

Avaliação ultrassonográfica do aparelho reprodutor em serpentes vivíparas da família Boidae¹

Viviane C. Garcia^{2,3*}, Mirian H. Vac⁴, Leandro Badiglian⁵ e Selma M. Almeida-Santos^{2,6}

ABSTRACT- Garcia V.C., Vac M.H., Badiglian L. & Almeida-Santos S.M. 2015. [**Ultrasonographic evaluation of reproductive tract in viviparous snakes Boidae family.**] Avaliação ultrassonográfica do aparelho reprodutor em serpentes vivíparas da família Boidae. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 35(3):311-318. Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Avenida Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-270, Brasil. E-mail: viviane.garcia@butantan.gov.br

The reproduction is part of the animal life cycle allowing the perpetuation and conservation of the species. In snakes, there is a shortage of technical information about the reproductive cycle. The objective of this study was to evaluate the reproductive tract by ultrasonography in captive viviparous snakes of the Boidae family, allowing diagnose of the different reproductive stages. Eleven adult snakes of four species of the Boidae family were sonographically evaluated, *Eunectes murinus*, *Boa constrictor constrictor*, *Corallus hortulanus* and *Epicrates cenchria* belonging to the Biological Museum's collection of the Instituto Butantan, Sao Paulo Brazil. For the sonographic evaluation, snakes were contained physically with herpetologic hook and then manually for about 15 minutes. The evaluation was done by applying acoustic gel on the skin and positioning the transducer on the right and left side-ventral line, in the medial region of the body in the skull tail sense. Ultrasonography allowed the evaluation of the whole reproductive cycle in snakes. In sonographic evaluations of females were defined the stages of ovarian and oviductal development. The ovarian follicles during the pre-vitellogenic phase were visualized as homogeneous and anecogenic, in a "bunch of grapes" distribution. In the vitellogenic stage follicles were larger and more echogenic, following each other as a "string of pearls". When there was no copula, the follicles were reabsorbed in the ovary returning to pre-vitellogenic phase. In the post ovulatory phase were seen three well-defined stages of fetal development within the oviduct: 1) just after ovulation (and fertilization), only the vitellus was visualized; 2) occupied 60% of the vitellus fetus and 40% egg and 3) the fetus was formed and no vitellus. In males, the testicles were seen as a homogeneous and hypoechoic image during the reproductive stage. When the males were not on a reproductive state, it was impossible to visualize the testicle due to its size. The sonographic evaluation of the reproductive tract of snakes proved to be a safe diagnostic technique, noninvasive and allows the monitoring of reproductive phases.

INDEX TERMS: Ultrasound, reptiles, Boidae, reproduction, follicles and vitellogenesis.

¹ Recebido em 13 de outubro de 2014.

Aceito para publicação em 8 de março de 2015.

² Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-270, Brasil.

³ Museu Biológico, Instituto Butantan, São Paulo, Av. Vital Brazil 1500, Butantã, São Paulo, SP 05503-900, Brasil. *Autor para correspondência: viviane.garcia@butantan.gov.br

⁴ Instituto Veterinário de Imagem (IVI), Rua Agissê 128, Vila Madalena, São Paulo, SP 05439-010. E-mail: mvac@ig.com.br

⁵ Badiglian Medicina Veterinária Diagnóstica e Especialidades, Rua Doutor Costa Júnior, 484, Água Branca, São Paulo, SP 05002-000. E-mail: leandrobadiagian@yahoo.com

⁶ Laboratório de Ecologia e Evolução, Instituto Butantan, Av. Vital Brazil 1500, Butantã, São Paulo, SP 05503-900. E-mail: selma.santos@butantan.gov.br

RESUMO.- A reprodução faz parte do ciclo de vida dos animais permitindo a perpetuação e a conservação das espécies. Em serpentes, existe uma escassez de informações técnicas a respeito do ciclo reprodutivo. Este estudo teve o objetivo de avaliar o aparelho reprodutivo por meio da ultrassonografia em serpentes vivíparas cativas da família Boidae, permitindo diagnosticar as diferentes fases reprodutivas. Foram avaliadas ultrassonograficamente onze serpentes adultas de quatro espécies da família Boidae: *Eunectes murinus*, *Boa constrictor constrictor*, *Corallus hortulanus* e *Epicrates cenchria* pertencentes ao acervo do Museu Biológico do Instituto Butantan, São Paulo Brasil. Para a avaliação ultrassonográfica, as serpentes foram contidas fisicamente com gancho herpetológico e depois manualmente por aproximadamente 15 minutos. A avaliação foi feita aplicando-se gel acústico sobre a pele e posicionando o transdutor na linha lateral-ventral direita e esquerda, em região medial do corpo em sentido crânio-caudal. O exame ultrassonográfico permitiu avaliar todo o ciclo reprodutivo nas serpentes. Nas avaliações ultrassonográficas das fêmeas pode-se definir as fases de desenvolvimento ovariano e ovidutal. Os folículos ovarianos durante a fase pré-vitelogênica foram visualizados como homogêneos e anecogênicos, em forma de “cacho de uva”. Já na fase vitelogênica, os folículos estavam maiores e mais ecogênicos seguidos uns dos outros, como um “colar de pérolas”. Quando não houve cópula, os folículos foram reabsorvidos dentro do ovário retornando a fase pré-vitelogênica. Na fase pós-ovulatória foram visualizados três estágios bem definidos de desenvolvimento fetal dentro do oviduto: 1) logo após a ovulação (e fecundação), somente o vitelo foi visualizado; 2) o vitelo ocupava 60% e o feto 40% do ovo e 3) o feto estava formado e não havia vitelo. Nos machos, os testículos foram visualizados como uma imagem homogênea e hipocogênica quando se encontravam em estágio reprodutivo. Quando não estavam reprodutivos não era possível visualizar a imagem do testículo devido ao seu tamanho. A avaliação ultrassonográfica do aparelho reprodutor em serpentes demonstrou ser uma técnica de diagnóstico segura, não invasiva e que permite o acompanhamento das principais fases reprodutivas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Ultrassonografia, répteis, Boidae, reprodução, folículos e vitelogênese.

INTRODUÇÃO

As serpentes são animais com grande atratividade nos zoológicos devido ao seu tamanho, suas cores aposemáticas ou mesmo por suas características morfológicas peculiares. Estas características juntas criam uma imensa expectativa entre os visitantes atuais (Maresová & Frynta 2008). A manutenção das serpentes em cativeiro tem promovido um grande conhecimento do ciclo da vida: desde a sua biologia até os processos reprodutivos (Langlada, Santos & Ferreira 1994, Silva et al. 2014). Dentro do grupo dos répteis, a reprodução das serpentes é uma fonte de interesse para estudos, pois são animais com grande variabilidade reprodutiva, podendo ser ovíparas ou vivíparas (Stahlschmidt, Brashears & Denardo 2011).

As maiores serpentes da América Neotropical são da família Boidae. São serpentes de corpo robusto com uma musculatura bem desenvolvida; a cabeça é triangular e a pele é coberta por escamas pequenas e irregulares. Matam suas presas por constrição e sua dentição é áglifa (Puerto & França 2009). Possuem esporões, vestígios de cintura pélvica, presença de coronóide na mandíbula e pulmão esquerdo desenvolvido (Gomes et al. 1989). Vivem em uma diversidade de habitats, podendo ser aquáticas, semi-arborícolas e arborícolas (Pizzatto, 2006). No Brasil, as serpentes da família Boidae são representadas por quatro gêneros: *Eunectes*, *Boa*, *Corallus* e *Epicrates* (Noonan & Chippindale 2006).

A serpente *Eunectes murinus*, conhecida como sucuri tem porte avantajado podendo chegar até 10 metros de comprimento (Haddad et al. 2012). As fêmeas são consideradas adultas a partir dos 3,6 metros e os machos dos 2,2 metros (Pizzatto 2006). Em média, as fêmeas adultas variam de 4 a 5 metros de comprimento com massa de 50 a 100 kg (Belluomini & Hoge, 1957/58, Belluomini et al. 1976/77). A serpente *Boa constrictor constrictor* conhecida como jiboia é um animal de médio a grande porte, podendo chegar a 4 metros de comprimento. Tem um corpo volumoso com uma forte musculatura constritora (Peters & Orejas-Miranda 1970, Gomes et al. 1989). São consideradas adultas quando atingem 2 metros de comprimento tanto no macho quanto na fêmea (Pizzatto 2006). A serpente *Corallus hortulanus*, conhecida como suaçubóia, possui uma grande variedade de cores e padrões de amarelo, cinza e marrom é relativamente mais leve, alongada, com o corpo achatado lateralmente, cauda longa e olhos grandes (Henderson 1997). É uma espécie arborícola que atinge sua maturidade sexual a partir de 1,2 metros, podendo posteriormente chegar até 1,8 metros (Wagner 2006, Pizzatto 2006). Já a serpente *Epicrates cenchria* conhecida como jiboia vermelha atinge a maturidade sexual com 1,5 metros (Passos 2003, Pizzatto 2006). Esses animais vivem em florestas ou áreas devastadas, têm atividade diurna e noturna, são de porte médio, sendo alongados e pouco robustos (Martins & Oliveira 1999).

Como o exame físico é limitado para os répteis, torna-se complicado o processo semiológico dos órgãos internos. Avaliações do estado reprodutivo por monitoração comportamental ou mudanças físicas na configuração externa não são métodos confiáveis (Casares, Rübél & Honegger 1997).

A ultrassonografia é um dos melhores métodos de precisão para diagnóstico não invasivo, causando mínimos incômodos e permitindo avaliar a anatomia, a localização e a textura dos órgãos. Além disso, a condição e a dinâmica reprodutiva podem ser avaliadas em todas as estações do ano (Schumacher & Toal 2001, Gilman & Wolf 2007, Bonnet et al. 2008). É um método seguro para a mãe, para os embriões, fetos e para o investigador; e pode ser repetida em todo o período gestacional, havendo só a necessidade de contenção manual (Denardo 2006). A acurácia do exame depende do conhecimento da anatomia, do aparelho e do operador (Isaza, Ackerman & Jacobson 1993, Nyland, Matton & Wisner 1995). Durante a avaliação ultrassonográfica do sistema reprodutivo são visualizados folículos pré-vitelogênicos, vitelogênicos, recém-ovulados e eventos pós-ovulatórios (Martin de Camilo & Asa 1999). Em todas

as espécies, os folículos pré-vitelogênicos e vitelogênicos tem a forma esférica e inicialmente ecoluscentes (anecogênicos) e progressivamente mais ecogênicos (hiperecogênicos) (Denardo 2006). Por meio do exame ultrassonográfico, os folículos na fase pré-vitelogênica são visualizados como arredondados, homogêneos e anecogênicos encontrando-se posicionados como “cacho de uva”, no formato de pequenas esferas anecogênicas. Já os folículos na fase vitelogênica são visualizados como esféricos e progressivamente mais ecogênicos (imagem branca), até tornarem-se heterogêneos e hiperecogênicos posicionando-se como um “colar de pérolas”. Já os folículos recém-ovulados e os ovos são linearmente posicionados e ocupam a parte caudal da metade da serpente. Os ovos do meio e do final da fase de gestação são localizados dentro do oviduto com a forma alongada e ecogênica (Denardo 2006). Quando os embriões crescem dentro do saco amniótico podem ser visualizados como uma pequena esfera anecogênica na periferia da grande massa de vitelo hiperecogênica (Isaza, Ackerman & Jacobson 1993, Denardo 2006).

As técnicas do exame ultrassonográfico não são complexas, mas torna-se necessário o uso de equipamento de alta resolução. Para pequenos répteis são necessários transdutores de 7,0 a 10,0 MHz e para grandes de 5,0 MHz (Schumacher & Toal 2001).

Nesse contexto, a avaliação ultrassonográfica permitiu acompanhar e avaliar as grandes serpentes vivíparas da família Boidae, descrevendo as imagens ultrassonográficas do ciclo reprodutivo possibilitando um aumento do conhecimento da morfologia dessas espécies, contribuindo assim para a manutenção e conservação.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido conforme os critérios aprovados sob o número 2643/2012 pela Comissão de Ética e uso de animais da FMVZ-USP, aprovado em 16/05/2012.

As serpentes foram escolhidas e avaliadas de acordo com a disponibilidade de animais adultos da família Boidae pertencente ao acervo do Museu Biológico do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil. Um total de onze serpentes vivíparas de quatro espécies da família Boidae: três *Eunectes murinus* (um macho e duas fêmeas), duas *Boa constrictor constrictor* (um macho e uma fêmea), três *Corallus hortulanus* (um macho e duas fêmeas) e três *Epicrates cenchria* (dois machos e uma fêmea). Todas as serpentes avaliadas eram adultas, com idade entre quatro a quinze anos e média de 9,5 anos de cativeiro, com comprimento de 168 a 397 cm (\pm 282,5) e massa de 680 a 30.000g (\pm 15.340g). O Quadro 1 mostra os dados biométricos das serpentes avaliadas tais como: tempo em cativeiro, sexo, tamanho (cm) e massa (g).

Para a avaliação ultrassonográfica, as serpentes foram contidas fisicamente com gancho herpetológico e depois mantidas manualmente por aproximadamente 15 minutos. A avaliação foi feita aplicando-se gel acústico sobre a pele e posicionando o transdutor na linha lateral-ventral direita e posteriormente esquerda, na região medial do corpo em sentido crânio – caudal (Fig. 1).

Foram usados vários aparelhos ultrassonográficos e transdutores para realização dos exames, além do Doppler Colorido. Para as serpentes mais robustas e maiores (*Eunectes murinus* e *Boa constrictor constrictor*) foi usado o transdutor convexo, micro-convexo e o linear. Já para as serpentes menores (*Corallus hortulanus* e *Epicrates cenchria*) foi usado apenas o transdutor linear. O

Quadro 1. Serpentes da família Boidae, avaliadas ultrassonograficamente no MIB*

Espécie	Sexo	Tempo de cativeiro (anos)	Tamanho (cm)	Massa (g)
<i>Eunectes murinus</i>	Macho	5	260	7.000
	Fêmea	8	395	30.000
	Fêmea	11	397	28.000
<i>Boa c. constrictor</i>	Macho	15	210	6.500
	Fêmea	15	350	10.000
<i>Corallus hortulanus</i>	Macho	6	150	400
	Fêmea	5	170	700
	Fêmea	7	168	680
<i>Epicrates cenchria</i>	Macho	4	175	1.300
	Macho	4	174	1.200
	Fêmea	4	170	1.000

*Museu Biológico do Instituto Butantan.



Fig.1. Posicionamento do transdutor no plano sagital medial esquerdo da cavidade celomática de uma fêmea de serpente (*Eunectes murinus*), para realização do exame ultrassonográfico. (Cr = cranial, Cd = caudal).

Quadro 2 resume as informações sobre os aparelhos ultrassonográficos e transdutores utilizados para cada espécie de serpente da família de Boidae.

Quadro 2. Aparelhos ultrassonográficos e transdutores utilizados para cada espécie de serpente da família de Boidae

Marca do aparelho	Transdutor	Frequência	Espécie de serpente
Fukuda Denshi	FUT - C111 (convexo)	3,5 - 5,0 MHz	<i>Eunectes murinus</i>
	FUT - L106 (linear)	7,5 MHz	<i>Boa c. constrictor</i> , <i>Corallus hortulanus</i>
Cimex - Esaote	CA 541 (convexo)	1-8 MHz	<i>Eunectes murinus</i> , <i>Boa c. constrictor</i>
	CA 431 (convexo)	1- 8 MHz	<i>Eunectes murinus</i> , <i>Boa c. constrictor</i>
	CA 123 (micro-convexo)	4-8 MHz	<i>Eunectes murinus</i> , <i>Boa c. constrictor</i>
	LA332 (linear)	3 -10 MHz	<i>Eunectes murinus</i> , <i>Boa c. constrictor</i> , <i>Epicrates cenchria</i>
	LA 523 (linear)	4-13 MHz	<i>Boa c. constrictor</i> , <i>C. hortulanus</i> , <i>E. cenchria</i>
GE	Convexa 3 -5C (convexo)	3 -5MHz	<i>Boa c.constrictor</i>
	Linear 2L (linear)	5 -12MHz	<i>Corallus hortulanus</i>
Philips	L7-4 (linear)	4-7 MHz	<i>Corallus hortulanus</i>

Nas fêmeas, para realizar a varredura, o transdutor foi colocado na região medial, movimentando-o no sentido crânio-caudal para localizar a vesícula biliar, com formato piriforme, anecogênica e homogênea, considerada uma referência anatômica para localizar o ovário direito. Já o ovário esquerdo foi encontrado distal ao ovário direito. Nas fêmeas em gestação, o transdutor foi colocado na região medial visualizando a vesícula biliar como o ponto de referência anatômica e em sentido caudal aos fetos dentro do oviduto.

Nos machos, para a abordagem ultrassonográfica testicular, o transdutor foi colocado na região medial para localizar a vesícula biliar e caudalmente a ela, os testículos apresentaram-se como uma estrutura alongada e com extremidades sutilmente arredondadas, homogêneas e hipocogênicas. Caudalmente aos testículos, o rim aparece como uma imagem alongada, hiperecogênica com áreas lineares hipocogênicas no sentido dorsoventral em permeio. Portanto os testículos estão posicionados entre a vesícula biliar e o rim, que podem ser utilizados como referências anatômicas.

RESULTADOS

A vesícula biliar foi localizada na região medial das fêmeas, visualizada com formato piriforme, anecogênica e homogênea, e os folículos caudalmente em forma de esferas (Fig.2A, B).

Nas fêmeas, os maiores folículos pré-vitelogênicos (Fig. 3A e B) foram reconhecidos como pequenas esferas agrupa-

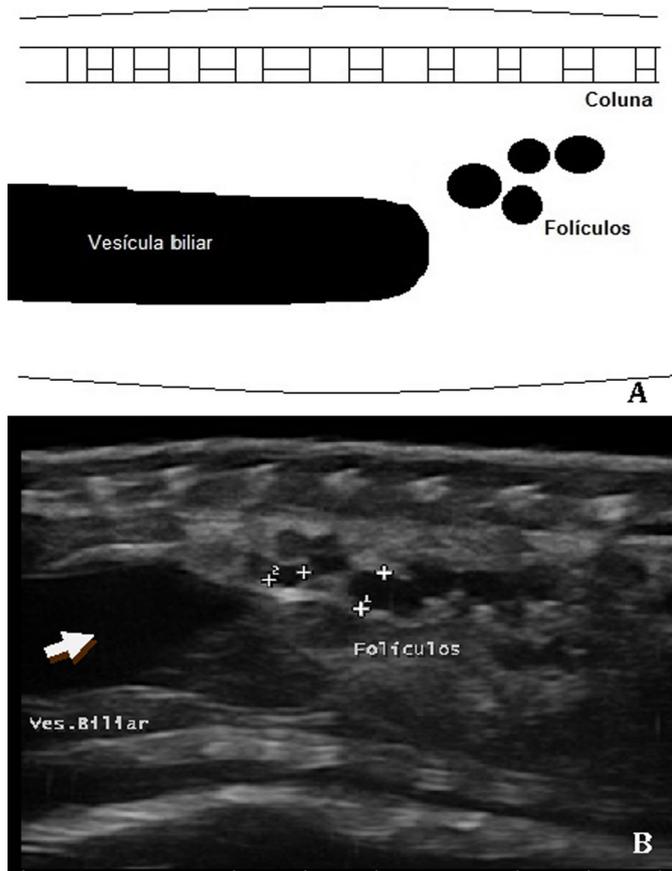


Fig.2. (A) Esquema de plano de imagem sagital, visualizando a vesícula biliar, folículos ovarianos e coluna vertebral em região medial; (B) Imagem ultrassonográfica do ovário de *Epicrates cenchria*, visualizando a vesícula biliar em região medial (seta branca) anecogênica e os folículos ovarianos homogêneos e anecogênicos.

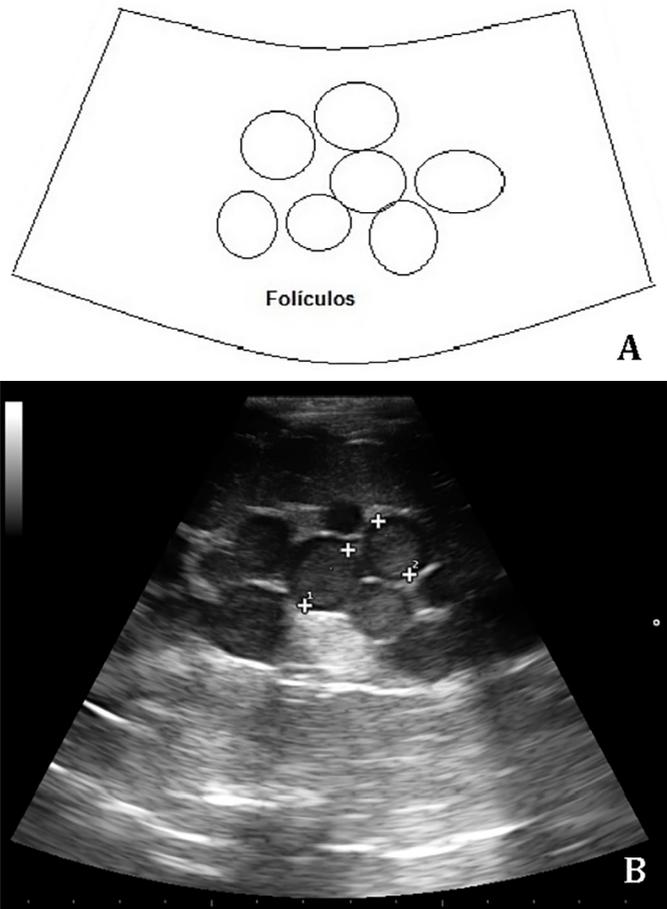


Fig.3. (A) Esquema de plano de imagem sagital de folículos ovariano em pré-vitelogênese; (B) Imagem ultrassonográfica da serpente (*Eunectes murinus*), visualizando os folículos ovarianos em pré-vitelogênese, homogêneos e hipocogênicos.

Quadro 3. Avaliação ultrassonográfica do maior tamanho dos folículos e dos ovos com embriões das fêmeas e do tamanho dos testículos dos machos das serpentes da família Boidae pertencentes ao MIB*

Espécie	Tamanho dos folículos		Tamanho dos ovos (cm)			Testículos (cm)	
	pré vitelo-gênicos (cm)	vitelo-gênicos (cm)	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Ativos	Inativos
<i>Eunectes murinus</i>	0,90-2,10	2,60-5,70	0 ^a	0 ^a	0 ^a	6,2	0 ^a
<i>Boa c. constrictor</i>	0,60-1,60	2,00-2,40	0 ^b	0 ^b	8	8,7	7
<i>Corallus hortulanus</i>	1,00-2,50	2,50-4,00	2,6	5	8	0 ^b	0 ^a
<i>Epicrates cenchria</i>	0,40-1,37	1,60-2,00	4,2	5,65	8,43	6,1	4,4

*Museu Biológico do Instituto Butantan. ^a Sem visualização, ^b não examinado.

das (em forma de “cacho de uva”) visualizadas anecogênicas ou hipocogênicas e homogêneas, medindo de 0,40 – 2,50cm (Quadro 3) e desvio padrão entre 0,48 e 0,85 (Quadro 4). Os maiores folículos vitelogênicos (Fig. 4A e B) foram visualizados maiores e hiperecogênicos seguidos uns dos outros (em forma de “colar de pérolas”), medindo de 1,60-5,70cm (Quadro 3) e desvio padrão entre 0,2 e 2,19 (Quadro 4).

Na fase pós-vitelogênese e após a fecundação, considerando-se o processo gestacional foram visualizados três fases (início, meio e fim) bem definidas de desenvolvimento fetal dentro do oviduto: 1) Início: logo após a ovulação (e fecundação), somente o vitelo foi visualizado (Fig.5A e D) - imagem homogênea e hiperecogênica (4,00-6,00cm); 2) Meio: nesta fase o vitelo foi visualizado em 60%, ocupando praticamente mais da metade do ovo e um pequeno embrião foi visualizado em 40% (Fig.5B e E) - imagem visualizada como uma porção homogênea e hiperecogênica

Quadro 4. Média e Desvio Padrão do tamanho dos folículos pré-vitelogênicos e vitelogênicos das serpentes da família Boidae pertencentes ao MIB*

Espécie	Tamanho dos folículos			Tamanho dos folículos		
	Pré-vitelogênicos (cm)	Média	Desvio Padrão	Vitelogênicos (cm)	Média	Desvio Padrão
<i>Eunectes murinus</i>	0,9 2,1	1,5	0,848528137	2,6 5,7	4,15	2,192031022
<i>Boa c. constrictor</i>	0,6 1,6	1,1	0,5	2 2,4	2,2	0,2
<i>Corallus hortulanus</i>	1 2,5	1,75	0,75	2,5 4	3,25	0,75
<i>Epicrates cenchria</i>	0,4 1,37	0,885	0,485	1,6 2	1,8	0,2

* Museu Biológico do Instituto Butantan.

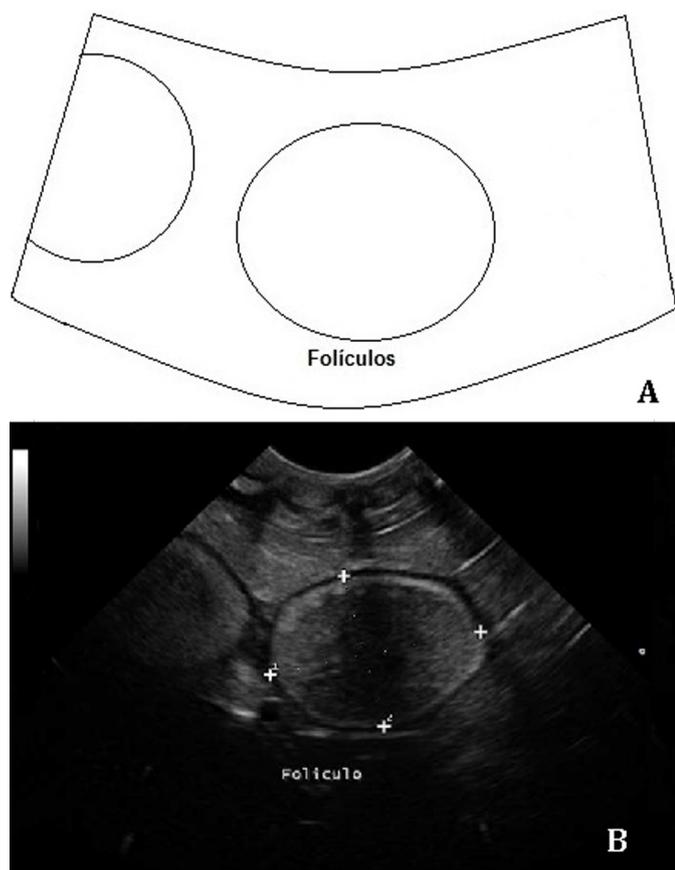


Fig.4. (A) Esquema de plano de imagem sagital de folículos ovarianos em vitelogênese; (B) Imagem ultrassonográfica da serpente *Eunectes murinus*, visualizando os folículos ovarianos em vitelogênese, heterogêneos e hiperecogênicos.

(vitelo) e uma imagem tubular com uma região periférica hiperecogênica (feto) e 3) Fim: nessa fase o feto está formado e não há vitelo (Fig.5C e F) - imagem visualizada do feto bem calcificado (coluna vertebral). Nesta última fase de desenvolvimento foi possível visualizar os batimentos cardíacos e fluxo sanguíneo ao mapeamento com o Doppler Colorido (Fig.6). Os tamanhos variaram de acordo com o tamanho da espécie. Na fase 1, os tamanhos dos ovos em desenvolvimento foram: 2,60cm (*Corallus hortulanus*), e 4,20cm (*Epicrates cenchria*). Na fase 2: 5,00cm (*Corallus hortulanus*), e 5,65cm (*Epicrates cenchria*) e na fase 3: 8,00cm (*Boa c. constrictor*); 8,00cm (*Corallus hortulanus*), e 8,43cm (*Epicrates cenchria*). Não houve desenvolvimento fetal de *Eunectes murinus*. A fase 1 e 2 de desenvolvimento fetal não foram avaliadas em *Boa c. constrictor* (Quadro 3).

Nos machos, os testículos estavam homogênicos e hipocogênicos (Fig.7A, B, seta branca). Foram visualizados caudalmente à vesícula biliar e cranialmente ao rim (imagem hiperecogênica), com a forma alongada e extremidades sutilmente arredondadas. Na época reprodutiva, apresentaram-se simétricos, com contornos regulares e definidos, parênquima homogêneo e medindo 6,20cm de comprimento (*Eunectes murinus*); 8,70cm (*Boa c. constrictor*) e 6,10cm (*Epicrates cenchria*). A *Corallus hortulanus* não foi examinada nessa fase. Já na época não reprodutiva, os órgãos apresentaram dimensões menores de comprimento ou não foram visualizados. Em *Eunectes murinus* e *Corallus hortulanus* não foram visualizados. Em *Boa c. constrictor* mediu 7,00cm e em *Epicrates cenchria* mediu 4,40cm (Quadro 3).

DISCUSSÃO

A avaliação ultrassonográfica foi feita em onze serpentes adultas, de quatro espécies, entre machos e fêmeas pertencentes ao acervo do Museu Biológico. Para as serpentes maiores *Eunectes* e *Boa* foram utilizados três transdutores: convexo e micro convexo para a avaliação da cavidade celomática e linear para a contagem dos ovos. Devido a serem animais maiores e mais robustos houve a necessidade de utilização de vários transdutores. Para as serpentes menores, menos robustas e mais esbeltas: *Corallus* e *Epicrates* foram usados somente o transdutor linear. Os transdutores de frequência mais baixa de 3,5 a 5MHz (convexo e micro-convexo) foram utilizados para as serpentes maiores, pois alcançam profundidades entre 12 a 18cm. Os transdutores de frequência mais alta (lineares) de 5 a 7,5 MHz foram utilizados para as serpentes menores, pois alcançam profundidades entre 8 e 12cm.

O transdutor linear também foi utilizado para a contagem de ovos e fetos em desenvolvimento devido a maior precisão, pois produzem imagens com áreas próximas da superfície, permitindo uma melhor visualização das imagens e medidas mais precisas durante a gestação. Já o transdutor convexo foi utilizado para as serpentes maiores, que são mais alongadas, permitindo imagens com uma angulação mais ampla e uma área maior.

Na avaliação ultrassonográfica do sistema reprodutivo das onze serpentes, tanto dos machos quanto das fêmeas, a vesícula biliar apresentou-se como uma referência ana-

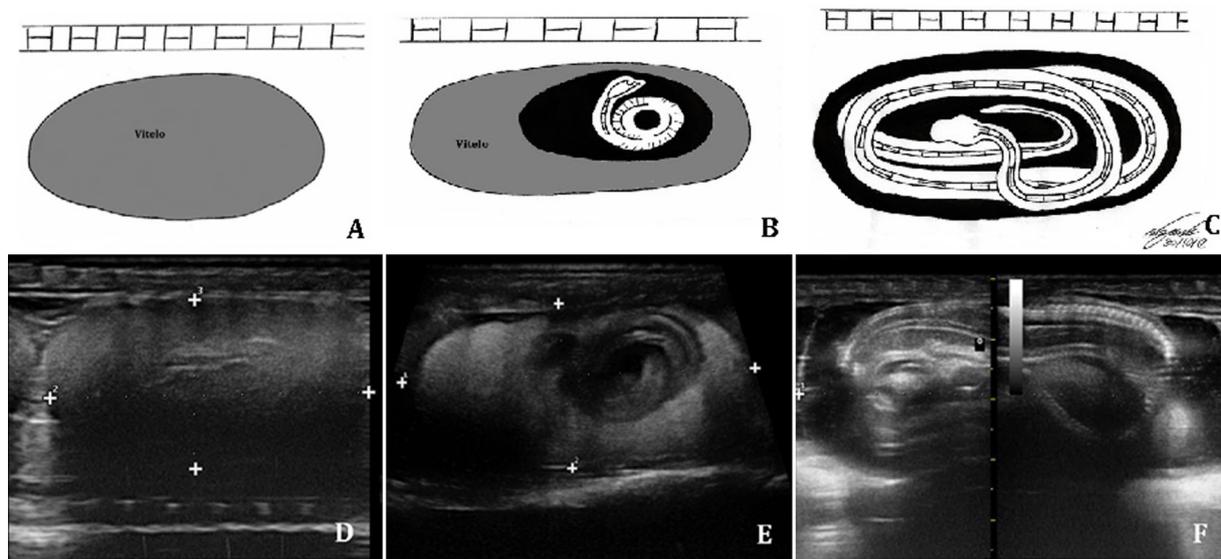


Fig.5. Desenho esquemático do plano de imagem sagital de desenvolvimento de feto dentro do oviduto (A-C). Imagem ultrassonográfica do processo gestacional dentro do oviduto da serpente *Epicrates cenchria* (D-F). (A) Ovo com vitelo; (B) Ovo com vitelo abundante e pequeno feto; (C) Ovo com feto formado sem vitelo; (D) Estrutura ovalada homogênea e hiperecogênica, medindo 4,10x2,20 cm com formação do tubo neural; (E) Estrutura ovalada, medindo 5,6x2,6cm, porção homogênea e porção hiperecogênica - vitelo e imagem de embrião envolto na bolsa amniótica com região periférica hiperecogênica - feto; (F) Estrutura ovalada, medindo 8,40cm, ovo com feto bem calcificado - coluna vertebral. Desenho: Victor F. Czank.



Fig.6. Imagem ultrassonográfica com Doppler Colorido do fluxo sanguíneo do feto da serpente *Epicrates cenchria* em final de gestação.

tômica para delimitar os órgãos reprodutivos, possuindo uma imagem padrão que corroborou com Denardo (2006).

Em todas as fêmeas estudadas, os folículos apresentaram-se como estruturas esféricas e ovóides localizando-se lateralmente no meio do corpo. Houve um padrão de estrutura e imagem. Os folículos pré-vitelogênicos encontraram-se agrupados e posicionados, com imagem homogênea e hipocogênica. Os folículos vitelogênicos estavam heterogêneos e hiperecogênicos. Os folículos pré-vitelogênicos seguiram um tamanho médio de 1,3cm, havendo um desvio

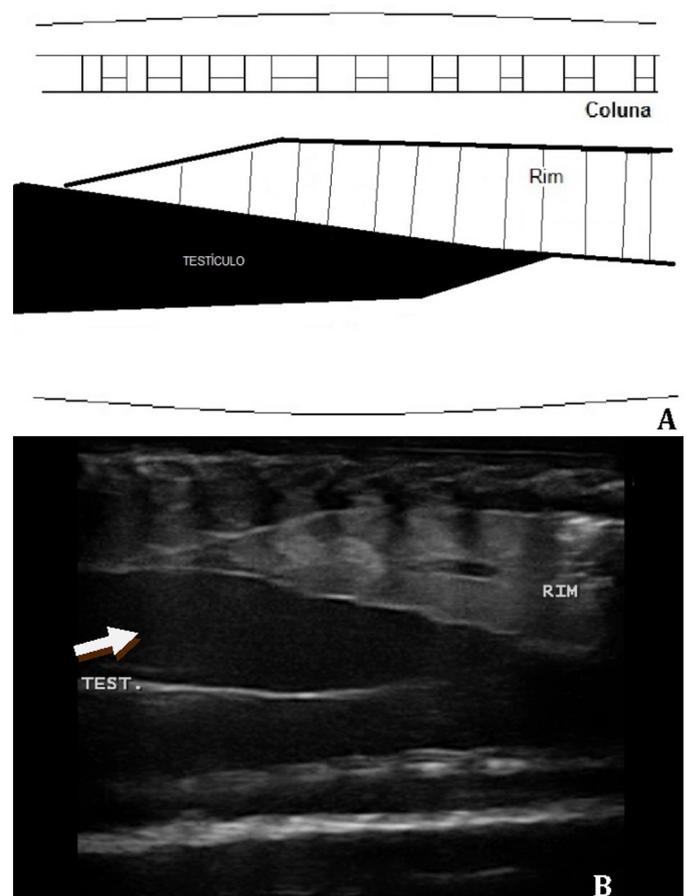


Fig.7. Imagem ultrassonográfica do testículo em serpente *Epicrates cenchria*. (A) Esquema de plano de imagem sagital de testículo e rim em serpentes; (B) Imagem ultrassonográfica de testículo homogêneo e hipocogênico (seta) localizado cranialmente ao rim hiperecogênico.

padrão pequeno entre todas as espécies. A maior variação ocorreu em *Corallus hortulanus* e a menor em *Epicrates cenchria*. Para *Boa c. constrictor* o maior folículo pré-vitelogênico chegou a medir 1,6cm. Já os folículos vitelogênicos da *Eunectes murinus* apresentaram um desvio padrão maior do que as outras espécies. Isto provavelmente indica que o tamanho dos folículos na fase vitelogênica está relacionado ao tamanho da espécie.

No início do processo gestacional, o diagnóstico foi limitado e impreciso devido a pouca visualização do feto em desenvolvimento. As bolsas gestacionais estavam relativamente homogêneas e não existiam características identificáveis que permitiam um diagnóstico definitivo. No meio da gestação, o feto já pode ser visualizado e já existia uma precisão no diagnóstico. O feto foi encontrado lateralmente dorsal ao corpo. A bolsa amniótica estava repleta de líquido amniótico e podia ser visualizada como uma imagem hipocogênica em torno do embrião (hiperecogênico). Na última fase de desenvolvimento, o embrião já tem movimentos e batimentos cardíacos e visualizam-se estruturas de esqueleto como o crânio e a coluna vertebral. Com o Doppler Colorido foi possível visualizar o fluxo sanguíneo e os batimentos cardíacos. Nesta fase de desenvolvimento, o vitelo e as membranas fetais e líquidos (imagem hipocogênica) que circundam o feto quase não eram observados. No último mês de desenvolvimento, os fetos ficam muito juntos dentro da cavidade celomática havendo uma dificuldade para quantificá-los.

Nos machos, na época reprodutiva os testículos atingiram os maiores comprimentos e foram visualizados. Na fase não reprodutiva, os testículos atingiram tamanhos menores ou não eram visualizados como avaliados nas serpentes *Eunectes murinus* e *Corallus hortulanus*. Os testículos regredem durante a estação não reprodutiva e são considerados não reprodutivos quando não são visualizados (Gartrell et al. 2002, Stetter 2006). Somente podem ser visualizados na época reprodutiva (Schumacher & Toal 2001, Holland et al. 2008) e geralmente as gônadas se desenvolvem tornando-se aparentes, delgadas e com uma forma fusiforme dependendo da espécie avaliada (Schilliger 2010).

CONCLUSÕES

A avaliação ultrassonográfica do aparelho reprodutor das serpentes da família Boideu permitiu identificar as mudanças nos órgãos durante o ciclo reprodutivo.

Com esta técnica, nas fêmeas, foram determinados o tamanho e a forma dos folículos, dos ovos e embriões, permitindo dados mais precisos.

Por meio das imagens foi determinado um padrão de exame das fêmeas nas fases reprodutivas, avaliando-se as fase de desenvolvimento ovariano e ovidutal.

Na fase ovariana foram determinadas as fases pré-vitelogênica e vitelogênica.

Já na fase ovidutal foram determinados as fases de desenvolvimento fetal, conhecendo-se o início, o meio e o final da gestação.

Nos machos, a influência da época reprodutiva determinou o maior tamanho dos testículos e a visualização das imagens.

Assim, este estudo permitiu avaliar o aparelho reprodutivo das serpentes da família Boidae, em todas as fases do ciclo reprodutivo.

Tal procedimento pode ser ampliado e utilizado para outras espécies de serpentes.

Agradecimentos.- A Giuseppe Puerto, Alberto Gusukuma, Leonardo Gusukuma, ao Prof. Dr. Stefano Hagen, a Ana Paula Moraes, Victor F. Czank, ao IVI (Instituto Veterinário de Imagem), aos estagiários e funcionários do Museu Biológico e do Laboratório de Ecologia e Evolução do Instituto Butantan.

REFERÊNCIAS

- Belluomini H.E. & Hoge A.R. 1957/58. Contribuição à biologia de *Eunectes murinus* (Linnaeus, 1758), serpentes: observações sobre hábitos alimentares de "sucuris" e, cativo. Mem. Inst. Butantan 28:207-216.
- Belluomini H.E., Veinert T., Dissmann F., Hoge A.R. & Penha A.M. 1976/77. Notas biológicas a respeito do gênero *Eunectes* Wagler, 1830 "Sucuris" (Serpentes: Boinae). Mem. Inst. Butantan 40/41:79-115.
- Bertona M. & Chiaraviglio M. 2003. Reproductive biology, mating aggregations, and sexual dimorphism of the Argentine boa constrictor (*Boa constrictor occidentalis*). J. Herpet. 37(3):510-516.
- Bonnet X., Akoka S., Shine R. & Pourcelot L. 2008. Disappearance of eggs during gestation in a viviparous snake (*Vipera aspis*) detected using non-invasive techniques. Acta Herpetol. 3(2):129-137.
- Casares M., Rübél A. & Honegger R.E. 1997. Observations on the reproductive cycle of captive giant tortoises (*Geochelone* spp.) using ultrasound scanning. J. Zoo Wildl. Med. 28(3):267-273.
- Carvalho C.F. 2004. Técnicas de varredura da cavidade abdominal, p.15-16. In: Carvalho C.F. (Ed.), Ultra-sonografia em Pequenos Animais. Roca, São Paulo.
- Denardo D. 2006. Reproductive biology, p.376-390. In: Mader D.R. (Ed.), Reptile Medicine and Surgery. 2nd ed. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Gartrell B.D., Girling J.E., Edwards A. & Jones S.M. 2002. Comparison of noninvasive methods for the evaluation of female reproductive condition in a large viviparous lizard, *Tiliqua nigrolutea*. Zoo Biol. 21:253-268.
- Gilman C.A. & Wolf B.O. 2007. Use of portable ultrasonography as a non-destructive method for estimating reproductive effort in lizards. J. Exp. Biol. 210:1859-1867.
- Gomes N., Puerto G., Buononato M.A. & Ribeiro M.F.M. 1989. Atlas Anatómico de *Boa constrictor* Linnaeus, 1758 (Serpentes; Boidae). Monogr. Inst. Butantan, São Paulo. 59p.
- Haddad Jr V., Puerto G., Cardoso J.L.C. & Duarte M.R. 2012. Sucuris: biologia, conservação, realidade e mitos de uma das maiores serpentes do mundo. Technical Books Editora, Rio de Janeiro. 82p.
- Henderson R.W. 1997. A taxonomic review of the *Corallus hortulanus* complex of neotropical tree boas. Carib. J. Sci. 33 (3/4):198-221.
- Holland M.F., Hernandez-Divers S. & Frank P.M. 2008. Ultrasonographic appearance of the coelomic cavity in healthy green iguanas. J. Am. Vet. Med. Assoc. 233(4):590-596.
- Isaza R., Ackerman N. & Jacobson E.R. 1993. Ultrasound imaging of the coelomic structures in the *Boa constrictor* (*Boa constrictor*). Vet. Radiol. Ultrasound 34(6):445-450.
- Langlada F.G., Santos S. & Ferreira I.L.L. 1994. Techniques of artificial insemination in *Crotalus durissus terrificus* (Viperidae-Crotalinae). Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 31(2):141-144.
- Maresová J. & Frynta D. 2008. Noah's Ark is full of common species attractive to humans: the case of boid snakes in zoos. Ecol. Econ. 64:554-558.
- Martin de Camilo J.E. & Asa C.S. 1999. Comparative ovarian dynamics of the Brazilian Rainbow Boa (*Epicrates cenchria cenchria*) and the ball python (*Python regius*). Twelfth Annual Meeting Missouri Herpetological Association, Louisiana, Missouri, 12:6. (Resumo)
- Martins M. & Oliveira M.E. 1999. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. Herpetol. Nat. Hist. 2(6):78-150.

- Matayoshi P.M., Souza P.M., Júnior R.S.F., Prestes N.C. & Santos R.V. 2012. Avaliação ultrassonográfica da cavidade celomática de serpentes. *Vet. Zootec.* 19(4):448-459.
- Neto F.C.P., Guerra P.C., Costa F.B., Araújo A.V.C., Miglino M.A., Bombonato P.P., Vulcano L.C. & Alves F.R. 2009. Ultra-sonografia do fígado, aparelho renal e reprodutivo da jibóia (*Boa constrictor*). *Pesq. Vet. Bras.* 29(4):317-321.
- Noonan B.P. & Chippindale P.T. 2006. Dispersal and vicariance: The complex evolutionary history of boid snakes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 40:347-358.
- Nyland T.G., Mattoon J.S. & Wisner E.R. 1995. Physical principles, instrumentation, and safety of diagnostic ultrasound, p.3-18. In: Mattoon J.S. & Nyland T.G. (Eds), *Veterinary Diagnostic Ultrasound*. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Passos P. 2003. Sistemática do complexo *Epicrates cenchria* (Linnaeus, 1758) com aproximações sobre a filogenia de *Epicrates* Wagler, 1830 (Serpentes: Boidae). Dissertação de Mestrado em Zoologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 117p.
- Peters J.A. & Orejas-Miranda B. 1970. Catalogue of the Neotropical Squamata. 1. Snakes. *Bull. U.S. Nat. Mus.* 297:114-115
- Puerto G. & França F.O.S. 2009. Serpentes não peçonhentas e aspectos clínico dos acidentes, p.124-129. In: Cardoso J.L.C., França F.O.S., Wen F.H., Málaque C.M.S., Haddad Jr V. (Eds), *Animais Peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*. 2ª ed. Sarvier Editora de Livros Médicos, São Paulo.
- Schilliger L.H. 2010. Ultrasound examination in reptiles: restraint, positioning, artifacts and patient examination. Paris, France. Disponível em <http://clinvet-auteuil.com/IMG/pdf/LS-Ultrasound.pdf> Acesso em 29 out. 2012.
- Schumacher J. & Toal R.L. 2001. Advanced Radiography and Ultrasonography. *Semin. Avian Exot. Pet Med.* 10(4):162-168.
- Silva K.M.P., Sueiro L.R., Galassi G.G. & Almeida-Santos S.M. 2014. Reprodução de *Bothrops* spp. (Serpentes, Viperidae) em criadouro conservacionista. *Vet. Zootec.* 20(4):632-642.
- Stahlschmidt Z., Brashears J. & Denardo D. 2011. The use of ultrasonography to assess reproductive investment and output in pythons. *Biol. J. Linnean Soc.* 103:772-778.
- Stetter M. 2006. Ultrasonography, p.665-674. In: Mader D.R. (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Wagner D. 2006. Central and South American boas, p.53-89. In: Wagner D. (Ed.), *Boas: a complete pet owner's manual*. 2nd ed. Barron's Educational Series, New York.