

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

HISTOMORFOMETRIA TESTICULAR E NÍVEIS SÉRICOS DE  
TESTOSTERONA DE JURARÁS (*KINOSTERNON SCORPIOIDES*,  
LINNAEUS, 1766) CRIADOS EM CATIVEIRO

Sâmia Clara Rodrigues de Oliveira

São Luís-MA  
2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Sâmia Clara Rodrigues de Oliveira

**HISTOMORFOMETRIA TESTICULAR E NÍVEIS SÉRICOS DE  
TESTOSTERONA DE JURARÁS (*KINOSTERNON SCORPIOIDES*,  
LINNAEUS, 1766) CRIADOS EM CATIVEIRO**

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

**Área:** Sanidade Animal

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

São Luís-MA

2009

Oliveira, Sâmia Clara Rodrigues de

Histomorfometria testicular e níveis séricos de testosterona de jurarás (*kinosternon scorpoides*, Linnaeus, 1766) criados em cativeiro / Sâmia Clara Rodrigues de Oliveira. – São Luís, 2009.

65f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão, 2009.

Orientador: Profa. Alana Lislea de Sousa

1. Testículo 2. Histomorfometria 3. Reprodução 4. Jurará  
5. *Kinosternon scorpoides*

I. Título

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ pela  
banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Prof. Dr. Marcelo de Castro Leal

1º Membro

---

Profa. Dra. Alessandra Corallo Nicacio

2º Membro

---

Profa. Dra. Alana Lislea de Sousa

Orientadora

Aos meus pais

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que está ao meu lado sempre;

À minha família, em especial aos meus pais Neusa Maria Rodrigues de Oliveira e Valdinei Pereira de Oliveira e irmãos Simona Chiara Rodrigues de Oliveira e Valdinei Pereira de Oliveira Júnior que estão presentes em todos os momentos da minha vida;

A minha avó Gracinéia Macária Castro, avó-mãe, sempre presente, cuidando de mim;

A princesa Ana Clara de Oliveira Amorim, minha sobrinha, que veio ao mundo em um momento muito especial e trouxe muita felicidade para minha vida.

Ao querido Cristiano Jackson da Costa Coelho pelo amor, companheirismo e ajuda na pesquisa;

À minha orientadora Profa. Dr. Alana Lislea de Sousa pelas horas de dedicação, compreensão, companheirismo e aprendizado;

Ao Dr. Luiz Renato de França por ceder seu laboratório pra eu concluir meu experimento;

Ao Dr. Marcelo de Castro Leal pela colaboração e confiança na elaboração deste trabalho;

A Dra Priscila Viau Furtado pela dosagem hormonal;

Ao Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo e a Profa. Dra. Alessandra Corallo Nicacio pelos momentos de dúvidas esclarecidos e pela paciência em me ajudar;

A Elba Pereira Chaves pela contribuição na pesquisa e principalmente pela grande amizade construída;

A Liza Margareth Medeiros de Carvalho Sousa e Uiran Sousa Filho juntamente com suas lindas cachorrinhas Preta Maria de Carvalho Sousa e Maria Vitória de Carvalho Sousa pela confiança e hospitalidade;

Aos colegas do Laboratório de Anatomia: Lianne Polyanne Fernandes Araújo, Lucas Hossoe Gomes, Osunny Alexandre Silva Cutrim, Thalyta Noronha Lima,

Ana Maria Américo, Caio Ítalo Pinho da Silva Pereira , Cibele Monique Santos da Silva, Elizângela Pinheiro Pereira;

A Carlos Eduardo, pelo auxílio no laboratório de anatomopatologia;

As amigas Joyce Bitencourt Athayde Lima e Lidiane Soares Pereira pela amizade de sempre;

Aos colegas de pós-graduação Ana Caroline Ericeira Barros, Vivian Magalhães Brandão, Iran Alves da Silva, Rosany Maria Cunha Aranha, Ana Maria Montelles, Daniela Aguiar Penha, Nancyleni Pinto Chaves e Esperança Maria de Jesus Barbosa pelo companheirismo durante esta jornada.

À Universidade Estadual do Maranhão por ser responsável pela minha formação profissional e pessoal;

Ao Mestrado em Ciências Veterinárias pelo apoio e confiança.

Ao Laboratório de Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais pela receptividade e importante colaboração nesta pesquisa;

Ao Programa PROCAD I Amazônia / Capes pelo auxílio financeiro e técnico;

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Maranhão - FAPEMA pela concessão da bolsa;

Ao IBAMA pelo apoio, nesta pesquisa, com os animais.



OLIVEIRA, S. C. R. HISTOMORFOMETRIA TESTICULAR E NÍVEIS SÉRICOS DE TESTOSTERONA DE JURARÁS (*KINOSTERNON SCORPIOIDES*, LINNAEUS, 1766) CRIADOS EM CATIVEIRO.[Veterinary Medicine Post graduation Teaching in Brazil]. 2009. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

## RESUMO

O jurará (*Kinosternon scorpioides*) é um quelônio encontrado principalmente nas regiões norte e nordeste do Brasil, medindo aproximadamente 15cm de comprimento, de grande importância econômica, pois é utilizado como fonte protéica para populações ribeirinhas no Estado do Maranhão e ainda com sua reprodução pouco conhecida. Desta forma, este estudo objetivou avaliar as características histológicas e morfométricas do testículo, e os níveis de testosterona de jurarás sexualmente maduros criados em cativeiro. Foram utilizados nove animais adultos, onde três destes tiveram seus testículos fixados em formaldeído a 10% e incluídos em paraplax e os seis restantes tiveram seus testículos fixados em glutaraldeído a 4% e incluídos em metacrilato. Os cortes de 3mm foram corados em hematoxilina eosina e azul de toluidina-borato de sódio a 1%, e analisados para microscopia de luz. Amostras de sangue dos seis animais foram, ainda, colhidas para dosagem de testosterona pelo método de radioimunoensaio em fase sólida (RIA). Os resultados evidenciaram que os testículos de jurará apresentavam-se envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo denso, a túnica albugínea, enviando septos para o parênquima testicular envolvendo os túbulos seminíferos. Estes apresentavam espermatogênese ativa com presença de células germinativas no epitélio seminífero em todas as fases de desenvolvimento e espermatozoides liberados no lúmen tubular. As análises morfométricas demonstraram que os animais apresentavam peso corporal, testicular e índice gonadossomático de 330,58g, 792,5mg e 0,48% respectivamente, com 59,8 milhões de células de Leydig encontradas, ocupando 5,91% do parênquima testicular e com volume individual de 43,22µl. A média dos níveis de testosterona observada foi de 9,76pg/ml. Assim, os resultados permitiram afirmar que os jurarás encontravam-se sexualmente maduros e com espermatogênese ativa, no período pesquisado, o que foi comprovado pela presença das células germinativas em diferentes fases de desenvolvimento, com espermição no lúmen tubular, pela caracterização morfométrica do testículo e ainda com níveis hormonais considerados baixos quando comparados aos de outros quelônios, demonstrando que, para esta espécie, os dados são inéditos.

**Palavras-chave:** Testículo; histomorfometria; Reprodução; jurará; *Kinosternon scorpioides*.

**Veterinary Medicine Post graduation Teaching in Brazil OLIVEIRA. S. C. R. Veterinary Medicine Post graduation Teaching in Brazil.** [Histomorfometria testicular e níveis séricos de testosterona de jurarás (*kinosternon scorpioides*, linnaeus, 1766] criados em cativeiro. 2009. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

### **ABSTRACT**

The scorpion mud turtle (*Kinosternon scorpioides*) is mainly found in the northern and northeastern regions of Brazil, measuring approximately 15 cm in length. While the species is of considerable economic importance as a protein source for river communities in the state of Maranhão, it is threatened in nature. Little is known regarding its reproductive aspects, especially its testicular structure and spermatogenic process. The aim of the present study was to assess histological and morphometric characteristics of the testicle and testosterone levels in sexually mature scorpion mud turtles raised in captivity. Nine adults were examined. Testicles from three specimens were fixed in 10% formaldehyde and embedded in paraplast. Testicles from the remaining six were fixed in 4% glutaraldehyde and embedded in methacrylate. Three-mm slices were stained with hematoxylin eosin and toluidine blue-1% sodium borate and analyzed under a light microscope. Blood samples from six turtles were collected to determine the testosterone level through solid-phase radioimmunoassay. The results revealed that the testicles of the scorpion mud turtle were enveloped in a capsule of dense, conjunctive tissue - the tunica albuginea – sending septa to the testicular parenchyma enveloping the seminiferous tubules. These tubules exhibited active spermatogenesis, with the presence of germinative cells in the seminiferous epithelium in all phases of development and spermatozooids released in the tubule lumen. Morphometric analysis revealed that the turtles had a body weight, testicle weight and gonad somatic index of 330.58 g, 792.5 mg and 0.48%, respectively, with 59.8 million Leydig cells occupying 5.91% of the testicular parenchyma and an individual volume of 43.22 µl. The average level of testosterone was 9.76 pg/ml. The results demonstrate that the specimens were sexually mature, with active spermatogenesis during the period studied, which was proven by the presence of germinative cells in different phases of development, with spermiation in the tubule lumen, as well as by the morphometric characterization of the testicles and hormone levels, which were considered low in comparison to other turtles. This is the first description of such data for this species.

**Keywords:** Testicle; histomorphometry; reproduction; scorpion mud turtle; *Kinosternon scorpioides*

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. Objetivo geral.....	18
2.2. Objetivos específicos.....	18
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	20
3.1 Jurará.....	20
3.1.1 Características gerais.....	20
3.1.2 Distribuição geográfica.....	21
3.1.3 Aspectos econômicos.....	21
3.1.4 Dimorfismo sexual dos adultos.....	22
3.1.5 Aspectos macroscópicos do aparelho reprodutor de jurará.....	22
3.2. Maturidade sexual.....	23
3.3. Morfofisiologia testicular.....	24
3.4. Ciclo testicular anual.....	27
3.5. Biometria Testicular e Epididimária e Morfometria testicular.....	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1. Animais.....	33
4.2. Colheita e fixação dos testículos.....	33
4.2.1. Fixação em formol e inclusão em paraplast.....	34
4.2.2. Fixação em glutaraldeído e inclusão em resina plástica.....	34
4.3. Percentual da Túnica Albugínea.....	35
4.4. Análise Morfométrica do Testículo.....	35
4.4.1. Diâmetro Tubular e Altura do Epitélio Seminífero.....	35
4.4.2. Proporções Volumétricas (%) e Volumes dos Componentes do Testículo ..	36
4.4.3. Comprimento Total dos Túbulos Seminíferos.....	36
4.5. Volume Individual e Número de Células de Leydig por Testículo.....	37
4.6. Dosagem de Testosterona.....	38
4.6.1. Validação dos conjuntos diagnósticos.....	38
4.6.2. Coleta do material para obtenção dos níveis de testosterona.....	38
4.6.2. Procedimento do radioimunoensaio (RIE).....	39
4.7. Análise Estatística.....	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1. Maturidade sexual de jurará.....	42
5.2. Características histológicas do testículo.....	43
5.3. Atividade espermatogênica.....	45
5.4. Análise Morfométrica dos testículos.....	46
5.4.1. Biometria Testicular e Índice Gonadossomático.....	46
5.5. Morfometria e População de Células de Leydig.....	48
5.6. Dosagem de Testosterona.....	49
6. CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS.....	57

## LISTA DE TABELA

1. Biometria e histometria do testículo e epidídimo de jurarás sexualmente maduros. São Luís, 2009.....52
2. Volume ( $\mu$ l) dos diferentes componentes do testículo de jurarás sexualmente maduros. São Luís, 2009.....53
3. Morfometria e número de células de Leydig por testículo e por grama de testículo em jurarás sexualmente maduros. São Luís, 2009.....53

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aspectos histológicos do testículo de jurarás sexualmente maduros.....50

Figura 2 - Componentes celulares dos testículos de jurarás sexualmente maduros.....51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. A: Espermatogônia do tipo A
2. Al : Espermátide alongada
3. Ar : Espermátide arredondada
4. B: Espermatogônia do tipo B
5. D: Espermatócito primário em diplóteno
6. ES: Epitélio seminífero
7. II : Espermatócito secundário
8. L: Espermatócito primário em leptóteno
9.  $\ell$  : Lume tubular
10. Mi: figuras de meiose em espermatogônias
11. MI : Figura de divisão meiótica de espermatócito primário
12. MII : Figura de divisão meiótica de espermatócito secundário
13. P: Espermatócito primário em paquíteno
14. S : Célula de Sertoli
15. Ta: Túnica albugínea
16. Z: Espermatócito primário em zigóteno

## **INTRODUÇÃO**

---

## 1 INTRODUÇÃO

A classe reptila inclui os lagartos e as cobras (Ordem Squamata), tartarugas, cágados e jabutis (Ordem Chelonia); crocodilos e jacarés (Ordem Crocodilia) e a tuatara da Nova Zelândia (Ordem Rhycocephalia) (STORER et al. 2000).

Em algumas regiões brasileiras, sob o ponto de vista econômico são os quelônios os mais importantes répteis (SANTOS, 1995), visto que são muito utilizados por populações de baixa renda e também muito apreciados na culinária, e desta forma, tem seus destinos também à restaurantes, que apesar de terem conhecimentos da infração às leis ambientais, não os incluem em seus cardápios para não serem punidos, mas continuam servindo. Os estoques desses animais estão conseqüentemente diminuindo de seu habitat natural. E apesar disso tudo, é possível que haja saída para essa problemática através do incentivo à criação em cativeiro, facilitando o consumo, aumentando a renda e contribuindo com a preservação das espécies. Neste contexto está incluído o jurará (*Kinosternon scorpioides*), um quelônio, pertencente à família *Kinosternidae*, de hábitos semi-aquáticos (VANZOLINI et al.,1980; ACUÑA-MESÉN, 1994).

O jurará já vem sendo estudado desde o ano de 1996 no Núcleo de Estudos e Preservação de Animais Silvestres - NEPAS do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão, atualmente este núcleo é licenciado como Criadouro Científico pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis – IBAMA/MA, com o propósito de conhecer cientificamente os aspectos morfofisiológicos desta espécie, o que é demonstrando com os trabalhos já publicados em revistas e apresentados em eventos científicos relativos à descrição macroscópica do aparelho reprodutor do macho e da fêmea de jurará (CARVALHO et al., 2004;MACHADO-JÚNIOR et al.2006); vascularização arterial das principais vísceras da cavidade celomática de jurará (OLIVEIRA et al., 2007); extrativismo de jurará no município de São Bento-MA (PEREIRA et al., 2007) entre outros. Ressalta-se a



aplicação das informações encontradas como ferramentas em posteriores programas de manejo e conservação da espécie, por meio dos diversos conhecimentos ligados ao hábito alimentar, reprodutivo e da etologia, dentre outras características. Além disso, o uso das informações que envolvem os aspectos reprodutivos fornecerá subsídios para a reprodução em cativeiro desta espécie, possibilitando o seu uso como recurso natural aliado a sua preservação.

## **OBJETIVOS**

---

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Caracterizar o processo espermatogênico de jurarás sexualmente maduros, criados em cativeiro, por meio da análise histológica, morfométrica e dos níveis hormonais.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar o testículo de jurará, por meio de análises morfométricas, tais como: proporções volumétricas (%) entre os diferentes componentes do parênquima testicular, diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero e comprimento total dos túbulos seminíferos;
- Descrever morfologicamente o testículo, as células germinativas e intersticiais;
- Determinar o diâmetro nuclear das células de Leydig, seu volume individual e o número de células por testículo e por grama de testículo;
- Determinar os níveis séricos de testosterona nos animais pesquisados.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

---

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

As poucas referências bibliográficas disponíveis sobre os aspectos reprodutivos de jurará (*Kinosternon scorpioides*) ainda apontam elementos limitados, sendo assim, nesta revisão serão mencionados trabalhos envolvendo outras espécies de répteis e aves que servirão como base para este estudo.

#### 3.1 Jurará

##### 3.1.1 Características gerais

O jurará pertence à Classe *Reptilia*, Ordem *Chelonia*, Família *Testudinidae*. Esta família é representada por doze gêneros e cerca de quarenta espécies (ORR, 1986; MADER, 1996). Delduque (2000) descreve o jurará como sendo uma tartaruga de pequeno porte, atingindo no máximo 15 centímetros, vive em campos alagados e em lagoas, de hábito alimentar diversificado (onívoro). A carapaça é marrom escura com manchas vermelhas e apresenta três quilhas no dorso. Para se defender, possui uma placa córnea afilada (o equivalente aos dentes) e uma mandíbula forte. Assim consegue dar uma mordida dolorida. Nesta espécie a cauda possui uma estrutura semelhante a uma unha no final do corpo, o que antigamente acreditava-se que nela havia um ferrão, usado para a defesa, tal como no escorpião, característica esta que denominou cientificamente a espécie. Na verdade a única função conhecida é para segurar a fêmea durante o acasalamento (PEREIRA et al., 2007). Ainda, pouco se conhece sobre a história natural desta espécie, pois se trata de um dos animais menos estudados e, muitas das informações a ela atribuídas, são oriundas de outros quelônios (PRITCHARD, 1979).

### 3.1.2 Distribuição geográfica

Esta espécie encontra-se bem distribuída na costa da América do Sul, incluindo a Colômbia, as Guianas e Trinidad. No Brasil, o jurará, 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, 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. (VANZOLINI et al, 1980; ACUÑA-MESÉN, 1994; PEREIRA, 2000; PEREIRA et al, 2007).

### 3.1.3 Aspectos econômicos

Pereira et al (2007) referenciam 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 muçua. Esta comercialização ocorre de forma clandestina, infringindo a lei federal nº 9.605/98, de 12 de fevereiro de 1998. Tal fato foi confirmado por Lima (2003), a qual demonstrou 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, destacando-se pelo seu consumo na alimentação. O Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) ligado à gerência do IBAMA em São Luís contabilizou em seus registros no ano de 2005 o recolhimento de 39 animais.

A coleta 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 se reproduzir e então é capturado. O fato de o animal ser encontrado na estação seca potencializa sua coleta e venda, uma vez que na estação chuvosa ele encontra-se dentro dos lagos e campos e é apanhado em quantidades mínimas (PEREIRA et al, 2007).

#### 3.1.4 Dimorfismo sexual dos adultos

Segundo Castro (2006); Carvalho et al (2002) e Pereira et al (2007), o macho da espécie apresenta cauda longa, plastrão mais côncavo e cabeça bastante pigmentada chegando a ser negra. A fêmea apresenta sua cauda menor que a do macho, o plastrão é reto e a cabeça é mais clara. O comprimento médio de carapaça e do plastrão desses animais é de 14 e 12 cm respectivamente, tanto para machos como para fêmeas.

#### 3.1.5 Aspectos macroscópicos do aparelho reprodutor de jurará

O aparelho reprodutor do macho, descrito por Carvalho et al (2002), 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 que são estruturas bastante convolutas de coloração esbranquiçada, os quais se encontram inseridos nos testículos; os ductos deferentes que são contínuos aos epidídimos e desembocam na região da cloaca, observa-se um pênis sulcado, composto por raiz, corpo e glândula localizado no assoalho ventral da cloaca, fixado a ela através de um músculo retrator, protegido pelo prepúcio. O suprimento arterial dos testículos é

realizado através das artérias urogenitais que tem sua origem a partir da aorta dorsal. Essas artérias correspondem aos principais vasos de distribuição sanguínea aos órgãos urinários e reprodutivos. Os testículos recebem suprimento arterial através de vários ramos provenientes das artérias genitais, que são as artérias testiculares. O fluxo arterial destinado para as gônadas ocorre ao longo da túnica albugínea dirigindo-se para o interior do parênquima (OLIVEIRA et al., 2007).

### 3.2. Maturidade sexual

O termo “adulto” recorre a uma espécie que atingiu a maturidade reprodutiva. O critério utilizado para determinar a maturidade de machos de *Kinosternon flavescens flavescens* é a presença de espermatozóides no testículo e no epidídimo (CHRISTIANSEN & DUNHAM, 1972). Todos os machos que não apresentam este critério foram considerados jovens embora houvesse variação segundo o tamanho dos indivíduos. Outro dado da literatura para a tartaruga *Chelydra serpentina* relata a variação no tamanho da carapaça onde os machos maduros sexualmente apresentavam tamanho de carapaça variando entre 16,8-17,8cm (GLESENKAMP et al.,2003).

Trabalhos realizados por Wibbles et al. (1991) sobre características sexuais de machos de tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta*, descrevem que durante a espermatogênese, a testosterona estimula a atividade das células de Sertoli e a conseqüente mitose de células germinais, que se diferenciam em espermátócitos primários e migram em direção ao lúmen dos túbulos seminíferos. Os espermátócitos primários iniciam o processo de meiose, dando origem aos espermátócitos secundários, que após a segunda divisão meiótica dão origem às espermátides. A puberdade nestas tartarugas começa quando os testículos passam a produzir altas concentrações de testosterona, resultando em vários efeitos como: estímulo ao desenvolvimento das características sexuais secundárias (alongamento da



cauda e amolecimento do plastrão), maturação dos túbulos seminíferos e início da espermatogênese.

### 3.3. Morfofisiologia testicular

A caracterização testicular tem sua base descrita por diversos autores em muitas espécies animais, porém apesar de poucos estudos envolvendo a microscopia testicular e níveis de testosterona em outros quelônios, répteis e aves, estes serviram como parâmetros para estudos destas características em jurará.

Abas et al. (1998) descrevem de forma sucinta que os testículos de jurará estão envolvidos pela túnica albugínea; os túbulos seminíferos constituídos de células da linhagem espermatogênica e de Sertoli; com células intersticiais pouco observadas. Por outro lado, é descrito em crocodilo da espécie *Caiman crocodilus crocodilus* 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 conectivo 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).

Trabalhos realizados por Gribbins et al., 2006, para a espécie de jacaré *Alligator mississippiensis* descrevem a morfologia de 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.

Em geral, o tamanho, o número e a aparência das células intersticiais de Leydig variam com o ciclo reprodutivo dos répteis. Estas células podem ser poliédricas, alongadas ou ovais. Elas têm um núcleo grande e redondo e um citoplasma alveolar e vacuolizado. Encontradas isoladas ou formando grupos próximos aos vasos sanguíneos ao redor dos túbulos seminíferos (FOX,1977). Sua principal função é bastante relatada para mamíferos na literatura. Segundo Stanbenfeldt & Edquist (1996) 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 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 dihidrotestosterona.

Foram observadas durante o período de pico reprodutivo da espécie de lagarto *Tropidurus itambere*, todas as fases da espermatogênese. 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 (FERREIRA et al., 2003).

Para as espécies de serpentes *Thamnophis sirtalis*, *Thamnophis tetraenia* e *Thamnophis elegans*, localizadas na Península de São Francisco, é descrito por Fox (2005) que as células de Sertoli obliteram o lúmen dos túbulos seminíferos nos meses 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 *Leiopisma 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.

Durante a espermatogênese, a testosterona exerce o papel de estimular as células de Sertoli, proporcionando, diferenciação celular nos túbulos seminíferos, conforme foi observado por Lutz et al. (2003) em espécies de tartaruga marinha *Chelonia mydas*, *Lepidochelys olivácea* e *Caretta caretta*. A atividade deste hormônio nos machos de algumas espécies de quelônios demonstra variações na literatura citada. Em jabuti macho (*Geochelone nigra*), espécie exótica da Colômbia, conhecida como tartaruga dos Galápagos, estudos dos níveis de testosterona no plasma tem sido realizados através da técnica de radioimunoensaio (RIA), onde foi observado níveis plasmáticos deste hormônio aumentados poucos meses antes do início da estação reprodutiva (que corresponde as estações quente e chuvosa). O pico hormonal coincidiu com a maioria das cópulas, em altas temperaturas. Os níveis plasmáticos baixos foram observados durante a estação de nidificação, (que corresponde ao período seco e frio). Para esta espécie, a variação hormonal foi de 1 a 69ng/ml (CASARES et al, 1999).

As espécies de tartarugas *Lepidochelys kempfi* de origem em British West Indies (território do Caribe) e *Tryonix sinensis* originada do sul da China, exibiram níveis elevados 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 (ROSTAL et al.,1997; LOFTS & TSUI,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* (0,3ng/ml) sendo considerada baixa (ERNST, 1971; GANZHORN & LICHT, 1983).

A concentração de testosterona, em codornas em *Coturnix coturnix*, provenientes da região de Maringá, PR, varia sazonalmente, com picos no início da fase reprodutiva 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).

### 3.4. Ciclo testicular anual

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, espermatozóides 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, espermatócitos 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 espermatozóides 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 espermatozóides 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).

Da mesma forma, a sazonalidade reprodutiva foi descrita em pato doméstico (*Anas platyhrynchus*), proveniente de Jaboticabal-SP, apresentando-se dividida em 4 fases: de regressão, de quiescência e de recrudescência, de acordo com as modificações histológicas do epitélio seminífero. A fase reprodutiva iniciou-se em julho, estação de inverno, atingindo o seu pico máximo no início de outubro, estação de primavera. Nesta, observou-se processo completo de espermatogênese, com presença de espermatogônias, espermatócitos primários nos diferentes estágios da prófase I da meiose, diferenciação das espermátides (redondas e alongadas) e dos espermatozóides no lúmen tubular. A fase de regressão ocorreu no final da primavera, no mês de novembro, e no início da estação de verão, no mês de dezembro, em que se notou a involução do epitélio seminífero e espermatogênese incompleta. A principal característica dessa fase regressiva foi a esfoliação do epitélio seminífero que recobria o lúmen tubular. Na estação de verão, meses de janeiro e fevereiro, iniciou-se a fase de quiescência ou de repouso testicular. Nessa fase, o epitélio seminífero apresentou somente espermatogônias e células de Sertoli em sua estruturação histológica. A fase de recrudescência ocorreu durante todo o outono, entre os meses de março a junho, sendo essa a mais longa fase do ciclo reprodutivo. Caracterizou-se pela renovação do epitélio seminífero, com a retomada do processo espermatogênico, com células de Sertoli, espermatogônias, espermatócitos primários em diferentes estágios da prófase I da meiose e espermátides arredondadas em maturação (SIMÕES et al., 2005).

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 espermatócitos 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 espermatozóides maduros liberados no lúmen tubular na espécie de tartaruga da Pensilvânia, *Chrysemys picta* (ERNST, 1971). 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 espermatozóides livres no lúmen tubular desta espécie (GLESENKAMP et al.,2003). No início de julho começa a espermiogênese e a maioria dos túbulos contém espermatozóides, na metade deste mês os espermatócitos primários e secundários são as células mais abundantes do processo espermatogênico e em agosto observa-se espermátides e espermatozóides no lúmen tubular da tartaruga do Novo México, *Kinosternon flavescens flavescens* ( CHRISTIANSEN & DUNHAN, 1972).

Em iguana (*Iguana iguana*) encontrada na região do Pantanal, Mato Grosso do Sul, em julho, que corresponde ao período de seca, ocorreu máxima atividade espermatogênica, com células germinativas em todas as fases e espermatozóides no lúmen tubular (FERREIRA et al.,2002), semelhante ao que foi encontrado para tartarugas, porém diferindo de outra espécie de lagarto originado de Berkeley, Califórnia (*Sceloporus occidentalis*) onde este processo ocorre do mês de novembro (WILHOFT & QUAY, 1961).

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).

### 3.5. Biometria Testicular e Morfometria testicular

No que se refere ao peso testicular, as espécies de tartaruga *Lepidochelys olivacea* apresentaram dados morfométricos relativos de 100g (OWENS,1980), enquanto a tartaruga da região central do Alabama (*Sternoterus odoratus*) 1200mg (MACPHERSON & MARION,1981). Na espécie de lagarto (*sceloporus occidentalis*), o diâmetro tubular no mês de novembro apresentou a maior média com 241,5 µm e maior altura do epitélio de 88,1µm (WILHOFT & QUAY, 1961). Para a tartaruga (*Terrapene carolina carolina*), o maior diâmetro tubular observado foi no mês de março com 249

µm. (ALTLAND, 1951). *Tryonyx sinensis* apresentou diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero nos meses de setembro e outubro com 400 µm (LOFTS & TSUI,1997). As espécies de serpentes provenientes de Grantsville e Toele - Utah (*Masticophis taeniatus e Pituophis melanoleucus*) apresentaram, no mês de setembro, o diâmetro tubular e a altura do epitélio seminífero de 260 µm e 65,3 µm respectivamente (GOLDBERG & PARKER, 1975). Em codorna *Coturnix coturnix*, de Maringá-PR, o diâmetro tubular e a altura do epitélio chegou ao máximo no período de maior atividade espermatogênica e apresentou valores de 400 µm e 120 µm respectivamente (AMOROSO et al., 2008)

Durante o mês de julho, na espécie de tartaruga *Terrapene carolina Carolina*, foi observado um grande número de espermátocitos primários presentes e o processo espermatogênico encontrava-se muito ativo, com grandes quantidades de espermatozóides maduros levados ao epidídimo. Os dados para esta espécie de tartaruga, revelaram que o índice gonadossomático para a ela, foi mais alto nos meses de julho (0,20 mg/g) e agosto (0,21 mg/g). Durante as primeiras duas semanas de agosto os túbulos seminíferos são compostos predominantemente de espermátocitos secundários, espermátides, e espermatozóides. As divisões de espermatogônias diminuem gradualmente em julho e cessam no mês de agosto (ALTLAND, 1951)

Os componentes principais dos túbulos seminíferos da espécie de tartaruga *Chrysemys picta* são as células de Sertoli, espermatogônia, e algumas espermátides residuais e espermatozóides. Esta espécie, mantida a temperatura de 28°C, nos meses de setembro e outubro, teve a média do índice gonadossomático de 3,94mg/g, com epitélio germinativo ativo com espermatozóides maduros (GANZHORN & LICHT, 1983).

Com relação ao diâmetro nuclear e células de Leydig foi observado para a espécie de tartaruga, *Tryonyx sinensis*, que entre os meses de maio e outubro a atividade espermatogênica é ativa, as células intersticiais começam a tornar-se lipoidais, havendo um declínio na secreção de andrógenos, acompanhado de uma redução no diâmetro nuclear das células intersticiais (LOFTS & TSUI,1997). Porém, na espécie de lagarto *Uromastix hardwicki*, de

Lahore (Paquistão), em novembro, o tecido intertubular estava moderado e consistia de um agregado de células de Leydig. As células tinham um citoplasma vacuolizado e continham um núcleo esférico com diâmetro médio de 3,7 $\mu$ m. Este diâmetro baixo acompanhado de um aumento no diâmetro dos túbulos seminíferos, no peso testicular e com níveis de testosterona reduzidos (JALALI et al. 1976).



## MATERIAIS E MÉTODOS

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Animais

Para a realização deste experimento, foram utilizados testículos de 9 jurarás (*Kinosternon scorpioides*) adultos provenientes do Criadouro Científico para Pesquisa em *Kinosternon scorpioides* da UEMA sob licença (1899339/2008). O material foi coletado nos meses de janeiro de 2008 e janeiro de 2009. A pesquisa foi licenciada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA-MA) sob licença n° 12726-2 e Autorizada pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária (CEEA/UEMA) sob protocolo n° 034/2007. No criadouro, os animais foram mantidos em baias com a presença de fêmeas, alimentados em dias alternados com ração comercial para peixes (Nestlé Purina ® Pet Care Company, Brasil), com 32% de proteína, na proporção de 10g/animal.

### 4.2. Colheita e fixação dos testículos

Na época programada para a colheita do material foram tomados dados biométricos dos animais referentes ao comprimento e largura de carapaça e plastrão, altura e peso dos animais, que posteriormente foram anestesiados com cloridrato de xilazina (4mg/kg/IM) e cloridrato de quetamina (60mg/kg/IM) e eutanasiados pela administração de tiopental sódico a 2,5% (60mg/Kg/EV) através da canulação da veia jugular externa, de acordo com a técnica descrita por Schumacher (1996). Posteriormente será realizada a abertura da cavidade celomática, com auxílio de serra manual de aço, para a desarticulação da

ponte óssea que une a carapaça ao plastrão, para a remoção das vísceras, visualização e retirada dos testículos e separação dos respectivos epidídimos.

#### 4.2.1. Fixação em formol e inclusão em paraplast

Foram usados 3 animais, para a descrição histológica dos testículos, fixados em solução de formaldeído a 10% por um período de 24 horas. Em seguida foi realizada a desidratação em concentrações crescentes de álcool (70°, 90° e 100°) e diafanizados em xilol, e incluídos em paraplast. Realizou-se cortes histológicos, com 5µm de espessura corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE) e do ácido periódico de Schiff (PAS) com Hematoxilina de Harris, montadas com Entellan, e analisadas em microscópio Carl Zeiss.

#### 4.2.2. Fixação em glutaraldeído e inclusão em resina plástica

Seis animais usados para a análise histológica e morfométrica, tiveram seus testículos fixados em solução de glutaraldeído a 4% em tampão fosfato 0,05M, pH 7.2, pelo tempo aproximado de 24 horas, a 4°C. Após fixação, os testículos foram separados dos respectivos epidídimos e pesados em balança de precisão Gehaka. A partir dos pesos testicular e corporal, foi estimado o índice gonadossomático (relação percentual entre a massa testicular e o peso corporal). Em seguida foram obtidos, de várias regiões do testículo, fragmentos de aproximadamente 3mm de espessura que foram desidratados em concentrações crescentes de álcool (70°, 80°, 95° e 100°) com trocas a cada 1 hora. Após a desidratação, os fragmentos foram incluídos em glicol metacrilato (Leica Historesin Embedding Kit, Leica Instruments), e posteriormente seccionados na espessura de 4µm em micrótomo com

navalhas de vidro. As secções obtidas foram coradas com azul de toluidina-borato de sódio a 1%, montadas com Entellan (Merck), e analisadas em microscópio Olympus BX-41, registro fotográfico foram realizados para a devida documentação.

### **4.3. Percentual da Túnica Albugínea**

No momento da pesagem dos testículos, a túnica albugínea foi retirada tendo seu percentual estimado em relação ao testículo. O valor percentual médio obtido nesta abordagem foi utilizado para estimar o peso líquido do testículo (peso do testículo menos o peso da túnica albugínea) na análise morfométrica.

### **4.4. Análise Morfométrica do Testículo**

#### **4.4.1. Diâmetro Tubular e Altura do Epitélio Seminífero**

O diâmetro tubular médio por animal foi obtido a partir da mensuração ao acaso de 30 secções transversais de túbulos seminíferos que apresentaram contorno o mais circular possível, utilizando-se ocular micrométrica de 20x, com aumento final de 200x. Nas mesmas secções utilizadas para se medir o diâmetro tubular, foi mensurada a altura do epitélio seminífero, a qual foi tomada da membrana basal até a borda luminal. O valor encontrado para a altura do epitélio em cada túbulo representou a média de duas medidas tomadas de forma diametralmente opostas.

#### 4.4.2. Proporções Volumétricas (%) e Volumes dos Componentes do Testículo

As proporções volumétricas (%) foram estimadas utilizando-se retículo com 441 intersecções (pontos) por campo, em aumento de 400x. Para cada animal foram analisados 15 campos, escolhidos ao acaso, perfazendo um total de 6615 pontos. Do compartimento tubular foi avaliados a túnica própria, epitélio seminífero e lúmen; enquanto que do compartimento intertubular foram analisados as células de Leydig, células e fibras do tecido conjuntivo, e vasos sangüíneos e linfáticos. O volume de cada componente testicular, expresso em mL, foi estimado a partir do conhecimento do volume líquido do testículo. Como a densidade do testículo é muito próxima de 1 (1,03 a 1,04; França, 1991, Leal & França, 2006) o peso do testículo foi considerado igual ao seu volume.

#### 4.4.3. Comprimento Total dos Túbulos Seminíferos

O comprimento total dos túbulos seminíferos (CT) por testículo, expresso em metros, foi estimado a partir do conhecimento do volume ocupado pelos túbulos seminíferos no testículo, e do diâmetro tubular médio obtido para cada animal. A seguinte fórmula foi empregada (ATTAL & COUROT, 1963; DORST & SAJONSKI, 1974):

$$CT = VTS/\pi R^2$$

Onde, VTS é o volume total dos túbulos seminíferos no testículo, e  $\pi R^2$  é a área da secção transversal de túbulos seminíferos (R = diâmetro tubular/2).

O comprimento do túbulo seminífero por grama de testículo corresponde a razão entre o comprimento tubular total e o peso líquido do testículo (peso total do testículo menos o peso da túnica albugínea). Pelo fato do mediastino

testicular ser muito pequeno e pouco evidente o valor percentual do mesmo foi desprezado.

#### 4.5. Volume Individual e Número de Células de Leydig por Testículo

O cálculo do volume individual das células de Leydig foi investigado empregando-se retículo com 441 intersecções (pontos), em aumento de 400x. Mil pontos sobre o citoplasma e o núcleo das células de Leydig foram contados por animal, com a finalidade de se determinar a proporção (%) entre núcleo e citoplasma. Em outra etapa, o diâmetro nuclear médio destas células foi obtido com o auxílio de ocular micrométrica 10x acoplada à objetiva de 100x, resultando em aumento final de 1000x. Trinta núcleos de células de Leydig foram medidos para cada animal. Os núcleos medidos foram aqueles que apresentaram o contorno mais arredondado possível e com cromatina perinuclear e nucléolos bastante evidentes. A partir dos dados acima obtidos foram aplicadas as fórmulas abaixo e calculados o volume nuclear, o volume do citoplasma e, conseqüentemente, o volume da cada célula de Leydig, por animal. Estes valores foram expressos em micrômetros cúbicos.

Volume nuclear =  $4/3\pi R^3$ , onde R = raio nuclear

Volume citoplasmático = % citoplasma x volume nuclear / % núcleo

Volume celular = volume nuclear + volume citoplasmático

De posse do volume ( $\mu\text{m}^3$ ) das células de Leydig, da proporção volumétrica (%) das mesmas no testículo e do volume total (mL) ocupado por estas células no testículo, calculou-se o número de células de Leydig por testículo e por grama de testículo, em cada animal.

## 4.6. Dosagem de Testosterona

### 4.6.1. Validação dos conjuntos diagnósticos

A falta de um conjunto de reagentes específicos para a espécie em estudo tornou-se necessário validar os testes executados. Essa validação permitiu verificar se as amostras apresentavam um padrão de resultados compatível com o esperado, diante de diluições específicas. Isto significaria que os hormônios contidos nas amostras ligar-se-iam aos anticorpos contidos no teste de forma homogênea. Para tanto, foi realizada a validação do conjunto diagnóstico comercial para uso em soro de fêmeas de jurará.

A técnica de paralelismo utilizando matriz depletada consiste em indicar se os hormônios da espécie que se quer estudar estão interagindo com o anticorpo do conjunto diagnóstico de forma similar ao hormônio usado como padrão.

Foi utilizado um pool de amostras de baixa concentração hormonal (valores próximos aos limites inferiores da curva padrão). A esta amostra adicionamos valores conhecidos a fim de aproximá-los aos pontos da curva padrão fornecidos pelo conjunto diagnóstico.

### 4.6.2. Coleta do material para obtenção dos níveis de testosterona

Para a realização das dosagens hormonais foi coletado sangue de 6 jurarás, diretamente do seio cervical dorsal com uma seringa de 3ml e agulha 25x7. Posteriormente o sangue foi centrifugado e o soro armazenado em tubos

de microcentrífugas 1,5ml eppendorffes e armazenado em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , conforme método recomendado por (OWENS & RUIZ,1980)

#### 4.6.2. Procedimento do radioimunoensaio (RIA)

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. Todos os parâmetros de controle de qualidade dos ensaios hormonais foram analisados conforme rotina empregada no Laboratório de Dosagens Hormonais (LDH) do Departamento de Reprodução da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

#### 4.7. Análise Estatística

Os resultados obtidos através das análises morfométricas dos testículos foram expressos como média e erro padrão, e a análise de correlação entre os diversos parâmetros foi obtida com auxílio do programa STATISTICA 6.0, onde o nível de significância considerado foi de  $p < 0,05$ .





## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Maturidade sexual de jurará

Baseado nos modelos disponíveis na literatura, os animais utilizados neste experimento foram considerados adultos e maduros sexualmente, pois apresentaram média de comprimento de carapaça, plastrão e peso corporal respectivamente de 13,5cm; 11,6cm e 330,58g, com a presença de espermatogênese ativa, observado na análise histológica. Estas características foram observadas para a mesma espécie (*Kinosternon scorpioides*) por Castro et al. (2006) onde esta espécie foi considerada adulta com média de comprimento de carapaça e plastrão respectivamente de 14,8 e 12,3cm. Da mesma forma, Christiansen & Dunhan (1972) utilizaram como critério para determinar a maturidade de machos de *Kinosternon flavescens flavescens* a presença de espermatozóides no testículo e no epidídimo, porém o macho maduro mais jovem desta espécie estudada tinha 6 anos e 10cm de carapaça, sendo portanto de tamanho menor aos jurarás desta pesquisa, mesmo sendo espécies de mesma ordem. Por outro lado, a espécie de tartaruga *Chelydra serpentina*, apresentou carapaça com tamanho de 17,1cm com maturidade sexual observada com presença de espermátocitos secundários, espermátides arredondadas e espermatozóides maduros no lúmen tubular (MURPHY & WHITE,1973; GLESENKAMP et al.,2003). Estes valores foram variáveis, porém bem próximos, entre os jurarás e as espécies pesquisadas.

## 5.2. Características histológicas do testículo

Os testículos de jurará encontravam-se envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo denso, a túnica albugínea, circundando os túbulos seminíferos e fornecendo sustentação. (Fig.1A). 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.

O epitélio seminífero de jurará encontrava-se envolvido por uma túnica própria (Fig. 1C) e formando a superfície externa dos túbulos seminíferos onde se observava a presença de múltiplas células germinativas em todas as fases, desde a camada basal até o lúmen, mostrando o processo espermatogênico completo (Fig. 1C). Neste aspecto Xiangkun et al., (2007) descreveram, para a espécie de tartaruga *Trionyx sinensis* que a espermatogênese ativa é caracterizada pelo aparecimento de células em proliferação regular arranjas no epitélio seminífero.

As células de Sertoli do jurará estão localizadas na camada basal dos túbulos seminíferos próximas às espermatogônias (Fig. 2C, 2D). Morfologicamente caracterizam-se por apresentarem um núcleo piramidal, com um nucléolo evidente, com grânulos de cromatina dispersos na membrana nuclear. Característica semelhante foi observada nas espécies de lagartos *sceloporus occidentalis* e *Leiopisma rhomboidalis*, onde essas células apresentavam núcleo piramidal ou raramente ovóide com nucléolo grande e membrana nuclear proeminente e finos grânulos de cromatina dispersos (WILHOFT & QUAY, 1961; WILHOFT, 1963). Em espécies de serpentes *Thamnophis sirtalis*, *Thamnophis tetraenia* e *Thamnophis elegans*, originadas da Península de São Francisco (Califórnia), as células de Sertoli obliteram o lúmen dos túbulos seminíferos nos meses de inverno, retornando a periferia tubular durante o período de espermatogênese ativa que ocorre na primavera (FOX, 2005). No que se refere ao posicionamento destas células no túbulo

seminífero não foi observado em jurará obliteração do lúmen no período avaliado.

A descrição preliminar das células espermatogênicas dentro do testículo de jurará foi baseada em características morfológicas de mamíferos, conforme metodologia descrita por Russell et al (1990) e também utilizada por Gribbins et al (2006) em *Alligator mississippiensis* o qual descrevem a espermatogênese dividida em três fases: a proliferativa ou mitótica, a meiótica e a espermiogênica ou maturacional. Dessa forma observamos em jurará, na fase proliferativa ou mitótica, dois tipos distintos de espermatogônias, localizadas em contato com a membrana basal do epitélio seminífero. A espermatogônia tipo A que possuía um núcleo de formato ovóide com nucléolo proeminente e cromatina firmemente granular. A espermatogônia tipo B com núcleo proeminente (Fig.2A,C). Na fase meiótica, estas células são caracterizadas por seu núcleo aumentado, com cromatina nuclear em condensação gradual, passando para a fase de espermatócito primário em leptóteno apresentando-se com delgados filamentos de cromatina ocupando todo o núcleo da célula (Fig 2C). Foram observados espermatócitos primários em fase de paquíteno em maior quantidade no epitélio seminífero, com núcleo grande, fibras de cromatina bastante espessa em relação ao leptóteno (Fig 2C e E). Além disso, foi possível observar a fase de espermatócito primário em diplóteno, com fibras de cromossomos condensados e com áreas translúcidas de nucleoplasma grande (Fig. 2E). A fase de espermatócito primário em metáfase observada no epitélio seminífero do testículo de jurará, apresentavam condensação de cromossomos, localizados na placa equatorial desta célula, sem limites nucleares aparentes (Fig 2F). Espermatócitos secundários (Fig. 2C) são freqüentes e localizados na região intermediária do epitélio seminífero, possuem características morfológicas semelhantes às espermatídes com núcleo visivelmente maior que os das espermatídes arredondadas (Fig 2D). Também foram observados espermatócitos em segunda divisão meiótica no epitélio seminífero de jurarás, apresentando núcleo menor que os espermatócitos em metáfase I (Fig 2F).

Na fase espermiogênica foram observadas espermátides arredondadas e alongadas, estas podem estar agrupadas, formando feixes e ainda nesta mesma fase são observados espermatozóides liberados no lúmen do túbulo seminífero (Fig. 2C,D). Em relação à descrição morfológica das fases espermatogênicas (espermatogonial, meiótica e espermiogênica) não foram encontrados relatos, na literatura pesquisada, para aves, tartarugas e outras espécies de répteis, exceto aos crocodilianos da espécie *Alligator mississippiensis*, descritos por Gribbins et al (2006), que relataram a presença destas fases, com características bastante semelhantes às encontradas nos testículos de jurará. Porém, devido ao método utilizado por nós, nesta pesquisa, não foi possível identificar com detalhes, em jurará, todas as fases espermiogênicas já relatadas na literatura, inclusive para a espécie *Alligator mississippiensis*.

O espaço intersticial do testículo de jurará apresentou vasos sanguíneos, espaços linfáticos (Fig 1B) e células de Leydig dispostas de forma isolada ou agrupadas (Fig 2D), núcleo das células de Leydig esféricos e citoplasma vacuolizado contendo, provavelmente, grânulos de lipídios. Estas células são responsáveis pela produção de testosterona, sendo sua presença importante para a determinação dos níveis deste hormônio. Dados semelhantes aos encontrados em jurará são relatados em lagartos das espécies *Sceloporus occidentalis* e *Leiopisma rhomboidalis* por Wilhoft & Quay (1961) e Wilhoft (1963) e também nas serpentes *Thamnophis sirtalis*, *Thamnophis tetraenia* e *Thamnophis elegans* (FOX, 2005)

### 5.3. Atividade espermatogênica

Os testículos de jurará encontravam-se histologicamente com a espermatogênese completa, pois havia células germinativas em todas as fases espermatogênicas e presença de espermatozóides liberados no lúmen tubular (Fig. 1A), o que permitiu confirmar nestes animais, criados em cativeiro, que eram sexualmente maduros. Processo espermatogênico completo, semelhante

ao observado em jurará, foi também retratado para outras espécies de répteis em diferentes períodos do ano, como no mês de julho, por Altland (1951); Ernest (1951) e Gribbins et al (2006) que confirmaram presença de espermatogônias, espermatócitos primários em diferentes estágios, espermatídes arredondadas e alongadas e espermatozóides no lúmen tubular de tartarugas *Terrapene carolina Carolina* (Adams-Pensilvania e Montgonery-Maryland), *Chrysemys picta* (Pensilvânia) e em crocodilo *Alligator mississippiensis* (sudeste dos Estados Unidos). Também foi descrito espermatogênese completa ocorrendo no mês de agosto por White & Murphy (1973) e Christiansen & Dunhan (1972) em *Chelydra serpentina* (Rutherford, Tennessee) e em *Kinosternon flavescens flavescens* (Novo México), No mês de setembro foi observado em tartaruga *Trionyx sinensis* (Sul da China) por Lofts & Tsui (1977) e em outubro para pato doméstico, *Anas platyrhynchos* (Jaboticabal-SP) por Simões et al (2005). A maioria destes relatos demonstra que estas espécies tinham períodos reprodutivos que variaram entre os meses de julho a outubro, fato este que pode estar relacionado ao ciclo sexual anual descrito para cada uma delas. Estudos posteriores, nos períodos seco e chuvoso, serão realizados para verificar se existe sazonalidade reprodutiva em jurarás mantidos em cativeiro.

#### **5.4. Análise Morfométrica dos testículos**

##### **5.4.1. Biometria Testicular e Índice Gonadossomático**

Os dados biométricos e o índice gonadossomático (IGS) dos testículos de jurará estão apresentados na Tabela 1, onde se observa valores médios do peso corporal e testicular de aproximadamente 330,6g e 792,5mg, respectivamente. O índice gonadossomático encontrado para esta espécie foi de aproximadamente 2,39mg/g (equivalente a 0,48%). Neste aspecto a

tartaruga *Terrapene carolina carolina* descrita por Altland (1951) apresentou índice gonadossomático de 2 mg/g e a *Chrysemys picta* 4mg/g. (GANZHORN & LICHT, 1983). Estes resultados demonstram que as espécies aqui discutidas tinham peso corporal e testicular bem próximo ao jurará.

A média do peso testicular de jurará foi de 792 mg, enquanto os túbulos seminíferos ocuparam 79,64% do parênquima testicular, desse total 72,07% estar preenchido pelo epitélio seminífero, enquanto o lúmen tubular e a túnica própria ocuparam respectivamente 6,62% e 0,95%. De um total de 20,4% do compartimento intertubular 5,91% encontra-se preenchido pelas células de Leydig e 7,35% por tecido conjuntivo. O diâmetro tubular e a altura do epitélio seminífero ficam respectivamente em torno de 348  $\mu\text{m}$  e 118,6  $\mu\text{m}$ . Com relação ao comprimento tubular foi encontrada média de 8,4 metros por grama de testículo e 6,28 metros por testículo. Para o comprimento tubular total por testículo houve correlação significativa com o peso testicular ( $r= 0,94$ ), volume tubular ( $r= 0,97$ ) e índice gonadossomático ( $r= 0,90$ ). Com referencia ao peso testicular foi descrito por Owens (1980) para *Lepidochelys olivacea* peso médio de 100 g e por Macpherson & Marion (1981) para *Sternoterus odoratus* peso de 1200 mg, mostrando valores variáveis em relação ao jurará por se tratar de espécies de tamanhos diferentes. Em relação ao diâmetro tubular foram encontrados na literatura consultada, para tartarugas, valores variáveis entre 120 a 250  $\mu\text{m}$  nas espécies *Terrapene carolina carolina*, *Tryonix sinensis*, *Chrysemys picta* e *sternoterus odoratus* segundo Altland (1951); Wilhoft & Quay (1961); Ernest (1971); Lofts & Tsui (1997). No que se refere a altura do epitélio seminífero, somente Mitchell (1985) descreveu que o *Sternoterus odoratus* apresentou média de 34,99  $\mu\text{m}$  no estágio 6 da espermatogênese (atividade espermatogênica máxima). Este é um dado que não se aproxima dos obtidos para o jurará.

Sobre o aspecto dos volumes ocupados pelos diferentes componentes do parênquima testicular, os quais são listados na Tabela 2, não foi possível identificar na literatura pesquisada autores que fizessem relatos a eles, por outro lado, aqui será descrito os dados obtidos em jurará. Para isso foi necessário estimar o volume líquido médio encontrado nos testículos, o qual foi



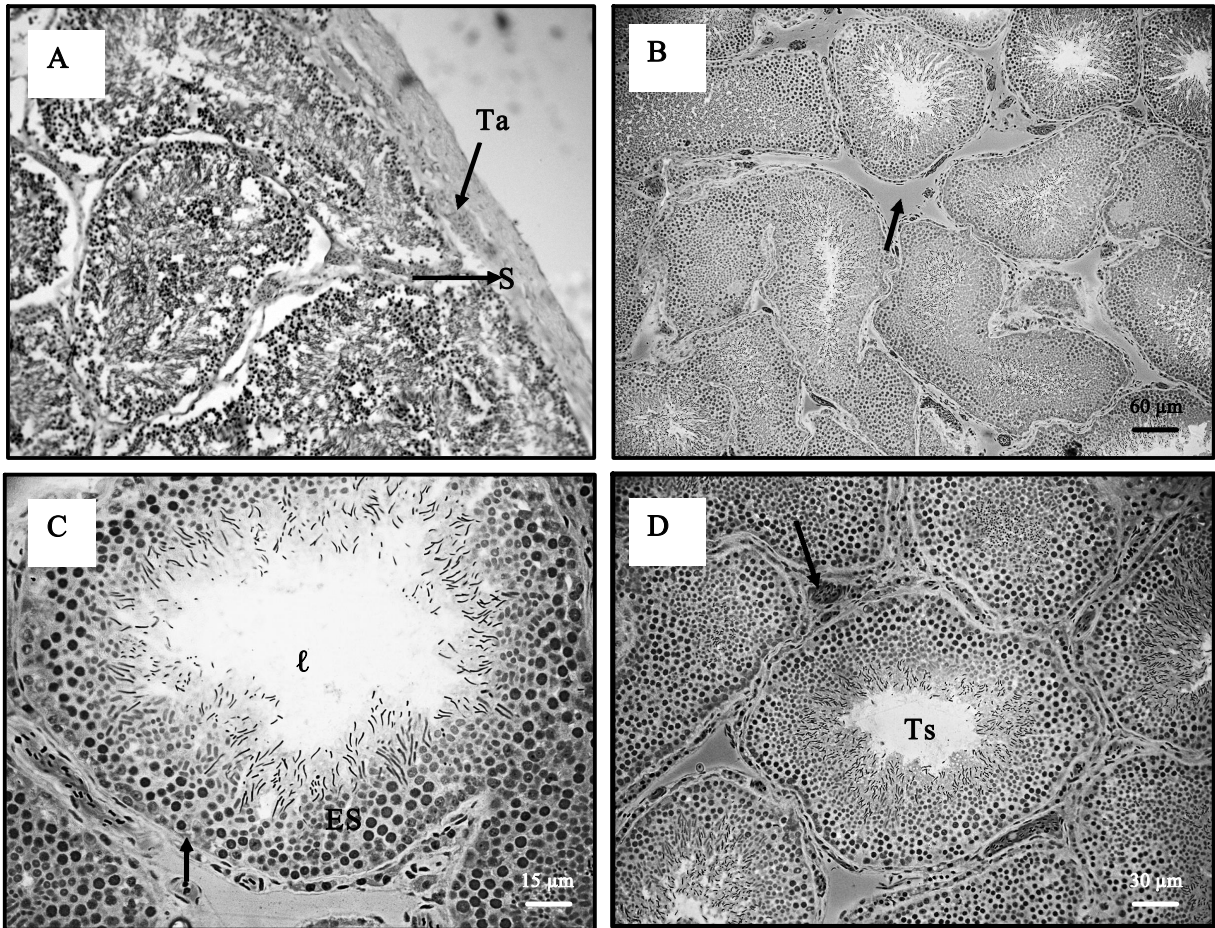
obtido utilizando-se o valor médio encontrado para a túnica albugínea que ocupou 6,04% do testículo. Dessa forma, verifica-se que o valor encontrado para o volume líquido do testículo foi de aproximadamente 748,3  $\mu\text{l}$ , sendo os túbulos seminíferos responsáveis por cerca de 601,5  $\mu\text{l}$  do volume deste órgão. Observa-se também que o volume ocupado pelas células de Leydig é de aproximadamente 43,3  $\mu\text{l}$ , apresentando baixa correlação com o volume ocupado pelos vasos sanguíneos ( $r= 0,17$ ).

### 5.5. Morfometria e População de Células de Leydig

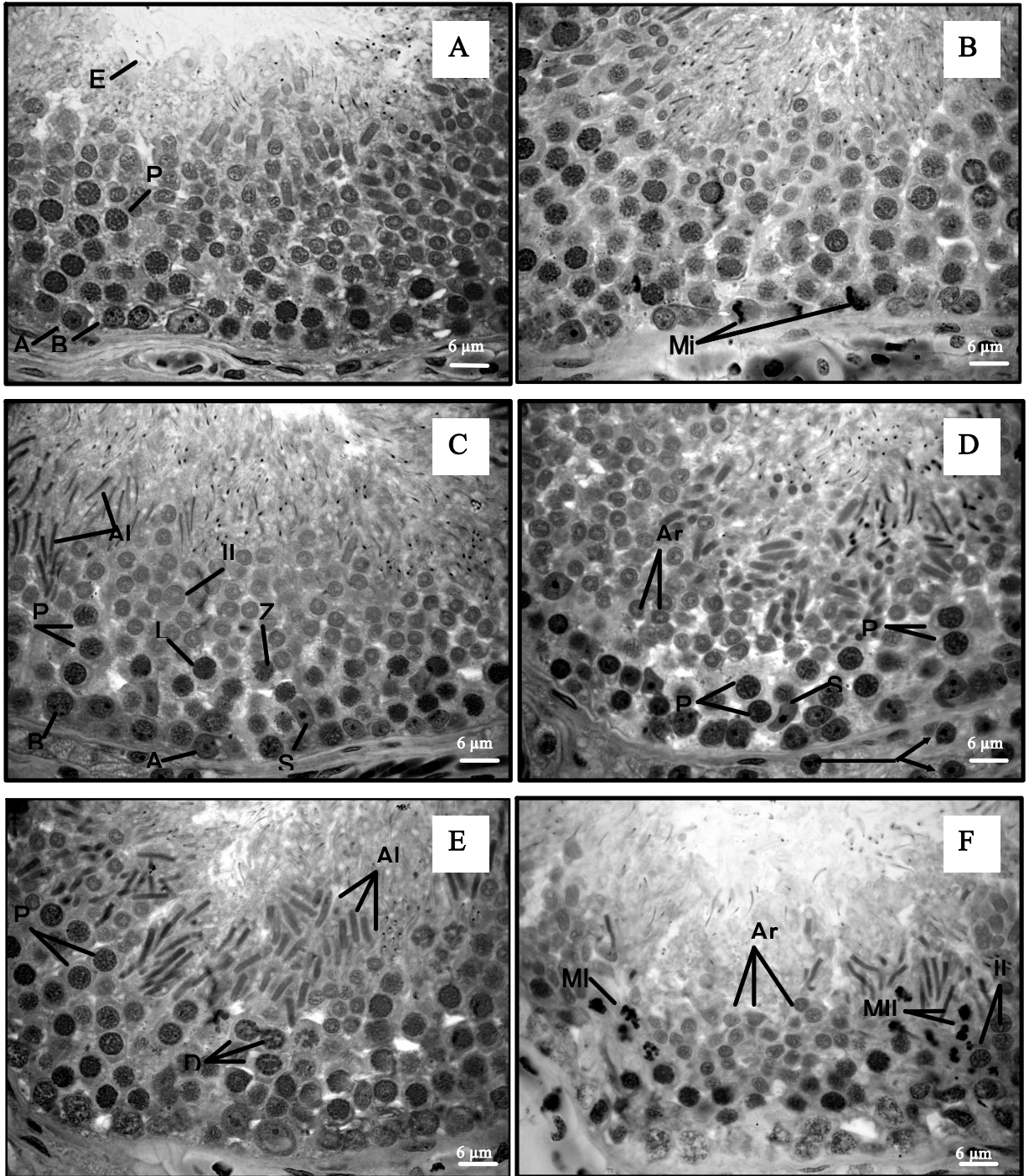
Os dados relativos às células de Leydig (Fig 2C) foram obtidos a partir da análise morfométrica dos testículos, tomando-se como pontos principais de referência o volume ocupado por elas no compartimento intertubular e o volume individual das mesmas. Desta forma, a Tabela 3 mostra que cada célula apresenta volume de aproximadamente 738  $\mu\text{m}^3$ , sendo o núcleo e o citoplasma responsáveis por cerca de 26,3% e de 73,7 % desse volume, respectivamente. A partir do volume das células de Leydig foi possível estimar que o testículo de jurará possui aproximadamente 59 milhões desse tipo celular, enquanto que 80 milhões destas células são encontradas por grama de parênquima testicular. O diâmetro nuclear, encontrado foi de 7,2  $\mu\text{m}$ . O número de células de Leydig por testículo não apresentou correlação positiva com o peso corporal ( $r= 0,15$ ) e nem com o volume de vasos sanguíneos ( $r= 0,36$ ). Dentre os autores, foi relatado por Lofts & Tsui (1977) em tartaruga *Tryonix sinensis* a redução no diâmetro nuclear das células intersticiais em período de atividade espermatogênica, sem descrição de valores numéricos dessas células, como os apresentados para o jurará.

## 5.6. Dosagem de Testosterona

Os valores para os níveis de testosterona de jurará sexualmente maduros foram expressos em picograma (pg/ml) de soro por demonstrarem níveis muito baixos. A média do nível sérico desse hormônio foi de 9,76 pg/ml, com variação individual de 2,92 a 16,77 pg/ml. Dados de declínio desse andrógeno foram observados por Lofts & Tsui (1977) no *Tryonix sinensis*, espécie de tartaruga, porém eles não relataram os valores séricos. Por outro lado, Ganzhorn & Licht (1983) em *Chrysemys picta*, em período ativo da espermatogênese, descrevem variações nos níveis desse hormônio, ora aumentados (1,9ng/ml) ora reduzidos (< 0,3ng/mL). Percebe-se que os valores referendados para essas espécies de tartarugas apresentam-se semelhantes no que se refere a redução dos níveis de testosterona encontrados para jurará, justifica-se que os valores encontrados para o jurará são inéditos pois não há na literatura relato semelhante.



**FIGURA 1:** Aspectos histológicos do testículo de jurará sexualmente maduro: **A-** túnica albugínea (Ta); septo de tecido conjuntivo denso da túnica albugínea (S); **B-** Espaço linfático (seta); **C-** Lúmen tubular (ℓ); epitélio seminífero (ES); Túnica própria (seta); **D-** Túbulos seminíferos (Ts); vasos sanguíneos (seta).



**FIGURA 2:** Componentes celulares dos testículos de jurarás sexualmente maduros. Azul de toluidina: **A-** Espermatozóiade (E); Paquíteno (P); **B-** Figuras de mitose em espermatogônias (Mi); **C-** Espermatogônia tipo (A); Espermatogônia tipo (B); célula de Sertoli (S); Leptóteno (L); Zigóteno (Z); Paquíteno (P); Espermatócito secundário (II) Espermátide alongada (Al); **D-** Espermátide arredondada (Ar) ; Paquíteno (P); célula de Sertoli (S); agrupamento de células de Leydig (setas); **E-** Paquíteno (P); Diplóteno (D); Espermátide alongada (Al); **F-** Espermátide arredondada (Ar); Espermatócito secundário (II); Metáfase I (MI) e Metáfase II (MII).

Tabela 1 . Biometria e morfometria do testículo de jurarás sexualmente maduros. São Luís-MA, 2009.

Parâmetro	Média	± E.P.
Peso Corporal (g)	330,58	± 5,7
Peso Testicular (mg)	792,50	± 106,2
Testículo Direito	801,67	± 105,7
Testículo Esquerdo	783,33	± 119,6
Índice Gonadosomático (%)	0,48	± 0,1
Proporção Volumétrica (%)		
Total De Túbulos Seminíferos	79,64	± 2,7
Túnica Própria	0,95	± 0,1
Epitélio Seminífero	72,07	± 3,1
Lúmen	6,62	± 1,4
Espaço Intersticial	20,36	± 2,7
Célula de Leydig	5,91	± 0,4
Tecidos Conjuntivos	7,35	± 0,6
Vasos Sangüíneos		
Parede Vascular	0,86	± 0,2
Lúmen Vascular	1,70	± 0,23
Espaço Linfático	4,54	± 2,1
Diâmetro Tubular (µm)	347,78	± 3,6
Altura do Epitélio Seminífero	118,64	± 7,0
Comprimento do Túbulo Seminífero		
Por Grama de Testículo (m)	8,40	± 0,3
Total por Testículo (m)	6,28	± 0,8

Tabela 2. Volume ( $\mu\text{l}$ ) dos diferentes componentes dos testículos de jurarás sexualmente maduros. São Luís-MA, 2009.

Parâmetro	Média	$\pm$ E.P.
Testículo Líquido (parênquima)	747,92	$\pm$ 103,7
Tubulos Seminíferos	601,23	$\pm$ 87,5
Túnica Própria	6,76	$\pm$ 1,1
Lúmen	45,43	$\pm$ 8,0
Epitélio Seminífero	549,05	$\pm$ 84,6
Espaço Intersticial	146,69	$\pm$ 23,5
Célula de Leydig	43,22	$\pm$ 6,2
Tecidos Conjuntivos	56,29	$\pm$ 10,8
Vasos Sangüíneos		
Parede Vascular	6,19	$\pm$ 1,5
Lúmen Vascular	13,28	$\pm$ 3,1
Espaço Linfático	27,70	$\pm$ 9,4

Tabela 3. Morfometria e número de células de Leydig por testículo e por grama de testículo em jurarás sexualmente maduros. São Luís-MA, 2009.

Parâmetro	Média	$\pm$ E.P.
Diâmetro Nuclear ( $\mu\text{m}$ )	7,2	$\pm$ 0,1
Volume da Célula de Leydig ( $\mu\text{m}^3$ )	737,9	$\pm$ 38,3
Volume Nuclear ( $\mu\text{m}^3$ )	192,0	$\pm$ 4,5
Volume Citoplasmático ( $\mu\text{m}^3$ )	545,9	$\pm$ 36,5
Proporção Volumétrica (%)		
Núcleo de Célula de Leydig	26,3	$\pm$ 1,3
Citoplasma de célula de Leydig	73,7	$\pm$ 1,3
Número de Células de Leydig por grama de Testículo ( $\times 10^6$ )	80,5	$\pm$ 5,4
Número de Células de Leydig por Testículo ( $\times 10^6$ )	59,8	$\pm$ 9,2

**CONCLUSÃO**

---

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados permitiram afirmar que os jurarás encontravam-se sexualmente maduros e com espermatogênese ativa, no período pesquisado, o que foi comprovado pela presença das células germinativas em diferentes fases de desenvolvimento, com espermição no lúmen tubular, pela caracterização morfométrica do testículo e ainda com níveis hormonais considerados baixos quando comparados aos de outros quelônios, demonstrando, desta forma, dados inéditos para a espécie através desta pesquisa.



## REFERÊNCIAS

---

## REFERÊNCIAS

- ABAS, A.R.V., SILVA, A.L.A, PEREIRA, J.G. Estudo histológico dos órgãos dos sistema reprodutor do muçua *Kinosternon scorpioides* (Chelonia: Kinosternidae). In: X Seminário de Iniciação Científica, III Encontro de iniciação Científica, 1998, São Luís, MA. **Anais...** São Luís, MA. 1998.118f.
- ACUÑA-MESÉN, R. A. Variación morfométrica y características ecológicas del habitat de la tortuga candado *Kinosternon scorpioides* en Costa Rica (Chelonia, Kinosternidae). **Revista Brasileira de Biologia**. v. 54, n.3, p. 537-547, 1994.
- 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.
- ALTLAND, P.D. Observations on the structure of the reproductive organs of the box turtle. **Journal of Morphology**. v.89, p.599-621, 1951.
- ATTAL, J. COUROT M. Development testiculaire et etablissement de La spermatogenese chez Le taureau. **Annals Biology Animal Biochemistry and Biophysics** v.8, n.3, p. 219-241, 1963.
- CABRERA AF., GARCÍA C.; GISELA C.; GONZÁLEZ-VERA, M.A.. Características histológicas del aparato genital masculino de la baba (*caiman crocodilus crocodilus*). **Revista Científica, FCV-LUZ** / v. XVII, n. 2, p.123 - 130, 2007.
- CARVALHO, R. C; SOUSA, A. L; SILVA, A. L. A.; PEREIRA, J. G. Anatomia dos órgãos genitais do muçua *Kinosternon scorpioides* macho (Chelonia, Kinosternidae). **Anais XVI Seminário de Iniciação Científica**. São Luís, 2002. p.62-63.
- CASARES, M.; LANCE, V y SCHRAMM, B. Steroids levels and reproductive cycle of the Galapagos tortoise, *Geochelone nigra*, living under seminatural conditions of Santa Cruz island (Galapagos). **General and Comparative Endocrinology**. n.114, p. 108 – 120, 1999.
- CASTRO, A. B. Biologia reprodutiva do muçua *Kinosternon scorpioides* (*Linnaeus, 1776*) em cativeiro. 2006. 100 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Universidade Federal Rural da Amazônia, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Universidade Rural da Amazônia, Belém, 2006.

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

DELDUQUE, M. Ficha do bicho: muçua. **Globo Rural**, n. 176, p. 83-84, 2000.

DORST, V. J.; SAJONSKI H. . Morphometrische Untersuchungen am Tubulussystem des Schweinehodens während der postnatalen Entwicklung. **Monats Veterinary Medical**, 1974. 29:650–652.

ERNST,C.H. Sexual Cycles and Maturity of the turtle *chrysenys picta*. **Biological Bulletin**. n.140, p.191-200, 1971.

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.

FOX, H. Urinogenital system. In: GANS, C.; DAWSON, W. R. (Eds.). **Biology of the reptilia**. New York: Academic Press, 1977. p.56-81.

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, 2005.

FRANÇA L.R. Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos raça piau. 1991.185p. **Tese** (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biológicas, UFMG. Belo Horizonte, Brasil.

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

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.

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.

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** (Stockholm). n. 87, p. 59–69, 2006.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 7 ed. São Paulo: Manole. p.391-407, 2004.

JALALI, S.; ARSLAN, M.; QURESHI, S.; QAZI, M.H. Effect of Temperature and Pregnant Mare's Serum Gonadotropin on Testicular Function in the Spiny – Tailed Lizard, *Uromastix hardwicki*, **General and Comparative Endocrinology**, v.30, p.162-170, 1976.

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. São Luís: 2002. 26 p. **Monografia** (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2003.

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.

LEAL, M.C.; FRANÇA, L.R. The Seminiferous Epithelium Cycle Length in the Black Tufted-Ear Marmoset (*Callithrix penicillata*) Is Similar to Humans **Biology of Reproduction**, n.74 –Apr, p. 616 – 624, 2006.

LUNA, L. G. **Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258 p.

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

MADER, D. **Reptile Medicine and Surgery**. Philadelphia: W. B. Saunders Company. 1996. 512 p.

MITCHELL, J. C. Variation in the male reproductive cycle in a Population of stinkpot turtles, *Sternotherus odoratus*, from Virginia. **Copeia**, v.1, p.50-56, 1985.

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

OLIVEIRA, S.C.R.; PEREIRA, L.A.; MACHADO JR., A.A.N.; OLIVEIRA, A.S.; SOUSA, L.M.M.C; SOUSA A.L. Vascularização arterial dos principais órgãos

reprodutivos de jurará (*Kinosternon scorpioides*). **International Journal of Morphology**, 2007.

ORR, R. T. **Biologia dos vertebrados**. 5 ed. São Paulo: Roca, 1986. p. 100-102.

OWENS, D.W. The Role of reproductive physiology in the conservation of sea turtle. In: **K. Bjorndal (ed.), Proc. Word Conf. On sea Turtle Conservation**. Smithison. Inst. Press, Wash., D.C. (in press), 1980.

PEREIRA, J. G. Estudo histológico e histoquímico do tubo digestivo e do pâncreas do *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptila, Chelonia, Kinosternidae), muçua. 2000. 148f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

PEREIRA, L.A.; SOUSA, A.L.; LEMOS, J.J.S. Extrativismo de jurará *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptila, Chelonia, Kinosternidae) e avaliação sócio-ambiental dos pescadores no Município de São Bento-MA. In: SILVA, A.C.; FORTES, J.L.O. **Diversidade Biológica Uso e conservação de Recursos Naturais no Maranhão**. Projeto e ações em Biologia e Química.vol.II. 2007, p.269-299.

PRITCHARD, P.C.H. **Encyclopédia of turtles**. New Jersey: T.F.H,1979, p.326

PRICHARD, P. C. H.; TREBBAU, P.. **The Turtles of Venezuela**. Venezuela: Society for the study of amphibians and reptiles (U.S.A.) & Fundación de Internados Rurales. 1984. p.239-248.

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. 1996, p.613-614.

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 kempii*). **General and Comparative Endocrinology**. v. 109, p. 232-243, 1997.

RUSSELL, L. D., R. A. ETTLIN, A. P. SINHA-HIKIN, and E. D. Clegg. **Histological and Histopathological Evaluation of the Testis Clearwater**: Cache River Press. 1990

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

SIMÕES, k.; ORSI, A.M.; URBINATI, E.C.; GONÇALVEZ, 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.

STORER, T. I., USINGER, R. L., STEBBINS, R. C., NYBAKKEN, J. W. **Zoologia Geral**. 6 ed. v. 8. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2000. p. 642-654.

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

WIBBELS T, OWENS DW, LIMPUS CJ, REED PC, AMOSS-JR MS. Seasonal changes in serum gonadal steroids associated with migration, mating and nesting in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). **General Comparative Endocrinology**, v.79, p.39-53, 1991.

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.

WHITE, J.B.; MURPHY, G.G. The reproductive Cycle and sexual dimorphism of the common snapping turtle *Chelydra serpentina serpentine*. **Herpetologica**. v. 29, p.240-246, 1973

XIANGKUN , Z . LI , L . MEIYING , B . HUIJUN , H . NAINAN , C . QIUSHENG. 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, 2007.



# APÊNDICE



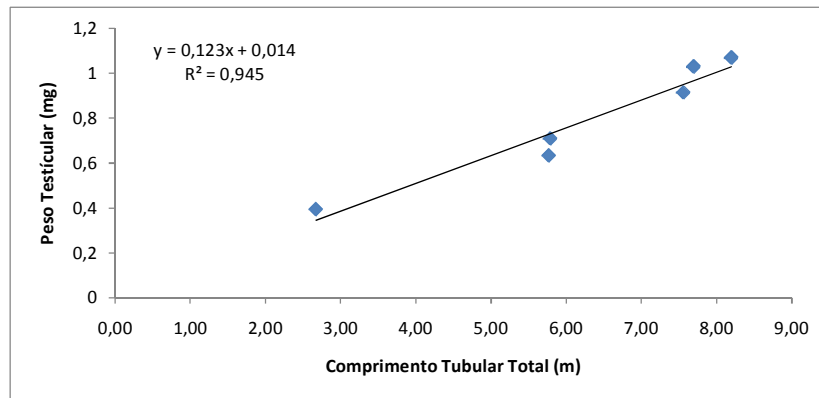


Figura 3 – Correlação entre comprimento tubular total por testículo e o peso testicular de jurarás criados em cativeiro.

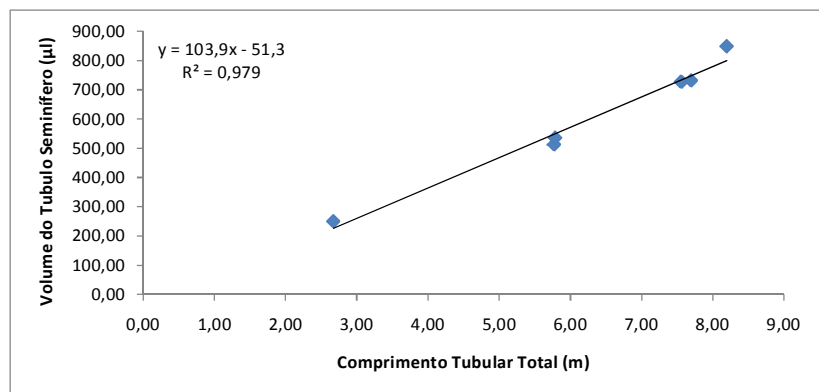


Figura 4 – Correlação entre comprimento tubular total e o volume do túbulo seminíferos.

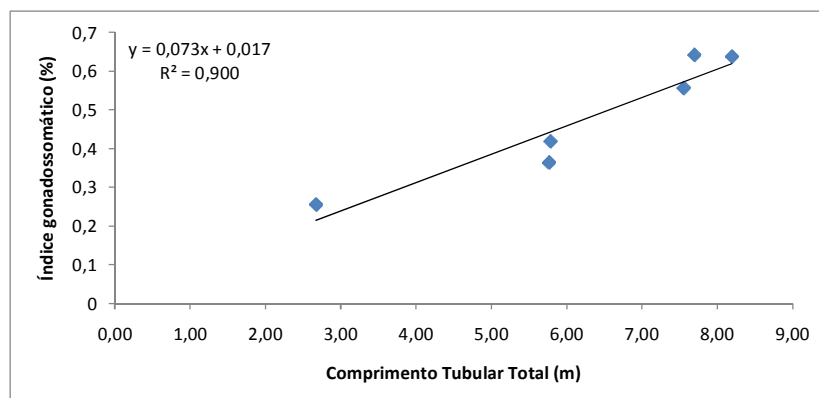


Figura 5 – Correlação entre comprimento tubular total e índice gonadossomático

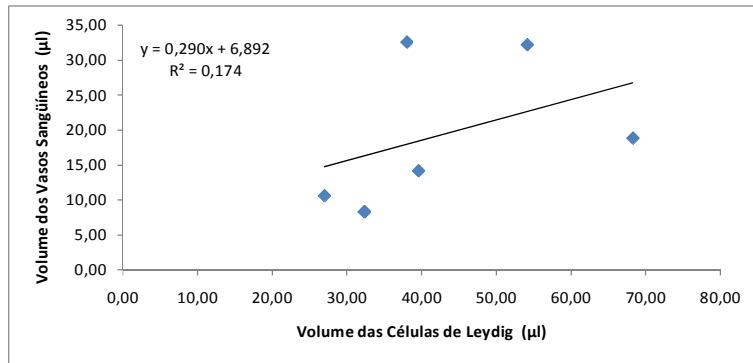


Figura 6 – Correlação entre volume das células de Leydig por volume de vaso sanguíneo.

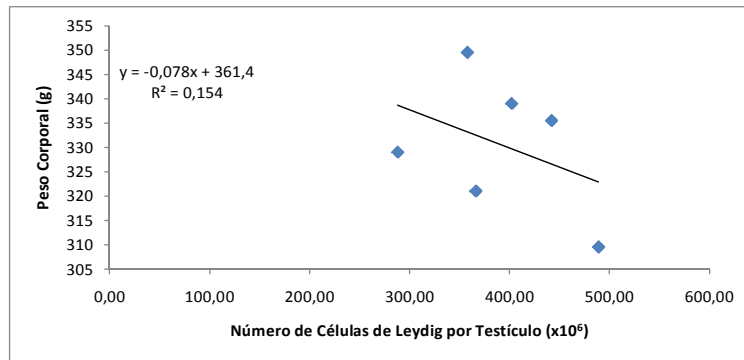


Figura 7 – Correlação entre número de células de Leydig por testículo e peso corporal.

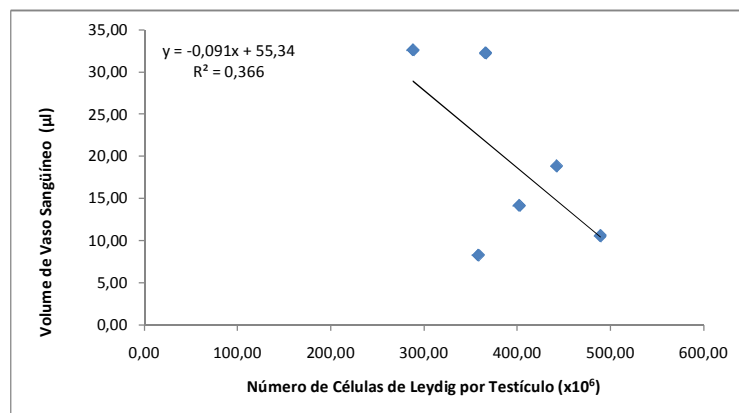


Figura 8 – Correlação entre número de células de Leydig por testículo e o volume de vasos sanguíneos.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)