

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO-UEMA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS-CCA  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

**DIEGO CARVALHO VIANA**

**Biologia reprodutiva e dosagem hormonal de jurará  
(*Kinosternon scorpioides* - Linnaeus - 1776): Estudo em  
ambiente natural no Município de São Bento – Baixada  
Maranhense**

São Luís-MA  
2012

Diego Carvalho Viana

**Biologia reprodutiva e dosagem hormonal de jurará  
(*Kinosternon scorpioides* - Linnaeus - 1776): Estudo em  
ambiente natural no Município de São Bento – Baixada  
Maranhense**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-  
Graduação da Universidade Estadual do  
Maranhão- UEMA como requisito parcial para  
obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

**Área:** Conservação e Reprodução Animal

**Orientadora:** Profa. Dra. Alana Lislea de Sousa

São Luís-MA

2012



### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 26136-1	Data da Emissão: 08/11/2010 12:11
<b>Dados do titular</b>	
Nome: Alana Lislea de Sousa	CPF: 278.736.093-91
Título do Projeto: Biologia da reprodução em jurupê ( <i>Geophis sordidus</i> (Linnaeus - 1758)): Estrutura, ultraestrutura e dosagem hormonal em macho	
Nome da Instituição: Universidade Estadual do Maranhão	CNPJ: 06.352.421/0001-68

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	coleta do material biológico	11/2010	01/2012
2	execução da dosagem hormonal	01/2011	11/2011
3	fixação de material biológico	01/2011	11/2011
4	execução de microscopia	01/2011	11/2011
5	análise dos achados	08/2011	02/2012

De acordo com o art. 33 da IN 154/2007, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe de nacionalidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador da área dentro dos limites da unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte <a href="http://www.icmbio.gov.br/sisbio">www.icmbio.gov.br/sisbio</a> - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade e fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização abrangem espécies brasileiras constantes de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

#### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	LIANNE POLLIANNE FERNANDES ARAUJO	Coletadora	985.546.353-49	763530870 SSP-MA	Brasileira
2	Antonia Santos Oliveira	Coletadora	108.780.405-08	367196 SSP-MA	Brasileira
3	Diego Carvalho Viana	Pesquisador	998.593.353-20	14859032000-0 SSP-MA	Brasileira

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		MA	Maranhão	Fora de UC

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Kineternon scorpiones

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido conforme a Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 49155312





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

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 26136-1	Data da Emissão: 08/11/2010 12:11
-----------------	-----------------------------------

#### Dados do titular

Nome: Alana Lislea de Sousa	CPF: 278.736.093-91
Título do Projeto: Biologia da reprodução em jurará (Kinosternon scorpioides - Linne - 1758): Estrutura, ultraestrutura e dosagem hormonal em macho	
Nome da Instituição: Universidade Estadual do Maranhão	CNPJ: 06.352.421/0001-68

2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Kinosternon scorpioides
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Kinosternon scorpioides (*Ctde: 10)

\* Ctde. de indivíduos por espécie/localidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

#### Material e métodos

1	Amostras biológicas (Répteis)	Fragmento de tecido/órgão, Animal morto ou partes (carcaça)osso/pele, Sangue
2	Método de captura/coleta (Répteis)	Coleta manual

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Universidade Estadual do Maranhão	Criadouro científico para Kinosternon scorpioides da UEMA



Universidade Estadual do Maranhão

COMISSÃO DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

### DECLARAÇÃO

Declaramos para devidos fins que o projeto intitulado **“Biologia reprodutiva e dosagem hormonal de jurará (*Kinosternon scorpioides* - Linnaeus - 1776): Estudo em ambiente natural no Município de São Bento – Baixada Maranhense”** foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal -CEEA do Curso de Medicina Veterinária da Uema, conforme protocolo nº 011/2010, para a execução da pesquisa, pelo pós-graduando do Mestrado em Ciência Animal/UEMA, Diego Carvalho Viana por atender as normas de Bem Estar Animal da Resolução do CFMV nº 879 de 15/02/2008

São Luís-Ma, 18 de fevereiro de 2012

*Antônia Santos Oliveira*  
Profa. Dra. Antonia Santos Oliveira  
Presidente do CEEA/CMV/UEMA  
(Matrícula 9449)

Viana, Diego Carvalho.

Biologia reprodutiva e dosagem hormonal de jurará (*Kinosternon scorpioides* – Linnaeus-1766): estudo em ambiente natural no município de São Bento – Baixada maranhense / Diego Carvalho Viana.– São Luís, 2012. 105f

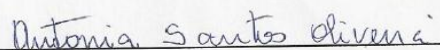
Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2012.

Orientador: Prof. Dra. Alana Lislea de Sousa

1.Morfometria testicular. 2.Testosterona. 3.Reprodução. 4.Fauna silvestre. 5.*Kinosternon scorpioides*. I.Título

CDU: 636.98.082(812.1São Bento)

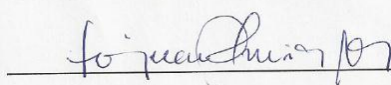
Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 06/02/2012 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:



Antonia Santos Oliveira

Prof. Dr. Antonia Santos Oliveira

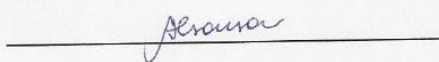
1º Membro



Ferdinan Almeida Melo

Profa. Dr. Ferdinan Almeida Melo

2º Membro



Alana Lislea de Sousa

Profa. Dra. Alana Lislea de Sousa

Orientadora

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao nosso Bom Deus, por toda a sabedoria e discernimento.

A minha família, meus pais Pedro Carvalho Viana e Conceição de Maria Carvalho Viana e minhas irmãs Luciana de Maria e Adriana Raquel, meus cunhados Vilmar Duarte e Maynard, meus sobrinhos Pedro Henrique, Toinho e Pietro por sempre acreditarem e me darem forças para seguir os meus planos.

À Profa. Dra. Alana Lislea de Sousa, por ser minha orientadora e por se tornar uma inspiração profissional para mim. Ensinando em cada momento com sua competência, paciência e dedicação como superar as adversidades dos problemas.

A Profa. Amiga Dra. Antônia Santos Oliveira, pela amizade, calma e gratidão dos conselhos e sabedoria, ao Prof Dr. Daniel Prazeres Chaves pela amizade e pela motivação em fazer parte da equipe de pesquisa.

Aos professores do Mestrado em Ciência Animal/UEMA com quem tive oportunidade de aprender e compartilhar conhecimentos, em especial ao Profa. Ana Lúcia por bem coordenar o mestrado e amizade construída e ao Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo por fazer parte desta banca e contribuir nesta pesquisa.

A Profa. Dra. Maria Angélica Miglino pela vontade de ensinar, de conhecer e buscar fornecendo o suporte necessário para a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. José Ribamar da Silva Junior, nas análises em estatística;



A todos os amigos conquistados nesse período de Mestrado, em especial as minhas amigas-irmãs Lianne Pollianne e Elba Pereira, que com paciência instruíram os meus primeiros passos no Mestrado,

A todo o Grupo de Anatomia Animal (GRANATO) que me recebeu de braços abertos em especial a Adriana Raquel, Elizângela Pereira, Inaldo Macedo, Thalyta Lima, Caio Ítalo Pereira, Cibele Monique, Ana Clara, Alcyjara Rego, Ronald Luiz, Marlise Neves, Thiago Mendes, Vanézia Duarte, Ericka Bruna, Dglan Dourado, Fabiana Lima, Isabela Lima.

Aos técnicos dos Laboratórios da Anatomia/USP, Dra. Rose Eli Grassi, ao Ronaldo Agostinho, ao Diogo Palermo pelo acolhimento e prazer em fazer um bom trabalho, ao técnico Gaspar Ferreira de Lima, pela competência, amizade e alegria de viver e a Dra. Priscila Viau em colaboração com a dosagem hormonal;

Aos meus amigos conterrâneos Ermilton Junio, Gardel Franco, Iralberth Santos, Leandro Macedo, Verônica Cesar e Arannadia Barbosa por serem pessoas fundamentais na minha vida me dando todo o apoio necessário desde minha chegada em São Luís. A Maria Teodora Alves – Tio, por me ajudar em todo momento que precisei.

Às secretárias do Curso de Mestrado em Ciência Animal: Caroline, Laudicéia e Rosangela e do Curso de Medicina Veterinária: Patrícia Viana pela disponibilidade e cumplicidades do dia-a-dia;

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e ao Mestrado em Ciência Animal pela oportunidade e anos de aprendizado;

Ao Programa PROCAD I Amazônia / Capes pelo auxílio financeiro e técnico e a Fundação de Amparo a Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA pela concessão da bolsa;

Ao Instituto de meteorologia da UEMA pela concessão de dados climáticos - LABMET;

Ao IBAMA por apoiar esta pesquisa;

## **O cágado**

Morava no fundo do poço.

E nunca saiu do poço

Costumava tomar sol numa saliência da parede,

Quando a água chegava até ali.

Nas raras vezes que isto sucedia, ficávamos a olhá-lo

Impressionados, como se estivéssemos diante do

Homem da Máscara de Ferro.

Que vida!

Era o único bicho da casa

Que não sabia os nossos nomes,

Nem das mudanças de cozinheiras,

Nem o dia dos anos de Lili.

Não sabia, nem queria saber.

**Mário Quintana**

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xiii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS</b> .....	xiv
<b>RESUMO</b> .....	xvi
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	21
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	24
2.1 Objetivo geral.....	24
2.2 Objetivos específicos .....	24
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	26
3.1 Aspectos gerais dos quelônios .....	26
3.2 Características gerais da espécie jurará – <i>Kinosternon scorpioides</i> .....	26
3.2.1 Distribuição Geográfica.....	27
3.2.2 Aspectos Ambientais e Econômicos .....	27
3.2.3 Dimorfismo Sexual.....	28
3.3 Caracterização do Local do Estudo-Município de São Bento.....	28
3.4 Comportamento Reprodutivo dos Quelônios .....	30
3.5 Maturidade Sexual .....	32
3.6 Macroscopia do Sistema Reprodutor do Macho.....	33
3.7 Morfofisiologia dos Testículos, Epidídimos e Ductos Deferentes de Jurarã .....	33
3.7.1 Testículos .....	34
3.7.2 Epidídimos.....	38
3.7.3 Ductos Deferentes .....	40
3.8 Ciclo Anual dos Testículos, Epidídimos e Ductos deferentes.....	41
<b>4. MATERIAL E MÉTODO</b> .....	50
4.1 Local.....	50
4.2 Área de Estudo (São Bento – MA) .....	50
4.3 Animais.....	51
4.4 Delineamento Experimental .....	51
4.5 Colheita dos órgãos reprodutores .....	52
4.6 Colheita e fixação das amostras para Microscopia de luz.....	52
4.7 Colheita e fixação para Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV.....	52
4.8 Colheita e fixação para Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET .....	53
4.9 Análises morfométrica .....	53
4.10 Dosagem de Testosterona.....	54
4.10.1 Colheita do material para obtenção dos níveis de testosterona .....	54
4.10.2 Procedimento do radioimunoensaio (RIE).....	54
4.11 Análise Estatística.....	54
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	57
5.1 Caracterização dos Animais e de São Bento – MA.....	57
5.2 Morfologia do Sistema Reprodutor Masculino de Jurarã.....	57
5.2.1 Testículos .....	58
5.2.2 Epidídimos.....	63
5.2.3 Ductos Deferentes .....	67
5.3 Variações climática anual .....	70
5.4 Aspectos da organização estrutural dos órgãos reprodutivos de jurará conforme épocas estações.....	74
5.5 Nível Hormonal – Testosterona .....	85
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	91
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	93

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e Desvio Padrão de comprimento e largura de carapaça e plastrão, altura e peso de Jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) capturados em São Bento - MA conforme a estação - São Luís-MA - 2012.....	51
Tabela 2 - Média e desvio padrão do peso(g) médio dos testículos e epidídimos de jurarás ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) capturados em São Bento - MA, conforme a estação - São Luís – MA.....	57
Tabela 3 - Valores de média e desvio-padrão de temperatura, umidade e pluviosidade da Região da Baixada Maranhense, conforme a estação. São Luís – MA, 2012 .....	59
Tabela 4 - Média e desvio padrão dos parâmetros biométricos do testículo de jurarás ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) capturados em São Bento - MA, conforme a estação. São Luís – MA .....	73
Tabela 5 - Média e desvio padrão da morfometria ( $\mu\text{m}$ ) do diâmetro tubular, luminal e altura dos túbulos seminíferos de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ), capturados em São Bento - MA, conforme a estação. São Luís – MA - 2012.....	78
Tabela 6 - Média e desvio padrão da morfometria ( $\mu\text{m}$ ) do diâmetro tubular, luminal e altura dos ductos epididimários de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ), capturados em São Bento - MA, conforme a estação. São Luís – MA - 2012 .....	82
Tabela 7 - Média e desvio padrão da morfometria ( $\mu\text{m}$ ) do diâmetro tubular, luminal e altura dos ductos deferentes de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ), capturados em São Bento - MA, conforme a estação. São Luís – MA - 2012.....	85
Tabela 8 - Valores de média e desvio-padrão do nível hormonal de testosterona (ng/dL) em jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) capturados em São Bento – MA - São Luís – MA - 2012 .....	87

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa ilustrativo do uso e cobertura vegetal do Estado do Maranhão, com destaque para a região da Baixada Maranhense - Município de São Bento .....	30
Figura 2 - Anatomia do aparelho genital masculino de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) vista topográfica .....	58
Figura 3 - Fotomicrografia de seções transversais do testículo de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) .....	61
Figura 4 - Fotomicrografia eletrônica de varredura criofaturado dos testículos de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) .....	63
Figura 5 - Corte histológico do epidídimo de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ).....	65
Figura 6 - Fotomicrografia de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) criofaturada do epidídimo de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) .....	66
Figura 7 - Fotomicrografia de seções transversais do ducto deferente de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) .....	67
Figura 8 - Fotomicrografia por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) evidenciando o ducto deferente de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) .....	68
Figura 9 - Nível anual de temperatura, umidade e pluviosidade da região da Baixada Maranhense, conforme a estação. São Luís – MA - 2012.....	70
Figura 10 - Fotomicrografia do testículo de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) na estação chuvosa e seca.....	75
Figura 11 - Fotomicrografia eletrônica de varredura dos testículos de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) na estação chuvosa e seca .....	76
Figura 12 - Fotomicrografia eletrônica de transmissão do testículo de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) na estação chuvosa e seca .....	77
Figura 13 - Histologia do ducto epididimário de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) na estação chuvosa e seca .....	79
Figura 14 - Fotomicrografia eletrônica de transmissão do epidídimo de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) na estação chuvosa e seca .....	80
Figura 15 - Histologia do ducto deferente de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) na estação chuvosa e seca .....	83
Figura 16 - Fotomicrografia eletrônica de transmissão do ducto deferente de jurará ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) na estação chuvosa e seca .....	84
Figura 17 - Níveis de testosterona (ng/dL) em jurarás ( <i>K. Scorpioides</i> ) captura em ambiente natural na Cidade de São Bento.....	86

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

APA: Área de Preservação Ambiental

Al: espermatídes alongadas

Ar: espermatídes arredondadas

B: células basais do epitélio pseudo estratificado

Cm: células mióides

cm: centímetro

Dd: ducto eferente

De: ducto epididimário

Ece: epitélio cilíndrico estratificado

Ecp: epitélio cilíndrico pseudoestratificado

Ed: epidídimo direito

Ee: epidídimo esquerdo

Eg: espermatogônias

Ep:espermatócitos

Epc: epitélio pseudoestratificado cubóide

ES: epitélio seminífero estratificado

Es: Epitélio túbulo seminífero

Esc: epitélio simples cúbico

Fc: fibras colágenas

Fig.: figura

HE: hematoxilina e eosina

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IDH: Índice Desenvolvimento Humano

Ig: Intestino grosso

IM: intramuscular

IV: intravenoso

Kg: kilograma

L: células de Leydig

ℓ: luz tubular

LabMet : Laboratório de Meterologia da UEMA

LAMI: Laboratórios de Microscopia de Luz e Eletrônica, Anatomia Microscópica e Imunohistoquímica  
LDH: Laboratório de Dosagens Hormonais  
MA: Maranhão  
MB: membrana basal  
MET: microscopia eletrônica de transmissão  
MEV: microscopia eletrônica de varredura  
Mu: camada muscular  
Ng: nanograma  
P: células principais do epitélio pseudo estratificado  
PAS: ácido periódico de Shiff  
PIB: Produto Interno Bruto  
RIE: técnica de radioimensaio  
Rt: rede testis  
S: Células de Sertoli  
Spz: espermatozoide  
Ta: túnica albugínea  
Tab.: tabela  
Tc: tecido conjuntivo  
Tcd: tecido conjuntivo denso  
Tcf: tecido conjuntivo frouxo  
Td: testículo direito  
Te: testículo esquerdo  
TS: túbulos seminíferos  
Vs: vasos  
Vu: vesícula urinária  
µm: micrômetro  
USA: Estados Unidos



## RESUMO

VIANA, D. C. **Biologia reprodutiva e dosagem hormonal de jurará (*Kinosternon scorpioides* - Linnaeus - 1776): Estudo em ambiente natural no Município de São Bento – Baixada Maranhense**. 2012. 105 f. Dissertação - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2012.

No Estado do Maranhão, na região da Baixada Maranhense, é encontrado na fauna silvestre o réptil *Kinosternon scorpioides*, um quelônio de água doce popularmente conhecido como jurará. Possui valor social, econômico e ambiental para os ribeirinhos da cidade São Bento. Este estudo contempla suas características biológicas reprodutivas baseadas em seu ambiente natural, com o intuito de permitir sua preservação e o estabelecimento de planos de manejo reprodutivo e de uso sustentável da espécie. Possui como objetivo caracterizar morfológicamente os órgãos reprodutivos e verificar os níveis hormonais de machos de jurará provenientes de ambiente natural em duas estações do ano a chuvosa e a seca, de forma que se possa averiguar a existência da sazonalidade reprodutiva. Vinte animais adultos tiveram seus órgãos reprodutivos caracterizados ultraestruturalmente pelas microscopias de luz, eletrônica de varredura e de transmissão; e taxas de testosterona dosadas pela técnica de radioimunoensaio. Morfológicamente os testículos são revestidos pela túnica albugínea, formados por túbulos seminíferos e envolvidos por uma lâmina basal, com proliferação de células germinativas e de sustentação na estação chuvosa. Na estação seca há uma evidente redução na atividade espermática. Os epidídimos são divididos em rede testis, ducto eferente e ducto epididimário. Eles apresentam, durante a estação chuvosa, epitélio do tipo pseudoestratificado estereciliado, enquanto na estação seca é caracterizado por epitélio cúbico simples não ciliado. Os ductos deferentes contínuos aos epidídimos, e revestidos por epitélio cilíndrico pseudoestratificado, havendo diferenças no plano estrutural das gônadas avaliadas entre as estações do ano. A morfometria do diâmetro tubular e luminal, e a altura epitelial dos testículos, do epidídimo apresentaram momentos cíclicos ao longo dos períodos estudados com as maiores médias na estação chuvosa, coincidente ao período reprodutivo. O ducto deferente apresentou estas mesmas medidas na estação seca, o que pode estar relacionado com a estocagem de espermatozoides. A testosterona mostrou nível de 937,74 ng/mL na estação chuvosa, e de 741,61 ng/mL na estação seca, havendo diferença significativa entre elas. Assim, conclui-se que nas estações estudadas e os dados apresentados sugerem que no jurará em ambiente natural há sazonalidade reprodutiva.

Palavras-chave: 1. Morfometria testicular. 2. Testosterona. 3. Reprodução. 4. Fauna Silvestre. 5. *Kinosternon scorpioides*

## ABSTRACT

VIANA, D. C. **Reproductive biology and hormone dosage of jurará (*Kinosternon scorpioides* - Linnaeus - 1776): Study on the natural environment in the city of São Bento – Baixada Maranhense.** 2012. 105f. Dissertation – State of Maranhão, São Luís, 2012.

In the State of Maranhão, in the lowland region of Maranhão, is found in the in the wild fauna the reptile *Kinosternon scorpioides*, a freshwater chelonian popularly known as “jurará”. It has social, economic and environmental value for the riverside population in the city of São Bento. This study focuses its reproductive biologic characteristics based on its natural environment, in order to ensure its preservation and to establish plans of reproductive management and sustainable use of the specie. It has as objective to characterize morphologically the male jurará’s reproductive organs and to verify its hormone levels in the natural environment in two periods of the year: the rainy and the dry, so that we can verify if there is reproductive seasonality. Twenty adult animals had their reproductive organs ultra-structurally characterized by light microscopy, scanning electron microscopy and transmission electron microscopy; and testosterone levels were dosed by radioimmunoassay. Morphologically, the testicles are covered by the tunica albuginea, composed of seminiferous tubules, and surrounded by a basal lamina, with proliferation of germ and support cells during the rainy season. In the dry season there is a clear decrease in the spermatogenic activity. The epididymis are divided into rete testis, efferent ducts and epididymal duct. They present, during the rainy season, a pseudostratified and stereociliated type of epithelium; while in the dry seasons it is characterized by simple, cubic and non-ciliated cells. The deferent ducts are continuous to the epididymis, and revested by pseudostratified cylindric epithelium, with differences in the structural plane of the gonads evaluated between the seasons. The morphometry of the tubular and luminal diameter and epithelial height of the testis and of the epididymis showed cyclic moments over the studied periods, with the highest means in the rainy season, coinciding with the reproductive period. However, the deferent duct showed these same measures in the dry season, which may be related to spem stocking. The testosterone showed levels of 937,74 ng/ml in the rainy season, and 741,61 ng/ml in the dry season, with significant difference between them. Thus, it is concluded that during the studied periods, the presented data suggests that there is seasonality in the jurará in natural environment.

Keywords: 1. Testis morphometry. 2. Testosterone. 3. Reproduction. 4. Wild fauna. 5. *Kinosternon scorpioides*

# **INTRODUÇÃO**

---

## 1. INTRODUÇÃO

A Baixada Maranhense está localizada ao norte do Estado do Maranhão e se caracteriza por ser uma área com características especiais conforme a época do ano, entre os períodos de chuva e seca, com a formação das áreas alagadas em forma de pântanos, época em que a pesca é o produto maior de subsistência, ao fim desse período com o início do verão estas áreas secam e passam a ser usadas para as culturas agrícolas, também de subsistência e é nesse ambiente que tanto as espécies animais quanto agrícolas interagem em seus ciclos.

É banhada pela Bacia do Rio Pericumã, apresenta clima tropical úmido, temperatura média anual superior 28°C, umidade relativa do ar anual superior 78,54% e precipitação pluviométrica anual com totais entre 2,44 e 6,57mm. Sendo o ano bem dividido em duas estações: a seca e a chuvosa. Os campos de Janeiro a Junho são alagadiços e esses mesmos campos de Julho a Dezembro apresentar um solo rachado com torrões (PEREIRA et al., 2007), onde se ver o convívio entre o animal estudado, gado e búfalo.

São Bento está inserido na Área de Preservação Ambiental (APA) da Baixada Maranhense, predominam terras planas, baixas e inundáveis com vegetação de manguezais, possuindo o maior conjunto de bacias lacustres do Nordeste, o que contribuem com alta produtividade pesqueira. Entretanto, o PIB per capita de 2694,29 reais e o IDH de 0,592 estão entre os menores do país, segundo dados do último censo do IBGE (2010). Sobretudo nessa região, é encontrado na fauna silvestre o réptil *Kinosternon scorpioides*, quelônio de água doce, popularmente conhecido pelos maranhenses de jurará, possui grande valor social, econômico e ambiental para os ribeirinhos da cidade São Bento. Além disso, trata-se de uma espécie silvestre que tem proteção governamental, por meio da Lei Federal nº 9605/98 (Lei de Crimes Ambientais).

O jurará é iguaria bastante apreciada na região sendo possível a criação comercial da espécie, com embasamento pela Instrução Normativa do Ibama nº 169/2008, sobre as diretrizes de criação para quelônios de água doce, inclusive o jurará.

Estudos realizados sobre o conhecimento biológico da espécie em ambiente natural é fundamental para assegurar sua sustentabilidade, preservação e estabelecer planos de manejo reprodutivo e de uso racional da espécie.

## **OBJETIVOS**

---

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Caracterizar morfológicamente os testículos, epidídimos e ductos deferentes de jurarás oriundos de habitat natural, por meio da análise microscópica, morfométrica e dosagem hormonal de testosterona em duas estações do ano a seca e a chuvosa.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Descrever a estrutura e ultraestrutura dos testículos, epidídimos e os ductos deferentes;
- Obter dados morfométricos relativos aos valores médios de altura do epitélio e dos diâmetros tubular e luminal dos testículos, epidídimos e ductos deferentes;
- Caracterizar os níveis séricos de testosterona nos animais pesquisados;
- Verificar se há sazonalidade reprodutiva da espécie;
- Comparar estes dados aos pesquisados em cativeiro.

# **REVISÃO DE LITERATURA**

---



### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Aspectos gerais dos quelônios

O Brasil possui 35 espécies de quelônios distribuídas nos seus diversos ecossistemas terrestres e aquáticos, 28 espécies são de água doce, duas são terrestres (jabutis), e cinco são de quelônios marinhos (SBH, 2005).

Os quelônios estão entre os vertebrados mais especializados morfologicamente, e seu casco é a característica mais distintiva (POUGH et al., 2008). A porção dorsal convexa é a carapaça e a parte ventral mais achatada é o plastrão. As vértebras torácicas e as costelas são geralmente soldadas com a carapaça óssea (STORER et al., 1989). O formato, tamanho, coloração, número e disposição dos escudos que compõem o casco são características importantes na identificação específica de cada grupo (MEDEM, 1976; PRITCHARD & TREBBAU, 1984; MOLINA & ROCHA, 1996).

Os quelônios são considerados entre os animais mais longevos. Isso tem sido repetidamente provado em algumas espécies (especialmente entre os Testudinidae) que podem viver mais de 50 anos de idade. De fato, entre aqueles criados em cativeiro, muitos espécimes tem alcançado a idade de 100 anos (GIBBONS & CONGDON, 1987; CONGDON & DUNHAM, 1994; FERRI, 2002).

A ordem Testudines ou Chelonia, que engloba os quelônios terrestres, marinhos e de água doce é tida como a mais antiga de todas entre os vertebrados atuais. A mais antiga evidência fóssil data do período Permiano, aproximadamente 280 milhões de anos atrás (FERRI, 2002).

Duas sub-ordem de testudines são encontradas na natureza a Cryptodira e a Pleurodira. Na primeira está inserida a maioria das espécies, caracterizada por retraírem a cabeça por meio de uma flexão vertical das

vértebras do pescoço, enquanto que os Pleurodira flexionam o pescoço lateralmente (LEGLER, 1993; POUGH et al., 2008).

### 3.2 Características gerais da espécie jurará – *Kinosternon scorpioides*

A Família Kinosternidae é integrada por espécies semi-aquáticas de tamanho pequeno a médio distribuindo-se do Canadá à América do Sul (ERNST & BARBOUR, 1989). Ela é composta por 22 espécies englobadas em 4 gêneros, Kinosternon, Sternotherus, Staurotypus e Claudius, sendo encontrada na Amazônia brasileira apenas 1 espécie dessa família, *Kinosternon scorpioides*, conhecida popularmente como muçã no Pará e jurará no Maranhão (MOLINA & ROCHA, 1996).

O jurará (*Kinosternon scorpioides*), é uma espécie preferencialmente aquática, habita tanto águas paradas quanto águas correntes, podendo ainda apresentar comportamento semi-aquático (PRICHARD & TREBBAU, 1984), apresenta um casco com três quilhas nítidas, especialmente a mediana, que percorre todo o casco no sentido longitudinal (VANZOLINI et al., 1980).

Esta espécie atinge no máximo 15 centímetros de comprimento de carapaça (DELDUQUE, 2000). Ela pertence à Família Testudinidae que possui doze gêneros e cerca de quarenta espécies (ORR, 1986). Este réptil possui uma mandíbula forte e cauda apresentando uma estrutura semelhante a uma unha no final do corpo, como um ferrão de escorpião, característica que denominou cientificamente a espécie (PRITCHARD, 1986). A única função conhecida deste apêndice córneo é o de auxiliar a fixação da fêmea durante o acasalamento (PEREIRA et al, 2007).

### 3.2.1 Distribuição Geográfica

*Kinosternon scorpioides* encontra-se bem distribuída na costa da América do Sul, incluindo a Colômbia, as Guianas e Trinidad. No Brasil é encontrado nos Estados do Pará, Maranhão, norte de Goiás, Ceará, Rio Grande do Norte e Pernambuco (PRITCHARD & TREBBAU, 1984). No Maranhão sua presença é confirmada à beira de rios da Baixada Maranhense (PEREIRA et al, 2000), mesorregião Norte do Estado, com uma área total de 17.579,366 km<sup>2</sup>, abrigando 21 municípios e também o maior conjunto de bacias lacustres do Nordeste, onde se destacam os lagos Açú, Verde, Formoso, Carnaúba e Jatobá; extensos manguezais, babaçuais, campos inundados e matas de galeria, uma rica fauna e flora (ACUÑA-MESÉN, 1994; VANZOLINI et al., 1996; PEREIRA, 2004; PEREIRA et al, 2007). Em São Bento-MA, o jurará é comumente visto em março e abril, ambos migram entre lama e vegetação aquática.

### 3.2.2 Aspectos Ambientais e Econômicos

Pereira et al., (2007) observou o jurará como importante fonte protéica e econômica para as populações ribeirinhas do município de São Bento-MA, e que os animais apreendidos tem como destino às feiras e mercados da capital maranhense, constituindo-se em iguaria da culinária maranhense servida na própria carapaça sob a forma de casquinho de jurará. Esta comercialização ocorre de forma clandestina, infringindo a lei federal nº 9.605/98, de 12 de fevereiro de 1998. É confirmado por Lima (2003), que esta espécie silvestre foi uma das mais apreendidas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis do Maranhão, no período de 1999 a 2002 no município de São Luís.

A captura desta espécie, segundo relatos de pescadores do município de São Bento-MA, ocorre no período de estiagem, compreendido

entre os meses de julho a janeiro, momento em que o animal vem ao ambiente terrestre para nidificação e então é capturado. O fato de o animal ser encontrado na estação seca, época de queimadas, potencializa sua captura e venda (PEREIRA et al., 2007).

### 3.2.3 Dimorfismo Sexual

Segundo, Castro (2006), Pereira et al., (2007) e Carvalho et al., (2010) o macho da espécie apresenta cauda longa, plastrão mais côncavo para facilitar a cópula, possui também unhas mais longas e curvas e cabeça bastante pigmentada chegando a ser negra. Enquanto, a fêmea apresenta cauda menor, plastrão reto e a cabeça mais clara. O comprimento médio de carapaça e do plastrão é de 14 e 12 cm respectivamente, para machos e para fêmeas nos animais adultos.

### 3.3 Caracterização do Município de São Bento

O Município de São Bento - MA, fica distante a 300 quilômetros de São Luís, há acesso via terrestre e por meio da travessia de Ferry Boat até o povoado do Cujupe (Alcântara), depois de Três Maria, seguindo na MA 014, sentido oposto da Cidade de Pinheiro. Limita-se ao Norte, o município de Palmerândia; Leste, Cajapió; ao Sul, São Vicente de Férrer; e, a Oeste, o município de Pinheiro, com uma população estimada em 40.736 habitantes, de acordo com o censo do IBGE-MA de 2010.

Em relação ao seu relevo possui um território pouco acidentado, com apenas pequenos morros, entre os quais o de São Carlos, divisa entre os municípios de Pinheiro e Peri-Mirim. A geomorfologia da superfície da Baixada Maranhense apresenta formação de “testemunhos” que são morros ou montanhas e litoral em “rias”, quer dizer formação de praias. Seu solo é predominante de plintossolo e gleissolos, vegetação de manguezais (Fig. 1),

campos aluviais e flúvio-marinhos. Os campos se caracterizam por serem baixos, inundáveis às vezes paludosos, são aqueles que, na sua mais larga e interessante zona, se chamam geralmente – Campos dos Peris ou Campos de São Bento (Atlas do Maranhão, 2002).

A economia do município, na área da agricultura, que é basicamente de subsistência, está ligada com a produção de arroz, milho, feijão, mandioca e extração da amêndoa de babaçu. Sua pecuária é constituída da criação de bovino, bubalino, suíno, caprino. São Bento detém um comércio variado, servindo as cidades mais próximas. Outra atividade bastante expressiva é a pesca artesanal praticada nos campos alagados que cercam a cidade, e nos últimos anos, a criação de peixes (tambaqui e tilápia) em tanques artesanais, vem contribuindo na economia da cidade.

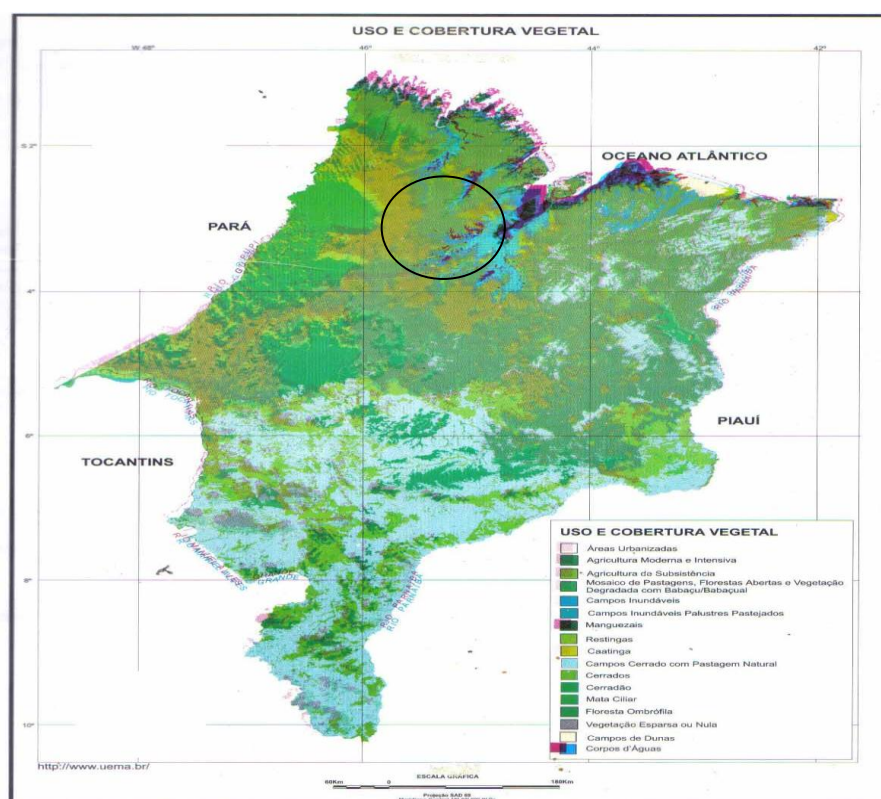


Figura 1: Mapa ilustrativo do uso e cobertura vegetal do Estado do Maranhão, com destaque para a região da Baixada Maranhense, Município de São Bento, em que há o predomínio de campos inundáveis, agricultura de subsistência e mosaico de pastagens, florestas abertas e vegetação de degradação com babaçu/babaçual. Fonte: LABMET-UEMA

### 3.4 Comportamento Reprodutivo dos Quelônios

Ao contrário de muitas aves e mamíferos, tartarugas não são conhecidas por formar par ou grupos, e nem o sexo proporciona cuidados parentais além de nidificação (IVERSON, 1990; PEARSE, 2001). No entanto, cágado macho da espécie *Chelydra serpentina* de vida livre, são conhecidos por defende à área de domínio e que podem ser importantes no acesso à fêmea (GALBRAITH et al., 1993).

Cahn & Conder (1932) estudou sobre acasalamentos de 72 tartarugas de vida livre observou três fases. Na primeira, os machos andam em círculos na em relação a fêmea, encosta-se nela e morde a borda de sua carapaça. Na segunda fase o macho monta a fêmea, além de arranha a sua carapaça com as garras traseiras e morde sua cabeça. Na terceira fase, a fêmea relaxa o aperto plastral e o macho desliza sobre ela.

Castro (2006) descreve sobre o acasalamento *K. scorioides* de cativeiro em Belém-PA ocorreu nos meses de abril até agosto, sendo maio e junho os meses de maior atividade, mostrando que a reprodução é sazonal. A corte ocorreu tanto dentro como fora da água, já a cópula foi sempre dentro da água, na porção mais rasa da rampa de acesso ao tanque.

Ainda para Costa (2004), sobre a reprodução de jurarás criados em cativeiro em São Luís-MA apresentou na fase de côrte o macho se aproximando da fêmea receptiva, cheirando a cloaca ou mordiscando a carapaça e rodeando-a até o seu domínio. Logo após esta fase, se aproxima por trás, dá um salto, ficando sobre a fêmea quando então executa a contenção com as patas fixadas na borda da carapaça, fornecendo o equilíbrio e total domínio. Neste momento, ele permanece com a cabeça em constante movimento, enquanto a fêmea mantém a sua cabeça protegida no interior da carapaça. A cópula é executada pelo macho com a exposição da cauda voltada para baixo e para frente apoiada pela unha córnea. O pênis então é exposto e

introduzido no interior da cloaca permanecendo assim por aproximadamente 20 minutos até a exaustão do macho, quando o mesmo volta-se lateralmente e em decúbito dorsal, ficando relaxado até a retração do pênis, enquanto a fêmea o abandona. Todas as fases foram observadas em ambiente aquático.

### 3.5 Maturidade Sexual

Em estudos realizados por Froman et al. (2004), afirma que a fertilidade de qualquer macho envolve o sucesso de vários passos cruciais, além da produção de células espermáticas pelos testículos. A maturidade sexual em tartarugas é determinada pelo exame das gônadas, os machos sexualmente maduros possuem espermatozoides ativos. Os machos que não apresentam este critério foram considerados jovens embora houvesse variação segundo o tamanho dos indivíduos (MAHMOUD, 1967).

Oliveira (2009) e Chaves (2011) relatam que o *K. scorphioides* considerado adulto e sexualmente maduro, deve apresentar média de comprimento de carapaça, plastrão e peso corporal respectivamente de 13,5cm, 11,6cm e 330,58g. Outro critério em que se verifica a maturidade para machos de *Kinosternon flavescens flavescens* é a presença de espermatozoides no testículo e no epidídimo (CHRISTIANSEN & DUNHAM, 1972).

Outro dado da literatura para a tartaruga *Chelydra serpentina* relata a variação no tamanho da carapaça onde os machos sexualmente maduros apresentavam tamanho de carapaça variando entre 16,8-17,8cm (GLESENKAMP et al., 2003).

Em *Podocnemis vogli*, o aspecto morfológico dos testículos e a presença ou ausência de espermatozoides no epidídimo em correlação com tamanho mínimo (comprimento da carapaça) do animal é descrito para animais com maturidade sexual (RAMO, 1982). Nos animais imaturos os testículos

apresentam coloração rosa fraco e os epidídimos encontram-se vazios na época da reprodução ativa. Nos animais maduros em época de reprodução ativa os testículos apresentam aumento de volume e coloração amarelada e os epidídimos se encontram cheios de um líquido esbranquiçado, o líquido espermático. Para Ramo (1982) e Beynon & Cooper (1998) dizem que não ocorre reprodução ativa, os animais maduros apresentam as mesmas características que os imaturos.

### 3.6 Macroscopia do Sistema Reprodutor do Macho

O sistema reprodutor masculino é constituído por um par de testículos de formato ovóide e tamanho variável com coloração entre o amarelo-claro ao amarelo-ouro, estando fixados pelo mesórquio e o mesocólon; epidídimos situados ao longo da parte dorsal da superfície medial de cada testículo, apresentando-se bastante delicado, são estruturas bastante convolutas de coloração esbranquiçada; os ductos deferentes que são contínuos aos epidídimos e desembocam na região da cloaca. Os ductos deferentes no jurará são estruturas simples em número de dois, de trajeto convoluto que se estendem do epidídimo até a cloaca com a função de transportar e armazenar os espermatozoides, por sua vez o pênis é sulcado, composto por raiz, corpo e glândula localizado no assoalho ventral da cloaca, fixado a ela através de um músculo retrator, protegido pelo prepúcio (CARVALHO et al., 2010).

### 3.7 Morfofisiologia dos Testículos, Epidídimos e Ductos Deferentes de Jurará

A caracterização testicular tem sua base descrita por diversos autores em muitas espécies animais, entretanto apesar serem poucos estudos envolvendo a microscopia testicular e níveis de testosterona em quelônios, répteis e aves foi considerado descrições da Classe Reptila por apresentar



semelhança evolutiva, Classe na qual a espécie estudada faz parte (POUGH, 2008).

### 3.7.1 Testículos

Os testículos de jurará possuem coloração amarelo ouro e se mostram envolvidos pela túnica albugínea; os túbulos seminíferos constituídos de células da linhagem espermatogênica e de Sertoli; com a observação da presença de células intersticiais (ABAS et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2009; CHAVES, 2011). Para cágado do Novo México, *Kinosternon flavescens flavescens* no início do verão, ocorrido no mês de agosto observa-se espermátides e espermatozoides no lúmen tubular (CHRISTIANSEN; DUNHAM, 1972).

Alterações anuais no tamanho e desenvolvimento dos testículos de tartaruga *Chrysemys picta* estão relacionadas com tamanho da tartaruga e os períodos do ano. Na primavera (março a junho) ocorre redução no tamanho testicular. No verão (julho a setembro) acontece o pico da espermatogênese com aumento de tamanho testicular. No outono acontece o término da espermatogênese e no inverno o testículo começa a regredir (GIBBONS, 1967).

Em trabalhos realizados com a espécie de tartaruga do sul da China *Trionyx sinensis*, o ciclo testicular anual foi dividido em três fases sucessivas e sazonais de reprodução, conforme o período anual: fase I – período de reprodução ocorre no inverno, (março a abril) considerada a fase de cópula e espermatogênese inativa; Fase II – período de recrudescência espermatogênica e pós-nupcial (maio a outubro), época de verão, onde é observado o resurgimento da atividade espermatogênica resultando na elevação do peso testicular, com numerosas espermatogônias, espermátocitos e algumas espermátides e espermatozoides fechando o lúmen tubular, acompanhado por um aumento no diâmetro tubular; Fase III – Período de

hibernação, em que ocorre a transição do período seco para o chuvoso (nos meses de novembro a fevereiro), observa-se redução rápida no peso testicular e no diâmetro dos túbulos seminíferos (LOFTS & TSUI, 1977).

Em tartarugas *Terrapene carolina carolina* (proveniente da Pensilvânia e Maryland, centro-atlântico dos (USA) o processo espermatogênico encontrava-se ativo no mês de julho durante inverno (ALTLAND, 1951). Na espécie de tartaruga da Pensilvânia, *Chrysemys picta*, os meses de julho e agosto foram os períodos mais ativos de produção espermática (ERNST, 1971) e na *Chelydra serpentina*, do sudeste da Virginia nos USA, no período de agosto a setembro foi observado espermatozoides livres no lúmen tubular (GLESENKAMP et al., 2003).

Tartaruga *Terrapene coahuila* do Norte do México apresentou peso mais baixos de epidídimo e de testículo, no final da primavera e início de verão nos meses de Julho e Agosto. No entanto, dois machos mostraram um aumento testicular no final de agosto, com um grande número de espermatozoides. Espermatozoides foram vistos em grande quantidade nos epidídimos em Abril, observou-se ainda um aumento do diâmetro epididimário com a presença de um fluido leitoso, presumindo que seja sêmen. Nos meses de Julho e Agosto não foi perceptível a presença de fluido (BROWN, 1974).

Em codorna *Coturnix coturnix*, provenientes da região de Maringá-PR, o diâmetro tubular e a altura do epitélio chegou ao máximo no período de maior atividade espermatogênica coincide com o início do fotoperíodo crescente, ou seja, no final de agosto ao início de setembro, com valores de 400  $\mu\text{m}$  e 120  $\mu\text{m}$  respectivamente (AMOROSO et al., 2008).

Para as espécies de serpentes *Thamnophis sirtalis*, *Thamnophis tetraenia* e *Thamnophis elegans*, localizadas na Península de São Francisco (USA), é descrito por Fox (1954) que as células de Sertoli obliteram o lúmen dos túbulos seminíferos nos meses (Janeiro-Junho) de inverno, porém torna-se restrita a periferia do túbulo durante o período de espermatogênese ativa.

A morfologia destas células, nos lagartos *Sceloporus occidentalis* e *Leiolopisma rhomboidalis*, descritos por Wilhoft & Quay (1961); Wilhoft (1963) apresentam-se com núcleo de formato piramidal ou raramente ovóide, com nucléolo grande, membrana nuclear proeminente e com finos grânulos de cromatina dispersos.

A espécie de jacaré *Alligator mississippiensis*, possui todas as células germinativas e somáticas do testículo, com presença de espermatogônias do tipo A e B, células em leptóteno maiores em diâmetro que os pré-leptótenos, células em zigóteno marcadas por filamentos grossos de cromatina dentro do núcleo e células em paquíteno, espermatócitos em diacinese caracterizados pela condensação de cromossomos entremeados com grandes áreas translúcidas de nucleoplasma. Células de metáfase I foram encontradas com aglomeração condensada de cromossomos localizados na placa equatorial, espermatócito secundário normalmente próximo entre diacinese, metáfase I e metáfase II. O processo de espermiogênese nesta espécie foi dividido em oito fases baseadas no desenvolvimento do sistema acrossômico, alongamento do núcleo, e condensação de cromatina (GRIBBINS et al., 2006). As gônadas do jacaré do pantanal apresentam características marcantes de sazonalidade em suas dimensões e aparência histológica, sendo observada no início do verão a espermatogênese completa a partir do mês de outubro, tendo seu pico de desenvolvimento completo no mês de dezembro (COUTINHO et al., 2005).

Por outro lado, é descrito em crocodilo da espécie *Caiman crocodilus crocodilus* oriundos da Venezuela que seu testículo está coberto por uma cápsula de tecido conjuntivo fibromuscular, limitada ventro-lateralmente pelo peritônio parietal e dorsalmente por uma adventícia de tecido conjuntivo. Esta cápsula inclui o epidídimo e a glândula adrenal, dispostos sobre a superfície dorso-medial do testículo. Semelhante aos mamíferos, a cápsula testicular penetra no parênquima, em forma de trabéculas de tecido conjuntivo laminar, dividindo este em pequenos lóbulos. Os testículos de *Caiman crocodilus crocodilus*, observados em corte transversal, não evidenciam um

mediastino testicular macroscopicamente visível, nem tão pouco possuem uma estrutura que se pode identificar macroscopicamente como *rete testis* (CABRERA et al., 2007).

Em Iguana verde (*Iguana iguana*) do Pantanal do Estado de Mato Grosso do Sul, quatro fases do ciclo espermatogênico desta espécie são distinguidas e correspondem à quatro período do ano (enchente, cheia, drenagem e seca) . A máxima atividade espermatogênica e cópula ocorre no período de drenagem e a inatividade testicular na seca (FERREIRA et al., 2002).

Em Lagartos *Sceloporus grammicus microlepidotus*, do México o desenvolvimento testicular máximo ocorre no início da primavera em março ou abril e permanecem até o verão em julho (CASAS-ANDREU & GUILLETTE, 1980).

Em lagarto teiú (*Tropidurus torquatus*) do Cerrado Central do Brasil, foi descrito cinco estágios espermatogênicos: no primeiro os túbulos seminíferos não há evidência de luz e não apresentam atividade mitótica; o segundo é caracterizado pela abertura do lúmen dos túbulos e presença de espermatócito na margem, estação chuvosa até nesse momento; no terceiro a atividade mitótica é mais elevada que no segundo estágio; enquanto o quarto estágio encontra-se a máxima atividade mitótica; e no quinto o epitélio contém poucas camadas de células, normalmente espermatogônias, espermatócitos e restos celulares preenchendo o espaço luminal, na estação seca (VIEIRA et al., 2001).

Ferreira et al. (2003), observaram todas as fases da espermatogênese durante o período de pico reprodutivo da espécie de lagarto *Tropidurus itambere*. Com células germinativas apresentando organização regular, espermatogônias localizadas na camada basal, espermatócitos, ocupando a metade da camada do epitélio espermatogênico (camada ad-luminal). Próximo ao lúmen, uma grande quantidade de espermátides e

espermatozoides encontram-se entre os prolongamentos citoplasmáticos das células de Sertoli.

### 3.7.2 Epidídimos

No testículo de *Clemmys caspica*, em setembro quando a temperatura começa a cair e os dias são mais longos (solstício de verão), os túbulos seminíferos atingem o pico espermatogênico e contêm espermatozoides. Ocorre uma movimentação dos espermatozoides a partir dos túbulos para os canais epididimários, onde eles são armazenados durante vários meses até a época da reprodução (LOFTS & BOSWELL, 1961).

Em tartarugas *Chelydra serpentina* de Wisconsin, Centro-oeste dos EUA, o epidídimo atinge diâmetro máximo no final de agosto a início de setembro com o esperma migrando para o lúmen e coincide com o acasalamento de outono. O epidídimo permanece nesta condição até a primavera seguinte e depois começa a regredir progressivamente (MAHMOUD, 1997).

A espermatogênese em tartarugas da Flórida (USA), da espécie *Apolone ferox* teve seu pico produtivo no verão, com o peso do epidídimo aumentado e na primavera ocorreu diminuição do peso dos epidídimos, período em que foi observado o acasalamento (Meylan et al., 2002).

Lutz et al., (2003) relatam que em tartarugas os espermatozoides produzidos pelo epitélio seminíferos através da espermatogênese são submetidos à maturação quando passam através dos epidídimos.

Durante o estudo sobre a localização e as características histomorfológica das estruturas de armazenamento de espermatozoides, bem como nas mudanças das diferentes fases do ciclo reprodutivo sazonal de macho e fêmea da tartaruga (*Trionyx sinensis*) originada do sul da China, observou-se que o epidídimo sofreu alteração na espessura do epitélio e no

tipo de célula. No período de hibernação que acontece entre os meses de dezembro e março do ano seguinte. Compõe o epitélio pseudoestratificado dos epidídimos as células principais, as basais e as claras. As células dominantes no epitélio são as células principais. Esta tem um núcleo redondo, uma base estreita e uma ampla superfície apical e a característica mais marcante dessa célula é a presença de vesículas grande no citoplasma apical (XIANGKUN et al., 2008).

Em 2007, Orsi et al., estudaram o ducto epidimário em codornas doméstica, *Coturnix coturnix*, e verificaram quatro fases distintas: *quiescente* (parada outonal), *recrudescente* (retomada invernal), *proliferativa* (atividade plena primavera) e *regressiva* (recesso no verão). Nos períodos anual de primavera, verão e inverno foram semelhantes com aumento do calibre tubular, ocorrência de mitocôndrias, retículo endoplasmático, vesículas variáveis e presença de lisossomos. A quiescência outonal caracterizou-se pelo aspecto anfractuoso do ducto; pela ausência de espermatozoide e pouco material intraluminal.

O epitélio do epidídimo de calango *Tropiurus itambere* (Região de Valinhos, São Paulo) é composto por dois tipos celulares principais, as células secretoras e as basais. As secretoras são mais numerosas, têm um aspecto colunar, em comparação com as basais que continuam a ser muito menor e em forma de cunha. No período do inverno, o ciclo testicular parece estar em sincronia juntamente com o ciclo das células secretoras dos epidídimos. Durante este período há ausência de espermatozoides no lúmen e uma progressiva estratificação epitelial que resulta em aumento na altura do citoplasma celular e na produção de vesículas de secreção. Ao longo do ano, os epidídimos contêm quantidades variadas de espermatozoides, podendo a estratificação epitelial ser reduzida a ponto da supressão total da atividade secretora (FERREIRA et al., 2009).

Estudos realizados sobre as variações sazonais da estrutura do epidídimo de lagarto (*Lacerta vivipara*) mostraram dez estágio de

desenvolvimento, conforme a atividade secretora e a estrutura do epitélio (peso, altura e diâmetro). O diâmetro do tubo e a altura das células epiteliais foram menor no verão, período que antecede a hibernação (estágio 9 e 10). Na primavera, período reprodutivo (estágio 4 a 6), o diâmetro tubular e a altura aumentaram consideravelmente (DUFAURE et.al., 1986).

Guerrero et al., (2004) retratam a morfologia dos epidídimos do *Caiman crocodilus*, originados da cidade de Zambrano na Colômbia, como uma estrutura muito fina e enrolada, estende-se sobre a superfície dorsal dos testículos e desembocam no canal deferente, revestido com um epitélio colunar pseudoestratificado não ciliado. Estas células possuem um núcleo redondo com um a três nucléolos; as células basais têm um citoplasma mais escuro, durante a fase reprodutiva apresenta secreção epitelial.

Amer (1978) estudou serpentes *Psammophis sibilans* e *Palerosophis diademas* do Cairo (Egito) e relata o epidídimo com vários ductos epidídimários que se abrem em um grande canal. Ambos mostram variações cíclicas, em seus diâmetros e nas alturas epiteliais correlativos, com a atividade testicular. Espermatozoides geralmente são detectados nos túbulos seminíferos e no epidídimo por alguns meses após a época de reprodução.

### 3.7.3 Ductos Deferentes

Conforme descrito por Hildebrand (1995) nos répteis os ductos deferentes têm seu trajeto paralelo à linha média e ao ureter, e desembocam lateralmente a este na superfície dorsal da cloaca, além de conduzirem os espermatozoides, o armazenam temporariamente, e se contraem durante a cópula para ejacular seu conteúdo.

Fox em 1952 estudou o lagarto da espécie *Anolis carolinensis* as variações sazonais do diâmetro do ducto deferente indica que no período de maior atividade reprodutiva os túbulos têm maior diâmetro. Na espécie de

lagarto *Lacerta rhomboidalis* nenhuma variação foi observada no ducto deferente por causa do grande diâmetro e do contorno irregular.

Para serpentes *Seminatrix pygaea* da Carolina do Sul, o epitélio é pseudoestratificado ainda com células colunares principais intercaladas com células basais ao longo da membrana, ao sair da hibernação o canal deferente contém espermatozóides (SEVER, 2004).

O ducto deferente de *Caiman crocodilus*, possui epitélio pseudoestratificado não ciliado e, ao contrário do epidídimo, nenhuma atividade secretora foi verificada no ducto deferente durante a fase ativa (GUERRERO et al., 2004).

Os ductos deferentes no jurará são estruturas simples, em número de dois, de trajeto convoluto que se estendem do epidídimo até a cloaca, seguindo lateralmente aos ureteres (CARVALHO, 2010) e próxima de sua inserção na parede dorsolateral da cloaca relata uma discreta dilatação em forma de ampola (CHAVES, 2011).

### 3.8 Ciclo Anual dos Testículos, Epidídimos e Ductos deferentes

Risley (1938) estudou o ciclo espermatogênico da tartaruga *Sternotherus odoratus*, observou seu desenvolvimento nos meses de verão do ano e se aproxima bastante aos anfíbios anuros. Foram encontrados espermatozoides nos testículos de setembro a maio. Houve um aumento acentuado no tamanho do epidídimo e uma correspondente diminuição no tamanho dos testículos ocorre no final do ciclo (setembro).

Em outras espécies de tartarugas, não foi observada descrição acerca da sazonalidade, porém períodos diferenciados da espermatogênese ativa foram descritos para cada uma delas. No mês de julho, segundo Altland (1951), os espermátocitos estavam presentes e o processo espermatogênico encontrava-se bastante ativo em *Terrapene carolina Carolina*, espécie



proveniente de Adams (Pensilvânia) e Montgomery (Maryland). Julho e agosto foram os períodos mais ativos de produção espermática, onde foram observados espermatozoides maduros liberados no lúmen tubular na espécie de tartaruga da Pensilvânia, *Chrysemys picta* (ERNST, 1971).

O testículo de *Clemmys caspica* passa por uma sequência de eventos cíclicos bem definidos. Estes incluem um alargamento das células de Sertoli e grandes quantidades de material lipóide intra-tubular no início do período de estiva e o desaparece no início da atividade espermatogênica. Um ciclo de lipídios ocorre também nas células intersticiais de Leydig que no momento em que os espermatozoides estão se movimentando dos canais do epidídimo. Este é o tempo de atividade sexual máxima. O ciclo espermatogênico acompanha as variações da temperatura ambiente. Ela começa em abril, quando as temperaturas ambientais estão subindo rapidamente e começa a declinar até Outubro, nessa época a temperatura diária está começando a cair. Enquanto os dias estão mais longos e a luz solar incide com maior intensidade no hemisfério sul fenômeno conhecido como solstício de inverno (junho 21) parece ter efeito sobre a espermatogênese, que continua inabalável até finais de Setembro (LOFTS & BOSWELL, 1961).

Em tartaruga *Chelydra serpentina*, do sudeste da Virginia, em julho e agosto observou-se um rápido progresso espermatogênico e divisões espermatogoniais reduzidas, porém, nos meses de agosto e setembro observam-se espermatozoides livres no lúmen tubular desta espécie (GLESENKAMP et al., 2003). No início de julho começa a espermiogênese e a maioria dos túbulos contém espermatozoides, na metade deste mês os espermatócitos primários e secundários são as células mais abundantes do processo espermatogênico e em agosto observa-se espermátides e espermatozoides no lúmen tubular da tartaruga do Novo México, *Kinosternon flavescens flavescens* (CHRISTIANSEN & DUNHAN, 1972).

Em trabalhos realizados com a espécie de tartaruga do sul da China *Trionyx sinensis*, o ciclo testicular anual foi dividido em 3 fases sucessivas e sazonais de reprodução: *fase I – período de reprodução (março a abril)*, considerado o período de cópula, com redução no peso epididimal, espermatozoides liberados para o ducto deferente, peso testicular baixo, regressão tubular e espermatogênese inativa; *Fase II – período de recrudescência espermatogênica e pós-nupcial (maio a outubro)*, onde é observado o resurgimento da atividade espermatogênica resultando na elevação do peso testicular, com numerosas espermatogônias se dividindo, espermátocitos e algumas espermátides (maio), continuando ativamente ao longo de junho acompanhado por um aumento no diâmetro tubular e em outubro o epitélio seminífero contém espermátides e espermatozoides fechando o lúmen tubular; *Fase III – Período de hibernação (novembro a fevereiro)*, observa-se redução rápida no peso testicular e no diâmetro dos túbulos seminíferos, com a eliminação dos espermatozoides dos túbulos seminíferos para o canal epididimal, sendo observado aumento no peso deste. São observadas somente espermatogônias e células de Sertoli no epitélio seminífero (LOFTS & TSUI, 1977).

Tartarugas (*Sternotherus odoratus*) de Alabama (USA) apresentaram variações entre os estágios testiculares. Os testículos se mostraram mais pesados durante agosto-outubro e mais leves durante fevereiro-abril. Os epidídimos se mostraram mais leves durante julho-setembro. Histologicamente em Março, começa espermatogênese atingido um pico em Agosto continuando até Outubro (MCPHERSON, 1981).

Ao se estudar cobras *Agkistrodon piscivorus leucostoma* do Estado de Louisiana (USA), os testículos são ativos durante os meses de março-junho com espermição em agosto-outubro. Este é o primeiro estudo que descreve a espermatogênese bimodal que ocorrem no mesmo ano dentro da subfamília Crotalinae (GRIBBINS et al., 2008) .

Durante a espermatogênese, o principal hormônio gonadal testosterona exerce o papel de estimular as células de Sertoli, proporcionando, diferenciação celular aos túbulos seminíferos, além da espermatogênese ele contribui para a diferenciação sexual. Nesse contexto, os hormônios folículo (FSH) e Luteinizante (LH), este responsável por estimular a secreção direta da testosterona pelas células de Leydig e o outro pelo crescimento testicular (HAFEZ, 2005).

O início do ciclo reprodutivo em répteis depende da variação do tamanho e número das células do compartimento intersticial conhecida como células de Leydig. São elas que possuem núcleo redondo e grande com citoplasma alveolar e vacuolizado (OLIVEIRA, 2009). Podem ser encontradas isoladas ou ainda em grupos nas proximidades de vasos sanguíneos (FOX, 1977). A principal função das células de Leydig é a produção de testosterona responsável pela manutenção e desenvolvimento da espermatogênese. Este hormônio é controlado pelo LH que tem efeito tóxico sobre estas células, estimulando-as a se hipertrofiar. A remoção do LH cessa a produção de testosterona e leva a uma grande redução no tamanho das células de Leydig. Estes autores Fox (1977) e Oliveira (2009) e revelam que a testosterona é levada para dentro dos túbulos seminíferos por difusão simples ou facilitada e que a ação dos hormônios via espermatogênese acontece via célula de Sertoli que converte a testosterona em di-hidrotestosterona (STABENFELDT & EDQUIST, 1996).

Tratamentos fototérmicos foram iniciados em diferentes momentos do ano para examinar as contribuições relativas de fatores exógenos e endógenos que afetam a duração do ciclo testicular da tartaruga *Sternotherus odoratus*. Em temperaturas elevadas ocorreu a recrudescência testicular (espermatogênese e espermiogênese, e, em certa medida, a secreção de andrógenos). As atividades espermatogênica e de crescimento dos testículos diferem em sua sensibilidade à temperatura. Tartarugas com testículos em estágios avançados da espermiogênese sofreram regressão acelerada quando expostas a temperaturas até um

pouco reduzida, especialmente em dias de fotoperíodo curtos (MENDONÇA & LICHT, 1986).

Mahmoud (1972), relata para tartarugas *Kinosternon subrubrum hippocrepis*, *Kinosternon Flavescens flavescens*, *Sternotherus odoratus* e *Sternotherus carinatus* provenientes das cidades de Arkansas, Texas e Oklahoma apresentaram no inverno, período da estação chuvosa, testículos pequenos sem evidência de espermatogênese, mas espermatozoide viável com sêmen leitoso foram encontrados no epidídimo, no período de transição para o verão começou apresentar atividade espermatogênica, e espermatozoides foram encontrados nos ductos deferentes. No verão, período da estação seca, houve uma diminuição do diâmetro dos ductos epididímaros causado pela liberação de esperma e os testículos foram gradualmente aumentado de tamanho, indicando o pico do ciclo espermatogênico.

Mahmoud (1997) relata para tartarugas *Chelydra serpentina* de Wisconsin (EUA), no inverno, os testículos permanecem flácidos com presença de espermatozoides no epidídimo, no fim deste período começa a preparação do epitélio germinativo para a época de reprodução. No verão, ocorrem divisões de maturação e espermiogênese em atividade máxima.

Para pato doméstico (*Anas platyhryncus*), proveniente de Jaboticabal-SP, mostrou-se apresentar quatro fases: de regressão, de quiescência e de recrudescência, de acordo com as modificações histológicas do epitélio seminífero. A fase reprodutiva iniciou-se em julho, inverno, atingindo o seu pico máximo no início de outubro, primavera. Ainda o processo completo de espermatogênese, com presença de espermatogônias, espermátocitos primários nos diferentes estágios da prófase I da meiose, diferenciação das espermátides (redondas e alongadas) e dos espermatozoides no lúmen tubular. A regressão ocorreu no final da primavera, novembro, e no início da estação de verão, em dezembro, em que se viu a involução do epitélio seminífero e espermatogênese incompleta (SIMÕES et al., 2005).

As espécies de tartarugas *Lepidochelys kemp* de origem em British West Indies (território do Caribe) e *Tryonix sinensis* originada do sul da China, exibiram altos níveis de testosterona no período pré-nupcial, ou seja, antes do acasalamento. Porém estes níveis caíram durante o período de acasalamento e de intensa atividade espermatogênica (LOFTS & TSUI, 1997; ROSTAL et al., 1997). No mês de setembro (outono- inverno), período que antecede a hibernação, a testosterona plasmática observada foi de 0,3ng/ml em tartaruga *Chrysemys picta* sendo considerada baixa (ERNST, 1971; GANZHORN & LICHT, 1983). Na espécie de tartaruga *Testudo hermanni hermanni*, não foi observada atividade de acasalamento de pico nesta espécie, no entanto, durante julho e agosto os níveis de testosterona foram elevados com média de  $79,5 \pm 4,96$ ng/ml coincidindo com a época de acasalamento (HUOT-DAUBREMONT et al, 2003).

Ott (2000) estudou nível plasmático de testosterona em tartarugas *Gopherus polyphemus* ônios do Sudoeste da Geórgia para relacioná-lo às observações do comportamento de acasalamento. Nos machos, observou níveis de pico em julho e agosto permanecendo alta até outubro. Isto coincidiu com o tempo reportado de acasalamento de pico e espermatogênese, indicando que machos exibem um padrão associado de reprodução.

Budischak (2006), estudou tartaruga *Terrapene carolina* nas áreas urbanizadas no Norte da Carolina, e observou que a temporada de reprodução começou em abril, início do verão e continuou até outubro, embora foi visto animais em março, novembro e dezembro ativos.

Conforme descrito por relatado por Ferreira et al., (2002) em iguana (*Iguana iguana*) encontrada na região do Pantanal, Mato Grosso do Sul no período de seca, ocorreu máxima atividade espermatogênica, com células germinativas em todas as fases e espermatozoides no lúmen tubular.

No sudeste dos Estados Unidos, a espécie de crocodiliano *Alligator mississippiensis* apresentou seu o processo espermatogênico ativo entre os meses de junho e julho (GRIBBINS et al., 2006).

Em lagarto originado de Berkeley, Califórnia (*Sceloporus occidentalis*) o processo espermatogênico ocorre no mês de novembro (WILHOFT & QUAY, 1961). Moore (1987) estudou níveis de testosterona de lagartos machos da montanha (*Sceloporus jarrovi*), os níveis de testosterona declinam no inverno, e são mais elevados durante a época de reprodução quando os machos mostram defesa de alta intensidade territorial.

Andò et al. (1992), fizeram dosagem de testosterona durante todo o ano em lagarto *Podarcis s. sicula raf*, uma espécie que apresenta ciclos anuais de hibernação, e no início do verão em Agosto observou um pico de 174,8 ng/ml.

Amer (1978) estudou serpentes *Psammophis sibilans* e *Palerosophis diademas* do Cairo e viu que os testículos de *Psammophis sibilans* são reduzidos em tamanho e peso no verão (período inativo) aumentando gradualmente durante o outono e inverno para alcançar seu máximo no início da primavera (época de reprodução). Já *Palerosophis diademas* possuem testículos menores no inverno (período inativo), mas aumentar rapidamente para alcançar o seu máximo depois na primavera (época de reprodução). O ducto deferente é um canal de armazenamento de espermatozoides que exhibe mudanças passíveis relacionadas à atividade sexual.

Em 2002, Wingfield estudou aves canárias de vida livre e observou concentração de testosterona maior nos pardais selvagens capturados do que os de cativeiro. Observou ainda que os níveis de testosterona plasmática em machos são muito altos com média 3,88ng/ml no início da primavera, quando estão agressivamente estabelecendo territórios, após o emparelhamento com as fêmeas, os níveis plasmáticos de testosterona em machos declinam, apesar dos dias serem longos.

A concentração de testosterona, em codornas em *Coturnix coturnix*, provenientes da região de Maringá, PR, varia sazonalmente, com picos no início da fase reprodutiva 3,20 ng/ml e redução progressiva durante a fase de regressão testicular, ou seja no final da primavera. Além disso, este hormônio não demonstrou variação evidente no peso testicular desta espécie (AMOROSO et al., 2008).

## **MATERIAL E MÉTODO**

---



## **4. MATERIAL E MÉTODO**

### **4.1 Local**

A pesquisa foi desenvolvida nos Laboratórios de Anatomia Veterinária, Anatomopatologia e Imunodiagnóstico do Curso de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, São Luís-MA. E nos Laboratórios de Microscopia de Luz e Eletrônica, Anatomia Microscópica e Imunohistoquímica – LAMI, e de Dosagem Hormonal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo - USP.

### **4.2 Área de Estudo**

O município de São Bento-MA está localizado na microrregião da Baixada Maranhense, que é composta por 21 municípios, São Bento se localiza dentro da Macrorregião Norte do Estado, apresentando as seguintes coordenadas geográficas: 2°41'de Latitude S, 44°49'de Longitude W / -2.683, -44.817 e possui uma área territorial de 459 km<sup>2</sup> com clima tropical úmido de acordo com os dados do Laboratório de Meteorologia da UEMA – LabMet/2012 (Tab. 1).

Para os dados climáticos, segundo Normas da Organização Meteorológica Mundial (OMM) dados obtidos por uma plataforma de coleta de dados (PCD) são representativos de uma área de até 100 km do posto de coleta. Pela falta de dados próximos a região pesquisada, foi considerado os dados do ano de 2011 do posto de coleta de Zé Doca - MA, distante 159 km de São Bento-MA.

Tabela 1 - Valores de média e desvio-padrão de temperatura, umidade e pluviosidade da Região da Baixada Maranhense, conforme o período . São Luís – MA, 2012. Fonte: LABMET-UEMA

<b>Período do Ano</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Umidade (%)</b>	<b>Pluviosidade (mm)</b>
<b>dez/10</b>	27,52 ± 1,23 a	75,97 ± 8,30 a	6,57 ± 16,58 a
<b>mar/11</b>	26,32 ± 0,70 b	85,93 ± 4,39 b	2,37 ± 4,31 b
<b>jun/11</b>	26,51 ± 0,62 b	80,55 ± 3,36 c	0,79 ± 2,47 b
<b>set/11</b>	27,58 ± 0,49 a	71,70 ± 3,05 a	0,01 ± 0,07 b

Médias com letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para Student-Newman-Keuls (SNK), teste de normalidade Cramer-von Mises  $W-Sq$  0.03979,  $Pr > W-Sq > 0.2500$ , Dez - Dezembro, Mar - Março, Jun - Junho, Set - Setembro

### 4.3 Animais

Foram utilizados 20 jurarás (*K. scorpoides*) machos adultos, provenientes da captura in-situ na Cidade de São Bento-MA, região da Baixada Ocidental Maranhense, conforme autorização do ICMBio /MMA para atividades com finalidade científica nº 26136-1 e aprovação do Comitê de Ética e Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária (CEEA/UEMA), número de protocolo 011/2010.

### 4.4 Delineamento Experimental

Os animais foram capturados em intervalos regulares durante o ano, divididos em quatro grupos experimentais nas estações chuvosa e seca, sendo a estação chuvosa compreendida pelas coletas de Março/2011 e Junho/2011, e a seca de Setembro/2011 e Dezembro/2010. Dados biométricos referentes ao comprimento e largura da carapaça e plastrão; altura e massa corporal, com a finalidade de padronização da amostra, auxiliado de paquímetro manual<sup>1</sup> e a massa corporal em Balança Eletrônica Digital<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Universal Mitutoyo – 200 mm de precisão

<sup>2</sup> Slim Alta recisão 150kl Yhb1004

#### 4.5 Coleta dos órgãos reprodutores

Os vinte animais foram pré-anestesiados com cloridrato de xilazina 2% (40mg/kg/IM) e cloridrato de quetamina 1% (60mg/kg/IM) e submetidos à eutanásia pela administração de tiopental sódico a 2,5% (60mg/Kg/EV) através da canulação do seio venoso cervical, de acordo com a técnica descrita por Schumacher (1996). Posteriormente foi realizada a abertura da cavidade celomática com serra manual de aço, para a desarticulação da ponte óssea que une a carapaça ao plastrão e a remoção de vísceras, visualização e retirada do trato reprodutor (Testículos, Epidídimos e Ductos deferentes).

#### 4.6 Coleta e fixação das amostras para Microscopia de luz

Os animais tiveram seus órgãos reprodutores fixados em solução de formol tamponado a 4% por cerca de 24h, para inclusão em parafina. Desidratados em concentrações crescentes de álcool (70°, 80°, 90° e 100°) e diafanizados em xilol, com intervalo de troca entre as soluções de 1 hora. Após a desidratação, os fragmentos foram incluídos em parafina, seccionados na espessura de 4µm, e corados em hematoxilina e eosina (HE), Tricrômio de Masson e Ácido Periódico de Shiff -PAS, e analisados em microscópio óptico.

#### 4.7 Coleta e fixação para Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

Os fragmentos do trato reprodutor foram usados para análise morfológica através da microscopia eletrônica de varredura, fixados em solução de glutaraldeído a 2,5%, congelados por 72h e após esse período criofaturados em nitrogênio líquido, lavados em solução tampão fostato a 0,1M., pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% e desidratados em séries crescentes de alcoóis (50° - 100°). As amostras foram secadas em aparelho de ponto crítico Balzers CPD 020 com uso de CO<sup>2</sup> líquido e montados em bases metálicas de alumínio (stub), utilizando-se cola de carbono. Na sequência, foram submetidas a um revestimento metálico (“sputting”) com ouro no

aparelho metalizador EMITECH K550, analisados e fotografados em microscópio eletrônico de varredura LEO 435VP.

#### 4.8 Coleta e fixação para Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET

Para microscopia eletrônica de transmissão os fragmentos foram fixados em glutaraldeído a 2,5%, lavados em solução tampão fostato a 0,1M e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1%. Na seqüência desidratados em séries crescentes de alcoóis (50° - 100°), em óxido de propileno e resina. A mistura foi substituída por resina pura e colocada em moldes. Os cortes ultrafinos foram colhidos em telas de cobre e contrastados com solução de acetato de uranila a 2% e solução de citrato de chumbo 0,5%. As amostras foram analisadas em aparelho de microscopia eletrônico de transmissão MORGAGNI 268D.

#### 4.9 Análises morfométrica

As imagens para estudos morfométricos foram obtidas com uso de um microscópio binocular Olympus BH-41 equipado com uma câmera digital para o registro fotográfico, as análises histomorfométricas realizadas com o auxílio do Programa GIMP 2 para obtenção dos valores médios de altura epitelial e dos diâmetros tubular e luminal dos túbulos seminíferos, epidídimos e ductos deferentes obtidos com o uso de ocular micrométrica adaptada ao microscópio. Foram feitas dez lâminas com três cortes seriados, para as secções tubulares foram feitas contornando-se os túbulos na base do epitélio, ao nível da membrana basal, para obtenção do diâmetro tubular total, e junto à borda apical para obtenção do diâmetro luminal, utilizando-se objetiva de 10x para epidídimo e ducto deferente e objetivo de 20x para túbulos seminíferos. De modo similar, utilizando-se objetiva de 40x, para mensuração da altura do epitélio seminífero, epididimário e do ducto deferente, desde a sua base até a borda apical.

## 4. 10 Dosagem de Testosterona

### 4.10.1 Colheita do material para obtenção dos níveis de testosterona

A coleta para a realização das dosagens hormonais foi realizada em vinte animais. Amostras de 1 ml de sangue foram obtidas de cada animal das estações estudadas (chuvosa e seca) para a dosagem das taxas de testosterona. O sangue foi coletado diretamente do seio cervical dorsal com uma seringa de 3ml e agulha 25x7. Posteriormente centrifugado e o soro armazenado em tubos microcentrífugas 1,5ml e congelados em freezer a -20°C, segundo (OWENS,1980).

### 4.10.2 Procedimento do radioimunoensaio (RIE)

Para dosagem de testosterona sérica usou-se a técnica de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida, por meio de conjunto diagnóstico comercial (COATA—COUNT Testosterone, Siemes) desenvolvido para avaliação quantitativa de testosterona em soro humano. Estes conjuntos diagnósticos utilizam como elemento traçador o hormônio marcado com  $^{125}\text{I}$  e apresentam pouca reação cruzada com os precursores específicos para cada hormônio estudado. Foram analisados conforme rotina empregada no Laboratório de Dosagens Hormonais (LDH) do Departamento de Reprodução da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

## 4. 11 Análise Estatística

A análise de variância foi feita através do programa Instat para obtenção de média e desvio padrão, foi utilizado o teste de teste de normalidade Cramer-von Mises para verificação da homocedasticidade entre as variáveis e o teste para comparação de média foi Student-Newman-Keuls – SNK, pelo fato das variáveis morfométricas, hormonais e biométricas terem se

apresentado instáveis com coeficiente de variância entre  $15\% < CV < 30\%$ , o nível de significância considerado foi  $p < 0,05$ .

## **RESULTADO E DISCUSSÃO**

---

## 5. RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1 Dados biométricos

Baseado nos modelos disponíveis na literatura, os animais utilizados neste experimento foram considerados adultos e maduros sexualmente, apresentaram nas estações estudadas variações de médias de comprimento e largura de carapaça e plastrão, altura e peso corporal conforme (Tab. 2). Estas características foram observadas para a mesma espécie (*Kinosternon scorpioides*) por Castro et al. (2006) na cidade de Belém do Pará, Oliveira (2009) e Chaves (2011) no Maranhão, nesta última, a espécie foi considerada adulta com média de altura, comprimento e largura de carapaça e plastrão respectivamente de 4,76; 13,29; 8,43; 11,23; e 5,85cm.

Tabela 2 - Média e Desvio Padrão de comprimento e largura de carapaça e plastrão, altura e peso de Jurará (*Kinosternon scorpioides*) capturados em São Bento - MA conforme o período - São Luís-MA - 2012

Medidas	Período do ano			
	Est. Chuvosa		Est. Seca	
	mar/11	jun/11	set/11	dez/11
CC	13,65 ± 0,41	15,31 ± 0,47	14,48 ± 0,77	13,60 ± 2,41
LC	8,62 ± 0,38	9,42 ± 0,17	9,10 ± 0,27	7,99 ± 0,24
CP	11,66 ± 0,36	13,10 ± 0,56	12,12 ± 0,54	11,38 ± 0,80
LP	6,53 ± 0,18	6,80 ± 0,06	6,48 ± 0,50	5,89 ± 0,34
Altura	5,05 ± 0,35	4,94 ± 0,38	6,14 ± 1,28	4,39 ± 0,32
Peso	284,26 ± 31,04	342,60 ± 39,46	365,80 ± 52,50	229,80 ± 46,06

CC - comprimento de carapaça, LC - largura de carapaça, CP - comprimento de plastrão, LP - largura de plastrão

### 5.2 Morfologia do Sistema Reprodutor Masculino de Jurará

Carvalho et al., (2010) e Chaves (2011) descrevem o arranjo do sistema reprodutor masculino de Jurará como sendo formado por um par de testículo, epidídimo, e ducto deferente (Fig. 2) localizados na cavidade



celomática e um pênis localizado na cloaca. Os animais deste estudo apresentaram as mesmas estruturas para o sistema reprodutor masculino de jurarás.

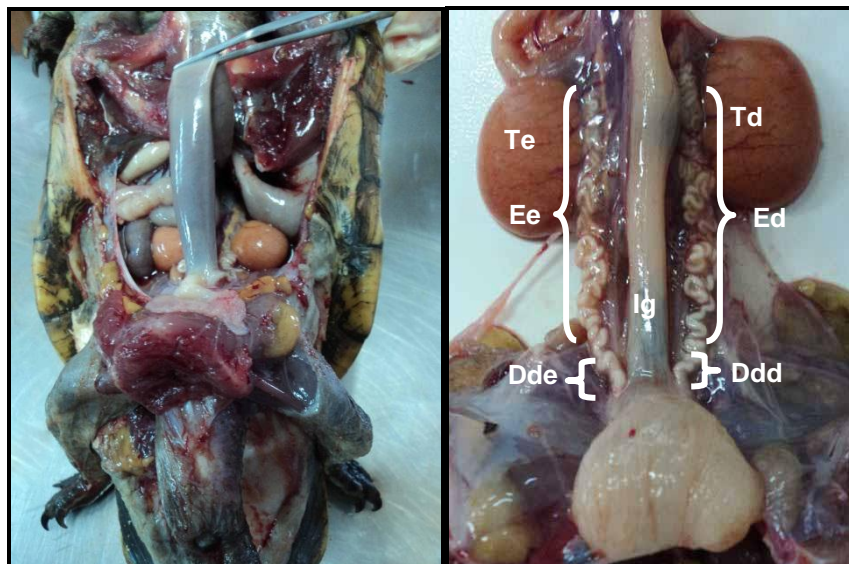


Figura 2 - Anatomia do aparelho genital masculino de jurará (*Kinosternon scorpioides*). Lado esquerdo vista topográfica; Lado direito: testículo direito e esquerdo (Td e Te), epidídimo direito e esquerdo (Ed e Ee), ducto deferente direito e esquerdo (Ddd e Dde) e Intestino grosso (Ig)

### 5.2.1 Testículos

Os testículos de jurará possuem forma oval, dispostos assimetricamente no interior da cavidade celomática envoltos pelo intestino delgado e separados pelo cólon, segmento do intestino grosso, sua coloração variou do amarelo claro ao amarelo ouro, são assimétricos com direito ligeiramente mais cranial e mais pesado que o esquerdo (Tab. 3) essas observações são semelhantes aos dados obtidos por Carvalho et al.,(2010) e Chaves (2011) para a mesma espécie em cativeiro. Em relação à coloração dos testículos, os órgãos coletados no mês de setembro, época da estação seca, apresentaram tonalidade amarelo ouro, informação compartilhada por Chaves (2011), desta forma também para, Noble & Noble (1940) e Ashley (1969), descrevem forma e coloração dos testículos de aves e tartarugas em

tom amarelo ouro, mas não enfatizam mudança de coloração em virtude de atividade ou período reprodutivo.

Tabela 3 - Média e desvio padrão do peso(g) médio dos testículos e epidídimos de jurarás (*Kinosternon scorpioide*) capturados em São Bento - MA, conforme a estação - São Luís - MA.

Medidas	Período do ano			
	Est. Chuvosa		Est. Seca	
	mar/11	jun/11	set/11	dez/10
TD	0,98 ± 0,20a	0,69 ± 0,37a	0,42 ± 0,15a	0,47 ± 0,39a
TE	0,86 ± 0,21a	0,63 ± 0,35a	1,50 ± 2,24a	0,62 ± 0,34a
ED	0,18 ± 0,07a	0,31 ± 0,14a	0,25 ± 0,06a	0,34 ± 0,12a
EE	0,52 ± 0,41a	0,23 ± 0,09a	0,23 ± 0,06a	0,23 ± 0,08a

TD - Testículo direito, TE - Testículo esquerdo, ED - Epidídimo direito, EE - Epidídimo esquerdo. Médias com letras iguais em uma mesma linha indicam que não houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para Student-New man-Keuls(SNK), teste de normalidade Cramer-von Mises W-Sq 0.03979, Pr > W-Sq > 0.2500

Em estudo microscópico o testículo de jurará (*Kinosternon scorpioide*), esta revestido pela túnica albugínea composta por tecido conjuntivo denso com fibras colágenas e ramificação de vasos sanguíneos intermediados por espaços linfáticos (Fig. 3A, 3B). No compartimento intersticial os túbulos seminíferos possuem disposições irregulares entre túbulos arredondados, alongados, separados por septos e sustentados por células mioídes (Fig. 3D). O compartimento basal é delimitado pela membrana basal, nele encontra-se espermatogônias e espermatócitos, o início da estratificação do epitélio seminífero, além de células de sertoli, com núcleo irregular e dentre as funções nutrir as células germinativas para formação dos espermatozoides. No compartimento adluminal, foram vistos espermatócitos e espermátides arredondadas e alongadas, bem como espermatozoides. Observa-se o ciclo epitelial seminífero com o destaque para alguns tipos de células germinativas, como espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozoides. As espermatogônias são células imaturas, situadas no

compartimento basal com núcleo de formato ovóide. Os espermatócitos são as maiores células da linhagem podendo ser primário ou secundário. As espermatídes são arredondadas ou alongadas, com núcleo e citoplasma menores. Os espermatozoides são encontrados na luz tubular e possuem cabeça em forma de vírgula (3C e 3D). Para crocodilo *Caiman crocodilus crocodilos* da Venezuela, o testículo é protegido por uma cápsula de tecido conjuntivo fibromuscular (CABRERA et al., 2007). Estas mesmas informações também foram descritas por Abas et al. (1998), e Chaves (2011), para jurará em cativeiro.

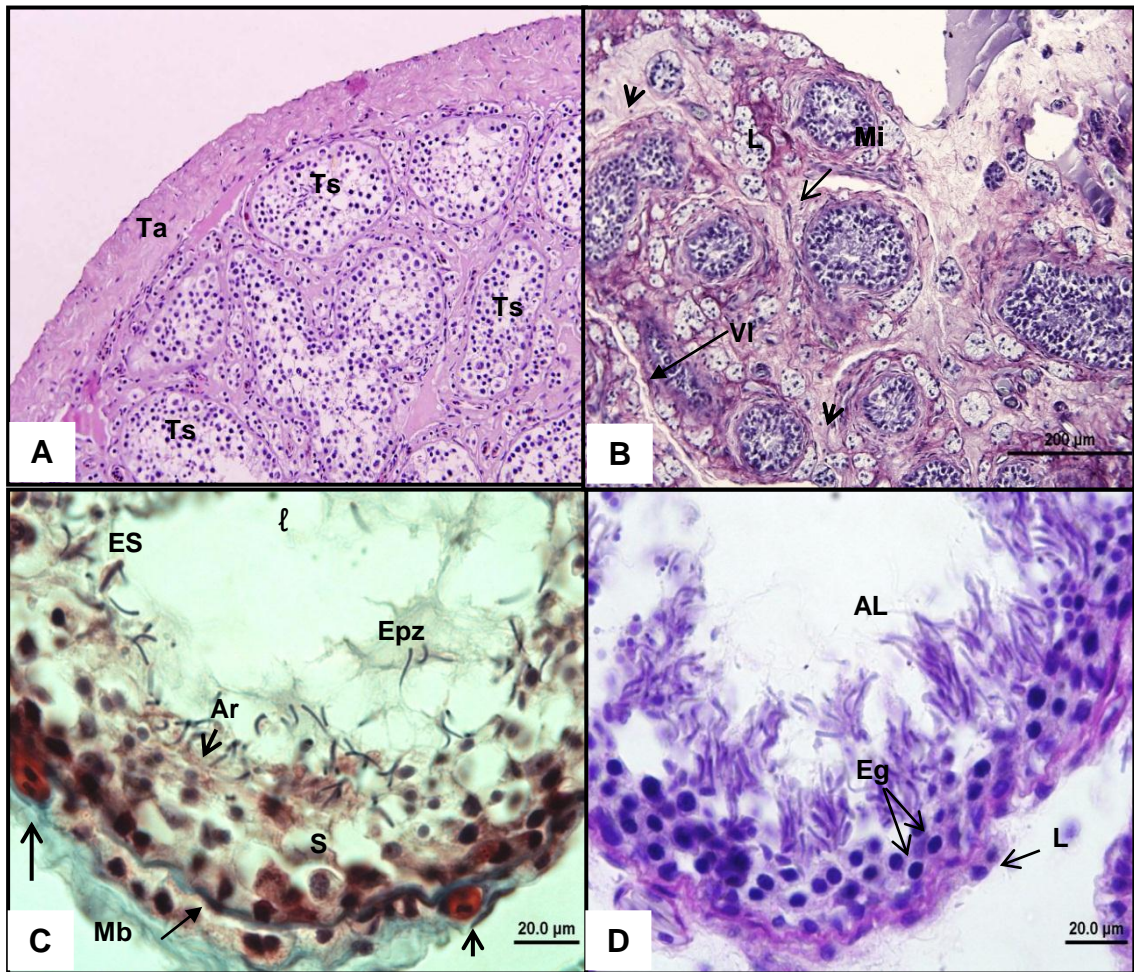


Figura 3 - Fotomicrografia de seções transversais do testículo de jurará (*Kinosternon scorioide*). A e B: Túnica albugínea (Ta), túbulos seminíferos (Ts), células de Leydig (L), células mioídes (Mi) e vasos linfáticos (VI). C e D: Lumen tubular (ℓ), Túbulo seminíferos delimitados pela membrana basal (Mb), epitélio seminífero estratificado (ES), vasos sanguíneos (Vs)(seta), célula de Sertoli (S) e espermatogônia (Eg), Espermatócitos (Ep), espermátides arredondadas (Ar) e alongadas (AL), e (A e B: HE, C: Tricômio de Masson, D: PAS)

Na microscopia eletrônica de varredura, pela técnica de criofatura os túbulos seminíferos apresentam sua disposição enovelada separada por septos (Fig. 4A e 4B). É visto a estratificação do epitélio seminífero, circundado pela túnica albugínea formando uma espécie de “capa” (Fig. 4C e 4D). Oliveira (2009) e complementado por Chaves (2011) relataram essas mesmas características para jurará em cativeiro. Estes achados também foram observados por Goldberg & Parker (1975) em testículos das serpentes

*Masticophis taeniatus* e *Pituophis melanoleucus*, em que os túbulos seminíferos mostravam-se como uma massa cercados pela cápsula de tecido conjuntivo, a túnica albugínea, com septos circundando estes túbulos. Estudos semelhantes foram descritos por Takamine (2006) para jacaré do pantanal, em que a camada externa do testículo é constituída de células nutridoras e da linhagem espermatogênicas. Xiangkun et al. (2008) descreveram, para a espécie de tartaruga *Trionyx sinensis* que a espermatogênese ativa é caracterizada pelo aparecimento de células em proliferação regular arranjadas no epitélio seminífero, é reafirmado por Oliveira (2009) e Chaves (2011) esta mesma característica em jurará criados em cativeiro.

O espaço peritubular do testículo de jurará apresentou vasos sanguíneos, espaços linfáticos e células de Leydig dispostas de forma isolada ou agrupadas (Fig. 3B). Características semelhantes para a mesma espécie em amostras de animais provenientes de ambiente controlado também foram relatadas por Oliveira (2009) e Chaves (2011). As células de Leydig produzem testosterona, sendo sua presença importante para a determinação dos níveis deste hormônio na manutenção do processo produtivo. Outros autores relatam as mesmas funções celulares em lagartos das espécies *Sceloporus occidentalis* e *Leiopisma rhomboidalis* por Wilhoft & Quay (1961); Wilhoft (1963) e (FOX, 1954) também nas serpentes *Thamnophis sirtalis*, *Thamnophis tetraenia* e *Thamnophis elegans*, respectivamente.

Por sua vez, as células de Sertoli do jurará estão localizadas na camada basal dos túbulos seminíferos próximas às espermatogônias, onde é caracterizada por apresentar um núcleo, na maioria das vezes, de formato piramidal, sendo estes também observados por Oliveira (2009) e Chaves (2011) para mesma espécie criadas em cativeiro. Em lagartos *Sceloporus occidentalis* e *Leiopisma rhomboidalis*, essas células apresentavam núcleo piramidal ou raramente ovóide com nucléolo grande (WILHOFT & QUAY, 1961; WILHOFT, 1963). No que se refere ao formato dos espermatozoides estes possuem cabeça em forma de vírgula, normalmente encontram-se soltos na luz tubular.

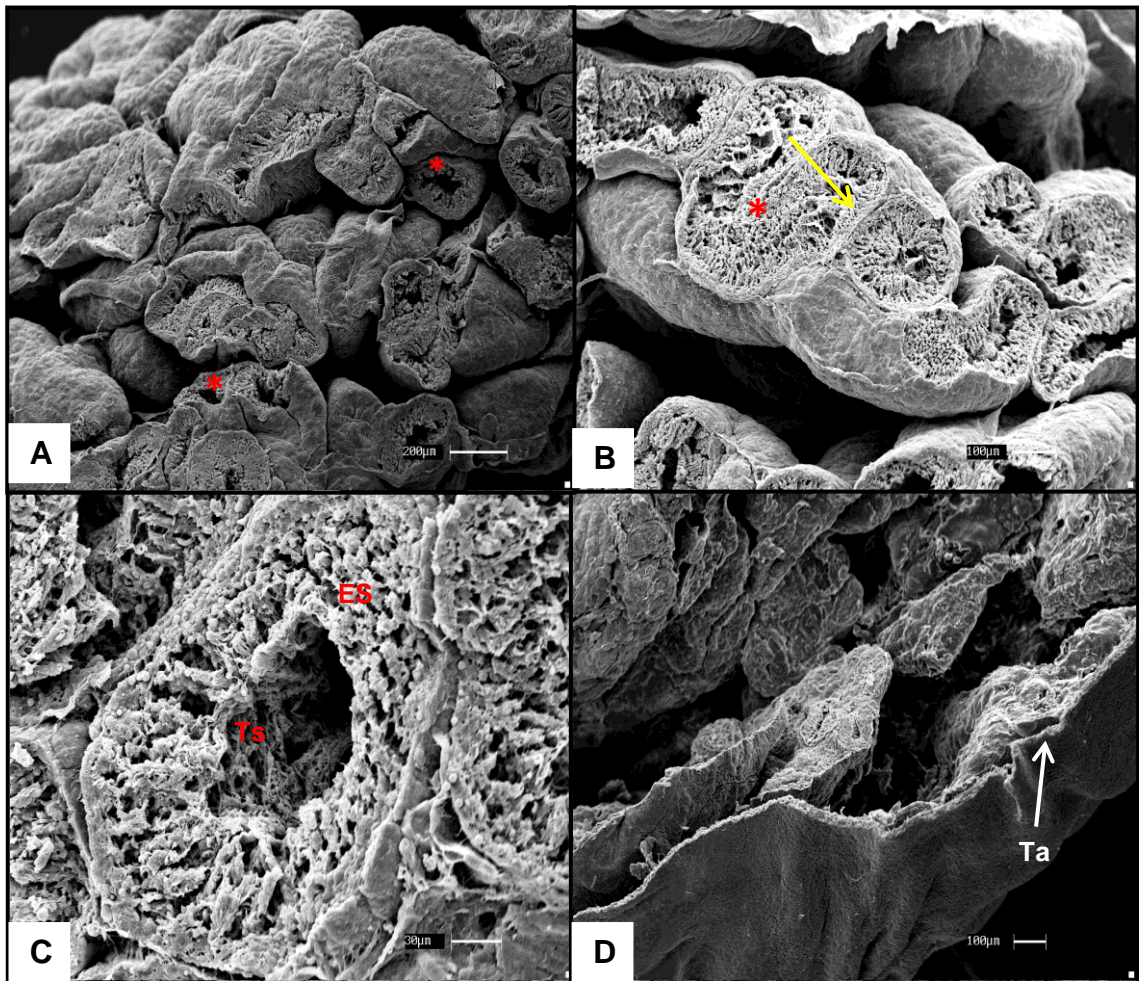


Figura 4 - Fotomicrografia eletrônica de varredura criofraturado dos testículos de jurará (*Kinosternon scorpioides*). A: Testículo observa-se túbulos seminíferos (asterisco); B: Septos intertubular (seta amarela); C: Túbulos seminíferos (Ts) e Epitélio seminífero estratificado (ES); D: Túnica albugínea formada por uma densa camada de tecido conjuntivo (Ta)

### 5.2.2 Epidídimos

Os aspectos macroscópicos dos epidídimos de jurará se mostram no formato de um tubo delicado, enovelado, de cor branca, inseridos na margem dorsomedial dos testículos, fixados pelas pregas celomáticas ao teto da cavidade. Chaves (2011) estudou a mesma espécie em cativeiro e compartilha das mesmas informações. Para Lake (1957) e King et. al., (1995) em estudos com aves, o epidídimo apresenta-se como uma estrutura única alongada e

fusiforme, inserida na superfície dorsomedial dos testículos, o posicionamento é semelhante ao observado em jurará, corroborado também por Chaves (2011).

Outro aspecto microscópico estrutural dos epidídimos de jurará permitiu observar sua divisão em rede testis, ducto eferente e ducto epididimário (Fig. 5A). Esse por sua vez é revestido por tecido conjuntivo denso e circundado pelo conjuntivo frouxo. Observa-se espermatozoides na luz, com restos celulares (Fig. 5B). Stefanni & Orsi (2005) descrevem em pombos as mesmas três regiões do epidídimo e caracteriza a rede testicular como um complexo canicular imerso no tecido conjuntivo, revestida com epitélio cúbico simples. O ducto epididimário possui epitélio pseudoestratificado esteriociliado, composto por células principais de formato alongado e células basais achatadas em contato com a membrana basal em maior número. Os cílios são encontrados em grande quantidade para permitir a movimentação dos espermatozoides em direção aos ductos deferentes. Foram encontrados espermatozoides durante todos os períodos estudados, e em menor quantidade na estação seca, com células epiteliais positivas para PAS (5C e 5D). Em calangos *Tropiurus itambere* a atividade secretora das células epididimárias aumenta no período reprodutivo, momento em que há presença de espermatozoide no ducto (FERREIRA et. al. 2009). Entretanto, para Aire et al. (1979) as células cilíndricas do ducto epididimário de galinha de angola não são esteriociliadas. Xiangkun et al. (2008) estudou tartarugas *Trionyx sinensis*, no verão, período reprodutivo da espécie e observou no epidídimo grande número de células principais e grânulos de glicogênio (PAS) com lipídios no citoplasma, Chaves (2011) em estudo semelhante a esta pesquisa, mas com animal de cativeiro também observou grânulos de secreção de PAS positivo nas células epiteliais e massa de espermatozoides nos ductos epididimários. Aspecto este também coincidente ao do jurará de vida livre no período reprodutivo com a produção de energia necessária para as funções celulares.

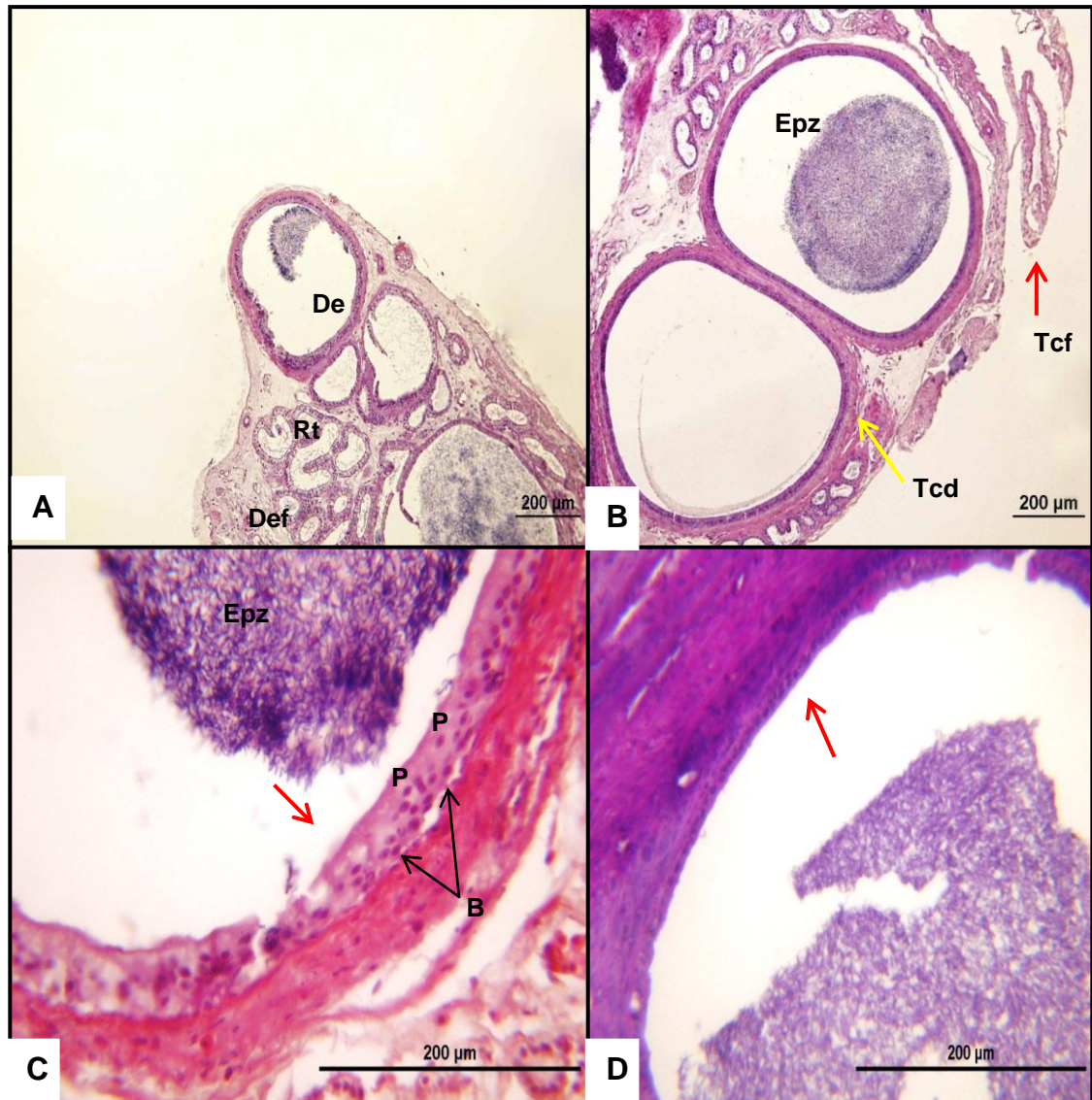


Figura 5 - Corte histológico do epidídimo de jurará (*Kinostern scorpioides*): A: Divisões do epidídimo em rede testis (Rt), ducto eferente (Def) e Ducto epididimário (De). B: Ducto epididimário revestido por tecido conjuntivo denso (Td) (Seta amarela) e frouxo (Tf) (seta vermelha), espermatozóide (Epz) na luz. C: Epitélio pseudoestratificado ciliado (seta vermelha) com células principais (P), basais (B) e espermatozóides na luz tubular. (Sz). D: Células epiteliais PAS positivo (seta vermelha). (A, B e C: HE, D: PAS)

Outro aspecto visto na Microscopia eletrônica de varredura (MEV) pela técnica de criofratura do epidídimo de jurará (*Kinosternon Scorpioides*) observa-se a disposição do epitélio pseudoestratificado ciliado com espermatozoides na luz e na margem do túbulo com presença de canálculos de secreção. As células epiteliais do epidídimo são evidenciadas pela sua



estrutura em forma de hexágono o que permiti maior flexibilidade para o transporte de espermatozoides (Fig. 6A, 6B e 6C).

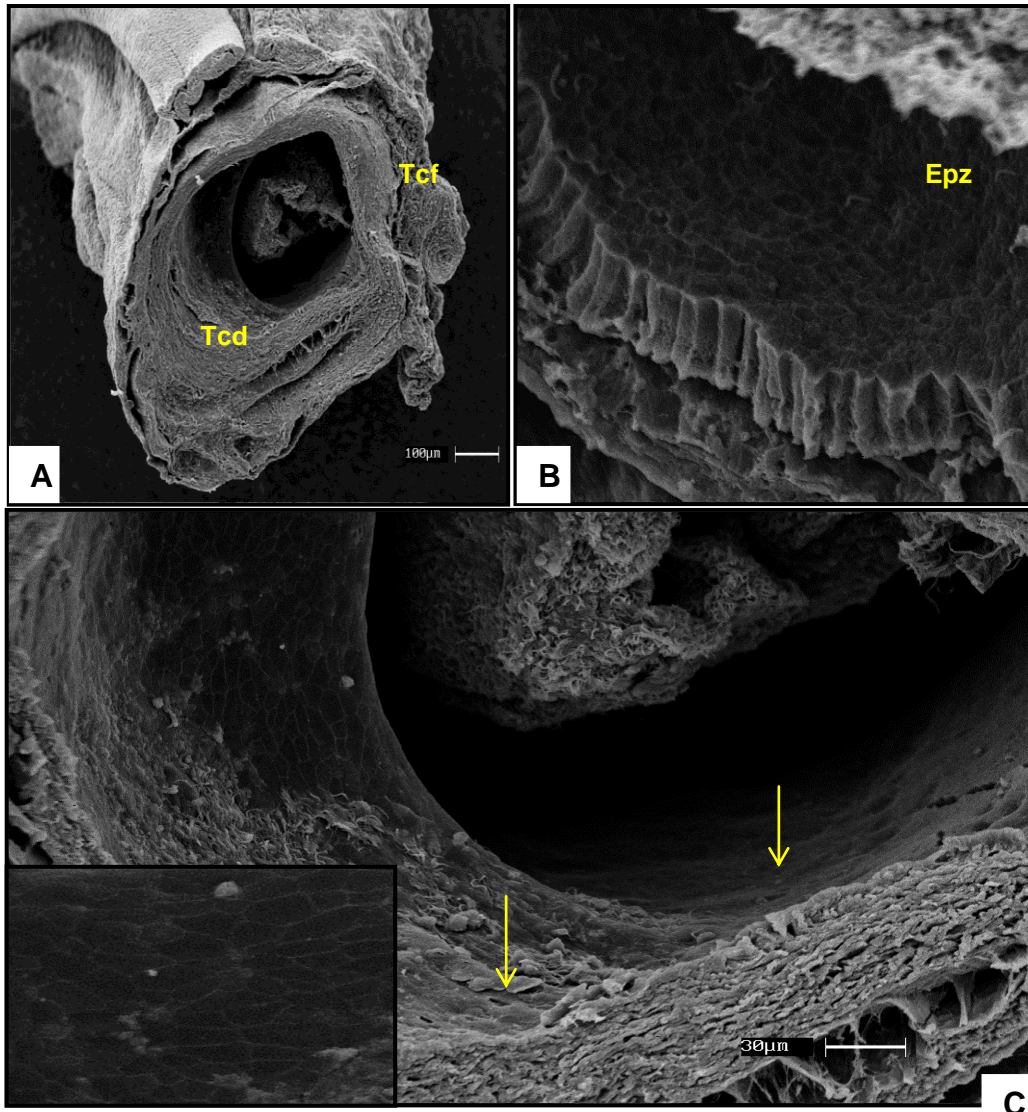


Figura 6 - Fotomicrografia de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) criofaturada do epidídimo de jurará (*Kinosternon Scorpioides*). A: Ducto epididimário, com tecido conjuntivo denso (Tcd) e tecido conjuntivo frouxo (Tcf); B: Disposição do Epitélio pseudoestratificado ciliado com espermatozoides (Epz); C: Epidídimo com destaque parede interna em forma de hexágono (destaque) e canalículos de secreção (seta amarela).

### 5.2.3 Ductos Deferentes

Os ductos deferentes são contínuos aos epidídimos, apresenta-se como uma estrutura pequena, em forma de um tubo seguindo lateral aos ureteres, e insere-se na parede dorsolateral da cloaca, alargando em um formato de uma pequena ampola. Esta característica de formato de ampola não foi observada para a mesma espécie por Carvalho et al. (2010) que não relata a dilatação do ducto deferente antes de se inserir na cloaca, entretanto Chaves (2011) descreveu uma pequena dilatação como forma de ampola.

Em *K. scorpioides*, o ducto deferente em imagem de microscopia de luz mostra-se revestido pelo epitélio cilíndrico pseudoestratificado com células secretoras para PAS positivo (Fig. 7D). No entanto serpentes (*Bothrops jararaca* e *Crotalus durrisuia*) apresentam células epiteliais com microvilosidades, com produção de secreção (ALMEIDA–SOUSA, 2005). Porém, em jurará de vida livre não foi identificado a formação de microvilosidades das células epiteliais.

No Jurará os ductos deferentes apresentam ainda camada de tecido conjuntivo denso com a presença de vasos sanguíneos circundados por tecido muscular. Características estruturais semelhantes, ao mesmo tecido epitelial, foram descritas, em espécies próximas a este estudo, nos ductos de crocodilo por (GUERRERO et. al., 2004), em galos por Tingari (1971). No interior da luz do ducto deferente de jurará é visível espermatozoides no centro tubular e um fluido leitoso (Fig. 7A, 7B e 7C). Nas serpente *Seminatrix pygaea* da Carolina do Sul é observado no ducto deferente a disposição dos espermatozoides separados do epitélio (SEVER, 2004).

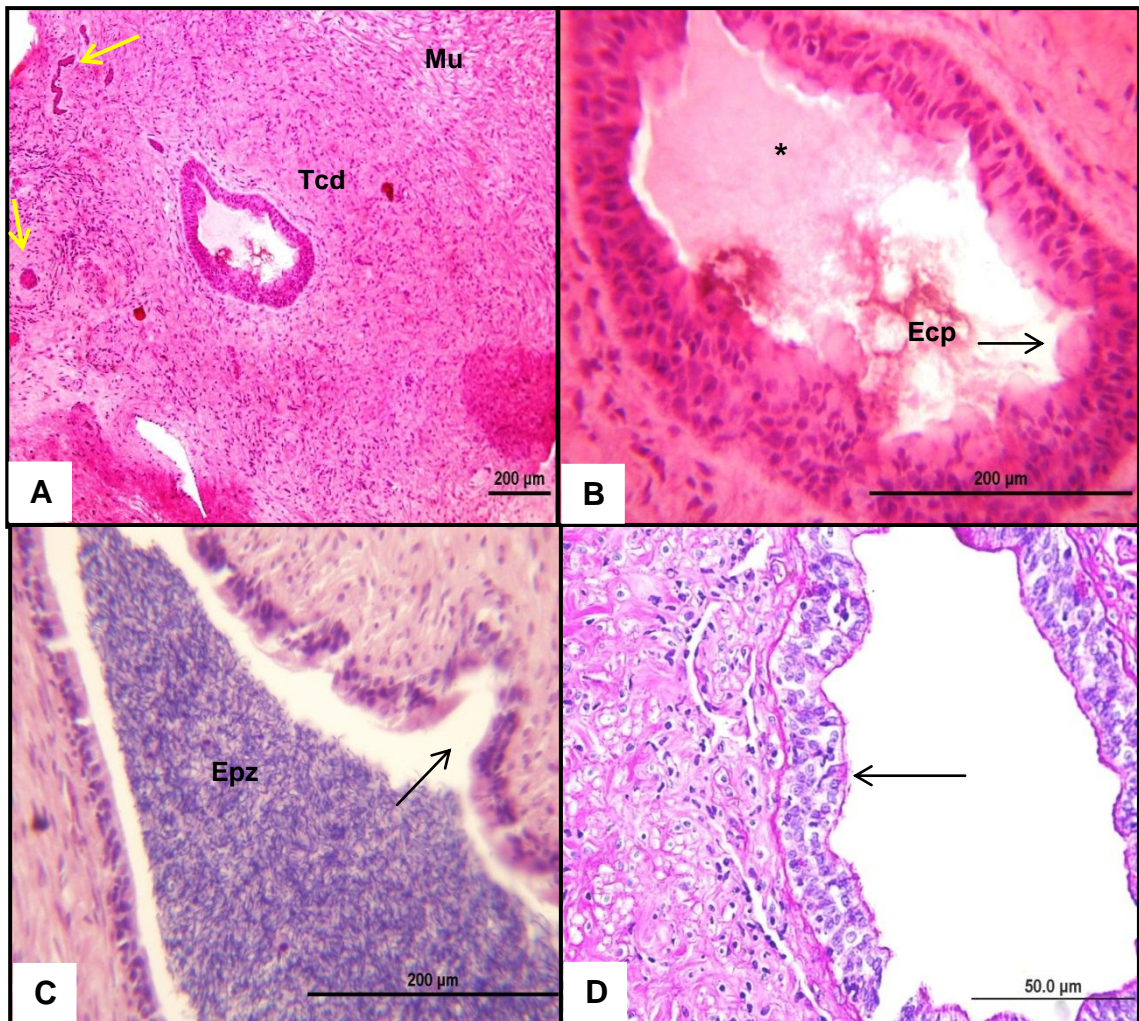


Figura 7 - Fotomicrografia de seções transversais do ducto deferente de jurará (*Kinosternon scorpoides*). A e B: Epitélio cilíndrico pseudoestratificado (Ecp), camada de tecido conjuntivo denso (Tcd), camada muscular (Mu), vasos sanguíneos (seta amarela) e fluido leitoso (asterisco); C: Epitélio cilíndrico pseudoestratificado (Ecp) com irregularidade (seta) e espermatozóides na luz (Epz). D: Celulas secretoras PAS positivo (seta) (A, B e C: HE; D: Tricômio de Masson)

A microscopia eletrônica de varredura pela técnica de criofratura o ducto deferente apresentou a disposição dos espermatozoides no epitélio tubular e o arranjo do tecido conjuntivo denso vizinho da camada muscular próximo aos vasos sanguíneos (Fig. 8A e 8B). Em estudo realizado por Almeida-Santos em 2005, em serpentes essas mesmas observações foram relatadas, especificando ainda o ducto como sendo o local de estocagem de espermatozoide. Em jurarás também se acredita que o ducto deferente seja adaptado para função de armazenamento devido suas características estruturais tal como ausência de cílios ou esteriocílios nas células.

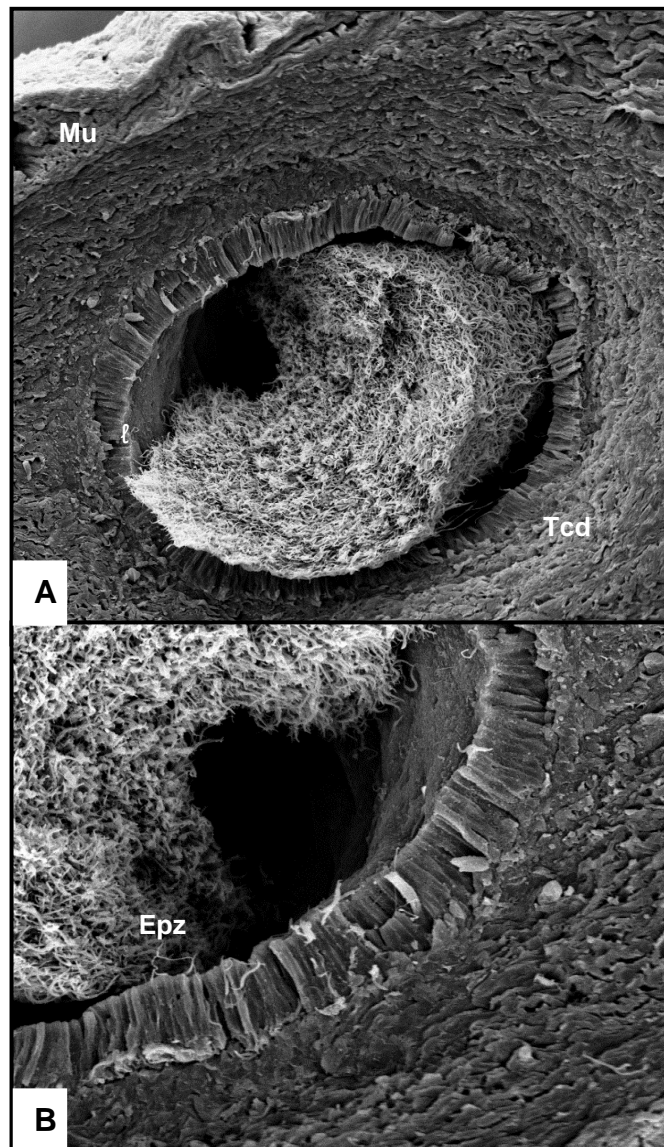


Figura 8 - Fotomicrografia por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) evidenciando o ducto deferente de jurará (*Kinosternon. Scorpioides*). Em A: Ducto deferente, mostrando a luz tubular (ℓ), tecido conjuntivo denso (Tcd) e camada muscular (Mu); B: Disposição do epitélio pseudoestratificado com células cilíndricas. Barra: 100 µm; 50 µm

### 5.3 Variações climática anual

A Região da Baixada Maranhense, local de coleta dos animais, possui clima tropical úmido, com pouca variação de temperatura anual. As chuvas são nos primeiros meses do ano e a umidade com pouca variação durante o ano (Fig. 9).

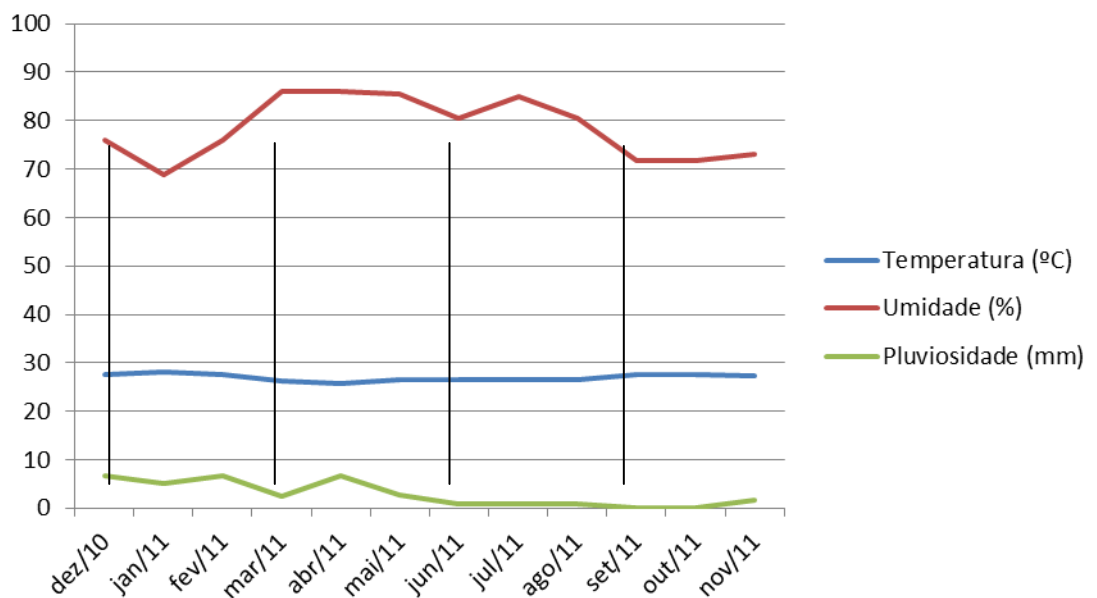


Figura 9 - Níveis anual de temperatura, umidade e pluviosidade da região da Baixada Maranhense, conforme a estação. São Luís – MA – 2012. Fonte: LABMET/UEMA

A coleta do mês de março, correspondendo à estação chuvosa, também chamada de período das águas foi o mês que apresentou o menor índice de temperatura entre os períodos, porém com o maior índice de umidade com chuvas constantes. Houve diferença estatística entre a estação chuvosa e seca para temperatura e umidade, enquanto para pluviosidade o comportamento foi diferente para os períodos correspondentes.

Estas características ambientais são interessantes, por mostrar ser um momento de preparação dos animais, sob o ponto de vista fisiológico, por criar o micro-habitat necessário para a reprodução, sendo este também evidenciado na estrutura morfológica dos órgãos reprodutivos que o processo espermatogênico estava ativo com o desenvolvimento das células germinativas, alia-se a este fato a média de pesos dos testículos direito e esquerdo dos animais deste período que foram as maiores e dos epidídimos direito e esquerdo por mostrar médias de pesos maiores para o período. Ainda neste período ocorreu o primeiro pico hormonal de testosterona  $1190,25 \pm 670,86$  ng/dL. Sobre estes aspectos os estudos de Gribbins (2003) em tartarugas *Trachemys scripta* na cidade de Ohio (EUA) mostram espermatozoides maduros, armazenados nos epidídimos até a época da reprodução acontecer na primavera seguinte, indicando que há influência climática e ambiental sobre o processo reprodutivo. Assim, essas informações ajudam a compreender em jurará o fato dos epidídimos apresentarem pesos maiores nesse momento antes do acasalamento (ver tab.3). Outro aspecto aqui deve ser considerado que a época do ano e as condições ambientais favorecem o mecanismo reprodutivo da espécie em seu próprio habitat.

No mês de junho, período final da estação chuvosa, quando as chuvas diminuem de maneira bem significativa, a temperatura continua no mesmo patamar, sendo observado espermatozoides ativos nos túbulos seminíferos dos jurarás. Pesquisas realizadas por Altland (1951) sobre a reprodução de tartaruga *Terrapene carolina Carolina* provenientes das cidades

da Pensilvânia e Maryland dos USA no início do verão em julho, indicam a presença de espermatozoides e o processo espermatogênico completo.

As amostras de jurará analisadas no mês de Setembro, cuja característica climática era pleno período seco registram aumento da temperatura e umidade, com baixa pluviosidade. Neste período, é observado no comportamento reprodutivo da espécie que o acasalamento é menos frequente e os testículos regrediram de tamanho. O peso do testículo direito foi menor peso entre os períodos estudados, logo a média de comprimento e largura foram menores (Tab. 4). O detalhe marcante deste período foi o maior pico hormonal de testosterona  $1340,42 \pm 233,62\text{ng/dL}$ . Estudos em espécies próximas como as tartarugas *Kinosternon subrubrum hippocrepis*, *Kinosternon flavescens flavescens*, *Sternotherus odoratus* e *Sternotherus carinatus* provenientes das cidades Arkansas, Texas e Oklahoma eutanasiadas no verão durante os meses de setembro e dezembro, apresentaram testículos diminuídos e espermatozoides nos epidídimos. Os valores para os pesos dos testículos durante esta fase foram as menores para o ano (MAHMOUD, 1972). Observou-se tartarugas da espécie *Apolone ferox* da Flórida apresentaram espermatogênese no mês de outubro, em que se verificou o aumento do peso do epidídimo, coincidindo aumento de peso do testículo na época reprodutiva (MEYLAN et al. (2002). Para jurará, na estação seca os epidídimos direito e esquerdo mostraram médias de peso maior nesta época do ano  $0,18 \pm 0,07\text{g}$  e  $0,52 \pm 0,41\text{g}$ , apesar da histologia mostrar a menor atividade espermatogênica, mesmo assim foi observado nos epidídimos fragmentos de espermatozoides. Em aves também se observa este processo ligados a características sazonais como para o pato doméstico (*Anas platyhrynchus*), da Cidade de Jaboticabal-SP, na estação de verão, meses de janeiro e fevereiro, iniciou-se a fase de quiescência ou de repouso testicular (SIMÕES et al., 2005), esses estudos demonstram o que seria um perfil sazonal o que fortalece tal afirmação para jurará.

Tabela 4 - Média e desvio padrão dos parâmetros biométricos do testículo de jurarás (*Kinosternon scorpioides*) capturados em São Bento - MA, conforme a estação - São Luís - MA.

Medidas	Período do ano			
	Est. Chuvosa		Est. Seca	
	mar/11	jun/11	set/11	dez/10
TD - C	1,43 ± 0,40a	1,36 ± 0,36a	1,30 ± 0,76a	1,31 ± 0,32a
TD - L	1,43 ± 0,26a	1,11 ± 0,27a	0,77 ± 0,15a	1,13 ± 0,26a
TE - C	0,70 ± 0,30a	1,30 ± 0,37a	1,84 ± 0,41b	1,31 ± 0,37a
TE - L	0,52 ± 0,41a	1,22 ± 0,24a	1,33 ± 0,59a	1,13 ± 0,21a

TD - C - Testículo direito comprimento, TD - L - Testículo direito largura, TE - C - Testículo esquerdo comprimento, TE - L - Testículo esquerdo largura. Médias com letras iguais em uma mesma linha indicam que não houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) comparou comprimento com comprimento e largura com largura para Student-Newman-Keuls(SNK), teste de normalidade Cramer-von Mises W-Sq 0.03979,  $Pr > W-Sq > 0.2500$

Em Dezembro, considerado o período final da estação seca, a temperatura manteve-se no mesmo patamar, com aumento da umidade e chuvas esporádicas. E é nesse período, quando as condições climáticas são desfavoráveis para a sobrevivência da espécie que o jurará busca um comportamento biológico denominado de “estivação”, assim eles buscam abrigo no solo, em baixo da vegetação “quando se enterram” e mantém baixo metabolismo basal.



#### 5.4 Aspectos da organização estrutural dos órgãos reprodutivos de jurará conforme épocas do ano

As estruturas dos túbulos seminíferos de jurará apresentaram alterações morfológicas na estação chuvosa que corresponde aos meses de Janeiro a Junho. Neste período foi percebido o completo ciclo desse epitélio, pois todos os animais estão com espermatozoides no lúmen tubular (Fig. 10A e 10B). Por outro lado, na estação seca que corresponde aos meses de Julho a Dezembro, não foi observado atividades espermatogênica nos túbulos seminíferos, pois o epitélio apresentava-se desorganizado, e outro aspecto observado ainda no final deste período, é que os animais entram no processo biológico de “estivação” (Fig. 10C e 10D) no qual eles se enterram no solo, reduzindo seu metabolismo basal, em uma época desfavorável à sobrevivência da espécie. No plano estrutural os elementos tubulares mostram sofrer processo de transição sem desenvolvimento do epitélio germinativo. Estas características são reforçadas na observação das estruturas por meio das microscopias eletrônicas de varredura (Fig. 11A, 11B) e transmissão (Fig. 12A, 12B, 12C, 12D). Aspectos próximos aos aqui relatados ao jurará também foram presenciados por Mahmoud (1997) em tartarugas *Chelydra serpentina* que ao saírem do período de “hibernação” retoma o desenvolvimento do epitélio germinativo se preparando para um novo ciclo espermatogênico.

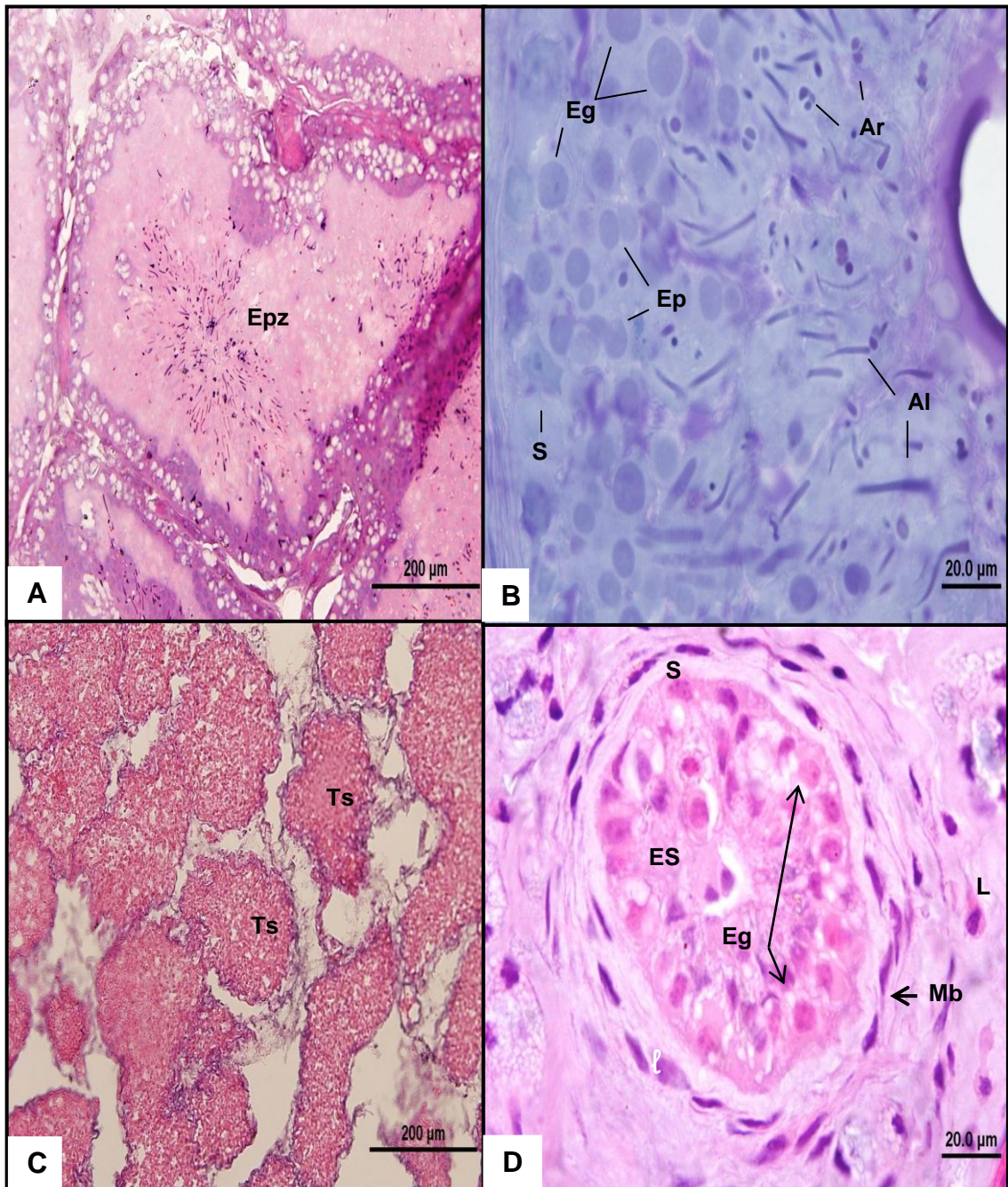


Figura 10 - Fotomicrografia do testículo de jurará (*Kinosternon scorpioides*) na estação chuvosa e seca. A e B : Histologia do epitélio seminífero da estação chuvosa, presença de espermatogônia (Eg), espermatócitos (Ep),espermátides (Ar) e espermatozoides (Sz); C e D: Histologia do epitélio seminífero (ES) da estação seca sem desenvolvimento do epitélio germinativo, presença de espermatogônia (Eg), células de sertoli(S), Leydig(L) e Membrana basal(Mb). (A, C e D: HE; B: PAS)

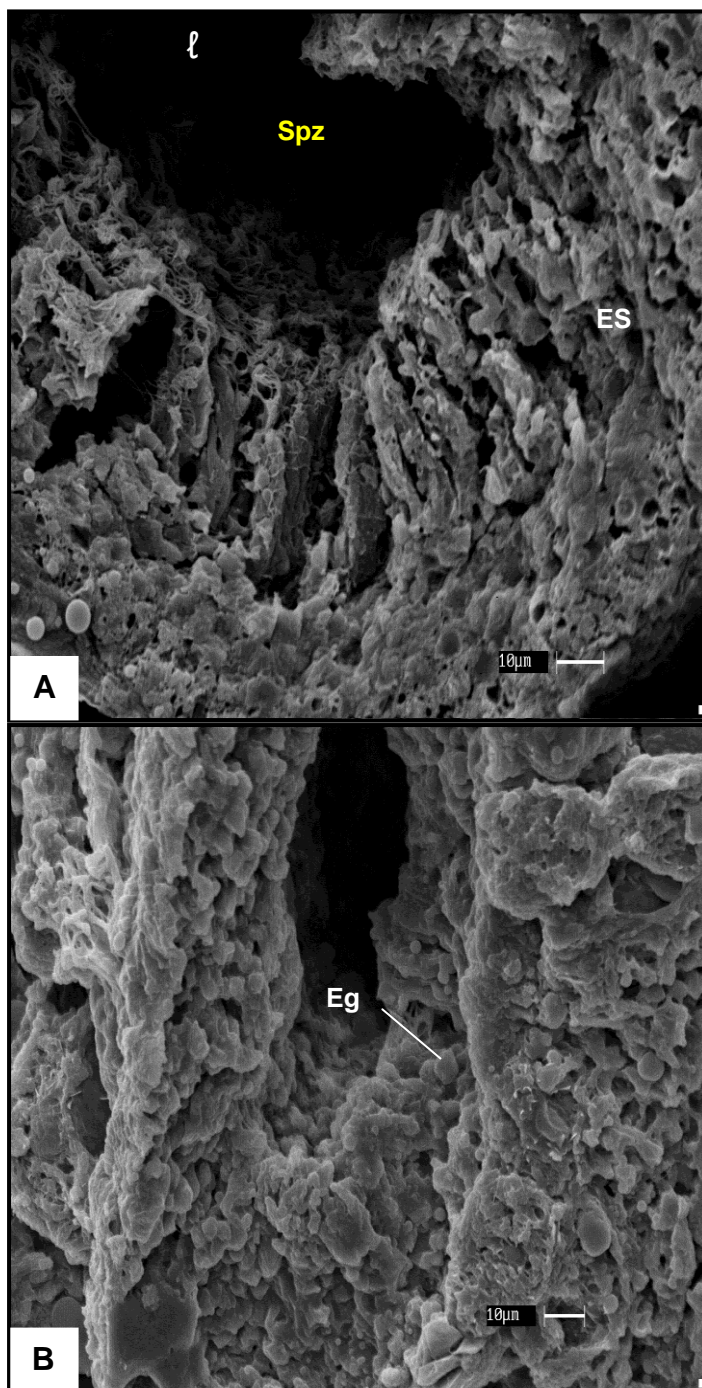


Figura 11 - Fotomicrografia eletrônica de varredura dos testículos de jurará (*Kinosternon scorpioides*) da estação chuvosa e seca. A: Epitélio seminífero (ES) da estação chuvosa, luz (l) com presença de espermatogônia (Eg) e espermatozoides (Spz). B: Epitélio seminífero (ES) da estação seca com presença de espermatogônia (Eg). Barra: 10 µm e 10 µm

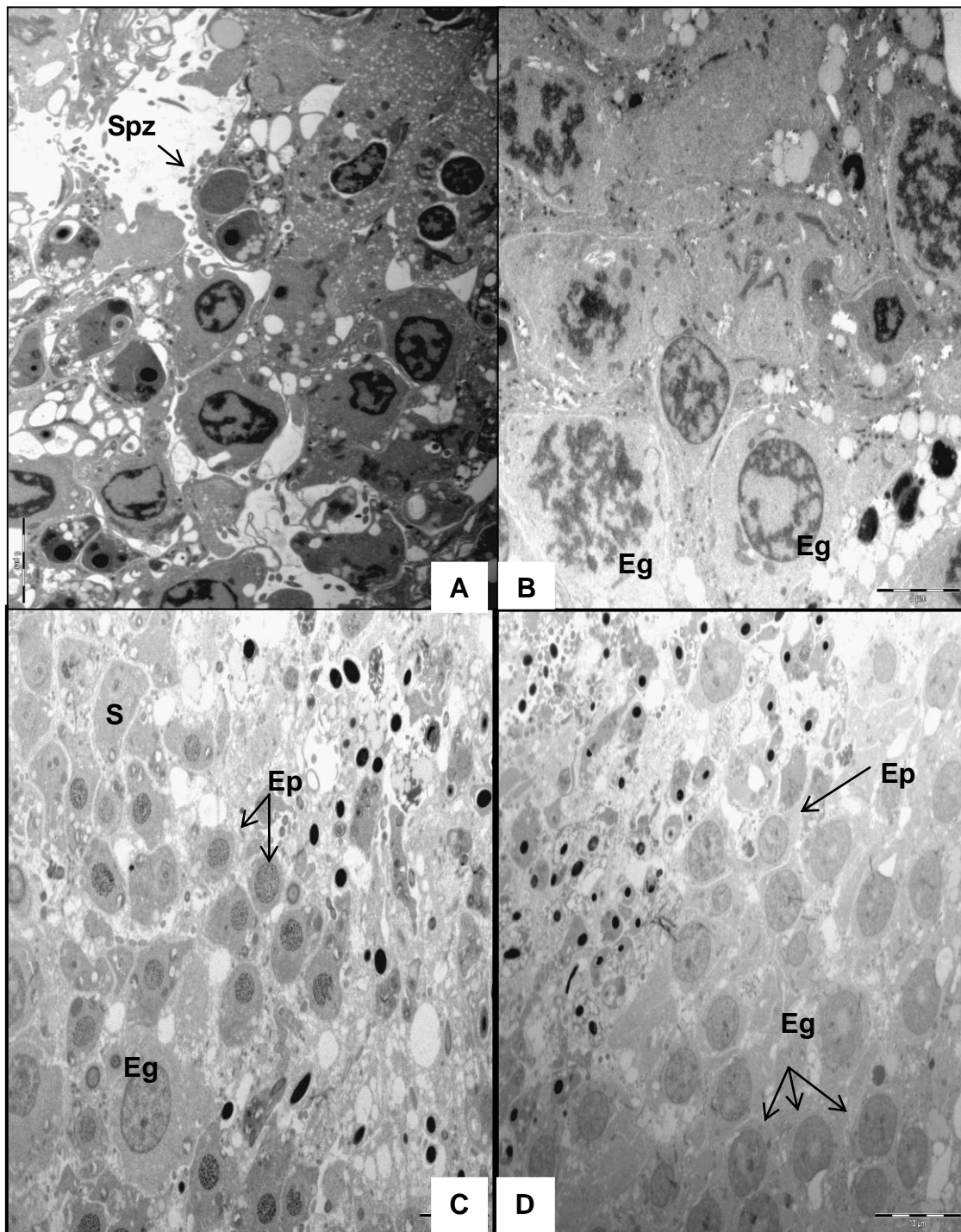


Figura 12 - Fotomicrografia eletrônica de transmissão do testículo de jurará (*Kinosternon scorpioides*) na estação chuvosa e seca. A e B: Epitélio seminífero da estação chuvosa, presença de espermatogônia (Eg), espermatócito (Ep), espermatíde (Ar) e espermatozoide (Spz)(seta). Barra: 60  $\mu$ m, 5  $\mu$ m . C e D: Epitélio seminífero da estação seca com presença de espermatogônia (Eg) e espermatócito (Ep), células de Sertoli (S). Barra: 50  $\mu$ m e 10  $\mu$ m

A morfometria do diâmetro tubular e luminal e a altura dos túbulos seminíferos de jurará foram significativamente diferentes entre si ( $p < 0,05$ ), entre as estações. Na estação chuvosa o diâmetro tubular e luminal e a altura epitelial variaram respectivamente. Enquanto, na estação seca as médias do diâmetro tubular e luminal e a altura decresceram (Tab. 5). Percebe-se, com estes achados que na estação chuvosa a atividade espermatogênica estava ativa. Dados da literatura confirmam haver alterações cíclicas no comportamento do desenvolvimento do epitélio seminífero como ocorre em serpentes *Psammophis sibilans* e *Palerosophis diademas* originárias da Cidade do Cairo no Egito, assim a túnica albugínea possui espessura mínima durante a estação reprodutiva, os túbulos seminíferos atingem os seus maiores diâmetros e espessura máxima de seu epitélio germinativo de  $377\mu\text{m}$  e  $150\mu\text{m}$  respectivamente, diminuindo gradualmente durante o período inativo da reprodução (AMER, 1978). As observações do epitélio seminífero, descritas por Wilhoft & Quay (1961) para a espécie de lagarto (*Sceloporus occidentalis*), em amostras obtidas do período de inverno, quando a temperatura do ambiente encontra-se baixa, e é iniciado por essas espécies o processo de hibernação o aumento médio do diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero nos valores respectivos de  $246,50 \pm 54,90\mu\text{m}$  e  $88, 113,20\mu\text{m}$ , sendo estes dados morfológicos diferentes aos obtidos para o jurará, mesmo em situação climática desfavorável para a reprodução.

Tabela 5 - Média e desvio padrão da morfometria ( $\mu\text{m}$ ) do diâmetro tubular, luminal e altura dos túbulos seminíferos de jurará (*Kinosternon scorpioides*), capturados em São Bento - MA, conforme a estação. São Luís – MA - 2012

Túbulos seminíferos	Período do Ano			
	Estação Chuvosa		Estação Seca	
	mar/11	jun/11	set/11	dez/10
Diâmetro tubular	368,62 $\pm$ 45,20 a	291,25 $\pm$ 40,50 b	202,37 $\pm$ 30,16 c	187,70 $\pm$ 25,56 c
Diâmetro luminal	180,52 $\pm$ 40,51 a	144,02 $\pm$ 36,00 b	134,31 $\pm$ 31,40 c	174,02 $\pm$ 22,63 a
Altura epitelial	96,82 $\pm$ 16,77 a	66,91 $\pm$ 13,16 b	36,68 $\pm$ 12,87 c	30,40 $\pm$ 6,64 c

Médias com letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para Student-Newman-Keuls(SNK), teste de normalidade Cramer-von Mises W-Sq 0.03979, Pr > W-Sq > 0.2500, Dez - Dezembro, Mar - Março, Jun - Junho, Set - Setembro

O ducto epididimário do jurará na estação chuvosa, está composto de epitélio cilíndrico pseudoestratificado esteriociliado com células principais e basais, e espermatozoides no ducto (Fig. 13A). Na estação seca, o epitélio é formado de células simples cúbicas (Fig. 13B), no entanto foi evidenciada a presença de espermatozoides nas duas estações. Pela microscopia eletrônica de transmissão, na estação chuvosa, observam-se células epiteliais, com organelas e presença de espermatozoides (Fig. 14A e 14B), enquanto na estação seca o epitélio estava desorganizado com poucos espermatozoides e uma maior quantidade de organelas (mitocôndrias) (Fig. 14C e 14D).

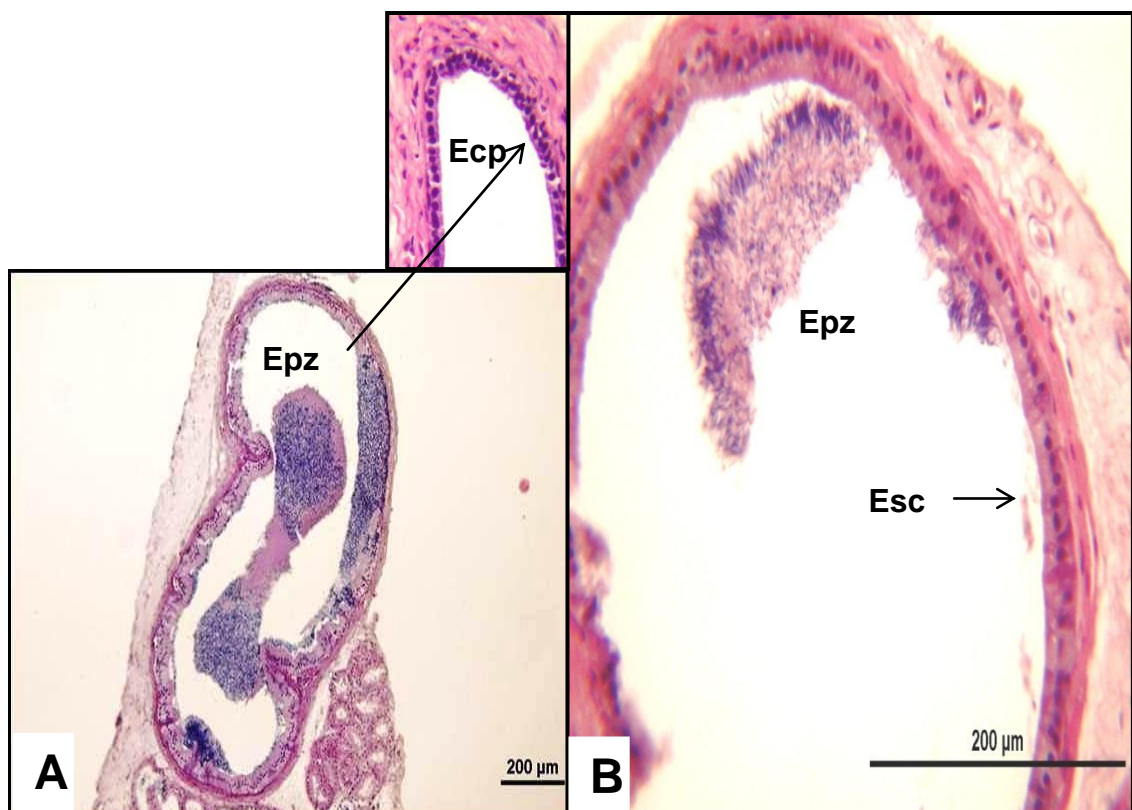


Figura 13 - Histologia do ducto epididimário de jurará (*Kinosternon scorpioides*) da estação chuvosa e seca. A: Ducto epididimário na estação chuvosa com presença de espermatozoide na luz (Epz) com destaque do epitélio cilíndrico pseudoestratificado com esteriocílios (Ecp); B: Ducto epididimário da estação seca, com espermatozoides, epitélio simples cúbico (Esc). (A e B: HE)

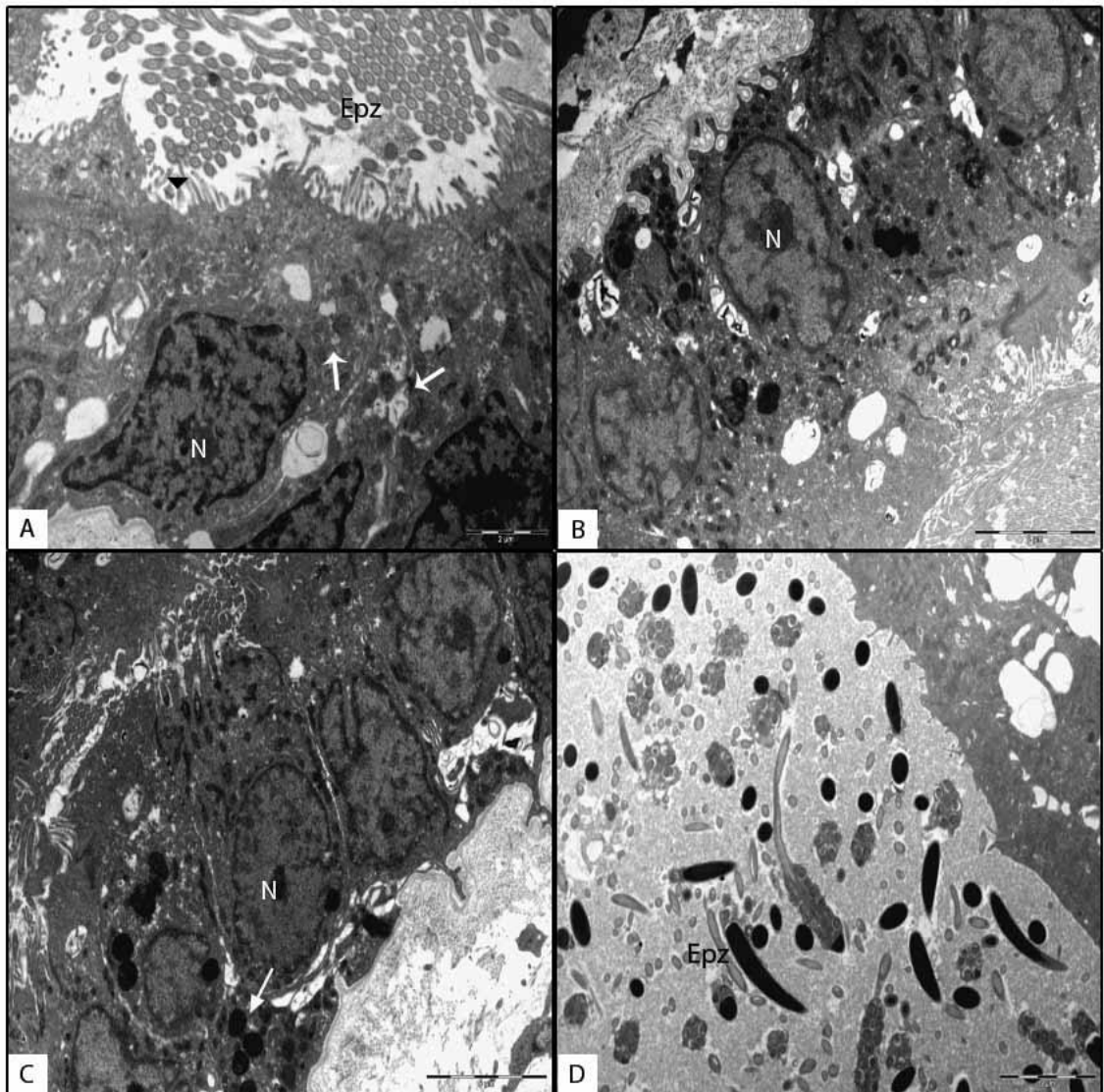


Figura 14 - Fotomicrografia de microscopia eletrônica de transmissão (MET) do epidídimo de jurará (*Kinosternon scorpioides*) da estação chuvosa e seca. A e B: Epidídimo na estação chuvosa com organização celular e organelas citoplasmáticas (mitocôndrias) e núcleo, presença de esteriocílios (cabeça de seta) e espermatozoides. Barra: 2  $\mu$ m, 5  $\mu$ m. C e D: Epidídimo na estação seca com desorganização epitelial e organelas citoplasmática (mitocôndrias em grande quantidade) e espermatozoides. Barras: 5  $\mu$ m, N (núcleo). Epz (espermatozoides). Seta (mitocôndrias).

A imagem da microscopia eletrônica de transmissão visualiza células epiteliais com conteúdo citoplasmático e presença de organelas e

espermatozoides no lúmen, mostrando que o órgão encontra-se em atividade reprodutiva. Foram relatadas para a espécie de codorna doméstica *Coturnix coturnix* da Cidade de Botucatu-SP, que o ducto epididimário mostrou variabilidade anual pequena com significativo aumento do calibre tubular, estocagem intraluminal de espermatozoides e ocorrência de mitocôndrias, lisossomos, retículo endoplasmático e vesículas variáveis no citoplasma das células principais. Estas características ultraestruturais das células principais parecem ser indicativas da ocorrência de processos ativos de endocitose e características degenerativas foram verificadas no citoplasma das células P epididimárias no outono (ORSI et al., 2007), características compartilhadas para jurará com os epidídimos mais irregular e um aspecto irregular, além da degeneração espermática. MCpherson (1981) estudou tartarugas (*Sternotherus odoratus*) de Alabama, e observou que quando os epidídimos nos meses de Julho a Setembro estão leves é o mesmo período que os testículos estão pesados, logo é possível afirmar que há um movimento de espermatozoides, observa-se também pela morfometria em jurará que quando os testículos estão cheios o epidídimo se encontra em uma relação de menor densidade para espermatozoides. No entanto como visto por MCpherson (1981), os epidídimos se encontram cheios de espermatozoides durante todo o ano, para jurará existe espermatozoides em todo o ano, em menor quantidade entre os períodos, mas não é possível fazer afirmações sobre a viabilidade destes.

A morfometria para valores médios do diâmetro tubular e luminal e altura epitelial do epidídimo na estação chuvosa tiveram as maiores médias com diferenças significativas indicando atividade reprodutiva. Na estação chuvosa as médias de diâmetro tubular e luminal aumentaram indicando a ciclicidade, conforme (Tab. 6). Os valores do diâmetro tubular e a altura do epitélio seminífero obtidos da histomorfometria testicular de codorna (*Coturnix coturnix*) provenientes da região de Maringá no Paraná relatam valores respectivos de 400  $\mu\text{m}$  e 120  $\mu\text{m}$  para o período de maior atividade espermatogênica observado por Amoroso et al. (2008). Estas medidas se mostram equivalentes às observadas no jurará.



Tabela 6 - Média e desvio padrão da morfometria ( $\mu\text{m}$ ) do diâmetro tubular, luminal e altura dos ductos epididimários de jurará (*Kinostemon scorpioides*), capturados em São Bento - MA, conforme a estação. São Luís – MA - 2012

Ducto Epididimário	Período do Ano			
	Estação Chuvosa		Estação Seca	
	mar/11	jun/11	set/11	dez/10
Diâmetro tubular	392,41 $\pm$ 61,75 a	476,54 $\pm$ 54,81 b	295,82 $\pm$ 56,42 c	370,51 $\pm$ 51,59 a
Diâmetro luminal	386,85 $\pm$ 45,57 a	452,07 $\pm$ 59,02 b	268,46 $\pm$ 53,77 c	345,85 $\pm$ 54,41 a
Altura epitelial	29,58 $\pm$ 12,52 a	25,38 $\pm$ 7,74 ab	27,81 $\pm$ 8,32 abc	15,53 $\pm$ 4,61 a

Médias com letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para Student-New man-Keuls (SNK), teste de normalidade Cramer-von Mises W-Sq 0.03979, Pr > W-Sq > 0.2500, Dez - Dezembro, Mar - Março, Jun - Junho, Set - Setembro

A morfologia estrutural do ducto deferente do jurará oriundos da estação chuvosa foi do tipo pseudoestratificado com células cilíndricas, espermatozoides na luz e fluido leitoso característicos de sêmen (Fig. 15A e 15B), enquanto que na estação seca sofreram modificações e apresentou epitélio pseudoestratificado, com células cubóides, ausência de espermatozoides na luz e restos celulares (Fig. 15C e 15D). Na galinha da angola (*Numida meleagris*) a porção final do ducto deferente apresenta dobras do epitélio que formam sulcos ou criptas contendo espermatozoides (AIRE et al., 1979), no jurará se observa pregas, com os mesmos fins de armazenar espermatozoides. Na microscopia de transmissão dos tecidos observados das coletas dos animais da estação chuvosa, o que se viu foram espermatozoides, organelas citoplasmáticas (mitocôndrias) e vesículas lipídicas (Fig. 16A e 16B). Na estação seca as observações ultraestruturais apresentam citoplasma desorganizado e escasso, com retículo endoplasmático, além de poucos espermatozoides (Fig. 16C). Também se observou em serpentes *Seminatrix pygaea* da Carolina do Sul, em microscopia de transmissão para o período correspondente ao seco não foi observada nenhuma organização entre as massas de espermatozoides, citoplasma escasso e vacúolos pequenos, com pequenas mitocôndrias escuras (SEVER, 2004).

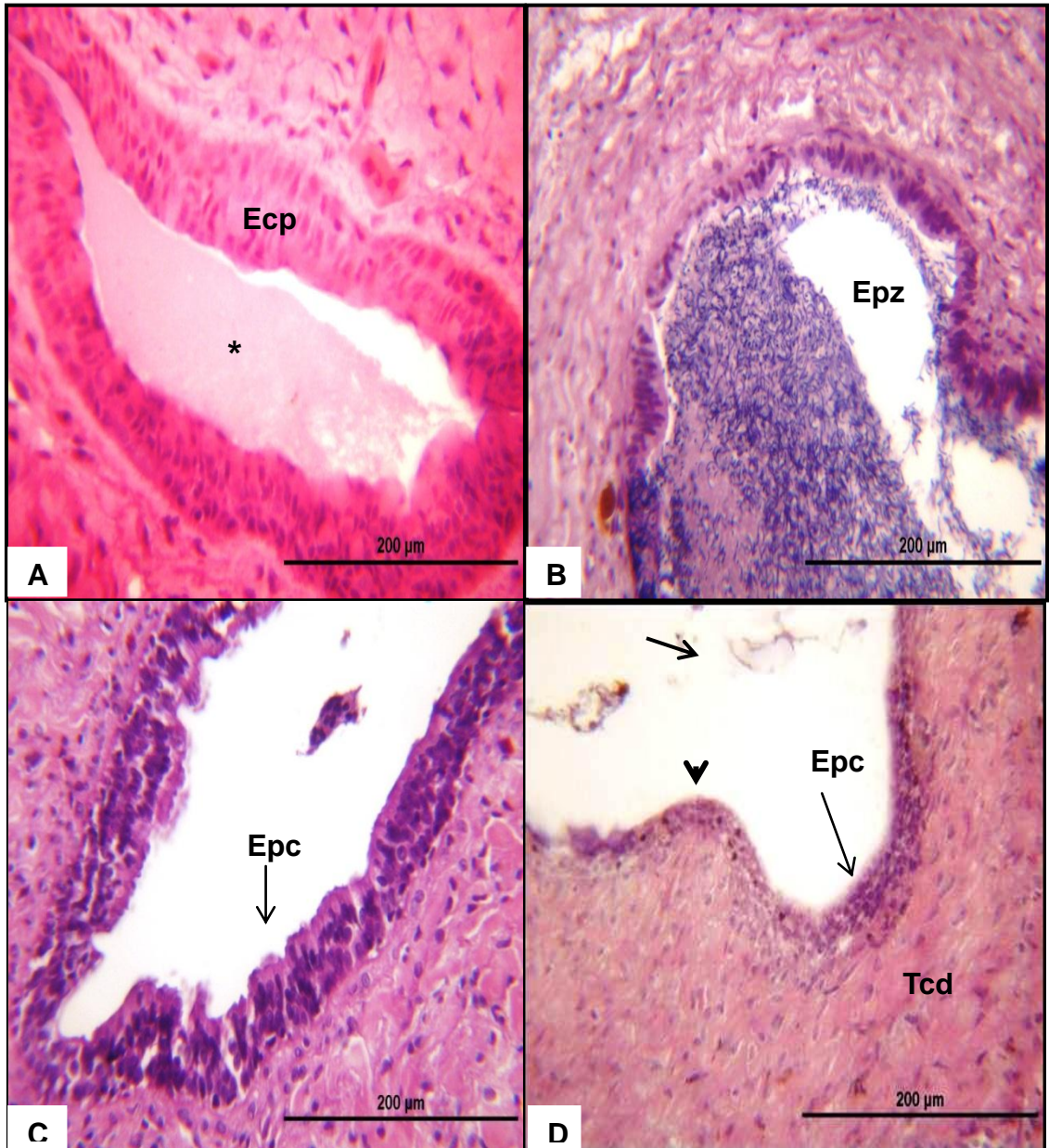


Figura 15 - Histologia do ducto deferente de jurará (*Kinosternon scorpioides*) da estação chuvosa e seca. A e B: Ducto deferente da estação chuvosa com presença de espermatozoide na luz (Epz), epitélio cilíndrico pseudoestratificado (Ecp) e fluido leitoso(asterisco); C e D: Ducto deferente da estação seca com restos celulares (seta), epitélio pseudoestratificado cuboíde (Epc), pregas (cabeça de seta), tecido conjuntivo denso (Tcd) (A, C e D: HE, B: Tricômio de Masson)

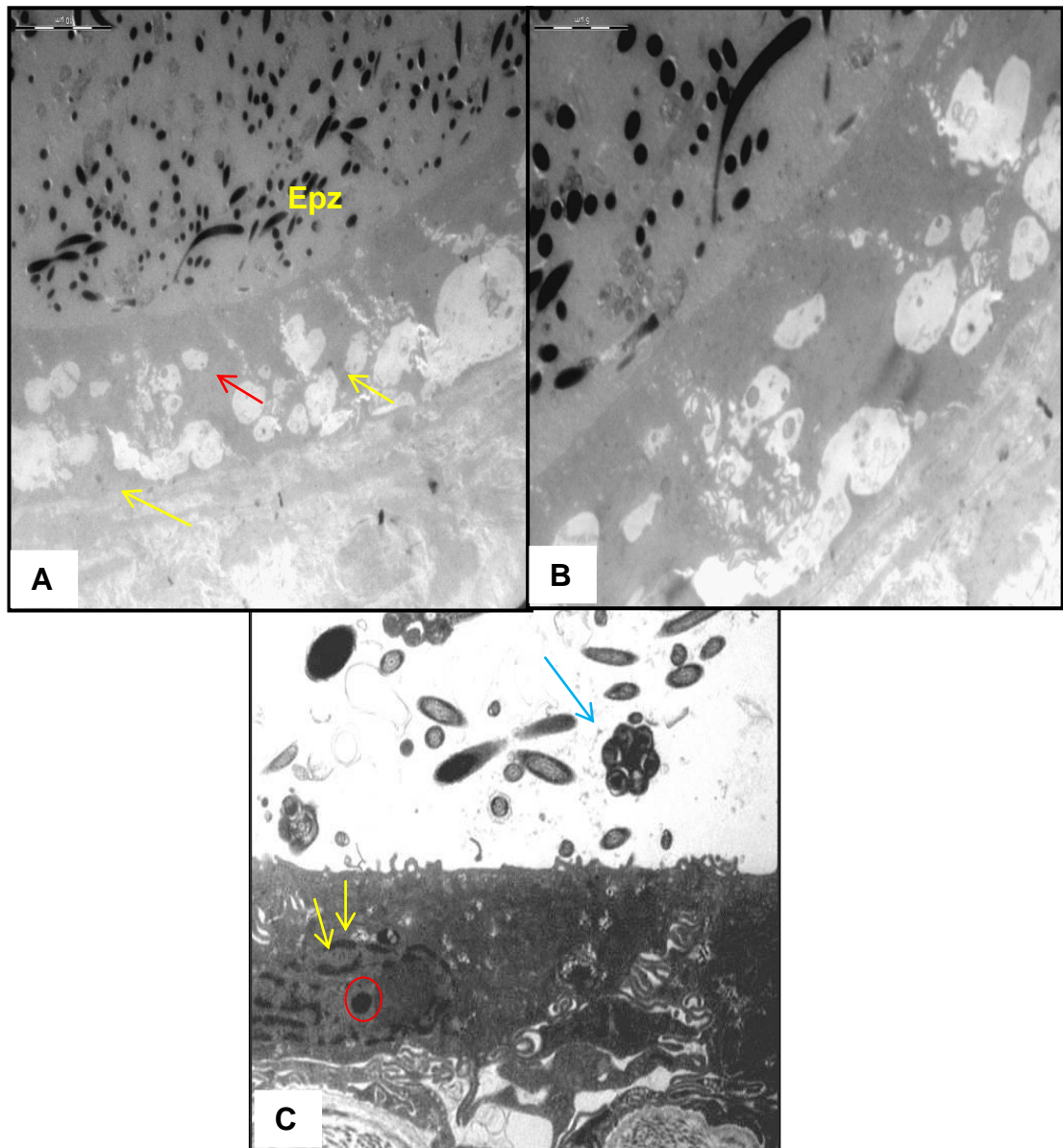


Figura 16 - Fotomicrografia eletrônica de transmissão do ducto deferente de jurará (*Kinosternon scorpioides*) da estação chuvosa e seca. A e B: Ducto deferente na estação chuvosa com espermatozoides (Epz), mitocôndrias (seta amarela) e vesículas lipídicas (seta vermelha) Barra: 10  $\mu$ m e 5  $\mu$ m. C : Ducto deferente na estação seca com citoplasma desorganizado e retículo endoplasmático (seta amarela), vesícula (círculo), espermatozoides (seta azul) Barra: 2  $\mu$ m

Observou-se variação significativa ( $p < 0,05$ ) entre as estações para a morfometria do ducto deferente. O diâmetro tubular e luminal dos ductos deferentes na estação chuvosa tiveram valores médios menores. Porém a altura epitelial na estação seca apresentou médias maiores conforme (Tab. 7). Estas observações possuem correlações nas variações sazonais em sincronia com o ciclo espermatogênico e epididimário. Nesse mesmo sentido Amer (1978) descreveu que em serpentes (*Psammophis sibilans* e *Palerosophis*) diâmetro maior e revestimentos epiteliais curtos durante a estação reprodutiva como resultado do alongamento dos espermatozoides armazenados.

Tabela 7 - Média e desvio padrão da morfometria ( $\mu\text{m}$ ) do diâmetro tubular, luminal e altura dos ductos deferentes de jurará (*Kinosternon scorpioides*), capturados em São Bento - MA, conforme a estação. São Luís – MA - 2012

Ducto Epididimário	Período do Ano			
	Estação Chuvosa		Estação Seca	
	mar/11	jun/11	set/11	dez/10
Diâmetro tubular	395,72 $\pm$ 60,77 a	298,96 $\pm$ 50,50 ab	401,88 $\pm$ 69,14 abc	302,70 $\pm$ 52,87 b
Diâmetro luminal	292,99 $\pm$ 59,46 a	243,68 $\pm$ 75,68 ab	337,29 $\pm$ 66,14 ac	220,13 $\pm$ 52,87 bd
Altura epitelial	37,24 $\pm$ 13,65 a	18,67 $\pm$ 5,52 b	42,49 $\pm$ 16,83 ac	21,70 $\pm$ 4,61 b

Médias com letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para Student-New man-Keuls(SNK), teste de normalidade Cramer-von Mises W-Sq 0.03979, Pr > W-Sq > 0.2500, Dez - Dezembro, Mar - Março, Jun - Junho, Set - Setembro

## 5.5 Nível Hormonal – Testosterona

De acordo com os períodos estudados, considerando a variação independente de animal para animal (Fig. 17), a média do nível sérico da testosterona nas épocas do ano mostraram valores que nos permite sugerir haver sazonalidade no ciclo reprodutivo desta espécie nas épocas do ano em ambiente natural (Tab. 8) mesmo com diferença estatística entres as estações chuvosa e seca, e com pico de valores de testosterona. Assim este hormônio se comportou no mês de Dezembro/2010, a média foi de 142, 79  $\pm$  141, 35

ng/dL, índice de menor média registrado entre os períodos, entretanto este momento coincide com o período de diminuição da atividade do ciclo epitelial seminífero e a pausa da espermatogênese, comprovado nas observações da histologia, e também no comportamento biológico que o animal passa apresentar denominado de “estivação”, quando mantem baixo metabolismo basal. Este é um processo que se assemelha ao processo de hibernação que ocorre com algumas espécies animais, e que segundo Randall et al., (2000) o animal pode ficar nesse estado por semana ou até mesmo por vários meses em ambiente muito frio. No caso da Baixada Maranhense, por apresentar uma temperatura alta e intensa, o jurará mostra um comportamento biológico conhecido como dormência, período de estiva ou estivação, ou de sono de verão, pois esta é uma época desfavorável para a sobrevivência da espécie em ambiente natural, pela escassez de alimento.

#### Níveis séricos de testosterona de jurará em ambiente natural

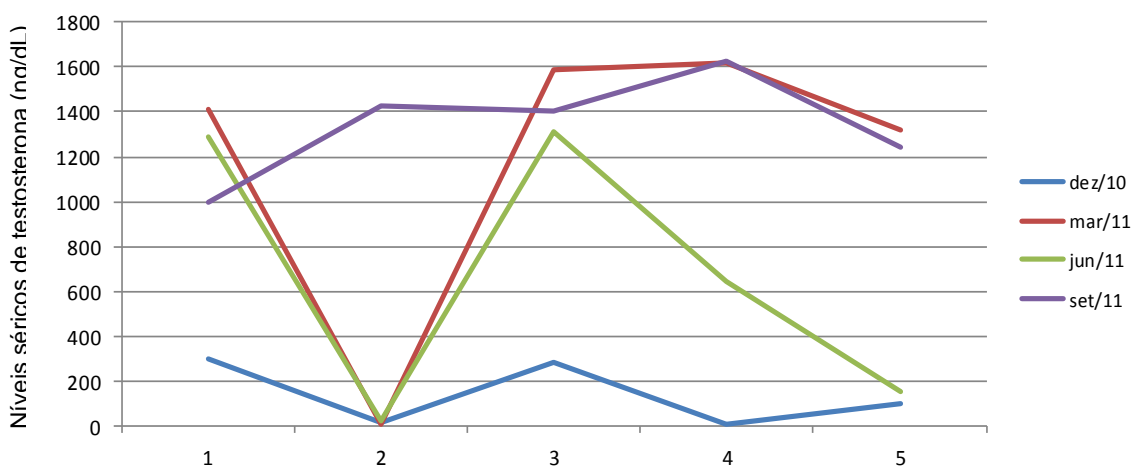


Figura 17 - Níveis de testosterona (ng/dL) em jurarás (*K. scorpoides*) coletados em ambiente natural na Cidade de São Bento, São Luís.

Tabela 8 - Valores de média e desvio-padrão do nível hormonal de testosterona (ng/dL) em jurará (*Kinostemon scorpioides*) capturados em São Bento - MA. São Luís – MA - 2012

Animal	Período do Ano			
	Período chuvoso		Período seco	
	mar/11	jun/11	set/11	dez/10
1	1412,10	1288,32	1000,90	300,96
2	10,44	26,45	1425,10	15,45
3	1584,10	1311,20	1403,00	283,90
4	1622,00	646,82	1628,22	12,12
5	1322,60	153,33	1244,87	101,54
$\bar{x} \pm s$	1190,25 ± 670,85 a	685,22 ± 607,02 ab	1340,42 ± 233,62 a	142,79 ± 141,35 b

Médias com letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para Student-Newman-Keuls(SNK), teste de normalidade Cramer-von Mises W-Sq 0.03979, Pr > W-Sq > 0.2500, Dez - Dezembro, Mar - Março, Jun - Junho, Set - Setembro

Os resultados de amostras de soros obtidas do mês de Março/2011, época das chuvas a dosagem de testosterona foram de (1190,25 ± 670,85 ng/dL), esse resultado encontrado sinaliza um pico hormonal, representado sob o ponto de vista biológico como momento em que o macho demarca seu território e suas fêmeas. Este aumento ainda pode ser explicado pelo estresse causado pelo confronto no domínio territorial, já que um macho acasala com mais de uma fêmea, outro detalhe importante é que nessa época na Baixada Maranhense ocorre às chuvas, época em que os animais se preparam fisiologicamente para o acasalamento. Nas amostras do estudo histológico é visto espermatozoides e células de Leydig em maior quantidade. Ainda na estação chuvosa, os testículos direito e esquerdo se mostraram com maiores médias entre as épocas como também as maiores médias para comprimento e largura, confirmando atividade reprodutiva, no entanto não houve diferença significativa entre as estações (ver tab.3).

Na transição entre o final da estação chuvosa e início da estação seca, representado com a coleta efetuada no mês de Junho/2011, houve diminuição do nível de testosterona (685,22 ± 607,02 ng/ml). Entretanto, na histologia se observa o desenvolvimento espermatogênico ocorrendo normalmente, o que nos faz entender que a qualquer momento ocorrerá o período de acasalamento.

No mês de Setembro/2011, em que também ocorreu o segundo pico de testosterona ( $1340,42 \pm 233,62\text{ng/dL}$ ), esse foi o momento em que se observou o menor desvio padrão proporcional à média, isso representa uniformidade dos níveis séricos dos animais capturados neste período. Ainda neste momento são registradas as temperaturas mais altas da região da Baixada Maranhense. E se observa pela histologia redução da espermatogênese, através da menor quantidade de células germinativas.

O jurará, *Kinosternon scorpioides*, mostrou atividade hormonal semelhante aos de outras espécies de quelônios como as tartarugas *Lepidochelys kempi* de origem em British West Indies (território do Caribe) e *Tryonix sinensis* originada do sul da China, neles os níveis elevados de testosterona foram de (8,44 ng/ml) no período pré-nupcial, ou seja, antes do acasalamento. Entretanto, estes níveis caíram durante o período de acasalamento (0,65ng/ml) e de intensa atividade espermatogênica no período mais quente do ano (ROSTAL et al.,1997; LOFTS & TSUI,1977), para o mês de setembro que corresponde ao período de outono-inverno, período que antecede a hibernação, a testosterona plasmática observada foi de 0,3ng/ml em tartaruga *Chrysemys picta* (0,3ng/ml) sendo considerada baixa (ERNST, 1971; GANZHORN & LICHT, 1983), essas espécies de tartarugas se mostraram diferentes ao jurará no período de acasalamento, os dois picos observados parecem ser uma característica da espécie estudada com valores expressivos em relação a outros répteis, e também por estarem em locais e climas diferentes. Tartarugas *Gopherus polyphemus* do Sudoeste da Geórgia apresentaram pico em julho e agosto permanecendo elevada até outubro coincidindo com acasalamento e espermatogênese, indicando um padrão reprodutivo.

Para outros répteis, Moore (1987) ao estudar os níveis de testosterona em lagartos machos (*Sceloporus jarrovi*), viu que são mais baixos no inverno e elevados durante a época de reprodução quando os machos mostram defesa de alta intensidade territorial, esse fato é notado no jurará. Andò et al. (1992), estudou em lagarto *Podarcis s. sicula raf* e observou

um pico de 174,8 ng/ mL no período reprodutivo, esses níveis observados se mostraram abaixo dos estudados no jurará, entretanto não há como comparar as estações do ano em países diferentes.



**CONCLUSÃO**

---

## 6. CONCLUSÃO

- Os testículos estão revestidos pela túnica albugínea, constituídos por túbulos seminíferos, envolvidos por uma lâmina basal, formada por células germinativas, de sustentação e espaço peritubular;
- Os epidídimos formados pela rede testis, ducto eferente e ducto epididimário;
- Os ductos deferentes são constituídos por epitélio cilíndrico pseudoestratificado alargando-se em um formato de uma pequena ampola;
- As características histológicas apresentadas pelos testículos e epidídimos nas amostras da estação chuvosa mostram atividade reprodutiva ativa confirmado pela morfometria que apresentou diâmetros tubulares, luminais e altura epitelial maiores aos da estação seca, exceto os ductos deferentes. Fato estes condizentes com altos níveis de testosterona relacionando seu comportamento biológico em aceitar a fêmea;
- Na estação seca o epitélio germinativo dos testículos epidídimos e ductos deferentes mostra atividade diminuída, representando que esta fase é de inatividade reprodutiva, quando a espécie manifesta comportamento biológico de estivação e nível de testosterona é menor;
- A existência da sazonalidade reprodutiva de jurará é sugerida em habitat natural pelas condições do ambiente, e em função das observações biológica do comportamento reprodutivo, alterações histomorfométricas e das características dos testículos, epidídimos e ductos deferentes e das taxas hormonais, aspectos estes também observados na mesma espécie em cativeiro.

## **REFERÊNCIAS**

---

ABAS, A. R. V.; SILVA, A. L. A.; PEREIRA, J. G. Estudo histológico dos órgãos dos sistema reprodutor do muçã *Kinosternon scorpioides* (Chelonia: Kinosternidae). In: X Seminário de Iniciação Científica, III Encontro de iniciação Ciêntífica, 1998, São Luís, MA. **Anais...** São Luís, MA. 1998.118 f.

ACUÑA-MESÉN, R. A. Morphomeric variation and ecological characteristics of the habitat of the Scorpion Mud Turtle *Kinosternon scorpioides* in Costa Rica (Chelonia, Kinosternidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 4, n. 3, p. 537-547, 1994.

AIRE, T. A.; AVYENI, J. S.; OLOWO-OKORUN, M. O. The STRuture of the escurrent ducts of the testis guineas-fow (*Numida meleagris*). **Journal Anatomy**, London. v. 129, p. 633-643, 1979.

ALMEIDA-SANTOS, S. Modelos reprodutivos em serpentes: estocagem de esperma e placentação em *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae). **Tese** (Doutorado)- Programa de pós-graduação em Anatomia dos animais domésticos e silvestres. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005. 204p.

ANDÒ, S.; CIARCIA, G.; PANNO, M.L.; IMBROGNE, O; TARANTINO, G.; BUFFONE, M.; BERARDI, E.; ANGELINI, F.; BOTTE, V. Sex steroids levels in the plasma and testis during the reproductive cycle of lizard *Podarcis s. sicula raf*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 85, p. 1-7, 1992.

AMER, F.I.; ELSHABKA, H.A. Studies on the reproductive organs of the colubrid snakes, *Psammophis sibilans* and *spalerosophis diadema*, I. The Male Organs. **Bulletin of the Faculty of Science - King Abdulaziz University**, v. 2, p. 1-16, 1978.

AMOROSO, L.; ARTONI, S. M. B.; MORAES, V. M. B.; PARECIN, D.; FRANZO, V. S.; AMOROSO. P. Influência da Espermatogênese e dos níveis

de testosterona no aspecto reprodutivo de codornas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 37, n. 1, p. 61-66, 2008.

ATLAND, P. D. Observations on the structure of the reproductive organs of the box turtle. **Journal of Morphology**, v. 89, p. 599-621, 1951.

ARTONI, S. M. B.; MANOEL, H. L.; CARVALHO, T. L. L.; ORSI, A. M.; STEFANINI, M. A. Avaliação morfométrica da área do epidídimo e dos ductulos eferente e ductos epididimários da codorna doméstica, no decorrer do ano. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science [online]**, v. 36, n. 6, 1999. Disponível:  
<[http://www.revistasusp.sibi.usp.br/scielo.php?pid=S141395961999000600001&script=sci\\_abstract](http://www.revistasusp.sibi.usp.br/scielo.php?pid=S141395961999000600001&script=sci_abstract)>. Acesso em 10 nov. 2011.

ASHLEY, L. M. **Laboratory anatomy of turtle**. 6th ed. W.C. Brown Company Publishers, Debuque, 47p, 1969.

ATLAS DO MARANHÃO. **Laboratório de geoprocessamento** – UEMA. São Luís: GEPLAN, p. 44, 2002.

BAROUDI, R. 1970. **Elementos da Zoologia**. 6 ed. Nobel, São Paulo: p. 125-152, 1970.

BEYNON, P.; COOPER, J. **Manual de Animales Exóticos**. Editorial Harcourt Brace. España, 357 p, 1998.

BROWN, W. S. Ecology of the aquatic box turtle *Terrapene Coahuila* (Chelonia, emydidae) in Northern Mexico. **Bulletin of the Florida State Museum Biological Sciences**. v. 19, n. 1, p. 20-27, 1974.

BUDISCHAK, S. A.; HESTER, J. M.; PRICE, S. J.; DORCAS, M. E. Natural History of *Terrapene carolina* (Box Turtles) in an Urbanized Landscape. **Southeastern naturalista**, v. 5, n. 2, p. 191–200, 2006.

CABRERA, A. F.; GARCÍA, C.; GISELA, C.; GONZÁLEZ-VERA, M. A. Características histológicas del aparato genital masculino de la baba (*caiman crocodilus crocodilus*). **Revista Científica Maracaibo**, v. 17, n. 2, p.123-130, 2007.

CAHN, A. R; CONDER, E. Mating of the box turtle. **Copeia**, v. 2, p. 86-88, 1932.

CARVALHO R.C.; SOUSA A. L.; MOURA C. E. B.; FARIA T. N.; COSTA W. P.; RESENDE H. R. A.; PEREIRA H. M. & MARIANA, A. N. B. Morfologia do pênis do jabuti das patas vermelhas (*Geochelone carbonaria*, SPIX:1824). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n. 2, p. 229-230, 2003.

CARVALHO, R. C; SOUSA, A. L; SILVA, A. L. A.; PEREIRA, J. G. Anatomia dos órgãos genitais do muçã *Kinosternon scorpioides* macho (Chelonia, Kinosternidae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 289-294, 2010.

CASAS-ANDREU, G.; GUILLETTE, L. G. Fall reproductive activity in the high altitude mexican lizard, *Sceloporus Grammicus Microlepidotus*. **Journal of herpetology**, v. 14, n. 2, p 143-147, 1980.

CASTRO, A. B. Biologia Reprodutiva e crescimento do muçã *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1776) em cativeiro. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, centro de Ciências Agrárias, Núcleo de estudos em Ciência Animal, Belém- PA, 2006, 100p.

CHAVES, L. P. F. A. Órgãos genitais masculino e nível sérico de testosterona de jurará (*kinosternon scorpioides*, linnaeus, 1766) criado em cativeiro na região da baixada maranhense no estado do maranhão. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2011, 92p.

CHRISTIANSEN, J. L.; DUNHAM, A. E. Reproduction of the yellow mud turtle (*Kinosternon flavescens*) in New Mexico. **Herpetologica**, v. 28, p. 130-137, 1972.

CONGDON, J. D.; DUNHAM, A. E.; VAN LOBEN SELS, R. C. Demographics of common snapping turtles (*Chelydra serpentina*): implications for conservation and management of long-lived organisms. **American Zoologist**, v. 34, p. 397–408, 1994.

COSTA, F. B. Estudo do Comportamento do Muçunã (*Kinosternon scorpioides*) Linneaus, 1766 em Cativeiro. Seminário de Iniciação Científica. **Resumos do 16º Seminário de Iniciação Científica da UEMA**, São Luís, 2004.

COUTINHO, M.; CAMPOS, Z.; CARDOSO, F.; MARTINELLI, P.; CASTRO, A. Ciclo Reprodutivo de Machos e Fêmeas de Jacaré-do-Pantanal, *Caiman crocodilus jacaré*. **Comunicado Técnico**, n. 51, p. 1-5, 2005.

DELBUQUE, M. **Ficha do bicho: muçunã**. Globo Rural, v. 176, p. 83-84, 2000.

ERNST, C. H. Sexual cycles and maturity of the turtle, *Chrysemys picta*. **Biological Bulletin**, v. 140, p. 191-200, 1971.

ERNST, C. H.; BARBOUR, R. W. **Turtles of the United States**. Lexington: Univ. of Kentucky Press, 347p, 1989.

FERRI, V. **El Gran Libro Ilustrado de las Tortugas**. España: Editorial de Vecchi S.A., 191p, 2002.

FERREIRA, A.; IRACELES, A. L.; DOLDER, H. Reproductive cycle of male green iguanas, *Iguana iguana* (reptilia: sauria: iguanidae), in the pantanal

region of Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.19, n.1, p. 23-28, 2002.

FERREIRA, A.; IRACELES, A. L.; DOLDER, H. Sperm ultrastructure and spermatogenesis in the lizard, *Tropidurus itambere*. **Biocell (Mendoza)**, v. 27, n. 3, p. 353-362, 2003.

FERREIRA, A.; SILVA, D. N.; VAN SLUYS, M.; DOLDER, H. Seasonal changes in testicular and epididymal histology of the tropical lizard, *Tropidurus itambere* (Rodrigues, 1987), during its reproductive cycle. **Brazilian Journal Biology**, v. 69, n. 2, p. 429-435, 2009.

FOX, W. Seasonal variation in the male reproductive system of Pacific coast garter snakes. **Journal of Morphology**, v.90, p. 481-553, 1952.

FOX, W. Genetic and environmental variation the timing of the reproductive cycle of male garter snake. **Journal of Morphology**, v. 95, n. 3, p. 415 – 450, 1954.

FOX, H. The urogenital system of the reptiles. In: GANS, C. **Biology of reptilia**. New York: Academic Press, 127p, 1977.

FROMAN, D. P.; KIRBY, J. D.; PROUDMAN, J. A. **Reprodução em aves: macho e fêmea**, p. 237-238. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7 ed. São Paulo: Manole, 530p, 2004.

GANZHORN, D.; LICHT, P. Regulation of Seasonal gonadal cycles by temperature in the painted turtle, *Chrysemys picta*. **Copeia**, v. 2, p. 347-358, 1983.



GALBRAITH, D. A.; WHITE, B. N.; BROOKS, R. J.; BOAG, P. T. Multiple paternity in clutches of snapping turtles (*Chelydra serpentina*) detected using DNA fingerprints. **Canadian Journal of Zoology**, n. 71, p. 318–324, 1993.

GIBBONS, J. W. Reproductive Potencial, Active, and Cycle in the Painted Turtle, *Chrysemis picta*. **Ecology**, v. 49, n. 3, p. 53-67, 1967.

GIBBONS, J. W.; CONGDON, J. D. Morphological constraint on egg size: a challenge to optimal egg size theory? **Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA**, n. 84, p. 4145–4147, 1987.

GLESENKAMP, L. L.; ZUG, G. R.; MITCHELL, J. C. Reproductive Cycle of Male Snapping Turtles (*Chelydra serpentina*) in Southeastern Virginia. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 4, n. 3, p. 697-700, 2003.

GRIBBINS, K. M.; GIST, D. H.; CONGDON, J. D. Cytological Evaluation of Spermatogenesis and Organization of the Germinal Epithelium in the Male Slider Turtle, *Trachemys scripta*. **Journal of Morphology**, n. 255, p. 337–346, 2003.

GRIBBINS, K. M.; ELSEY, R. M.; GIST, D. H. Cytological evaluation of the germ cell development strategy within the testis of the American alligator, *Alligator mississippiensis*. **Acta Zoologica**, n. 87, p. 59–69, 2006.

GRIBBINS, K. M.; RHEUBERT, J. L.; COLLIER, M. H.; SIEGEL, D. S.; SEVER, D. M. Histological analysis of spermatogenesis and the germ cell development strategy within the testis of the male Western Cottonmouth Snake, *Agkistrodon iscivorus leucostoma*. **Annals Of Anatomy**, n. 190, p. 461-476, 2008.

GOLDBERG, S. R.; PARKER, W. S. Seasonal testicular histology of the colubrid snakes, *Masticophis taeniatus* and *Pituophis melanoleucus*. **Herpetologica**, v. 31, p. 317-322, 1975.

GUERRERO, M. S.; CALDERON, L. M.; PEREZ, R. G.; PINILLA, M. P. R. Morphology of the male reproductive duct system of *Caiman crocodilus* (Crocodylia, Alligatoridae). **Annals Anatomy**, v. 186, p. 235-245, 2004.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 8 ed. São Paulo: Manole, p. 391-407, 2005.

HILDEBRAND, M. **Análise das Estruturas dos Vertebrados**. São Paulo: Atheneu, p.299-311, 1995.

HUOT-DAUBREMONT, C.; BRADSHAW, S. D.; BRADSHAW, F. J.; KUCHLING, G.; GRENOT, C. J. Variation of plasma sex steroid concentrations in wild and captive populations of Hermann's tortoise (*Testudo hermanni hermanni*) in Southern France. **General and Comparative Endocrinology**, n. 130, p. 299-307, 2003.

IBAMA, (**Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis**). Disponível em:

<http://www.ibama.gov.br/leiambiental/home.htm#cap5>. Acessado em 26 de dezembro de 2011.

IBAMA, (**Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis**). Instrução Normativa Ibama 169 de 20 de fevereiro de 2008

IBGE. **Censo Demográfico 2010 - Resultados do universo**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 Dez. 2010.

IVERSON, J. B. Nesting and parental care in the mud turtle, *Kinosternon flavescens*. **Canadian Journal of Zoology**. n. 68, p. 230–233, 1990.

KING, A. S. Aparelho urogenital das aves. In: GETTY, R. **Anatomia dos Animais Domésticos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1798-1805, 1995.

LAKE, P. E. The male reproductive tract of the fowl. **Journal of Anatomy**, v. 91, p. 116-129, 1957.

LEGLER, J.M. **Morphology and Physiology of the Chelonia**. In: GLASBY, C. J.; ROSS, G. J. B. & BEESLEY, P. L. Ed. **Fauna of Australia**, v. 2, n. 16, p. 108-119, 1993.

LIMA, L. C. P. Biologia reprodutiva de duas espécies de tartaruga de água doce, *Kinosternon scorpioides* e *Trachemis adiutrix* na Ilha de Cururupu, Maranhão, Brasil. **Monografia** (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 26 p, 2003.

LOFTS, B.; BOSWELL, C. Seasonal changes in the distribution of the testis lipids of the caspian terrapin *Clemmys caspica*. **Journal of Zoology**, v. 136, p. 581–592, 1961.

LOFTS, B.; TSUI, H. W. Histological and histochemical changes in the gonads and epididymides of the male soft-shelled turtle *Trionyx sinensis*. **Journal of Zoology**. v.181, p.57- 68, 1977.

LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A.; WYNEKEN, J. **The biology of sea turtles II**. Boca Raton: FL: CRC Press, 503p, 2003.

MAHMOUD, I. Y. Courtship behavior and sexual maturity in four species of Kinosternid turtles. **Copeia**, v.3, n. 2, p. 153-181, 1967.

MAHMOUD, I. Y.; KLICKA, J. Seasonal Gonadal Changes in Kinosternid Turtles. **Journal of Herpetology**. v. 6, n. 3-4, p. 183-189, 1972.

MAHMOUD, I. Y.; LICHT, P. Seasonal Changes in Gonadal Activity and the Effects of Stress on Reproductive Hormones in the Common Snapping Turtle, *Chelydra serpentina*. **General and Comparative Endocrinology**. n. 107, p.359–372, 1997.

MCPHERSON, R. J.; MARION, K. R. Seasonal testicular cycle of the stinkpot turtle (*Sternotherus odoratus*) in Central Alabama. **Herpetologica**, v. 37, n. 1, p. 33-40, 1981.

MEDEM, F. Recomendaciones respecto a como contar escamado y tomar dimensiones de nidos, huevos y ejemplares de los Crocodylia y Testudines. **Lozania**, n. 20, p. 1-17, 1976.

MEYLAN, A. P.; SCHULER, R.; MOLER, P. Spermatogenic Cycle of the Florida Softshell Turtle, *Apalone ferox*. **Copeia**, v. 3, p. 779–786, 2002.

MENDONÇA, M. T.; LICHT, P. Photothermal effects on the testicular cycle in the musk turtle, *Sternotherus odoratus*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 239, p. 117–130, 1986.

MOORE, M. C.; MARLER, C. A. Effects of testosterone manipulations on nonbreeding season territorial aggression in free-living male lizards, *Sceloporus jarrovi*. **General and Comparative Endocrinology**. v. 65, n. 2, p. 225-232, 1987.

MOLINA, F. B.; ROCHA, M. B. Algumas observações sobre a biologia e manejo do muçua. **Aquacultura**, n. 2, p. 25-26, 1996.

NOBLE, G.A.; NOBLE, E.R. **A Brief Anatomy of Turtle**. London: Hamphrey Oxford University Press, 49p, 1940.

OLIVEIRA, S. C. R. Histomorfometria testicular e níveis séricos de testosterona de jurarás (*kinosternon scorpioides*, Linnaeus, 1766) criados em cativeiro. 61f **Dissertação** (Curso de Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

ORSI, A. M.; DOMENICONI, F. R.; SIMÕES, K.; STEFANINI, A. M.; SILVANA BARALDI-ARTONI, M. Variabilidade sazonal no ducto epididimário de codorna doméstica: observações morfológicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 12, p. 495-500, 2007.

ORR, R. T. **Biologia dos Vertebrados**. 5 ed. São Paulo: Roca, 505p, 1986.

OTT, J. A.; MENDONCA, M. T.; GUYER, C.; MICHENER, W. K. Seasonal Changes in Sex and Adrenal Steroid Hormones of Gopher Tortoises (*Gopherus polyphemus*). **General and Comparative Endocrinology**, n. 117, p. 299–312, 2000.

OWENS, D. W. The comparative reproductive physiology of sea turtles. **American Zoologist**, v. 20, p. 547-563, 1980.

PEARSE, D. E.; AVISE, J. C. Turtle Mating Systems: Behavior, Sperm Storage, and Genetic Paternity. **Journal of Heredity**, v. 92, p. 206-211, 2001.

PEREIRA, L. A. Aspectos da Biologia, Ecologia e Extrativismo de *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptila, Chelonia, Kinosternidae) no Município de São Bento – Baixada Maranhense (Maranhão, Brasil). 107 f. **Dissertação** (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2004.

PEREIRA, L. A.; SOUSA, A. L.; CUTRIM, M. V. J.; MOREIRA, E. G. Características ecológicas do habitat de *Kinosternon scorpioides scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptila, Chelonia, Kinosternidae) no Município De São Bento –

Baixada Maranhense (MARANHÃO, BRASIL). **Boletim do laboratório de hidrobiologia**, v. 20, p. 9-14, 2007.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4 ed, São Paulo: Ed Atheneu, 699p, 2008.

PRITCHARD, P. C.; TREBBAU, P. **The Turtles of Venezuela**. Society the study of amphibians and reptiles. Ithaca, 403p, 1984.

PRITCHARD, P. **Enciclopedia of Turtles**. United States of America: TFH Publications, 895p, 1986.

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. **ECKERT: Fisiologia Animal-mecanismos e adaptações**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 729p, 2000.

RAMO, C. Biología del Galápagos (*Podocnemis vogli*. Muller, 1935) en el Hato "El Frío", Llanos de Apure (Venezuela). **Acta Vertebrata**, v. 9, n. 3, p. 161, 1982.

RISLEY, P. L. Seasonal changes in the testis of the musk turtle, *Sternotherus odoratus* L. **Journal of Morphology**, v. 63, p. 301–317, 1938.

ROSTAL, C. D.; OWENS, D. W.; GRUMBLES, J. S.; MACKENZIE, D. S.; AMOSS JR, M. S. Seasonal reproductive cycle of the Kemp's Ridley Sea Turtle (*Lepdochelis kemp*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 109, p. 232-243, 1997.

SBH. Brazilian reptiles – List of species. 2005. Disponível em: <http://www.sbherpetologia.org.br>. Sociedade Brasileira de Herpetologia. Acessado em 05/01/2012.

SCHUMACHER, J. Reptiles and amphibians. In: THURMON, J.C.; TRAQUILLI, W.J.; BENSON, G.L. **Lumb & Jones Veterinary Anesthesia**. 3. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996, p. 6710-685.

SEVER, D. M. Ultrastructure of the Reproductive System of the Black Swamp Snake (*Seminatrix pygaea*). IV. Occurrence of an Ampulla Ductus Deferentis. **Journal of Morphology**, n. 262, p. 714-730, 2004.

SIMÕES, K.; ORSI, A. M.; URBINATI, E. C.; GONÇALVES, F. D.; CRUZ, C.; NATALI, M. R. M. Estudo morfológico do ciclo reprodutivo e variabilidade nos níveis de glicose, de glicogênio e de lipídeo ao longo do ano em pato doméstico (*Anas platyrhynchos*). **Acta Scientiarum Animal Science**, v. 27, n. 3, p. 319-325, 2005.

STABENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. Processos reprodutivos do macho. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes – Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., p 603-614, Cap. 35, 1996.

STORER, T. I.; USINGER, R. L.; STEBBINS, R. C.; NYBAKKEN, J. W. **Zoologia Geral**. 6 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, p.642-654, 1989.

TAKAMINE, C. N. Aspectos macro e microscópicos dos órgãos genitais masculinos no jacaré-do-patanal (*Caiman crocodylus yacare*) – DAUDIN 1802. **Dissertação** (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo, 68p, 2006.

TINGARI, M. D. On the structure of the epididymal region and ductus deferens of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). **Journal of Anatomy**, v. 109, n. 3, p. 423-35, 1971.

VANZOLINI, P. E.; RAMOS-COSTA, A. M. M.; & VITT, L. J. Répteis da Caatinga. Rio de Janeiro: **Academia Brasileira de Ciências**, 161p,1980.

VANZOLINI, P.E. A contribuição zoológica dos primeiros naturalistas *viajantes* do Brasil. **Revista USP**, n. 30, p. 190-238, 1996.

VIEIRA, G. H. C.; WIEDERHECKER, H. C.; COLLI, G. R.; BÁO, S. N. Spermogenesis and testicular cycle of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata = Tropiduridae) in the Cerrado of central Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v. 22, p. 217-233, 2001.

XIANGKUN, H.; LI, Z.; MEIYING, L.; HUIJUN, B.; NAINAN, H. QIUSHENG, C. Seasonal changes of sperm storage and correlative structures in male and female soft-shelled turtles, *Trionyx sinensis*. **Animal Reproduction Science**, v. 108, p. 3-4, 2008.

WILHOFT, D. C.; QUAY, W. B. Testicular histology and seasonal changes in the lizard, *Sceloporus occidentalis*. **The Journal of Morphology**, v. 108, n. 1, p. 95-106, 1961.

WILHOFT, D. C. Gonadal histology and seasonal changes in the tropical Australian lizard, *Leiopisma rhomboidalis*. **The Journal of Morphology**, v. 113, n. 2, p. 185-204, 1963.

WINGFIELD, J. C.; SOMA, K. K. Spring and autumn territoriality in song sparrows: Same behavior, different mechanisms? **Integrative and Comparative Biology**, n. 42, p. 11–20, 2002.

QUEROL, M. V. V.; QUEROL, E.; GOMES, N. N. A. Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetoron* (Osteichthyes, Loricariidae). **Biota Amazônia**. Bacia do rio Uruguai médio, Sul do Brasil. Iheringia, Porto Alegre. v. 92, n. 3, p. 79-84, 2002.