



Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-graduação em Biologia de
Ambientes Aquáticos Continentais



**Biologia reprodutiva e ecologia trófica de
Thamnodynastes hypoconia (Serpentes:
Dipsadidae) em ambientes úmidos subtemperados
do extremo sul brasileiro.**

Marluci Müller Rebelato

Orientador: Dr. Alexandro Marques Tozetti

Rio Grande
2014



Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-graduação em Biologia de Ambientes
Aquáticos Continentais



Biologia reprodutiva e ecologia trófica de *Thamnodynastes hypoconia* (Serpentes: Dipsadidae) em ambientes úmidos subtemperados do extremo sul brasileiro.

Aluno: Marluci Müller Rebelato

Orientador: Dr. Alexandro Marques Tozetti

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

Rio Grande
2014

**Dedico este trabalho à minha mãe, Véra Rosane Müller,
por acreditar em mim e sempre me incentivar
na realização dos meus sonhos.**

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Alexandro Marques Tozetti, pela oportunidade de realização desse trabalho, oferecendo uma orientação completa e incentivando sempre na busca de novos conhecimentos.

À toda equipe de funcionários da Estação Ecológica do Taim, pela ajuda prestada durante as saídas de campo, disponibilização de viatura, alojamento. Em especial à Ana Canary, por ser sempre prestativa em todos os momentos durante o período de um ano de campo.

Ao Paulo Ellert, pela ajuda incansável durante a realização da maioria das saídas de campo, sendo está essencial para realização desse trabalho.

À amiga Daniela Selbach, pela parceria durante as noites frias durante as saídas de campo.

À Gláucia Pontes, pelo acesso aos animais tombados na Coleção Herpetológica do Museu de Ciências e Tecnologia da PUC-RS, bem como pelos ensinamentos sobre a análise das gônadas.

Aos técnicos do laboratório de Zoologia, Tatiane, Francis e Elis, que estavam sempre disponíveis a ajudar durante as dúvidas.

Ao pessoal do laboratório de Ictiologia, Rodrigo Bastos e Mauro Oliveira, pela valiosa ajuda com a análise de isótopos estáveis. Assim como a Vanessa Britto, que estava sempre *online* tirando dúvidas sobre o assunto.

Ao Daniel Loebmann pela ajuda com a identificação dos anfíbios e com a estatística circular. Também agradeço ao Marcelo Bruno, pela ajuda com a análise estatística.

Aos alunos da graduação, Bruno, Maurício, Marcos, Joziel pela ajuda nas saídas de campo.

Ao Mateus Oliveira, por sempre estar disponível a responder e discutir questões sobre o trabalho.

Aos motoristas da FURG, pelo apoio logístico.

Aos órgãos financiadores CNPq e Capes pelo apoio financeiro na realização deste trabalho e pela bolsa de mestrado.

À amiga Jéssica Lauxen, pelos 3 anos de convívio, e também às amigas e colegas Daniéli Saul e Cibele Cardoso, pelos trabalhos realizados em parceria e momentos de descontração.

À minha grande amiga Ana Paula Lucho, pela amizade verdadeira e compreensiva, mesmo estando longe uma da outra, nossa amizade segue firme e forte. Também agradeço a amiga Daiane Fagundes, pela amizade e por torcer por mim.

À minha família, em especial minha super mãe, Véra Rosane Müller, que me apoia em todas as minhas decisões. Sem você eu jamais teria conseguido chegar onde cheguei. Você é o meu maior exemplo, te amo! Ao meu irmão Marcos, que convive comigo e me atura nos momentos mais difíceis com muita paciência. Ao meu pai Nabor José Rebelato, que não entende muito bem o que faço, mas mesmo assim me incentiva. Ao meu tio Pitt, que sempre me ajuda quando preciso e à minha prima Estela, pela ajuda com a edição das figuras. À minha tia Loreni, por me abrigar em sua casa todas as vezes que precisei ir para Porto Alegre e pelas massagens relaxantes.

À Deus que ilumina o meu caminho, dando-me força nos momentos difíceis.

RESUMO

O estudo teve como objetivo descrever a biologia reprodutiva e a dieta de populações de *Thamnodynastes hypoconia* em ambientes úmidos subtemperados do extremo sul brasileiro. Para avaliação da reprodução foram feitas análises macroscópicas das gônadas. Para avaliação da ecologia alimentar foram empregadas análises de conteúdo estomacal e de isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$). Os machos apresentaram maior comprimento rostro-cloacal que as fêmeas e atingiram a maturidade sexual com menor tamanho corporal. O ciclo reprodutivo das fêmeas foi sazonal, com vitelogênese secundária ocorrendo entre o inverno e a primavera. Os machos apresentaram ciclo contínuo. Aparentemente a cópula ocorre entre o final da primavera e o início do verão, quando foram detectados embriões nas fêmeas e a parturição ocorreu no verão. Não houve relação entre o tamanho da ninhada e o tamanho da fêmea, e a frequência reprodutiva de 40% foi considerada relativamente baixa. Todavia, por ser uma espécie dominante em banhados subtemperados do extremo sul do Brasil sua estratégia reprodutiva parece ser eficiente. Dessa forma, o ciclo contínuo dos machos, bem como a viviparidade possam potencializar o deslocamento do pico reprodutivo da população de modo a ajustar-se de acordo com os picos de temperatura do ambiente. A análise de conteúdo estomacal mostrou uma dieta predominantemente anurófaga, exceto por um único lagarto. Hylidae foi a família mais representativa, com predomínio de *Hypsiboas pulchellus*, seguida de Leptodactylidae, onde *Leptodactylus latrans* teve maior importância. As análises de isótopos estáveis corroboraram a importância dessas espécies na alimentação da serpente. Apesar de ser uma serpente terrestre, *T. hypoconia* apresentou assinatura isotópica mais próxima das fontes primárias oriundas do ambiente aquático, o que indica a importância das áreas alagáveis para a subsistência de organismos terrestres de habitats adjacentes.

Palavras-chave: dieta, reprodução, isótopos estáveis, banhados, serpentes

ABSTRACT

The study aimed to describe the reproductive biology and diet of populations of *Thamnodynastes hypoconia* in humid subtemperados environments in the southernmost Brazilian. For the evaluation of the reproduction, macroscopic analysis of gonads were made. For the evaluation of the feeding ecology analyzes of stomach contents and stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) were used. Males showed greater snout-vent length than females, reaching sexual maturity at smaller body size. The reproductive cycle of the females was seasonal, with secondary vitellogenesis occurring between winter and spring. Males showed a continuous cycle. Apparently, copulation occurs between late spring and early summer, when embryos were detected in females and parturition occurred in summer. There was no relationship between litter size and female size, and reproductive rate of 40% was considered relatively low. However, being a dominant specie in subtemperados wetlands in the southernmost Brazil, reproductive strategy seems to be effective. Thus, the continuous cycle of the male and the viviparity can enhance the reproductive peak displacement of the population to adjust in accordance with the peaks of the ambient temperature. The analysis of stomach content showed a predominantly anurophaga diet, except for a single lizard. Hylidae was the most representative family, with a predominance of *Hypsiboas pulchellus*, followed by Leptodactylidae, *Leptodactylus latrans* which was more important. The analysis of stable isotopes corroborate the importance of these species in feeding the snake. Despite being a terrestrial snake, *T. hypoconia* presented isotope signature closer to the aquatic primary sources, indicating the importance of wetlands to the subsistence of terrestrial organisms of adjacent habitats.

Key-words: diet, reproduction, stable isotopes, wetlands, snakes

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
SUMÁRIO	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS.....	11
INTRODUÇÃO GERAL.....	12
História natural de serpentes Neotropicais	12
Biologia reprodutiva em serpentes	12
Etapas do ciclo reprodutivo: vitelogênese e espermatogênese	13
Fecundidade	14
Inferências ambientais, ecológicas e evolutivas sobre a reprodução	15
Ciclos reprodutivos contínuos x ciclos reprodutivos não contínuos	15
Inferências ecológicas e metodológicas sobre o estudo da dieta	16
Análise de isótopos estáveis (AIE)	17
Ecologia de <i>Thamnodynastes hypoconia</i>	19
Os banhados do extremo sul brasileiro.....	20
OBJETIVOS	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
Capítulo 1 - Biologia reprodutiva de <i>Thamnodynastes hypoconia</i> (Serpentes: Dipsadidae) em ambientes úmidos subtemperados do extremo sul brasileiro	
RESUMO	39
INTRODUÇÃO	40
MATERIAL E MÉTODOS	42
RESULTADOS	46
DISCUSSÃO	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
Capítulo 2 - O papel de fontes aquáticas na dieta da serpente terrestre <i>Thamnodynastes hypoconia</i> em banhados subtemperados do extremo sul brasileiro	
RESUMO	72
INTRODUÇÃO	73
MATERIAL E MÉTODOS	77
Área de estudo e espécimes	77
Avaliação da dieta pela análise de conteúdo estomacal	78
Avaliação da dieta pela análise de isótopos estáveis.....	78

Protocolo para processamento e análise de isótopos estáveis.....	80
Análise dos dados.....	81
Avaliação da dieta pela ACE	81
Avaliação da dieta pela AIE	83
RESULTADOS	85
Dieta (ACE)	85
Isótopos estáveis (AIE)	86
DISCUSSÃO	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
ANEXOS	
Anexo I - Instruções aos autores para publicação na Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências	110
Anexo II - Instruções aos autores para publicação na <i>Hydrobiologia</i>	115

LISTA DE FIGURAS

Introdução Geral

Figura 1 - Indivíduos adultos de *Thamnodynastes hypoconia* observados durante saída de campo na Estação Ecológica do Taim nos dias 25/08/2012 e 25/10/2012 durante atividade de forrageamento. Fotos: Alexandro Marques Tozetti e Patrick Colombo.

Capítulo 1

Figura 1 - Variação sazonal no diâmetro do maior folículo ovariano e do maior embrião de *Thamnodynastes hypoconia*, no extremo sul do Brasil. Círculos preenchidos: folículo ovariano; círculos vazios: embrião. A linha horizontal indica o limite de tamanho entre folículos primários (<5mm) e secundários (≥5mm).

Figura 2 - Inferência das principais etapas do ciclo reprodutivo de *Thamnodynastes hypoconia* durante os meses do ano, no extremo sul do Brasil.

Capítulo 2

Figura 1.A - Distribuição dos valores individuais de isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e carbono ($\delta^{13}\text{C}$) no tecido muscular de *Thamnodynastes hypoconia* (círculos sem preenchimento) e valores médios ($\pm\text{DP}$) de isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e carbono ($\delta^{13}\text{C}$) no tecido muscular das presas potenciais utilizadas nos modelos de mistura bayesianos – SIAR (símbolos preenchidos) procedentes da ESEC Taim, RS, extremo sul do Brasil. Símbolos: Estrela = *H. pulchellus*; Círculo preenchido = *L. latrans* e Quadrado = *D. sanborni* + *S. squalirostris* + *P. gracilis*. **1.B** - Contribuição das diferentes fontes potenciais de alimento para os valores isotópicos do tecido muscular de *Thamnodynastes hypoconia* obtidos através do modelo de mistura isotópico bayesiano – SIAR, mostrando os intervalos de credibilidade de 95% (cinza claro), 75% (cinza) e 50% (preto).

Figura 2.A - Distribuição dos valores individuais de isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e carbono ($\delta^{13}\text{C}$) no tecido muscular de *Thamnodynastes hypoconia* (círculos sem preenchimento) e valores médios ($\pm\text{DP}$) de isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e carbono ($\delta^{13}\text{C}$) das fontes basais utilizadas nos modelos de mistura bayesianos – SIAR (símbolos preenchidos) procedentes da ESEC Taim, RS, extremo sul do Brasil.

Símbolos: Quadrado = plantas C3 aquáticas + POM e Círculo preenchido = plantas C4 terrestres. **2.B** - Contribuição das diferentes fontes basais para os valores isotópicos do tecido muscular de *Thamnodynastes hypoconia* obtidos através do modelo de mistura isotópico bayesiano – SIAR, mostrando os intervalos de credibilidade de 95% (cinza claro), 75% (cinza) e 50% (preto).

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 - Resultados da análise estatística circular testando a sazonalidade no ciclo reprodutivo das fêmeas e machos de *Thamnodynastes hypoconia* no extremo sul do Brasil.

Capítulo 2

Tabela 1 - Composição da dieta de *Thamnodynastes hypoconia* no extremo sul brasileiro. N = Número; FO = Frequência de ocorrência; FR = Frequência relativa; IIR (%) = Índice de Importância Relativa e porcentagem; e BI (%) = Biomassa ingerida e porcentagem.

Tabela 2 - Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ ($\pm\text{DP}$) e $\delta^{15}\text{N}$ ($\pm\text{DP}$) do predador, das presas e das fontes alimentares basais coletadas na Estação Ecológica do Taim, no extremo sul brasileiro. N = Número de amostras; POM = material orgânico particulado na coluna d'água.

INTRODUÇÃO GERAL

História natural de serpentes Neotropicais

Os estudos de história natural investigam principalmente os modos e estratégias reprodutivas, hábitos alimentares, uso do habitat, comportamento e táticas de defesa das espécies (Greene 1986, 1994). Dentre esses aspectos, a biologia reprodutiva é um dos principais componentes da história de vida de um organismo, sendo essencial na compreensão da dinâmica populacional de qualquer espécie (Begon et al. 1990). A reprodução está diretamente ligada a manutenção das populações (Seigel e Ford 1987, Holycross e Goldberg 2001), sendo um tema frequentemente abordado dentro do contexto da história natural das serpentes devido a grande diversidade de estratégias reprodutivas que esse grupo apresenta (Seigel e Ford 1987, Shine 2003). A dieta também é considerada chave para o estudo ecológico de um animal (Mushinsky 1987, Verwaijen e Van Damme 2007), devido às associações entre as estratégias alimentares e demais funções da vida do indivíduo (Shine 1977a, Gregory e Isaac 2004, Hartmann e Marques 2005). Felizmente, dados básicos sobre a dieta e reprodução de serpentes são relativamente fáceis de serem obtidos pela análise de espécimes tombados em coleções científicas (Fitch 1987, Shine 2003, Shine e Bonnet 2009). Nas últimas três décadas têm se acumulado um volume grande de informações sobre esses dois temas relativos às serpentes Neotropicais (e.g. Vitt e Vangilder 1983, Marques e Puerto 1994, Salomão et al. 1995; Marques e Sazima 1997, Di-Bernardo 1998, Bernarde et al. 2000, Giraudo et al. 2004, Pinto e Fernandes 2004, Albuquerque et al. 2007, Leite et al. 2007, Maschio et al. 2007, 2010, Pizzatto e Marques 2007a, López e Giraudo 2008, Pinto et al. 2008, Sawaya et al. 2008, Sturaro e Gomes 2008, Prieto et al. 2012, Bellini et al. 2013, Mesquita et al. 2013, Rojas et al. 2013, Braz et al. 2014, Sousa et al. 2014). Com isso a defasagem em relação ao conhecimento existente sobre serpentes oriundas da América do Norte, Austrália e Europa foi levemente reduzida (e.g. Fitch 1975, Shine 1977a,b, Madsen e Shine 1993, Webb et al. 2003, Shine et al. 2014).

Biologia reprodutiva em serpentes

Em herpeologia, os trabalhos a respeito da biologia reprodutiva, normalmente abordam os seguintes temas: modos e ciclos reprodutivos, rituais de combate e corte, sistemas de acasalamento, fecundidade, tamanho de maturação e dimorfismo sexual (Parker e Plummer 1987, Seigel e Ford 1987, Shine 1993, Shine 2003, Shine e Bonnet 2009). Todavia, uma das etapas iniciais e fundamentais de qualquer estudo sobre a biologia

reprodutiva é a descrição básica de seu ciclo anual, em particular a vitelogênese e espermatogênese.

Etapas do ciclo reprodutivo: vitelogênese e espermatogênese

O ciclo reprodutivo de machos e fêmeas de serpentes pode ser caracterizado em função do período e da duração em que ocorrem os processos de vitelogênese, espermatogênese, estocagem de esperma, ovulação, acasalamento, gestação e recrutamento (Pizzatto et al. 2007b). A duração, periodicidade e velocidade com que cada um desses processos ocorre não são conhecidas em detalhes para um número razoável de espécies Neotropicais. Todavia, esse tema ainda é deficiente em função da alta riqueza de espécies nessa região. Em recente revisão do tema, Almeida-Santos et al. (2014) ressalta a falta de padronização quanto a terminologia usada nos estudos e, o que é ainda mais preocupante, falta de padronização na sistemática de coleta de dados sobre a biologia reprodutiva. Essas inconsistências na avaliação dos ciclos entre estudos dificultam o estabelecimento de comparações dos períodos em que ocorrem os picos reprodutivos das espécies. Segundo Almeida-Santos et al. (2014), os picos reprodutivos podem ser inferidos pela avaliação macroscópica das gônadas masculinas e femininas, as quais permitem avaliar o estágio em que se encontram os processos de vitelogênese e espermatogênese em cada exemplar examinado. O pico da reprodução por sua vez, depende do avanço da vitelogênese e da maturação dos espermatozoides. Alguns elementos básicos, bem como a terminologia adotada nessa dissertação são apresentados a seguir.

A vitelogênese é a transformação dos oócitos em folículos e pode ser classificada como primária e secundária. A vitelogênese primária costuma ser lenta e produz os folículos quiescentes, transparentes ou esbranquiçados, sem deposição de vitelo. Já na vitelogênese secundária, os folículos são amarelos e apresentam um grande aumento de volume devido ao rápido depósito de vitelo sobre os folículos quiescentes, os quais irão garantir o desenvolvimento do embrião até a formação e o nascimento do filhote (Aldridge 1979). Nas fêmeas imaturas são encontrados apenas folículos em vitelogênese primária (Aldridge 1979). A vitelogênese secundária pode ocorrer ao longo de todo o ano ou estar restrita a determinada época (ciclo reprodutivo não contínuo) (Pizzatto et al. 2007b).

A espermatogênese é o processo de produção de espermatozoides e pode ser inferida pelo aumento das dimensões dos testículos (VolsØe 1944). Como no pico da atividade reprodutiva ocorre a estocagem de espermatozoides, esses períodos se caracterizam pelo aumento do diâmetro dos ductos deferentes, sendo que sua medição é uma forma de avaliar

o ciclo reprodutivo masculino (Yokoyama e Yoshida 1993, Almeida-Santos et al. 2006). A porção mais distal dos ductos deferentes apresenta um aumento no diâmetro devido ao acúmulo de espermatozoides no período que antecede a cópula (Almeida-Santos et al. 2004, Almeida-Santos et al. 2006). Algumas espécies apresentam produção contínua de espermatozoides (Jordão 1996a, Pizzatto e Marques 2002) enquanto que em outras, a produção é sazonal (Janeiro-Cinquini et al. 1993, Jordão 1996a). O ciclo reprodutivo dos machos, por exemplo, pode ser classificado como pré-nupcial, quando a produção de gametas coincide ou precede a época de cópula, ou pós-nupcial, quando a produção de gametas ocorre após o período de cópula. Neste último caso, os machos necessitam estocar esperma nos ductos deferentes até a época de acasalamento (Saint-Girons 1982, Seigel e Ford 1987). O cruzamento dos dados sobre os ciclos de machos e fêmeas pode revelar diferentes estratégias adaptativas entre as espécies. Em alguns casos, por exemplo, não há sincronia entre os picos de maturação de gametas entre os sexos.

Em *Micrurus corallinus*, por exemplo, as fêmeas apresentam vitelogênese secundária na primavera, quando também ocorre a cópula (Marques 1996). Por outro lado, os machos produzem espermatozoides principalmente no outono (Almeida-Santos et al. 2006) e os estocam na porção distal dos ductos deferentes até a época da cópula (Almeida-Santos et al. 2006). No caso das cascavéis (*Crotalus durissus*), a cópula ocorre no outono, após a produção de esperma. No entanto, a vitelogênese ocorre somente na primavera, dessa forma, as fêmeas necessitam estocar o esperma no útero anterior (Almeida-Santos e Salmão 1997).

Fecundidade

Para tentar relacionar o custo benefício entre as diferentes estratégias de reprodução costuma-se avaliar a fecundidade das espécies por meio da determinação do tamanho da ninhada (número de ovos ou embriões), o tamanho dos filhotes, a massa relativa da ninhada (“*relative clutch mass*”, RCM), a frequência reprodutiva e as relações dessas características com o tamanho corpóreo ou massa das fêmeas (Seigel e Ford 1987). Dados sobre o tamanho da ninhada (número de ovos ou embriões) são frequentemente verificados nos trabalhos de reprodução de serpentes (Seigel e Ford 1987), devido à facilidade de coleta através da contagem de ovos ou embriões presentes no oviduto da fêmea. A fecundidade parece ser a principal pressão seletiva responsável pelo incremento evolutivo do tamanho corporal das fêmeas, para a maioria das espécies (Shine 1994). Foi observado que para algumas espécies de serpentes aquáticas a prole é mais numerosa ao se comparar com as serpentes terrestres,

e as serpentes arborícolas parecem produzir menor número de filhotes (Duellman 1978, Pizzatto 2006). A fecundidade pode variar dentro da mesma espécie, de acordo com área de ocorrência (Vitt 1983, Jordão 1996b), podendo estar relacionada ao clima e à disponibilidade de alimento.

Inferências ambientais, ecológicas e evolutivas sobre a reprodução

Por serem animais ectotérmicos, as serpentes têm suas atividades diretamente afetadas pelo regime climático (Mushinsky e Hébrard 1977, Nelson e Gregory 2000). Fatores endógenos (i.e. ritmos internos), bem como os fatores exógenos podem controlar o ciclo reprodutivo dos répteis. Os fatores exógenos podem ser as variáveis ambientais, tais como, temperatura, umidade relativa do ar, pluviosidade, fotoperíodo e ciclo lunar (Henderson e Hoevers 1977, Houston e Shine 1994, Daltry et al. 1998, Sun et al. 2000) e os fatores ecológicos (i.e. disponibilidade de alimento) (Fitch 1982). O ciclo reprodutivo também pode estar relacionado ao modo reprodutivo (viviparidade ou oviparidade) e/ou as relações filogenéticas (Seigel e Ford 1987, Vitt 1987, Madsen e Shine 1996, Brown e Shine 2006). Estudos com espécies Neotropicais tem sugerido que a filogenia é um fator determinante na reprodução das serpentes (Hartmann et al. 2002, Valdujo et al. 2002), todavia a influência pode ser diferente nas diversas linhagens.

Os padrões reprodutivos, sazonalidade e sincronia da maturação de gametas entre os sexos podem refletir aspectos filogenéticos e/ou adaptações a variáveis ambientais, como o clima, por exemplo. Além disso, ao menos aparentemente, há uma associação direta entre o ciclo reprodutivo e o padrão de atividade e movimentos desse grupo de animais (Tozetti et al. 2009). Desse modo, a atividade reprodutiva pode justificar variações temporais no padrão de uso do habitat pelas espécies de serpentes (Tozetti e Martins 2013). Parte das variações quanto aos deslocamentos e uso do habitat se relaciona a procura de parceiras pelos machos ou pela procura de microambientes térmicos mais adequados para o desenvolvimento dos embriões pelas fêmeas (Peterson et al. 1993).

Ciclos reprodutivos contínuos x ciclos reprodutivos não contínuos

Classicamente, os ciclos reprodutivos das serpentes foram classificados como contínuo ou descontínuo (veja Saint-Girons 1982). Os ciclos reprodutivos das serpentes de regiões temperadas são considerados sazonais, onde a reprodução ocorre de acordo com as estações mais quentes do ano e são altamente sincronizados entre os indivíduos (Duvall et al. 1982, Shine 1985). Alguns estudos sugerem que serpentes de regiões tropicais devem

apresentar ciclos reprodutivos contínuos, em função das condições climáticas estáveis ao longo do ano, além da alta disponibilidade de recursos alimentares (Fitch 1982, Vitt e Vangilder 1983, Seigel e Ford 1987, Barros et al. 2012). Todavia, trabalhos apontam que em ambientes sazonais (mesmo que tropicais) as espécies ectotérmicas reduzem ou param a atividade reprodutiva durante os períodos de baixa temperatura. Já espécies que habitam áreas que apresentam condições favoráveis constantes tendem a ter reprodução contínua (Fitch 1980, Vitt e Breitenbach 1993, Mojica et al. 2003, Pianka e Vitt 2003). Portanto, a sazonalidade reprodutiva pode ocorrer mesmo nos trópicos, principalmente devido à variação de recursos (Shine 2003).

De fato, as serpentes de regiões tropicais e subtropicais apresentam ciclos reprodutivos diversificados (Greene 1997, Pizzatto e Marques 2002, Marques et al. 2009, Pinto et al. 2010), podendo apresentar sazonalidade (Fitch 1982, Vitt e Vangilder 1983, Marques 1996, Almeida-Santos e Salomão 2002, Shine 2003, Scartozzoni e Marques 2004, Mathies 2011) ou se reproduzindo durante o ano todo (Saint-Girons 1982). Dessa forma, estudos mais detalhados são necessários para a comparação com serpentes de zonas temperadas, onde algumas espécies são bem estudadas (Schuett et al. 2002, Siegel et al. 2009).

O ciclo reprodutivo de uma mesma espécie pode variar de acordo com a área de ocorrência das populações, devido a influência ambiental. Em *Erythrolamprus poecilogyrus*, por exemplo, foi registrado um ciclo reprodutivo sazonal nas fêmeas procedentes do extremo sul do Brasil (32°50'S e 52°26'O) e litoral norte, no sul do Brasil também (30°21'S e 050°17'O) (Maciel 2001, Selbach 2012). Por outro lado, o ciclo foi contínuo para uma população do sudeste do país (19°49'S e 43°57'O) (Pinto e Fernandes 2004). Dessa forma, é possível que no extremo sul brasileiro as relativamente baixas temperaturas (frequentemente próximas a zero) do inverno restrinjam a atividade reprodutiva aos meses mais quentes do ano.

Inferências ecológicas e metodológicas sobre o estudo da dieta

Os trabalhos sobre a dieta das serpentes são predominantemente descritivos, consistindo em listas taxonômicas dos itens encontrados nos estômagos. São poucos os estudos que incluem análises das interações entre predador-presa (Arnold 1993, Bernarde et al. 2000), os custos-benefícios envolvidos nessa interação (Shine 1986, Henderson 1993), os aspectos comportamentais (Cundall 1995, Marques e Sazima 1997), o balanço energético (Shine 1991, Shine et al. 1998, Martins et al. 2001, Maschio et al. 2010, Sousa 2014), o

nicho trófico (Teixeira 2012), bem como uma visão mais ampla da trama trófica em que a serpente está inserida (Pilgrim 2005, Willson et al. 2010).

Tradicionalmente os estudos sobre a dieta e ecologia trófica utilizam a análise do conteúdo estomacal (ACE) como principal ferramenta. No entanto, a ACE reflete apenas a ingestão recente das presas (Layman et al. 2012). São comuns os casos em que uma proporção considerável dos estômagos amostrados se apresentam vazios. Outra limitação comum desse método é que a ACE pode levar a equívocos por superestimar o consumo de presas, em especial daquelas com mais partes duras em seu corpo e de difícil digestão (Hobson et al. 1994, Bearhop et al. 1999). Outro aspecto negativo ligado a ACE é que a presença de determinado item no trato digestivo, não significa que ele realmente irá contribuir para a dieta da espécie (Winemiller et al. 2007). São comuns os casos de ingestão involuntária de vegetais e pequenos fragmentos minerais durante a deglutição da presa. Da mesma forma, as presas das presas (ex. insetos presentes no estômago de um anuro consumido por uma serpente) podem ser contabilizadas como itens da dieta da serpente de forma equivocada. Assim, os estudos de dieta baseados na análise de conteúdo estomacal, podem apresentar estimativas limitadas sobre a alimentação das espécies (Stickel et al. 1980, Kephart e Arnold 1982, Houston e Shine 1993, Santos et al. 2000).

Uma alternativa que vem sendo utilizada desde os anos 80 pelos ecólogos, para resolver essas questões é a análise de isótopos estáveis (AIE), que evita esses problemas normalmente associados com as análises convencionais de dieta (i.e. pelo método de ACE ou observação direta) (Peterson e Fry 1987, Bearhop et al. 2004).

Análise de isótopos estáveis (AIE)

A palavra “isótopo” vem do grego, isos (igual) e topos (lugar), a qual se refere a um local comum de um elemento específico na tabela periódica. Um átomo é composto de um núcleo cercado por elétrons, sendo o núcleo constituído de prótons (Z) e nêutrons (N) que constituem a massa atômica. Um núcleo, ou átomo específico-isótopo, é uma “espécie” de um elemento que pode ser estável, quando não emite radiação, ou radioativo, quando emite, definido então pelo seu único número de prótons (Z) e nêutrons (N) (Dawson e Brooks 2001). Os prótons são positivamente carregados (Z+), os elétrons são negativamente carregados (e-) e os nêutrons não possuem carga (N). Dessa forma, os isótopos são átomos de um mesmo elemento que possuem o mesmo Z e mesmo e, mas diferente N. Por exemplo, no caso do carbono, todos os seus isótopos têm seis prótons, mas o isótopo radioativo ^{14}C tem dois nêutrons a mais (N = 8) que o seu isótopo estável mais comum ^{12}C (N = 6). Um

isótopo é considerado estável quando a razão Z/N é de aproximadamente 1 – 1,5. Os isótopos estáveis de muitos elementos são formados por isótopos abundantes e um ou dois isótopos relativamente menos abundantes. Por exemplo, no caso do carbono, o isótopo estável mais abundante é o ^{12}C , compondo aproximadamente 99% dos átomos de carbono presentes em uma substância. O ^{13}C representa cerca de 1% do total e o restante é composto pelo ^{14}C , um isótopo radioativo.

A composição isotópica pode ser expressa em termos de δ (delta), que representam partes por mil (‰) de diferença do isótopo da amostra em relação ao padrão: $\delta X = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3$, onde X é ^{13}C e R é a razão correspondente $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$. Assim, os valores δ correspondem à razão entre isótopos pesados e leves na amostra, por exemplo, ^{13}C e ^{12}C , respectivamente. Aumentos nesses valores denotam incremento do montante de isótopos pesados (Peterson e Fry 1987, Pilgrim 2005). Valores positivos de δ indicam que a amostra tem razão isotópica maior que o padrão e que possui mais espécies isotópicas pesadas comparadas a este. Por outro lado, os valores negativos indicam que a amostra tem uma razão isotópica menor que aquela do padrão. O $R_{\text{padrão}}$ é um valor internacionalmente utilizado, tendo como referência o belemnito de *Pee Dee* (PDB) para o carbono ($R = 0.0112372$) e o gás nitrogênio (N_2) presente no ar atmosférico para o nitrogênio ($R = 0.0036765$) (Peterson e Fry 1987, Griffiths 1991).

Os isótopos de carbono e nitrogênio são os utilizados com mais frequência em estudos de teias alimentares, pois são abundantes no ambiente físico e representam elementos fundamentais na composição da estrutura dos tecidos vivos, na forma de carboidratos, lipídeos, proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos. A proporção de C e N nos produtores primários é diferente da proporção no consumidor primário ou secundário (Farquhar et al. 1989, Robinson 2001, Newsome et al. 2007). E a única maneira de um organismo incorporar isótopos em seus tecidos é através da obtenção a partir de material no meio ambiente (Pilgrim 2005).

Os isótopos estáveis de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $\delta^{13}\text{C}$) são utilizados principalmente para determinar as fontes de produção primária e são úteis para detectar a entrada destes elementos na cadeia trófica (Kelly 2000, Richards et al. 2003). Os isótopos de nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ou $\delta^{15}\text{N}$) são indicadores de nível trófico, indicando a posição das espécies na cadeia alimentar, já que os tecidos dos consumidores normalmente possuem valores isotópicos maiores em relação aos seus alimentos (Focken e Becker 1998, Kelly 2000, Post 2002, Fry 2006). A AIE é uma ferramenta útil na compreensão do fluxo dos nutrientes

através da cadeia alimentar, fornecendo informações que integram o tempo e o espaço no entendimento da relação trófica com o organismo (Layman et al. 2012).

A combinação de ambos os métodos de ACE e AIE pode fornecer maior resolução e capacidade de entendimento da ecologia trófica de uma ou várias espécies (Post 2002, Winemiller et al. 2007, Martinelli et al. 2009). E se tratando dos répteis, a análise de isótopos estáveis é relativamente nova e foi utilizada para descrever a dieta de apenas algumas espécies (Pilgrim 2005, Seminoff et al. 2006, 2007, Fisk et al. 2009, Willson et al. 2010, Brischoux et al. 2011, Chiucchi Jr 2011, Durso 2011, Radloff et al. 2012, Smith et al. 2002, Brischoux e Lillywhite 2013, Caut 2013, Lennon 2013, Marques et al. 2013, Rush et al. 2014).

Ecologia de *Thamnodynastes hypoconia*

Espécies abundantes e com ampla distribuição representam bons modelos para o estudo de história natural. Dentro desse perfil destaca-se *Thamnodynastes hypoconia* (Cope 1860) (Fig.1) que ocorre no nordeste, centro-oeste, sudeste e sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina (Franco 1999, Giraudo 2001). É uma espécie pequena, atinge cerca de 700 mm de comprimento total, possuindo o corpo delgado e denticção opistóglifa (Giraudo 2001). Possui atividade noturna e é vivípara, onde as fêmeas das populações da América do Sul subtropical-temperada apresentam ciclo reprodutivo sazonal (Bellini et al. 2013, 2014). O ciclo dos machos é considerado contínuo (Bellini et al. 2013), havendo também registro de sazonalidade (Bellini et al. 2014). Apesar de ser uma espécie terrestre, *T. hypoconia* é encontrada em ambientes aquáticos lênticos, principalmente zonas úmidas que cercam grandes rios, além de campos agrícolas, dunas, áreas urbanas e suburbanas (Carreira et al. 2005, Sawaya et al. 2008, Bellini et al. 2013, 2014). Possui hábito semi-arborícola, podendo ser encontrada sobre árvores de pequeno porte e arbustos (Achaval e Olmos 2003). Quanto à preferência alimentar, o gênero *Thamnodynastes* é composto de predadores generalistas de pequenos vertebrados, sendo que a maioria das espécies se alimenta de anfíbios (e.g. Bernarde et al. 2000, Rufatto et al. 2003, Bellini et al. 2013, 2014, Dorigo et al. 2014). Para *T. hypoconia*, sabe-se que é anurófaga, predando lagartos ocasionalmente (Maffei et al. 2010, Moya e Maffei 2012, Bellini et al. 2013, 2014, Dorigo et al. 2014).

Pertencente a tribo Tachymenini, *Thamnodynastes* é um gênero exclusivamente Neotropical (Zaher et al. 2009, Grazziotin et al. 2012) e representante dos Xenodontíneos. Existem alguns conflitos taxonômicos do grupo que refletem em confusões sobre a distribuição e história natural (Barbosa et al. 2006) de *T. hypoconia* (Cope, 1860) que já foi

mencionada na literatura como *T. nattereri* (Mikan, 1828) e confundida por anos com *T. chaquensis* (Bergna e Alvarez, 1993) e *T. strigilis* (Thunberg, 1787; por exemplo, Serié 1915, Gudynas 1981). Mais tarde foi sinonimizada com *T. pallidus* (Linnaeus, 1758) por Bailey et al. (2005) e *T. hypoconia* (Cope, 1860) foi reavaliada por Cei et al. (1992). A existência de informações equivocadas para o gênero é consequência dessa confusão taxonômica (Franco e Ferreira 2002).

Os banhados do extremo sul brasileiro

Nessa região a paisagem se caracteriza pela grande variedade de ambientes, com predomínio de áreas úmidas (i.e. complexos de lagoas e banhados) e também apresenta lagoas temporárias, mosaicos de dunas, campos e matas de restinga (Waechter 1985). As áreas de banhados se caracterizam pela alta produtividade, suportando teias tróficas altamente ramificadas. Essa produtividade subsidia uma enorme gama de serviços ecossistêmicos exercidos por esse ambiente (Sather e Smith 1984). Nessas áreas úmidas a grande quantidade de detritos, nutrientes e sedimento rico em matéria orgânica é trocada entre o ambiente terrestre e o aquático através dos ciclos de alagamento (Polis et al. 1997). O ingresso de organismos e matéria oriundos de ecossistemas adjacentes também alteram a dinâmica de muitos ecossistemas (Carpenter et al. 1998). Dessa forma, animais que se movem entre diferentes ecossistemas podem desempenhar um papel chave no transporte de nutrientes (Vanni 2002), sendo considerados vetores bióticos (Oliveira et al. 2014). Muitos predadores terrestres são sustentados por presas de origem aquática (Jackson e Fisher 1986, Polis e Hurd 1995, Polis e Hurd 1996, Rose e Polis 1997).

Essas áreas úmidas que secam periodicamente, conforme os ciclos de alagamento, geralmente são dominadas por anfíbios e répteis (Gibbons et al. 2006) e são ideais para estudos das tramas tróficas, investigando a origem dos nutrientes assimilados nesses animais (Willson et al. 2010). Visto que *T. hypoconia* é uma espécie que vive na interface ambiente alagado-terrestre, assim como os anfíbios anuros, pode apresentar um papel fundamental no fluxo de energia entre os ambientes aquáticos e terrestres (Kupfer et al. 2006), sendo um componente importante na dinâmica dos ecossistemas. Dessa forma a área de estudo tem grande potencial para esse tipo de estudo, devido a grande dinâmica dos banhados.

Além do mais, considerando que *T. hypoconia* é uma espécie relativamente abundante em banhados subtemperados (Santos et al. 2012), características de sua biologia reprodutiva e de termorregulação devem representar modelos biológicos bem sucedidos

nesse tipo de ambiente. Desse modo, esse estudo trará informações sobre processos ecológicos relacionados ao estabelecimento de espécies em ambientes de clima subtropical. Adicionalmente, serão gerados dados sobre a biologia de uma espécie de predador dominante no ambiente para os quais há carência de informações básicas disponíveis na literatura.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi descrever a biologia reprodutiva e dieta de *Thamnodynastes hypoconia* em áreas de banhado subtropical no extremo sul do Brasil, visando especificamente:

- descrever os ciclos reprodutivos de machos e fêmeas por meio de análises macroscópicas das gônadas (vitelogênese, espermatogênese, períodos de cópula, gravidez e parturição);
- estimar a fecundidade das fêmeas, bem como a relação com o CRC;
- estimar a época de recrutamento dos filhotes;
- descrever a dieta quanto ao tipo, número e frequência das presas ingeridas, com base no método de análise conteúdo estomacal (ACE);
- investigar a composição isotópica dos produtores primários, da matéria orgânica particulada em suspensão (POM), bem como a composição isotópica das presas potenciais e do consumidor em questão, *T. hypoconia*, pela análise de isótopos estáveis (AIE).

Esta dissertação está estruturada em dois capítulos, os quais correspondem a artigos a serem submetidos à publicação: o primeiro, “Biologia reprodutiva de *Thamnodynastes hypoconia* (Serpentes: Dipsadidae) em ambientes úmidos subtropicais do extremo sul brasileiro” será submetido à Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências (Anexo I); o segundo, “O papel de fontes aquáticas na dieta da serpente terrestre *Thamnodynastes hypoconia* em banhados subtropicais do extremo sul brasileiro” será submetido à Revista *Hydrobiologia* (Anexo II). Os capítulos já se encontram formatados de acordo com as normas das revistas o que inclui tabulação, fonte e número de páginas, entre outros itens. A única exceção foi a manutenção do idioma em português (todas as revistas exigem o inglês).



Figura 1 - Indivíduos adultos de *Thamnodynastes hypoconia* observados durante saída de campo na Estação Ecológica do Taim nos dias 25/08/2012 e 25/10/2012 durante atividade de forrageamento. Fotos: Alexandro Marques Tozetti e Patrick Colombo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHAVAL F E OLMOS A. 2003. Anfíbios y reptiles Del Uruguay. 2 ed., Graphis Impresora, Montevideo, Uruguay, 160 p.

ALBUQUERQUE NR, GALATTI U E DI-BERNARDO M. 2007. Diet and feeding behaviour of the Neotropical parrot snake (*Leptophis ahaetulla*) in the Northern Brazil. J Nat Hist 41: 1237-1243.

ALDRIDGE RD. 1979. Female reproductive cycles of the snakes *Arizona elegans* and *Crotalus viridis*. Herpetologica 35: 256-261.

ALMEIDA-SANTOS SM e SALOMÃO MG. 1997. Long-term sperm storage in the neotropical rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* (Viperidae: Crotalinae). Japanese Journal of Herpetology 17: 46-52.

ALMEIDA-SANTOS SM e SALOMÃO MG. 2002. Reproduction in neotropical pitvipers, with emphasis on species of the genus *Bothrops*. In: SCHUETT GW ET AL. (Eds), Biology of the Vipers. Eagle Mountain Publishing, Carmel, p. 445-462.

ALMEIDA-SANTOS SM, ABDALLA FMF, SILVEIRA PF, YAMANOUYE N, BRENO MC E SALOMÃO MG. 2004. Reproductive cycle of the neotropical *Crotalus durissus terrificus*: I. Seasonal levels and interplay between steroid hormones and vasotocinase. Gen Comp Endocrinol 139: 143-150.

ALMEIDA-SANTOS SM, PIZZATTO L E MARQUES OAV. 2006. Intra-sex synchrony and inter-sex coordination in the reproductive timing of the Atlantic coral snake *Micrurus corallinus* (Elapidae) in Brazil. Herpetol J 16: 371-376.

ALMEIDA-SANTOS SM, BRAZ HB, SANTOS LC, SUEIRO LR, BARROS VA, ROJAS CA E KASPEROVICZUS KN. 2014. Biologia reprodutiva de serpentes: recomendações para a coleta e análise de dados. Herpetologia Brasileira 3: 14-24.

ARNOLD SJ. 1993. Foraging theory and prey-size-predator-size relations in snakes. In: SEIGEL RA E COLLINS JT (Eds), Snakes – ecology and behavior, New York, McGraw-Hill, p. 87-115.

BAILEY JR, THOMAS RA E SILVA NJ. 2005. A revision of the South American snake genus *Thamnodynastes* Wagler, 1830 (Serpentes, Colubridae, Tachymenini). I. Two new species of *Thamnodynastes* from Central Brazil and adjacent areas, with a redefinition of and neotype designation for *Thamnodynastes*. Phyllomedusa 4: 83-101.

BARBOSA AR, ALBUQUERQUE HND E SOUSA SDM. 2006. Descrição de desenvolvimento em cativeiro de uma nova espécie do gênero *Thamnodynastes* (Wagler, 1830) (Serpente: Colubridae) da caatinga Paraibana. Rev biol ciênc terra 6: 73-82.

BARROS VA, SUEIRO LR E ALMEIDA-SANTOS SM. 2012. Reproductive biology of the neotropical rattlesnake *Crotalus durissus* from northeastern Brazil: a test of phylogenetic conservatism of reproductive patterns. *Herpetological Journal* 22: 97-104.

BEARHOP S, THOMPSON DR, WALDRON S, RUSSELL IC, ALEXANDER G E FURNESS RW. 1999. Stable isotopes indicate the extent of freshwater feeding by cormorants *Phalacrocorax carbo* shot at inland fisheries in England. *J Appl Ecol* 36: 75-84.

BEARHOP S, ADAMS CE, WALDRON S, FULLER RA E MACLEOD H. 2004. Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *J Anim Ecol* 73: 1007-1012.

BELLINI GP, ARZAMENDIA V E GIRAUDO AR. 2013. Ecology of *Thamnodynastes hypoconia* in Subtropical–Temperate South America. *Herpetologica* 69: 67-79.

BELLINI GP, GIRAUDO AR E ARZAMENDIA V. 2014. Comparative ecology of three species of *Thamnodynastes* (Serpentes, Dipsadidae) in subtropical-temperate South America. *Herpetological Journal* 24: 87-96.

BEGON M, HARPER JL E TOWNSEND CR. 1990. *Ecology: Individuals, populations and communities*. 2nd ed., Blackwell Scientific Publ. Massachusetts, 945 p.

BERNARDE PS, MOURA-LEITE JC, MACHADO RA E KOKOBUM MNC. 2000. Diet of the colubrid snake, *Thamnodynastes strigatus* (Günther, 1858) from Paraná State, Brazil, with field notes on anuram predation. *Rev Bras Biol* 60: 695-699.

BRAZ HB, KASPEROVICZUS KN E ALMEIDA-SANTOS SM. 2014. Reproductive ecology and diet of the fossorial snake *Phalotris lativittatus* in the Brazilian Cerrado. *Herpetol J* 24: 49-57.

BRISCHOUX F, BONNET X, CHEREL Y E SHINE R. 2011. Isotopic signatures, foraging habitats and trophic relationships between fish and seasnakes on the coral reefs of New Caledonia. *Coral Reefs* 30: 155-165.

BRISCHOUX F E LILLYWHITE HB. 2013. Trophic consequences of pelagic life-style in yellow-bellied sea snakes. *Mar Ecol Prog Ser* 478: 231-238.

BROWN GP E SHINE R. 2006. Why do most tropical animals reproduce seasonally? Testing hypotheses on an Australian snake. *Ecology* 87: 133-43.

CARPENTER SR, COLE J J, KITCHELL JF E PACE ML. 1998. Impact of dissolved organic carbon, phosphorus and grazing on phytoplankton biomass and production in lakes. *Limnol Oceanogr* 43: 73-80.

CARREIRA S, MENEGHEK M E ACHAVAL F. 2005. Reptiles de Uruguay. DIRAC/Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay, p. 639.

CAUT S. 2013. Isotope incorporation in broad-snouted caimans (crocodilians). *Biology open* 2013: 49-45.

CEI JM, BERGNA S E ALVAREZ. 1992. Nueva combinación para el género *Thamnodynastes* (Serpentes, Colubridae) de Argentina. *Facena* 9: 123-134.

CHIUCCHI JR JE. 2011. Genetic Diversity, Inbreeding and Diet Variation in an Endangered Rattlesnake, the Eastern Massasauga (*Sistrurus c. catenatus*). Diss. The Ohio State University.

CUNDALL D. 1995. Feeding behaviour in *Cylindrophis* and its bearing on the evolution of alethinophidia snakes. *J Zool London* 237: 353- 376.

DALTRY JC, ROSS T, THORPE RS E WUSTER W. 1998. Evidence that humidity influences snake activity patterns: A field study of the Malayan pit viper *Calloselasma rhodostoma*. *Ecography* 21: 25-34.

DAWSON TE E BROOKS PD. 2001. Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement. In: UNKOVICH ET AL. (Eds), *Stable isotope techniques in the study of biological processes and functioning of ecosystems*, Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, p. 1-18.

DI-BERNARDO M. 1998. História natural de uma comunidade de serpentes da borda oriental do planalto das araucárias, Rio Grande do Sul, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo, Brasil, 123 p.

DORIGO TA, VRCIBRADIC D, BORGES-JUNIOR VNT E ROCHA CFD. 2014. New records of anuran predation by snakes of the genus *Thamnodynastes* Wagler, 1830 (Colubridae: Dipsadinae) in the Atlantic rainforest of southeastern Brazil. *Herpetology Notes* 7: 261-264.

DUELLMAN WE. 1978. The biology of an equatorial herpetofauna in Amazonian Ecuador. *Misc publ Univ Kans Mus Nat Hist* 65: 1-352.

DURSO AM. 2011. Interactions of diet and behavior in a death-feigning snake (*Heterodon nasicus*). Masters Theses, Eastern Illinois University, 94 p.

DUVALL D, GUILLETTE JR. LJ E JONES RE. 1982. Environmental control of reptilian reproductive cycles. In: GANS C E POUGH H (Eds), *Biology of the Reptilia*, Academic Press: New York, p. 201-231.

FARQUHAR GD, EHLERINGER JR E HUBICK L. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 40: 503-537.

- FISK AT, SASH K, MAERZ J, PALMER W, CARROLL JP E MACNEIL MA. 2009. Metabolic turnover rates of carbon and nitrogen stable isotopes in captive juvenile snakes. *Rapid Commun Mass Spectrom* 23: 319-326.
- FITCH HS. 1975. A demographic study of the ringneck snake (*Diadophis punctatus*) in Kansas. University of Kansas, Museum of Natural History: Miscellaneous publication, 62 ed., Lawrence, Kansas, USA, 53 p.
- FITCH HS. 1980. Reproductive strategies of reptiles. In: MURPHY JB E COLLINS JT (Eds), *Reproductive biology and diseases of captive reptiles*, SSAR Contributions to Herpetology, p. 25-31.
- FITCH HS. 1982. Reproductive cycles in tropical reptiles. *Occasional papers of the Museum of Natural History, the University of Kansa*, 53 p.
- FITCH HS. 1987. Collecting and life-history techniques. In: SEIGEL RA ET AL. (Eds), *Snakes: Ecology and Evolutionary Biology*, McGraw-Hill Publishing Company, p. 143-164.
- FOCKEN U E BECKER K. 1998. Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food webs using delta ¹³C data. *Oecologia* 115: 337-343.
- FRANCO FL. 1999. Relações filogenéticas entre os gêneros da tribo Tachymenini Bailey, 1967 (Serpentes, Colubridae). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 252 p.
- FRANCO LF E FERREIRA LG. 2002. Descrição de uma nova espécie de *Thamnodynastes* Wagler, 1830 (Serpentes, Colubridae) do nordeste brasileiro, com comentários sobre o gênero. *Phyllomedusa* 1: 57-74.
- FRY B. 2006. *Stable isotope ecology*. United States: Springer, 308 p.
- GIBBONS JW, ET AL. 2006. Remarkable amphibian biomass and abundance in an isolated wetland: implications for wetland conservation. *Conserv Biol* 20: 1457-1465.
- GIRAUDO AR. 2001. *Serpientes de la Selva Paranaense y del Chaco Húmedo*. Buenos Aires, LOLA, 328 p.
- GIRAUDO AR, ARZAMENDIA V E LÓPEZ MS. 2004. Ofidios del litoral de Argentina (Reptilia: Serpentes): Biodiversidad y síntesis sobre el estado actual de conocimiento. *Insugeo* 12: 5-12.
- GRAZZIOTIN FG, ZAHER H, MURPHY RW, SCROCCHI G, BENAVIDES MA, ZHANG Y E BONATTOH SL. 2012. Molecular phylogeny of the New World Dipsadidae (Serpentes: Colubroidea): A reappraisal. *Cladistics* 1: 1-23.

GREENE HW. 1986. Natural history and evolutionary biology. In: FEDER ME E LAUDER GV (Eds), Predator-prey relationships: Perspectives and approaches from the study of lower vertebrates. Chicago, University of Chicago Press, p. 99-108.

GREENE HW. 1994. Systematics and natural history, foundations for understanding and conserving biodiversity. *Am Zool* 34: 48-56.

GREENE HW. 1997. Snakes: The Evolution of Mystery in Nature. University of California Press, Berkeley, 354 p.

GREGORY PT E ISAAC LA. 2004. Food habits of the Grass Snake in southeastern England: is *Natrix natrix* a generalist predator? *J Herpetol* 38(1): 88-95.

GRIFFITHS H. 1991. Applications of stable isotope technology in physiological ecology. *Funct Ecol* 5: 254-269.

GUDYNAS E. 1981. Confirmación de la viviparidad en la Culebra Sepia *Thamnodynastes strigilis* (Serpentes: Colubridae). *Contribuciones en Biología del Centro Educativo Don Orione* 5: 1-7.

HARTMANN MT, DEL GRANDE ML, GONDIM MJC, MENDES MC E MARQUES OAV. 2002. Reproduction and activity of the snail-eating snake, *Dipsas albifrons* (Colubridae), in the southern Atlantic Forest in Brazil. *Stud Neotrop Fauna E* 37: 111-114.

HARTMANN PA E MARQUES OAV. 2005. Diet and habitat use of two sympatric species of *Philodryas* (Colubridae) in Brazil. *Amphib-reptil* 26: 25-31.

HENDERSON RW. 1993. On the diets of some arboreal Boids. *Herpetological Natural History* 1: 91-96.

HENDERSON RW E HOEVERS LG. 1977. The seasonal incidence of snakes at a locality in northern Belize. *Copeia* 1977: 349-55.

HOBSON KA, PIATT JF E PITOCELLI J. 1994. Using stable isotopes to determine seabird trophic relationships. *J Anim Ecol* 63: 786-798.

HOLYCROSS AT E GOLDBERG SR. 2001. Reproduction in northern populations of the Ridgenose Ratlesnake, *Crotalus willardi* (Serpentes: Viperidae). *Copeia* 2001: 473-481.

HOUSTON DL E SHINE R. 1993. Sexual dimorphism and niche divergence: feeding habits of the Arafura Filesnake. *J Anim Ecol* 62: 737-748.

HOUSTON DL E SHINE R. 1994. Movements and activity patterns of Arafura filesnakes (Serpentes: Acrochordidae) in tropical Australia. *Herpetologica* 50: 349-57.

JACKSON JK E FISHER SG. 1986. Secondary production, emergence and export of aquatic insects of a Sonoran Desert stream. *Ecology* 67: 629-638.

JANEIRO-CINQUINI TRF, LEINZ FF E FARIAS EC. 1993. Seasonal variation in weight and length of testicles and the quantity of abdominal fat of the snake *Bothrops jararaca*. *Memórias do Instituto Butantan* 55: 15-19.

JORDÃO RS. 1996a. Estudo comparativo da alimentação e da reprodução de *Waglerophis merremi* e *Xenodon newiedii* (Serpentes: Colubridae). Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 93 p.

JORDÃO RS E BIZERRA AF. 1996b. Reprodução, dimorfismo sexual e atividade de *Simophis rhinostoma* (Serpentes, Colubridae). *Rev Bras Zool* 56: 507-512.

KELLY JF. 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can J Zool* 78: 1-27.

KEPHART DG E ARNOLD SJ. 1982. Garter snake diets in a fluctuating environment: a seven-year study. *Ecology* 63: 1232-1236.

KUPFER A, LANGEL R, SCHEU S, HIMSTEDT W E MARAUN M. 2006. Trophic ecology of a tropical aquatic and terrestrial food web: insights from stable isotopes (^{15}N). *J Trop Ecol* 22: 469-476.

LAYMAN CA, ARAUJO MS, BOUCEK R, HAMMERSCHLAG-PEYER CM, HARRISON E, JUD ZR, MATICH P, ROSENBLATT AE, VAUDO JJ, YEAGER LA, POST DM E BEARHOP S. 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biol Rev* 87: 545-562.

LEITE PT, NUNES SF E CECHIN SZ. 2007. Dieta e uso de hábitat da jararaca-dobrejo *Mastigodryas bifossatus Raddi* (Serpentes, Colubridae) em domínio subtropical do Brasil. *Rev Bras Zool* 24: 729-734.

LENNON CP. 2013. Dietary ecology of an actively-foraging snake species, *Coluber constrictor foxii*. Masters Theses, Eastern Illinois University, 61 p.

LÓPEZ MS E GIRAUDO AR. 2008. Ecology of the snake *Philodryas patagoniensis* (Serpentes, Colubridae) from Northeast Argentina. *J Herpetol* 42: 474-480.

MACIEL AP. 2001. Ecologia e história natural da cobra-do-capim, *Liophis poecilogyrus* (Serpentes: Colubridae), no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul Brasil.

MADSEN T E SHINE R. 1993. Phenotypic plasticity in body sizes and sexual dimorphism in European grass snakes. *Evolution* 47: 321-325.

MADSEN T E SHINE R. 1996. Determinants of reproductive output in female water pythons (*Liasis fuscus*: Pythonidae). *Herpetologica* 52: 146-159.

MADSEN T E SHINE R. 1996. Seasonal migration of predators and prey: pythons and rats in tropical Australia. *Ecology* 77: 149-156.

MAFFEI F, ROLIM DC E JIM J. 2011. *Thamnodynastes hypoconia*. Diet. *Herpetol Rev* 42: 620.

MARQUES OAV E PUORTO G. 1994. Dieta e comportamento alimentar de *Erytrolamprus aesculapi*, uma serpente ofiófaga. *Rev Bras Biol* 54: 253-259.

MARQUES OAV. 1996. Reproduction, seasonal activity and growth of the coral snake, *Micrurus corallinus* (Elapidae), in the southeastern Atlantic forest in Brazil. *Amphib-reptil* 17: 277-285.

MARQUES OAV E SAZIMA I. 1997. Diet and feeding behaviour of the coral snake, *Micrurus corallinus*, from the Atlantic Forest of Brazil. *Herpetol Nat Hist Stanford* 5: 88-93.

MARQUES OAV, ALMEIDA-SANTOS SM, RODRIGUES M E CAMARGO R. 2009. Mating and reproductive cycle in the neotropical colubrid snake *Chironius bicarinatus*. *South Am J Herpeto* 14:76-80.

MARQUES TS, BASSETTI LAB, LARA NRF, ARAÚJO MS, PINÃ CI, CAMARGO PB E VERDADE LM. 2013. Isotopic Discrimination Factors ($\Delta^{13}\text{C}$ and $\Delta^{15}\text{N}$) between Tissues and Diet of the Broad-Snouted Caiman (*Caiman latirostris*). *J Herpetol*.

MARTINELLI LA, OMETTO JPHB, FERRAZ ES, VICTORIA RL, CAMARGO PB E MOREIRA MZ. 2009. *Desvendando Questões Ambientais com Isótopos Estáveis*. São Paulo, Brasil: Oficina de Textos, 144 p.

MARTINS M, MARQUES OAV E SAZIMA I. 2001. Ecological and phylogenetic correlates of feeding habits in Neotropical pitvipers of the genus *Bothrops*. In: SCHUETT G (Eds), *Biology of the Vipers*. Biological Sciences Press, Carmel, Indiana, p. 307-328.

MASCHIO GF, PRUDENTE ALC E FEITOSA DT. 2007. Reproductive biology of *Anilius scytale* (Linnaeus, 1758) (Serpentes, Aniliidae) from Eastern Amazonia, Brazil. *South Am J Herpetol* 2: 179-183.

MASCHIO GF, PRUDENTE ALC, RODRIGUES FS E HOOGMOED MS. 2010. Food habits of *Anilius scytale* (Serpentes: Aniliidae) in the Brazilian Amazonia. *Zoologia* 27: 184-190.

MATHIES T. 2011. Reproductive cycles of tropical snakes. In: ALDRIDGE RD E SEVER DM (Eds), Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes. Enfield: Science Publishers, p. 511-550.

MESQUITA PCMD, SÁ-POLIDORO GL E CECHIN SZ. 2013. Reproductive biology of *Philodryas olfersii* (Serpentes, Dipsadidae) in a subtropical region of Brazil. Herpetological Journal 23: 39-44.

MOJICA BH, REY BH, SERRANO VH E RAMÍREZ-PINILLA MP. 2003. Annual reproductive activity of a population of *Cnemidophorus lemniscatus* (Squamata: Teiidae). J Herpetol 37: 35-42.

MOYA GM E MAFFEI F. 2012. Predation on *Dendropsophus elianeae* (Napoli and Caramaschi, 2000) (Anura: Hylidae) by *Thamnodynastes hypoconia* (Cope, 1860) (Squamata: Colubridae). Herpetology Notes 5: 261-262.

MUSHINSKY HR E HÉBRARD JJ. 1977. The use of time by sympatric water snakes. Can J Zool 55: 1545-1550.

MUSHINSKY HR. 1987. Foraging ecology. In: SEIGEL RA ET AL. (Eds), Snakes: Ecology and evolutionary biology, McGraw-Hill Publishing Company, New York, p. 302-334.

NELSON KJ E GREGORY PT. 2000. Activity patterns of garter snakes, *Thamnophis sirtalis*, in relation to weather conditions at a fish hatchery on Vancouver Island, British Columbia. J Herpetol. 34: 32-40.

NEWSOME SD, DEL RIO C M, BEARHOP S E PHILLIPS DL. 2007. A niche for isotopic ecology. Front Ecol Environ 5: 429-436.

OLIVEIRA MCLM, BASTOS RF, CLAUDINO MC, ASSUMPÇÃO CM E GARCIA AM. 2014. Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs by juvenile mullets: a case study in southern Brazil. Aquat Biol 20: 91-100.

PARKER WS E PLUMMER MV. 1987. Population ecology. In: SEIGEL RA ET AL. (Eds), Snakes: ecology and evolutionary biology. New York: McMillan Publishing Company, New York, USA, p. 253-301.

PETERSON BJ E FRY B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. Annu Rev Ecol Evol Syst 18: 293-320.

PETERSON CR, GIBSON RA E DORCAS ME. 1993. Snake thermal ecology: the causes and consequences of bodytemperature variation. In: SEIGEL RA E COLLINS JT (Eds), Snakes: Ecology and Behaviour, New York: McGraw-Hill, p. 241-314.

PIANKA ER E VITT LJ. 2003. Lizards: windows to the evolution of diversity. Berkeley, University of California Press, 333 p.

PILGRIM MA. 2005. Linking microgeographic variation in pigmy rattlesnake (*Sistrurus miliarius*) life history and demography with diet composition: a stable isotope approach. PhD Dissertation, University of Arkansas, Fayetteville.

PINTO RR E FERNANDES R. 2004. Reproductive biology and diet of *Liophis poecilogyrus poecilogyrus* (Serpentes, Colubridae) from southeastern Brazil. Phyllomedusa 3: 9-14.

PINTO RR, FERNANDES R E MARQUES OAV. 2008. Morphology and diet of two sympatric colubrid snakes, *Chironius flavolineatus* and *Chironius quadricarinatus* (Serpentes: Colubridae). Amphib-reptil 29: 149-160.

PINTO RR, MARQUES OAV, FERNANDES R. 2010. Reproductive biology of two sympatric colubrid snakes *Chironius flavolineatus* and *Chironius quadricarinatus* from the Brazilian Cerrado domain. Amphib-reptil 31: 463-473.

PIZZATTO L E MARQUES OAV. 2002. Reproductive biology of the false coral snake *Oxyrhopus guibei* (Colubridae) from southeastern Brazil. Amphib-reptil 23: 495-504.

PIZZATTO L. 2006. Ecomorfologia e estratégias reprodutivas nos Boidae (Serpentes), com ênfase nas espécies neotropicais. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil, 151 p.

PIZZATTO L E MARQUES OAV. 2007a. Reproductive ecology of boine snakes with emphasis on Brazilian species and comparison to pythons. South Am J Herpetol 2: 107-122.

PIZZATTO L, ALMEIDA-SANTOS SM E MARQUES OAV. 2007b. Biologia reprodutiva de serpentes brasileiras. In: NASCIMENTO LB E OLIVEIRA ME (Eds), Herpetologia no Brasil II, Sociedade Brasileira de Herpetologia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, p. 201-221.

POLIS GA E HURD SD. 1995. Extraordinarily high spider densities on islands: flow of energy from the marine to terrestrial food webs and the absence of predation. Proc Natl Acad Sci USA 92: 4382-4386.

POLIS GA E HURD SD. 1996. Linking marine and terrestrial food webs: allochthonous input from the ocean supports high secondary productivity on small islands and coastal land communities. Am Nat 147: 396-423.

POLIS GA, ANDERSON WB E HOLT RD. 1997. Toward an integration of landscape and food web ecology: the dynamics of spatially subsidized food webs. *Ann Rev Ecol Syst* 28: 289-316.

POST DM. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83: 703-718.

PRIETO YA, GIRAUDO AR E LÓPEZ MS. 2012. Diet and sexual dimorphism of *Liophis poecilogyrus* (Serpentes, Dipsadidae) from the wetland regions of Northeast Argentina. *J Herpetol* 46: 402-406.

RADLOFF FGT, HOBSON KA, LESLIE AJ. 2012. Characterising ontogenetic niche shifts in Nile crocodile using stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) analyses of scute keratin. *Isotopes Environ Health Stud* 48: 439-456.

RICHARDS MP, FULLER BT, SPONHEIMER M, ROBINSON T E AYLIFEE L. 2003. Sulphur isotopes in palaeodietary studies: a review and results from a controlled feeding experiment. *Int J Osteoarchaeol* 13: 37-45.

ROBINSON D. 2001. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends Ecol Evol* 16: 153-162.

ROJAS CA, BARROS VA E ALMEIDA-SANTOS SM. 2013. The reproductive cycle of the male sleep snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) from southeastern Brazil. *J Morphol* 274: 215-228.

ROSE M E POLIS GA. 1997. The distribution and abundance of coyotes: the importance of subsidy by allochthonous foods coming from the sea. *Ecology* 79: 998-1007.

RUFFATO R, DI-BERNARDO M E MASCHIO GF. 2003. Dieta de *Thamnodynastes strigatus* (Serpentes, Colubridae) no sul do Brasil. *Phyllomedusa* 2: 27-34.

RUSH AS, SASH K, CARROLL J, PALMER B E FISK AT. 2014. Feeding ecology of the snake community of the Red Hills region relative to management for Northern Bobwhite: Assessing the diet of snakes using stable isotopes. *Copeia* 2014: 288-296.

SAINT-GIRONS H. 1982. Reproductive cycles of male snakes and their relationships with climate and female reproductive cycles. *Herpetologica* 38: 5-16.

SALOMÃO MG, ALMEIDA-SANTOS SM E PUORTO G. 1995. Activity pattern of *Crotalus durissus* (Viperidae, Crotalinae): feeding, reproduction and snake bite. *Stud Neotrop Fauna E* 30: 101-106.

SANTOS XJ, GONZALEZ-SOLIS J E LLORENTE GA. 2000. Variation in the diet of the viperine snake *Natrix maura* in relation to prey availability. *Ecography* 23: 185-192.

SANTOS MB, OLIVEIRA MCLM E TOZETTI AM. 2012. Diversity and habitat use by snakes and lizards in coastal environments of southernmost Brazil. *Biota Neotrop* 12: 78-87.

SATHER HJ E SMITH RD. 1984. An overview of major wetland functions and values. U.S. Fish and Wildlife Service, Biological Services Program FWS/OBS-84/18, 68 p.

SAWAYA RJ, MARQUES OAV E MARTINS M. 2008. Composition and natural history of a Cerrado snake assemblage at Itirapina, São Paulo State, southeastern Brazil. *Biota Neotrop* 8: 127-149.

SCARTOZZONI RR E MARQUES OAV. 2004. Sexual dimorphism, reproductive cycle, and fecundity of the water snake *Ptychophis flavovirgatus* (Serpentes, Colubridae). *Phyllomedusa* 3: 69-71.

SCHUETT GW, CARLISLE SL, HOLYCROSS AT, O'LEILE JK, HARDY DL, VAN KIRK EA E MURDOCH WJ. 2002. Mating system of male Mojave rattlesnakes (*Crotalus scutulatus*): Seasonal timing of mating, agonistic behavior, spermatogenesis, sexual segment of the kidney, and plasma sex steroids. In: SCHUETT GW ET AL. (Eds), *Biology of the Vipers*, Carmel, Indiana: Eagle Mountain, p. 515-532.

SELBACH D. 2012. Atividade reprodutiva de *Erythrolamprus poecilogyrus* (Cope, 1860) (Serpentes: Dipsadidae) em área de clima subtropical no extremo sul brasileiro. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil, 22 p.

SEIGEL RA E FORD NB. 1987. Reproductive ecology. In: SEIGEL RA (Eds), *Snakes, Ecology and Evolutionary Biology*, McMillan Publishing Company, New York, p. 210-252.

SEMINOFF JA, JONES TT, EGUCHI T, JONES DR E DUTTON PH. 2006. Stable isotope discrimination ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) between soft tissue of the green sea turtle *Chelonia mydas* and its diet. *Mar Ecol Prog Ser* 308: 271-278.

SEMINOFF JA, BJORN DAL KA E BOLTEN AB. 2007. Stable carbon and nitrogen isotope discrimination and turnover in pond sliders *Trachemys scripta*: insights for trophic study of freshwater turtles. *Copeia* 2007: 534-542.

SERIÉ P. 1915. Suplemento a la fauna herpetológica Argentina. *An Mus Nac Buenos Aires* 27: 93-109.

SHINE R. 1977a. Habitats, diets, and sympatry in snakes: A study from Australia. *Can J Zool* 55: 1119-1128.

- SHINE R. 1977b. Reproduction in Australian elapid snakes. II. Female reproductive cycles. *Aust J Zool* 25: 655-666.
- SHINE R. 1985. Reproductive biology of Australian reptiles: a search for general patterns. In: GRIGG GC ET AL. (Eds), *Biology of Australasian Frogs and Reptiles*, Royal Zoological Society of NSW, Sydney, p. 297-303.
- SHINE R. 1986. Ecology of a low-energy specialist: food habits and reproductive biology of the arafura filesnake (Acrochordidae). *Copeia* 1986: 424-437.
- SHINE R. 1991. *Australian snakes: a natural history*. Ithaca: Cornell University Press, 224 p.
- SHINE R. 1993. Sexual dimorphism in snakes. In: SEIGEL RA E COLLINS JT (Eds), *Snakes: ecology and behavior*, New York, McGraw-Hill, p. 49-86.
- SHINE R. 1994. Sexual size dimorphism in snakes revisited. *Copeia* 1994: 326-346.
- SHINE R. 2003. Reproductive strategies in snakes. *Proc R Soc, B* 270: 995-1004.
- SHINE R E BONNET X. 2009. Reproductive biology, population viability, and options for field management. In: MULLIN SJ E SEIGEL RA (Eds), *Snakes – Ecology and Conservation*, Cornell University Press, Ithaca, p. 172-200.
- SHINE R, BRANCH WR, HARLOW OS E WEBB JK. 1998. Reproductive biology and food habits of horned adders, *Bitis caudalis* (Viperidae), from southern Africa. *Copeia* 1998: 391-401.
- SHINE R, SPENCER CL E KEOGH JS. 2014. Morphology, reproduction and diet in Australian and Papuan Death Adders (*Acanthophis*, Elapidae). *PLoS ONE* 9: e94216.
- SIEGEL DS, SEVER DM, RHEUBERT JL E GRIBBINS KM. 2009. Reproductive biology of *Agkistrodon piscivorus* Lacépède (Squamata, Serpentes, Viperidae, Crotalinae). *Herpetol Monogr* 23: 74-107.
- SMITH KF, ZACHARY DS E JAMES HB. 2002. Isotopic composition of carbon and oxygen in desert fauna: investigations into the effects of diet, physiology, and seasonality. *J Arid Environ* 52: 419-430.
- SOUSA KRM, PRUDENTE ALC E MASCHIO GF. 2014. Reproduction and diet of *Imantodes cenchoa* (Dipsadidae: Dipsadinae) from the Brazilian Amazon. *Zoologia* 31: 8-19.
- STICKEL LF, STICKEL WH E SCHMID FC. 1980. Ecology of a Maryland population of Black Rat Snakes (*Elaphe o. obsoleta*). *Am Midl Nat* 103: 1-14.

STURARO MJ E GOMES JO. 2008. Feeding behavior of the Amazonian Water Snake *Helicops hagmanni* Roux, 1910 (Reptilia: Squamata: Colubridae: Hydropsini). Bol Mus Par Emílio Goeldi 3: 225-228.

SUN L, SHINE R, ZHAO D E TANG Z. 2000. Biotic and abiotic influences on activity patterns of insular pit-vipers (*Gloydius shedaoensis*, Viperidae) from northeastern China. Biol Conserv 97: 387-98.

TEIXEIRA CC. 2012. Recursos alimentares e local de forrageio de três espécies de *Helicops* wagler, 1830 (Serpentes: Dipsadidae) na Amazônia Oriental, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, Brasil, 51 p.

TOZETTI AM E MARTINS M. 2013. Daily and seasonal activity patterns of free range South American rattlesnake (*Crotalus durissus*). An Acad Bras Cienc 85: 1047-1052.

TOZETTI AM, VETORAZZO V E MARTINS M. 2009. Short-term movements of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus*) in southeastern Brazil. Herpetological Journal 19: 201-206.

VALDUJO PH, NOGUEIRA C E MARTINS M. 2002. Ecology of *Bothrops neuwiedi* paoloensis (Serpentes: Viperidae: Crotalinae) in the Brazilian Cerrado. J Herpetol 2: 169-176.

VANNI MJ. 2002. Nutrient cycling by animals in freshwater ecosystems. Annu Rev Ecol Syst 33: 341-70.

VERWAIJEN D E VAN DAMME R. 2007. Does foraging mode mould morphology in lacertid lizards? J Evolution Biol 20: 1950-1961.

VITT LJ. 1987. Communities. In: SEIGEL RA ET AL. (Eds), Snakes, Ecology and Evolutionary Biology, McMillan Publishing Co., New York, p. 335-365.

VITT LJ E VANGILDER L. 1983. Ecology of a snake community in northeastern Brazil. Amphib-reptil 4: 273-296.

VITT LJ E BREITENBACH GL. 1993. Life histories and reproductive tactics among lizards in the genus *Cnemidophorus* (Sauria: Teiidae). In: WRIGHT JW E VITT LJ (Eds), Biology of whiptail lizards (Genus *Cnemidophorus*), Norman, Oklahoma Museum of Natural History, p. 211-244.

VOLSØE H. 1944. Structure and seasonal variation of the male reproductive organs of *Vipera berus* (L.). Spolia Zoologica Musei Hauniensis, 157 p.

WAECHTER JL. 1985. Aspectos ecológicos da vegetação de restinga no Rio Grande do Sul, Brasil. Comun Mus Ci PUCRS Sér Bot 33: 49-68.

WEBB JK, BROOK BW E SHINE R. 2003. Does foraging mode influence life history traits? A comparative study of growth, maturation and survival of two species of sympatric snakes from south-eastern Australia. *Austral Ecol* 28: 601-610.

WILLSON J, WINNE C, PILGRIM MA, ROMANEK C E GIBBONS J. 2010. Seasonal variation in terrestrial resource subsidies influences trophic niche width and overlap in two aquatic snake species: a stable isotope approach. *Oikos* 119: 1161-1171.

WINEMILLER KO, AKIN S E ZEUG SC. 2007. Production sources and food web structure of a temperate tidal estuary: integration of dietary and stable isotope data. *Mar Ecol Prog Ser* 343: 63-76.

YOKOYAMA F E YOSHIDA H. 1993. The reproductive cycle of the male habu, *Trimeresurus flavoviridis*. *The Snake* 25: 55-62.

ZAHER H, GRAZZIOTIN FG, CADLE JE, MURPHY RTW, MOURA-LEITE JC E BONATO SL. 2009. Molecular phylogeny of advanced snakes (Serpentes, Caenophidia) with an emphasis on South American Xenodontines: A revised classification and descriptions of new taxa. *Pap Avulsos de Zool* 49: 115-153.

CAPÍTULO 1

**Biologia reprodutiva de *Thamnodynastes hypoconia*
(Serpentes: Dipsadidae) em ambientes úmidos
subtemperados do extremo sul brasileiro**

**Manuscrito a ser submetido à Revista Anais da Academia
Brasileira de Ciências.**

Biologia reprodutiva de *Thamnodynastes hypoconia* (Serpentes: Dipsadidae) em ambientes úmidos subtemperados do extremo sul brasileiro

Marluci Müller Rebelato¹, Alexandro Marques Tozetti² e Gláucia Maria Funk Pontes³

¹Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande, Avenida Itália, Km 8, 96201-900 Rio Grande, RS, Brasil

²Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Avenida Unisinos, 950, 93022-000 São Leopoldo, RS, Brasil

³Setor de Herpetologia, Prédio 40, Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP), Avenida Ipiranga, 6681, Bairro Partenon, 90619-900 Porto Alegre, RS, Brasil

Palavras-chave: banhados, ciclo reprodutivo, fecundidade, maturidade sexual, sazonalidade, viviparidade

Título abreviado: Reprodução de *Thamnodynastes hypoconia* no extremo sul.

Categoria: Artigo

Correspondência para: Marluci Müller Rebelato. E-mail: mmrebelato@yahoo.com.br

RESUMO

O estudo teve como objetivo descrever a biologia reprodutiva de populações de *Thamnodynastes hypoconia* em ambientes úmidos subtemperados. Foram analisados exemplares procedentes de banhados do extremo sul brasileiro. Os machos apresentaram maior comprimento rostro-cloacal que as fêmeas e atingiram a maturidade sexual com menor tamanho corpóreo em relação às fêmeas. O ciclo reprodutivo das fêmeas foi sazonal, com vitelogênese secundária ocorrendo entre o inverno e a primavera. Os machos apresentaram ciclo contínuo. Aparentemente a cópula ocorre entre o final da primavera e o início do verão, quando foram detectados embriões nas fêmeas. A parturição ocorreu no verão, entre janeiro e fevereiro. Não houve relação entre o tamanho da ninhada (em média entre 4 a 16 embriões por fêmea) e o tamanho da fêmea. A frequência reprodutiva foi de 40%, considerada relativamente baixa. Todavia, por se tratar de uma espécie dominante nos banhados subtemperados do extremo sul do Brasil, sua estratégia reprodutiva parece ser eficiente. Apesar de especulativo, acreditamos que o ciclo contínuo dos machos, bem como a viviparidade possam potencializar o deslocamento do pico reprodutivo da população de modo a ajustar-se acordo com os picos de temperatura do ambiente.

INTRODUÇÃO

A reprodução é um dos principais componentes da história de vida de um organismo, dessa forma o estudo da biologia reprodutiva é essencial na compreensão da dinâmica populacional de qualquer espécie (Begon et al. 1990), uma vez que a reprodução está diretamente ligada a manutenção das populações (Seigel e Ford 1987, Holycross e Goldberg 2001). A reprodução é um tema frequentemente estudado dentro do contexto da história natural de serpentes devido a grande diversidade de estratégias reprodutivas que esse grupo apresenta (Seigel e Ford 1987, Shine 2003) e pela facilidade de obtenção de dados através da análise de espécimes tombados em coleções científicas (Fitch 1987, Shine 2003, Shine e Bonnet 2009).

Por serem animais ectotérmicos, as serpentes têm suas atividades diretamente afetadas pelo regime climático (Mushinsky e Hébrard 1977, Nelson e Gregory 2000). Variáveis ambientais, tais como, temperatura, umidade relativa do ar, pluviosidade, fotoperíodo e ciclo lunar podem controlar o ciclo reprodutivo das serpentes (Houston e Shine 1994, Daltry et al. 1998, Sun et al. 2000), além de fatores ecológicos como a disponibilidade de alimento (Fitch 1982) e a própria filogenia (Seigel e Ford 1987, Brown e Shine 2006). Em regiões temperadas os ciclos reprodutivos de muitas espécies de serpentes costumam ser sazonais, no qual a reprodução ocorre nas estações mais quentes do ano (Shine 1985a, Duvall et al. 1982). Alguns estudos sugerem que em serpentes de regiões tropicais devem predominar os ciclos reprodutivos contínuos, em função das condições climáticas estáveis e favoráveis ao longo do ano (Seigel e Ford 1987, Barros et al. 2012). Apesar de algumas exceções, a estabilidade climática parece favorecer a reprodução contínua (Fitch 1980). Portanto, a sazonalidade reprodutiva pode ocorrer mesmo nos trópicos, desde que haja sazonalidade climática marcada, o que provavelmente geraria oscilações na disponibilidade de recursos (Shine 2003). De fato,

as serpentes de regiões tropicais e subtropicais apresentam ciclos reprodutivos diversificados, podendo apresentar reprodução sazonal (Fitch 1982, Vitt e Vangilder 1983, Marques 1996, Almeida-Santos e Salomão 2002, Shine 2003, Scartozzoni e Marques 2004, Mathies 2011) ou contínua (Saint-Girons 1982). A sincronia entre ciclo reprodutivo e variáveis ambientais é fundamental para a taxa de sobrevivência da prole. O nascimento em períodos com maior oferta de alimento potencializa o sucesso na fase de recrutamento dos recém-nascidos. Além disso, o desenvolvimento dos embriões é favorecido por temperaturas mais elevadas, sendo comum que as fêmeas estejam aptas a serem fecundadas nesse período (Tinkle e Gibbons 1977). Nesse sentido, a viviparidade trouxe vantagens para as espécies que habitam regiões de clima frio (Shine 1985b), pois a baixa temperatura ambiental seria prejudicial para o desenvolvimento embrionário (Tinkle e Gibbons 1977, Shine 1995). É possível que espécies vivíparas tenham vantagens em climas mais frios por poderem controlar mais adequadamente a temperatura dos embriões. Essa habilidade seria extremamente vantajosa em regiões de clima subtemperado, onde apesar do inverno relativamente rigoroso, os picos de temperatura são comuns em dias ensolarados. Assim a habilidade de selecionar porções específicas do hábitat potencializaria a existência de ciclos reprodutivos contínuos, assim como em regiões mais quentes. Uma das espécies dominantes em banhados do extremo sul brasileiro, *Thamnodynastes hypoconia*, por ser vivípara, representa um bom modelo para se avaliar padrões reprodutivos em clima relativamente frios.

Essa espécie, representante dos Xenodontíneos Neotropicais (tribo Tachymenini) (Zaher et al. 2009, Grazziotin et al. 2012), ocorre no nordeste, centro-oeste, sudeste e sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina (Franco 1999, Giraudo 2001). É uma espécie semi-arborícola, noturna e vivípara (Achaval e Olmos 2003). As fêmeas das populações da América do Sul Subtropical-temperada apresentam ciclo

reprodutivo sazonal (Bellini et al. 2013, 2014). O ciclo dos machos foi considerado contínuo (Bellini et al. 2013), havendo também registro de sazonalidade (Bellini et al. 2014). Todavia, devido a sua ampla distribuição geográfica é possível que diferentes populações apresentem variações nesse padrão reprodutivo.

Apesar de nas últimas três décadas ter havido um aumento do número de trabalhos focando a biologia reprodutiva das serpentes Neotropicais (i.e Salomão et al. 1995; Pinto e Fernandes 2004, Maschio et al. 2007, Bellini et al. 2013, Mesquita et al. 2013, Rojas et al. 2013, Braz et al. 2014, Sousa et al. 2014), são poucos os estudos, ainda que básicos, realizados em regiões de clima subtemperado. O objetivo deste trabalho foi descrever a biologia reprodutiva de *Thamnodynastes hypoconia* em ambientes úmidos subtemperados do extremo sul brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido por meio da análise de espécimes de *Thamnodynastes hypoconia* tombados nas Coleções Herpetológicas da Universidade Federal do Rio Grande (CHFURG) e do Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP) (Apêndice 1). Por haver uma suspeita de que ao longo de sua distribuição *T. hypoconia* possa representar um complexo taxonômico foram selecionados apenas exemplares procedentes do extremo sul brasileiro, particularmente do município de Rio Grande, Rio Grande do Sul (32° 02' 06''S 52° 05' 55''O), onde aparentemente há uma homogeneidade taxonômica (M. Borges-Martins, com. pess.). Para aumentar o tamanho da amostra foram realizadas coletas adicionais na Estação Ecológica do Taim (ESEC Taim), em uma área também situada no município de Rio Grande (32°50'S e 52°26'O). A região da procedência de todos os exemplares se caracteriza pelo predomínio de áreas úmidas (e.g. lagoas, banhados permanentes e

temporários) associadas a um mosaico de dunas, campos e matas de restinga (Waechter 1985). A relativa homogeneidade da paisagem é afetada principalmente pelos ciclos de cheia, quando banhados e campos se tornam alagadiços (Gomes et al. 1987). Apesar da distribuição regular das chuvas ao longo do ano, os picos de cheia costumam concentrar-se entre junho e agosto. O clima da região de procedência dos exemplares avaliados é classificado como subtemperado úmido, com temperatura anual média de 18,1°C (Maluf 2000). As estações do ano são bem definidas, podendo apresentar períodos de seca na primavera e a precipitação pluvial anual média é de 1162 mm (Maluf 2000).

As coletas para complementação do número de exemplares ocorreram entre abril de 2012 e março de 2013, sendo realizadas pelo método de procura visual (Campbell e Christman 1982). As serpentes foram coletadas sob autorizações do SISBio (nº 32620-1 e 37410-1), eutanasiadas com o uso de anestésico barbitúrico, fixadas em solução de formol a 10% e conservadas em álcool 70% (Heyer et al. 1994) antes da avaliação do estado reprodutivo.

Em laboratório, cada indivíduo foi medido quanto ao comprimento rostro-cloacal (CRC, em mm), utilizando-se fita métrica (acurácia de 1 mm). Para coleta dos dados reprodutivos os exemplares foram dissecados por meio de incisão na região mediano-ventral. Para as fêmeas foram registrados o diâmetro do maior folículo ovariano (mm); o diâmetro do maior embrião no oviduto (mm); o número de folículos ovarianos em vitelogênese secundária (folículos secundários) ou embriões e o estado do oviduto (pregueado ou alargado). A determinação dos folículos em vitelogênese secundária foi feita a posteriori com a plotagem das medidas dos folículos em gráfico de dispersão (Almeida-Santos et al. 2014). Os folículos com diâmetro ≥ 5 mm foram considerados como folículos secundários, valor esse coerente com o registrado

previamente para a espécie (Bellini et al. 2013, 2014). Folículos ovarianos com diâmetro < 5mm foram considerados como folículos em vitelogênese primária (folículos primários). Embriões em fase inicial de desenvolvimento foram distinguidos de folículos pela observação de sua localização no aparelho reprodutor, que foi restrita ao oviduto. Para os machos registrou-se o comprimento, largura e espessura dos testículos direito e esquerdo (mm); o diâmetro da porção distal do ducto deferente direito (mm) (veja Pizzatto 2003, Almeida-Santos et al. 2006) e o estado dos ductos deferentes (enovelados ou não). As gônadas foram medidas utilizando-se paquímetro digital (acurácia de 0,1 mm). Como o volume dos testículos é utilizado como indicador de atividade espermatogênica (Pizzatto et al. 2008b, Gomes e Marques, 2012, Bellini et al. 2013), foi realizado o cálculo do volume testicular por meio da fórmula do volume de um elipsóide ($\frac{4}{3}\pi abc$, onde a = metade do comprimento do testículo; b = metade da largura do testículo e c = espessura do testículo) (Pleguezuelos e Feriche 1999).

Fêmeas foram consideradas maduras quando apresentavam folículos secundários (folículos ≥ 5 mm), embriões ou oviduto preegado, indicando recente parturição (Pizzatto et al. 2008a, Leite et al. 2009). Machos foram considerados maduros quando apresentavam testículos túrgidos e ductos deferentes enovelados, indicando a presença de esperma (Shine 1980, Almeida-Santos et al. 2014). O ciclo reprodutivo das fêmeas foi caracterizado a partir da distribuição, ao longo do ano, do tamanho dos folículos ovarianos e dos embriões nos ovidutos (Shine 1977, 1988). A fecundidade (tamanho da ninhada) foi determinada baseando-se no número de embriões encontrados no oviduto, ou seja, a fecundidade real (veja Mesquita et al. 2013, Almeida-Santos et al. 2014, Braz et al. 2014). A frequência reprodutiva das fêmeas foi estimada utilizando a proporção de indivíduos reprodutivos (com folículos secundários ou embriões) na estação reprodutiva (veja Plummer 1984). A estação reprodutiva foi definida a partir do período em que

ocorre a vitelogênese secundária até o nascimento dos filhotes (Leite et al. 2009). Nos machos, a variação do volume dos testículos ao longo do ano refletiu o seu ciclo reprodutivo, uma vez que os testículos costumam aumentar de tamanho no pico de sua atividade espermatogênica (Pizzatto et al. 2007a). Os possíveis erros relativos a essa inferência foram minimizados uma vez que todos os exemplares avaliados foram fixados a menos do que cinco anos, o que reduz a possibilidade de deformidades em seus testículos (Almeida-Santos et al. 2014). Para inferir sobre a época de recrutamento dos filhotes foram consultadas as datas de coleta, ao longo do ano, dos exemplares recém-nascidos e juvenis recebidos nas coleções (veja Marques et al. 2001), cujos valores de CRC foram plotados em um gráfico de dispersão para definição visual do ponto de corte entre recém-nascidos e jovens/adultos. Os espécimes com menor CRC foram considerados recém-nascidos ou filhotes.

Para verificar se houve diferença no tamanho corporal entre fêmeas e machos adultos, as medidas de CRC foram comparadas por meio da análise de variância (ANOVA). Para testar a existência de sazonalidade no ciclo reprodutivo das fêmeas e dos machos foi utilizada a análise estatística circular (Zar 1999), através do programa ORIANA 2.02 (Kovach 2004). Os meses foram convertidos em ângulos variando de zero grau (= janeiro) até 330° (= dezembro) com intervalos de 30°. Nessa análise, cada ângulo (mês) foi associado ao número de folículos secundários ou embriões e o número de pares de ductos deferentes enovelados registrados em cada mês. Os meses com maior frequência desses registros correspondem a picos da atividade reprodutiva de machos e fêmeas. Por esse método foram estimados: (1) vetor médio (μ), que corresponde à média do período do ano na qual a maioria das serpentes estava se reproduzindo; (2) desvio circular padrão (SD); e (3) o vetor r , uma média de concentração dos dados em torno do círculo (ano), que varia de 0 (dados dispersos) a 1 (dados concentrados na

mesma direção). A uniformidade do teste de Rayleigh (z) foi utilizada para calcular a probabilidade da hipótese nula de que os dados sejam distribuídos uniformemente em torno do ciclo analisado ($p > 0,05$) (Zar 1999). Um resultado significativo do teste de Rayleigh ($p < 0,05$) indica que os dados não são uniformemente distribuídos e existe um significativo ângulo médio ou direção média (Kovach 2004), ou seja, há sazonalidade no ciclo reprodutivo das serpentes estudadas.

Para verificar se existe uma relação entre o tamanho corporal da fêmea e o número de embriões que ela produz (fecundidade real), foi realizada uma análise de correlação linear (Seigel e Ford 1987, Shine 1992). O volume dos testículos e o diâmetro dos ductos deferentes estão diretamente relacionados ao tamanho dos machos, e como estas são relações alométricas, elas diferem ao longo do ciclo reprodutivo (Shine et al. 1998). Dessa forma, para anular o efeito do tamanho dos indivíduos sobre a variação nas medidas de volume e diâmetro acima referidas, calculou-se o resíduo do volume total dos testículos (direito + esquerdo) e o resíduo do diâmetro do ducto deferente direito em relação ao CRC, ao longo do ano. A variação dos resíduos do volume total dos testículos e do diâmetro do ducto deferente direito entre os meses quentes (primavera/verão; outubro a março) e frios (outono/inverno; abril a setembro) foi analisada por meio do teste de Mann-Whitney (Teste U) (Zar 1999), para indicar o ciclo reprodutivo dos machos ao longo do ano (Pizzatto e Marques 2002).

RESULTADOS

Dos 101 espécimes analisados (56 tombados em coleções e 45 coletados para o presente estudo), 63 eram machos (36 adultos e 27 jovens) e 38 eram fêmeas (31 adultas e 7 jovens). O CRC médio dos machos adultos foi de 387,08 mm (DP = 49,33; amplitude = 270 – 480 mm), sendo significativamente maior do que o das fêmeas ($F_{1,64}$

= 5,48; $p = 0,02$) que foi de 361,94 mm (DP = 35,75; amplitude = 300 – 410). Apesar de menores, as fêmeas atingiram maturidade sexual com maior tamanho corpóreo (CRC = 300 mm) do que os machos (CRC = 270 mm).

Do total de fêmeas analisadas, 81,57% estavam maduras (i.e. presença de folículos secundários, embriões e/ou oviduto pregueado). A estatística circular mostrou que o ciclo reprodutivo das fêmeas foi sazonal ($p = 0,03$), com embriões concentrados entre outubro e dezembro (primavera e verão) (Tabela 1; Figura 1 e 2). Folículos primários (< 5 mm) foram encontrados em quase todos os meses ao longo do ano e os folículos secundários (≥ 5 mm) foram registrados em três fêmeas (9,67%) em maio, agosto e outubro (inverno e primavera) (Figura 1 e 2). Nenhum exemplar apresentou simultaneamente folículos secundários e embriões.

A fecundidade real, ou tamanho da ninhada (= número de embriões) foi de $7,6 \pm 4,7$ (amplitude = 4 – 16) embriões por fêmea, os quais apresentaram diâmetro médio de $20,46 \pm 7,48$ mm (amplitude = 12,64 – 31,8 mm). Não houve relação entre o CRC da fêmea e a fecundidade ($R^2 = 0,39$; $p = 0,20$; $n = 8$). A frequência reprodutiva, ou seja, a proporção de fêmeas reprodutivas na estação reprodutiva (outubro a fevereiro) foi de 40%, demonstrando que mais da metade das fêmeas aptas a se reproduzirem não estavam reproduzindo. O menor indivíduo analisado apresentou 120 mm de comprimento rostro-cloacal (CRC). Dessa forma, foram considerados filhotes aqueles espécimes que apresentaram CRC < 130 mm, e estes foram encontrados em fevereiro (verão) (Figura 2). Uma ninhada de sete recém-nascidos tombados na Coleção Herpetológica do MCP apresentou CRC médio de 115 mm, porém os dados eram procedentes de outra localidade a cerca de 300 km da área de estudo e não entraram na nossa análise (obser. pess.), mas serviram de base na determinação do tamanho dos recém-nascidos. Outra informação utilizada na determinação da época de recrutamento

foi o registro de duas fêmeas em dezembro (verão) com embriões quase prontos para a parturição, apresentando CRC médio de 85 mm.

Dos machos analisados, 42,86% eram maduros (i.e. presença de testículos túrgidos e ductos deferentes enovelados). Não houve variação significativa entre o volume do testículo direito e esquerdo ($U = 560$; $p = 0,32$; $N = 36$). A estatística circular mostrou que o ciclo reprodutivo masculino foi contínuo ($p = 0,53$) (Tabela 1; Figura 2). Também não houve diferença significativa na variação do resíduo do diâmetro do ducto deferente direito entre os meses quentes e frios ($U = 159$; $p = 0,94$; $N = 36$) e nem na variação do resíduo do volume total dos testículos ($U = 159$; $p = 0,94$; $N = 36$).

Tabela 1 - Resultados da análise estatística circular testando a sazonalidade no ciclo reprodutivo das fêmeas e machos de *Thamnodynastes hypoconia* no extremo sul do Brasil.

Variáveis	Ciclo reprodutivo	Ciclo reprodutivo
	das fêmeas	dos machos
Número de observações (n)	11	36
Vetor médio (α)	303,592°	278,479°
Comprimento do vetor médio (r)	0,537	0,133
Desvio padrão circular (SD)	63,876°	115,162°
Teste de Rayleigh (p)	0,03	0,53

DISCUSSÃO

Nossos dados sugerem que machos de *Thamnodynastes hypoconia* são maiores que as fêmeas (veja Bellini et al. 2013). Apesar desse padrão ser frequentemente associado a espécies em que ocorre combate entre machos (Shine et al. 2000), essa associação nem sempre pôde ser comprovada em experimentos (Joy e Crews 1988). Na realidade, possíveis vantagens reprodutivas associadas ao tamanho corporal dos machos têm gerado discussões controversas (Crews 2000). Não há evidências obtidas em campo de que machos de *T. hypoconia* disputem fisicamente fêmeas para cópula. Alternativamente, o maior tamanho corporal dos machos poderia trazer possíveis vantagens metabólicas (menor custo energético por massa) e uma menor suscetibilidade à predação. Essas vantagens seriam interessantes supondo-se que machos de *T. hypoconia* sejam mais vágéis do que fêmeas, como ocorre, ao menos na estação reprodutiva, em outras espécies (Tozetti et al. 2009, Tozetti e Martins 2013). Nossos dados corroboram a sugestão de Bailey (1981), que diz que os machos são maiores do que as fêmeas dentro dos Tachymenini. Por outro lado, alguns trabalhos mostraram que dentro da tribo Tachymenini são encontradas fêmeas significativamente maiores do que os machos em *T. strigatus* (Bizerra dados não publicados), *Tomodon dorsatus* (Bizerra 2005) ou sem diferenciação entre os sexos, como em *Gomesophis brasiliensis* (Oliveira et al. 2003) e *T. chaquensis*, *T. hypoconia* e *T. strigatus* (Bellini et al. 2014).

Machos e fêmeas de *T. hypoconia* atingiram a maturidade sexual com diferentes tamanhos corpóreos, sendo que os machos amadurecem com tamanho corporal menor do que as fêmeas. Este padrão é idêntico ao registrado em outras populações da espécie, na Argentina, Uruguai e Paraguai (Bellini et al. 2013, 2014) e também ao padrão encontrado para *T. chaquensis* e *T. strigatus* (Bellini et al. 2014). Há também registros de casos em que fêmeas atingiram a maturidade sexual com tamanho corporal maior

que os machos, como em Tachymenini (Bizerra et al. 2005, Oliveira et al. 2003), Xenodontini (Pizzatto et al. 2008b), Pseudoboini (Pizzatto 2005), Colubrinae (Leite et al. 2009) e Crotalinae (Valdujo et al. 2002, Hartmann et al. 2005, Marques et al. 2013). Esse padrão sugere que a maturidade sexual ocorre mais tarde na vida dessas fêmeas (Shine 1978, Vitt 1983). A reprodução exige um maior gasto energético das fêmeas em relação aos machos, especialmente pela produção de reservas para os embriões. Dessa forma, as mesmas tendem a investir mais em reservas energéticas para a reprodução do que em seu próprio crescimento (Shine 1978, 1994). Os machos de algumas espécies não têm grande gasto energético com a reprodução e dessa maneira podem iniciar a reprodução com tamanho corporal inferior e provavelmente mais jovens do que as fêmeas (Shine 1978, Seigel e Ford 1987, Madsen e Shine 1994, Luiselli et al. 1996a,b). A possibilidade de que machos tenham um menor custo metabólico associado à reprodução é reforçada por nossos dados que mostram os machos sexualmente ativos o ano todo. Diferentemente dos machos, uma maturação mais tardia nas fêmeas faria com que o início do processo de reprodução se dê em indivíduos com maiores tamanhos corporais, favorecendo a produção de ninhadas mais numerosas (Madsen e Shine 1993, Shine 1993). Todavia, reforçando os dados de Bellini et al. (2013, 2014), não encontramos uma relação entre o tamanho corporal da fêmea e o tamanho da sua ninhada. O tamanho da ninhada oscilou de 4 a 16 embriões por fêmeas, semelhante aos resultados de Achaval e Olmos (2003), Carreira et al. (2005) e Bellini et al. (2013, 2014). Segundo esses últimos autores, esses valores indicam que *T. hypoconia* tenha uma baixa fecundidade quando comparada com outras serpentes, incluindo aquelas filogeneticamente próximas, como em *T. dorsatus* (4 a 26 embriões por fêmea) (Bizerra et al. 2005). O baixo número de embriões pode estar relacionando ao hábito semi-

arborícola de *T. hypoconia* (Achaval e Olmos 2003), por possíveis limitações ao uso da vegetação em fêmeas muito pesadas (Pizzatto et al. 2007b).

O ciclo reprodutivo das fêmeas foi sazonal, com embriões restritos aos meses quentes. O baixo número de fêmeas disponíveis nos meses mais frios (Junho-Julho) limitam as comparações. Todavia, as coleções examinadas dispunham de exemplares capturados por meio de amostragens regulares e com esforço amostral praticamente homogêneo ao longo do ano em cada localidade. Desse modo, o limitado número de capturas nesses meses sugere uma redução da atividade da espécie (Santos et al. 2012), quando elas deslocam-se menos levando uma redução dos gastos energéticos e o acúmulo de vitelo nos folículos. Vale lembrar que mesmo se tratando de uma região de clima subtemperado, mesmo na estação mais fria do ano a temperatura do ar raramente atinge valores abaixo de zero grau Celsius (0°C), havendo eventualmente picos diários de temperaturas de até 30 °C, que favoreceriam a termorregulação e manutenção da atividade de ectotérmicos (Tozetti et al. 2010). Provavelmente, a cópula ocorre quando as condições climáticas se tornam mais satisfatórias, entre o final da primavera e o início do verão. Com isso faz sentido supor que os eventos de parturição ocorram no verão, entre janeiro e fevereiro. Apesar do baixo número de folículos secundários (n = 3), percebe-se uma progressão no diâmetro dos folículos registrados em maio, agosto e outubro (final do outono até metade da primavera), respectivamente. O ciclo das fêmeas de *T. hypoconia* estudadas por Bellini et al. (2013) também foi sazonal, com folículos secundários ocorrendo no outono, embriões presentes na primavera até o início do verão e o recrutamento de filhotes também no verão. Nas populações estudadas por Bellini et al. (2014) o ciclo foi sazonal, porém, os folículos secundários ocorreram entre o outono e o inverno, os embriões foram encontrados entre o inverno e o início do verão e os recém nascidos durante o verão. A hipótese de que a cópula ocorra na primavera e os

nascimentos no verão já foi proposta em outros estudos (Gudynas 1981, Carreira 2005, Sawaya et al. 2008).

A sazonalidade reprodutiva é comum em serpentes que habitam regiões temperadas, sendo a temperatura o principal fator determinante (Seigel e Ford 1987). Todavia, ela também é registrada para espécies tropicais *T. dorsatus* (Bizerra et al. 2005) e *G. brasiliensis* (Oliveira et al. 2003). Além disso, o ciclo de uma mesma espécie pode variar espacialmente, devido a influência ambiental. Em *Erythrolamprus poecilogyrus*, por exemplo, foi registrado um ciclo reprodutivo sazonal nas fêmeas procedentes do extremo sul do Brasil entre 32°50'S e 52°26'O e litoral norte do Rio Grande do Sul entre 30°21'S e 050°17'O (Maciel dados não publicados, Selbach dados não publicados), mas não em uma população do sudeste do país entre 19°49'S e 43°57'O (Pinto e Fernandes 2004), onde o ciclo foi contínuo. Dessa forma, é possível que no extremo sul brasileiro as relativamente baixas temperaturas do inverno limitem a atividade reprodutiva aos meses mais quentes do ano.

Ciclos reprodutivos sazonais foram encontrados em muitas espécies de serpentes da região sul do Brasil, incluindo os Xenodontíneos *Lygophis flavifrenatus*, *Erythrolamprus jaegeri*, *Erythrolamprus miliaris*, *Erythrolamprus poecilogyrus*, *Xenodon dorbignyi*, *Xenodon merremii* e *Xenodon neuwiedii* (i.e. Maciel dados não publicados, Leitão-de-Araújo 1978, Pontes e Di-Bernardo 1988, Aguiar e Di-Bernardo 2005, Balestrin e Di-Bernardo 2005, Di-Bernardo et al. 2007). O desenvolvimento embrionário nos meses quentes reduz a probabilidade de incidência de anomalias (Vinegar 1974), sendo particularmente mais comuns em regiões de clima mais frio (Shine 1977). Além disso, é sugerido que o ciclo de reprodução sazonal favoreça a sincronia entre o nascimento dos filhotes e o período com maior oferta de presas (Marques et al. 2001, Valdujo et al. 2002). De fato, o período provável de parturição

para *T. hypoconia* coincide com o período de maior disponibilidade de anuros no extremo sul brasileiro (Oliveira et al. 2013). Por outro lado, foi sugerido que a duração dos ciclos reprodutivos dos Xenodontíneos da América do Sul é conservadora em muitas linhagens (Pizzatto et al. 2008b), podendo assim esperar que o ciclo de *T. hypoconia* fosse similar ao de outras espécies da mesma tribo (Bizerra et al. 2005, Pizzatto et al. 2008b, Oliveira et al. 2003, Bellini et al. 2013, 2014). Nesse caso, as características ecológicas das espécies que coexistem podem ser previstas com base na filogenia, independente da comunidade onde o indivíduo está inserido ou dos efeitos dos fatores ecológicos (Vitt e Pianka 2005, Colston et al. 2010).

O ciclo reprodutivo masculino foi contínuo, o que sugere que os machos não estocam espermatozoides, estando sempre aptos à reprodução (James e Shine 1985, Pizzatto e Marques 2006). A confiabilidade dessa inferência se relaciona ao fato de se tratarem de animais recentemente tombados, com pequena possibilidade de deformidades nos testículos, as quais interfeririam na interpretação de seu ciclo (Almeida-Santos et al. 2014). De qualquer forma, seria necessária uma análise histológica para detectar pequenas variações na produção de espermatozoides (Almeida-Santos et al. 2014). Apesar da potencialidade dos machos se reproduzirem o ano todo, o mesmo não ocorreu com as fêmeas, o que sugere haver uma única estação reprodutiva por ano. Essa hipótese é reforçada pelo fato de não ter sido registrado simultaneamente folículos secundários e embriões (Brown e Shine 2006, Pizzatto et al. 2008b). Por outro lado, a baixa proporção de fêmeas reprodutivas na estação reprodutiva indica que os ciclos reprodutivos sejam bianuais ou multianuais, o que é reforçado pela ocorrência simultânea de fêmeas prenhes e fêmeas maduras sem folículos secundários ou embriões (Bellini et al. 2013, 2014). A baixa proporção de fêmeas reprodutivas na estação reprodutiva também foi registrada para *T. hypoconia* por Bellini et al. (2013, 2014), que

obteve uma proporção reprodutiva nas fêmeas de 48%. A reprodução bianual ou multianual é consequência da necessidade de estocagem de gordura que as fêmeas apresentam entre os eventos reprodutivos (Shine 2003). A disponibilidade de alimentos e a estrutura da população são fatores que controlam a frequência reprodutiva (Aldridge 1979, Blem 1982, Diller e Wallace 1984), variando a proporção de fêmeas em condições reprodutivas de um ano para outro.

Apesar da população de *T. hypoconia* aqui estudada estar inserida em uma região de clima subtropical, caracterizado pelas baixas temperaturas, o sucesso reprodutivo dessa espécie considerada abundante na região (Santos et al. 2012) pode estar relacionado à viviparidade. A sazonalidade no ciclo reprodutivo das fêmeas reflete as mudanças térmicas ao longo do ano, no entanto, o ciclo reprodutivo dos machos carece ainda de análise histológica para confirmação da sua continuidade. Apesar de especulativo, é possível que o sucesso reprodutivo se deva a associação entre o ciclo contínuo dos machos e da viviparidade. Essas características poderiam aumentar a plasticidade reprodutiva da população pelo deslocamento do pico reprodutivo de modo a ajustar-se de acordo com os picos de temperatura do ambiente.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a ajuda de campo prestada por Daniela Selbach e Paulo Ellert e também ao suporte prestado pelos funcionários da Estação Ecológica do Taim durante o trabalho de campo. E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo suporte financeiro para realização desse estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHAVAL F E OLMOS A. 2003. Anfíbios y reptiles Del Uruguay. 2 ed., Graphis Impresora, Montevideo, Uruguay, 160 p.
- AGUIAR LFS E DI-BERNARDO M. 2005. Reproduction of the water snake *Helicops infrataeniatus* Jan, 1865 (Colubridae) in southern Brazil. *Amphib-reptil* 26: 527-533.
- ALDRIDGE RD. 1979. Female reproductive cycles of the snakes *Arizona elegans* and *Crotalus viridis*. *Herpetologica* 35: 256-261.
- ALMEIDA-SANTOS SM e SALOMÃO MG. 2002. Reproduction in neotropical pitvipers, with emphasis on species of the genus *Bothrops*. In: SCHUETT GW ET AL. (Eds), *Biology of the Vipers*. Eagle Mountain Publishing, Carmel, p. 445-462.
- ALMEIDA-SANTOS SM, PIZZATTO L E MARQUES OAV. 2006. Intra-sex synchrony and inter-sex coordination in the reproductive timing of the Atlantic coral snake *Micrurus corallinus* (Elapidae) in Brazil. *Herpetol J* 16: 371-376.
- ALMEIDA-SANTOS SM, BRAZ HB, SANTOS LC, SUEIRO LR, BARROS VA, ROJAS CA E KASPEROVICZUS KN. 2014. *Biologia reprodutiva de serpentes: recomendações para a coleta e análise de dados*. *Herpetologia Brasileira* 3: 14-24.
- BAILEY J. 1981. Notes on the genus *Thamnodynastes*. I Simpósio Internacional sobre Serpentes em Geral e Artrópodes Peçonhentos, Instituto Butantan, São Paulo: 31.
- BALESTRIN RL E DI-BERNARDO M. 2005. Reproductive biology of *Atractus reticulatus* (Boulenger, 1885) (Serpentes – Colubridae) in Southern Brazil. *Herpetol J* 15: 195-199.
- BARROS VA, SUEIRO LR E ALMEIDA-SANTOS SM. 2012. Reproductive biology of the neotropical rattlesnake *Crotalus durissus* from northeastern Brazil: a test of phylogenetic conservatism of reproductive patterns. *Herpetological Journal* 22: 97-104.

- BEGON M, HARPER JL E TOWNSEND CR. 1990. Ecology: Individuals, populations and communities. 2nd ed., Blackwell Scientific Publ. Massachusetts, 945 p.
- BELLINI GP, ARZAMENDIA V E GIRAUDO AR. 2013. Ecology of *Thamnodynastes hypoconia* in Subtropical–Temperate South America. *Herpetologica* 69: 67-79.
- BELLINI GP, GIRAUDO AR E ARZAMENDIA V. 2014. Comparative ecology of three species of *Thamnodynastes* (Serpentes, Dipsadidae) in subtropical-temperate South America. *Herpetological Journal* 24: 87-96.
- BIZERRA A, MARQUES OAV E SAZIMA I. 2005. Reproduction and feeding of colubrid snake *Tomodon dorsatus* from south-eastern Brazil. *Amphib-reptil* 26: 33-38.
- BLEM CR. 1982. Biennial reproduction in snakes: An alternative hypothesis. *Copeia* 1982: 961-963.
- BRAZ HB, KASPEROVICZUS KN E ALMEIDA-SANTOS SM. 2014. Reproductive ecology and diet of the fossorial snake *Phalotris lativittatus* in the Brazilian Cerrado. *Herpetol J* 24(1): 49-57.
- BROWN GP E SHINE R. 2006. Why do most tropical animals reproduce seasonally? Testing hypotheses on an Australian snake. *Ecology* 87: 133-43.
- CAMPBELL HW E CHRISTMAN SP. 1982. Field techniques for herpetofaunal community analysis. In: SCOTT-JR NJ (Ed), *Herpetological Communities: a Symposium of the Society for the Study of Amphibians and Reptiles and the Herpetologist's League*, U.S. Fish and Wildlife Service, Federal Government Series: Wildlife Research Report – 13, p. 193-200.
- CARREIRA S, MENEGHEK M E ACHAVAL F. 2005. Reptiles de Uruguay. DIRAC/Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay, p. 639.
- COLSTON TJ, COSTA GC E VITT LJ. 2010. Snake diets and the deep history hypothesis. *Biol J Linn Soc* 101: 476-486.

- CREWS D. 2000. Reply to Shine et al. (2000). *Anim Behav* 59: F12.
- DALTRY JC, ROSS T, THORPE RS E WUSTER W. 1998. Evidence that humidity influences snake activity patterns: A field study of the Malayan pit viper *Calloselasma rhodostoma*. *Ecography* 21: 25-34.
- DI-BERNARDO M, BORGES-MARTINS M, OLIVEIRA RB E PONTES GMF. 2007. Taxocenoses de serpentes de regiões temperadas do Brasil. In: NASCIMENTO LB E OLIVEIRA E. (Eds), *Herpetologia no Brasil II*, Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Herpetologia, p. 222- 263.
- DILLER LV E WALLACE R L. 1984. Reproductive biology of the northern Pacific rattlesnake (*Crotalus viridis oreganus*) in northern Idaho. *Herpetologica* 40: 182-193.
- DUVALL D, GUILLETTE JR. LJ E JONES RE. 1982. Environmental control of reptilian reproductive cycles. In: GANS C E POUGH H (Eds), *Biology of the Reptilia*, Academic Press: New York, p. 201-231.
- FITCH HS. 1980. Reproductive strategies of reptiles. In: MURPHY JB E COLLINS JT (Eds), *Reproductive biology and diseases of captive reptiles*, SSAR Contributions to Herpetology, p. 25-31.
- FITCH HS. 1982. Reproductive cycles in tropical reptiles. *Occasional papers of the Museum of Natural History, the University of Kansa*, 53 p.
- FITCH HS. 1987. Collecting and life-history techniques. In: SEIGEL RA ET AL. (Eds), *Snakes: Ecology and Evolutionary Biology*, McGraw-Hill Publishing Company, p. 143-164.
- FRANCO FL. 1999. Relações filogenéticas entre os gêneros da tribo Tachymenini Bailey, 1967 (Serpentes, Colubridae). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 252 p.

- GIRAUDO AR. 2001. Serpientes de la Selva Paranaense y del Chaco Húmedo. Buenos Aires, LOLA, 328 p.
- GOMES A, TRICART J E TRAUTMANN J. 1987. Estudos ecodinâmico da Estação Ecológica do Taim e seus arredores. Editora da Universidade, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, p. 84.
- GOMES CA E MARQUES OAV. 2012. Food habits, reproductive biology, and seasonal activity of the dipsadid snake, *Echianthera undulata* (Wied, 1824), from the Atlantic forest in southeastern Brazil. South American Journal of Herpetology 7: 233-240.
- GRAZZIOTIN FG, ZAHER H, MURPHY RW, SCROCCHI G, BENAVIDES MA, ZHANG Y E BONATTOH SL. 2012. Molecular phylogeny of the New World Dipsadidae (Serpentes: Colubroidea): A reappraisal. Cladistics 1: 1-23.
- GUDYNAS E. 1981. Confirmación de la viviparidad en la Culebra Sepia *Thamnodynastes strigilis* (Serpentes: Colubridae). Contribuciones en Biología del Centro Educativo Don Orión 5: 1-7.
- HARTMANN MT, HARTMANN PA, CECHIN SZ E MARTINS M. 2005. Feeding habits and habitat use in *Bothrops pubescens* (Viperidae, Crotalinae) from southern Brazil. J Herpetol 39: 664-667.
- HEYER WR, DONNELLY MA, MCDIARMID RW, HAYEK LC E FOSTER MS. 1994. Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians. Washington: Smithsonian Institution Press, p. 384.
- HOLYCROSS AT E GOLDBERG SR. 2001. Reproduction in northern populations of the Ridgenose Rattlesnake, *Crotalus willardi* (Serpentes: Viperidae). Copeia 2001: 473-481.

- HOUSTON DL E SHINE R. 1994. Movements and activity patterns of Arafura filesnakes (Serpentes: Acrochordidae) in tropical Australia. *Herpetologica* 50: 349-57.
- JAMES CE SHINE R. 1985. The seasonal timing of reproduction. A tropical temperate comparison in Australian lizards. *Oecologia* 67: 464-474.
- JOY JE E CREWS D. 1988. Male mating success in red-sided garter snakes: size is not important. *Anim Behav* 36: 1839-1841.
- KOVACH WL. 2004. Oriana for Windows, version 1.03. Kovach Computer Services, Pentraeth, Wales, U.K.
- LEITÃO-DE-ARAÚJO M. 1978. Notas sobre ovos de serpentes (Boidae, Colubridae, Elapidae e Viperidae). *Iheringia, Sér. Zool* 51: 9-37.
- LEITE PT, NUNES SF, KAEFER IL E CECHIN SZ. 2009. Reproductive biology of the Swamp Racer *Mastigodryas bifossatus* (Serpentes: Colubridae) in subtropical Brazil. *Zoologia* 26: 12-18.
- LUISELLI L. 1996a. Individual success in mating balls of the grass snake, *Natrix natrix*: size is important. *J Zool* 239: 731-740.
- LUISELLI L, CAPULA M E SHINE R. 1996b. Reproductive output, costs of reproduction, and ecology of the smooth snake, *Coronella austriaca*, in the eastern Italian Alps. *Oecologia* 106: 100-110.
- MADSEN T E SHINE R. 1993. Costs of reproduction in a population of European adders. *Oecologia* 94(4): 488-95.
- MADSEN T E SHINE R. 1994. Costs of reproduction influence the evolution of sexual size dimorphism in snakes. *Evolution* 48: 1389-1397.
- MALUF JRT. 2000. Nova classificação climática do Estado do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agrometeorologia* 8: 141-150.

- MARQUES OAV. 1996. Reproduction, seasonal activity and growth of the coral snake, *Micrurus corallinus* (Elapidae), in the southeastern Atlantic forest in Brazil. *Amphib-reptil* 17: 277-285.
- MARQUES OAV, ETEROVIC A E ENDO W. 2001. Seasonal activity of snakes in the Atlantic forest in southeastern Brazil. *Amphib-reptil* 22: 103-111.
- MARQUES OAV, KASPEROVICZUS KN E ALMEIDA-SANTOS SM. 2013. Reproductive ecology of the threatened pitviper *Bothrops insularis* from Queimada Grande Island, southeast Brazil. *J Herpetol* 47: 393-399.
- MASCHIO GF, PRUDENTE ALC E FEITOSA DT. 2007. Reproductive biology of *Anilius scytale* (Linnaeus, 1758) (Serpentes, Aniliidae) from Eastern Amazonia, Brazil. *South Am J Herpetol* 2: 179-183.
- MATHIES T. 2011. Reproductive cycles of tropical snakes. In: ALDRIDGE RD E SEVER DM (Eds), *Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes*. Enfield: Science Publishers, p. 511-550.
- MESQUITA PCMD, SÁ-POLIDORO GL E CECHIN SZ. 2013. Reproductive biology of *Philodryas olfersii* (Serpentes, Dipsadidae) in a subtropical region of Brazil. *Herpetological Journal* 23: 39-44.
- MUSHINSKY HR E HÉBRARD JJ. 1977. The use of time by sympatric water snakes. *Can J Zool* 55: 1545-1550.
- NELSON KJ E GREGORY PT. 2000. Activity patterns of garter snakes, *Thamnophis sirtalis*, in relation to weather conditions at a fish hatchery on Vancouver Island, British Columbia. *J Herpetol*. 34: 32-40.
- OLIVEIRA JL, BORGES M E MARQUES OAV. 2003. *Gomesophis brasiliensis*. Reproduction and Diet. *Herpetological Review* 34: 251.

- OLIVEIRA MCLM, SANTOS MB, LOEBMANN D, HARTMANN A E TOZETTI AM. 2013. Diversity and associations between coastal habitats and anurans in southernmost Brazil. *An Acad Bras Cienc* 85: 575-583.
- PINTO RR E FERNANDES R. 2004. Reproductive biology and diet of *Liophis poecilogyrus poecilogyrus* (Serpentes, Colubridae) from southeastern Brazil. *Phyllomedusa* 3: 9-14.
- PIZZATTO L. 2003. Reprodução de *Liophis miliaris* (Serpentes: Colubridae) no Brasil: influência histórica e variações geográficas. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 103 p.
- PIZZATTO L. 2005. Body size, reproductive biology and abundance of the rare pseudoboini snakes genera *Clelia* and *Boiruna* (Serpentes, Colubridae) in Brazil. *Phyllomedusa* 4: 111-122.
- PIZZATTO L E MARQUES OAV. 2002. Reproductive biology of the false coral snake *Oxyrhopus guibei* (Colubridae) from southeastern Brazil. *Amphib-reptil* 23: 495-504.
- PIZZATTO L E MARQUES OAV. 2006. Interpopulational variation in sexual dimorphism, reproductive output, and parasitism of the water snake *Liophis miliaris* (Colubridae), in the Atlantic forest of Brazil. *Amphib-reptil* 27: 37-46.
- PIZZATTO L, ALMEIDA-SANTOS SM E MARQUES OAV. 2007a. Biologia reprodutiva de serpentes brasileiras. In: NASCIMENTO LB E OLIVEIRA ME (Eds), *Herpetologia no Brasil II*, Sociedade Brasileira de Herpetologia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, p. 201-221.
- PIZZATTO L, ALMEIDA-SANTOS SM E SHINE R. 2007b. Life history adaptations to arboreality in snakes. *Ecology* 88: 359-366.

- PIZZATTO L, CANTOR M, LIMA DE OLIVEIRA J, MARQUES OAV, CAPOVILLA V E MARTINS M. 2008a. Reproductive ecology of Dipsadine snakes, with emphasis on South American species. *Herpetologica* 64: 168-179.
- PIZZATTO L, JORDÃO RS E MARQUES OAV. 2008b. Overview of reproductive strategies in Xenodontini (Serpentes: Colubridae: Xenodontinae) with new data for *Xenodon neuwiedii* and *Waglerophis merremii*. *J Herpetol* 42: 153-162.
- PLEGUEZUELOS JM E FERICHE M. 1999. Reproductive ecology of the horseshoe whip snake, *Coluber hippocrepis*, in the southeast of the Iberian Peninsula. *J Herpetol* 33: 202-207.
- PLUMMER MV. 1984. Female reproduction in an Arkansas population of rough green snakes (*Ophedrys aestivus*). IN: SEIGEL RA ET AL. (Eds), *Vertebrate Ecology and Systematics: A Tribute to Henry S. Fitch*. The University of Kansas, Natural History Museum Special Publication No. 10, p. 105-113.
- PONTES GMF E DI-BERBARDO M. 1988. Registros sobre aspectos reprodutivos de serpentes ovíparas neotropicais (Serpentes: Colubridae e Elapidae). *Comun Mus Ci PUCRS Sér Zoo* 1:123-149.
- ROJAS CA, BARROS VA E ALMEIDA-SANTOS SM. 2013. The reproductive cycle of the male sleep snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) from southeastern Brazil. *J Morphol* 274: 215-228.
- SAINT-GIRONS H. 1982. Reproductive cycles of male snakes and their relationships with climate and female reproductive cycles. *Herpetologica* 38: 5-16.
- SALOMÃO MG, ALMEIDA-SANTOS SM E PUERTO G. 1995. Activity pattern of *Crotalus durissus* (Viperidae, Crotalinae): feeding, reproduction and snake bite. *Stud Neotrop Fauna E* 30: 101-106.

- SANTOS MB, OLIVEIRA MCLM E TOZETTI AM. 2012. Diversity and habitat use by snakes and lizards in coastal environments of southernmost Brazil. *Biota Neotrop* 12: 78-87.
- SAWAYA RJ, MARQUES OAV E MARTINS M. 2008. Composition and natural history of a Cerrado snake assemblage at Itirapina, São Paulo State, southeastern Brazil. *Biota Neotrop* 8: 127-149.
- SCARTOZZONI RR E MARQUES OAV. 2004. Sexual dimorphism, reproductive cycle, and fecundity of the water snake *Ptychophis flavovirgatus* (Serpentes, Colubridae). *Phyllomedusa* 3: 69-71.
- SEIGEL RA E FORD NB. 1987. Reproductive ecology. In: SEIGEL RA ET AL. (Eds), *Snakes, Ecology and Evolutionary Biology*. McMillan Publishing Company, New York, USA, p. 210-252.
- SHINE R. 1977. Reproduction in Australian elapid snakes II. Female Reproductive Cycles. *Aust J Zool* 25: 655-666.
- SHINE R. 1978. Sexual size dimorphism and male combat in snakes. *Oecologia* 33: 269-278.
- SHINE R. 1980. Ecology of the Australian death adder, *Acanthophis antarcticus* (Elapidae): evidence for convergence with the Viperidae. *Herpetologica* 36: 281-289.
- SHINE R. 1985a. Reproductive biology of Australian reptiles: a search for general patterns. In: GRIGG GC ET AL. (Eds), *Biology of Australasian Frogs and Reptiles*, Royal Zoological Society of NSW, Sydney, p. 297-303.
- SHINE R. 1985b. The evolution of viviparity in reptiles: an ecological analysis. In: GANS C E BILLET F (Eds), *Biology of reptilian*, v.15. New York: Wiley, p. 605-694.
- SHINE R. 1988. Food habits and reproductive biology of small Australian snakes of the genera *Uroechis* and *Suta* (Elapidae). *J Herpetol* 22(3): 307-315.

- SHINE R. 1992. Relative clutch mass and body shape in lizards and snakes: Is reproductive investment constrained or optimized? *Evolution* 46: 828-833.
- SHINE R. 1993. Sexual dimorphism in snakes. In: SEIGEL RA E COLLINS JT (Eds), *Snakes: ecology and behavior*, New York, McGraw-Hill, p. 49-86.
- SHINE R. 1994. Sexual size dimorphism in snakes revisited. *Copeia* 1994: 326-346.
- SHINE R. 1995. A new hypothesis for evolution of viviparity in reptiles. *Amer Nat* 145: 809-823.
- SHINE R. 2003. Reproductive strategies in snakes. *Proc R Soc, B* 270: 995-1004.
- SHINE R, HARLOW PS, KEOGH JS E BOEADI. 1998. The allometry of life-history traits: insights from a study of giant snakes (*Python reticulatus*). *J Zool* 244: 405-414.
- SHINE R, OLSSON MM, MOORE IT, LEMASTER MP, GREENE M E MASON RT. 2000. Body size enhances mating success in male garter snakes. *Anim Behav* 59: F4-F11.
- SHINE R E BONNET X. 2009. Reproductive biology, population viability, and options for field management. In: MULLIN SJ E SEIGEL RA (Eds), *Snakes – Ecology and Conservation*, Cornell University Press, Ithaca, p. 172-200.
- SOUSA KRM, PRUDENTE ALC E MASCHIO GF. 2014. Reproduction and diet of *Imantodes cenchoa* (Dipsadidae: Dipsadinae) from the Brazilian Amazon. *Zoologia* 31: 8-19.
- SUN L, SHINE R, ZHAO D E TANG Z. 2000. Biotic and abiotic influences on activity patterns of insular pit-vipers (*Gloydius shedaoensis*, Viperidae) from northeastern China. *Biol Conserv* 97: 387-98.
- TINKLE DW E GIBBONS JW. 1977. The distribution and evolution of viviparity in reptiles. *Misc publ – Mus Zool, Univ Mich* 154: 1-55.

- TOZETTI AM, PONTES GMF, MARTINS MB E OLIVEIRA RB. 2010. Temperature preferences of *Xenodon dorbignyi*: field and experimental observations. *Herpetological Journal* 20: 277-280.
- TOZETTI AM E MARTINS M. 2013. Daily and seasonal activity patterns of free range South American rattlesnake (*Crotalus durissus*). *An Acad Bras Cienc* 85: 1047-1052.
- TOZETTI AM, VETORAZZO V E MARTINS M. 2009. Short-term movements of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus*) in southeastern Brazil. *Herpetological Journal* 19: 201-206.
- VALDUJO PH, NOGUEIRA C E MARTINS M. 2002. Ecology of Bothrops *neuwiedi paoloensis* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae) in the Brazilian Cerrado. *J Herpetol* 2: 169-176.
- VINEGAR A. 1974. Evolutionary implications of temperature induced anomalies of development on snake embryos. *Herpetologica* 30: 72-74.
- VITT LJ. 1983. Ecology of an anuran eating guild of terrestrial tropical snakes. *Herpetologica* 39: 52-66.
- VITT LJ E VANGILDER L. 1983. Ecology of a snake community in northeastern Brazil. *Amphib-reptil* 4: 273-296.
- VITT LJ E PIANKA ER. 2005. Deep history impacts present day ecology and biodiversity. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 7877-7881.
- WAECHTER JL. 1985. Aspectos ecológicos da vegetação de restinga no Rio Grande do Sul, Brasil. *Comun Mus Ci PUCRS Sér Bot* 33: 49-68.
- ZAHER H, GRAZZIOTIN FG, CADLE JE, MURPHY RTW, MOURA-LEITE JC E BONATO SL. 2009. Molecular phylogeny of advanced snakes (Serpentes, Caenophidia) with an emphasis on South American Xenodontines: A revised classification and descriptions of new taxa. *Pap Avulsos de Zool* 49: 115-153.

ZAR J. 1999. Biostatistical analysis. Upper Saddle River, New Jersey, Prentice Hall.

APÊNDICE 1

Espécimes examinados, tombados na Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Rio Grande (CHFURG) e Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP): MCP14243, CHFURG769, CHFURG770, CHFURG809, CHFURG870, CHFURG871, CHFURG898, CHFURG914, CHFURG1036, CHFURG1075, CHFURG1102, CHFURG1103, CHFURG1104, CHFURG1105, CHFURG1106, CHFURG1186, CHFURG1187, CHFURG1188, CHFURG1189, CHFURG1273, CHFURG1366, CHFURG1367, CHFURG1411, CHFURG1414, CHFURG1422, CHFURG1423, CHFURG1476, CHFURG1496, CHFURG1497, CHFURG1498, CHFURG1499, CHFURG1538, CHFURG1564, CHFURG1565, CHFURG1566, CHFURG1567, CHFURG1740, CHFURG1741, CHFURG1812, CHFURG1830, CHFURG1831, CHFURG1832, CHFURG1833, CHFURG1834, CHFURG1836, CHFURG1838, CHFURG1839, CHFURG1840, CHFURG1841, CHFURG1843, CHFURG1847, CHFURG1849, CHFURG1880, CHFURG1881, CHFURG1887, CHFURG1889, CHFURG1893, CHFURG1911, CHFURG1912, CHFURG1913, CHFURG1914, CHFURG1916, CHFURG1917, CHFURG1918, CHFURG1919, CHFURG1920, CHFURG1921, CHFURG1922, CHFURG1923, CHFURG1924, CHFURG1925, CHFURG1928, CHFURG1988, CHFURG1997, CHFURG2152, CHFURG2153, CHFURG2357, CHFURG2358, CHFURG2359, CHFURG2360, CHFURG2361, CHFURG2362, CHFURG2363, CHFURG2364, CHFURG2365, CHFURG2366, CHFURG2367, CHFURG2368, CHFURG2512, CHFURG2513, CHFURG2514, CHFURG2515,

CHFURG2516, CHFURG2517, CHFURG2518, CHFURG2519, CHFURG2520,
CHFURG2521, CHFURG2522, CHFURG2523, CHFURG2524.

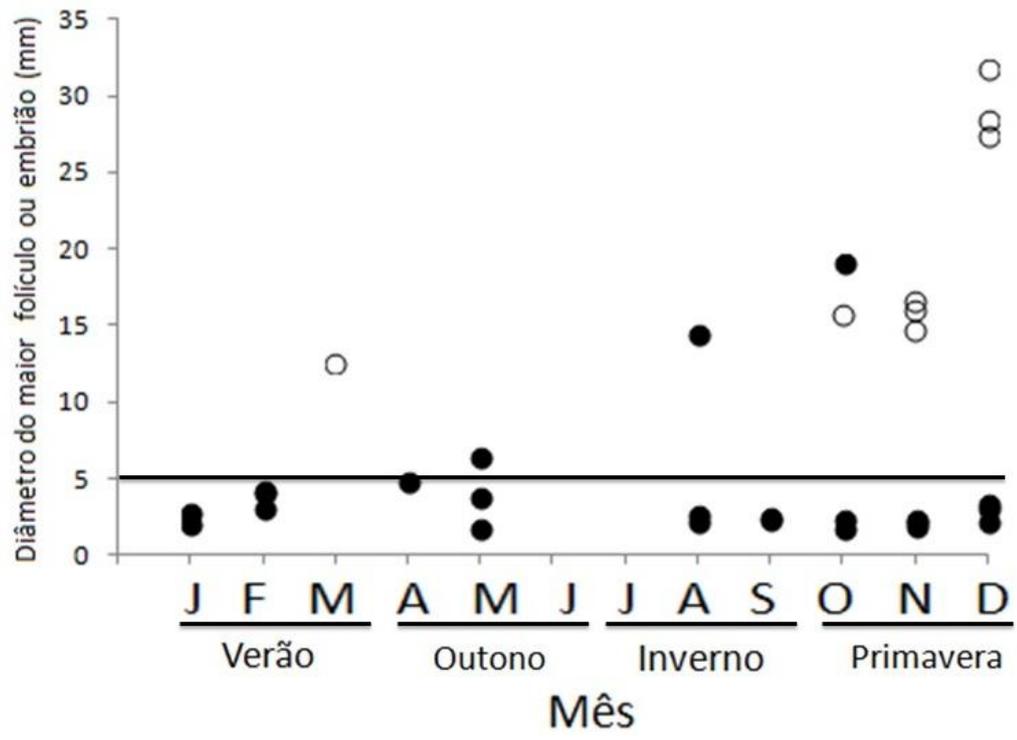


Fig. 1

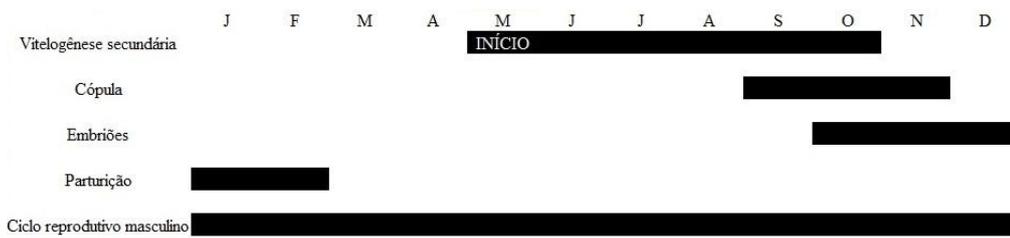


Fig. 2

Legenda das figuras:

Figura 1 - Variação sazonal no diâmetro do maior folículo ovariano e do maior embrião de *Thamnodynastes hypoconia*, no extremo sul do Brasil. Círculos preenchidos: folículo ovariano; círculos vazios: embrião. A linha horizontal indica o limite de tamanho entre folículos primários ($<5\text{mm}$) e secundários ($\geq 5\text{mm}$).

Figura 2 - Inferência das principais etapas do ciclo reprodutivo de *Thamnodynastes hypoconia* durante os meses do ano, no extremo sul do Brasil.

CAPÍTULO 2

O papel de fontes aquáticas na dieta da serpente terrestre *Thamnodynastes hypoconia* em banhados subtemperados do extremo sul brasileiro

Manuscrito a ser submetido à Revista *Hydrobiologia*.

Manuscrito

O papel de fontes aquáticas na dieta da serpente terrestre *Thamnodynastes hypoconia* em banhados subtemperados do extremo sul brasileiro

Marluci Müller Rebelato^{1*} & Alexandro Marques Tozetti²

¹Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande, Avenida Itália, Km 8, 96201-900 Rio Grande, RS, Brasil.

²Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Avenida Unisinos, 950, 93022-000 São Leopoldo, RS, Brasil.

*E-mail: mmrebelato@yahoo.com.br

Resumo

Esse estudo investigou a dieta de *Thamnodynastes hypoconia* em banhados subtemperados do extremo sul brasileiro pela análise de conteúdo estomacal e de isótopos estáveis. Foram analisadas serpentes precedentes de áreas úmidas do extremo sul brasileiro. Nesses habitats, também foram coletadas as presas potenciais e os produtores primários do ambiente aquático e terrestre para análise de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$). A análise de conteúdo estomacal mostrou uma dieta predominantemente anurófaga, exceto por um único lagarto. Hylidae foi a presa mais representativa, com predomínio de *Hypsiboas pulchellus*, seguida de Leptodactylidae, onde *Leptodactylus latrans* teve maior importância. As análises de isótopos estáveis corroboraram a importância dessas espécies na alimentação da serpente. Aparentemente, presas com maior biomassa como *L. latrans* ainda que consumidas em menor número do que outras representam papel importante para *T. hypoconia*. Apesar de ser uma serpente terrestre, *T. hypoconia* apresentou assinatura isotópica mais próxima das fontes primárias oriundas do ambiente aquático, o que indica a importância das áreas alagáveis para a subsistência de organismos terrestres de habitats adjacentes.

Palavras-chave: banhados, ciclos de alagamento, conteúdo estomacal, isótopos estáveis, subsídios

Introdução

O estudo da dieta é considerado fundamental para entender a autoecologia de uma espécie (Mushinsky, 1987; Begon et al., 1990; Verwajen & Van Damme, 2007), devido as associações entre as estratégias alimentares e as demais funções da vida do indivíduo (Shine, 1977; Gregory & Isaac, 2004; Hartmann & Marques, 2005). A maior contribuição de um organismo para o ecossistema é o seu papel no uso, armazenamento e transferência de matéria e energia entre os diferentes níveis tróficos dos quais ele participa (Lyons et al., 2005). Levando-se em conta a velocidade com que os habitats naturais vêm sendo modificados, o conhecimento da contribuição de diferentes sistemas na manutenção das tramas tróficas locais é fundamental para a tomada de decisões sobre o manejo dessas áreas.

Nesse contexto, os banhados são considerados áreas prioritárias para conservação, pois realizam importante função de regulação do escoamento das águas superficiais e subterrâneas dos corpos hídricos aos quais estão conectados, servindo como habitat para muitas espécies de animais (Ibama, 2000; Ramsar, 2006). A alta produtividade é uma das principais características dos banhados, que suportam teias alimentares altamente ramificadas. Essa produtividade subsidia uma enorme gama de serviços ecossistêmicos exercidos por esse ambiente (Sather & Smith, 1984). Nesses ecossistemas úmidos, a grande quantidade de detritos, nutrientes e sedimento rico em matéria orgânica é trocada entre o ambiente terrestre e o aquático através dos ciclos de alagamento (Polis et al., 1997). Adicionalmente, os ciclos de alagamento são responsáveis por controlar os picos de produtividade primária, que influenciam na oferta de recursos dos habitats associados às áreas alagáveis (Seigel et al., 1995; Welborn et al., 1996).

A frequência e a magnitude com que a energia é trocada entre os ecossistemas dependem de vários fatores (Turner, 1989; Dunning et al., 1992), incluindo o ingresso de organismos e matéria de ecossistemas adjacentes (Carpenter et al., 1998). Dessa forma, animais que se movem entre diferentes ecossistemas podem desempenhar um papel chave no transporte de nutrientes (Vanni, 2002), sendo considerados vetores bióticos (Oliveira et al., 2014). Muitos predadores terrestres são sustentados por presas de origem aquática (Jackson & Fisher, 1986; Polis & Hurd, 1995; Polis & Hurd, 1996; Rose & Polis, 1997), sendo crucial essa exportação de material entre os ambientes, subsidiando os predadores terrestres que podem ter a sua abundância, territorialidade, comportamento alimentar e o sucesso reprodutivo afetados (Jackson & Fisher, 1986; Rose & Polis, 1997).

Estudos clássicos avaliaram, por exemplo, as relações entre a estruturação de comunidades de anfíbios e répteis em áreas úmidas que secam periodicamente (banhados temporários) (Gibbons et al., 2006), sendo elas também bons modelos para os estudos das tramas tróficas que investigam a origem dos nutrientes assimilados nesses animais (Willson et al., 2010). No entanto, a interpretação das tramas tróficas desses sistemas depende da existência de informações que vão além da lista de itens consumidos. São poucos os estudos que incluem análises quantitativas da dieta, bem como uma visão mais ampla da trama trófica em que a espécie está inserida, em especial no que se refere às serpentes (i.e. Willson et al., 2010; Rush et al., 2014).

Tradicionalmente os dados sobre a dieta de serpentes são obtidos pela análise do conteúdo estomacal (ACE) (Fitch, 1987). Todavia, esse método apresenta algumas limitações, por refletir apenas a ingestão recente (Layman et al., 2012), por favorecer a detecção de presas que são digeridas mais lentamente (Hobson et al., 1994; Bearhop et al., 1999) e por não discriminar a ingestão intencional da involuntária (e.g. fragmentos

vegetais, detritos). Parte dessas limitações pode ser suprida pela análise de isótopos estáveis (AIE), que permite traçar a troca de matéria e energia entre os ecossistemas e teias tróficas (Schindler & Lubetkin, 2004), integrando organismos, espaço e tempo (Layman et al., 2012). A análise de isótopos estáveis tem a vantagem de fornecer dados independentemente da existência de conteúdo no estômago do exemplar estudado (Tieszen et al., 1979), além de fornecer uma avaliação pretérita da dieta. Dessa maneira, a combinação dos métodos de análise de conteúdo estomacal e análise de isótopos estáveis pode fornecer maior resolução e capacidade de entendimento da ecologia trófica (Post, 2002; Winemiller et al., 2007; Martinelli et al., 2009). Vale enfatizar o caráter inédito dessa abordagem quanto às serpentes, uma vez que a análise de isótopos estáveis foi utilizada para descrever a dieta de apenas algumas espécies (Willson et al., 2010; Brischoux et al., 2011; Brischoux & Lillywhite, 2013; Rush et al., 2014).

Os banhados subtemperados do sul do Brasil não apresentam riqueza de espécies de serpentes tão elevadas quanto a sua porção tropical, como campos, savanas e florestas. Todavia, sua taxocenose abriga uma notável dominância de determinadas espécies de ectotérmicos, o que vem sendo sugerido como o resultado de uma pressão seletiva de um filtro abiótico intenso (Santos et al., 2012; Oliveira et al., 2013). Dentre esses filtros abióticos destacam-se o inverno relativamente rigoroso para os padrões tropicais, com temperaturas mínimas frequentemente próximas a zero e a alternância imprevisível entre ciclos de cheias e secas dos banhados (Oliveira et al., 2013; Martins et al., 2014).

Uma das espécies de serpente mais abundante nessa região é *Thamnodynastes hypoconia* (Cope 1860). Trata-se de uma serpente de porte pequeno, pertencente à tribo Tachymenini (Zaher et al., 2009; Graziotin et al., 2012) e que ocorre no nordeste, centro-oeste, sudeste e sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina (Franco, 1999;

Giraud, 2001). Apesar das informações serem escassas, a espécie apresenta hábito semi-arborícola e apesar de ser terrestre, é frequentemente registrada em ambientes úmidos ou alagadiços (Carreira et al., 2005; Sawaya et al., 2008; Araujo et al., 2010). Quanto à preferência alimentar, sabe-se que *T. hypoconia* pode alimentar-se de anuros e suas larvas, peixes e lagartos (Zanella & Cechin, 2006; Sawaya et al., 2008; Araujo et al., 2010; Maffei et al., 2011; Moya & Maffei, 2012). Apesar de consumir eventualmente presas aquáticas, trabalhos detalhados mostram que a espécie é anurófaga, predando até mesmo lagartos ocasionalmente (Bellini et al., 2013; 2014; Dorigo et al., 2014). Visto que *T. hypoconia* é uma espécie que vive na interface ambiente alagado-terrestre, ela pode representar um papel fundamental no fluxo de energia entre os ambientes aquáticos e terrestres (Kupfer et al., 2006), sendo um vetor de matéria e energia entre esses sistemas. Se correta essa hipótese, sua ecologia trófica pode depender da disponibilidade de recursos em sistemas adjacentes ao que ela usa diretamente (veja Willson et al., 2010). Descrever *T. hypoconia* (ou quaisquer outras espécies) como anurófaga não é suficiente para avaliar seu nível de dependência quanto a outros integrantes que estão na base da sua cadeia trófica. Nesse sentido, aplicamos a análise de isótopos estáveis (AIE) de modo a mapear o papel dos habitats terrestres e aquáticos na dieta de *T. hypoconia* como uma forma inicial de compreender o fluxo de nutrientes entre esta serpente e suas presas entre esses dois sistemas. Vale lembrar que os ambientes úmidos subtemperados do extremo sul brasileiro têm grande potencial para investigação da ecologia trófica dessa espécie, devido a grande dinâmica dos banhados.

Material e métodos

Área de estudo e espécimes

Para o estudo foram avaliados exemplares procedentes de banhados do extremo sul brasileiro, particularmente do município de Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil ($32^{\circ}02'06''\text{S}$ e $52^{\circ}05'56''\text{O}$). O estudo foi desenvolvido através da análise de conteúdo estomacal (ACE) e análise de isótopos estáveis (AIE). Para a ACE foram examinados espécimes de *T. hypoconia* coletados na Estação Ecológica do Taim (ESEC Taim), situada no município de Rio Grande extremo sul do Brasil ($32^{\circ}50'\text{S}$ e $52^{\circ}26'\text{O}$). Uma vez que é comum haver uma grande porcentagem de exemplares com estômagos vazios, dados adicionais foram obtidos a partir de exemplares tombados nas Coleções Herpetológicas da Universidade Federal do Rio Grande (CHFURG) e do Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP) (Apêndice 1), procedentes da mesma região das coletas. A avaliação pela AIE foi feita exclusivamente com exemplares coletados para esse estudo, na ESEC Taim. A região de procedência de todos os exemplares usados no estudo caracteriza-se pelo predomínio de áreas úmidas (e.g. complexos de lagoas e banhados) associadas a campos naturais em que árvores são praticamente inexistentes (Waechter, 1985). A relativa homogeneidade da paisagem é afetada principalmente pelos ciclos de cheia, quando o banhado se torna totalmente inundado (Gomes et al., 1987). O clima da região é subtemperado úmido, com temperatura anual média de $18,1^{\circ}\text{C}$ (Maluf, 2000). As estações do ano são bem definidas, podendo apresentar períodos de seca na primavera e a precipitação pluvial anual média é de 1162 mm (Maluf, 2000). Apesar da relativa homogeneidade da distribuição das chuvas, o período de cheia costuma concentrar-se entre junho e agosto.

As coletas na ESEC Taim ocorreram entre abril de 2012 e março de 2013, sendo realizadas pelo método de procura visual (Campbell & Christman, 1982). As serpentes

foram coletadas sob autorizações do SISBio (nº 32620-1 e 37410-1), eutanasiadas com o uso de anestésico barbitúrico, fixadas em solução de formol a 10% e conservadas em álcool 70% (Heyer et al., 1994), antes da avaliação da sua dieta.

Avaliação da dieta pela análise de conteúdo estomacal

Para análise de conteúdo estomacal (ACE) as serpentes foram dissecadas via incisão ventral na altura do estômago. Os itens alimentares encontrados no estômago foram removidos, acondicionados em frascos e conservados em álcool 70%. Para cada serpente, sempre que possível, foram registradas as seguintes variáveis: (1) presença ou ausência de conteúdo estomacal e (2) número de itens alimentares (Shine, 1977; López & Giraudo, 2008). Presas encontradas íntegras ou parcialmente digeridas foram medidas quanto ao comprimento total (CT em mm), massa corpórea (MC em g) e volume (V em mm³). Para medição do CT utilizou-se paquímetro digital (precisão de 0,1 mm) e para obtenção da MC utilizou-se balança de precisão (0,1 g). O volume (V) dos itens alimentares foi obtido através do deslocamento da coluna de água, utilizando-se proveta graduada (0,1 ml) e seringa graduada (0,01 ml) (veja Borba et al., 2008; Cunha, 2013).

Na identificação das presas utilizou-se lupa estereoscópica e consultas de especialista, sempre que possível identificando os exemplares até o menor nível taxonômico. Os vestígios de insetos (e.g. élitros) foram considerados itens secundários, resultado da dieta dos anfíbios anuros (Martins et al., 2002; López & Giraudo, 2008).

Avaliação da dieta pela análise de isótopos estáveis

A avaliação das fontes autotróficas e de presas aquáticas e terrestres na dieta de *T. hypoconia* foi feita por meio da análise de isótopos estáveis (AIE). Esta foi feita pela avaliação das proporções de carbono (¹³C/¹²C) e nitrogênio (¹⁴N/¹⁵N) incorporados no

tecido muscular das serpentes, das presas e nas fontes autotróficas. Para a AIE foram utilizados apenas os exemplares coletados na ESEC Taim em amostragens realizadas no pico de atividade da serpente, entre outubro e novembro de 2012.

Para mapear a trama trófica em que a serpente está inserida foram coletadas amostras de fontes primárias (plantas) associadas aos ambientes aquático e terrestre, assim como amostras das presas potenciais para a serpente (anfíbios anuros) e da serpente estudada (*T. hypoconia*). A definição das espécies incluídas nessa amostragem foi feita com base nos organismos mais abundantes (plantas) em cada ambiente e que tenham maior potencial de contribuir na cadeia alimentar da serpente (veja Garcia et al., 2007). No caso dos anfíbios, por exemplo, levou-se em consideração além das espécies registradas em estudo piloto de ACE de *T. hypoconia*, também aquelas com diferentes níveis de associação ao ambiente aquático e terrestre. Além disso, foram consideradas espécies de plantas e anuros com sinal isotópico distinto entre si para potencializar a detecção da contribuição de cada uma delas no sinal isotópico da serpente, a partir da análise isotópica de diversas espécies em um estudo piloto. Adicionalmente, para aumentar o poder de distinção dos sinais isotópicos de origem terrestre e aquática foram coletadas plantas com diferentes vias fotossintéticas: C3 (Ciclo de Calvin) e C4 (Hatch-Slack) associadas a ambientes aquáticos e terrestres, respectivamente. Foram coletadas as seguintes plantas com via fotossintética C3: *Eichhornia azurea* (Sw.) Kunth, *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. e *Schoenoplectus californicus* (C.A. Mey.) Soják. Como representantes com via fotossintética C4 foram coletadas gramíneas (*Axonopus* sp.). As plantas foram coletadas com auxílio de tesoura de poda ou faca, sempre em triplicata, sendo armazenadas em saco plástico *Ziplock* e preservadas no gelo até o processamento. Também foram coletadas amostras de material em suspensão (POM = Seston

compreendendo organismos fitoplanctônicos e material orgânico particulado na coluna d'água) no ambiente aquático. O POM foi obtido utilizando-se uma bomba de sucção manual, a qual serviu para filtrar o material suspenso na água, sendo coletado em triplicata. Este material ficou retido em um filtro de fibra de vidro (0,75 µm), o qual foi armazenado em saco plástico *Ziplock* e preservado no gelo até o processamento.

Como presas em potencial foram selecionadas os seguintes anfíbios: *Dendropsophus sanborni* (Schmidt, 1944), *Hypsiboas pulchellus* (Duméril & Bibron, 1841), *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815), *Physalaemus gracilis* (Boulenger, 1883) e *Scinax squalirostris* (A. Lutz, 1925). As amostras de tecido muscular do predador e das presas foram obtidas a partir de quatro a cinco exemplares adultos de anuros e da serpente. A coleta das fontes primárias, presas potenciais e serpentes foram feitas simultaneamente e nos mesmos pontos amostrais da ESEC Taim. Após a captura, os animais foram transferidos ao laboratório eutanasiados com o uso de anestésico barbitúrico e assim como o restante do material, foram armazenados em freezer até o processamento (Jardine et al., 2003; Garcia et al., 2007; Hoeninghaus et al., 2011).

Protocolo para processamento e análise de isótopos estáveis

Depois de serem descongeladas, cada amostra animal e vegetal foi cuidadosamente inspecionada para remoção de qualquer material aderido a amostra antes da extração de tecido (folhas dos produtores primários e tecido muscular das serpentes e dos anfíbios) em frações de aproximadamente 5g. Após a retirada de tecido muscular das serpentes, estas foram fixadas e tombadas na CHFURG, para posterior ACE. Cada amostra foi lavada em água destilada, colocada individualmente em placa de Petri (previamente esterilizada em solução de 10% HCl por 24 horas) e levada a estufa (60°C) por 48 horas. Após serem retiradas da estufa, as amostras foram maceradas

(pistilo e grau) e sub-amostras desse material foram acondicionadas em cápsulas de estanho ultra-puras (5x9 mm, Costech®) pesadas e enviadas ao *Analytical Chemistry Laboratory of the Institute of Ecology, University of Georgia* EUA, para determinação da razão isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) através de espectrômetro de massa. As razões isotópicas das amostras foram expressas em notação delta: $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] * 1000$, onde $R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$ ou ${}^{14}\text{N}/{}^{15}\text{N}$ (Peterson e Fry, 1987; Post, 2002). O material padrão internacional para o carbono foi *Pee Dee Belemnite* (PDB) e para o nitrogênio foi o nitrogênio atmosférico (N_2). Amostras de padrões internos do laboratório, calibrados de acordo com o valor dos padrões internacionais, foram usadas a cada 12 amostras. O desvio padrão dessas amostras indica o grau de precisão das análises, que foi de $\pm 0,11$ para $\delta^{15}\text{N}$ e $\pm 0,15$ para $\delta^{13}\text{C}$.

Análise dos dados

Avaliação da dieta pela ACE

Para a análise da dieta foram calculados o número de itens alimentares (N), a frequência de ocorrência (FO) e a frequência relativa (FR) de cada categoria de presa encontrada nos estômagos. A frequência de ocorrência foi determinada pelo cálculo do número de estômagos com um determinado item alimentar, dividido pelo número total de estômagos analisados e posteriormente multiplicado por 100, para expressar porcentagem. A frequência relativa foi obtida pelo cálculo do número de ocorrência de cada item dividido pela soma das ocorrências de todos os itens (Krebs, 1999). Como a maioria das presas estava parcialmente digerida, sua biomassa foi estimada com base na biomassa média obtida de cinco exemplares de cada espécie de presa (anuros) tombados em coleção (CHFURG) e capturados na mesma localidade (veja Rodriguez-Robles & Greene, 1999; Souza et al. 2014). A biomassa ingerida (BI) foi calculada através da

multiplicação do número de presas ingeridas pela biomassa média estimada para cada presa (Emmons, 1987; Motta-Junior et al., 2002). A porcentagem da biomassa ingerida (%BI) foi determinada pelo cálculo da biomassa ingerida de cada categoria de presas, dividido pela biomassa ingerida total e multiplicado por 100, para expressar porcentagem.

A importância de cada presa na dieta foi avaliada pelo Índice de Importância Relativa (IIR), de acordo com a seguinte fórmula: $IIR_t = (PO_t) * (PI_t + PV_t)$, no qual PO_t é a porcentagem de ocorrência ($100 * N^\circ$ de estômagos contendo “t” item/ total N° de estômagos), PI_t é a porcentagem de indivíduos ($100 * N^\circ$ total de indivíduos de “t” em todos os estômagos/ N° total de indivíduos de todos os táxons em todos os estômagos) e PV_t é a porcentagem de volume ($100 * \text{volume total de indivíduos de “t” itens em todos os estômagos/ volume total de todos os itens em todos os estômagos}$) (Krebs, 1999; Maneyro et al., 2004; Leite et al., 2007). Quanto maior o valor de IIR, maior a importância de cada presa na dieta. A porcentagem do Índice de Importância Relativa (%IIR) foi determinada pelo cálculo do IIR de cada categoria de presas, dividido pelo IIR total e multiplicado por 100, para expressar porcentagem.

A amplitude do nicho trófico foi calculada para a espécie e depois separadamente para machos e fêmeas, por meio do Índice de Amplitude do Nicho Trófico de Levins (B) (Krebs, 1999), de acordo com a seguinte fórmula: $B = 1/\sum p^2$, onde B é a amplitude do nicho trófico, i é a categoria do item consumido (táxon) e p é a proporção do item i consumido (veja Teixeira, 2012). Esse índice permite medir a amplitude ou “diversidade” da dieta considerando, sobretudo, a distribuição quantitativa de cada presa. Considerando que o Índice de Levins (B) varia entre 1 até n , para permitir comparações diretas foi calculado o Índice Padronizado de Levins (B_{sta}), que limita o índice a uma escala de 0 a 1 de acordo com a seguinte equação: $B_{sta} = (B-1) /$

(n-1), onde n representa o número de recursos (espécies de presas) registrados. Valores próximos de 0 são atribuídos à dieta especialista, enquanto que os próximos de 1 para uma dieta generalista. A padronização permite uma melhor interpretação, comparação e compreensão dos dados, uma vez que a principal vantagem da forma padronizada é que não é influenciada pelo número total de categorias de presas, que pode estar relacionado ao tamanho da amostra (Krebs, 1999). A sobreposição de nicho trófico entre machos e fêmeas foi calculada através do Índice de Pianka (ϕ_{ij}), utilizando a fórmula simétrica de

$$\phi_{ij} = \frac{\sum_{i=1}^n P_{ij}P_{ik}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n P_{ij}^2 \sum_{i=1}^n P_{ik}^2}}$$

sobreposição (Pianka, 1986): , onde P_i é a porcentagem numérica de cada categoria, n é o número de categorias e j e k são os grupos sendo comparados (Parker & Pianka, 1973). A sobreposição varia de 0 (nenhuma sobreposição) a 1 (sobreposição total) (veja Teixeira, 2012). Os valores de sobreposição de nicho trófico foram considerados altos (>0,6), intermediários (0,4 – 0,6) ou baixos (<0,4) (Grossman, 1986).

Para avaliar possíveis variações sazonais na dieta, os meses amostrados foram classificados como estação quente (primavera/verão; outubro a março) ou estação fria (outono/inverno; abril a setembro), dessa forma, as diferenças sazonais foram testadas com Qui-Quadrado de tendência (χ^2). O nível de significância foi de 95% ou $p = 0,05$. Também foi analisada a diferença na composição de espécies encontradas nos estômagos entre a estação quente e fria.

Avaliação da dieta pela AIE

As variações nos valores médios ($\pm DP$) das razões isotópicas ($\delta^{15}N$ e $\delta^{13}C$) das principais fontes orgânicas de carbono (plantas C3 aquáticas, C4 terrestres, POM e anfíbios anuros) e da serpente foram comparadas visualmente através de ‘*biplots*’, onde

as posições relativas das fontes de carbono orgânico assimiladas pelo consumidor (serpente) foram indicadas no eixo X e a posição relativa do nível trófico foi indicada no eixo Y (Fry, 2006; Garcia et al., 2007; Oliveira et al., 2014).

Para determinar a contribuição de cada grupo de presas na dieta da serpente foram gerados modelos de mistura bayesianos em R (SIAR, versão 3.0.1) (Parnell et al., 2010, R Development Core Team 2012). Presas com valores isotópicos semelhantes e/ou representativas de guildas semelhantes foram agrupadas, conforme Phillips & Gregg (2003). Nesse caso, agrupamos as espécies de anfíbios *D. sanborni*, *S. squalirostris* e *P. gracilis* para obter melhor resolução no modelo de mistura, devido a semelhança do sinal isotópico. Agrupamos também as fontes alimentares basais do ambiente aquático, as plantas com via fotossintética C3 *E. azurea*, *E. crassipes*, *M. aquaticum* e *S. californicus*, juntamente com o POM.

Os sinais isotópicos de nitrogênio foram usados para determinar a posição trófica (PT) de *T. hypoconia* na cadeia alimentar, a qual foi estimada a partir da equação $PT = \lambda + (\delta^{15}N_{predador} - \delta^{15}N_{presa})/F$, onde λ é o nível trófico dos consumidores que estimam a base da teia alimentar (sendo $\lambda = 1$ na análise utilizando os anfíbios como fonte e $\lambda = 2$ utilizando os produtores primários + POM como fonte), $\delta^{15}N_{predador}$ é a assinatura de nitrogênio do consumidor sendo avaliado e F é o fracionamento de nitrogênio por nível trófico (Post, 2002). Apesar do valor de fracionamento isotópico utilizado ser $\Delta^{15}N = 2,54 \pm 0,11\%$, de acordo com a literatura (Vanderklift & Ponsard, 2003), aqui foi utilizado um fracionamento isotópico de $\Delta^{15}N = 1,50 \pm 0,11\%$, pois este se ajustou melhor aos dados.

Resultados

Dieta (ACE)

Foram analisados 100 exemplares de *T. hypoconia* (45 capturadas por procura visual e 55 procedentes de coleções), sendo que 37 apresentaram algum conteúdo estomacal. Ao todo foram identificados 47 itens alimentares, sendo todos de anuros, com a exceção de um único registro de lagarto (*Cercosaura schreibersii*; Tab. 1). Houve predomínio de hilídeos (Hylidae) na dieta, os quais representaram (72,33% das presas consumidas; Tab. 1). A presa com maior frequência de ocorrência (FO) no conteúdo estomacal foi *Hypsiboas pulchellus* (34,04%), seguido por hilídeos não identificados (23,40%), *Dendropsophus sanborni* (8,50%) e *Leptodactylus* sp. (6,37%), enquanto que nenhuma das demais espécies identificadas apresentou FO superior a 4,26% (Tab. 1). Alguns hilídeos pequenos não puderam ser identificados no nível específico devido ao seu elevado grau de digestão, o que elevou o valor da FO e da frequência relativa (FR) para essa categoria. Os hilídeos representaram as presas mais significativas também em termos de biomassa ingerida (BI), representando 53,68% da biomassa ingerida total de presas, das quais 34,90% corresponderam apenas a *H. pulchellus* (Tab. 1). Esse valor foi próximo do valor registrado para a segunda família mais importante em termo de BI (Leptodactilydae), que totalizou 37,24% da biomassa de presas ingerida.

O Índice de Importância Relativa (IIR) reforçou a importância de *H. pulchellus* na dieta de *T. hypoconia* (IIR = 792,78), valor este superior aos das outras duas categorias mais importantes, a de hilídeos não identificados (IIR = 332,83) e *L. latrans* (IIR = 108,45). O Índice de Levins (B) para amplitude de nicho trófico da espécie foi de 5,22, enquanto o índice padronizado (B_{sta}) foi de 0,35, indicando uma desigualdade na utilização de alguns itens alimentares. Os machos apresentaram valores maiores de B

(5,83) e de B_{sta} (0,60) do que as fêmeas ($B = 3,70$; $B_{sta} = 0,45$). De acordo com a classificação de Grossman (1986), a sobreposição de nicho trófico (\emptyset_{ij}) entre os sexos foi alta e correspondeu a 0,84 (84%).

O maior número de exemplares contendo presas no estômago foi verificado nos meses de primavera/verão (54 serpentes analisadas; 30,43% ($n = 23$) com conteúdo), enquanto no outono/inverno o número encontrado foi menor (46 serpentes analisadas; 42,59% ($n = 14$) com conteúdo), no entanto essa diferença não foi significativa ($\chi^2 = 6,23$; $p = 0,18$). As diferenças na depleção do conteúdo estomacal entre as estações também não variaram significativamente para as fêmeas ($\chi^2 = 1,82$; $p = 0,60$) e tão pouco para os machos ($\chi^2 = 5,83$; $p = 0,21$).

Aparentemente existe uma variação sazonal na composição da dieta de *T. hypoconia*. Nos meses de outono e inverno há uma tendência de que as espécies sejam predadas em proporções similares, enquanto que na primavera e verão há um predomínio de *H. pulchellus* (Tab. 1). Por outro lado, as espécies de *Leptodactylus* foram predadas exclusivamente no outono e inverno (Tab. 1).

Isótopos estáveis (AIE)

Foram analisadas 21 amostras de fontes basais (cinco espécies de vegetais e POM), 22 amostras de presas (cinco espécies de anfíbios) e quatro amostras do predador (serpente; Tab. 2). A variação nos valores médios das razões isotópicas do carbono ($\delta^{13}C$) das fontes autotróficas + POM foi de aproximadamente 13‰ sendo cerca de 13 vezes maior do que a de $\delta^{15}N$ (1‰; Tab. 2). As plantas aquáticas (*Eichhornia azurea*, *E. crassipes*, *Myriophyllum aquaticum*, *Schoenoplectus californicus*) e POM tiveram valores de $\delta^{13}C$ cerca de três vezes menores (-29,98 a -27,25‰) que a terrestre (*Axonopus* sp.; -12,41‰; Tab. 2). As variações quanto aos

valores de $\delta^{15}\text{N}$ das plantas aquáticas foram inferiores a 1‰ (Tab. 2). A variação na razão isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ também foi maior do que a de $\delta^{15}\text{N}$ para os anuros (5‰ e 1‰, respectivamente).

Não houve diferença significativa nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre o tecido dos quatro indivíduos de *T. hypoconia* analisados ($H = 3$; $p = 0,39$), tampouco no valor de $\delta^{13}\text{C}$ ($H = 3$; $p = 0,39$). Pode-se observar no *biplot* (Fig. 1.A) e na tabela 2 que as espécies de anuros cujos valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ mais se aproximaram da serpente (-24,04‰) foram *L. latrans* (-24,36‰) e *H. pulchellus* (-25,03‰), seguido pelo grupo formado por *D. sanborni* + *S. squalirostris* + *P. gracilis* (-20,91‰). Na figura 2.A e tabela 2 é possível observar uma maior proximidade entre os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ das plantas C3 aquáticas + POM (-28,90‰) e o da serpente avaliada (-24,04‰). Ao contrário, as plantas C4 terrestres apresentaram valor médio de $\delta^{13}\text{C}$ (-12,41‰), distante do sinal isotópico das serpentes.

Os resultados mostraram uma maior contribuição de *H. pulchellus*, apresentando intervalos de credibilidade (IC 95%) de 0,19% a 0,69%; Fig. 1.B). O modelo de mistura formado por *D. sanborni* + *S. squalirostris* + *P. gracilis* apresentou IC de 0,007% a 0,53%, semelhante ao IC de 0,015% a 0,52% para *L. latrans* (Fig. 1.B). Com relação a contribuição das fontes alimentares basais, os produtores primários do ambiente aquático (plantas C3 + POM) e do ambiente terrestre (plantas C4), o IC (95%) foi de 0,6% a 0,88% e 0,12% a 0,4%, respectivamente (Fig. 2.B). Dessa forma, observa-se que a dieta de *T. hypoconia* é fortemente sustentada pelas fontes alimentares basais do ambiente aquático.

Discussão

Apesar de *Thamnodynates hypoconia* poder alimentar-se de anuros e suas larvas, peixes e lagartos (Miranda et al., 1983; Cei et al., 1992; Cei, 1993; Achaval & Olmos, 2003; Sawaya et al., 2008; Araujo et al., 2010; Maffei et al., 2011; Moya & Maffei, 2012), estudos mais detalhados indicam uma dieta predominantemente composta de anuros (Carreira, 2002; Sawaya et al., 2008; Bellini et al., 2013; 2014; Dorigo et al., 2014). O consumo de anuros parece ser vantajoso, pois além de abundantes na maioria dos habitats, os anfíbios oferecem pouco risco de retaliação, daí a irradiação desse hábito alimentar entre muitas serpentes sul americanas (Vitt & Vangilder, 1983; Duellman, 1990; Strüssmann & Sazima, 1993; Martins et al., 2002). O consumo predominante de anuros é comum entre as quatro espécies de *Thamnodynastes* registradas para a região de clima subtropical-temperado da América do Sul (Giraud, 2001; Bailey et al., 2005; Bellini et al., 2013; 2014), o que era esperado em função de sua história filogenética comum (Grazziotin et al., 2012). Além disso, eventuais ingestões de mamíferos são restritas a *T. strigatus*, provavelmente em função de seu porte maior (Bellini et al., 2014).

A composição da dieta também pode refletir diferentes aspectos do hábito de forrageio, o que justificaria a predação predominante de anuros terrestres (Leptodactylidae e Bufonidae) por *T. chaquensis*, a espécie menos aquática das três (Bellini et al., 2014). Por sua vez, observamos que *T. hypoconia*, a com menor tamanho corporal e mais delgada de todas, preda predominantemente hilídeos, os quais constituem uma das maiores biomassa de anuros dos banhados subtropicais (veja Bellini et al., 2014). Com isso é reforçada a importância das áreas úmidas como base da cadeia alimentar de *T. hypoconia*, que mesmo sendo uma espécie terrestre tem associação direta com o ambiente aquático (Arzamendia & Giraud, 2009). Em nosso estudo, todos

os exemplares de *T. hypoconia* capturados durante a procura visual se encontravam sobre arbustos, que consistiam no principal substrato utilizado pelos hilídeos mais consumidos pela serpente (Cardoso et al., 1989; Kwet & Di-Bernardo, 1999). Isso sugere uma tática de forrageio direcionada para captura dessas presas. Essa hipótese é reforçada pelo fato de que as espécies mais terrestres como leptodactílídeos e *P. gracilis* (Kwet e Di-Bernardo, 1999; Langone, 1994; Achaval e Olmos, 2003) tiveram uma importância secundária na sua dieta. A avaliação mais refinada da contribuição de diferentes famílias de anuros na dieta de *T. hypoconia* pode indicar não só aspectos de seu forrageamento, mas também vantagens energéticas em seu consumo. Em termos de biomassa ingerida (BI), *H. pulchellus* e leptodactílídeos constituíram as maiores porcentagens dentre as presas consumidas. A maior massa corporal de *L. latrans* elevou sua importância em termos de biomassa, mesmo sendo predado com menor frequência do que os hilídeos. Em termos energéticos, a ingestão de um pequeno número de presas maiores seria mais vantajosa do que um grande número de presas pequenas (Schoener, 1971; Shine, 1977).

A porcentagem de serpentes contendo conteúdo estomacal não variou sazonalmente, o que indica o sucesso no forrageamento durante a estação fria e quente. Isso pode estar relacionado a alta disponibilidade de anuros ao longo do ano (Ximenez, 2012). Todavia, a composição da dieta variou ao longo do ano, sendo os hilídeos mais predados durante a estação quente e os leptodactílídeos na estação fria. Os machos apresentaram uma amplitude de nicho maior do que as fêmeas, o que sugere um comportamento de forrageamento diferenciado entre os sexos. A análise da amplitude de nicho trófico de *T. hypoconia* sugeriu uma predação seletiva quanto as diferentes categorias de presa, todavia, essa aparente seletividade deve ser vista com cautela, uma vez que não dispomos de dados da disponibilidade real de presas na área de estudo.

Ainda assim, *H. pulchellus* é uma espécie ativa praticamente o ano todo (Ximenez, 2012) e possivelmente ofereceria um recurso alimentar previsível e constante. De fato, esta foi a presa mais importante tanto sob o ponto de vista da ACE quanto da AIE. Os resultados da AIE corroboraram os resultados da ACE mostrando uma maior similaridade nos valores médios das razões isotópicas da serpente com as de *L. latrans* e *H. pulchellus*. Esses resultados reforçam a ideia de que alguns leptodactídeos, como *L. latrans* sejam importantes para a dieta de *T. hypoconia*, mesmo que tenham sido observados menos frequentemente que *H. pulchellus* na ACE. Possivelmente, a maior biomassa por unidade de presa consumida de *L. latrans* em relação a *H. pulchellus* possa ser responsável por seu importante papel na construção dos tecidos musculares de *T. hypoconia*. A maior frequência de *H. pulchellus* no trato digestivo das serpentes pode significar não só uma maior disponibilidade dessa presa em particular, mas também a sobreposição quanto ao uso dos microhabitats. Apesar da procura visual ser direcionada para todos os microambientes disponíveis (chão e arbustos) todas as serpentes foram encontradas sobre arbustos e mais frequentemente naquele em que havia hilídeos (dados não publicados). Apesar de um pouco especulativo, hipotetizamos que haja sim uma tática de forrageamento que favoreça a captura de anuros trepadores. Vale ressaltar que a cobertura vegetal no banhado é caracterizada pela quase ausência de árvores, sendo os arbustos com menos do que 1m de altura o substrato disponível para esses hilídeos arborícolas afastarem-se do chão. Apesar da aparente associação de *T. hypoconia* com ambientes aquáticos (Carreira et al., 2005; Sawaya et al., 2008; Araujo et al., 2010) nós nunca as observamos em forrageamento na água. Além disso, a ACE revelou o predomínio de espécies de anuros arborícolas. Todavia, a AIE revelou uma forte associação com o carbono oriundo dos sistemas aquáticos. Desse modo, conclui-se que a base da cadeia alimentar em que *T. hypoconia* está inserida depende

diretamente das áreas alagadas para sua sustentação. Esse padrão foi reforçado pela similaridade do padrão isotópico da serpente com as de POM e de sua discrepância quanto as razões isotópicas das plantas terrestres. A assimilação desse carbono de origem aquática se dá através da ingestão indireta, pois a serpente pode estar se alimentando de anfíbios que predam invertebrados fitófagos, que por sua vez utilizam plantas da via C3 aquática (Huckembeck et al., 2012). Esses dados mostraram um importante elo de ligação entre o ambiente aquático e terrestre, através do fluxo de nutrientes já descrito para outros sistemas de interface aquático/terrestre (McArthur & Moorhead, 1996; Polis et al., 1997, Kupfer et al., 2006). Todavia, essa abordagem é inédita para serpentes neotropicais. Nossos dados apontam para a importância de áreas inundáveis para a subsistência de organismos terrestres de habitats adjacentes. Em banhados subtemperados é possível que os anuros, em particular os hilídeos representem importantes vetores de matéria e energia entre os sistemas aquáticos e terrestres. Essa ligação é fundamental para a manutenção da alta biomassa de vertebrados (em particular anfíbios e répteis) sustentada pela alta produtividade primária das áreas alagáveis.

Agradecimentos

Os autores agradecem a ajuda de campo prestada por Daniela Selbach e Paulo Ellert e também ao suporte prestado pelos funcionários da Estação Ecológica do Taim durante o trabalho de campo. Pela ajuda na identificação dos anfíbios anuros prestada pelo Dr. Daniel Loebmann e pela ajuda com a análise de isótopos estáveis fornecida pelos pesquisadores do laboratório de Ictiologia do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande. E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento

Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo suporte financeiro para realização desse estudo.

Referências bibliográficas

Achaval, F. & A. Olmos, 2003. Anfíbios y reptiles Del Uruguay. 2nd ed., Graphis Impresora, Montevideo, Uruguay.

Araujo, C. O., D. T. Corrêa-Filho, & R. J. Sawaya, 2010. Serpentes da estação ecológica de Santa Bárbara, SP: Um remanescente de cerrado do sudeste do Brasil. *Biota Neotropica* 10: 235–245.

Arzamendia, V. & A. R. Giraudo, 2009. Influence of large South American rivers of the Plata Basin on distributional patterns of tropical snakes: A panbiogeographical analysis. *Journal of Biogeography* 36: 1739–1749.

Bailey, J. R., R. A. Thomas, & N. J. Silva, 2005. A revision of the South American snake genus *Thamnodynastes* Wagler, 1830 (Serpentes, Colubridae, Tachymenini). I. Two new species of *Thamnodynastes* from Central Brazil and adjacent areas, with a redefinition of and neotype designation for *Thamnodynastes*. *Phyllomedusa* 4: 83–101.

Bearhop, S., D. R. Thompson, S. Waldron, I. C. Russell, G. Alexander & R. W. Furness, 1999. Stable isotopes indicate the extent of freshwater feeding by cormorants *Phalacrocorax carbo* shot at inland fisheries in England. *Journal of Applied Ecology* 36: 75–84.

Begon, M., J. L. Harper & C. R. Townsend, 1990. *Ecology: Individuals, populations and communities*. 2nd ed., Blackwell Scientific Publ. Massachusetts.

Bellini, G. P., V. Arzamendia & A. R. Giraudo, 2013. Ecology of *Thamnodynastes hypoconia* in Subtropical–Temperate South America. *Herpetologica* 69: 67–79.

- Bellini, G. P., A. R. Giraud & V. Arzamendia, 2014. Comparative ecology of three species of *Thamnodynastes* (Serpentes, Dipsadidae) in subtropical-temperate South America. *Herpetological Journal* 24: 87–96.
- Borba, C. S., R. Fugi, A. A. Agostinho & G. C. Novakowski, 2008. Dieta de *Astyanax asuncionensis* (Characiformes, Characidae), em riachos da bacia do rio Cuiabá, Estado do Mato Grosso. *Acta Scientiarum Biological Sciences Maringá* 30: 39–45.
- Brischoux, F., X. Bonnet, Y. Cherel & R. Shine, 2011. Isotopic signatures, foraging habitats and trophic relationships between fish and seasnakes on the coral reefs of New Caledonia. *Coral Reefs* 30: 155–165.
- Brischoux, F. & H. B. Lillywhite, 2013. Trophic consequences of pelagic life-style in yellow-bellied sea snakes. *Marine Ecology Progress Series* 478: 231–238.
- Campbell, H. W. & S. P. Christman, 1982. Field techniques for herpetofaunal community analysis. In Scott-Jr, N. J. (ed), *Herpetological Communities: a Symposium of the Society for the Study of Amphibians and Reptiles and the Herpetologists' League*. Wildlife Research Report 13 Part 1, U.S. Fish and Wildlife Service: 193–200.
- Cardoso, A. J., G. V. Andrade & C. F. B. Haddad, 1989. Distribuição espacial em comunidades de anfíbios (Anura) no Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Biologia* 49: 241–249.
- Carpenter, S. R., J. J. Cole, J. F. Kitchell & M. L. Pace, 1998. Impact of dissolved organic carbon, phosphorus and grazing on phytoplankton biomass and production in lakes. *Limnology and Oceanography* 43: 73–80.
- Carreira, S., 2002, Alimentación de los Ofidios del Uruguay. *Asociación Herpetológica Española, Monografías de Herpetología* 6: 1–126.
- Carreira, S., M. Meneghel & F. Achaval, 2005, *Reptiles del Uruguay*. Universidad de la República, Facultad de Ciencia, Uruguay.

- Cei, J. M., S. Bergna & B. Alvarez, 1992, Nueva combinación para el género *Thamnodynastes* (Serpentes, Colubridae) de Argentina. *Facena* 9: 123–134.
- Cei, J. M., 1993, Reptiles del Noroeste y Este de La Argentina. Herpetofauna de las Selvas Subtropicales, Puna y Pampas. Museo Regionale di Scienze Naturali Torino, Italy.
- Cunha, F. L. R., 2013. Dieta de quatro espécies do gênero *Podocnemis* (Testudines, Podocnemididae) na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Uatumã, Amazonas, Brasil. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil.
- Dorigo, T. A., D. Vrcibradic, V. N. T. Borges-Junior & C. F. D. Rocha, 2014. New records of anuran predation by snakes of the genus *Thamnodynastes* Wagler, 1830 (Colubridae: Dipsadinae) in the Atlantic rainforest of southeastern Brazil. *Herpetology Notes* 7: 261–264.
- Duellman, W. E., 1990, Herpetofaunas in neotropical rainforests: comparative composition, history, and resource use. In: Gentry, A. H. (ed), *Four neotropical rainforests*. New Haven, Yale University Press: 455–505.
- Dunning, J. B., B. J. Danielson & H. R. Pulliam, 1992. Ecological processes that affect populations in complex landscapes. *Oikos* 65: 169–175.
- Emmons, L. H., 1987. Comparative feeding ecology of felids in a neotropical rainforest. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 20: 271–283.
- Fitch, H. S., 1987. Collecting and life-history techniques. In Seigel, R. A., et al. (eds), *Snakes: Ecology and Evolutionary Biology*, McGraw-Hill Publishing Company: 143–164.

- Franco, F. L., 1999. Relações filogenéticas entre os gêneros da tribo Tachymenini Bailey, 1967 (Serpentes, Colubridae). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Fry, B., 2006. Stable isotope ecology. United States: Springer.
- Garcia, A. M., D. J. Hoeinghaus, J. P. Vieira & K. O. Winemiller, 2007. Isotopic variation of fishes in freshwater and estuarine zones of a large subtropical coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 73: 399–408.
- Gibbons, J. W. et al., 2006. Remarkable amphibian biomass and abundance in an isolated wetland: implications for wetland conservation. *Conservation Biology* 20: 1457–1465.
- Giraudó, A. R., 2001. Diversidad de Serpientes de la Selva Paranaense y del Chaco Húmedo. *Taxonomía, Biogeografía y Conservación. Literature of Latin America, Argentina*.
- Gomes, A., J. Tricart & J. Trautmann, 1987. Estudos ecodinâmico da Estação Ecológica do Taim e seus arredores. Porto Alegre, UFRGS.
- Grazziotin, F. G., H. Zaher, R. W. Murphy, G. Scrocchi, M. A. Benavides, Y. Zhang & S. L. Bonatto, 2012. Molecular phylogeny of the New World Dipsadidae (Serpentes: Colubroidea): A reappraisal. *Cladistics* 1: 1–23.
- Gregory, P. T. & L. A. Isaac, 2004. Food habits of the Grass Snake in southeastern England: is *Natrix natrix* a generalist predator? *Journal of Herpetology* 38: 88–95.
- Grossman, G. D., 1986. Food resources partitioning in a rocky intertidal fish assemblage. *Journal of Zoology* 1: 317–355.
- Hartmann, P. A. & O. A. V. Marques, 2005. Diet and habitat use of two sympatric species of *Philodryas* (Colubridae) in Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26: 25–31.

- Heyer, W. R., M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L. C. Hayek & M. S. Foster, 1994. Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians. Washington, Smithsonian Institution Press.
- Hobson, K. A., J. F. Piatt & J. Pitochelli, 1994. Using stable isotopes to determine seabird trophic relationships. *Journal of Animal Ecology* 63: 786–798.
- Hoeinghaus, D. J., J. P. Vieira, C. S. Costa, C. E. Bemvenuti, K. O. Winemiller & A. M. Garcia, 2011. Estuary hydrogeomorphology affects carbon sources supporting aquatic consumers within and among ecological guilds. *Hydrobiologia* 673: 79–92.
- Huckembeck, S., M. Claudino, F. Correa, R. F. Bastos, D. Loebmann, A. M. Tozetti & A. M. Garcia, 2012. The activity patterns and microhabitat use of *Pseudis minuta* Günther, 1858 (Anura, Hylidae) in the Lagoa do Peixe National Park, a biosphere reserve of the Brazilian subtropics. *Brazilian Journal of Biology* 72: 331–336.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis, 2000. Banhados. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br>.
- Jackson, J.K. & S. G. Fisher, 1986. Secondary production, emergence and export of aquatic insects of a Sonoran Desert stream. *Ecology* 67:629–38.
- Jardine, T. D., A. S. McGeachy, C. M. Paton, M. Savoie & R. A. Cunjak, 2003. Stable isotopes in aquatic systems: sample preparation, analysis, and interpretation. Canadian Manuscript Report of Fisheries and Aquatic Sciences No. 2656.
- Krebs, C. J. 1999. *Ecological methodology*. 2nd ed., Addison-Welsey Educational Publishers, Inc., Menlo Park, CA.
- Kupfer, A., R. Langel, S. Scheu, W. Himstedt & M. Maraun, 2006. Trophic ecology of a tropical aquatic and terrestrial food web: insights from stable isotopes (^{15}N). *Journal of Tropical Ecology* 22: 469–476.

- Kwet, A. & M. Di-Bernardo, 1999. Pró-Mata – Anfíbios. Amphibien. Amphibians. EDIPUCRS. Porto Alegre, Brasil.
- Langone, J. A., 1994. Ranas y sapos del Uruguay (reconocimiento y aspectos biológicos). Museo Damaso Antonio Larrañaga, Serie de divulgación 5: 1–123.
- Layman, C. A., M. S. Araujo, R. Boucek, C. M. Hammerschlag-Peyer, E. Harrison, Z. R. Jud, P. Matich, A. E. Rosenblatt, J. J. Vaudo, L. A. Yeager, D. M. Post & S. Bearhop, 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews* 87: 545–562.
- Leite, P. T., S. F. Nunes & S. Z. Cechin, 2007. Dieta e uso de hábitat da jararaca-dobrejo *Mastigodryas bifossatus* Raddi (Serpentes, Colubridae) em domínio subtropical do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 24: 729–734.
- López, M. S. & A. R. Giraud, 2008. Ecology of the snake *Philodryas patagoniensis* (Serpentes, Colubridae) from Northeast Argentina. *Journal of Herpetology* 42: 474–480.
- Lyons, K. G., C. A. Brigham, B. H. Traut & M. W. Schwartz, 2005. Rare species and ecosystem functioning. *Conservation Biology* 19: 1019–1024.
- Maffei, F., D. C. Rolim & J. Jim, 2011. *Thamnodynastes hypoconia*. Diet. *Herpetological Review* 42: 620.
- Maluf, J. R. T., 2000. Nova classificação climática do Estado do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agrometeorologia* 8: 141–150.
- Maneyro, R., D. E. Naya, I. Rosa, A. Canavero & A. Camargo, 2004. Diet of the South American frog *Leptodactylus ocellatus* (Anura, Leptodactylidae) in Uruguay. *Iheringia Série Zoologia* 94: 57–61.
- Martinelli, L. A., J. P. H. B. Ometto, E. S. Ferraz, R. L. Victoria, P. B. Camargo & M. Z. Moreira, 2009. Desvendando Questões Ambientais com Isótopos Estáveis. São Paulo, Brasil: Oficina de Textos.

- Martins, M., O. A. V. Marques & I. Sazima, 2002. Ecological and phylogenetic correlates of feeding habits in Neotropical pitvipers of the genus *Bothrops*. In Schuett, G., et al., (eds), *Biology of the Vipers*. Biological Sciences Press, Carmel, Indiana: 307–328.
- Martins, L. S. , L. Verrastro & A. M. Tozetti, 2014. The Influences of Habitat on Body Temperature Control in a Southern Population of *Liolaemus Occipitalis* (Boulenger, 1885) in Brazil. *South American Journal of Herpetology* 9: 9–13.
- McArthur, J. V. & K. K. Moorhead, 1996. Characterization of riparian species and stream detritus using multiple stable isotopes. *Oecologia* 07: 232–238.
- Miranda, E. G., A. Couturier & J. D. Williams, 1983. *Guía de los Ofidios Bonaerenses*. Asociación Cooperativa Jardín Zoológico de La Plata, Argentina.
- Motta-Junior, J. C. & K. Martins, 2002. The frugivorous diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*. In Levey, D. J., W. R. Silva & M. Galetti (eds), *Seed Dispersal and Frugivory: Ecology, Evolution and Conservation*. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire: 291–303.
- Moya, G. M. & F. Maffei, 2012. Predation on *Dendropsophus elianae* (Napoli and Caramaschi, 2000) (Anura: Hylidae) by *Thamnodynastes hypoconia* (Cope, 1860) (Squamata: Colubridae). *Herpetology Notes* 5: 261–262.
- Mushinsky, H. R., 1987. Foraging ecology. In Seigel, R. A. et al. (eds), *Snakes: Ecology and evolutionary biology*. McGraw-Hill Publishing Company, New York: 302–334.
- Oliveira, M. C. L. M., M. B. Santos, D. Loebmann, A. Hartman & A. M. Tozetti, 2013. Diversity and associations between coastal habitats and anurans in southernmost Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 85: 575–582.

- Oliveira, M. C. L. M., R. F. Bastos, M. C. Claudino, C. M. Assumpção & A. M. Garcia, 2014. Transport of marine-derived nutrients to subtropical freshwater food webs by juvenile mullets: a case study in southern Brazil. *Aquatic Biology* 20: 91–100.
- Parker, W. & E. Pianka, 1973. Notes on the ecology of the iguanid lizard, *Sceloporus magister*. *Herpetologica* 29: 143–152.
- Parnell, A. C., R. Inger, S. Bearhop & A. L. Jackson, 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS ONE* 5: e9672.
- Peterson, B. J. & B. Fry, 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 18: 293–320.
- Phillips, D. L. & J. W. Gregg, 2003. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia* 136: 261–269.
- Pianka, E. R., 1986. Ecology and natural history of desert lizards. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Polis, G. A. & S. D. Hurd, 1995. Extraordinarily high spider densities on islands: flow of energy from the marine to terrestrial food webs and the absence of predation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92: 4382–4386.
- Polis, G. A. & S. D. Hurd, 1996. Linking marine and terrestrial food webs: allochthonous input from the ocean supports high secondary productivity on small islands and coastal land communities. *The American Naturalist* 147: 396–423.
- Polis, G. A., W. B. Anderson & R. D. Holt, 1997. Toward an integration of landscape and food web ecology: the dynamics of spatially subsidized food webs. *Annual Review of Ecological Systems* 28: 289–316.
- Post, D. M., 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods and assumptions. *Ecology* 83: 703–718.

Ramsar, 2006. The List of Wetlands of International Importance. Disponível em: http://www.ramsar.org/pdf/lib/lib_manual2006e.pdf.

Rodríguez-Robles, J. A. & H. W. Greene, 1999. Food habits of the long-nosed snake (*Rhinocheilus lecontei*), a “specialist” predator? *Journal Zoology* 248: 489–499.

Rose, M. & G. A. Polis, 1997. The distribution and abundance of coyotes: the importance of subsidy by allochthonous foods coming from the sea. *Ecology* 79: 998–1007.

Rush, A. S., K. Sash, J. Carroll, B. Palmer & A. T. Fisk, 2014. Feeding ecology of the snake community of the Red Hills region relative to management for Northern Bobwhite: Assessing the diet of snakes using stable isotopes. *Copeia* 2014: 288–296.

Santos, M. B., M. C. L. M. Oliveira & A. M. Tozetti, 2012. Diversity and habitat use by snakes and lizards in coastal environments of southernmost Brazil. *Biota Neotropica* 12: 78–87.

Sather, H. J. & R. D. Smith, 1984. An overview of major wetland functions and values. U.S. Fish and Wildlife Service, Biological Services Program FWS/OBS.

Sawaya, R. J., O. A. V. Marques & M. Martins, 2008. Composition and natural history of a Cerrado snake assemblage at Itirapina, São Paulo State, southeastern Brazil. *Biota Neotropica* 8: 127–149.

Schindler, D. E. & S. C. Lubetkin, 2004. Using stable isotopes to quantify material transport in food webs. In Polis, G. A., et al. (eds), *Food webs at the landscape level*. University of Chicago Press, Chicago: 25–42.

Schoener, T. W., 1971. Theory of feeding strategies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 69–404.

Seigel, R. A., J. W. Gibbons & T. K. Lynch, 1995. Temporal changes in reptile populations: effects of a severe drought on aquatic snakes. *Herpetologica* 51: 424–434.

- Shine, R., 1977. Habitats, diets, and sympatry in snakes: A study from Australia. *Canadian Journal of Zoology* 55: 1119–1128.
- Sousa, K. R. M., A. L. C. Prudente & G. F. Maschio, 2014. Reproduction and diet of *Imantodes cenchoa* (Dipsadidae: Dipsadinae) from the Brazilian Amazon. *Zoologia* 31: 8–19.
- Strüssmann, C. & I. Sazima, 1993. The assemblages of the Pantanal at Poconé western Brazil: faunal composition and ecology summary. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 28: 157–168.
- Teixeira, C. C., 2012. Recursos alimentares e local de forrageio de três espécies de *Helicops* wagler, 1830 (Serpentes: Dipsadidae) na Amazônia Oriental, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, Brasil.
- Tieszen, L. L., D. Hein, A. Qvortrup, J. H. Troughton & S. K. Imbamba, 1979. Use of $d^{13}C$ values to determine vegetation selectivity in east African herbivores. *Oecologia* 37: 351–359.
- Turner, M. G., 1989. Landscape ecology: the effect of pattern on processes. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20: 171–97.
- Vanderklift, M. A. & S. Ponsard, 2003. Sources of variation in consumer-diet $d^{15}N$ enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136: 169–182.
- Vanni, M. J., 2002. Nutrient cycling by animals in freshwater ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 341–370.
- Verwaijen, D. & R. Van Damme, 2007. Does foraging mode mould morphology in lacertid lizards? *Journal of Evolutionary Biology* 20: 1950–1961.
- Vitt, L. J. & L. D. Vangilder, 1983. Ecology of a snake community in northeastern Brazil. *Amphibia–Reptilia* 4: 273–296.

- Waechter, J. L., 1985. Aspectos ecológicos da vegetação de restinga no Rio Grande do Sul, Brasil. *Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS, Série Botânica* 33: 49–68.
- Wellborn, G. A., D. K. Skelly & E. E. Werner, 1999. Mechanisms creating community structure across a freshwater habitat gradient. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 27: 337–363.
- Willson, J., C. Winne, M. A. Pilgrim, C. Romanek & J. Gibbons, 2010. Seasonal variation in terrestrial resource subsidies influences trophic niche width and overlap in two aquatic snake species: a stable isotope approach. *Oikos* 119: 1161–1171.
- Winemiller, K. O., S. Akin & S. C. Zeug, 2007. Production sources and food web structure of a temperate tidal estuary: integration of dietary and stable isotope data. *Marine Ecology Progress Series* 343: 63–76.
- Ximenez, S. S., 2012. Composição de espécies e padrão de atividade sazonal da anurofauna em uma região de banhado no extremo sul brasileiro. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Zaher, H., F. G. Grazziotin, J. E. Cadle, R. T. W. Murphy, J. C. Moura-Leite & S. L. Bonato, 2009. Molecular phylogeny of advanced snakes (Serpentes, Caenophidia) with an emphasis on South American Xenodontines: A revised classification and descriptions of new taxa. *Papéis Avulsos de Zoologia* 49: 115–153.
- Zanella, N. & S. Z. Cechin, 2006. Taxocenose de serpentes no Planalto Médio do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 23: 211–217.

Apêndice 1

Espécimes examinados, tombados na Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Rio Grande (CHFURG) e Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP): MCP14243, CHFURG769, CHFURG770, CHFURG809, CHFURG870, CHFURG871, CHFURG898, CHFURG914, CHFURG1036, CHFURG1075, CHFURG1102, CHFURG1103, CHFURG1104, CHFURG1105, CHFURG1106, CHFURG1186, CHFURG1187, CHFURG1188, CHFURG1189, CHFURG1273, CHFURG1366, CHFURG1367, CHFURG1411, CHFURG1414, CHFURG1422, CHFURG1423, CHFURG1476, CHFURG1496, CHFURG1497, CHFURG1498, CHFURG1499, CHFURG1538, CHFURG1564, CHFURG1565, CHFURG1566, CHFURG1567, CHFURG1740, CHFURG1741, CHFURG1812, CHFURG1830, CHFURG1831, CHFURG1832, CHFURG1833, CHFURG1834, CHFURG1836, CHFURG1838, CHFURG1839, CHFURG1840, CHFURG1841, CHFURG1843, CHFURG1847, CHFURG1849, CHFURG1880, CHFURG1881, CHFURG1887, CHFURG1889, CHFURG1893, CHFURG1911, CHFURG1912, CHFURG1913, CHFURG1914, CHFURG1916, CHFURG1917, CHFURG1918, CHFURG1919, CHFURG1920, CHFURG1921, CHFURG1922, CHFURG1923, CHFURG1924, CHFURG1925, CHFURG1928, CHFURG1988, CHFURG1997, CHFURG2152, CHFURG2153, CHFURG2357, CHFURG2358, CHFURG2359, CHFURG2360, CHFURG2361, CHFURG2362, CHFURG2363, CHFURG2364, CHFURG2365, CHFURG2366, CHFURG2367, CHFURG2368, CHFURG2512, CHFURG2513, CHFURG2515, CHFURG2516, CHFURG2517, CHFURG2518, CHFURG2519, CHFURG2520, CHFURG2521, CHFURG2522, CHFURG2523, CHFURG2524.

Tabela 1 - Composição da dieta de *Thamnodynates hypoconia* no extremo sul brasileiro. N = Número; FO = Frequência de ocorrência; FR = Frequência relativa; IIR (%) = Índice de Importância Relativa e porcentagem; e BI (%) = Biomassa ingerida e porcentagem.

	Presa	N total	N prim/ver	N out/inv	FO	FR	IIR (%)	BI (%)
Anfíbio	BUFONIDAE	1	1	0	2,13	0,02	2,23 (0,17)	7,81 (4,91)
	<i>Rhinella</i> sp.	1	1	0	2,13	0,02	2,23 (0,17)	7,81 (4,91)
	HYLIDAE	34	19	15	72,33	0,76	1172,73 (88,05)	85,39 (53,68)
	<i>Dendropsophus sanborni</i>	4	1	3	8,50	0,07	32,42 (2,43)	2,36 (1,48)
	<i>Hypsiboas pulchellus</i>	16	13	3	34,04	0,35	792,78 (59,52)	55,52 (34,90)
	<i>Scinax granulatus</i>	1	1	0	2,13	0,02	3,30 (0,25)	3,36 (2,10)
	<i>Scinax squalirostris</i>	2	2	0	4,26	0,05	11,40 (0,86)	1,60 (1,01)
	Hilídeos não identificados	11	2	9	23,40	0,27	332,83 (24,99)	22,55 (14,17)
	LEIUPERIDAE	3	1	2	6,39	0,04	11,56 (0,87)	5,14 (3,23)
	<i>Physalaemus gracilis</i>	2	0	2	4,26	0,02	8,98 (0,68)	4,48 (2,82)
	<i>Pseudopaludicola falcipes</i>	1	1	0	2,13	0,02	2,58 (0,19)	0,66 (0,41)
	LEPTODACTYLIDAE	7	0	7	14,89	0,14	138,00 (10,35)	59,25 (37,24)
	<i>Leptodactylus gracilis</i>	2	0	2	4,26	0,02	8,98 (0,67)	14,68 (9,23)
	<i>Leptodactylus latrans</i>	2	0	2	4,26	0,05	108,45 (8,14)	22,04 (13,85)
<i>Leptodactylus</i> sp.	3	0	3	6,37	0,07	20,57 (1,54)	22,53 (14,16)	
Anfíbios não identificados	1	1	0	2,13	0,02	2,40 (0,18)	-	
Réptil	GYMNOPHTHALMIDAE	1	1	0	2,13	0,02	5,08 (0,38)	1,49 (0,94)
	<i>Cercosaura schreibersii</i>	1	1	0	2,13	0,02	5,08 (0,38)	1,49 (0,94)
Total		47	23	24	100	1	1332,00 (100,00)	159,08 (100,00)

Tabela 2 - Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ ($\pm\text{DP}$) e $\delta^{15}\text{N}$ ($\pm\text{DP}$) do predador, das presas e das fontes alimentares basais coletadas na Estação Ecológica do Taim, no extremo sul brasileiro. N = Número de amostras; POM = material orgânico particulado na coluna d'água.

Espécie	Categoria	N	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
PREDADOR				
Serpente				
<i>Thamnodynastes hypoconia</i>		4	-24,04 \pm 1,39	8,22 \pm 0,16
PRESAS				
Anfibios				
<i>Hypsiboas pulchellus</i>		4	-25,03 \pm 4,10	5,78 \pm 0,73
<i>Leptodactylus latrans</i>		5	-24,36 \pm 1,69	8,20 \pm 1,46
<i>Dendropsophus sanborni</i>		4	-21,73 \pm 0,89	7,02 \pm 0,75
<i>Scinax squalirostris</i>		5	-19,84 \pm 1,89	7,47 \pm 0,48
<i>Physalaemus gracilis</i>		4	-21,44 \pm 1,73	6,68 \pm 0,82
Modelo de mistura: <i>D. sanborni</i> + <i>S. squalirostris</i> + <i>P. gracilis</i>			-20,91 \pm 1,71	7,09 \pm 0,67
FONTES ALIMENTARES BASAIS				
Plantas				
<i>Eichhornia azurea</i> (C3)		3	-29,22 \pm 0,72	5,52 \pm 0,10
<i>Eichhornia crassipes</i> (C3)		3	-27,25 \pm 0,20	4,90 \pm 1,15
<i>Myriophyllum aquaticum</i> (C3)		3	-29,98 \pm 0,65	5,45 \pm 1,89
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C3)		3	-28,09 \pm 1,02	5,57 \pm 0,36
<i>Axonopus</i> sp. (C4)		6	-12,41 \pm 1,17	5,99 \pm 0,58
POM		3	-29,96 \pm 0,55	5,01 \pm 0,5

Modelo de mistura: Plantas C3 + POM	-28,90±1,25	5,29±0,92
Total	47	

Legenda das figuras:

Figura 1.A - Distribuição dos valores individuais de isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e carbono ($\delta^{13}\text{C}$) no tecido muscular de *Thamnodynastes hypoconia* (círculos sem preenchimento) e valores médios ($\pm\text{DP}$) de isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e carbono ($\delta^{13}\text{C}$) no tecido muscular das presas potenciais utilizadas nos modelos de mistura bayesianos – SIAR (símbolos preenchidos) procedentes da ESEC Taim, RS, extremo sul do Brasil. Símbolos: Estrela = *H. pulchellus*; Círculo preenchido = *L. latrans* e Quadrado = *D. sanborni* + *S. squalirostris* + *P. gracilis*.

1.B - Contribuição das diferentes fontes potenciais de alimento para os valores isotópicos do tecido muscular de *Thamnodynastes hypoconia* obtidos através do modelo de mistura isotópico bayesiano – SIAR, mostrando os intervalos de credibilidade de 95% (cinza claro), 75% (cinza) e 50% (preto).

Figura 2.A - Distribuição dos valores individuais de isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e carbono ($\delta^{13}\text{C}$) no tecido muscular de *Thamnodynastes hypoconia* (círculos sem preenchimento) e valores médios ($\pm\text{DP}$) de isótopos estáveis de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e carbono ($\delta^{13}\text{C}$) das fontes basais utilizadas nos modelos de mistura bayesianos – SIAR (símbolos preenchidos) procedentes da ESEC Taim, RS, extremo sul do Brasil. Símbolos: Quadrado = plantas C3 aquáticas + POM e Círculo preenchido = plantas C4 terrestres. **2.B** - Contribuição das diferentes fontes basais para os valores isotópicos do tecido muscular de *Thamnodynastes hypoconia* obtidos através do modelo de mistura isotópico bayesiano – SIAR, mostrando os intervalos de credibilidade de 95% (cinza claro), 75% (cinza) e 50% (preto).

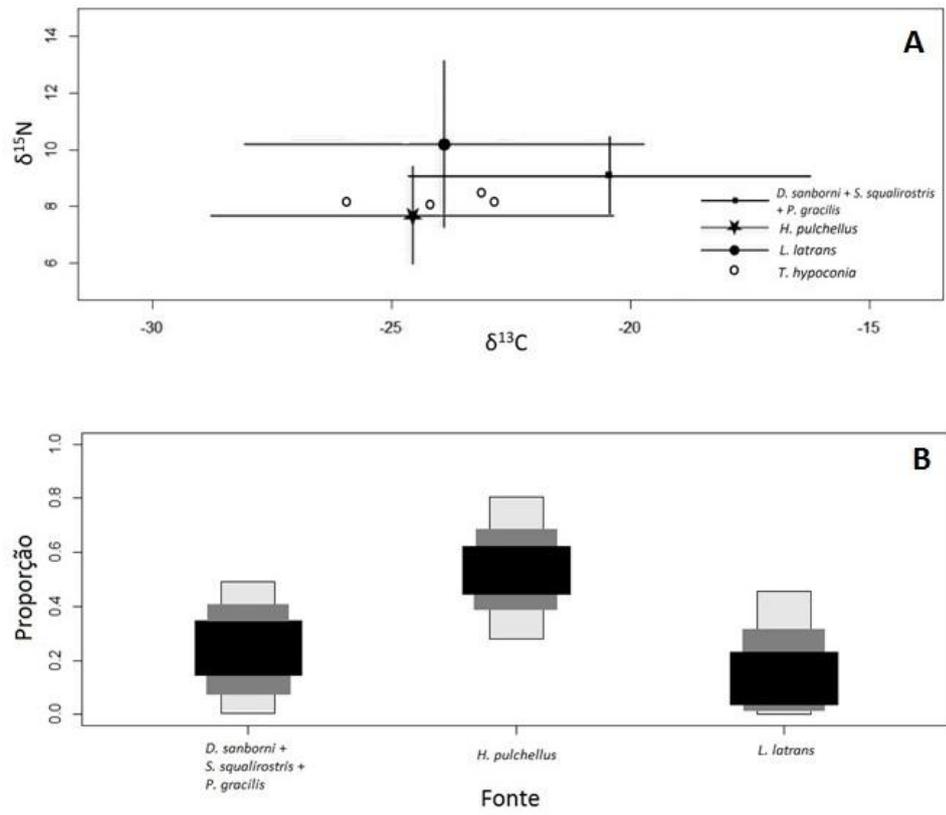


Fig. 1

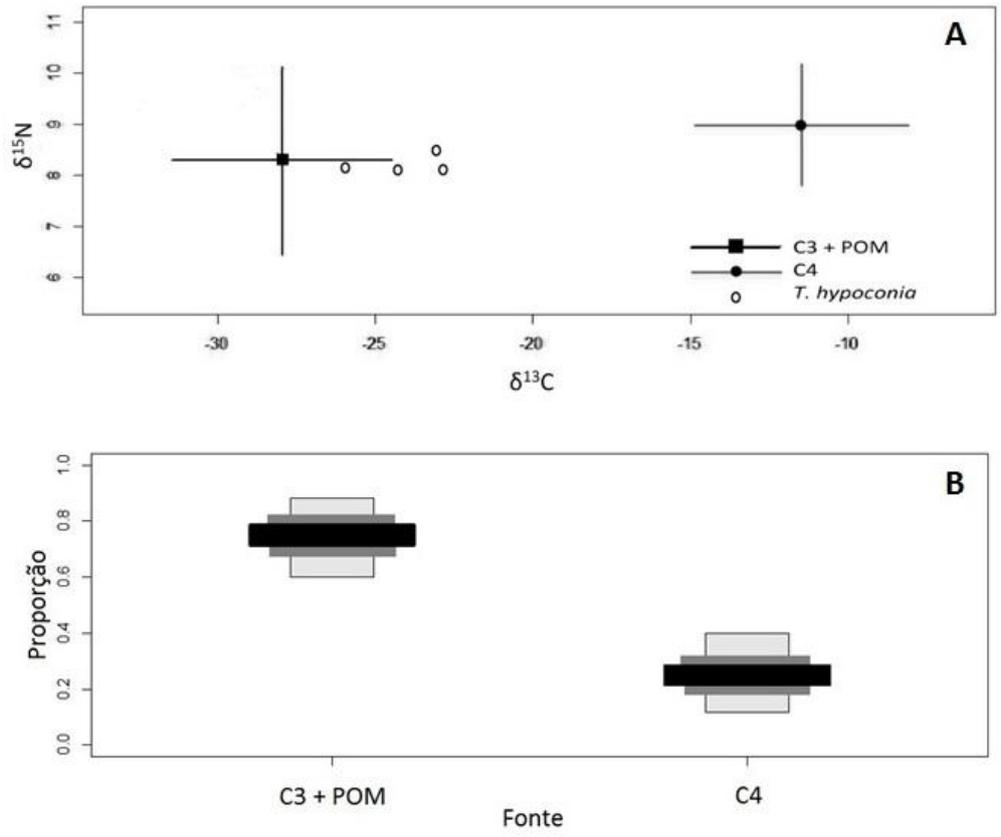


Fig. 2

ANEXOS

Anexo I – Instruções aos autores para publicação na Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências.

A revista ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS encoraja fortemente as submissões online. Uma vez o artigo preparado de acordo com as instruções abaixo, visite o site de submissão online (<http://aabc.abc.org.br>).

As instruções devem ser lidas cuidadosamente e seguidas integralmente. Desta forma, a avaliação e publicação de seu artigo poderão ser feitas com mais eficiência e rapidez. Os editores reservam-se o direito de devolver artigos que não estejam de acordo com estas instruções. Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

OBJETIVO E POLÍTICA EDITORIAL

Todos os artigos submetidos devem conter pesquisa original e ainda não publicada ou submetida para publicação. O primeiro critério para aceitação é a qualidade científica. O uso excessivo de abreviaturas ou jargões deve ser evitado, e os artigos devem ser compreensíveis para uma audiência tão vasta quanto possível. Atenção especial deve ser dada ao Abstract, Introdução e Discussão, que devem nitidamente chamar a atenção para a novidade e importância dos dados relatados. A não observância desta recomendação poderá resultar em demora na publicação ou na recusa do artigo.

Os textos podem ser publicados como uma revisão, um artigo ou como uma breve comunicação. A revista é trimestral, sendo publicada nos meses de março, junho, setembro e dezembro.

TIPOS DE TRABALHOS

Revisões. Revisões são publicadas somente a convite. Entretanto, uma revisão pode ser submetida na forma de breve carta ao Editor a qualquer tempo. A carta deve informar os tópicos e autores da revisão proposta e declarar a razão do interesse particular do assunto para a área.

Artigos. Sempre que possível, os artigos devem ser subdivididos nas seguintes partes: 1. Página de rosto; 2. Abstract (escrito em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); 3. Introdução; 4. Materiais e Métodos; 5. Resultados; 6. Discussão; 7. Agradecimentos quando necessário; 8. Resumo e palavras-chave (em português - os autores estrangeiros receberão assistência); 9. Referências. Artigos de algumas áreas, como Ciências Matemáticas, devem observar seu formato usual. Em certos casos pode ser aconselhável omitir a parte (4) e reunir as partes (5) e (6). Onde se aplicar, a parte de Materiais e Métodos deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em humanos ou as normas seguidas para a manutenção e os tratamentos experimentais em animais.

Breves comunicações

Breves comunicações devem ser enviadas em espaço duplo. Depois da aprovação não serão permitidas alterações no artigo, a fim de que somente correções de erros tipográficos sejam feitos nas provas.

Os autores devem enviar seus artigos somente em versão eletrônica.

Preparação de originais

PREPARO DOS ARTIGOS

Os artigos devem ser preparados em espaço duplo. Depois de aceitos nenhuma modificação será realizada, para que nas provas haja somente correção de erros tipográficos.

Tamanho dos artigos. Embora os artigos possam ter o tamanho necessário para a apresentação concisa e discussão dos dados, artigos sucintos e cuidadosamente preparados têm preferência tanto em termos de impacto quando na sua facilidade de leitura.

Tabelas e ilustrações. Somente ilustrações de alta qualidade serão aceitas. Todas as ilustrações serão consideradas como figuras, inclusive desenhos, gráficos, mapas, fotografias e tabelas com mais de 12 colunas ou mais de 24 linhas (máximo de figuras gratuitas: cinco figuras). A localização provável das figuras no artigo deve ser indicada.

Figuras digitalizadas. As figuras devem ser enviadas de acordo com as seguintes especificações: 1. Desenhos e ilustrações devem ser em formato .PS/.EPS ou .CDR (Postscript ou Corel Draw) e nunca inseridas no texto; 2. Imagens ou figuras em meio tom devem ser no formato .TIF e nunca inseridas no texto; 3. Cada figura deve ser enviada em arquivo separado; 4. Em princípio, as figuras devem ser submetidas no tamanho em que devem aparecer na revista, i.e., largura de 8 cm (uma coluna) ou 12,6 cm (duas colunas) e com altura máxima para cada figura menor ou igual a 22 cm. As legendas das figuras devem ser enviadas em espaço duplo e em folha separada. Cada dimensão linear das menores letras e símbolos não deve ser menor que 2 mm depois da redução. Somente figuras em preto e branco serão aceitas. 5. Artigos de Matemática, Física ou Química podem ser digitados em Tex, AMS-Tex ou Latex; 6. Artigos sem fórmulas matemáticas podem ser enviados em .RTF ou em WORD para Windows.

Página de rosto. A página de rosto deve conter os seguintes itens: 1. Título do artigo (o título deve ser curto, específico e informativo); 2. Nome (s) completo (s) do (s) autor (es); 3. Endereço profissional de cada autor; 4. Palavras-chave (4 a 6 palavras, em ordem alfabética); 5. Título abreviado (até 50 letras); 6. Seção da Academia na qual se enquadra o artigo; 7. Indicação do nome, endereço, números de fax, telefone e endereço eletrônico do autor a quem deve ser endereçada toda correspondência e prova do artigo.

Agradecimentos. Devem ser inseridos no final do texto. Agradecimentos pessoais devem preceder os agradecimentos a instituições ou agências. Notas de rodapé devem ser evitadas; quando necessário, devem ser numeradas. Agradecimentos a auxílios ou bolsas, assim como agradecimentos à colaboração de colegas, bem como menção à origem de um artigo (e.g. teses) devem ser indicados nesta seção.

Abreviaturas. As abreviaturas devem ser definidas em sua primeira ocorrência no texto, exceto no caso de abreviaturas padrão e oficial. Unidades e seus símbolos devem estar de acordo com os aprovados pela ABNT ou pelo Bureau International des Poids et Mesures (SI).

Referências. Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. Artigos publicados e aceitos para publicação (no prelo) podem ser incluídos. Comunicações pessoais devem ser autorizadas por escrito pelas pessoas envolvidas. Referências a teses, abstracts de reuniões, simpósios (não publicados em revistas indexadas) e artigos em preparo ou submetidos mas ainda não aceitos, podem ser citados no texto como (Smith et al. unpublished data) e não devem ser incluídos na lista de referências.

As referências devem ser citadas no texto como, por exemplo, (Smith 2004), (Smith and Wesson 2005) ou, para três ou mais autores, (Smith et al. 2006). Dois ou mais artigos do mesmo autor no mesmo ano devem ser distinguidos por letras, e.g. (Smith 2004a), (Smith 2004b) etc. Artigos com três ou mais autores com o mesmo primeiro autor e ano de publicação também devem ser distinguidos por letras.

As referências devem ser listadas em ordem alfabética do primeiro autor sempre na ordem do sobrenome XY no qual X e Y são as iniciais. Se houver mais de 10 autores, use o primeiro seguido de et al. As referências devem ter o nome do artigo. Os nomes das revistas devem ser abreviados. Para as abreviações corretas, consultar a listagem de base de dados na qual a revista é indexada ou consulte a World List of Scientific Periodicals. A abreviatura para os Anais da Academia Brasileira de Ciências é An Acad Bras Cienc. Os seguintes exemplos são considerados como guia geral para as referências.

Artigos

ALBE-FESSARD D, CONDES-LARA M, SANDERSON P AND LEVANTE A. 1984a. Tentative explanation of the special role played by the áreas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. Adv Pain Res Ther 6: 167-182.

ALBE-FESSARD D, SANDERSON P, CONDES-LARA M, DELANDSHEER E, GIUFFRIDA R AND CESARO P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. An Acad Bras Cienc 56: 371-383.

KNOWLES RG AND MONCADA S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

PINTO ID AND SANGUINETTI YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-215.

Livros e Capítulos de Livros

DAVIES M. 1947. An outline of the development of Science, Athinker's Library, n. 120. London: Watts, 214 p.

PREHN RT. 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: NATIONAL CANCER CONFERENCE, 5, Philadelphia Proceedings, Philadelphia: J.B. Lippincott, p. 97-104.

UYTENBOGAARDT W AND BURKE EAJ. 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

WOODY RW. 1974. Studies of theoretical circular dichroism of Polipeptides: contributions of B-turns. In: BLOUTS ER ET AL. (Eds), Peptides, polypeptides and proteins, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.

Outras Publicações

INTERNATIONAL KIMBERLITE CONFERENCE, 5, 1991. Araxá, Brazil. Proceedings ... Rio de Janeiro: CPRM, 1994, 495 p.

SIATYCKI J. 1985. Dynamics of Classical Fields. University of Calgary, Department of Mathematics and Statistics, 55 p. Preprint n. 600.

Anexo II – Instruções aos autores para publicação na *Hydrobiologia*.

GENERAL

Hydrobiologia publishes original articles in the fields of limnology and marine science that are of interest to a broad and international audience. The scope of Hydrobiologia comprises the biology of rivers, lakes, estuaries and oceans and includes palaeolimnology and –oceanology, taxonomy, parasitology, biogeography, and all aspects of theoretical and applied aquatic ecology, management and conservation, ecotoxicology, and pollution. Purely technological, chemical and physical research, and all biochemical and physiological work that, while using aquatic biota as test–objects, is unrelated to biological problems, fall outside the journal's scope. THERE IS NO PAGE CHARGE, provided that manuscript length, and number and size of tables and figures are reasonable (see below). Long tables, species lists, and other protocols may be put on any web site and this can be indicated in the manuscript. Purely descriptive work, whether limnological, ecological or taxonomic, can only be considered if it is firmly embedded in a larger biological framework.

LANGUAGE

Manuscripts should conform to standard rules of English grammar and style. Either British or American spelling may be used, but consistently throughout the article. Conciseness in writing is a major asset as competition for space is keen.

EDITORIAL POLICY

Submitted manuscripts will first be checked for language, presentation, and style. Scientists who use English as a foreign language are strongly recommended to have their manuscript read by a native English–speaking colleague. Manuscripts which are substandard in these respects will be returned without review. Papers which conform to journal scope and style are sent to at least 2 referees, mostly through a member of the editorial board, who will then act as coordination editor. Manuscripts returned to authors with referee reports should be revised and sent back to the editorial as soon as possible. Final decisions on acceptance or rejection are made by the editor–in–chief. Hydrobiologia endeavours to publish any paper within 6 months of

acceptance. To achieve this, the number of volumes to be published per annum is readjusted periodically.

CATEGORIES OF CONTRIBUTIONS

There are four categories of contributions to *Hydrobiologia*:

[1.] Primary research papers generally comprise up to 25 printed pages (including tables, figures and references) and constitute the bulk of the output of the journal. These papers MUST be organized according to the standard structure of a scientific paper: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements, References, Tables, Figure captions.

[2.] Review papers, and Taxonomic revisions are long papers; prospective authors should consult with the editor before submitting such a long manuscript, either directly or through a member of the editorial board. Review papers may have quotations (text and illustrations) from previously published work, but authors are responsible for obtaining copyright clearance wherever this applies.

[3.] Opinion papers reflect authors' points of view on hot topics in aquatic sciences. Such papers can present novel ideas, comments on previously published work or extended book reviews.

Occasionally, regular volumes contain a special section devoted to topical collections of papers: for example, Salt Ecosystems Section and Aquatic Restoration Section.

MANUSCRIPT SUBMISSION

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all coauthors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has

been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

TITLE PAGE

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

TEXT

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

SCIENTIFIC STYLE

Authors are urged to comply with the rules of biological nomenclature, as expressed in the International Code of Zoological Nomenclature, the International Code of Botanical Nomenclature, and the International Code of Nomenclature of Bacteria. When a species name is used for the first time in an article, it should be stated in full, and the name of its describer should also be given. Descriptions of new taxa should comprise official repository of types (holotype and paratypes), author's collections as repositories of types are unacceptable.

Genus and species names should be in italics.

REFERENCES

References in the text will use the name and year system: Adam & Eve (1983) or (Adam & Eve, 1983).

For more than two authors, use Adam et al. (1982). References to a particular page, table or figure in any published work is made as follows: Brown (1966: 182) or Brown (1966: 182, fig. 2). Cite only published items; grey literature (abstracts, theses, reports, etc) should be avoided as much as possible.

Papers which are unpublished or in press should be cited only if formally accepted for publication. References will follow the styles as given in the examples below, i.e. journals are NOT abbreviated (as from January 2003), only volume numbers (not issues) are given, only normal fonts are used, no bold or italic.

Engel, S. & S. A. Nichols, 1994. Aquatic macrophytes growth in a turbid windswept lake. *Journal of Freshwater Ecology* 9: 97–109.

Horne, D. J., A. Cohen & K. Martens, 2002. Biology, taxonomy and identification techniques. In Holmes, J. A. & A. Chivas (eds), *The Ostracoda: Applications in Quaternary Research*. American Geophysical Union, Washington DC: 6–36.

Maitland, P. S. & R. Campbell, 1992. *Fresh Water Fishes*. Harper Collins Publishers, London.

Tatrai, I., E. H. R. R. Lammens, A. W. Breukelaar & J. G. P. Klein Breteler, 1994. The impact of mature cyprinid fish on the composition and biomass of benthic macroinvertebrates. *Archiv für Hydrobiologie* 131: 309–320.

TABLES

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art

Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, “A1, A2, A3, etc.” Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts.

Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book

chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Submission

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

Always use MPEG-1 (.mpg) format.

Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.

A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.

If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4". Name the files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”, “ESM_4.pdf”.

Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material

Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer’s web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color. Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you Will receive the proofs.

Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer’s online platform SpringerLink.

Springer Open Choice

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and Page numbers.

CHARGES FOR COLOUR FIGURES

Charges for colour figures (in print) are EUR 950/USD 1150 per article.

DOES SPRINGER PROVIDE ENGLISH LANGUAGE SUPPORT?

Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native

language and substantial editing would be required. In that case, you may want to have your manuscript edited by a native speaker prior to submission. A clear and concise language will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review process.

The following editing service provides language editing for scientific articles in: Medicine, biomedical and life sciences, chemistry, physics, engineering, business/economics, and humanities

Edanz Editing Global

Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication.

Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

DEVELOPMENTS IN HYDROBIOLOGY

The book series *Developments in Hydrobiology* reprints verbatim, but under hard cover, the proceedings of specialized scientific meetings which also appear in *Hydrobiologia*, with the aim of making these available to individuals not necessarily interested in subscribing to the journal itself. Papers in these volumes must be cited by their original reference in *Hydrobiologia*. In addition, *Developments in Hydrobiology* also publishes monographic studies, handbooks, and multi-author edited volumes on aquatic ecosystems, aquatic communities, or any major research effort connected with the aquatic environment, which fall outside the publishing policy of *Hydrobiologia*, but are printed in the same format and follow the same conventions. Guest editors of such volumes should follow the guidelines presented above and are responsible for all aspects of presentation and content, as well as the refereeing procedure and the compilation of an index. Prospective editors of special, subject-oriented volumes of *Hydrobiologia/Developments in Hydrobiology* are encouraged to submit their proposals to the editor-in-chief. www.springer.com/prod/s/DIHY