentando de presas diferentes de adultos. As serpentes podem procurar ativamente à presa ou caçar a espreita. A *Bothrops jararaca* Wied, 1824, por exemplo, pode utilizar os dois métodos (SAZIMA, 1989; MARTINS *et al.*, 2002; BERNARDE, 2012).

O gênero *Bothrops*, pertencente à família Viperidae, é o principal grupo de serpentes de interesse para a Saúde Pública no Brasil, sendo responsável por 90% dos acidentes ofídicos anuais (MELGAREJO, 2013).

As serpentes podem ser ovíparas colocando seus ovos em troncos, tocas, etc, onde vão eclodir em trono de 40-70 dias, ou vivíparas; parindo seus filhotes totalmente formados, com um período de gestação de aproximadamente cinco meses (PIZZATTO *et al.*, 2007; MELGAREJO 2009).

A maioria das espécies deste gênero apresenta reprodução sazonal. O período de acasalamento geralmente ocorre no outono, e a parturição é observada ao final do verão (ALMEIDA-SANTOS & ORSI, 2002; ALMEIDA-SANTOS & SALOMÃO, 2002; SILVA *et al.*, 2013).

Bothrops jararaca, por exemplo, tem ciclo reprodutivo sazonal, com fase de crescimento folicular, acasalamento e gestação no primeiro ano e parturição seguida de quiescência folicular no outro ano, caracterizando um ciclo bienal (ALMEIDA-SANTOS & ORSI, 2002; ALMEIDA-SANTOS & SALOMÃO, 2002; ALMEIDA-SANTOS, 2005).

Durante o comportamento reprodutivo o macho utiliza pistas químicas deixadas pela fêmea para reconhecê-la e localiza-la, frequentemente dardejando a língua. Assim que encontra a fêmea ele posiciona-se sobre o seu dorso emitindo ondulações laterais pressionando ou esfregando a região gular no dorso da fêmea. Quando o macho está sobre o dorso da fêmea com sua cabeça posicionada em direção à dela, ocorre o alinhamento e, então, ele começa a emitir vibrações caudais. As caudas entrelaçam e a fêmea deve abrir a cloaca para que ocorra a introdução do hemipênis, após a cópula frequentemente o macho abandona a fêmea. A corte nas serpentes é composta basicamente de três fases: perseguição tátil, alinhamento e cópula. (GUILLINGHAM, 1987).

Algumas serpentes necessitam de uma fase de aquisição de energia (alimentação) para dar início à fase reprodutiva. Existem custos energéticos significativos para as fêmeas durante o período reprodutivo (SHINE, 1991; ALDRIDGEA & DUVALLB, 2002), esse custo é elevado, devido à necessidade de reserva de gordura para vitelogênese (SHINE, 2003). A vitelogênese é a transformação do oócito em folículo (PIZZATTO *et al.*, 2007).

A fecundidade é positiva e significativamente relacionada com o tamanho do corpo, o maior tamanho da fêmea proporciona uma maior capacidade para conter filhotes ou ovos (SHINE 1991; ALMEIDA-SANTOS, 2005; SHINE, 2003; PIZZATTO *et al.*, 2007; KASPEROVICZUS, 2009).

Em fêmeas maduras, os ovários apresentam folículos transparentes ou esbranquiçados, sem deposição de vitelo em fase quiescente (vitelogênese primária) e/ou amarelos com deposição de vitelo (secundária) que irá garantir o desenvolvimento do embrião até a formação e o nascimento. Fêmeas imaturas só apresentem folículos primários (ALMEIDA-SANTOS, 2005; PIZZATTO *et al.*, 2007). A vitelogênese é coincidente com a cópula e, provavelmente, a fêmea sinaliza a sua atividade por meio de feromônio (ALMEIDA-SANTOS, 2005). A percepção de acasalamento parece ser pelo menos facultativo, se não obrigatório, para a iniciação e manutenção de vitelogênese e reprodução (MENDONÇA & CREWS, 1990).

Uma estratégia reprodutiva utilizada por várias espécies é a estocagem de espermatozoides. Machos e fêmeas harmonizam seu ciclo por meio de estocagem de esperma.

Machos têm seu pico de espermiogênese na época em que as fêmeas estão receptivas, e estas estocam para o desenvolvimento embrionário na melhor época (verão). Fêmeas estocam esperma no útero por meio de contração uterina durante o início do outono e no inverno (época correspondente aos episódios de corte e épocas de acasalamento), até a ovulação. A contração muscular uterina é a mudança na morfologia da região posterior do útero, resultando em uma obstrução que impede a passagem do espermatozoide para o útero anterior até que ocorra a ovulação. Os espermatozoides ficam viáveis no útero durante todo o inverno, ascendendo para o oviduto no final da primavera, onde ocorre a fecundação (ALMEIDA-SANTOS, 2005). Estes óvulos fecundados (ovos) vão para o útero, onde permanecerão até o nascimento dos filhotes (KASPEROVICZUS, 2009).

O oviduto tem vários papéis funcionais; estocagem de esperma, fertilização, transporte de ovo, manutenção do embrião (gestação e placentação) e parturição (ALMEIDA-SANTOS & ORSI, 2002; ALMEIDA-SANTOS, 2005).

1.1 ILHA DA QUEIMADA GRANDE

As ilhas litorâneas brasileiras têm sua formação ligada a eventos geológicos ocorridos há cerca de 11.000 anos, após a última glaciação. Com o derretimento das calotas de gelo, houve um aumento no nível do mar submergindo regiões continentais e originando diversas ilhas no litoral brasileiro (MARQUES *et al.*, 2002a).

A Ilha da Queimada Grande (Figura 1) com 78 ha está situada a aproximadamente 34,8 km da costa do litoral sul do Estado de São Paulo (24° 29' S, 46° 41' W), ao sul dos municípios de Itanhaém e Peruíbe. É uma Área de Relevante Interesse Ecológico - ARIE, Unidade de Conservação Federal de Uso Sustentável, criada pelo Decreto nº 91.887 de 05/11/1985, inserida também na Área de Proteção Ambiental (APA) de Cananéia-Iguape-Peruíbe/ICMBio, e tombada como Patrimônio Natural por Resolução Condephaat número 40/85, junto com a Serra do Mar (Resolução nº 40/85) e integra a Zona Núcleo da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, decretada pela Organização das Nações Unidas para a educação, a ciência e a cultura (UNESCO) em 1991. (AMARAL, 1921b, 1927; HOGE, 1946; MARQUES *et al.*, 2002).



Figura 1: Ilha da Queimada Grande, Litoral de SP (Foto: João Rosa).

É inteiramente inacessível pelo mar quando ele está revolto, a costa rochosa é escarpada e de difícil acesso, e ali não se encontra nascente de água potável (AMARAL, 1921b). Em sua maior parte, é típica de Mata Atlântica, sendo na maioria arbustos, árvores de pequeno porte, capinzal e áreas de gramíneas alteradas pelo homem (MARQUES *et al.*, 2002a). O clima é tropical úmido, com temperaturas acima dos 22°C nos meses mais quentes e abaixo dos 18°C nos mais frios (HOGE *et al.*, 1959).

No final do século XIX, a Marinha do Brasil implantou um farol na ilha cuja manutenção era realizada por faroleiros que residiam no local. Com medo das serpentes, a própria Marinha do Brasil colocou por diversas vezes fogo na mata da ilha na tentativa de acabar com a população excessiva. O nome “Queimada Grande” é resultado dessas recorrentes queimadas na ilha, que por vezes, eram tão fortes que podiam ser avistadas do continente. Os faroleiros habitaram a ilha até 1925 quando foram retirados e o farol automatizado (KASPEROVICZUS & ALMEIDA-SANTOS, 2012).

Várias aves marinhas frequentam a ilha, além destas, cerca de trinta espécies de pássaros, em sua maior parte migratórios, são avistados na ilha em certas épocas do ano. Foram registradas duas espécies de morcego (*Nyctinomops laticaudatus* (Geoffroy, 1805) e *N. macrotis* (Gray, 1839)), dois anfíbios (*S. peixotoi* Brasileiro, Haddad, Sawaya & Martins, 2007 e *Haddadus binotatus* (Spix, 1824)), três lagartos (*Colobodactylus taunay*, Amaral, 1933; *Hemidactylus mabouia* (Moreau de Jonnes, 1818) e *Psychosaura macrorhyncha* (Hoge,

1947)), dois anfisbenídeos (*Amphisbaena hoguei* Vanzolini, 1950 e *Leposternon microcephalum* (Wagler, 1824)) e duas serpentes (*Bothrops insularis* Amaral, 1921 e *Dipsas albifrons* (Sauvage, 1884)) (MARQUES *et al.*, 2002a) (Figura 2).



Figura 2: Alguns componentes da fauna da Ilha da Queimada Grande.

1.2 JARARACA-ILHOA

Em 1911, ao receber alguns exemplares provenientes da ilha, João Florêncio Gomes, herpetólogo da extinta ‘Seccção de Ophiologia’ do Instituto Butantan, identificou-os como *Lachesis lanceolatus* (atualmente *Bothrops jararaca*). Em 1919, João Florêncio Gomes faleceu, e a Afrânio do Amaral o sucedeu na ‘Seccção de Ophiologia’ assumindo seus trabalhos e reescrevendo a espécie, em 1921, como *Lachesis insularis* (AMARAL, 1927; KASPEROVICZUS & ALMEIDA-SANTOS, 2012), posteriormente chamada de *Bothrops insularis* pelo próprio Afrânio do Amaral (AMARAL, 1929).

A *B. insularis* (Figura 3) é endêmica da Ilha da Queimada Grande e tem coloração pardo-amarelada, cabeça muito larga na região temporal, focinho relativamente curto e

estreito, corpo delgado e um pouco achatado lateralmente, dificilmente ultrapassando um metro, cauda curta, ligeiramente preênsil (AMARAL, 1921a, 1929).



Figura 3: Fêmea de *Bothrops insularis* em cativeiro no Instituto Vital Brazil (Foto: Frederico Figueiredo).

Em sua primeira expedição à ilha, Amaral observou junto com informações confirmadas pelo o faroleiro Sr. Antônio Esperidião da Silva, que embora providas de pupilas conformadas para vida noturna, a *B. insularis* tem também hábitos diurnos, condicionados por suas necessidades de alimentação que é a base de aves migratórias, devido inexistência de mamíferos terrestres na ilha. Sendo encontrada muitas vezes sobre árvores e arbustos, principalmente com frutos (AMARAL, 1921b, 1927; MARQUES *et al.*, 2002a). Ela pode chegar a locais elevados na vegetação (até 8m) (MARTINS *et al.*, 2001).

O *Troglodytes musculus*, Naumann, 1823, é a ave mais abundante na ilha, porém, não é predado pela jararaca ilhoa provavelmente devido sua agilidade. Foi encontrado em seu conteúdo estomacal, o *Turdus flavipes*, Vieillot, 1818 e *Elaenia sp* Cabanis & Heine, 1860., aparentemente itens básicos em sua alimentação, o que as tornam parcialmente dependentes da migração realizada por estas espécies. Os exemplares de *B. insularis* são mais comumente encontrados no solo, porém durante o período de migração destes passáros foram vistos mais sobre a vegetação (MACARRÃO, 2010; MARQUES *et al.*, 2012). De acordo com MARQUES *et al.* (2012), os adultos se alimentam principalmente no final do verão e início

do outono, quando *Elaenia chilensis*, Hellmayr, 1927, é abundante na ilha, e em menor medida no inverno, quando o *Turdus flavipes* preenche um papel similar. Assim, as estações restantes do ano podem ser um período de jejum para adultos de *B. insularis*, visto que aves migratórias não são encontradas em grande número e outros tipos de presa são menos importantes na dieta desta serpente.

Os jovens apresentam a ponta da cauda com coloração distinta do restante do corpo, assim como os adultos (Figura 4), e a utilizam para caçar suas presas, imitando o movimento de uma larva de inseto. A alimentação dos jovens se baseia em presas ectotérmicas; anfíbios, centopéias e lagartos (AMARAL 1921b; MARQUES *et al.*, 2002a; MARTINS & MARQUES, 2008). Comportamento também observado em juvenis de *B. jararaca* (MARTINS *et al.*, 2002). No trabalho feito por ANDRADE, *et al.* (2010) na Ilha da Queimada Grande, foram encontrados diversos exemplares com a cauda exposta próxima da cabeça, postura sugestiva de engodo caudal. Este comportamento ocorria tanto no chão da mata como em árvores, estratégia utilizada para captura de presas (juvenis para anfíbios, adultos para aves), sendo encontrados adultos com a ponta da cauda machucada, podendo ser indicativo de bicadas de pássaros.



Figura 4: Ponta da cauda com coloração mais escura que o resto do corpo.

O período reprodutivo é no outono e no início do inverno (entre março e julho) e os nascimentos de filhotes foram registrados no começo do ano (verão). Sua ninhada raramente ultrapassa dez filhotes, enquanto a jararaca do continente pode chegar a trinta (MARQUES *et al.*, 2002a; KASPEROVICZUS, 2009; MARQUES *et al.*, 2013).

Além de ninhadas diminutas quando comparada as ninhadas de *B. jararaca*, por exemplo, a *B. insularis* possui elevado número de ovos atrésicos, sem formação do embrião (MARQUES *et al.*, 2013). Ovos atrésicos se caracterizam pela presença de uma massa dura de vitelo que é expelida durante o parto (JANEIRO-CINQUINI, 2004a).

A disponibilidade de recurso é um dos fatores importantes para frequência reprodutiva, essa disponibilidade pode ser menor na ilha, podendo haver uma variação anual do número de aves migratórias. Isto pode estar relacionado com esta taxa baixa de natalidade (MARQUES *et al.*, 2013).

Em um trabalho de Hoge *et al.* (1959), relataram várias fêmeas com presença de órgão copuladores masculino de tamanho diferenciado, assim como um exemplar hermafrodita verdadeiro. No trabalho de Kasperoviczus (2009); todas as fêmeas analisadas, em campo e coleção ao longo de cem anos, tinham presença de hemipênis, porém com tamanhos reduzidos. Ela relata que o hemipênis das fêmeas foi facilmente evertido, aplicando-se pressão na base da cauda, assim como nos machos, reforçando a ideia de uma potencial funcionalidade. Fêmeas com hemipênis configuram um padrão de masculinização ou intersexualidade.

Bothrops insularis ainda é conhecida por seu veneno mortal dito por muitos pesquisadores como bem mais potente do que o da jararaca do continente, porém o trabalho de ZELANIS, 2006 esclareceu que este veneno é apenas mais específico frente à oferta de uma dieta especializada. Há uma seletividade do veneno para presas locais, demonstrada pela intensa toxicidade sobre artrópodes e aves em comparação com mamíferos. Sugere-se que há peculiaridade na composição do veneno da *B. insularis* que favorece a dieta especializada no seu habitat insular, e mesmo havendo mudança ontogenética na dieta, a toxicidade do veneno para presas locais é uma característica presente durante toda a vida desta espécie (ZELANIS *et al.*, 2008).

Apesar de algumas afinidades anatômicas com a jararaca do continente, a jararaca ilha distingue-se em seu colorido mais claro, não possuindo mancha na cabeça, nem na faixa escura atrás dos olhos. É uma espécie delgada (dificilmente ultrapassa 1 metro), já a jararaca do continente pode atingir até 1 metro e 50 cm de comprimento. Possui cauda ligeiramente

preênsil, focinho relativamente mais estreito e mais curto e sua cabeça mais larga na região temporal (AMARAL, 1921a, 1927) (Figuras 5 e 6). O coração da *B. insularis* é mais anterior do que o da jararaca do continente, e mais anterior em fêmeas que em machos (WUSTER *et al.*, 2005).

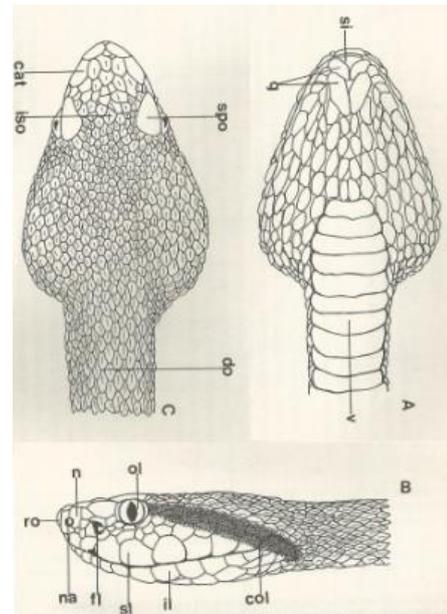
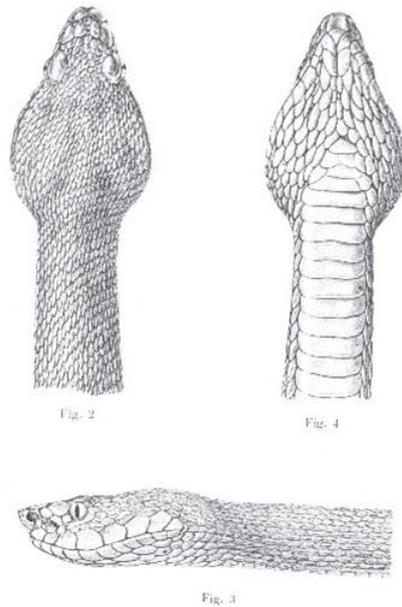


Figura 5: Estampa de *Bothrops insularis* (Amaral, 1921) (An. das Mem. do Inst. de Butantan v.1 – Fasc 1) **Figura 6:** Estampa de *Bothrops jararaca* Wied, 1824 (Mem. do Inst. de Butantan v.55 – supl. 1)

Um modelo para explicar a diferenciação entre a jararaca ilhoa e a do continente é especiação alopátrica, onde duas populações separadas por alguma barreira geográfica podem sofrer diferenciação ao longo do tempo, tornando-se espécies distintas. Certas características teriam surgido como respostas adaptativas às condições ambientais da ilha (MARQUES *et al.*, 2002a e b).

1.3 CRIAÇÃO EX-SITU

A conservação *ex-situ* e a conservação *in-situ* são estratégias complementares, que visam à estabilidade de uma população ameaçada e contribui para a caracterização e a diversidade genética dos indivíduos (CULLEN *et al.*, 2006).

A redução e fragmentação de habitats em pequenos remanescentes impõem uma enorme ameaça a algumas espécies de vida selvagem (RICKLEFS, 2003). Neste mosaico ambiental

que se encontra uma grande variedade de animais, inclusive serpentes (MARQUES *et al.*, 2001).

Das mais de 640 espécies de répteis brasileiros, 20 (ou 3% do total) foram consideradas ameaçadas ou extintas (nas categorias de VU para cima) (MARTINS & MOLINA, 2008). O crescente número de espécies de serpentes ameaçadas de extinção, estudos de suas toxinas, entre outros motivos, torna a reprodução em cativeiro desses animais muito importante (ZACARIOTTI & GUIMARÃES, 2010).

Informações oriundas de cativeiro podem complementar dados obtidos em campo ou de animais preservados em coleção, especialmente aqueles difíceis de serem registrados na natureza, e fornecer informações comportamentais e fisiológicas que possibilitam a elucidação da dinâmica e evolução das estratégias reprodutivas (ALMEIDA-SANTOS *et al.*, 2014).

A amostragem de indivíduos em campo é necessária para obter informações como riqueza e abundância relativa das espécies, utilização do habitat (substrato de forrageio, repouso, termo-regulação, etc), reprodução, atividade diária e sazonal, dentre outras (BERNARDE, 2012). O bem-estar dos animais no cativeiro, seja para pesquisa, produção ou ensino, depende em grande parte da observação do modo de vida em seu habitat natural.

Bothrops insularis é uma espécie presente na lista oficial de animais ameaçados de extinção, devido sua distribuição restrita (MARQUES *et al.*, 1998; MARQUES *et al.*, 2002a; MACHADO *et al.*, 2008). Segundo Martins, *et al.* (2008), uma estimativa para o tamanho populacional está nos limites inferiores de suposições disponíveis na literatura (2000-4000 indivíduos por toda ilha). Portanto é importante analisar os hábitos e comportamentos desses animais para reprodução em cativeiro e possível reintrodução à natureza como estratégias futuras de conservação.

Em novembro de 2010, foi realizada pelo Instituto Vital Brazil (IVB), a primeira expedição à Ilha da Queimada Grande, com o objetivo de iniciar um projeto de criação *ex-situ* da *Bothrops insularis* no IVB. Nesta expedição, foram coletados cinco exemplares, dentre eles uma fêmea prenha. Em dezembro um dos exemplares que estava bem debilitado veio a óbito.

Em março de 2011, nasceu uma ninhada com seis filhotes (Figura 7). Foi realizado um acompanhamento do crescimento e ganho de peso, frente à oferta de diferentes itens alimentares. Neste trabalho, os filhotes foram alimentados semanalmente com neonatos de camundongos e os que melhor aceitavam esse item alimentar, vieram a óbito, o que gerou

dúvida sobre a pertinência do uso desta dieta na mesma frequência utilizada para outros viperídeos. Já os adultos aceitaram os camundongos como dieta rotineira desde a sua captura, o que parece mostrar boa aceitação do cativeiro (ESTEVEES, 2011).



Figura 7: Ninhada de *Bothrops insularis* nascida no Instituto Vital Brazil (Foto João Rosa).

Em maio de 2013 foi feita uma tentativa de uma segunda expedição para ilha no intuito de aumentar o número do plantel além de conhecer melhor os hábitos da jararaca ilhoa no seu habitat natural. Infelizmente a expedição não foi concluída devido às más condições do mar, não sendo possível o desembarque.

O Instituto Vital Brazil faz parte do Plano de Ação Nacional para Conservação da Herpetofauna Insular (PAN). Este Plano de Ação tem como objetivo estabelecer medidas para a proteção e a recuperação do ambiente e das espécies de répteis e anfíbios ameaçados de extinção, com ênfase nas espécies endêmicas das ilhas marinhas do Arquipélago dos Alcatrazes e da Ilha de Queimada Grande.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo estudar e registrar os hábitos alimentares, reprodutivos e comportamentais da *Bothrops insularis ex situ*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (1) Registrar o comportamento dos animais em cativeiro frente à oferta de alimentos, posicionamento no terrário, preferência de substrato;
- (2) Quantificar o crescimento e ganho de peso dos exemplares em cativeiro;
- (3) Calcular e comparar os índices de eficiência alimentar entre machos e fêmeas estudados;
- (4) Comparar os dados biométricos dos animais de cativeiro com os de vida livre;
- (5) Descrever o comportamento reprodutivo em cativeiro;

3 METODOLOGIA

A presente seção visa esclarecer a metodologia utilizada, para isso ela foi dividida em oito partes: (1) local do estudo e animais utilizados, (2) manutenção e manejo, (3) alimentação, (4) trabalho de campo, (5) biometria e sexagem, (6) reprodução, (7) exames de imagem e (8) análise dos dados.

3.1 LOCAL DO ESTUDO E ANIMAIS UTILIZADOS

O estudo foi realizado na Divisão de Zoologia Médica do Instituto Vital Brazil (IVB), no período de janeiro de 2014 a fevereiro de 2016. As informações foram obtidas principalmente por meio de estudos no laboratório, coletas e observações em campo. Foi realizada uma expedição à Ilha da Queimada Grande, duas visitas ao Laboratório de Ecologia e Evolução do Instituto Butantan, que está também entre os únicos criadores *ex-situ* da *Bothrops insularis*, e participação nas duas últimas monitorias do PAN insular.

Foram utilizados 6 exemplares, sendo 2 jovens adultos nascidos em cativeiro (5782♂ e 5785♂), no dia 23 de março de 2011, e 4 exemplares adultos provenientes da Ilha da Queimada Grande (5774♀, 5775♀, 5776♂, 5777♂). Devido a existência de restrições a sua captura – por se tratar de uma espécie ameaçada de extinção – utilizamos um número reduzido de animais em nosso experimento.

3.2 MANUTENÇÃO E MANEJO

Realizamos no IVB um manejo intensivo, onde os animais ficam confinados em caixas individuais. Este manejo proporciona uma forma simples de manutenção, com facilidade para vigilância dos animais (alimentação e reprodução e para controle dos fatores ambientais como temperatura e umidade) (MELGAREJO, 2002).

As serpentes são mantidas em uma sala com temperatura controlada em torno de 25°C e umidade de aproximadamente 80%. Todas acondicionadas, individualmente, em caixas de polipropileno, terrários de vidro ou acrílico com tampas perfuradas e travas laterais com tamanhos padronizados para cada serpente (fêmeas: 1,0mx1,0mx60cm; machos:

70cmx40cmx50cm; jovens: 30cmx20cmx25cm). As caixas recebem um substrato de papelão corrugado, troncos e um recipiente com água em pote de barro ou plástico (Figura 8).

No terrário de cada animal é fixado um crachá com dados individuais de chegada/nascimento, procedência, nome da espécie, sexo e uma numeração para rastreabilidade pelo sistema. No verso do crachá são anotados dados biometria, alimentação, muda de pele, eventuais patologias, cópulas, etc.



Figura 8: Caixa onde são acondicionados exemplares de *Bothrops insularis* (Foto: Aníbal Melgarejo).

Semanalmente foi realizada a limpeza dos terrários. O animal era transferido para outra caixa, com auxílio de gancho herpetológico, enquanto era realizada a higienização da caixa (com álcool 70% ou Herbalvet a 5%), e do recipiente de água (lavado com água e detergente neutro), e a substituição do substrato por outro novo.

3.3 ALIMENTAÇÃO

A frequência da alimentação, para viperídeos, varia com a idade do animal; semanalmente para os neonatos até um ano e meio de vida, quinzenalmente para animais, entre um ano e meio e três anos de idade e mensalmente para os adultos. A alimentação consiste habitualmente em camundongos albinos cujo tamanho, peso e quantidade são determinados de acordo com as necessidades de cada serpente (MELGAREJO, 2002).

Os animais foram alimentados com camundongos (*Mus musculus* Linnaeus, 1758) (Figura 9) reproduzidos em um biotério no próprio IVB. Os animais com mais de 10g eram oferecidos recém-abatidos a fim de evitar eventuais lesões causadas por agressões defensivas de presa ameaçada (COUTO, 2008). O alimento é oferecido ao animal com o auxílio de uma pinça de 50cm. Caso o animal não pegasse o alimento de imediato, este era deixado na caixa com a serpente até o dia seguinte, onde era conferido se houve ou não a ingestão do mesmo. Caso o alimento oferecido ainda estivesse no terrário, era retirado e descartado.



Figura 9: *Bothrops insularis* se alimentando com camundongo no Instituto Vital Brazil

(Foto: Frederico Figueiredo).

A frequência alimentar, assim como quantidade oferecida, foi diferente para cada serpente. Os machos receberam, inicialmente, alimentação a cada quinze dias (jovens adultos: camundongos de aproximadamente 20g e adultos: 30-40g), enquanto as fêmeas mensalmente (camundongos em torno de 60g). Em abril de 2015, houve uma mudança na alimentação, com a diminuição do peso oferecido para as fêmeas (camundongos de 30g) e dos machos (jovens: 10g e adultos: 20g), além de fixar uma frequência alimentar mensal para todos os exemplares.

3.4 TRABALHO DE CAMPO

Foi realizada uma expedição a Ilha da Queimada Grande (24° 29' S, 46° 41' W): 24 a 27 de maio de 2015. A equipe era composta por seis pessoas, sendo biólogos e veterinários de diferentes instituições (IVB, USP, RAN/ICMBIO e CEVAP).

Dos cinco dias de campo, três foram de trilhas, percorrendo um transecto de aproximadamente 1.500m (que cruza do norte ao sul da ilha), com um esforço de busca de aproximadamente cinco horas por dia. Foi percorrida trilha da área do acampamento até o Pico Belo vista, sendo coletados os animais avistados somente a partir da trilha do farol até o Jardim (ao sul da ilha) (Figura 10).



Figura 10: Transecto percorrido na Ilha da Queimada Grande (Fonte: Adaptado de www.brasil.discovery.uol.com.br).

O método de procura utilizado foi principalmente o de “Procura visual limitada por tempo” que consiste no deslocamento a pé, lentamente, através de transectos, a procura dos animais que estejam visualmente expostos, abrangendo todos os micro-habitats visualmente acessíveis. Nesse método é possível coletar informações mais precisas sobre a atividade do animal e sua localização no hábitat (MARTINS & OLIVEIRA, 1998).

Quando ocorriam encontros ocasionais (encontros durante outras atividades que não propriamente de procura), não era realizada a captura dos animais, nem coleta de dados.

Para cada animal avistado eram coletados dados de horário, coordenadas, e posicionamento do animal em relação ao substrato (se o animal estava enroscado, no chão da mata, em galhos ou passando pela trilha). Os espécimes eram fotografados e, então, com auxílio de um pinção para captura de serpentes (Figura 11), o animal era capturado, contido em um tubo e colocado em um saco de pano para transporte.



Figura 11: Captura de *Bothrops insularis* com uso de pinção, na Ilha da Queimada Grande (Foto: Ricardo Dias).

Após o término da trilha, os animais coletados eram levados para área do farol para que pudessem ser realizadas avaliações, coletas dos dados biométricos e obtenção de amostras utilizadas por outros pesquisadores da equipe (coleta de ectoparasitas, veneno, amostra de sangue e *swab* cloacal). No início e no final de cada trilha eram coletados dados sobre as condições climáticas, em uma estação meteorológica digital (Touch Screen ITWH-1080) que fica próxima ao farol.

Para realização dos procedimentos o animal era sedado com CO₂. Durante a contenção física, as serpentes foram inspecionadas quanto aos carrapatos, que eram contados e removidos, realizadas a coleta dos dados biométricos (utilizando pesola - 2,5kg e saco de

pano, para pesagem dos animais e uma linha resistente esticada na linha da coluna para medir o comprimento) e das demais amostras. Os procedimentos de coleta duravam em torno de 5h.

Os animais eram marcados nas escamas dorsais, com caneta permanente, colocados no saco de pano e no dia seguinte devolvidos no mesmo ponto de coleta onde foram encontrados.

3.5 BIOMETRIA E SEXAGEM NO IVB

Todas as serpentes utilizadas neste trabalho foram monitoradas quanto aos dados biométricos, sendo realizado um acompanhamento do crescimento (a cada quatro meses) e ganhas de peso (a cada dois meses). Foram feitas medições do comprimento total (CT) e rostro-cloacal (CRC) em milímetros, utilizando técnica em que a serpente é pressionada e imobilizada entre uma lâmina de acetato e uma superfície acolchoada (espuma), utilizando um marcador permanente para desenhar no acetato o contorno da linha vertebral do animal (desde a ponta do focinho à extremidade caudal) (Figura 12), e depois medido por meio de uma linha resistente e uma régua. Para a pesagem, em gramas, a serpente era colocada num recipiente de plástico pré-pesado, com a utilização de uma balança eletrônica.

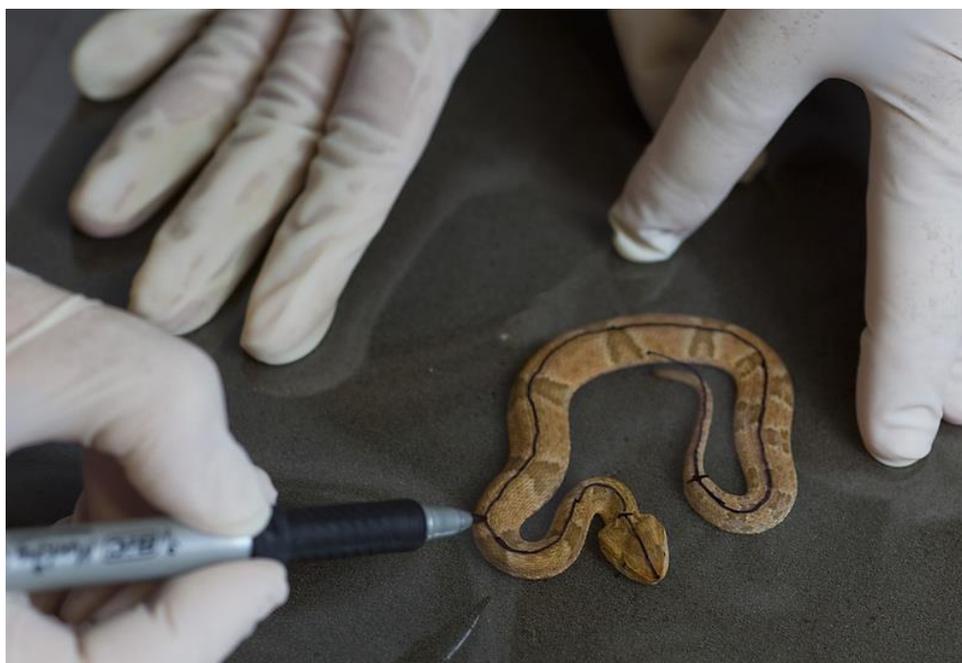


Figura 12: Técnica utilizada para medir os animais no Instituto Vital Brazil (Foto: João Rosa).

Para a identificação sexual os animais eram colocados em tubo de contenção (com diâmetro certo para que a serpente não consiga virar sua cabeça), onde a serpente é induzida a entrar ao menos um terço do seu corpo, e com auxílio das mãos o animal fica contido (Figura 13).



Figura 13: Uso de tubo para contenção (Foto: Frederico Figueiredo).

Após a contenção, era inserido o sexador (estiletas de aço inox e ponta romba) pela parte posterior lateral da fenda anal (Figura 14). Os hemipênis das serpentes são ocos e estão invaginados na cauda, apenas nos machos é possível à entrada do sexador, o que representa uma forma segura e pouco traumática de averiguar o sexo, até em filhotes (MELGAREJO, 2002).



Figura 14: Identificação sexual de *Bothrops insularis*.

3.6 REPRODUÇÃO

Foram colocados dois casais (n° 1: 5775♀ e 5776♂; n° 2: 5774♀ e 5777♂) em terrários de 70x40x50 cm no mês de maio de 2014 permanecendo juntos até o mês de novembro, separando apenas para limpeza e alimentação. Durante esse período, foi monitorado o comportamento (com observações, fotos e filmagens) em diversos horários do dia.

Em 2015, no início do período reprodutivo, os mesmos casais foram colocados juntos, a partir do mês de março, por um período restrito de tempo, e separados ao fim da observação do comportamento reprodutivo.

Vale salientar que não é possível prever o comportamento dos animais, portanto, uma vez constatado, é anotado o maior número de informações possíveis (hora de início, duração e final da observação do comportamento, movimentos realizados por ambos os indivíduos, temperatura, condições ambientais) além de documentação fotográfica ou filmagem (KASPEROVICZUS, 2009).

3.7 EXAMES DE IMAGEM

A partir de outubro de 2014, foram realizados exames de radiografia mensais e eventualmente exames de ultrassonografia para um acompanhamento do desenvolvimento embrionário (Figuras 15 e 16). Os exames foram feitos na Clínica PCA e no Hospital da Universidade Federal Fluminense (UFF). O veterinário Frederico Guimarães fez o acompanhamento dos exames de radiografia e as veterinárias Márcia Salomão e Mariana Araújo dos exames de ultrassonografia.



Figura 15: Raio X em fêmea de *Bothrops insularis*
(Foto: Frederico Figueiredo)



Figura 16: Ultrassom em fêmea de *Bothrops insularis*

3.8 ANÁLISE DOS DADOS

Foram coletados os dados biométricos com acompanhamento do crescimento (a cada quatro meses) e ganho de peso (a cada dois meses) para os animais em cativeiro e uma coleta de dados dos animais no ambiente natural. Os dados foram organizados em tabelas, com medidas de tamanho rostro cloacal (CRC), peso dos animais e quantidade em gramas ingerida por eles.

Essas informações foram organizadas individualmente, agrupadas em machos e fêmeas, animais em cativeiro e no ambiente natural. Foi calculada a média e desvio padrão desses grupos durante os intervalos de tempo, e assim foram feitas análises e gráficos com os resultados.

Com os dados de variação de massa corporal do animal foi calculado o índice de eficiência alimentar (IEA). Esse cálculo é feito dividindo o ganho de peso do animal em um intervalo de tempo pelo peso total do alimento no mesmo intervalo. Ele mostra a porcentagem do alimento que foi transformado em peso vivo (SOUZA, 2003).

Foram realizadas análises estatísticas, utilizando primeiro o teste de *Shapiro-Wilk*, que mostrou que os dados não são paramétricos. Foi então utilizado o teste de *Mann-Whitney*, ele

compara dois grupos de dados, baseando-se nas médias e na variação entre elas, mostrando se esses grupos possuem diferenças significativas ou não. Quando, no resultado do teste, o p-valor é menor que 0,05 mostra que há significância, sendo assim os grupos analisados são diferentes.

As serpentes foram observadas também quanto ao comportamento frente à oferta de alimentos e posicionamento no substrato, assim como comportamentos interespecíficos (corte, acasalamento, gestação e parturição). Todos os comportamentos foram observados, descritos, filmados, fotografados e somados a anotações realizadas em campo e dados descritos em literatura.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presente seção apresenta os resultados obtidos neste trabalho, comparados com dados descritos em literatura. Para isso ela foi dividida em oito partes: (1) comportamento alimentar, (2) trabalho de campo, (3) crescimento e ganho de peso, (4) comportamento reprodutivo e (5) exames de imagem.

4.1 COMPORTAMENTO ALIMENTAR

Ao oferecer o camundongo para *B. insularis* no IVB, observamos que muitas das vezes, a serpente se aproximava desferindo o bote na presa quando ela ainda estava na pinça, segurando na boca até que esta parasse de se mexer. Em alguns casos, quando o bote não era imediato, a presa era colocada dentro do terrário junto à serpente. Dessa forma eram observados, alguns comportamentos alimentares como os descritos em Sazima (1989). Os animais aceitavam o alimento tanto em cima dos galhos como no chão do terrário e não recusavam a alimentação em períodos de muda de pele.

Segundo Sazima (1989), os comportamentos básicos da sequência alimentar de *B. jararaca* são orientação à presa, aproximação, bote (com morder e soltar), rastreamento, inspeção e deglutição. O rastreamento inclui movimentos laterais, de varredura, com a parte anterior do corpo. A presa é inspecionada por toques de língua e focinho, sendo engolida em seguida.

Os movimentos da presa desencadeavam a predação, e a *B. insularis* se movia em sua direção com movimentos de dardejar de língua, se aproximando e desferindo o bote, e na maioria das vezes, só soltando a presa após esta estar morta. Quando a presa era solta, iniciava a fase de inspeção, onde o animal percorria o corpo da presa, com movimentos de língua e toques de focinho, iniciados em qualquer parte do corpo. Após ter inspecionado, a *B. insularis*, abocanhava a presa, começando na maioria das vezes pela região cefálica, e a ingeria (Figura 17).

A deglutição da presa é feita com movimentos alternados dos lados opostos da maxila. A serpente abduz amplamente a boca e faz com que as maxilas de um dos lados da cabeça avancem sobre o corpo da presa. Os dentes são cravados no corpo da presa, concomitantemente à adução das maxilas. Os movimentos bucais cessam quando o corpo da presa ultrapassa as maxilas; a serpente mantém a cabeça elevada e ondulações pronunciadas

ocorrem na parte anterior do seu pescoço, mantido para cima em relação ao substrato (SAZIMA, 1989).

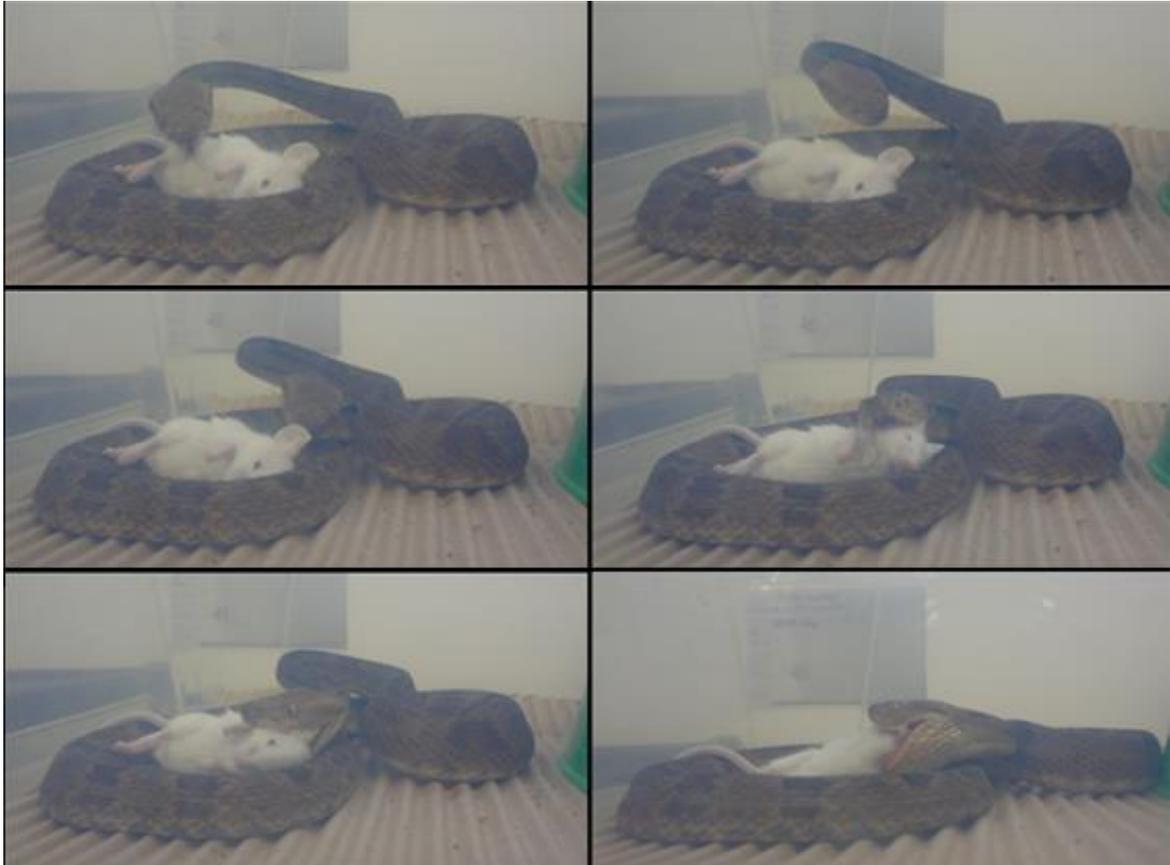


Figura 17: Sequência do comportamento alimentar de *Bothrops insularis* no IVB.

Como já descrito por Amaral (1921b), a *B. insularis* têm uma boa adaptação quanto à alimentação em cativeiro, não influenciando negativamente pela presença de observador.

Segundo Sazima (1989), a *B. jararaca* é caracterizada pela estratégia de desferir bote, soltar a presa e rastreá-la, já a *B. insularis* quase sempre segura sua presa quando inocula o veneno, fato este também descrito por AMARAL (1921b), em uma de suas expedições à ilha.

No estudo de Esteves (2011) foi observado que os filhotes nascidos no IVB, alimentados com neonatos de camundongos, não seguravam as presas quando desferiam o bote, isso pode estar relacionado à alimentação que não é a base de aves como nos adultos. Nas tentativas de oferta de anuros para os animais um pouco mais jovens, foi observado que eles seguravam na boca até que a presa parasse de se mexer. Apesar de não ter ocorrido uma frequência alimentar constante com a oferta deste item alimentar, devido a adaptação da

alimentação com neonatos de camundongo, acredita-se que esse comportamento seja uma forma de evitar que a presa fuja. O trabalho de Hartmann, *et al.* (2003) mostra juvenis de *B. jararaca* se alimentando com anuros pressionando a presa no substrato, evitando uma possível fuga.

Com os animais adultos criados no IVB, podemos observar que este comportamento (de segurar a presa após desferir o bote) ocorria mesmo quando variávamos a oferta de alimento (camundongos, aves ou anfíbios) (Figura 18).



Figura 18: Comportamento de *Bothrops insularis* de segurar diferentes tipos de presa após o bote no IVB.

A *B. insularis* foi encontrada diversas vezes com a cabeça apontada para cima (Figura: 19 e 20), muitas das vezes apoiada em galhos ou na parede do terrário. No trabalho de Araújo & Martins (2006), eles descrevem esse comportamento para o gênero *Bothrops*, como defensivo, podendo ser encontrada essa postura de cabeça e pescoço elevados (parte da cabeça e anterior do corpo levantado a partir do substrato) na posição horizontal, em ângulo de 45° ou vertical. Observamos esse comportamento também em outras espécies criadas no IVB, encontramos algumas serpentes do grupo *Bothrops* no período da noite, com a cabeça apontando para cima.



Figura 19 e 20: Postura de cabeça e pescoço elevados em *Bothrops insularis* criadas no IVB.

Não observamos, o comportamento de engodo caudal, descrito por Andrade, *et al.* (2010), o que pode estar relacionado a uma adaptação à alimentação a base de camundongo oferecida no IVB.

4.2 TRABALHO DE CAMPO

No dia em que desembarcamos na ilha não houve coleta, porém foi encontrado a noite, enrodilhado próximo à área de desembarque, o primeiro exemplar de *B. insularis* (Figura 21).

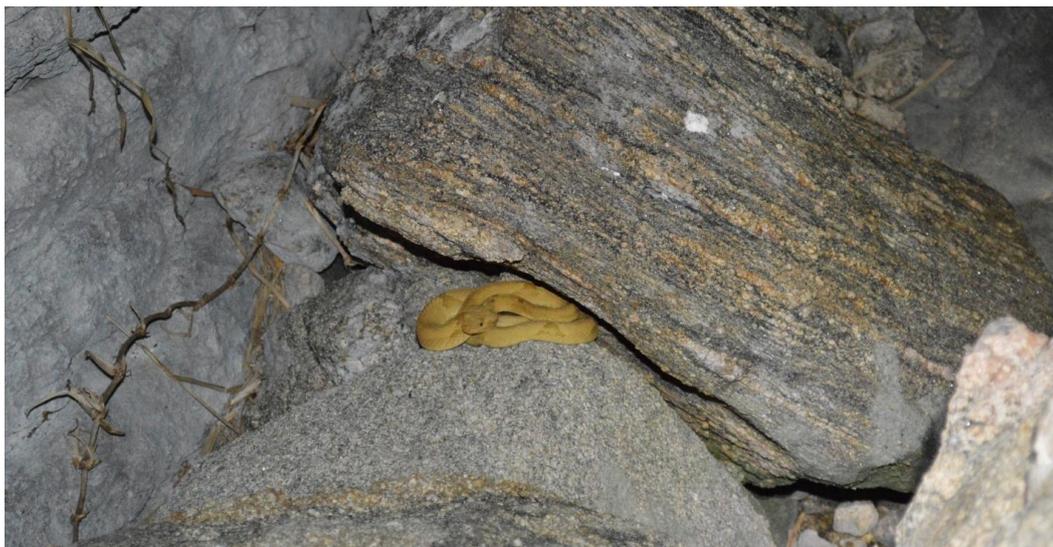


Figura 21: Primeiro exemplar encontrado pela equipe, próximo ao local de desembarque (Foto: Ricardo Dias).

Nos três dias de trilha, foram capturados 22 exemplares, sendo 12♀ e 10♂. Não foi avistado nenhum exemplar na área de capinzal, somente nas bordas próximas à vegetação mais fechada.

Apesar de termos encontrado apenas cinco com *microchip*, não podemos fazer nenhuma afirmação em relação à população com uma amostragem tão pequena, e segundo Martins, *et al.* (2008) e Guimarães, *et al.* (2014) acredita-se que haja um declínio na população da jararaca-ilhoa.

A coleta dos dados biométricos foi importante para que pudéssemos comparar o tamanho dos animais criados em cativeiro no IVB com dos animais de vida livre. Dos 22 animais capturados, somente em dois não foi possível fazer a coleta os dados biométricos. Foram realizadas médias do tamanho e massa corporal dos animais mantidos em cativeiro e os coletados em campo, diferenciando machos e fêmeas.

Os animais foram avistados em cima de galhos, no chão da mata, passando pela trilha, enrodilhados ou ativos e até mesmo em cima da câmera de monitoramento (Figura 22).



Figura 22: Exemplos de *Bothrops insularis* encontrados em diferentes substratos e alturas na Ilha da Queimada Grande.

Hoge, em 1950, descreve que a coloração da jararaca ilhoa, escurece rapidamente quando transportada para São Paulo, fato este também observado por nós com os exemplares criados na Divisão de Zoologia Médica do Instituto Vital Brazil. Segundo Duarte *et al.*, (1995) isto pode ser devido à termorregulação em cativeiro.

4.3 CRESCIMENTO E GANHO DE PESO

Dos animais de ambiente natural, foram coletados dados de comprimento rostro-cloacal (CRC) de 12 fêmeas; a maior com CRC de 860 mm e a menor 680 mm, 8 machos; o maior com CRC 700 mm e o menor 450 mm. Para os animais do IVB, foram 2 fêmeas; a maior com CRC 1152 mm e a menor 901 mm e 4 machos o maior CRC 789 mm e o menor 647 mm. A partir desses dados foi feito cálculo da média e desvio padrão do CRC para comparar os animais de vida livre com animais de cativeiro (comparando ♂ e ♀ de vida livre;

♂ e ♀ de cativeiro; animais de vida livre com os de cativeiro; ♀ de vida livre com as de cativeiro e ♂ de vida livre com os de cativeiro) (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores da média e desvio padrão do comprimento rostro-cloacal (CRC) em mm, de *Bothrops insularis* de ambiente natural e *ex situ*

	Fêmea de vida livre	Macho de vida livre
Média	756,33	625,75
Desvio	62,05	81,45
	Fêmea IVB	Macho IVB
Média	1026,5	708,75
Desvio	177,48	64,98
	Animais de vida livre	Animais IVB
Média	704,1	841,5
Desvio	94,77	206,63
	Fêmea de vida livre	Fêmea IVB
Média	756,33	1026,5
Desvio	62,05	177,48
	Macho vida livre	Macho IVB
Média	625,75	708,75
Desvio	81,45	64,98

Devido ao número reduzido de animais criados no IVB (n=6), ao realizarmos o teste estatístico (*Mann-Whitney*), não obtivemos resultados de significativos para todos os grupos. O teste estatístico mostra que só há significância quando comparados machos e fêmeas de vida livre e fêmeas de vida livre com as de cativeiro (provavelmente pelo n ser maior, e assim possibilitar uma melhor análise e haver grande diferença entre as médias). Mesmo assim, observamos que as fêmeas têm maior CRC que os machos tanto quando mantidas em cativeiro como em vida livre, e os animais criados em cativeiro também possuem tamanho maior que os do ambiente natural, o que já era esperado, devido à maior oferta de alimento em cativeiro (Figura 23).

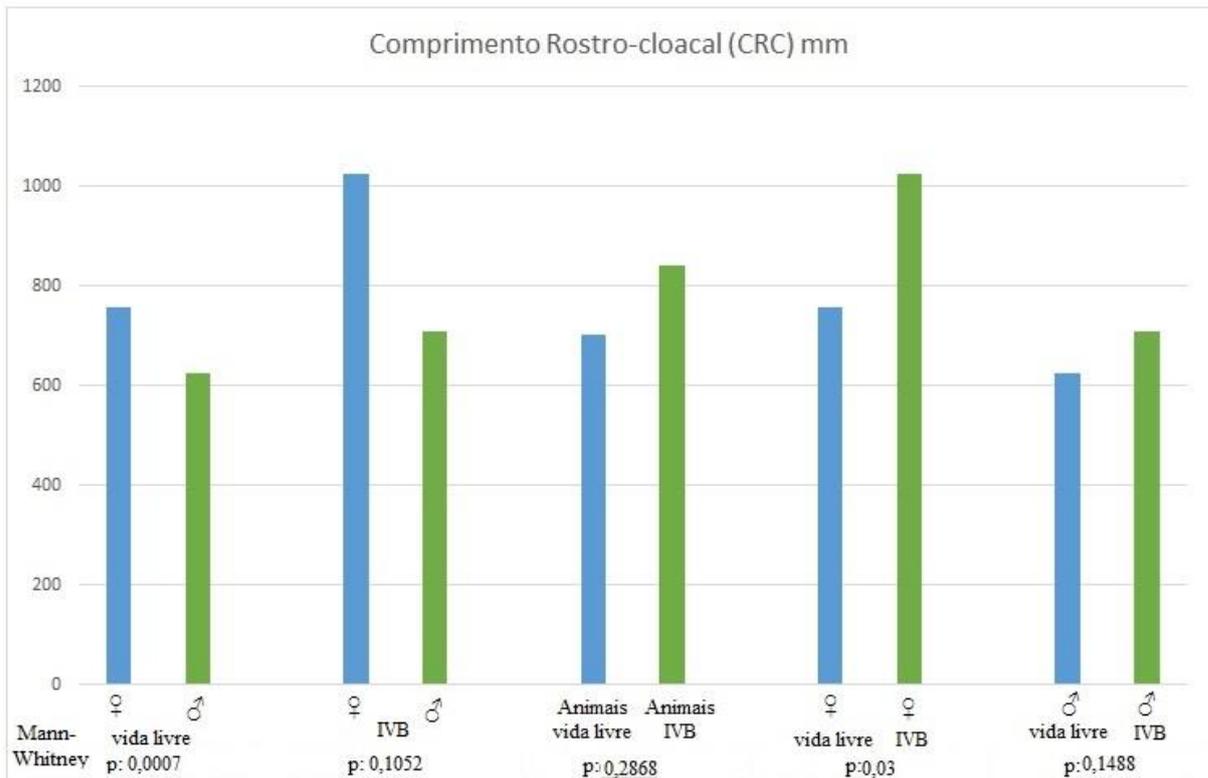


Figura 23: Gráfico de colunas da média do CRC (mm) dos animais de ambiente natural e de cativeiro, com os resultados do teste *Mann-Whitney*.

Foi comparado também o peso dos animais de vida livre com os criados há cinco anos no IVB. O resultado foi bem próximo ao do CRC, mostrando significância somente para o grupo de machos e fêmeas de vida livre e fêmeas de vida livre com as de cativeiro. Como o observado anteriormente, fica claro no gráfico de peso (Figura 24) que, apesar dos resultados estatísticos, as fêmeas têm peso maior que os machos tanto quando mantidas em cativeiro como em vida livre, assim como os animais criados em cativeiro também possuem peso maior.

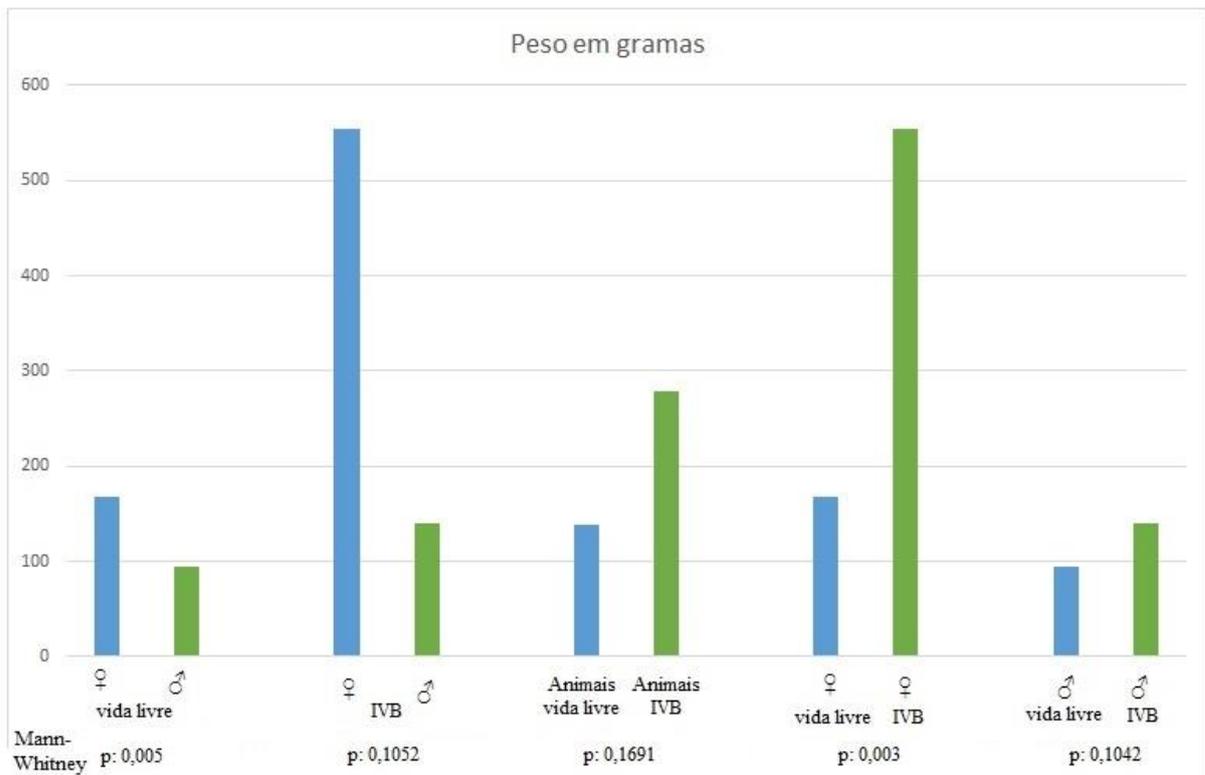


Figura 24: Gráfico de colunas da média do peso (g) dos animais de ambiente natural e de cativo, com os resultados do teste *Mann-Whitney*.

Segundo Kasperoviczus (2009) as fêmeas de *B. insularis* são mais robustas e maiores que os machos em todos os aspectos morfológicos, exceto na cauda, pois mesmo as fêmeas que possuem hemipênis têm a cauda menor que os machos. O tamanho da cabeça também difere o que poderia estar associado a uso diferente de substrato assim como alimentação com presas diferentes, exercendo uma pressão seletiva no tamanho da cabeça.

Marques *et al.*, (2013) cita em seu trabalho que fêmeas de *B. insularis* atingem tamanhos de corpo maiores que os machos.

Outra observação importante é que Amaral (1921a, 1929) descreve a espécie com corpo delgado, dificilmente ultrapassando 1 metro. Na criação do IVB, as fêmeas atingiram um CRC com média de 1026,5 mm, com a maior fêmea medindo 1152 mm. Esse fato se torna ainda mais importante quando comparado a *B. alcatraz*, animal também endêmico, da Ilha de Alcatrazes- SP que, segundo Sazima, *et al.* (2008), se alimenta principalmente de centopeias e lagartos de pequeno porte com fêmeas alcançando um CRC de 500 mm. É descrito, em um livro publicado pelo Instituto Butantan no ano de 2005 *Serpentes Ilhoas em Alcatrazes e Queimada Grande*, quando em cativeiro, mesmo se alimentando de roedores a *B. alcatraz* não

umenta de tamanho, mostrando que a característica é geneticamente fixada, fato este que parece não acontecer com a *B. insularis*.

Para análise de eficiência alimentar, foram coletados os pesos de cada exemplar, a cada dois meses e contabilizado o quanto foi ingerido por eles no mesmo intervalo de tempo. Foi calculada a média para machos e fêmeas em intervalos de tempo específicos (visando minimizar uma variação individual, analisando o grupo como um todo) (Tabela 2). Foi considerado como “zero” o índice daqueles animais que perderam massa, considerando que não houve transformação do alimento ingerido em peso, e aqueles que não modificaram seu peso nos intervalos de tempo. Foi utilizado também o teste estatístico *Mann-Whitney* para analisar o nível de significância das amostras.

Tabela 2 – Valores das Médias e Desvio Padrão do índice de eficiência alimentar de machos e fêmeas de *B. insularis* no IVB.

Período	Média ♀	Desvio	Média ♂	Desvio
Jan - Mar	0,11	0,02	0,06	0,07
Mar - Maio	0,03	0,05	0,01	0,02
Maio - Jul	0,24	0,05	0,12	0,14
Jul - Set	0,62	0,11	0,38	0,09
Set - Nov	0	0	0	0
Nov - Jan	0	0	0,07	0,12
Jan - Mar	0,07	0,09	0,11	0,13
Mar - Maio	0,17	0,23	0,01	0,02
Maio - Jul	0,23	0,33	0,19	0,38
Jul - Set	0,22	0,31	0	0
Set - Nov	0	0	0,09	0,15
Nov - Jan	0,02	0,02	0	0

Em abril de 2015, houve uma diminuição na alimentação dos exemplares a fim de evitar um sobrepeso dos animais que poderia ser prejudicial para os mesmos.

Ao realizarmos o teste estatístico (*Mann-Whitney*), não obtivemos resultados de significância para nenhum grupo. Além do n amostral ser pequeno os índices utilizados tiveram variação individual, por exemplo, o mesmo animal em um período tendo uma eficiência de 9% e no seguinte 38%, e em outros períodos chegando a ter zero de eficiência, o que atrapalha a análise como um todo. Segundo Vieira (2010) essa variação interfere no teste estatístico, aumentando os valores do p-valor por não ter uma uniformidade dos dados.

Devido a isso, mesmo sendo visível pelos gráficos que há diferença entre machos e fêmeas, os testes estatísticos não são significantes.

O gráfico de I.E.A. (Figura 25) mostra de uma forma geral, que as fêmeas possuem uma melhor eficiência alimentar que os machos.

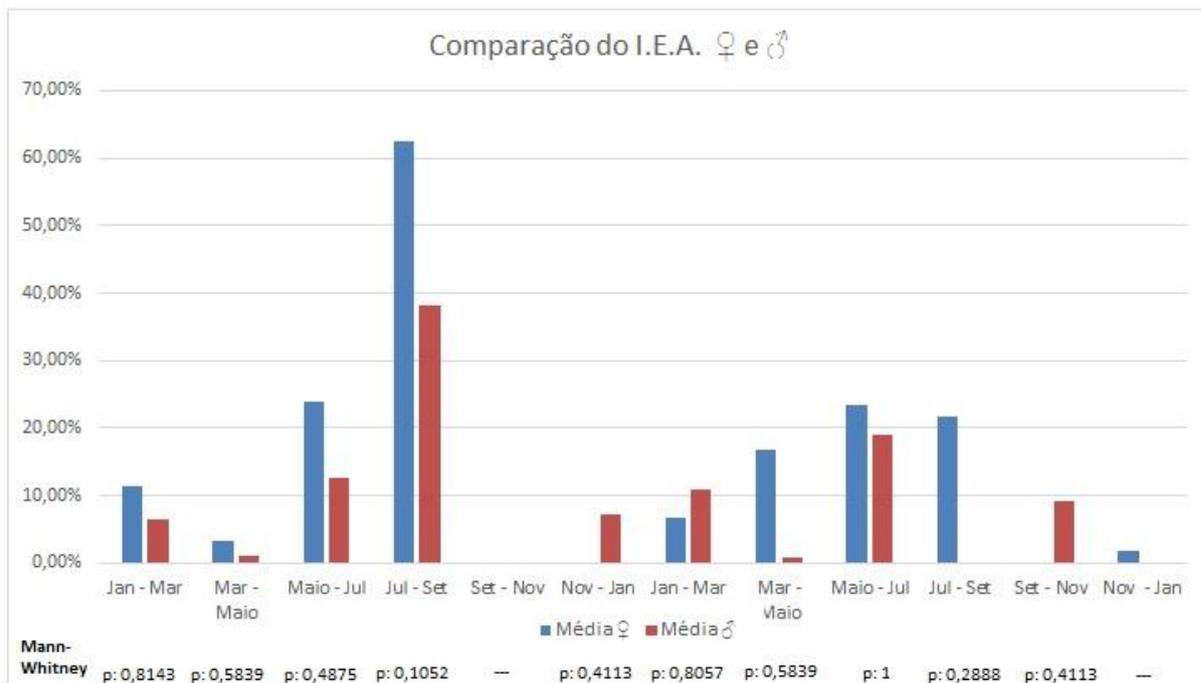


Figura 25: Gráfico de colunas com a média do índice de eficiência alimentar comparando machos e fêmeas de *B. isularis* no IVB entre 2014 e 2016, com os resultados do teste *Mann-Whitney*.

Segundo Shine (1991), em muitas espécies há uma diferença no uso de habitat de machos e fêmeas, relacionados à divergência da dieta, com fêmeas com cabeças maiores associadas a uma maior ingestão de alimento, devido ao maior gasto energético na reprodução. Portanto ele relaciona o dimorfismo sexual não só à ação hormonal, mas também a alimentação.

O trabalho de Travaglia-Cardoso *et al.*, (2010), mostra que há uma diferença na posição do coração entre machos e fêmeas, nas fêmeas o coração está localizado mais anteriormente, recurso muitas vezes relacionado ao hábito arborícola, neste contexto. Provavelmente os machos devem passar mais tempo no chão que as fêmeas, se alimentando mais de presas ectotérmicas, como juvenis, e fêmeas de aves. Ainda naquele trabalho, os pesquisadores mostram que há um padrão de crescimento semelhante entre os sexos até o segundo ano de vida. O crescimento se torna acelerado nas fêmeas até os quatro anos, mantendo um padrão até chegar aos sete, já os machos continuam a crescer somente até os

quatro anos e depois não há uma diferença significativa. Esse crescimento acelerado observado em fêmeas pode estar relacionado a uma maior eficácia em assimilar o alimento.

Kasperoviczus (2009) descreve o ciclo reprodutivo de fêmeas de *B. insularis*, como sazonal; a vitelogênese começando no início do outono com seu máximo na primavera. O início de deposição de vitelo (> 9mm) é observado a partir de março (final do verão), e os folículos ovarianos têm um aumento (acréscimo de íons, sais minerais e vitelo) de julho até novembro (metade do inverno e metade da primavera).

As fêmeas possuem uma maior eficiência alimentar nos meses de maio a setembro (final do outono e inverno). Isso pode estar relacionado à necessidade de aquisição de energia para dar início à fase reprodutiva, pois segundo Shine (2003) há um custo elevado para vitelogênese. Essa eficiência tem uma queda nos meses de setembro a janeiro (primavera e início do verão), onde há um investimento no aumento dos folículos com deposição de vitelo.

Além disto, Ameida-Santos, (2005) explica em seu trabalho, que no final da primavera os espermatozoides, que ficaram viáveis no útero durante todo o inverno, ascendem para o oviduto ocorrendo à fecundação. Marques *et al.*, (2013) mostram que o desenvolvimento embrionário ocorre na primavera e meio do verão (outubro a abril); o que pode aumentar o gasto energético diminuído assim a eficiência.

4.4 COMPORTAMENTO REPRODUTIVO

Foram colocados dois casais em terrários de 1,0m x 1,0m x 60cm no mês de maio de 2014 (casal de nº1; 5775♀ e 5776♂ e o casal de nº 2; 5774♀ e 5777♂). Os casais ficaram juntos durante todo o período reprodutivo (foram colocados no mesmo terrário em maio de 2014, sendo separados somente em novembro do mesmo ano).

Foram observados os dois primeiros comportamentos de corte em diversos horários do dia, tanto no período da manhã quanto da tarde, mostrando não haver um período padrão para o comportamento. Os animais realizavam esse comportamento, em cima de galhos e no chão do terrário (Figuras 26 e 27), o que já tinha sido observado por Amaral (1921b) com animais de ambiente natural.



Figuras 26 e 27: Comportamento de corte de *B. insularis* no IVB.

Marques *et al.* (2002a) descrevem o período reprodutivo de *Bothrops insularis* ocorre entre março e julho e o nascimento no começo do ano. Neste estudo, registramos corte até meados de outubro, o que corrobora Silva *et al.* (2013) que relatam que pode haver uma ampla variação da época de acasalamento, gestação e nascimento, em espécies em cativeiro.

Durante o período em que permaneceram no mesmo terrário, eles foram encontrados diversas vezes enrodilhados juntos, não só no chão do terrário, mas também em cima de galhos (Figuras 28 e 29), comportamento que não é observado, em outras espécies do gênero *Bothrops* na criação no IVB, (Melgarejo, com. pess.), porém já citado por Kasperoviczus (2009) em observações de campo na Ilha da Queimada Grande.



Figuras 28 e 29: Casal encontrado enrodilhado durante o período reprodutivo.

Em maio de 2014 observou-se uma secreção seca no substrato de papelão do recinto do casal n° 1 e em junho do casal n° 2, o que presumimos ser fluídos de ejaculação, indicando uma possível cópula. A partir dessa informação iniciamos, em outubro, um monitoramento mensal com exames de imagem, para acompanhamento de um possível desenvolvimento gestacional, porém não houve novas evidências deste desenvolvimento durante os meses que se seguiram.

Em março de 2015 os mesmos casais foram colocados juntos, porém desta vez, por um período restrito de tempo, sendo separados ao fim da observação do comportamento reprodutivo.

Nos meses de março, abril e maio só foram observados comportamento de corte, já no final de junho, foi registrada cópula do casal n° 2 (5774♀ 5777♂) e em julho do casal n° 1 (5775♀ com 5776♂). Foi observado todo o comportamento de corte descrito por Guillingham, (1987) e Alves *et al.*, (2000), começando sempre por iniciativa do macho, com movimentos laterais da cabeça no dorso da fêmea, agitando repetidamente a cauda induzindo-a a aceitação (Figura 30).



Figura 30: Comportamento de corte de *B. insularis* no IVB (Foto: Frederico Figueiredo).

Assim que colocado no terrário da fêmea, o macho (casal nº 2) começou a perseguição táctil, com um frequente dardejar de língua. Ele se aproximou da fêmea posicionando-se sobre seu dorso emitindo ondulações esfregando a região gular no dorso dela. A fêmea que estava enrodilhada começou a se esticar no terrário, facilitando o alinhamento, e o macho começou então a emitir vibrações caudais. As caudas entrelaçam e a fêmea abriu a cloaca para introdução do hemipênis (Figura 31).



Figura 31: Sequência do comportamento reprodutivo do casal n°2.

Devido ao horário de funcionamento do Instituto, não foi possível observar toda a cópula do casal n° 2, sendo observadas apenas as primeiras 5h. No dia seguinte pela manhã, o casal foi encontrado enrodilhado junto (Figura 32).



Figura 32: Casal nº2 encontrado enrodilhado no dia seguinte da cópula.

No dia 14 de julho de 2015 às 08h00, juntamos o casal nº 1. Assim que colocado no terrário da fêmea, o macho começou a inspecionar o território, com intenso dardejar de língua, iniciando a perseguição tátil. Após 15 minutos, o macho se aproximou da fêmea, posicionando sobre o seu dorso com movimentos sutis da cabeça esfregando a região gular no dorso da fêmea. A fêmea permaneceu parada até o macho se aproximar da sua cabeça e tentar parear cloaca, com bater de cauda e a exposição do hemipênis, neste momento a fêmea esfregou a cabeça na do macho.

As 08h50 entrelaçaram as caudas, a fêmea abriu a cloaca permitindo que o macho introduzisse o hemipênis esquerdo na cloaca dela, dando início à cópula que só finalizou as 19h10. Foram observados movimentos ondulatórios na região caudal do macho, próximo ao hemipênis (uma média de três movimentos por minuto), porém não podemos confirmar se eram associados à ejaculação. Esses movimentos muitas vezes eram seguidos de dardejar de língua. O comportamento de corte foi mais intenso na primeira hora de cópula, diminuindo a frequência nas horas seguintes. Durante todo o período a fêmea permaneceu praticamente parada, batendo a cauda algumas vezes, o que fazia com que o macho voltasse a corteja-la. Após seis horas, a fêmea começou a puxar a cauda, numa possível tentativa de interromper a cópula, intensificando novamente o cortejo do macho. Após 10h20 de cópula o casal se separou, o macho se afastou para a ponta do terrário oposta à fêmea, e esta esfregou a cabeça em seu próprio corpo, dando um bocejo (Figura 33). Após vinte minutos passados sem que

ambos exemplares apresentassem qualquer comportamento, o macho foi retirado do terrário e o casal foi separado.

Segundo o trabalho de Alves *et al.* (2000), o maior tempo de cópula registrado para *B. jararaca* em cativeiro foi de 9 horas consecutivas. Em 1921b, Amaral descreve a cópula da jararaca ilhoa como muito demorada, o que corrobora com o registrado por nós neste trabalho, 10h20 minutos.



Figura 33: Sequência do comportamento reprodutivo do casal nº1.

Segundo Amaral (1921b), influências externas não parecem interferir negativamente na alimentação desses animais em cativeiro, porém durante o comportamento reprodutivo notamos que em alguns momentos a movimentação do observador fazia com que o macho parasse o comportamento.

Houve duas tentativas de juntar os machos nascidos em cativeiro com as fêmeas vindas da natureza e, nos dois casos, os machos se mostraram agitados, se afastando das

fêmeas na tentativa de sair do terrário. Segundo Kasperoviczus (2009), baseados em dados de coleção, o menor macho sexualmente maduro tinha o comprimento rostro-cloacal (CRC) de 505mm, e no trabalho de Silva (2014) ela relata que machos são sexualmente maduros com o CRC igual ou acima de 435mm e que não há relação entre CRC, massa e os parâmetros seminais que avaliou (volume, motilidade, vigor e concentração), indicando que animais mais jovens e menores já podem estar sexualmente maduros. O tamanho dos machos que nasceram no IVB, ultrapassa o descrito por Kasperoviczus (2009) e Silva (2014), como mínimo para maturidade, portanto não sabemos se este comportamento apresentado por eles está relacionado a este fato. Silva (2014) cita ainda, que precisam ser realizadas mais pesquisas sobre a fisiologia reprodutiva para assegurar quando eles atingem de fato a maturidade sexual, levando em consideração não só dados histológicos, mas também um acompanhamento hormonal e do comportamento destes animais.

Não foi observada cópula dos animais em cima de galhos, pois estes eram retirados antes que os animais fossem colocados juntos, para que houvesse uma melhor observação, portanto não podemos concluir que há ou não uma preferência de substrato para este comportamento em cativeiro.

Segundo Bovo *et al.* (2012) o uso de áreas abertas para termorregulação é comum nas serpentes, porém esse comportamento é evitado pela *B. insularis*, sendo uma possível estratégia para evitar predação e desidratação. Observamos que houve uma maior permanência da fêmea prenha em cima do galho, sendo encontrada em diversos horários do dia e às vezes permanecendo enrodilhada sobre ele o dia inteiro. Inicialmente associamos à termorregulação, como ocorre em outras espécies do gênero, porém, segundo os trabalhos de Bovo (2009) e Bovo *et al.* (2010) em condições naturais as fêmeas prenhas de *B. insularis*, não apresentam evidências de alteração de seu comportamento termorregulatório quando comparadas a fêmeas não reprodutivas, não havendo variação da temperatura corporal entre estes indivíduos. Devido a climatização da sala em que os animais são mantidos no IVB, há uma pequena variação de temperatura no verão e na primavera (período de fertilização e gestação), que provavelmente é maior na ilha, com isso supomos que esse tempo maior de permanência da fêmea prenha em cima dos galhos seja por um aumento da temperatura corporal e assim do metabolismo, favorecendo a gametogênese e o desenvolvimento dos embriões.

As interações entre os machos podem variar de uma tolerância mútua a batalhas físicas (SHINE, 2003). Segundo Kasperoviczus (2009) e Marques *et al.* (2013), não há registro de

combate para a jararaca ilhoa em campo nem em cativeiro, comportamento que não pôde ser observado neste trabalho, pois não foram colocados dois machos juntos com a fêmea para reprodução.

No trabalho de Silva *et al.* (2013) foi observado, para as *Bothrops*, ecdise no período reprodutivo, pois na vitelogênese secundária a gordura abdominal é transformada em vitelo. As fêmeas de *B. insularis* mantidas no IVB, não apresentaram divergência em suas ecdises quando comparadas aos anos anteriores, realizando uma média de duas mudas de pele por ano, diferenciando só em 2015, onde só foi registrada ecdise no primeiro semestre do ano, o que poderia estar associado a uma menor taxa de crescimento neste último ano.

4.5 EXAMES DE IMAGEM

Foi feito um acompanhamento com exames de imagens nas fêmeas de *B. insularis*, a fim de monitorar as condições reprodutivas, com um acompanhamento da foliculogênese, diagnóstico de gestação e previsão da data de parturição.

Segundo Matayoshi *et al.*, (2012) a ultrassonografia é um método diagnóstico seguro, não invasivo e eficiente utilizado na medicina de répteis. Suas aplicações incluem monitoramento da função reprodutiva e diagnóstico de afecções por meio da análise das mudanças anatômicas e topográficas dos órgãos.

Nas primeiras imagens de ultrassonografia realizadas em outubro de 2014 (Figuras 34 e 35), foi observada uma massa com o tamanho maior que 9mm, o que segundo Kasperoviczus (2009), são folículos ovarianos com um aumento (acréscimo de íons, sais minerais e vitelo), folículos em vitelogênese ativa, de julho até novembro (metade do inverno e metade da primavera).



Figura 34: Imagem de ultrassonografia ♀ 5774

Figura 35: Imagem de ultrassonografia ♀ 5775

(Outubro de 2014 - Dra. Márcia Salomão)

Matayoshi (2011) descreve essas massas lobulares (folículos) como estruturas ovóides, anecogênicas ou preenchidas por conteúdo parenquimal misto (anecogênico e hipocogênico) devido ao acúmulo de vitelo, apresentando paredes finas, regulares e hiperecogênicas, com aspecto semelhante a um “colar de contas” envolvido por tecido gorduroso. Após esse exame foi feito um acompanhamento com exames de radiografia mensais (Figuras 36 e 37) onde foram observadas estruturas ovóides com média radiopacidade.



Figura 36: Imagem de radiografia ♀ 5774
(Outubro de 2014 - Dr. Frederico Guimarães)

Figura 37: Imagem de radiografia ♀ 5775
(Outubro de 2014 - Dr. Frederico Guimarães)

No decorrer dos meses realizamos exames de radiografia para acompanhar o desenvolvimento folicular das fêmeas 5774 (Figura 38) e 5775 (Figura 39).



Figura 38: Acompanhamento do desenvolvimento folicular da fêmea 5774 (Dr. Frederico Guimarães).



Figura 39: Acompanhamento do desenvolvimento folicular da fêmea 5775 (Dr. Frederico Guimarães).

No trabalho de Janeiro-Cinquini (2004b) foi observada uma variação do tamanho dos folículos ovarianos durante o ano. Folículos da classe I (menores que 0,5 cm de diâmetro) e II

(0,6 a 1,0 cm) foram encontrados em todos os meses, enquanto os da classe III (1,1 a 2,0 cm) e IV (2,1 a 3,0 cm), somente de abril a setembro. Foram encontrados folículos de classe III e até mesmo classe VI durante os meses mostrados acima.

Após observarmos todo o comportamento de cópula em ambos os casais vimos, nas imagens de radiografia, que na fêmea 5774 esses folículos não estavam tão demarcados (Figura 40). Já na fêmea 5775 esses folículos estavam mais definidos, dispostos em cadeia ou “cachos” encontrados mais próximos à cloaca (Figura 41). No trabalho de Almeida-Santos & Salomão (2012) é descrito que o desenvolvimento embrionário é claramente visível a partir de outubro e Kasperoviczus (2009), observa ovos e embriões nos ovidutos de outubro (início da primavera) a abril (início do outono) sugerindo um período gestacional de 4 a 5 meses.



Figura 40: Imagem de radiografia ♀ 5774
(Dezembro de 2015 - Dr. Frederico Guimarães)

Figura 41: Imagem de radiografia ♀ 5775
(Dezembro de 2015 - Dr. Frederico Guimarães)

Devido aos resultados obtidos no exame de radiografia de dezembro, optamos por não realizar o exame de ultrassonografia na ♀ 5774 em janeiro de 2016, pois a mesma tinha acabado de comer, portanto, preferimos evitar o manejo e um possível estresse para o animal. Em fevereiro deste mesmo ano, realizamos o exame e notamos folículos menores do que os observado anteriormente (Figura 42), descrito por Janeiro-Cinquini (2004b) como folículos de classe II (0,6 a 1,0 cm), em vitelogênese primária. Em seu trabalho de 2009, Kasperoviczus diz que o maior número de fêmeas com vitelogênese primária do que secundária sugere que

elas não se reproduzem anualmente. Foi observada a cópula para esta fêmea, devido a isto, acreditamos que ela ainda esteja estocando esperma.

No exame de ultrassonografia realizado em janeiro e fevereiro de 2016, na ♀ 5775, observamos uma área hiperecogênica, na qual acreditamos ser a calcificação da coluna vertebral (Figuras 43) no centro de todos os folículos, porém não detectamos batimentos cardíacos e movimentos fetais, o que é colocado no trabalho de Matayoshi (2011) como forma de identificação dos fetos no estágio final da gestação.



Figura 42: Imagem de ultrassonografia ♀ 5774 (Fevereiro de 2016- Dra. Mariana Araújo)



Figura 43: Imagem de ultrassonografia ♀ 5775 (Fevereiro de 2016- Dra. Mariana Araújo)

Esta diferença de desenvolvimento folicular entre as fêmeas se mostra ainda mais clara nas imagens de raio X realizadas em fevereiro de 2016. Na imagem da ♀ 5774 (Figura 44), não conseguimos visualizar os vitelos, já na ♀ 5775, observamos a disposição de estruturas ovóides nos ovidutos (Figura 45).



Figura 44: Imagem de radiografia ♀ 5774
(Fevereiro de 2016- Dr. Frederico Guimarães)

Figura 45: Imagem de radiografia ♀ 5775
(Fevereiro de 2016- Dr. Frederico Guimarães)

Segundo Kasperoviczus (2009), a estimativa de fecundidade é realizada contando-se o número de folículos em vitelogenese secundária, folículos ovarianos ou ovos/embriões no útero de fêmeas reprodutivas. Nos exames realizados ao decorrer do trabalho, observamos que esses folículos ultrapassam o número descrito para ninhadas de *B. insularis*, mas não sabemos se todos eles serão viáveis.

Infelizmente não foi possível a inclusão dos dados sobre a parturição neste trabalho, devido ao tempo restrito para o desenvolvimento do mesmo. Seguiremos acompanhando o comportamento reprodutivo em cativeiro, a fim de observar a parturição, este fenômeno conclusivo do ciclo reprodutivo, podendo assim dar um desfecho para o monitoramento realizado neste trabalho, contribuindo com possíveis publicações.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Exemplares adultos de *B. insularis* aceitaram a alimentação em cativeiro a base de camundongos, se alimentando tanto em cima de galhos como no chão do terrário;

- O comportamento de desferir o bote e segurar a presa até ela parar de se mexer se mantém mesmo nos animais mantidos há cinco anos no cativeiro, sendo observado nos adultos, independente da presa oferecida (anuros, aves, camundongos);

- Foram encontrados exemplares de *B. insularis* com a cabeça e pescoço elevados na posição de 45° e vertical, indicando comportamento defensivo;

- A coloração dos animais escurece quando trazidos para o cativeiro, ficando mais escuros que os animais encontrados na Ilha;

- Os animais mantidos em cativeiro têm comprimento rostro-cloacal (CRC) e peso maiores que os de vida livre;

- As fêmeas são maiores e mais pesadas que os machos, tanto em animais de cativeiro como nos de vida livre;

- Foi observado o comportamento de corte em diversos horários do dia, mostrando não haver um horário padrão para este comportamento, ocorrendo tanto em cima de galhos quanto no chão do terrário;

- Quando mantidos no mesmo terrário para copular, os casais foram encontrados enrodilhados juntos;

- Foi registrada cópula para os dois casais de *B. insularis* criados no IVB, no final de junho e em julho de 2015, com um tempo de duração de mais de 10 horas para um dos casais;

- Apesar não ter evidências de alteração do comportamento termorregulatório de fêmeas prenhas quando comparadas a fêmeas não reprodutivas, observamos que durante o período gestacional, a fêmea passava um maior tempo em cima do galho, o que acreditamos

ser uma tentativa de aumentar sua temperatura corporal, pois há uma constância na temperatura da sala em que são mantidos os animais;

- No acompanhamento por exames de imagem durante o período gestacional, foi possível observar uma mancha hiperecogênica, indicando calcificação da coluna vertebral dos embriões;

- Observamos um número elevado de folículos ultrapassando o número descrito para ninhadas de *B. insularis* (10), mas não sabemos se todos eles serão viáveis;

- Continuaremos monitorando os animais, ampliando o plantel e ajustando parâmetros para a criação de um grupo reprodutivo viável auxiliando assim, no estabelecimento de protocolos para a criação desta espécie criticamente ameaçada visando contribuir com sua conservação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDRIDGEA, R.D. & DUVALL, D. 2002. Evolution of the mating season in the pitvipers of North America. *Herpetological Monographs* 16(1): 1-25.

ALMEIDA-SANTOS, S.M. 2005. Modelos reprodutivos em serpente: estocagem de esperma e placentação em *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae). Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ALMEIDA-SANTOS, S.M.; BRAZL, H.; SANTOS, L.C.; SUEIRO, L.R.; BARROS, V.A.; ROJAS, C.A.; KASPEROVICZUS, K.N. 2014. Biologia reprodutiva de serpentes: recomendações para a coleta e análise de dados. *Herpetologia Brasileira* 3(1).

ALMEIDA-SANTOS, S.M. & ORSI, A.M. 2002. Ciclo reprodutivo de *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae): morfologia e função do oviduto. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* 26(2).

ALMEIDA-SANTOS, S.M. & SALOMÃO, M.G. 2002. Reproduction in neotropical pitvipers, with emphasis on species of the genus *Bothrops*. In: SCHUETT, G.W.; HOGGREN, M.; DOUGLAS, M.E.; GREENE, H.W. **Biology of the Vipers**. Eagle Mountain Publishing, p. 445-462.

ALVES, M.L.; ARAÚJO, M.L. WITT, A.A. 2000. Aspectos da biologia reprodutiva de *Bothrops jararaca* em cativeiro (Serpentes, Viperidae). *Série Zoologia* 89: 187-192.

AMARAL, A. 1921a. Contribuição para o conhecimento dos ophidios do Brasil - A. Parte I. Quatro novas espécies de serpentes brasileiras. *Anexos Mem. Inst. Butantan, São Paulo*, 1(1):18-37.

AMARAL, A. 1921b. Contribuição para o conhecimento dos ophidios do Brasil - A. Parte II. Biologia da nova espécie, *Lachesis insularis*. *Anexos Mem. Inst. Butantan, São Paulo*, 2(1): 39-44.

AMARAL, A. 1927. Excursão a Ilha da Queimada Grande: notas sobre a biologia de uma *Lachesis* ali existente. Anexos Mem. Inst. Butantan, São Paulo, 2: 49-57.

AMARAL, A. 1929. Contribuição para o conhecimento dos ophidios do Brasil.IV. Lista remissiva dos ofídios do Brasil. Anexos Mem. Inst. Butantan, São Paulo, 4: 69-125.

ANDRADE, D.V.; MARQUES, O.A.V.; GAVIRA, R.S.B; BARBO, F.E; ZACARIOTTI, R.L. & SAZIMA, I. 2010. Tail luring by the Golden lancehead (*Bothrops insularis*), an island endemic snake from South-eastern Brazil. In: South American Journal of Herpetology, 5(3): 175-180.

ARAÚJO, M.S. & MARTINS, M. 2006. Defensive behavior in pit vipers of the genus *Bothrops* (Serpentes, Viperidae). *Herpetological Journal*. 16: 297-303.

BERNARDE, P. S. 2012. **Anfíbios e répteis: introdução ao estudo da herpetofauna brasileira**. Curitiba: Anolis Book, 320p.

BERNARDE, P.S. 2014. **Serpentes peçonhentas e acidentes ofídicos no Brasil**. Curitiba: Anolis Book, 223 p.

BÉRNILS, R.S. & COSTA, H.C. 2015. Répteis brasileiros: Lista de espécies. *Herpetologia Brasileira*, 4(3). Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br/>>. Sociedade Brasileira de Herpetologia. Acessada em: 15 de jan. 2016

BOVO, R. P. 2009. Ecologia termal da jararaca-ilhoa, *Bothrops insularis* (Serpentes, Viperidae): um estudo em condições naturais. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. São José do Rio Preto, SP.

BOVO, R. P.; MARQUES, O.A.V; ANDRADES, D.V. 2010. Does gestation or feeding affect the body temperature of Golden lancehead, *Bothrops insularis* (Squamata:Viperidae) under field conditions? *Zoologia*. 6(27): 973-978.

BOVO, R.P.; MARQUES, O.A.V & ANDRADE, D.V. 2012. When basking is not an option: thermoregulation of a viperid snake endemic to a small island. In the South Atlantic of Brazil. In: Copeia, 3: 408-418.

COUTO, A. L. G. 2008. Manejo de Serpentes, Escorpiões e Aranhas. In: MOLINARO, E. M; MAJEROWICZ, J.; VALLE, S. [organizadores] **Biossegurança em bioérios**. Rio de Janeiro: Interciência, p.143-167.

CULLEN, L. JR; RUDRAN, R.; VALLADARES-PADUA, C. 2006. **Métodos de estudos em Biologia da Conservação e Manejo da Vida Silvestre**. Curitiba: Ed. Universidade Federal do PARANÁ, 652p.

DUARTE, M.R.; PUORTO, G.; FRANCO, F.L. 1995. A Biological Survey of the Pitviper *Bothrops insularis* Amaral (Serpentes, Viperidae): an Endemic and Threatened Offshore Island Snake of Southeastern Brazil. Studies on Neotropical Fauna na Environment, 30(1): 1-13.

ESTEVES, R.G. 2011. Biologia alimentar e comportamental da jararaca-ilhoa, *Bothropoides insularis* (AMARAL, 1921) em cativeiro, no Instituto Vital Brazil. Monografia (Bacharel em Biologia Marinha) – Faculdades Integradas Maria Thereza, Rio de Janeiro, 37 p.

GOMES, N.; PUORTO, G. 1993. Atlas anatômico de *Bothrops jararaca* Wied, 1824 (Serpentes: Viperidae). Mem. Inst. Butantan, 55: 69-100.

GUIMARÃES, M.; STEYER, R.M; MARTINS, M.; SAWAYA, R.J. 2014. Population Dynamics of the critically endangered Golden lancehead pitviper, *Bothrops insularis*: Stability or Decline? Plos one 9(4).

GUILLINGHAM, J.C. 1987. Social behavior. In: SEIGEL, R.A.; COLLINS, J.T. & NOVAK, S.S. (eds.). Snakes, ecology and evolutionary biology. New York: McMillan Publishing Company:184-209.

HARTMANN, P.A.; HARTMANN, M.T.; GIASSON, L.O.M. 2003. Uso do habitat e alimentação em juvenis de *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae) na Mata Atlântica do sudeste do Brasil. *Phyllomedus* 2(1): 35-41.

HOGUE, A. R. 1946. Um novo lagarto da Ilha da Queimada Grande) Mem. Inst. Butantan, São Paulo, 19: 241-248.

HOGUE, A. R. 1950. Notas erpetológicas. Fauna erpetológica da Ilha da Queimada Grande - A. Mem. Inst. Butantan, São Paulo, 19: 151-172.

HOGUE, A. R.; BELLUOMINI H.E.; SCHREIBER, G.; PENHA, A. M. 1959. Sexual abnormalities in *Bothrops insularis* (Amaral, 1921), (Serpentes) **Mem. Inst. Butantan**, São Paulo, 29: 17-88.

INSTITUTO BUTANTAN. 2005. **Serpentes Ilhoas em Alcatrazes e Queimada Grande**. São Paulo: Magma.

JANEIRO-CINQUINI, T.R.F. 2004a. Capacidade reprodutiva de *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae) *Inheringia Série Zoologia*, Porto Alegre, 94(4): 429-431.

JANEIRO-CINQUINI, T.R.F. 2004b. Variação anual do sistema reprodutor de fêmeas de *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae). *Inheringia Série Zoologia*, Porto Alegre, 94(3): 325-328.

KASPEROVICZUS, K. N. & ALMEIDA-SANTOS, S. M. 2012. Instituto Butantan e a jararaca-ilhoa: cem anos de história, mitos e ciência. *Cadernos de História da Ciência – Instituto Butantan*, 8(2).

KASPEROVICZUS, K. N. 2009. Biologia reprodutiva da Jararaca Ilhoa, *Bothrops insularis* (Serpentes, Viperidae) da Ilha da Queimada Grande, São Paulo. [Dissertação de Mestrado]: Universidade de São Paulo - Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo.

MACARRÃO, A. 2010. Avifauna da ilha da Queimada Grande, SP: diversidade, estrutura trófica, sazonalidade. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. São José do Rio Preto, SP.

MACHADO, A. B. M.; MARTINS C. S.; DRUMMOND, G. M. 2008. **Livro vermelho da Fauna Brasileira ameaçada de extinção**. Belo Horizonte, MG : Fundação Biodiversitas, (2): 1420 p.

MARQUES, O.A.V; ABE, A.S; MARTINS, M. 1998. Estudo diagnóstico da diversidade de reptéis do Estado de São Paulo. In: **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**, p. 27-38.

MARQUES, O.A.V.; ETEROVIC, A.; SAZIMA, I. 2001. **Serpentes da Mata Atlântica: Guia ilustrado para a serra do mar**. Editora Holos: 184p.

MARQUES, O. A. V.; MARTINS, M.; SAZIMA, I. 2002a. A jararaca da Ilha da Queimada Grande. *Ciência Hoje* 31 (186): 56-59.

MARQUES, O.A.V; MARTINS, M. & SAZIMA, I. 2002b. A new of pitviper from Brazil, with comments on evolutionary biology and conservation of the *Bothrops jararaca* group (Serpentes, Viperidae). *Herpetologica*, 3(58): 303-312.

MARQUES, O.A.V; KASPEROVICZUS, K.; ALMEIDA-SANTOS, S.M. 2013. Reproductive Ecology of the Threatened Pitviper *Bothrops insularis* from Queimada Grande Island, Southeast Brazil. *Journal of Herpetology* 3 (47): 393-399.

MARQUES, O.A.V.; MARTINS, M.; DEVELEY, P.F.; MACARRÃO, A.; SAZIMA, I. 2012. The Golden lancehead *Bothrops insularis* (Serpentes: Viperidae) relies on two seasonally plentiful bird species visiting its island. *Habitat. Journal of Natural History*, 46(13-14): 885-895.

MARTINS, M.; OLIVEIRA, M.E. 1998. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. *Herpetological Natural History*, 6: 78-150.

MARTINS, M.; ARAUJO, M.S.; SAWAYA, R.J.; NUNES, R. 2001. Diversity and evolution of macrohabitat use, body size and morphology in a monophyletic group of Neotropical pitviper (*Bothrops*). *Journal of Zoology* 254: 529-538.

MARTINS, M.; MARQUES, O.A.V.; SAZIMA, I. 2002. Ecological and phylogenetic correlates of feeding habits in Neotropical pitvipers of the genus *Bothrops*. In: SCHUETT, G.W.; HOGGREN, M.; DOUGLAS, M.E.; GREENE, H.W. **Biology of the Vipers**. Eagle Mountain Publishing: p. 307-328.

MARTINS, M. & MOLINA, F. B. 2008. Panorama geral dos répteis ameaçados no Brasil. In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Livro vermelho da Fauna Brasileira ameaçada de extinção**. Belo Horizonte, MG: Fundação Biodiversitas, 2: 1420p.

MARTINS, M. R. C. & MARQUES, O. A. V. 2008. *Bothrops insularis* (Amaral). In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Livro vermelho da Fauna Brasileira ameaçada de extinção**. Belo Horizonte, MG : Fundação Biodiversitas, 2: 352-353.

MARTINS, M.; SAWAYA R. J.; MARQUES, O. A. V. 2008. A first estimate of the population size of the critically endangered lancehead, *Bothrops insularis*. *South American Journal of Herpetology* 3: 168-174.

MATAYOSHI, P.M, 2011. Caracterização ultrassonográfica, morfofisiológica do sistema reprodutor de machos e fêmeas de *Crotalus durissus terrificus* [Dissertação]: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo.

MATAYOSHI, P.M.; SOUZA, P.M.; JUNIOR, R.S.F.; PRESTES, N.C. SANTOS, R.C. 2012. Avaliação ultrassonográfica da cavidade celomática de serpentes. *Veterinária e Zootecnia* 19(4): 448-459.

MELGAREJO, A.R. 2002. Criação e manejo de serpentes. In: ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Editora Fiocruz: p. 175-199.

MELGAREJO, A.R. 2009. Serpentes peçonhentas do Brasil. In: CARDOSO, J.L.C.; FRANÇA, F.O.S; WEN, F.H; MÁLAQUE, C.M.S; HADDAD, V. (orgs.). **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. Sarvier, 2ed: p. 42-60.

MELGAREJO, A.R. 2013. **Criando serpentes Salvando vidas**. Rio Books: 91p.

MENDONÇA, M.T.; CREWS D. 1990. Mating-induce ovarian recrudescence in the red-sided garter snake. *J. Comp. Physiol. A*, 166: 629-632.

PIZZATO, L.; ALMEIDA-SANTOS, S.M.; MARQUES, O.A.V. 2007. Biologia reprodutiva das serpentes brasileiras. In Nascimento, L.B. & Oliveira, M.E. **Herpetologia no Brasil II**. Sociedade Brasileira de Herpetologia: p. 201-221.

RICKLEFS, R. 2003. *A Economia da Natureza*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

ROCHA-BARBOSA, O.; LOGUERCIO, M.F.C; VASCONCELLOS, F. M.; LINS, G. A.; NOVELLI, I. A.; HOHL, L. S. L. 2015. Reptilia. In: EVANILDE, B. **Biologia dos Vertebrados**. Rio de Janeiro: Editora Roca, p. 142-174.

SAZIMA, I. 1989. Comportamento alimentar da jararaca, *Bothrops jararaca*: encontros provocados na natureza. *Ciência e Cultura - Revista da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*. 5(41).

SAZIMA, I.; MARTINS, M.R.C., MARQUES, O.A.V. 2008. *Bothrops alcatraz* Martins & Sazima, 2002. In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Livro vermelho da Fauna Brasileira ameaçada de extinção**. Belo Horizonte, MG : Fundação Biodiversitas, 2: 35-352.

SHINE, R. 1991. Intersexual dietary divergence and the evolution of sexual dimorphism in snakes. *The american naturalist* 138(1): 103-122.

SHINE, R. 2003. Reproductive strategies in snakes. *Proceedings of the Royal Society B* 270: 995–1004.

SILVA, K.M.P; SUEIRO, R.L.; GALASSI, G.G.; ALMEIDA-SANTOS, S.M. 2013. Reprodução de *Bothrops* spp. (Serpentes: Viperidae) em criadouro conservacionista. *Veterinária e Zootecnia* 20(4): 632-642.

SILVA, K. B. 2014. Avaliação do espermograma da jararaca-ilhoa *Bothrops insularis*, (Serpentes: Viperidae) mantidas em cativeiro. [Dissertação de Mestrado] Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Cirurgia, São Paulo.

SOUZA, A.V.C. 2003. Interpretando os índices de conversão alimentar (I.C.A.) e de eficiência alimentar (I.E.A.). Disponível em: <<http://www.polinutri.com.br/upload/artigo/161.pdf>>. Acesso em: 10 de jan. 2016.

TRAVAGLIA-CARDOSO, S.R.; ZELANIS, A.; FURTADO, M.F.D. 2010. Sexual dimorphism in development and venom production of the insular threatened pit viper *Bothrops insularis* (Serpentes: Viperidae) of Queimada Grande Island, Brazil. *Journal of Threatened Taxa*, 10(2):1177-1184.

UETZ, P. & HOSEK, J. 2016. The reptile database. Disponível em: <<http://www.reptile-database.org/>>. Acesso em: 15 de jan. 2016.

VIEIRA, S. 2010. **Bioestatística tópicos avançados**. Elsevier, 3 ed.: 288 p.

ZACARIOTTI, R. L. & GUIMARÃES, M.A.B.V. 2010. Aplicações da biotecnologia na reprodução de serpentes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. Belo Horizonte, 2(34): 98-104. Disponível em: <<http://www.cbra.org.br/>>.

ZELANIS, A. 2006. Análise da variabilidade ontogenética do veneno de *Bothrops insularis* (Amaral, 1921) (Serpentes, Viperidae): implicações adaptativas aos itens alimentares [Dissertação de Mestrado]. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, SP.

ZELANIS, A.; TRAVAGLIA-CARDOSO, S.R.; FURTADO, M.F.D. 2008. Ontogenetic changes in the venom of *Bothrops insularis* (Serpentes: Viperidae) and its biological implication. *South Am J Herpetol.* 3: 43-50.

WUSTER, W.; DUARTE, M.R.; SALOMÃO, M.G. 2005. Morphological correlates of incipiente arboreality and ornithophagy in island. Pitvipers, and the phylogenetic position of *Bothrops insularis*. *J. Zool. Lond.*, 266:1-10.

ANEXOS

DADOS DE CAMPO

25/05/15 (Sol/ Quente/ úmido. Trilha 1/ Jardim).

Hora de início/fim: 10h30/ 14h15 (34,7°C /96%) - 15h20/16h30 (21,2°C /25%)

Foram avistadas 10 serpentes sendo sete capturadas (6♀ e 1♂), 3 animais com microchip.

Horário	Exemplar	Sexo	CT (mm)	CRC (mm)	Peso (g)	Coordenadas	Obs
07h35	BI 01	F	830	710	150	24°28'40.1"/ 46°40'36.4"	Enrodilhada
07h35	BI 02	F	810	720	140	24°28'40.1"/ 46°40'36.4"	Enrodilhada
10h40	BI 03	-	-	-	-	-	Enrodilhada
11h20	BI 04	M	770	665	100	24°28'49.9"/ 46°40'34.0"	Enrodilhada na árvore
12h00	BI 05	F	790	680	120	24°28'58.8"/ 46°40'33.1"	Enrodilhada nas folhas
12h10	BI 06	F	930	820	220	24°29'01.1"/ 46°40'33.6"	
12h25	BI 07	-	-	-	-	24°29'02.9"/ 46°40'34.1"	Enrodilhada
12h50	BI 08	F	940	840	320	24°29'02.9"/ 46°40'34.1"	
13h40	BI 09	-	-	-	-	24°29'12.0"/ 46°40'28.4"	Ativa no solo
13h55	BI 10	F	900	860	200	24°29'13.4"/ 46°40'25.7"	

26/05/15 -> (Nublado/ Ameno/ úmido. Trilha 1/ Jardim).

Hora de início/fim: 09h35/ 12h30 (23,6°C /96%) - 13h40/ 14h30 (23°C /74%)

Foram avistadas 10 serpentes sendo nove capturadas (6♀ e 3♂), nenhum animal com microchip.

Horário	Exemplar	Sexo	CT (mm)	CRC (mm)	Peso (g)	Coordenadas	Obs
09h50	BI 11	F	900	781	140	24°28'43.0"/ 46°40'36.5"	Enrodilhada na árvore
10h00	BI 12	-	-	-	-	-	Enrodilhada
10h50	BI 13	F	860	745	140	24°28'51.0"/ 46°40'33.9"	Enrodilhada na árvore
10h50	BI 14	F	785	690	120	24°28'51.0"/ 46°40'33.9"	Enrodilhada na árvore
11h00	BI 15	M	815	700	90	24°28'57.2"/ 46°40'33.2"	Cruzando a trilha
11h15	BI 16	M	660	565	50	24°29'00.9"/ 46°40'34.4"	
11h30	BI 17	M	745	636	60	24°29'04.7"/ 46°40'34.4"	3m da trilha
11h35	BI 18	F	805	695	140	24°29'04.7"/ 46°40'34.2"	Árvore (3m da trilha)
14h04	BI 19	F	920	800	160	24°29'08.8"/ 46°40'31.9"	
14h25	BI 20	F	850	735	160	24°28'56.0"/ 46°40'32.7"	

27/05/15 -> (Nublado/ Ameno/ úmido. Trilha 1/ Jardim).

Hora de início/fim: 09h20/ 12h20 (25,9°C /95%) - 13h30/ 14h40

Foram avistadas e capturadas 6 serpentes (6♂), 2 animais com microchip.

Horário	Exemplar	Sexo	CT (mm)	CRC (mm)	Peso (g)	Coordenadas	Obs
09h45	BI 21	M	775	680	50	24°28'47.0"/ 46°40'33.7"	Farol
10h27	BI 22	M	770	660	60	24°28'47.9"/ 46°40'34.1"	5m da trilha
10h40	BI 23	M	-	-	-	24°28'48.8"/ 46°40'34.2"	"Recaptura"
13h40	BI 24	M	-	-	-	24°28'13.6"/ 46°40'25.7"	Atravessando a trilha
13h50	BI 25	M	750	650	120	24°29'11.4"/ 46°40'29.0"	Atravessando a trilha
14h15	BI 26	M	540	450	220	24°28'29.5"/ 46°40'32.5"	

LICENÇA SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49360-1	Data da Emissão: 25/05/2015 14:55	Data para Revalidação*: 23/06/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Rhaiza Gama Esteves	CPF: 128.250.767-24
Título do Projeto: BIOLOGIA ALIMENTAR, REPRODUTIVA E COMPORTAMENTAL DA <i>Bothrops insularis</i> (AMARAL, 1921) (SERPENTES: VIPERIDAE), NA CRIAÇÃO EX-SITU NO INSTITUTO VITAL BRAZIL	
Nome da Instituição: INSTITUTO VITAL BRAZIL S.A.(CENTRO DE PESQUISA, PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS)	CPF: 30.064.034/0001-00

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Pesquisa para o projeto de dissertação no Programa de Biodiversidade Neotropical da UNIRIO	05/2015	03/2016

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
5	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	1)Esta Autorização SISBio não contempla coleta (remoção)de exemplares de <i>B.insularis</i> ,mas somente ações de observação do comportamento,com filmagens,registros fotográficos,e,capturas de indivíduos para obtenção de dados biométricos e sexagem; 2)O estudo remete ao mestrado de Rhaiza Gama Esteves,Bióloga da Div.de Zoologia Médica/Instituto Vital Brazil e Mestranda em Biodiversidade Neotropical na UNIRIO,sob Orientação de Ana Maria P.de Carvalho e Silva e Coorientação de Anibal R.Melgarejo Gimenez; 3)Em momento oportuno,o projeto contemplará a coleta in situ(remoção)de <i>B.insularis</i> ,mediante uma renovação de Autorização SISBio, em nome do pesquisador Anibal Melgarejo, do Instituto Vital Brazil. 4)O Instituto Vital Brazil participa do PAN para a Conservação da Herpetofauna Insular.
2	As datas de acesso à ilha da Queimada Grande devem ser informadas à equipe gestora (ICMBio). Há um protocolo sanitário para acesso e permanência à ilha. Portanto solicitamos ao pesquisador titular que entre em contato com a Unidade para orientação, pelo e-mail: arieqpgg@icmbio.gov.br
3	O pesquisador estrangeiro Anibal Rafael Melgarejo Giménez possui vínculo de Portador de visto permanente no Brasil. Dispensado de autorização do Ministério da Ciência e Tecnologia.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Anibal Rafael Melgarejo Giménez	Orientador	010.891.867-03	V038884-0 SE/DPMAF/D-RJ	Estrangeira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 93762494



Página 1/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49360-1	Data da Emissão: 25/05/2015 14:55	Data para Revalidação*: 23/06/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Rhaiza Gama Esteves	CPF: 128.250.767-24
Título do Projeto: BIOLOGIA ALIMENTAR, REPRODUTIVA E COMPORTAMENTAL DA Bothrops insularis (AMARAL, 1921) (SERPENTES: VIPERIDAE), NA CRIAÇÃO EX-SITU NO INSTITUTO VITAL BRAZIL	
Nome da Instituição : INSTITUTO VITAL BRAZIL S.A.(CENTRO DE PESQUISA, PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS)	CNPJ: 30.064.034/0001-00

2	ANA MARIA PAULINO TELLES DE CARVALHO E SILVA	Orientadora	694.717.707-34	04906926-3 IFP-RJ-RJ	Brasileira
---	--	-------------	----------------	----------------------	------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		SP	AREA DE RELEVANTE INTERESSE ECOLÓGICO ILHAS QUEIMADA GRANDE E QUEIMADA PEQUENA	UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Bothrops insularis
2	Observação e gravação de imagem ou som	Bothrops insularis

Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Répteis)	Captura manual
---	------------------------------------	----------------

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	INSTITUTO VITAL BRAZIL S.A.(CENTRO DE PESQUISA, PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS)	criadouro científico

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 93762494



Página 2/4