



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Érica da Silva Maciel

Ciclo reprodutivo do macho *Ameiva ameiva* (Squamata: Teiidae) baseado
em seus aspectos morfológicos sazonais

São José do Rio Preto

2022

Érica da Silva Maciel

**Ciclo reprodutivo do macho *Ameiva ameiva* (Squamata: Teiidae)
baseado em seus aspectos morfológicos sazonais**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Área de Concentração - Morfologia de grupos recentes, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientadora: Profa. Dra. Selma Maria de Almeida Santos.

São José do Rio Preto

2022

MACIEL, E. S.

Ciclo reprodutivo do macho *Ameiva ameiva* (Squamata: Teiidae) baseado em seus aspectos morfológicos sazonais / Érica da Silva Maciel - São José do Rio Preto, 2022.

77 f. : il., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Selma Maria de Almeida Santos

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Zieri

Dissertação - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

1. Espermatogênese. 2. Neotropical. 3. Reptilia. 4. Segmento sexual renal. I. Ciclo reprodutivo do macho *Ameiva ameiva* (Squamata: Teiidae) baseado em seus aspectos morfológicos sazonais.

CDU –

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE/UNESP - Campus de São José
do Rio Preto

Érica da Silva Maciel

**Ciclo reprodutivo do macho *Ameiva ameiva* (Squamata: Teiidae)
baseado em seus aspectos morfológicos sazonais**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Área de Concentração - Morfologia de grupos recentes, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES Proc.
88887.486267/2020-002

Orientadora: Profa. Dra. Selma Maria de Almeida Santos.

Comissão Examinadora

Profa. Dra. Selma Maria de Almeida Santos (Orientadora)
Instituto Butantan – São Paulo/ SP



Prof. Dra. Luiza Loebens
Instituto Federal Farroupilha – Panambi/ RS

Dr. Erick Augusto Bassi
Instituto Butantan – São Paulo/ SP

São José do Rio Preto
30 de novembro de 2022

Dedico à minha mãe, Sueli, que sempre me incentivou nos estudos e esteve ao meu lado em todos os momentos, inclusive durante a elaboração dessa dissertação.

Dedico essa dissertação ao meu pai Jordenil, meu parceiro de campo, que possibilitou que os espécimes utilizados durante essa pesquisa fossem coletados.

Àqueles que sempre me apoiaram e acreditaram no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a minha força interior que em conjunto, me deram forças, otimismo, coragem e confiança para enfrentar as dificuldades que surgiam durante o caminho proporcionando sempre uma solução.

Aos meus pais amados e queridos, que fizeram tudo o que puderam por mim e não mediram esforços para eu me realizar profissionalmente como professora e pesquisadora.

À minha orientadora, Profa. Dra. Selma, pesquisadora a qual eu tenho muita admiração e inspiração, que me deu oportunidade de realizar este trabalho na área que eu almejei e possibilitou que eu sentisse essa gratificação e orgulho por fazer parte do seu grupo de pesquisa e por fazer parte do Instituto Butantan, instituição que me faz brilhar os olhos desde a infância, eu não poderia ser mais grata por isto.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Rodrigo Zieri, eu deixo um agradecimento especial, por ter sido uma grande referência pra mim na área acadêmica durante todo o meu período de graduação. Como o meu primeiro “tutor”, eu agradeço a todos os puxões de orelha e ensinamentos, que colaboraram tanto no desenvolvimento dessa pesquisa, como tiveram influência na minha formação profissional e no ser humano sou hoje. Me orgulho em ter sido sua orientanda e me inspiro demasiadamente no seu profissionalismo, sem você, essa pesquisa não teria acontecido.

Ao Ibilce, por permitir que eu realizasse toda a metodologia da minha pesquisa na Instituição, sem impor qualquer tipo de barreira, muito pelo contrário, pude ver a eficiência e excelência desta Universidade no incentivo à pesquisa. Em especial, ao laboratório de Anatomia Comparada dirigido pelo Prof. Dr. Classius de Oliveira e ao laboratório de Microscopia e Microanálise, dirigido pelo Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga. A esses professores, meu agradecimento e reconhecimento dos grandes profissionais que são.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, processo 88887.486267/2020-002, à qual agradeço o suporte para que essa pesquisa fosse desenvolvida.

“A ciência será sempre uma busca, jamais uma descoberta.
É uma viagem, nunca uma chegada.”

(POPPER, 1957)

RESUMO

Ameiva ameiva é um lagarto amplamente distribuído no Brasil em áreas de Caatinga, Floresta Amazônica e Cerrado. É caracterizado por apresentar ciclo reprodutivo assazonal, porém, no que diz respeito à morfologia dos órgãos reprodutivos, o último trabalho foi realizado por Colli e Pinho (1997). Nós descrevemos a anatomia macroscópica e microscópica do sistema reprodutor a partir de 20 indivíduos machos coletados em uma área rural de Olímpia, município localizado no norte de São Paulo, Brasil. As estruturas analisadas foram os testículos, ductos condutores de espermatozoides, segmento sexual renal (SSR), hemipênis e corpos adiposos abdominais. Após análises macroscópicas e obtenção de fragmentos do testículo e da via seminífera para rotina histológica, dez secções de 5µm de cada região foram coradas com hematoxilina-eosina para descrição geral dos tecidos e com periodic acid-Schiff, Tricômico de Gomori e Picrossirius Red para as análises histoquímicas. Os hemipênis são monolobulados, alongados e cilíndricos, com uma face sulcada e outra face assulcada com ondulações transversais em sua porção mais distal. Em relação ao sistema de condução de sêmen de *A. ameiva*, foram descritos rede testicular, ducto eferente, epidídimo, ducto deferente cuja porção mais caudal, próxima à cloaca, apresenta uma dilatação formando a ampola. Os espermatozoides estão presentes em todas as regiões do ducto. Cada região mostrou características específicas em relação ao padrão morfológico e atividade do tecido epitelial. O epidídimo é mais enovelado, com epitélio 1.5 vezes mais alto quando comparado com o epitélio do ducto deferente. O SSR foi identificado no córtex da região ventral dos rins a partir da hipertrofia dos túbulos contorcidos distais, com função secretora para carboidratos neutros. O IGS foi maior nos animais coletados durante a primavera e o verão, em contraste com a gordura armazenada nos corpos adiposos, com maior quantidade no outono e inverno. A espermatogênese ocorreu durante o ano todo, com um aumento na altura do epitélio durante a primavera e o outono, sugerindo um período de maior atividade espermatogênica e regressão testicular parcial observada no inverno, já a espermiogênese foi maior no verão. O epitélio do SSR esteve mais hipertrófico entre o inverno-primavera e mais secretivo durante o verão (PAS positivo). No epidídimo, a massa espermática ocupou o ducto durante todas as estações, havendo uma diminuição no período de maior espermiogênese e no ducto deferente os espermatozoides estiveram em maiores quantidades durante a primavera, sugerindo o principal período de cópula

desses indivíduos. A análise do ciclo reprodutivo masculino de *A. ameiva* mostrou um padrão reprodutivo de ciclo sazonal para o nível populacional, com indivíduos semi-sincronizados e para o nível individual, ciclo reprodutivo contínuo. Os dados mostraram atividade reprodutiva mais intensa dos órgãos nos períodos de primavera e verão e menor atividade dos órgãos nos períodos de outono e inverno. Dados sobre lagartos neotropicais são escassos, sendo que esse estudo traz, pela primeira vez, informações importantes sobre a morfologia do sistema reprodutivo de *A. ameiva*, contribuindo para que demais trabalhos sobre o grupo sejam desenvolvidos.

Palavras-chave: Espermatogênese. Neotropical. Reptilia. Segmento sexual renal.

ABSTRACT

Ameiva ameiva is a lizard widely distributed in Brazil in areas of Caatinga, Amazon Forest and Cerrado. It is characterized by having a continuous reproductive cycle, however, with regard to the morphology of reproductive organs, the last work was carried out by Colli and Pinho (1997). We describe the macroscopic and microscopic anatomy of the reproductive system from 20 male individuals collected in a rural area of Olímpia, a municipality located in the north of São Paulo, Brazil. The structures analyzed were the testes, sperm ducts, renal sexual segment of the kidney (SSK), hemipenis and fat bodies. After macroscopic analyzes and obtaining testis and seminiferous tract fragments for histological routine, ten 5µm sections from each region were stained with hematoxyly-eosin (HE) for general description of the tissues and with periodic acid-Schiff (PAS), Tricomie of Gomori and Picrossirius Red for histochemical analyses. The hemipenis are elongated and cylindrical, with one grooved face and the other grooved face with transversal undulations in its most distal portion. Regarding the semen conduction system of *A. ameiva*, rete testis, efferent duct, epididymis, vas deferens whose most caudal portion, close to the cloaca, presents a dilation forming the ampulla. Sperm are present in all regions of the duct. Each region showed specific characteristics in relation to the morphological pattern and activity of the epithelial tissue. The epididymis is more coiled, with epithelium 1.5 times higher when compared to the epithelium of the vas deferens. The SSK was identified in the cortex of the ventral region of the kidneys from the hypertrophy of the distal convoluted tubules, with a secretory function for neutral carbohydrates. GSI was higher in animals collected during spring and summer, in contrast to fat stored in adipose bodies, with greater amounts in autumn and winter. Spermatogenesis occurred throughout the year, with an increase in epithelium height during spring and autumn, suggesting a period of greater spermatogenic activity and testicular regression observed in winter, while spermiogenesis was greater in summer. The SSK epithelium was more hypertrophic between winter-spring and more secretive during summer (PAS positive). In the epididymis, the sperm mass occupied the duct during all seasons, with a decrease in the period of greater spermiogenesis and in the vas deferens spermatozoa were in greater quantities during spring, suggesting the main period of copulation for these individuals. The analysis of the male reproductive cycle of *A. ameiva* showed a continuous pattern containing variation, when individuals present fertility variations in some months of the

year. The data showed more intense reproductive activity of the organs in the spring and summer periods and less activity of the organs in the autumn and winter periods. Data on neotropical lizards are scarce, and this study brings, for the first time, important information about the morphology of the reproductive system of *A. ameiva*, contributing to the development of other works on the group.

Keywords: Neotropical. Reptilia. Sexual segment of the kidney. Spermatogenesis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – <i>Ameiva ameiva</i> em habitat natural.....	17
Figura 2 – Localização do local de coleta.....	18

CAPÍTULO I

Figura 1 – Hemipênis e aspecto geral da cavidade toracoabdominal de <i>Ameiva ameiva</i>	32
Figura 2 – Sistema reprodutor masculino de <i>Ameiva ameiva</i>	33
Figura 3 – Secções histológicas do testículo de <i>Ameiva ameiva</i>	34
Figura 4 – Secção histológica da porção inicial da via seminífera de <i>Ameiva ameiva</i>	35
Figura 5 – Secções histológicas do ducto deferente e ampola de <i>Ameiva ameiva</i>	36
Figura 5F – Gráfico 1 – Variação na espessura do epitélio do ducto deferente e do epidídimo de machos adultos de <i>Ameiva ameiva</i>	36
Figura 6 – Secções histológicas do testículo, epidídimo e ducto deferente de <i>Ameiva ameiva</i> em Picrosirius Red.....	37
Figura 7 – Secções histológicas do rim de <i>Ameiva ameiva</i> evidenciando o segmento sexual renal.....	38

CAPÍTULO II

Figura 1 – Corpos adiposos de <i>Ameiva ameiva</i> e sua variação entre as estações.....	59
Figura 1C – Gráfico 1 – Variação dos corpos adiposos em gramas de machos adultos de <i>Ameiva ameiva</i> durante as estações do ano.....	59
Figura 2 – Secções histológicas do testículo de <i>Ameiva ameiva</i>	61
Figura 3 – Secções histológicas do epidídimo de <i>Ameiva ameiva</i> durante as estações.....	62
Figura 4 – Secções histológicas do ducto deferente de <i>Ameiva ameiva</i>	63
Figura 5 – Secções histológicas do segmento sexual renal de <i>Ameiva ameiva</i>	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados biométricos macroscópicos dos machos de <i>Ameiva ameiva</i>	59
Tabela 2 – Dados histológicos testiculares de <i>Ameiva ameiva</i>	60
Tabela 3 – Dados estereológicos densidade das células gaméticas de <i>Ameiva ameiva</i>	60
Tabela 4 – Dados histológicos do epidídimo de <i>Ameiva ameiva</i>	62
Tabela 5 – Dados histológicos do ducto deferente de <i>Ameiva ameiva</i>	63
Tabela 6 – Dados histológicos do segmento sexual renal de <i>Ameiva ameiva</i>	64
Tabela 7 – Fases do ciclo reprodutivo anual do macho de <i>Ameiva ameiva</i>	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAB: Comprimento da cabeça

CEUA: Comitê de Ética no Uso de Animais

CRC: Comprimento rostro-cloacal

Fig.: Figura

IGS: Índice Gonadossomático

KCl: Cloreto de Potássio

LC: Least Concern

PAS: Ácido Periódico de Schiff

SSR: Segmento Sexual Renal

SSK: Renal Sexual Segment of the Kidney

TRMM: The Tropical Rainfall Measuring Mission

TS: Túbulos Seminíferos

Wg: Peso da Gônada

Wt: Peso Corporal

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetros
g	Gramas
µm	Micrômetros
mm	Milímetros
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	Introdução.....	15
1.1	Características Gerais dos Répteis.....	15
1.2	Características Gerais do grupo Squamata.....	16
1.3	Sobre a espécie em estudo.....	17
2	Objetivos.....	19
2.1	Objetivos Específicos.....	19
3	Referências Bibliográficas.....	20
4	CAPÍTULO I: Aspectos Morfológicos do Sistema Genital Masculino de <i>Ameiva ameiva</i> (Squamata: Teiidae).....	22
4.1	Resumo.....	23
4.2	Introdução.....	24
4.3	Material e Métodos.....	27
4.4	Resultados.....	29
4.5	Discussão.....	39
4.6	Conclusão.....	43
4.7	Agradecimentos.....	43
4.8	Referências Bibliográficas.....	44
5	CAPÍTULO II: Ciclo Reprodutivo Masculino de <i>Ameiva ameiva</i> (Squamata: Teiidae) da Região Norte do Estado de São Paulo, Brasil.....	47
5.1	Resumo.....	48
5.2	Introdução.....	49
5.3	Material e Métodos.....	52
5.4	Resultados.....	55
5.5	Discussão.....	66
5.6	Conclusão.....	70
5.7	Agradecimentos.....	70
5.8	Referências Bibliográficas.....	71
6	Resultados Gerais.....	76
6.1	Conclusão Geral.....	77

1. Introdução

1.1 Características Gerais dos Répteis

A Classe Reptilia, descrita por Laurenti (1768), surgiu há aproximadamente 300 milhões de anos durante o Carbonífero, com grande expansão e diversificação na era mesozoica há cerca de 245-65 milhões de anos. Foram os primeiros tetrápodes a apresentarem características morfofisiológicas distintas que os permitiram viver plenamente em ambiente terrestre. Tais adaptações se apresentam como tegumento coberto por escamas e altamente queratinizado, respiração essencialmente pulmonar, uricotélicos, ovo coberto por casca e órgão copulatório intromitente (HILDEBRAND e GOSLOW, 2006; POUGH, 2008; CARVALHO, 2010; HILL et al., 2012; HICKMAN et al., 2013).

Os répteis surgiram a partir de reptiliomorfos labirintodontes e formam um grupo parafilético, e que ao contrário de outros grupos, originados por estes, não apresentam características adaptativas tão lineares (HILDEBRAND, 1995; POUGH, 2008). Atualmente, na ampla diversidade do grupo, são encontradas quatro ordens viventes; a ordem Testudines representada por cágados, tartarugas e jabutis; a ordem Crocodilia, representada por crocodilos, jacarés e gaviais; a ordem Sphenodontida, representada pelas tuataras, endêmicas da Nova Zelândia; e a ordem Squamata, formada por lagartos e serpentes. Paralelamente, Sphenodontida e Squamata, por apresentarem características similares como a presença de escamas recobrimdo a pele e a sua troca por completo, fenda cloacal transversal, língua bífida e hemipênis, formam o grupo Lepidossauria (HILDEBRAND, 1995; HILDEBRAND e GOSLOW, 2006).

Em relação ao modo reprodutivo, os répteis podem ser ovíparos, vivíparos ou ovovivíparos, sendo a condição ovípara bastante comum e considerada basal entre os demais modos (HILDEBRAND, 1995; POUGH, 2008). Além disso, algumas estratégias reprodutivas, como a partenogênese, e o hermafroditismo, condição genética morfofuncional, também são características descritas em algumas espécies de répteis (POUGH, 2008; CONCEIÇÃO et al., 2009, TORRES et al., 2015). O cuidado parental é observado no grupo, principalmente em Squamata, onde foi relatado esse comportamento em lagartos, serpentes e iguanas (POUGH, 2008).

O aparelho reprodutor masculino dos répteis, particularmente em lagartos, é constituído por testículos pares, compactos, ovóides (podendo ser encontradas assimetrias entre eles), exibindo uma coloração que varia do branco ao creme, com tamanho variável

devido a sazonalidade reprodutiva. As gônadas estão localizadas na cavidade corporal, aderidas à parede pelo mesórquio (HILDEBRAND, 1995; GRIBBINS e RHEUBERT, 2014).

1.2 Características Gerais do grupo Squamata

Segundo Hickman et al., 2013, o grupo Squamata representa 95% de todos os répteis descritos no Brasil e de acordo com a lista de espécies da Sociedade Brasileira de Herpetologia, dentre as 848 espécies de répteis descritas até o momento, 804 pertencem a ordem Squamata, das quais 282 spp. são de lagartos (COSTA, GUEDES e BÉRNILS, 2022), distribuídos por diversos habitats, variando sua morfologia de acordo com o ambiente em que vivem (VITT et al., 2008).

Em relação aos aspectos anatômicos reprodutivos, em lagartos, de uma maneira geral, o sistema genital dos machos é constituído por testículos, ductos condutores de espermatozoides, segmento sexual renal, papilas urogenitais e cloaca (RHEUBERT et al., 2014). Os testículos estão localizados na cavidade abdominal aderidos à parede corporal pelo mesórquio (HILDEBRAND, 1995) os quais de cada um deles parte um ducto formado sequencialmente pela rede testicular, ducto eferente, epidídimo, ducto deferente e cloaca (HILDEBRAND, 1995; SEVER, 2010; RHEUBERT et al. 2014). Os machos também apresentam um par de hemipênis como órgãos copulatórios localizados no assoalho pélvico que quando entumecidos, no momento da cópula, ficam evertidos, sendo utilizado um por vez de forma alternada (HALLIDAY, 1994).

1.3 Sobre a espécie em estudo

O lagarto *Ameiva ameiva* (LINNAEUS, 1758) (Figura 1) é encontrado em áreas tropicais e subtropicais da América do Sul (POUGH, 2008; VITT et al., 2008), no território brasileiro estão amplamente distribuídos em áreas de Caatinga, Floresta Amazônica e Cerrado (ROCHA, 2008), com uma grande abundância populacional no norte do estado de São Paulo (Figura 2) e na lista vermelha está classificado como Least Concern (LC), pouco ameaçado em extinção (IUCN, 2019).



Figura 1. Macho de *A. ameiva* forrageando em seu habitat natural em uma região rural do município de Olímpia/SP (20° 44' 13" S 48° 54' 54" O). Foto capturada pela autora.



Figura 2. Localização do local de coleta. Região rural do município de Olímpia/SP (20° 44' 13" S 48° 54' 54" O). Fonte: Google Maps.

A espécie apresenta dimorfismo sexual, e uma das evidências é a diferença no comprimento rostro-cloacal (CRC) entre machos e fêmeas, tendo os machos CRC de aproximadamente $124,2 \pm 17,8$ mm e as fêmeas $96,5 \pm 23,1$ mm (ROCHA, 2008). Segundo Rocha (2008), o dimorfismo sexual em *A. ameiva* pode ter relação com o combate entre machos realizado durante a reprodução, onde os lagartos machos competem pelas fêmeas e, portanto, apresentam CRC maior.

Apesar do avanço em pesquisas relacionados à ecologia e comportamento dentro de alguns grupos de répteis, particularmente em Teiidae, observa-se uma escassez de trabalhos relacionados a anatomia do sistema reprodutor e ciclo reprodutivo para esse grupo (HARVEY et al., 2012). No que diz respeito à morfologia dos órgãos reprodutivos, o último trabalho foi realizado por Colli e Pinho (1997). Dessa maneira, nós elegemos *Ameiva ameiva* (LINNAEUS, 1758) como modelo para esse estudo.

Em adição, trabalhos relacionados à morfologia reprodutiva podem também servir de base para melhor compreensão da biologia comportamental, ecológica e evolutiva da espécie, sendo que esse trabalho fornecera subsídios para futuras pesquisas relacionadas à biologia reprodutiva de lagartos.

2. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi descrever e analisar comparativamente as estruturas dos órgãos reprodutores (testículos, via seminífera e segmento sexual renal - SSR) em machos da espécie *Ameiva ameiva* (Teiidae), por meio de análises morfométricas e histoquímicas.

2.1 Objetivos específicos

- Capítulo 1: descrever a arquitetura histológica e anatomia do sistema genital masculino.
- Capítulo 2: relacionar os dados morfométricos sazonais com o ciclo reprodutivo da espécie.

3. Referências Bibliográficas

CARVALHO, I. De S. Paleontologia. Rio de Janeiro: Interciência, 3ª ed. 2010.

COLLI, G. R.; PINHO, A. A. Interstitial cell cycle of *Ameiva ameiva* (Sauria, Teiidae) in the Cerrado region of central Brazil. *Journal of Morphology*, p. 99-104, 1997.

CONCEIÇÃO, A. M. et al. Hermafroditismo em jabuti piranga (*Geochelone carbonária*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 61, n. 6, p. 1478-1481, 2009.

COSTA, H. C.; GUEDES, T. B.; BÉRNILS, R. S. Lista de répteis do Brasil: padrões e tendências. *Herpetologia Brasileira*, v. 10, n. 3, p. 110-279, 2022.

GRIBBINS, K. M.; RHEUBERT, J. L. The Architecture of the Testis, Spermatogenesis, and Mature Spermatozoa. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*, CRC Press, p. 340-424, 2014.

HALLIDAY, T. (Ed). *Mating and Bith. Animal Behavior*. University of Oklahoma Press, 21–27, 1994.

HARVEY, M. B. et al. Review of teiid morphology with a revised taxonomy and phylogeny of the Teiidae (Lepidosauria: Squamata). *New Zealand: Zootaxa*, p. 1-156, 2012.

HICKMAN, C. P. JR. et al. *Princípios Integrados de Zoologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 15ª ed., 2013.

HILDEBRAND, M. *Análise da Estrutura dos Vertebrados*. São Paulo: Atheneu Editora, 1995.

HILDEBRAND, M.; GOSLOW, G. E. JR. *Análise da Estrutura dos Vertebrados*. 2ª ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2006.

HILL, R. W.; WISE, G. A.; ANDERSON, M. *Fisiologia Animal*. Porto Alegre: Artmed, 2ª ed. 2012.

IBÁÑEZ, R., et al. *Ameiva ameiva*. The IUCN Red List of Threatened Species, 2019.

LAURENTI, J. N. Specimen medicum, exhibens synopsin reptilium emendatam cum experimentis circa venena et antidota reptilium autriacorum. typ. Johan. Thom. nob. de Trattnern Cæs. reg. aulæ typogr. et bibliop., 1768.

POPPER, K. R. Logik der Forschung-Zur Erkenntnistheorie der modernen Naturwissenschaft. 1957.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. A Vida dos Vertebrados. São Paulo: Atheneu Editora, 4^a ed., p., 2008.

RHEUBERT, J. L. et al. Male Reproductive Anatomy: The Gonadoducts, Sexual Segmento the Kidney, and Cloaca. In: Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara, CRC Press, p. 253-30, 2014.

ROCHA, C. F. D. Body size, female reproduction and sexual dimorphism in the lizard *Ameiva ameiva* (Teiidae) in a restinga of southeastern Brazil. Rio de Janeiro: Revista Brasileira de Zoologia, p. 82-91, 2008.

SEVER, D. M. Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*). VI. Anterior testicular ducts and their nomenclature. Journal of Morphology, v. 271, n. 1, p. 104-115, 2010.

TORRES, M. M. et al. Hemipenes in females of the mexican viviparous lizard *Barisia imbricata* (Squamata: Anguidae): an example of heterochrony in sexual development. Tlalnepantla: Wiley Periodicals, p. 270-277, 2015.

VITT, L. J. et al. Guia de Lagartos da Reserva Adolpho Ducke, Amazônia Central. Manaus: Áttema Design Editorial, p. 1-180, 2008.

4. CAPÍTULO 1

Aspectos morfológicos do sistema genital masculino de *Ameiva ameiva* (Squamata: Teiidae)

Érica da Silva Maciel^a, Rodrigo Zieri^b, Selma Maria de Almeida Santos^c

^a Universidade Estadual Paulista – IBILCE/UNESP, Laboratório de Anatomia Comparativa, Departamento de Biologia. Rua Cristóvão Colombo, 2265, São José do Rio Preto, 15054-000, São Paulo, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-2029-7900>.

^b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – IFSP, Laboratório de Zoologia e Anatomia Animal Comparada. Avenida C-Um, 250, Barretos, 14781-502, São Paulo, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-0945-7037>.

^c Instituto Butantan, Laboratório de Ecologia e Evolução. Avenida Vital Brasil, 1500, São Paulo, 05503-900, São Paulo, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-3928-1183>.

*Autor correspondente: es.maciел@unesp.br

Palavras-chave: Hemipênis. Histologia. Testículos. Segmento sexual renal.

4.1 Resumo

Ameiva ameiva é uma espécie de lagarto nativa e com ampla área de ocorrência no Brasil. Neste trabalho, nós descrevemos a arquitetura histológica e anatômica do sistema genital de machos de *A. ameiva*. Dez animais foram coletados em uma área rural de Olímpia (Estado de São Paulo, Brasil). Após análises macroscópicas e obtenção de fragmentos do testículo e da via seminífera para rotina histológica, dez secções de 5µm de cada região foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) para descrição geral dos tecidos e com periodic acid-Schiff (PAS), Tricômico de Gomori e Picrossirius Red para as análises histoquímicas. Os hemipênis apresentam formato alongado e cilíndrico, com uma face sulcada e outra face sem sulco apresentando ondulações transversais em sua porção distal. Em relação ao sistema de condução de sêmen, *A. ameiva* apresentou: rede testicular, ducto eferente, epidídimo, ducto deferente cuja porção mais caudal, próxima à cloaca, apresenta uma dilatação do ducto formando a ampola, com espermatozoides presentes em todas estas regiões. O epidídimo é mais enovelado, com epitélio 1.5 vezes mais alto ($25,177 \pm 5,979 \mu\text{m}$) quando comparado com o epitélio do ducto deferente ($14,940 \pm 3,468 \mu\text{m}$). O SSR foi identificado no córtex da região ventral dos rins a partir da hipertrofia dos túbulos contorcidos distais e apresentou função secretora para carboidratos neutros, podendo essa secreção estar relacionada a manutenção e viabilidade de espermatozoides no ducto deferente. Dados sobre reprodução de lagartos neotropicais são escassos, sendo que esse estudo traz, pela primeira vez, informações importantes sobre a morfologia do sistema reprodutivo de *A. ameiva*.

4.2 Introdução

Em lagartos, de uma maneira geral, o sistema reprodutor dos machos é constituído por testículos, ductos condutores de esperma, rim sexual, papilas urogenitais e cloaca (RHEUBERT et al., 2014). Os testículos estão localizados na cavidade abdominal aderidos à parede corporal pelo mesórquio, são pares, ovóides e compactos, de coloração que varia do branco ao creme, tamanho variável devido a assimetrias anatômicas intraespecíficas e da sazonalidade reprodutiva e delimitados pela túnica albugínea (HILDEBRAND, 1995; GRIBBINS e RHEUBERT, 2014). Em relação à sazonalidade reprodutiva, lagartos de zonas temperadas tendem a ter o ciclo reprodutivo sazonal devido às estações serem bem-marcadas em períodos secos/úmidos, já as espécies tropicais, podem se reproduzir continuamente, porém, períodos de secas prolongadas podem afetar diretamente a reprodução em lagartos (MÉNDEZ DE LA CRUZ et al., 2014; VITT, 2014).

Embora pareça claro que os corpos adiposos tenham relação com a reprodução, nas fêmeas para produção de ovos e nos machos para os comportamentos reprodutivos, estudos que relacionam gordura com os eventos reprodutivos são escassos e recentes (ALMEIDA-SANTOS et al., 2014; VITT, 2014; BARROS et al., 2022). Para espécies de zona temperada com a reprodução ocorrendo na primavera, os corpos adiposos são armazenados durante o final do verão e outono, para espécies tropicais, o seu armazenamento tem muita variação, porém, sua quantidade cicla inversamente com a reprodução, sendo maior nos períodos não reprodutivos e menor nos períodos reprodutivos, pois, essa gordura é estocada antes de o animal entrar no período de reprodução, sendo consumida durante a estação reprodutiva (BONNET et al., 1998; VITT, 2014; LOURDAIS et al., 2002)

Histologicamente, pela transparência da túnica albugínea é possível visualizar os túbulos seminíferos, no interior dos quais existe o parênquima testicular contendo as células de linhagem germinativa, sustentadas pelas células de Sertoli (HILDEBRAND, 1995;

GRIBBINS e RHEUBERT, 2014). O interstício testicular, por sua vez, é constituído por células de Leydig, fibroblastos, fibras colágenas, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos, sendo também variável em tamanho de acordo com a sazonalidade (GRIBBINS e RHEUBERT, 2014). De cada testículo parte um ducto testicular formado sequencialmente pela rede testicular, ducto eferente, epidídimo, ducto deferente e cloaca (HILDEBRAND, 1995; RHEUBERT et al. 2014).

Os machos de Squamata apresentam o hemipênis como órgão copulatório (HILDEBRAND e GOSLOW, 2006). Estes, são pares, de formato cilíndrico e estão localizados próximos a cloaca, em muitos grupos estes órgãos são ornamentados com espinhos, cálices, papilas, franjas e bolsas com função de manter macho e fêmea acoplados durante a cópula, podendo ser utilizados em trabalhos de sistemática e taxonomia na identificação e distinção de gêneros e espécies (NUNES, 2011). No momento da cópula, os hemipênis ficam entumecidos e evertidos, sendo utilizados um por vez de forma alternada (HALLIDAY, 1994).

Outra característica comum para escamados e consequentemente para lagartos é a presença de um rim que também tem função sexual, no qual os ductos coletores e algumas regiões do néfron sofrem hipertrofia e modificações no epitélio formando o denominado Segmento Sexual Renal (SSR) (RHEUBERT et al. 2014). As células do SSR podem produzir grânulos de secreção, cujo estes se misturam com o esperma fornecendo nutrição aos espermatozoides (SEVER e HOPKINS, 2005; RHEUBERT et al. 2014). Foi demonstrado que a atividade do SSR está relacionada com as células intersticiais do testículo, sendo uma estrutura andrógena-dependente, e, portanto, influenciada pela ação da testosterona (MENDES et al., 2009; ROJAS et al., 2013)

O lagarto *Ameiva ameiva* (LINNAEUS, 1758) é encontrado em áreas tropicais e subtropicais da América do Sul (POUGH, 2008; VITT et al., 2008). No território brasileiro,

esta espécie está amplamente distribuída em áreas que compreendem a Floresta Amazônica, Caatinga e Cerrado (ROCHA, 2008), com uma grande abundância populacional no norte do estado de São Paulo, sendo pouco ameaçado de extinção - LC (IUCN, 2019).

Apesar do avanço em pesquisas relacionados à ecologia e comportamento dentro de alguns grupos de répteis, particularmente em Teiidae, observa-se uma escassez de trabalhos (HARVEY et al., 2012), principalmente no que se refere aos estudos morfológicos relacionados ao aparelho reprodutor em *Ameiva ameiva*, sendo o último publicado por Colli e Pinho (1997). Estudos relacionados à morfologia reprodutiva podem servir de base para o entendimento de questões ecológicas, comportamentais e evolutivas da espécie, sendo que esse trabalho fornecera subsídios para futuras pesquisas relacionadas à biologia reprodutiva.

4.3 Material e Métodos

Nós coletamos dez animais machos e adultos da espécie *Ameiva ameiva* por meio de busca ativa, de junho de 2017 a março de 2018, na zona rural da região de Olímpia, SP (20° 44' 13" S 48° 54' 54" O). A captura dos espécimes foi autorizada pela agência ambiental governamental (licença: 59560-1/ SISBIO).

Os animais foram mantidos no laboratório de Anatomia Comparativa (IFSP-Campus Barretos) em temperatura ambiente (média de 23.6 °C - climate-data.org) e fotoperíodo natural, durante 5 dias para aclimação, alimentados com frutas e minhocas *ad libitum*. Após esse período, os animais foram anestesiados por via inalatória com isoflurano (1mL/ mL) e em seguida eutanasiados com cloreto de potássio (KCl) injetado no coração (Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados - Brasília, 2012).

Os animais foram dissecados através de incisão ventral na região mediana desde a cloaca até a altura da cintura dos membros dianteiros, expondo os órgãos da cavidade para análises macroscópicas, foto documentação e retirada dos órgãos para biopsia. Em relação aos órgãos pares, o lado esquerdo foi retirado para análise e o contralateral, preservado. O manejo dos animais e todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual Paulista (CEUA, Protocolo nº 177/2017), seguindo as recomendações do Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório.

Para as análises morfológicas, nós removemos e pesamos os órgãos do sistema genital com balança analítica de precisão 0,0001 g. Posteriormente, os órgãos foram imersos em solução fixadora Methacarn (PUCHTLER et al., 1970) (60% metanol, 30% clorofórmio e 10% ácido acético glacial) por 4 horas. Em seguida o material foi lavado em água, desidratado em série alcoólica crescente nos quais o testículo, região ventral do rim, via seminífera

(epidídimo e ducto deferente) do lado esquerdo (preservando o contralateral) foram incluídos em parafina (Paraplast - Sigma) e submetidos à rotina histológica.

Para as análises morfológicas do testículo, vias seminíferas e rim, nós obtivemos dez secções histológicas de 5µm de cada região, as quais foram coradas com hematoxilina-eosina para descrição geral dos tecidos e com periodic acid-Schiff (PAS), Tricômico de Gomori e Picrossirius Red para as análises histoquímicas. A fotodocumentação foi realizada em microscópio Leica DM 4000B equipado com sistema de captura de imagem Leica DFC 280 e analisados pelo software de análise de imagem (Image Pro-Plus, Media-Cybernetics Inc.). O índice gonadosomático foi calculado a partir da fórmula $IGS = Wg/Wt \times 100$, Wg= peso da gônada e Wt= peso corporal (KENAGY e TROMBULAK, 1986).

4.4 Resultados

O aparelho genital masculino de *A. ameiva* apresenta conspícuas variações intra e interindividuais, especialmente no que concerne à forma, tamanho e posição dos testículos e da altura do epitélio da via seminífera. A anatomia macroscópica mostra um par de hemipênis monolobulados, entumecidos e evertidos (Figs. 1A). Esses órgãos apresentam formato alongado e cilíndrico, com uma face contendo o sulco espermático que é bastante profundo e percorre todo o comprimento do corpo hemipeniano e outra face sem sulco, contendo franjas contínuas em seu contorno (Figs. 1A,B).

Os testículos de *A. ameiva* são órgãos pares, localizados na porção posterior da cavidade abdominotorácica entre a face ventral dos rins e as alças intestinais com posicionamento assimétrico, sendo o direito mais cranial que o esquerdo (Figs. 1C e 2A). Apresentam forma oval, cor amarela e vasos sanguíneos, visíveis pela transparência da túnica albugínea. O testículo direito apresentou menor massa que o esquerdo, com valor médio e desvio padrão de $0,301 \pm 0,101$ g, enquanto o testículo esquerdo está posicionado posteriormente ao direito e apresentou massa média de $0,320 \pm 0,097$ g (Figs. 2A,B).

Histologicamente, o parênquima testicular é formado por túbulos seminíferos, no interior dos quais é possível observar um epitélio germinativo dotado de células de Sertoli próximas à lamina basal, além de células germinativas (Figura 3A) em diferentes estádios de diferenciação: as espermatogônias são coradas mais intensamente pela hematoxilina devido ao maior grau de condensação da cromatina e estão posicionadas mais próximas à lâmina basal; os espermatócitos primários são maiores que as espermatogônias e dão início à divisão meiótica, gerando os espermatócitos secundários, estes, menores, dando origem as espermátides, que são arredondadas no início dessa fase e possuem a cromatina muito compactada, que logo entrarão em diferenciação e se tornam alongadas e, no final desse processo, originam os espermatozoides, posicionados mais ao centro, com a cauda voltada

para a luz do túbulo (Figura 3A). A região intersticial do testículo possui fibras colágenas, as quais foram marcadas intensamente pelo corante Tricômico de Gômori (Figura 3B).

As glândulas adrenais, pequenas estruturas globulares de cor amarelada, estão localizadas na região dorso-caudal dos testículos e anteriormente aos ductos espermáticos, intimamente aderidas às gônadas pela bainha do epidídimo, assim como os ductos testiculares anteriores: rede testicular e ductulos eferentes também estão aderidos à esta mesma membrana (Figs. 2A,B; 4A). Os ductos espermáticos, localizados nas proximidades das glândulas adrenais, se iniciam por um pequeno conjunto de minúsculos túbulos que emanam dos testículos, os quais formam a rede testicular (Figura 4A). A rede testicular apresenta um epitélio escamoso simples dotado de longos estereocílios e com lúmen de grande diâmetro contendo espermatozoides (Figs. 4A,B). Na sequência, os ductulos eferentes de *A. ameiva* exibem um epitélio cúbico simples contendo células ciliadas e também possuem espermatozoides no lúmen, porém, seu diâmetro é consideravelmente menor em comparação com a rede testicular (Figs. 4A,C), dos quais originam os ductos epididimários (Figs. 2C; 4A).

O epidídimo apresenta-se como uma estrutura tubular, bastante enovelada, que se estende até a proximidade da margem cranial dos rins (Figura 2A,C). O epitélio do epidídimo é pseudoestratificado e bastante espesso quando comparado aos demais componentes da via seminífera, com média de $25,177 \pm 5,979 \mu\text{m}$, formado por células basais e células principais ciliadas (Figura 4D). No lúmen do epidídimo estão presentes uma grande quantidade de espermatozoides (Figura 4D).

O ducto deferente se encontra predominantemente nas porções medial e distal do ducto espermático, em contado com a região ventral dos rins em toda a sua extensão (Figura 2A,C). Este ducto tem menor grau de enovelamento e menor espessura e seu epitélio é mais baixo quando comparado ao do epidídimo (Figs. 2C; 5F), com médias de $14,940 \pm 3,468 \mu\text{m}$. O ducto deferente possui epitélio pseudoestratificado e, ao longo do percurso se modifica para

um epitélio cúbico simples (Figs. 5A,C). Neste último existe maior quantidade de músculo liso interductal e um conspícuo tecido conjuntivo adjacente (Figs 5 e 6). Em sua porção mais distal, o ducto deferente aumenta o seu diâmetro originando a ampola do ducto deferente, com abundante quantidade de tecido conjuntivo ao redor do ducto, apresentando feixes de músculo liso próximos ao epitélio, este, constituído por células epiteliais cúbicas em um arranjo simples (Figs. 2C; 5D,E), esta, finalmente desemboca na cloaca.

Ao longo desse caminho, incluindo os testículos, existe uma quantidade diferencial de fibras colágenas. No testículo a fibra colágena se apresenta como uma fina camada na região intersticial (Figura 6A). Ao longo da via seminífera, a quantidade de fibras colágenas está presente no tecido intertubular, que é menor no epidídimo (Figura 6B) e aumenta sua proporção à medida que diminui o grau de enovelamento e a espessura do epitélio dos ductos deferentes (Figura 6C).

No trajeto do ducto deferente, que está em contato com o rim de *A. ameiva*, encontra-se o segmento sexual renal (SSR) (Figura 7A). Essa estrutura está presente no córtex da região ventral dos rins e é formado pela diferenciação e hipertrofia dos túbulos contorcidos distais, a qual também apresenta fibras colágenas na região peritubular (Figura 7B). O epitélio do SSR é composto por células colunares bastante altas, com média de $48,256 \pm 8,445 \mu\text{m}$, mostrando-se reativas ao PAS, indicando função secretora nas porções apicais deste epitélio (Figura 7C).

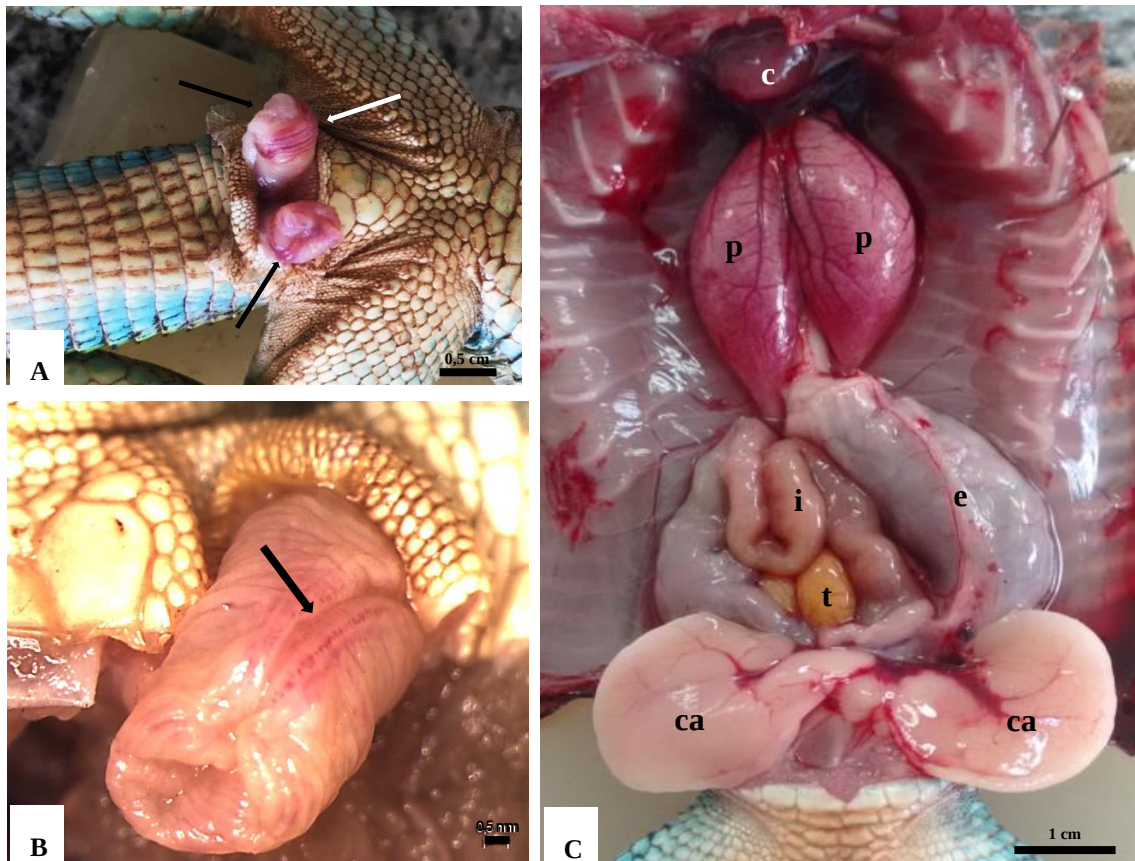


Figura 1. Hemipênis e aspecto geral da cavidade toracoabdominal de *Ameiva ameiva*. A- Par de hemipênis monolobulados entumecidos e evertidos, com a face sulcada (setas pretas) e franjas (seta branca). B - Detalhe do sulco espermático do hemipênis de *A. ameiva* (seta preta), em toda o comprimento do órgão. C – Órgãos da cavidade abdominal de *A. ameiva* mostrando o coração (c), pulmões (p), estômago (e), intestino (i), testículo (t) e corpos adiposos (ca) de um animal coletado no inverno.

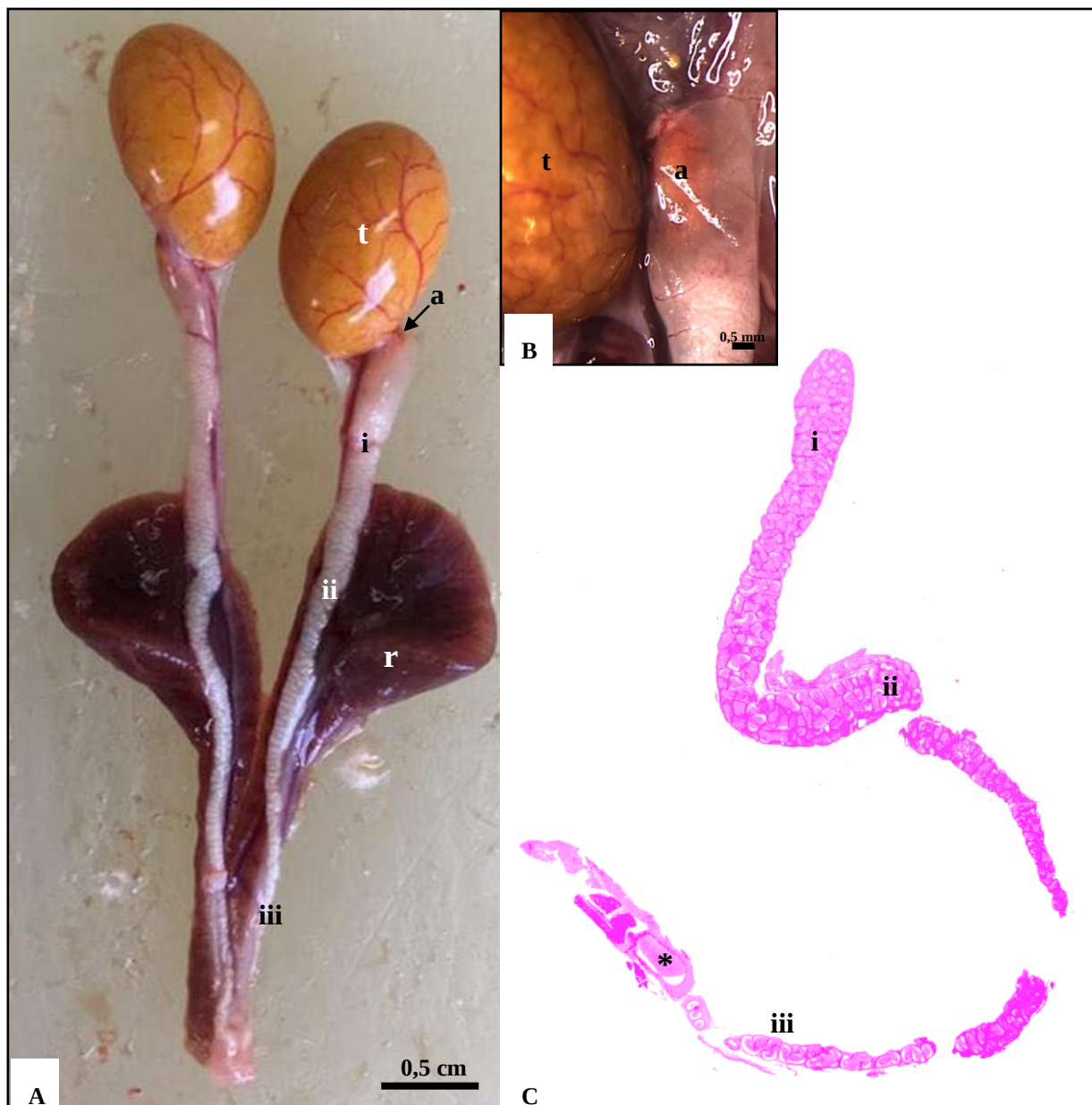


Figura 2. Sistema reprodutor masculino de *Ameiva ameiva*. A: Visão geral do testículo esquerdo (t), da glândula adrenal apontada pela seta (a) e da via seminífera: epidídimo (i), porção proximal (ii) e distal (iii) do ducto deferente, localizado ventralmente ao rim (r). B- Foto tirada da lupa Leica MZ16 evidenciando o testículo direito (t) e glândula adrenal (a) localizada acima do epidídimo, na face medial do testículo. C- Secção histológica da via seminífera corada com HE, evidenciando o epidídimo (i) mais enovelado, com maior altura do epitélio e menor área de tecido conjuntivo interloocular, ao contrário do que se nota nas regiões ii, e iii do ducto deferente, e ampola (*), foto tirada da lupa Leica MZ16.

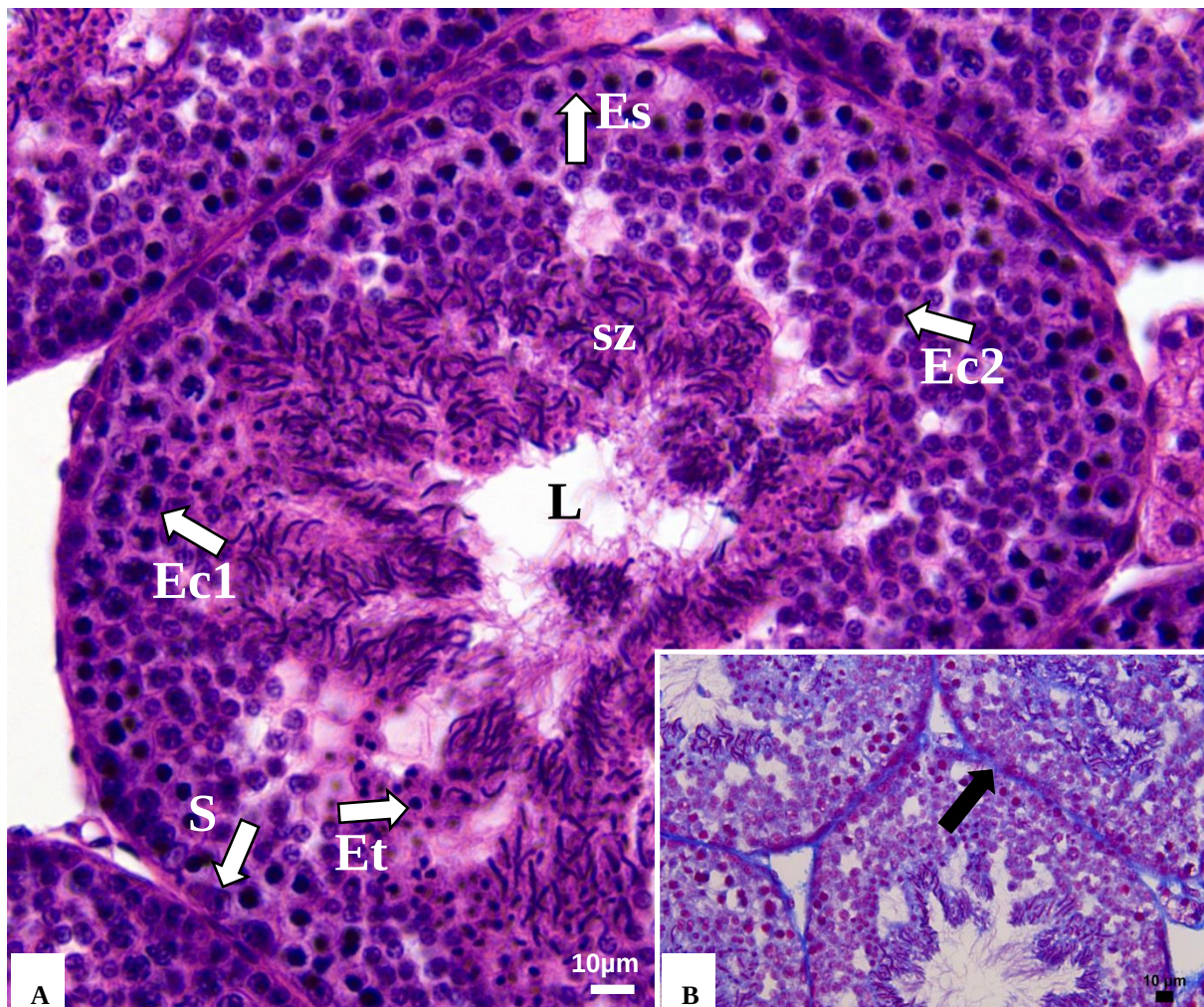


Figura 3. Secções histológicas do testículo de *Ameiva ameiva*. A- Arranjo circular dos túbulos seminíferos em secção transversal, contendo no epitélio germinativo células da linhagem espermatogenética: células de Sertoli (S), espermatogônias coradas mais intensamente pela hematoxilina (Es), espermatócitos primários (Ec1), espermatócitos secundários haplóides (Ec2), espermatídes arredondadas (Et) e feixes de espermatozoides (sz), na região central observa-se a luz do túbulo ou lúmen (L). B- Túbulos seminíferos corados com Tricômico de Gômori demonstrando reação positiva para fibras colágenas ao redor dos túbulos.

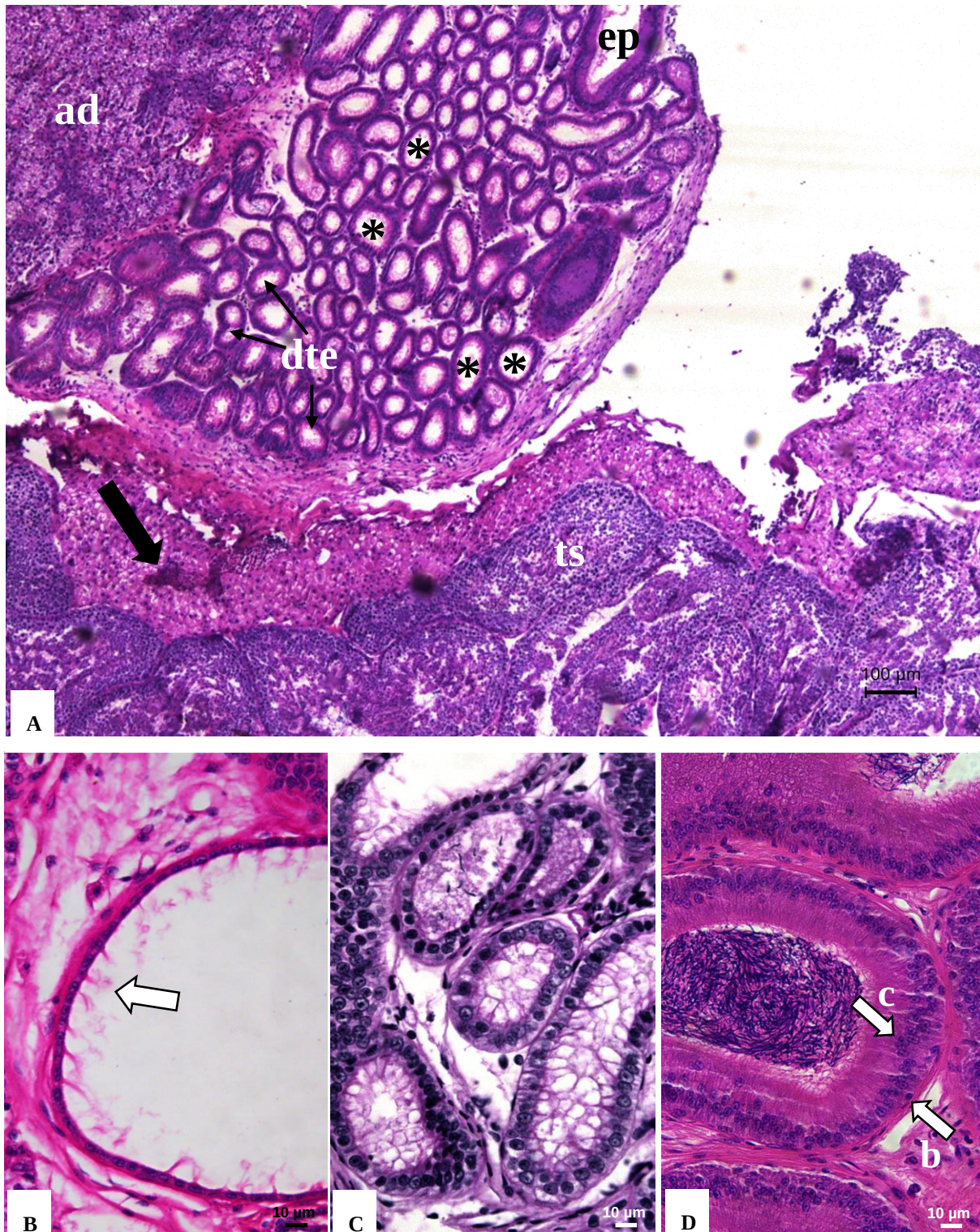


Figura 4. Secção histológica corada em HE da porção inicial da via seminífera de *Ameiva ameiva*. A- Glândula adrenal (ad), rede testicular (*), ductulos eferentes (dte), ductos epididimarios (ep) e túnica albugínea (seta preta) envolvendo o testículo, nos quais observamos os túbulos seminíferos (ts). B- Detalhe da rede testicular apresentando epitélio escamoso simples com estereocílios (seta branca). C- Ductulos eferentes contendo epitélio cúbico simples, células com núcleo central e volumoso e grande quantidade de cílios na luz do ducto. D- Detalhe do epidídimo, onde se observa um epitélio colunar pseudoestratificado com células de núcleo basal (b) e células cilíndricas ciliadas (c).

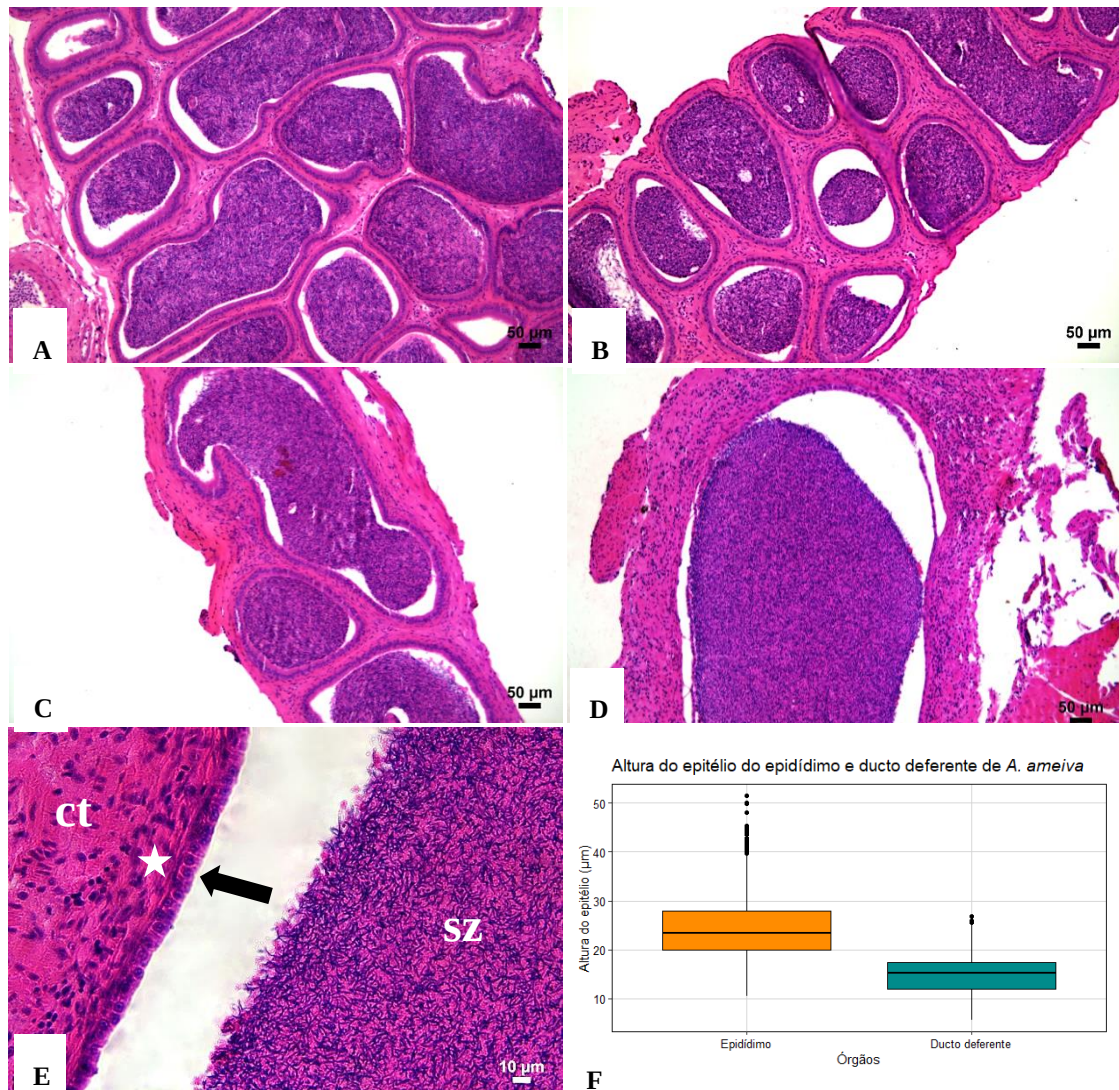


Figura 5. Secções histológicas do ducto deferente e ampola de *Ameiva ameiva*. A- Região proximal do ducto deferente, mostrando epitélio mais baixo e tecido conjuntivo interocular mais desenvolvido. B e C- Região medial e distal, com diminuição gradual do enovelamento ductal e aumento de tecido muscular liso e conjuntivo ao redor dos ductos. D- Região distal, com um ducto único bem dilatado e próximo à cloaca, a ampola do ducto deferente. E- Detalhe da ampola, com células epiteliais cúbicas em um arranjo simples (seta preta), com lúmen repleto de espermatozoides (sz), músculo liso abaixo do epitélio (estrela) e tecido conjuntivo adjacente (ct). F - Variação na espessura do epitélio do ducto deferente e do epidídimo de machos adultos de *A. ameiva*, da esquerda representando ducto deferente e gráfico da direita representando epidídimo. Box representa o primeiro e o terceiro quartil. * $P < 0.05$ comparando as duas estruturas.

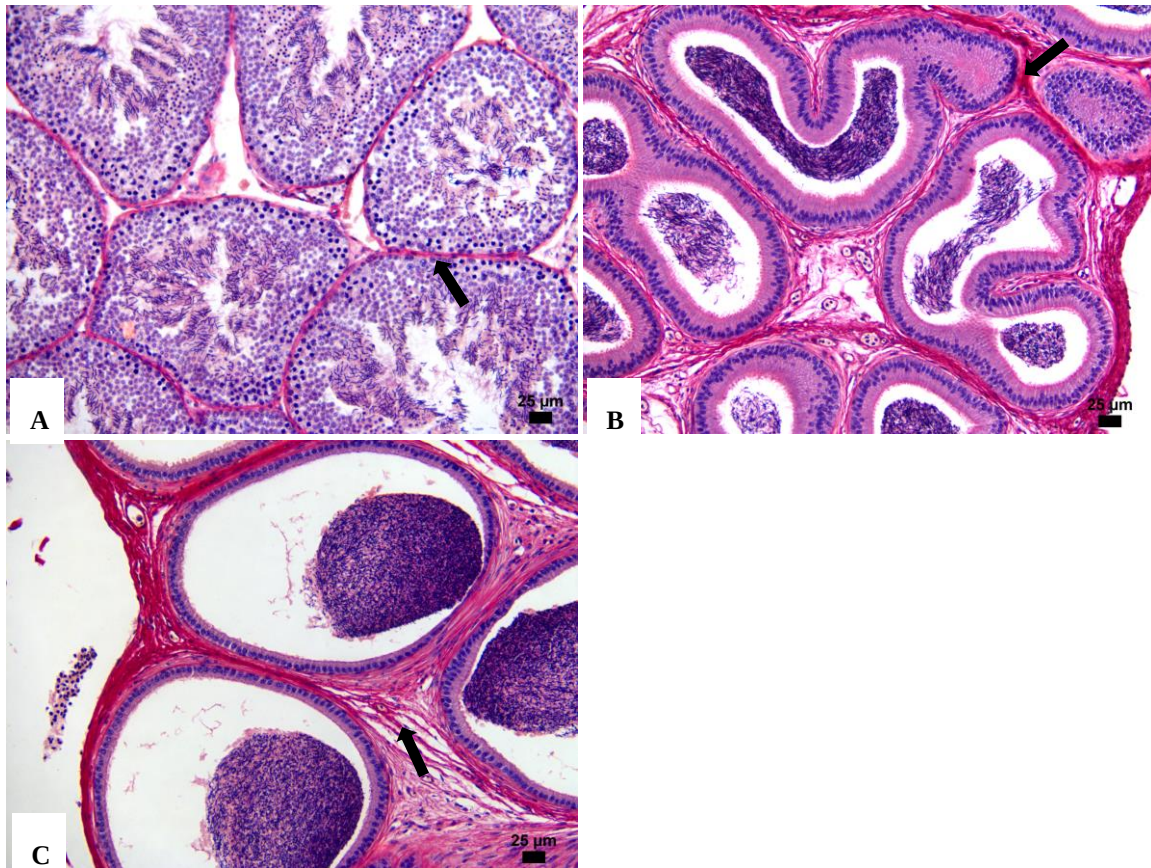


Figura 6. Secções histológicas do testículo, epidídimo e ducto deferente de *Ameiva ameiva* na coloração Picrosirius Red para a identificação de fibras colágenas tipo I. A- Secção transversal do testículo mostrando os túbulos seminíferos marcados com Picrosirius em suas lâminas basais (seta preta). B- Secção transversal do epidídimo mostrando o espaço intersticial e a parede do ducto corados intensamente com Picrosirius (seta preta). C- Secção transversal do ducto deferente mostrando o espaço intersticial e a parede do ducto corados intensamente com Picrosirius apresentando maior tecido intertubular (seta preta), com grandes quantidades de fibras colágenas tipo I.

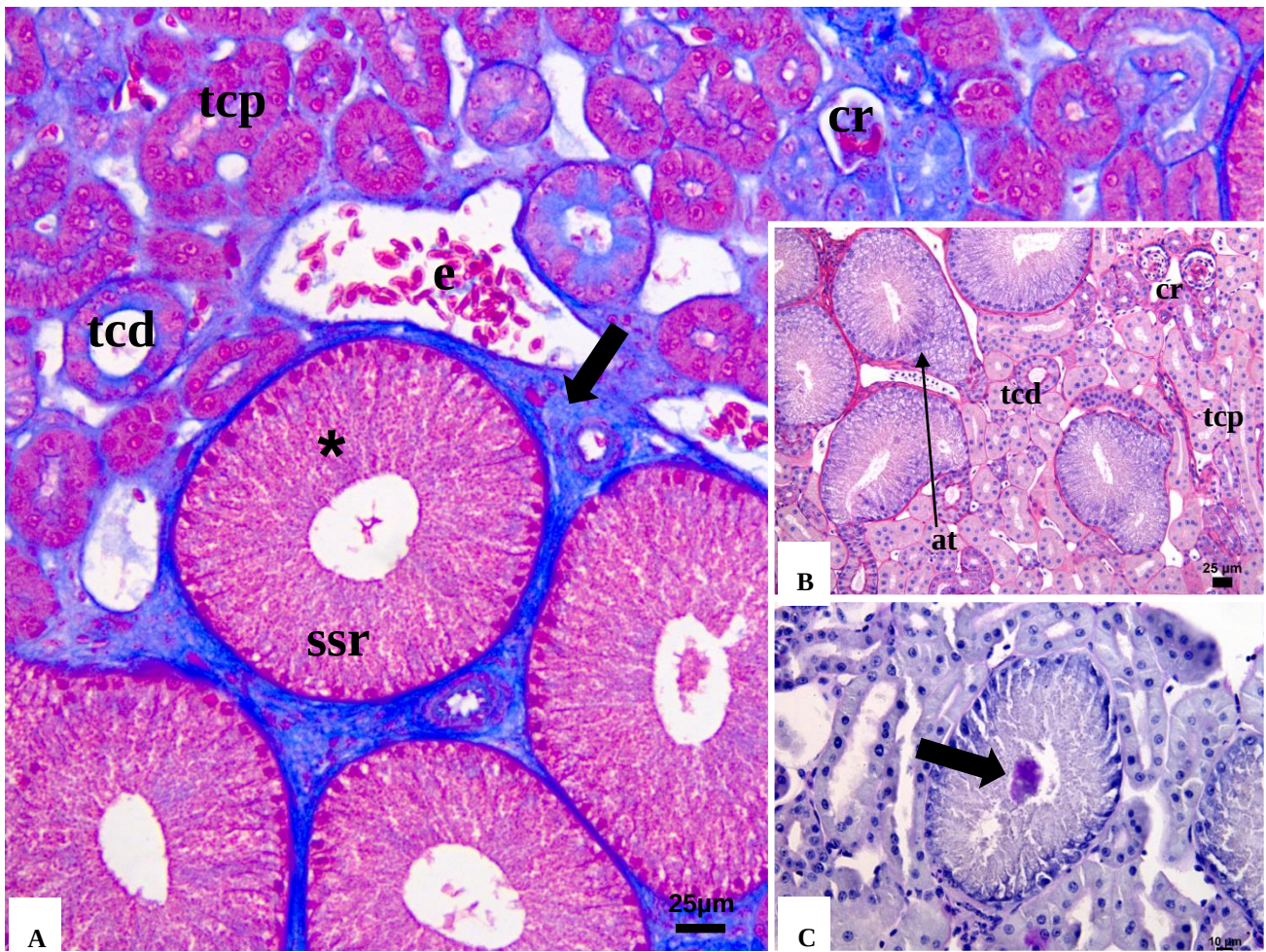


Figura 7. Secções histológicas do rim de *Ameiva ameiva* evidenciando o SSR. A- Secção transversal do córtex renal corado com Tricômico de Gômori apresentando túbulos contorcidos proximais (tcp), túbulos contorcidos distais (tcd), corpúsculo renal (cr), eritrócitos (e) dentro de vasos sanguíneos e segmento sexual renal (SSR) contendo epitélio simples colunar alto (*), fibras colágenas estão presentes ao redor dos ductos (seta preta). B- Secção histológica corada em Picrosirius Red mostrando corpúsculos renais (cr), túbulos contorcidos proximais (tcp) e túbulos contorcidos distais (tcd) fazendo parte da área de transição (at) do SSR. C- Detalhe do SSR marcado intensamente com PAS demonstrando atividade secretora na porção apical das células em direção ao lúmen (seta preta).

4.5 Discussão

O sistema genital masculino de *A. ameiva* é constituído por um par de testículos e sistema de ductos seminíferos compostos por estruturas que se distinguem morfológicamente pelas diferenças no epitélio de revestimento, além da presença de rim sexual e, externamente, um par de hemipênis, semelhante ao descrito para outros organismos do mesmo grupo (RHEUBERT et al., 2014; NOVAES e GAGLIARDO, 2015).

Os hemipênis de *A. ameiva* analisados apresentaram uma face sulcada contendo o sulco espermático ao longo de todo o comprimento do órgão, e uma face assulcada ornamentada com franjas contínuas em toda a largura. Nunes (2011) mostrou que a ornamentação de hemipênis é comum para diversas espécies de Squamata, além da forma cilíndrica. O padrão de ornamentação da genitália masculina acompanha as características morfológicas da genitália da fêmea, como modelo “chave-fechadura” para facilitar a cópula (ARNQVIST, 1997; SIMMONS, 2014).

Em relação aos testículos, o aspecto ovoide e coloração amarelada é comum para espécies de Squamata (RHEUBERT et al., 2014), como descrito para o lagarto *Salvator merianae* (NOVAES e GAGLIARDO, 2015). No que diz respeito a sua posição, Rheubert et al. (2014) descrevem que em lagartos e tuataras o testículo esquerdo localiza-se mais caudal que o direito, como observamos em *A. ameiva*.

As glândulas adrenais, de cor amarelada, se situam na região dorso-caudal dos testículos, e são mantidas nessa posição e presas a estes órgãos pela bainha do epidídimo. Entretanto, para outros reptéis, essas glândulas podem exibir tanto a cor amarela quanto vermelha (DEVOE, 2010).

Em relação ao sistema de condução de sêmen em lagartos, os ductos espermáticos são descritos na seguinte sequência: rede testicular, ductos eferentes, epidídimo, ducto deferente e em algumas espécies, uma região dilatada e terminal do ducto deferente chamada de ampola

(SEVER, 2010; GRIBBINS, 2011; RHEUBERT et al., 2014). Todas essas estruturas foram observadas em *A. ameiva*.

Histologicamente, a rede testicular é dotada de um epitélio escamoso simples com longos estereocílios em sua superfície. Para lagartos, esta estrutura possui pouca variação morfológica entre os grupos, porém, dependendo da espécie, o epitélio pode ser escamoso simples ou cúbico simples, com algumas células apresentando microvilosidades e outras cílios ou estereocílios (RHEUBERT et al., 2014).

Em relação aos ductulos eferentes de *A. ameiva*, o epitélio é cúbico simples e dotado de inúmeras células ciliadas. Segundo Rheubert et al. 2014, existe pouca variação dos ductulos eferentes entre os Squamata, que se caracterizam por serem pequenos e compostos por um epitélio cúbico ou colunar, dotados de grande quantidade de cílios, assim como foi observado na serpente preta do pântano *Seminatrix pygaea* (SEVER, 2010).

O epidídimo e o ducto deferente apresentaram-se como estruturas cilíndricas e enoveladas, no entanto, o ducto deferente é mais delgado em relação ao epidídimo. Esse mesmo padrão foi descrito para o teídeo *Salvator merianae* (NOVAES e GAGLIARDO, 2015).

O epidídimo de *A. ameiva* possui epitélio colunar pseudoestratificado, constituído por células basais e células principais ciliadas, podendo estas últimas apresentar função secretora (RHEUBERT et al. 2014). Em *A. ameiva*, a ausência de marcação pelo PAS indicou ausência de carboidratos neutros produzidos por essas células. O epidídimo de *Aspronema dorsivittatum* e *Notomabuya frenata* (Scincidae) apresentou outro padrão histológico do epitélio, sendo colunar simples, dotado de células altas com núcleos basais e estereocílios (NOVELLI et al., 2018), mostrando que em lagartos há uma grande variação dessa estrutura, como observado por Rheubert et al. (2014).

O epitélio do epidídimo de *A. ameiva* mostrou-se 1.5x mais alto em comparação com o epitélio do ducto deferente, assim como o grau de enovelamento também esteve maior no epidídimo, como Sever (2010) observou para a serpente preta do pântano *Seminatrix pygaea*. A medida em que o epidídimo se diferencia em ducto deferente vai havendo uma mudança gradual na altura do epitélio, que se mantém pseudoestratificado, essa característica foi observada tanto em *Ameiva ameiva* neste trabalho, quando em *Seminatrix pygaea* (SEVER, 2010). Em *A. ameiva* observamos maior quantidade de tecido muscular peritubular no ducto deferente, evidenciado com a identificação de fibras colágenas pela coloração Picrosirius Red (Figura 6C).

A ampola é uma dilatação da extremidade distal do ducto deferente presente em algumas espécies de Squamata (RHEUBERT et al., 2014), formada pela modificação gradual do epitélio (AKBARSHA et al., 2005). Em *A. ameiva*, observamos a transição de um epitélio pseudoestratificado para um arranjo cúbico simples, com o aumento de tecido conjuntivo adjacente e feixes musculares ao redor do ducto à medida em que se torna ampola. Segundo Akbarsha e Meeran (1995), entre as funções que a ampola exerce, destaca-se a de armazenar espermatozoides e contribuir com o plasma seminal secretando substâncias e fagocitando espermatozoides, essas condições foram observadas em *Calotes versicolor* (AKBARSHA e MEERAN, 1995).

O rim de lagartos e serpentes desempenham uma importante função na reprodução destes animais, pois, apresentam uma estrutura denominada segmento sexual renal (SSR), formada a partir da hipertrofia e modificação do epitélio de regiões do néfron, sob influência da testosterona (ROJAS et al., 2013; RHEUBERT et al., 2014). Em *A. ameiva*, essa estrutura foi identificada no córtex da região ventral dos rins, que é próxima ao ducto deferente, sendo esta mesma condição observada no lagarto *Tropidurus torquatus*, tanto em machos imaturos quanto adultos (MENDES et al., 2009).

Em Teiidae, o SSR pode ser formado pela hipertrofia do túbulo contorcido distal, do ducto coletor ou do ureter, podendo se restringir a apenas uma dessas estruturas ou por todas elas (RHEUBERT et al., 2014). No presente trabalho, nós identificamos uma área de transição formando o SSR a partir dos túbulos contorcidos distais, sugerindo que nesta espécie essa estrutura é formada somente por estes túbulos, que se modificam de um epitélio cúbico simples para um epitélio colunar alto cujas células possuem núcleos basais (Figura 7B). Além disso, o SSR de *A. ameiva* produziu carboidratos neutros que foram marcados pelo PAS. A função secretora nessa região está relacionada a manutenção e viabilidade de espermatozoides, os quais ficam armazenados no ducto deferente (AKBARSHA et al., 2005; RHEUBERT et al., 2014).

4.6 Conclusão

Neste estudo, nós descrevemos pela primeira vez a morfologia geral do sistema genital do lagarto *A. ameiva*, espécie nativa e de ampla distribuição no território brasileiro, incluindo o bioma cerrado. Detalhes sobre a morfologia testicular e ductos seminais foram observados e apontadas as principais diferenças entre as diversas estruturas desse sistema, incluindo a presença de uma ampola no ducto deferente e a presença do segmento sexual renal, que é uma particularidade do grupo Squamata. Sabendo que há poucos estudos sobre lagartos neotropicais, principalmente em Teiidae, nós acreditamos que nossos resultados contribuirão com estudos sobre a biologia reprodutiva de Squamata.

4.7 Agradecimentos

Nós agradecemos ao Prof. Dr. Classius de Oliveira pelo suporte científico e responsável pelo laboratório de Anatomia Comparada do IBILCE-UNESP, ao Professor Sebastião Roberto Taboga e ao técnico Luiz Roberto Falheiros Júnior, do laboratório de Microscopia e Microanálise do IBILCE-UNESP, pelo suporte técnico e ao curador Valdir José Germano, do Instituto Butantan, pela identificação da espécie. Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, processo 88887.486267/2020-002 para Maciel, ES.

4.8 Referências Bibliográficas

AKBARSHA, M. A. et al. Ultrastructural evidence for secretion from the epithelium of ampulla ductus deferentis of the fan-throated lizard *Sitana ponticeriana* Cuvier. *Journal of Morphology*, v. 266, n. 1, p. 94-111, 2005.

AKBARSHA, M. A.; MEERAN, M. M. Occurrence of ampulla in the ductus deferens of the Indian garden lizard *Calotes versicolor* Daudin. *Journal of Morphology*, v. 225, n. 3, p. 261-268, 1995.

ALMEIDA-SANTOS et al. Biologia reprodutiva de serpentes: Recomendações para a coleta e análise de dados. São Paulo: Herpetologia Brasileira, v. 3, p. 15-24, 2014.

BONNET, X.; BRADSHAW, D.; SHINE, R. Capital versus income breeding: an ectothermic perspective. *Oikos*, p. 333-342, 1998.

COLLI, G. R.; PINHO, A. A. Interstitial cell cycle of *Ameiva ameiva* (Sauria, Teiidae) in the Cerrado region of central Brazil. *Journal of Morphology*, p. 99-104, 1997.

DEVOE, R. Anatomia e fisiologia de anfíbios e répteis. *Anatomia e Fisiologia Clínica para Medicina Veterinária*. Elsevier Saunders, Rio de Janeiro, p. 455-478, 2010.

GRIBBINS, K. M. Reptilian spermatogenesis: A histological and ultrastructural perspective. Vol 1, Issue 3. Landes Bioscience, 2011.

GRIBBINS, K. M.; RHEUBERT, J. L. The Architecture of the Testis, Spermatogenesis, and Mature Spermatozoa. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*, CRC Press, p. 340-424, 2014.

HALLIDAY, T. (Ed). Mating and Bith. *Animal Behavior*. University of Oklahoma Press, 21–27, 1994.

HARVEY, M. B. et al. Review of teiid morphology with a revised taxonomy and phylogeny of the Teiidae (Lepidosauria: Squamata). New Zealand: Zootaxa, p. 1-156, 2012.

HILDEBRAND, M. Análise da Estrutura dos Vertebrados. São Paulo: Atheneu Editora, 1995.

IBÁÑEZ, R., et al. *Ameiva ameiva*. The IUCN Red List of Threatened Species, 2019.

KENAGY, G.J.; TROMBULAK, S.C. Size and function of mammalian testes in relation to body size. J. Mamm., v.67, p.1-22, 1986.

LOURDAIS, O. et al. Capital-breeding and reproductive effort in a variable environment: a longitudinal study of a viviparous snake. Journal of Animal Ecology, p. 470-479, 2002.

MENDES, R. M. M. et al. Histologia Comparada de Testículo e do Segmento Sexual do Rim de Lagarto Tropical *Tropidurus torquatus* Wied, 1820 (Squamata: Tropiduridae) Adulto e Imaturo. Rio de Janeiro: Rev. de Ciên. da Vida, v. 29, 2009.

NOVAES, G. A.; GAGLIARDO K. M. Descrição Morfológica do Sistema Genital Masculino de Lagartos Teiús (*Salvator Merianae*). Unimonte, 2015.

NOVELLI, I. A. et al. Morphological and histological characterization of sexual segment of the kidney in *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) and *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae). Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 90, p. 2267-2278, 2018.

NUNES, P. M. S. Morfologia hemipeniana dos lagartos microteídeos e suas implicações nas relações filogenéticas da família Gymnophthalmidae (Teiioidea: Squamata). Vol I e II, Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2011.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. A Vida dos Vertebrados. São Paulo: Atheneu Editora, 4ª ed., p., 2008.

PUCHTLER, H. et al. Methacarn (methanol-Carnoy) fixation. Histochemie, v. 21, n. 2, p. 97-116, 1970.

RHEUBERT, J. L. et al. Male Reproductive Anatomy: The Gonadoducts, Sexual Segment of the Kidney, and Cloaca. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*, CRC Press, p. 253-301, 2014.

ROJAS, C. A. et al. The Reproductive Cycle of the Male Sleep Snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) From Southeastern Brazil. *Journal Of Morphology*, p. 215–228, 2013.

ROCHA, C. F. D. Body size, female reproduction and sexual dimorphism in the lizard *Ameiva ameiva* (Teiidae) in a restinga of southeastern Brazil. Rio de Janeiro: *Revista Brasileira de Zoologia*, p. 82-91, 2008.

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*, v. 262, n. 3, p. 714-730, 2004.

SEVER, D. M. Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*). VI. Anterior testicular ducts and their nomenclature. *Journal of Morphology*, v. 271, n. 1, p. 104-115, 2010.

SEVER, D. M.; HOPKINS, W. A. Renal Sexual Segment of the Ground Skink, *Scincella laterale* (Reptilia, Squamata, Scincidae). *Journal of Morphology*, p. 46-59, 2005.

VITT, L. J. et al. Guia de Lagartos da Reserva Adolpho Ducke, Amazônia Central. Manaus: Áttema Design Editorial, p. 1-180, 2008.

VITT, L. J. Lizard Reproduction: A History of Discovery. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*, CRC Press, p. 1-26, 2014.

5. CAPÍTULO 2

Ciclo Reprodutivo Masculino de *Ameiva ameiva* (Squamata: Teiidae) da Região Norte do Estado de São Paulo, Brasil

Érica da Silva Maciel^a, Rodrigo Zieri^b, Selma Maria de Almeida Santos^c

^a Universidade Estadual Paulista – IBILCE/UNESP, Laboratório de Anatomia Comparativa, Departamento de Biologia. Rua Cristóvão Colombo, 2265, São José do Rio Preto, 15054-000, São Paulo, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-2029-7900>.

^b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – IFSP, Laboratório de Zoologia e Anatomia Animal Comparada. Avenida C-Um, 250, Barretos, 14781-502, São Paulo, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-0945-7037>.

^c Instituto Butantan, Laboratório de Ecologia e Evolução. Avenida Vital Brasil, 1500, São Paulo, 05503-900, São Paulo, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-3928-1183>.

*Autor correspondente: es.maciел@unesp.br

Palavras-chave: Espermatogênese. Neotropical. Reptilia. Segmento sexual renal.

5.1 Resumo

Este estudo descreve o ciclo reprodutivo masculino do lagarto teídeo *Ameiva ameiva* considerando as variáveis macroscópicas e microscópicas dos órgãos do seu sistema reprodutor ao longo das estações do ano. O índice gonadosomático esteve maior nos animais coletados durante a primavera e o verão, em contraste com a gordura armazenada na forma de corpos adiposos, que esteve mínima durante este período e em grandes quantidades no outono e inverno. A espermatogênese ocorreu durante o ano todo, com um aumento na altura do epitélio durante a primavera e o outono, sugerindo um período de maior atividade espermatogênica, sendo observado uma regressão testicular parcial no inverno, já a espermiogênese ou maturação apresentou um ápice durante o verão. O epitélio do SSR esteve mais hipertrófico entre o inverno-primavera, e mais secretivo durante o verão, reagindo positivamente ao PAS. No epidídimo, a massa espermática ocupou o ducto durante todas as estações, havendo uma diminuição no período de maior espermiogênese e no ducto deferente os espermatozoides estiveram em maiores quantidades durante a primavera, sugerindo o período de cópula da espécie dessa região (Olimpia-SP 20° 44' 13" S 48° 54' 54" O). Os machos de *A. ameiva* neste estudo apresentaram ciclo reprodutivo sazonal para o nível populacional, com indivíduos semi-sincronizados e para o nível individual, o ciclo reprodutivo é contínuo.

5.2 Introdução

Os padrões reprodutivos em lagartos podem ser bastante variados e compreende diversos eventos como: tamanho da ninhada, oviparidade e viviparidade, partenogênese, hermafroditismo, cuidado parental, dimorfismo sexual, comportamentos de acasalamento, maturidade sexual, fecundidade, ciclo da gordura estocada na forma de corpos adiposos, ciclos reprodutivos, armazenamento de espermatozoides e paternidade múltipla (ROCHA, 2008; RHEUBERT et al., 2014; VITT, 2014; WAPSTRA e OLSSON, 2014; WHILE et al., 2014; GRIFFITH et al. 2015; SHINE, 2015; RAMALHO et al., 2021).

As variáveis ambientais, como precipitação, temperatura, fotoperíodo e disponibilidade de recursos, são fatores determinantes para muitas destas características, as quais influenciam diretamente no ciclo reprodutivo de lagartos (VALENCIA-LIMON et al., 2014; MESQUITA et al. 2016; XAVIER et al., 2022), já que se trata de animais pecilotérmicos e mesmo realizando termorregulação, as mudanças climáticas têm influência no seu período de atividade (ADOLPH, 1990; POUGH, 2008).

Em relação ao desenvolvimento embrionário, a condição ovípara é bastante comum e considerada basal entre os demais modos reprodutivos e a vivípara originada a partir da capacidade de retenção dos ovos nas fêmeas, evoluindo independentemente por pelo menos 115 vezes nos escamados (STEWART e BLACKBURN, 2014, GRIFFITH et al., 2015; SHINE, 2015).

A partenogênese e o hermafroditismo também estão presentes em algumas espécies de répteis (POUGH, 2008; CONCEIÇÃO et al., 2009, TORRES et al., 2015), sendo a partenogênese descoberta em lagartos pela espécie hoje descrita como *Darevskia armeniaca* (SPEYBROECK et al., 2020) e observada em outras, como no teídeo *Cnemidophorus tessellat* (NEAVES, 2014). Já o cuidado parental é uma condição observada principalmente em

Squamata, afim de aumentar o potencial do sucesso reprodutivo das espécies (JELLEN e ALDRIDGE, 2016).

Os lagartos apresentam dimorfismo sexual e em Teiidae, é comum que os machos sejam maiores que as fêmeas, com maior comprimento rostro-cloacal (CRC), região gular e tamanho da cabeça (COX e KAHR, 2014), como é observado em *A. ameiva*, no qual Rocha (2008) identificou machos apresentando CRC de aproximadamente $124,2 \pm 17,8$ mm e as fêmeas $96,5 \pm 23,1$ mm. Essa diferença entre machos e fêmeas se deve aos mecanismos realizados durante a corte, onde os lagartos machos praticam comportamento agonísticos, competindo entre si pelas fêmeas para que concluem a cópula (DE OLIVEIRA GASPAROTTO et al., 2021; RAMALHO et al. 2021). Esses comportamentos estão fortemente ligados à seleção sexual, aumentando o sucesso reprodutivo de machos com fenótipos maiores quando este tipo de competição é presente (ROCHA, 2008; COX e KAHR, 2014; RAMALHO et al., 2021).

Embora pareça claro que os corpos adiposos tenham relação com a reprodução, nas fêmeas para produção de ovos e nos machos para os comportamentos reprodutivos, estudos que relacionam gordura com os eventos reprodutivos são escassos e recentes (ALMEIDA-SANTOS et al., 2014; VITT, 2014; BARROS et al., 2022). Para espécies de zona temperada com a reprodução ocorrendo na primavera, os corpos adiposos são armazenados durante o final do verão e outono, para espécies tropicais, o seu armazenamento tem muita variação, porém, sua quantidade cicla inversamente com a reprodução, sendo maior nos períodos não reprodutivos e menor nos períodos reprodutivos, pois, essa gordura é estocada antes de o animal entrar no período de reprodução, sendo consumida durante a estação reprodutiva (BONNET et al., 1998; VITT, 2014; LOURDAIS et al., 2002)

Os Squamata também desenvolveram a característica de armazenar espermatozoides, este fato confere às fêmeas a capacidade de fecundação independente da cópula e em

condições ambientais mais favoráveis, além de fornecer condições para a competição entre os espermatozoides (ECKSTUT et al., 2009; ALMEIDA-SANTOS et al., 2014). As serpentes fêmeas armazenam espermatozoides no infundíbulo posterior e no útero aglandular, já nos machos, estudos sugerem que o ducto deferente é a região de armazenamento de esperma em serpentes e o epidídimo é a região de armazenamento de esperma em lagartos (ROJAS et al., 2013; ALMEIDA-SANTOS et al., 2014; RHEUBERT et al., 2014).

Mathies (2011) descreve que a nível populacional os ciclos reprodutivos de serpentes tropicais podem ser: sazonais, no qual as gônadas e órgãos acessórios exibem estágios reprodutivos semelhantes em uma determinada época do ano, podendo ficar totalmente quiescentes e pararem de se reproduzir em determinado período e assazonais, quando os indivíduos exibem estágios reprodutivos semelhantes ao longo de todo o ano.

Para lagartos, Méndez De La Cruz et al. (2014) descreve os ciclos reprodutivos em: contínuo, quando os machos podem se reproduzir ao longo de todo o ano depois que atingem a maturidade sexual, mantendo constantes a espermatogênese e espermiogênese, condição comum em espécies tropicais e sazonal, caracterizada por períodos específicos de atividade gonadal, havendo regressão e quiescência em determinados meses do ano, comum em espécies que habitam regiões temperadas e frias.

A. ameiva é descrita como uma espécie de ciclo reprodutivo contínuo (VITT, 1982; COLLI, 1991; VITT e COLLI, 1994; COLLI e PINHO, 1997; VIEIRA et al., 2001; SILVA, 2003; ROCHA, 2008; XAVIER et al., 2022), porém, não há nenhum estudo comparando as características anatômicas macro e microscópicas ao longo do ano do sistema reprodutor da espécie, delineando o seu ciclo reprodutivo. Desta forma, o propósito deste trabalho é investigar o ciclo reprodutivo de *Ameiva ameiva*, comparando as variações sazonais do sistema reprodutor dos machos, relacionando os dados biométricos com os dados histológicos.

5.3 Material e Métodos

Delineamento experimental

Vinte machos adultos da espécie *Ameiva ameiva* foram coletados por meio de busca ativa, cinco durante o inverno de 2017 (junho a setembro) cinco durante o verão de 2017 e 2018 (dezembro a março), cinco durante o outono de 2020 (março a maio) e cinco durante a primavera de 2020 (outubro a novembro), na zona rural da região de Olímpia, SP (20° 44' 13" S 48° 54' 54" O). O parâmetro utilizado para que os machos estivessem na fase adulta foi a medida do comprimento rostro-cloacal (CRC), sendo coletados apenas os espécimes com comprimento mínimo de 12cm. A captura dos espécimes foi autorizada pela agência ambiental governamental (licença: 59560-1/ SISBIO).

Os animais foram mantidos no laboratório de Anatomia Comparativa (IFSP-campus Barretos) em temperatura ambiente (média de 23.6 °C - climate-data.org) e fotoperíodo natural, durante 5 dias para aclimação, alimentados com frutas e minhocas *ad libitum*. Após esse período, os animais foram anestesiados por via inalatória com isoflurano (1mL/ mL) e em seguida eutanasiados com cloreto de potássio (KCl) injetado no coração (Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados - Brasília, 2012).

Nós tomamos as medidas do comprimento rostro-cloacal (CRC) e então foram dissecados através de incisão ventral na região mediana desde a cloaca até a altura da cintura dos membros dianteiros, expondo os órgãos da cavidade para análises macroscópicas, fotodocumentação e retirada dos órgãos para biopsia. O manejo dos animais e todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual Paulista (CEUA, Protocolo nº 177/2017), seguindo as recomendações do Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório.

Para as análises morfológicas, nós removemos e pesamos os órgãos do sistema urogenital (testículos, rins e via seminífera) do lado esquerdo - preservando o contralateral e os corpos adiposos em balança analítica de precisão 0,0001 g. Posteriormente, os órgãos foram imersos em solução fixadora Methacarn (PUCHTLER et al., 1970) (60% metanol, 30% clorofórmio e 10% ácido acético glacial) por 4 horas. Em seguida o material foi lavado em água, desidratado em série alcoólica crescente nos quais foram incluídos em parafina (Paraplast - Sigma) e submetidos à rotina histológica.

Nós obtivemos dez cortes de cada região analisada compondo as lâminas histológicas, onde foram feitas secções de 5µm. Para as análises morfométricas e estereológicas, o testículo, vias seminíferas e rim foram corados com HE e depois observados em microscópio Leica DM 4000B equipado com sistema de captura de imagem Leica DFC 280, onde foram utilizados dez campos histológicos de cada estrutura de cada espécie, depois as analisamos por meio do software de análise de imagem (Image Pro-Plus, Media-Cybernetics Inc.). Para as análises morfométricas foram tomadas medidas como: diâmetro, área, espessura do epitélio e diâmetro da massa espermática dos testículos, epidídimo, ducto deferente e SSR.

Para as análises histoquímicas, os mesmos órgãos foram corados com Ácido Periódico de Schiff (PAS), os quais foram observados qualitativamente se havia marcação desse pigmento ou não para grânulos de secreção de carboidratos neutros.

O índice gonadosomático foi calculado a partir da fórmula $IGS = Wg/Wt \times 100$, Wg= peso da gônada e Wt= peso corporal (KENAGY e TROMBULAK, 1986).

Análises Estereológicas

Para a quantificação de células germinativas nos túbulos seminíferos, nós utilizamos a ferramenta Diagrama de Weibel (WEIBEL, 1978) do software de imagem Image Pro-Plus, Media-Cybernetics Inc., utilizando a função Grid Mask com 252 marcações para cada campo

histológico, sendo utilizados 10 campos histológicos por espécime para cada parâmetro analisado, quantificando e comparando a proporção relativa (volume relativo) de células gaméticas nos túbulos seminíferos durante as quatro estações (VILAMAIOR et al., 2006).

Nós nos baseamos na definição de ciclos reprodutivos descritos por Mathies (2011) e Méndez De La Cruz et al. (2014) para descrever o ciclo reprodutivo anual dos espécimes machos de *A. ameiva* utilizados neste trabalho.

Análises estatísticas

A exploração dos dados incluiu a identificação de outliers e a transformação dos dados usando raiz quadrada para adequar aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variância. Posteriormente foi conduzida uma análise de variância de um critério (ANOVA one way), seguido do teste a posteriori de Tukey, considerando que o nível de significância utilizado foi de $p \leq 0,05$. As análises foram conduzidas no software R versão 2.11.1.

5.4 Resultados

Dados biométricos

Os machos adultos de *A. ameiva* utilizados nesse trabalho e comparados entre as estações do ano, não apresentaram diferenças significativas entre as médias nos parâmetros peso corporal (g) e CRC (cm) (Tabela 1). Também não houve diferença significativa entre o peso das gônadas (g), apresentando médias e desvio padrão respectivamente para verão, outono, inverno e primavera de $0,284 \pm 0,131$ g, $0,243 \pm 0,076$ g, $0,318 \pm 0,072$ g, $0,366 \pm 0,088$ g para gônada direita e $0,306 \pm 0,137$ g, $0,258 \pm 0,075$ g, $0,335 \pm 0,057$ g, $0,391 \pm 0,086$ g para gônada esquerda.

Já o índice gonadosômático (IGS) esteve maior nos animais da primavera, em comparação com os animais coletados no verão, outono e inverno, com valores de $p=0.019$ (entre outono e primavera) e $p=0.006$ (entre inverno e primavera) (Tabela 1).

Os corpos adiposos apresentaram grande diferença entre as estações, sendo significativamente maiores nos períodos de outono e inverno (Figura 1A) e menores durante o verão e primavera (Figura 1B), com valores de $p=0.020$ (entre inverno e primavera) e $p=0.022$ (entre inverno e verão) (Figura 1C; Tabela 1).

Morfometria dos TS

Em relação aos dados histológicos testiculares de *A. ameiva*, o epitélio dos túbulos seminíferos apresentou-se mais baixo nas estações verão e inverno comparando com outono e primavera (Tabela 2), com valores de $p=0.001$ entre outono e inverno; $p=0.001$ entre inverno e primavera; $p=0.019$ entre outono e primavera; $p=0.001$ entre verão e outono e $p=0.012$ entre verão e primavera. O diâmetro dos túbulos seminíferos também esteve menor na estação verão comparando com as demais, apresentando maior significância entre verão e inverno ($p=0.006$) e verão e primavera ($p=0.026$) (Tabela 2). Já a massa espermática esteve maior nos

períodos de verão e primavera, em comparação com outono e inverno, com $p=0.025$ entre verão e inverno e $p=0.016$ entre inverno e primavera (Tabela 2).

Análises estereológicas dos TS

Nas análises estereológicas quantificando a densidade de células germinativas nos túbulos seminíferos, notamos maior quantidade de espermatogônias durante as estações verão e inverno, comparando com outono e primavera (Tabela 3) e o valor de p para essa linhagem de célula foi de $p=0.001$ entre outono e inverno; $p=0.001$ entre inverno e primavera; $p=0.001$ entre verão e outono e $p=0.001$ entre o verão e a primavera. Os espermátócitos também estiveram mais presentes nos túbulos seminíferos de *A. ameiva* durante estações verão e inverno, principalmente durante a estação inverno, comparando com outono e primavera, com $p=0.001$ entre outono e inverno, $p=0.001$ entre inverno e primavera, $p=0.001$ entre verão e outono, $p=0.001$ entre verão e inverno e $p=0.001$ entre verão e primavera (Figura 2; Tabela 3).

As células germinativas em diferenciação espermiogênica também foram quantificadas neste trabalho, apresentando uma menor população de espermátides nos túbulos seminíferos durante o outono em comparação com verão, inverno e primavera (Tabela 3), demonstrando valor de $p=0.001$ entre verão e outono, $p=0.021$ entre outono e inverno e $p=0.005$ entre outono e primavera. Os espermatozoides livres no lúmen foram encontrados em maior quantidade durante o verão e a primavera (Figura 2A,D), comparando com outono e inverno (Figura 2B,C), demonstrando valor de $p=0.001$ entre verão e outono, $p=0.001$ entre verão e inverno e $p=0.001$ entre outono e primavera (Tabela 3), demonstrando uma considerável regressão testicular parcial nos túbulos seminíferos durante o inverno, com poucas células em diferenciação, espaços intersticiais e espermatogônias e espermátócitos em relação às demais células gaméticas (Figura 2C).

No interior dos túbulos seminíferos de *A. ameiva* também foram identificadas células de Sertoli, além de outras estruturas presentes na região intersticial (células de Leydig, fibroblastos, vasos sanguíneos) as quais foram agrupadas e denominadas como “outros componentes”. Os outros componentes estiveram mais presentes nos testículos de animais coletados durante as estações outono e primavera, em comparação com verão e inverno (Tabela 3), com $p=0.001$ entre verão e outono, $p=0.001$ entre verão e primavera, $p=0.001$ entre inverno e outono e $p=0.001$ entre inverno e primavera.

Morfometria do epidídimo

Em relação ao epidídimo de *A. ameiva*, seu epitélio esteve mais espesso durante as estações verão e primavera, em comparação com outono e inverno (Tabela 4), demonstrando valor de $p=0.001$ entre verão e outono, $p=0.001$ entre verão e inverno, $p=0.001$ entre verão e primavera, $p=0.001$ entre outono e primavera e $p=0.001$ entre inverno e primavera. Seu diâmetro também esteve maior durante a primavera em relação às demais estações (Tabela 4), com $p=0.001$ entre verão e primavera, $p=0.001$ entre outono e primavera, $p=0.001$ entre inverno e primavera e $p=0.031$ entre verão e inverno. A massa espermática existente no lúmen do epidídimo apresentou-se em menor quantidade durante a estação verão, comparando com outono, inverno e primavera, obtendo valor de $p=0.017$ entre verão e outono, $p=0.008$ entre verão e inverno e $p=0.005$ entre verão e primavera (Figura 3; Tabela 4).

Morfometria do ducto deferente

Em relação a altura do epitélio do ducto deferente, este, esteve mais espesso nos animais de primavera, comparando com as demais estações, demonstrando significância entre as médias apenas entre a primavera e o verão, com $p=0.025$ (Tabela 5). Já o diâmetro do ducto mostrou-se maior durante a primavera, em comparação com as demais estações, com valor de $p=0.001$ entre primavera e verão, $p=0.001$ entre primavera e outono e $p=0.001$ entre

primavera e inverno (Tabela 5). A massa espermática no ducto deferente foi observada também em maior quantidade nos animais coletados durante a primavera (Figura 4D) e em menor quantidade nas demais estações, com valor de $p=0.001$ entre primavera e verão, $p=0.001$ entre primavera e outono e $p=0.001$ entre primavera e inverno (Figura 4; Tabela 5).

Morfometria do SSR e histoquímica

A espessura do epitélio do SSR esteve menor durante o outono e o verão (Figura 5A), em comparação com os animais de inverno (Figura 5B) e primavera, demonstrando valor de $p=0.001$ entre inverno e outono, $p=0.028$ entre inverno e verão e $p=0.004$ outono e primavera. No parâmetro área luminal, o lúmen do SSR esteve com maior diâmetro durante a primavera em comparação com as demais estações, com valor de $p=0.038$ entre a primavera e o inverno (Tabela 6). Já em relação a área de secreção, houve mais secreção no SSR durante o outono e verão (Figura 5A), e menor quantidade de secreção nos animais de inverno (Figura 5B) e primavera, com $p=0.007$ entre verão e inverno e $p=0.006$ entre outono e inverno (Tabela 6). O SSR apresentou reação positiva ao PAS, indicando secreção de carboidratos neutros nesta estrutura (Figura 5A).

Durantes os meses em que as coletas foram realizadas, os valores referentes à precipitação média mensal foi de $137,560 \pm 15,246$ mm durante o verão, $18,880 \pm 9,287$ mm no outono, $8,580 \pm 3,622$ mm no inverno e $68,540 \pm 1,041$ mm na primavera.

Tabela 1: Dados biométricos macroscópicos dos machos da espécie *Ameiva ameiva*

<i>Estação</i>	<i>Peso corporal (g)</i>	<i>IGS (%)</i>	<i>CRC (cm)</i>	<i>Corpo adiposo (g)</i>
Verão	86,815 ± 29,107 ^a	0,658 ± 0,130 ^{a,b}	14,024 ± 1,589 ^a	0,081 ± 0,038 ^a
Outono	103,342 ± 65,042 ^a	0,562 ± 0,162 ^a	13,488 ± 1,181 ^a	0,714 ± 0,658 ^b
Inverno	109,728 ± 27,894 ^a	0,608 ± 0,111 ^a	15,124 ± 1,300 ^a	1,171 ± 0,822 ^b
Primavera	86,542 ± 22,903 ^a	0,891 ± 0,125 ^b	14,590 ± 0,088 ^a	0,064 ± 0,051 ^a

Dados expressos com médias ± erro padrão, letras diferentes representam valor de $p \leq 0,05$ entre as médias.

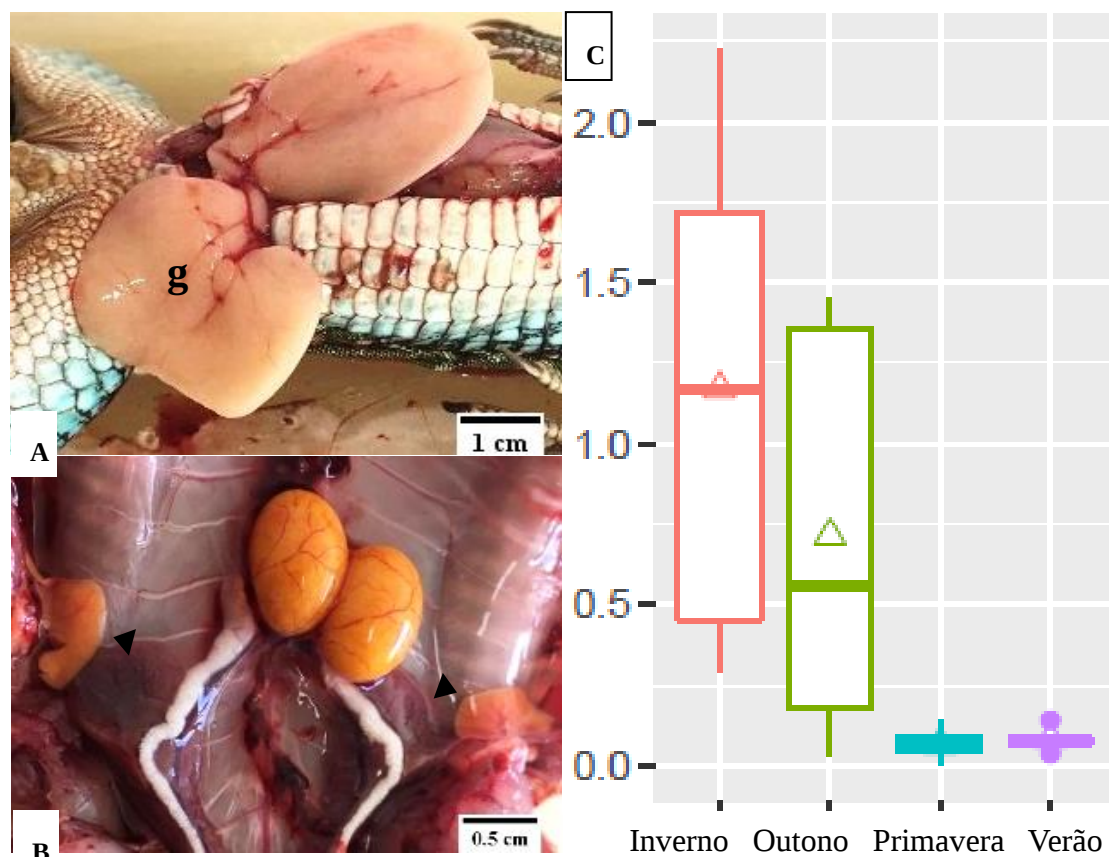


Figura 1. Corpos adiposos de *Ameiva ameiva* e sua variação entre as estações. A- Corpos adiposos (g) representando os animais outono e inverno, com grande volume. B- Corpos adiposos (cabeças de setas) representando os animais de verão e primavera, com tamanho reduzido. C- Gráfico mostrando a variação dos corpos adiposos em gramas de machos adultos de *A. ameiva* durante as estações do ano.

Tabela 2: Dados morfométricos do túbulo seminífero (TS) da espécie *A. ameiva*

<i>Estação</i>	<i>Altura do epitélio (μm)</i>	<i>Diâmetro do TS (μm)</i>	<i>Diâmetro da massa espermática (μm)</i>
Verão	36,326 ± 6,811 ^a	214,633 ± 53,407 ^a	100,516 ± 49,887 ^a
Outono	44,949 ± 8,576 ^b	227,945 ± 38,363 ^{a,b}	88,157 ± 30,902 ^{a,b}
Inverno	35,436 ± 6,384 ^a	245,588 ± 50,086 ^b	77,381 ± 34,817 ^b
Primavera	40,741 ± 6,667	241,152 ± 44,227 ^b	101,722 ± 44,369

Dados expressos com médias ± erro padrão, letras diferentes representam valor de $p \leq 0,05$ entre as médias.

Tabela 3: Dados estereológicos da densidade das células gaméticas nos TS da espécie *A. ameiva* mostrando a atividade espermatogênica ao longo das estações do ano

<i>Estação</i>	<i>Espermatogônias (%)</i>	<i>Espermatócitos (%)</i>	<i>Espermátides (%)</i>	<i>Espermatozoides (%)</i>	<i>Outros componentes (%)</i>
Verão	9,980 ± 4,876 ^a	50,660 ± 10,066 ^a	9,600 ± 4,585 ^a	23,840 ± 7,723 ^{a,c}	157,920 ± 12,686 ^a
Outono	7,260 ± 3,116 ^b	42,160 ± 10,964 ^{b,d}	6,540 ± 3,649 ^b	17,240 ± 7,797 ^b	178,800 ± 14,333 ^b
Inverno	11,560 ± 4,803 ^a	59,340 ± 13,726 ^c	8,120 ± 4,457 ^a	19,500 ± 7,440 ^{b,c}	153,480 ± 17,309 ^a
Primavera	7,380 ± 2,769 ^{b,c}	39,760 ± 8,952 ^d	8,360 ± 4,654 ^a	21,400 ± 8,829 ^c	175,100 ± 12,014 ^b

Dados expressos com médias ± erro padrão, letras diferentes representam valor de $p \leq 0,05$ entre as médias.

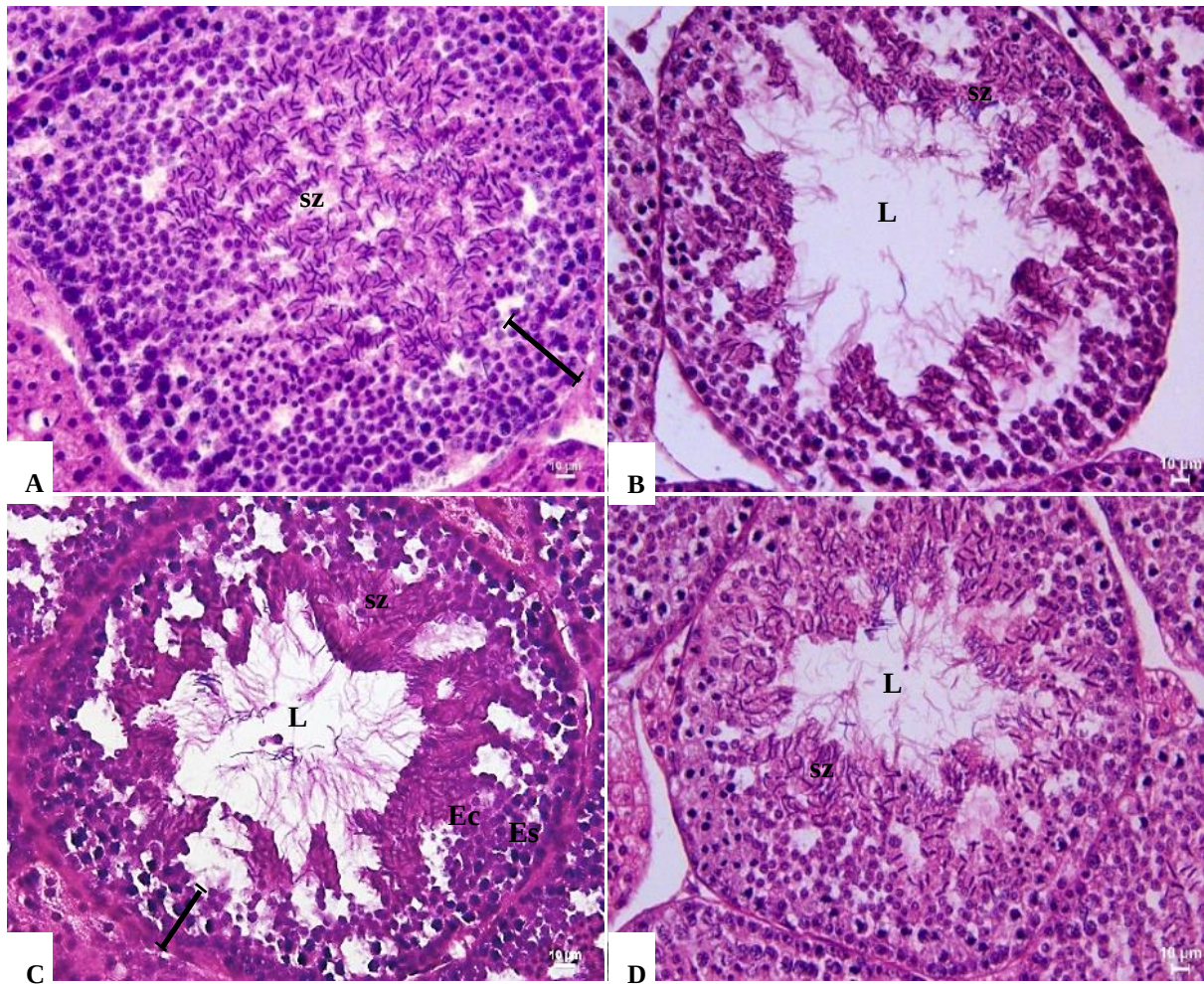


Figura 2: Secções histológicas do testículo de *A. ameiva* demonstrando a variação das células gametogênicas nos túbulos seminíferos durante as estações. A- Túbulo seminífero de um animal de verão apresentando baixo epitélio (setas de duas pontas) e grande concentração de espermatozoides ao centro do lúmen (sz). B- Túbulo seminífero de um animal de outono apresentando pouca quantidade de células em diferenciação celular, lúmen evidente (L) e espaços intersticiais no túbulo. C- Túbulo seminífero de um animal de inverno apresentando baixo epitélio com maior quantidade de espermatogônias (g) e espermatócitos (ec) em relação às demais células gaméticas. D- Túbulo seminífero de um animal de primavera destacando a presença de espermatozoides (sz) e área luminal (L).

Tabela 4: Dados morfométricos do epidídimo da espécie *A. ameiva*

<i>Estação</i>	<i>Altura do epitélio (µm)</i>	<i>Diâmetro (µm)</i>	<i>Massa espermática (µm)</i>
Verão	28,351 ± 8,128 ^a	191,417 ± 52,730 ^a	94,702 ± 64,775 ^a
Outono	21,741 ± 3,322 ^b	201,708 ± 44,049 ^{a,b}	128,292 ± 41,161 ^b
Inverno	22,003 ± 3,830 ^b	219,685 ± 46,622 ^b	130,873 ± 47,554 ^b
Primavera	33,450 ± 6,519 ^c	257,882 ± 59,358 ^c	140,024 ± 68,632 ^b

Dados expressos com médias ± erro padrão, letras diferentes representam valor de $p \leq 0,05$ entre as médias.

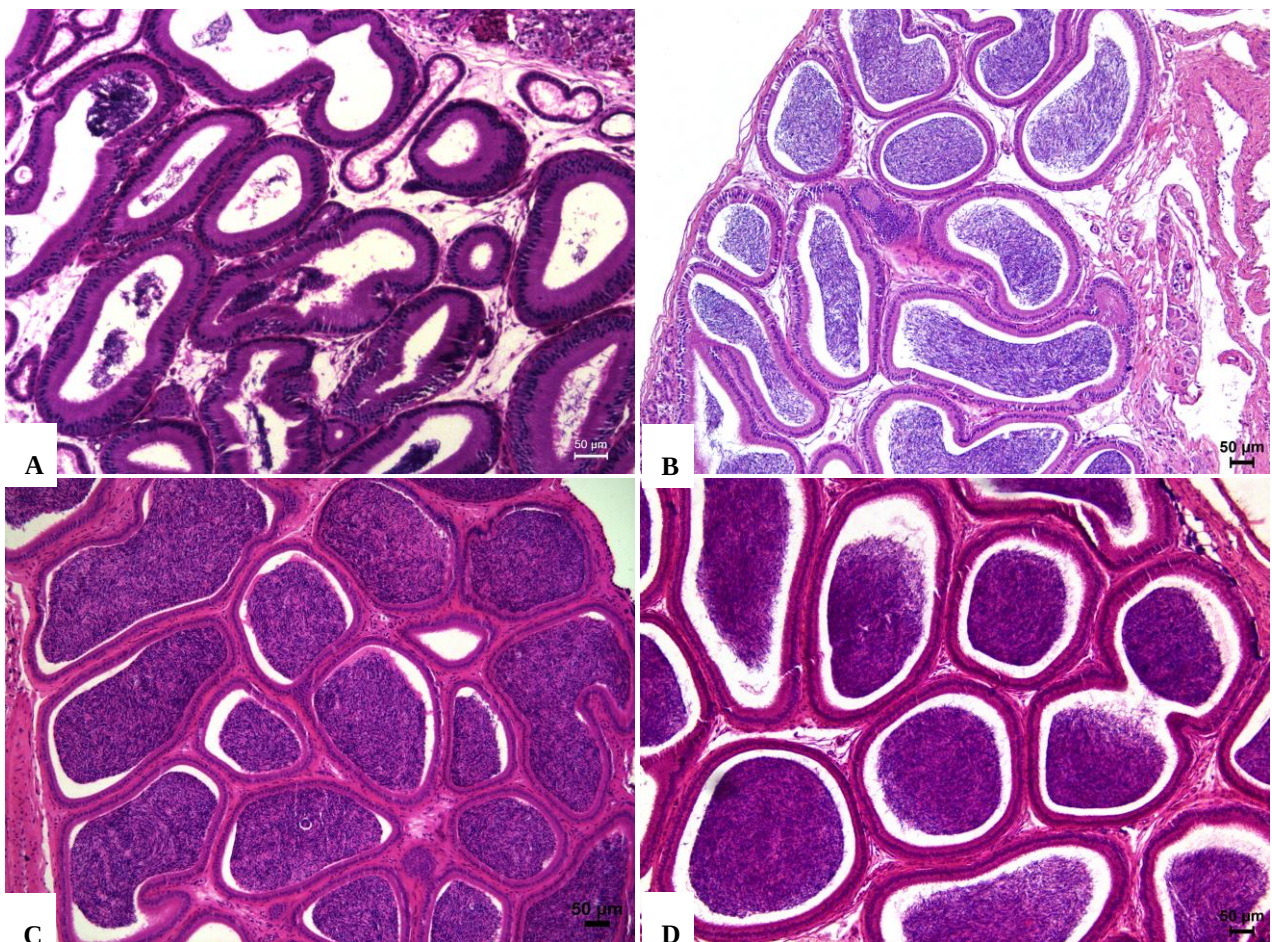


Figura 3: Secções histológicas mostrando do epidídimo de *A. ameiva* durante as estações. A- Ducto epididimário representando animais verão com poucos espermatozoides no lúmen. B- Ducto epididimário de um animal de outono. C- Ducto epididimário de um animal de inverno. D- Ducto epididimário de um animal de primavera, com maior diâmetro.

Tabela 5: Dados morfométricos do ducto deferente da espécie *A. ameiva*

<i>Estação</i>	<i>Altura do epitélio (μm)</i>	<i>Diâmetro (μm)</i>	<i>Massa espermática (μm)</i>
Verão	14,337 ± 3,294 ^a	212,942 ± 60,297 ^a	142,095 ± 40,783 ^a
Outono	14,709 ± 2,939 ^{a,b}	236,192 ± 59,976 ^a	140,563 ± 57,090 ^a
Inverno	15,543 ± 3,642 ^{a,b}	236,192 ± 61,727 ^a	144,211 ± 38,722 ^a
Primavera	16,133 ± 2,667 ^b	300,994 ± 56,172 ^b	188,835 ± 52,180 ^b

Dados expressos com médias ± erro padrão, letras diferentes representam valor de $p \leq 0,05$ entre as médias.

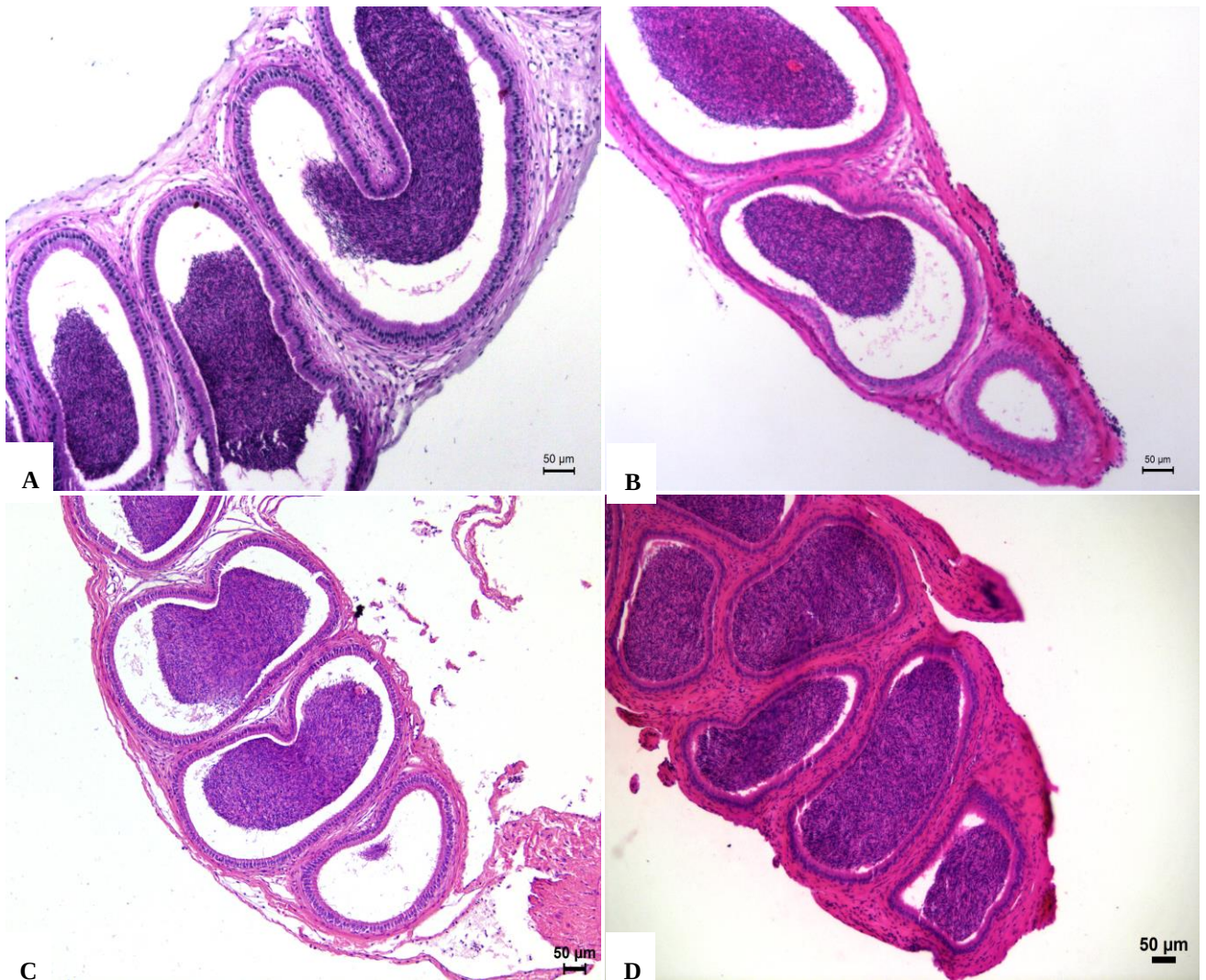


Figura 4: Secções histológicas do ducto deferente de *A. ameiva* demonstrando aumento progressivo de espermatozoides durante as estações. A- Ducto deferente representando animais de verão. B- Ducto deferente representando animais de outono. C- Ducto deferente representando animais de inverno. D- Ducto deferente representando animais de primavera, com maior diâmetro e maior massa espermática no lúmen.

Tabela 6: Dados morfométricos do SSR de *A. ameiva*

<i>Estação</i>	<i>Altura do epitélio (μm)</i>	<i>Área luminal (μm²)</i>	<i>Área de secreção (μm²)</i>
Verão	45,840 ± 7,770 ^{a,c}	186,986 ± 61,449 ^{a,b}	103,304 ± 52,538 ^a
Outono	42,448 ± 10,598 ^a	186,231 ± 72,059 ^{a,b}	96,820 ± 57,899 ^a
Inverno	50,673 ± 9,319 ^{b,c}	156,872 ± 46,877 ^a	62,910 ± 49,328 ^b
Primavera	48,343 ± 6,189 ^{b,c}	189,032 ± 55,480 ^b	88,295 ± 44,344 ^{a,b}

Dados expressos com médias ± erro padrão, letras diferentes representam valor de $p \leq 0,05$ entre as médias.

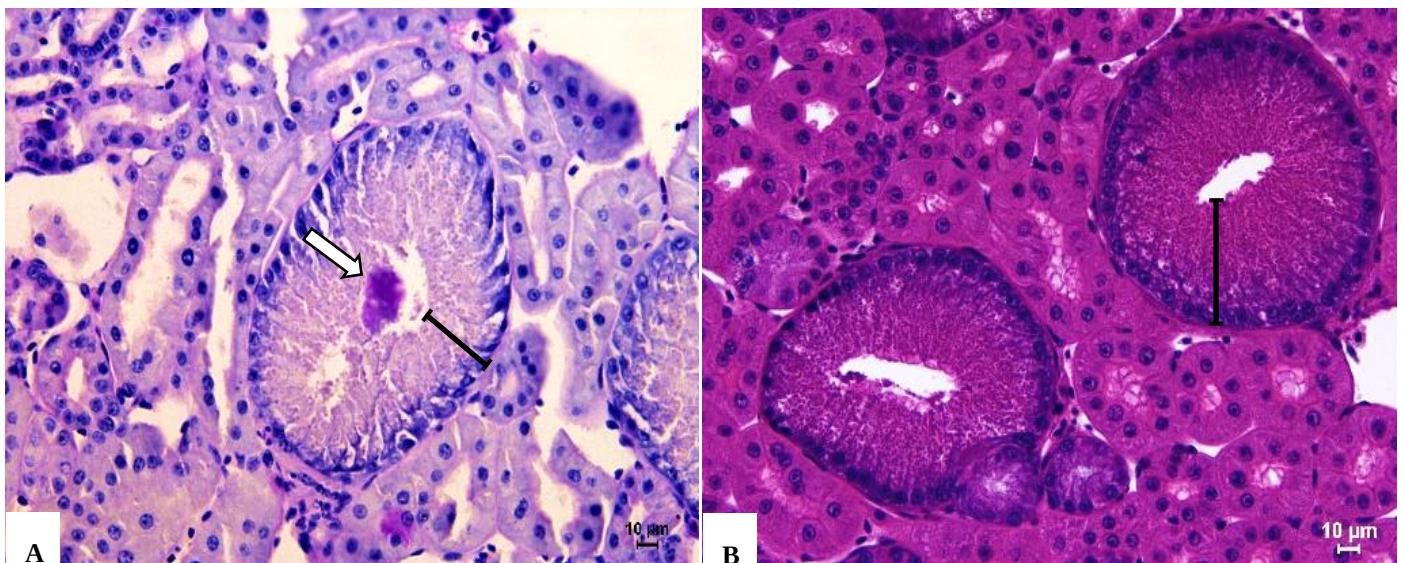
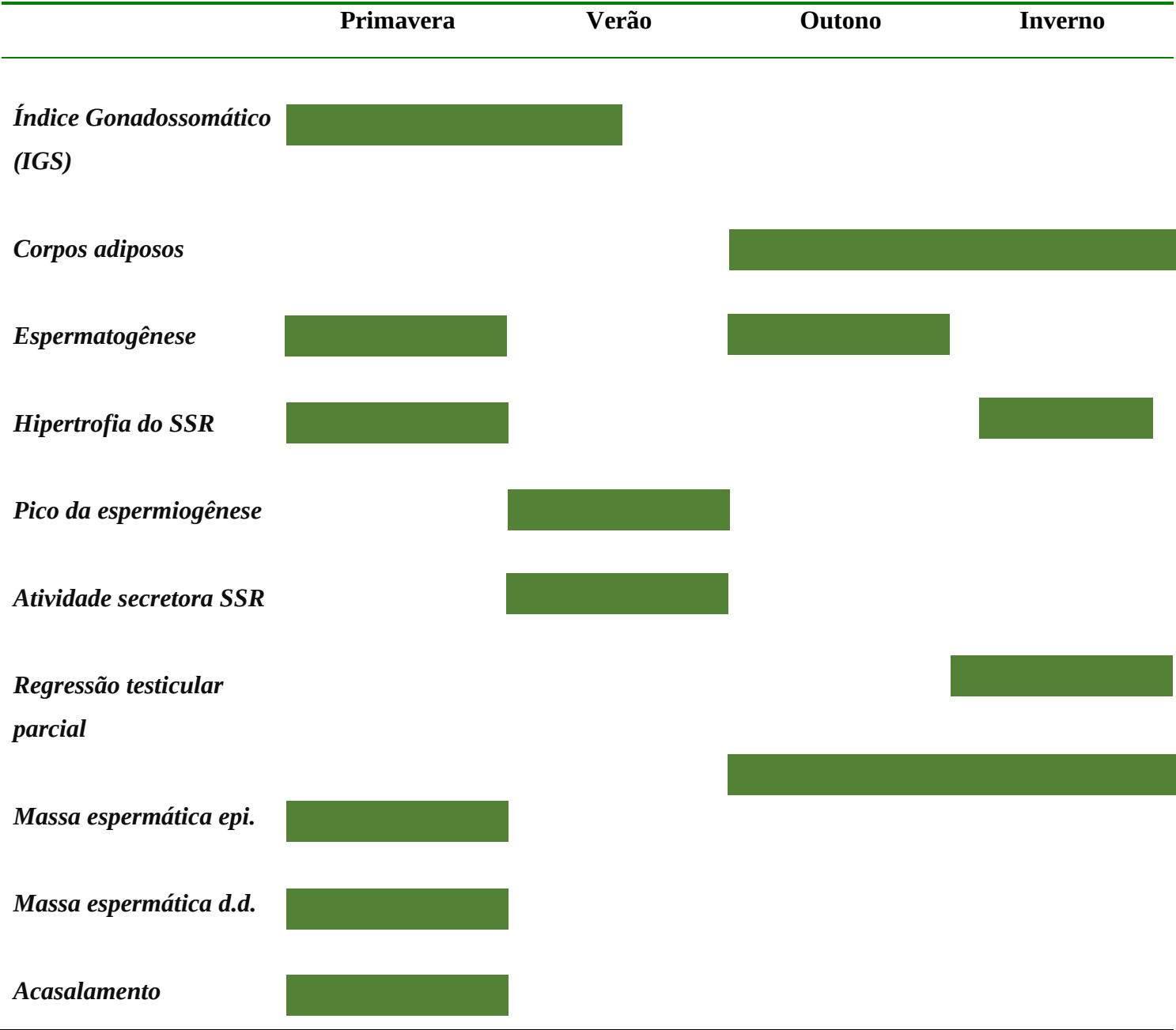


Figura 5: Secções histológicas do SSR de *A. ameiva* demonstrando variância na altura do epitélio, área luminal e área de secreção nos ductos. A- SSR da estação verão com epitélio mais baixo e secretor marcado com PAS (Ácido Periódico de Schiff) na cor púrpura (seta branca). B- SSR de um animal da estação inverno com epitélio mais alto, pouca área luminal e ausência de secreção no interior dos túbulos.

Tabela 7: Fases do ciclo reprodutivo anual do macho de *A. ameiva*



- As áreas de sombra verde correspondem ao período de atividade.

5.5 Discussão

A espécie *A. ameiva* apresentou variação sazonal em seu aparelho urogenital ao longo das estações do ano. O IGS esteve maior nos animais coletados durante a primavera e o verão, enquanto os corpos adiposos se apresentaram mais volumosos durante o outono e inverno, havendo uma quantidade mínima durante a primavera e o verão. Colli et al. (1997) ressaltam que as reservas de gordura podem ser indicadores indiretos da disponibilidade de alimentos e Bonnet et al. (1998) e Lourdaís et al. (2002) ainda descrevem que armazenar corpos adiposos antes da reprodução corresponde para a definição de uma estratégia de 'capital breeding', na qual os animais ectotérmicos desenvolveram a estratégia de estocar gordura para utilizá-la em seu período reprodutivo.

A espermiogênese foi observada ao longo de todo o período, porém seu ápice ocorreu no verão e uma regressão testicular parcial foi observada durante o inverno. O epitélio do SSR esteve mais hipertrofiado entre o inverno-primavera, e mais secretivo durante o verão, reagindo positivamente ao PAS. No epidídimo, a massa espermática ocupou o ducto durante todas as estações, havendo uma diminuição no período de maior espermiogênese - verão, no ducto deferente. Os espermatozoides estiveram em maiores quantidades durante a primavera, sugerindo o período de cópula da espécie dessa região (Olimpia-SP 20° 44' 13" S 48° 54' 54"). Os machos de *A. ameiva* apresentaram um padrão de ciclo reprodutivo considerado sazonal, segundo a definição de Mathies (2011) e Méndez De La Cruz et al. (2014) para o nível populacional, no qual os indivíduos apresentam variações de fertilidade em alguns meses do ano.

Os espécimes analisados neste trabalho apresentaram médias e desvio padrão de $14,574 \pm 1,444$ cm para tamanho corporal (CRC), exibindo tamanho intermediário para machos adultos quando comparado ao valor encontrado por Vitt e Colli (1994), cujos animais apresentaram média de 19 cm, e Rocha (2008), com média de 12,420 cm para a espécie.

O IGS teve um significativo aumento durante a primavera comparando com as demais estações, concomitantemente neste mesmo período também foi observado um aumento na espermatogênese, hipertrofia do epitélio do SSR e quantidade de massa espermática no epidídimo e no ducto deferente de *A. ameiva*, sugerindo que possivelmente a primavera seja o principal período de cópula dos animais analisados neste trabalho, principalmente por haver muitos espermatozoides na via seminífera nessa estação. Na serpente *Philodryas patagoniensis* (LOEBENS et al., 2016), houve um aumento do IGS simultaneamente com a espermatogênese, espermiogênese e período de cópula.

A presença de baixos níveis de gordura abdominal na forma de corpos adiposos em *A. ameiva* durante o verão e a primavera comparando com as demais estações, pode estar relacionada ao consumo dessa fonte energética para os eventos reprodutivos neste período. Pois, além dessa reserva energética ser utilizada durante a gametogênese (GUILLETTE e CASAS-ANDREU, 1981; PIZZATTO et al., 2006), os comportamentos reprodutivos agonísticos e territoriais combinados com atividade de forrageamento, são energeticamente muito custosos para os machos (VITT, 2014; NORVAL e SLATER, 2019). Padrões como estes, nos quais os corpos adiposos ciclam inversamente com o período de reprodução foram observados nos lagartos tropicais *Anolis sagrei* (NORVAL e SLATER, 2019) e *Mabuya dorsivittata* (ORTIZ et al., 2019) e também em serpentes (ALMEIDA-SANTOS et al., 2014).

As análises histológicas mostraram bastante variação nos testículos de *A. ameiva* entre as estações, com muitas células germinativas em diferenciação nos túbulos seminíferos durante o outono e a primavera, resultando um epitélio alto. Em contrapartida, o epitélio esteve baixo durante o verão e o inverno, porém, os túbulos seminíferos durante o verão estiveram com muitos espermatozoides ocupando toda a área luminal. Já durante o inverno, poucas células em diferenciação espermiogênica, caracterizando o que chamamos de regressão testicular. Em serpentes com ciclos reprodutivos sazonais, a regressão testicular é

mais evidente e pode ser caracterizada como regressão completa, com ausência de espermatídes e espermatozoides no lúmen, como é observado na serpente dormideira *Sibynomorphus mikanii* (ROJAS et al., 2013) e na *Philodryas patagoniensis* (LOEBENS et al., 2016).

Depois que os espermatozoides são produzidos no testículo, eles percorrem os pequenos ductos espermáticos (rede testicular e dúctulos eferentes) e vão para o epidídimo e ducto deferente (RHEUBERT et al., 2014), onde podem se regionalizar apenas para a cópula ou ficarem estocados até que a cópula ocorra, já que os Squamata desenvolveram a capacidade de produzir gametas independentemente da cópula (GRIBBINS et al., 2005). Em *A. ameiva*, os gametas estiveram presentes no epidídimo durante todo o ano, porém, foi observado uma diminuição dessas células em seu interior no verão, período de maior espermiogênese, indicando um período de maturação dos espermatozoides no epidídimo neste período.

Os espermatozoides foram encontrados por todo o ducto deferente ao longo do ano, porém, houve um aumento significativo da massa espermática durante a primavera, estação que apresentou os maiores índices nos parâmetros analisados tanto para epidídimo, quanto para ducto deferente (altura do epitélio, diâmetro do ducto e massa espermática), indicando um potencial para cópula durante a primavera nesses espécimes. Estudos sobre a biologia reprodutiva de Squamata geralmente evidenciam que serpentes armazenam espermatozoides no ducto deferente, como observado em *Sibynomorphus mikanii* e em *Bothrops cotiara* (ROJAS et al., 2013; BARROS, ROJAS e ALMEIDA-SANTOS, 2017). Já em lagartos, os espermatozoides geralmente são armazenados no epidídimo (RHEUBERT et al., 2014), assim como Ferreira et al. (2009) encontraram em *Tropidurus itambere*.

O SSR é uma estrutura andrógeno-dependente (ROJAS et al., 2013) que tem como função produzir e secretar substâncias de forma merócrina ou apócrina para os ductos

seminais, para que estas sejam utilizadas na manutenção dos espermatozoides nos ductos (RHEUBERT et al., 2014). Em *A. ameiva*, o SSR mostrou-se secretivo, corando positivamente com PAS, indicando que carboidratos neutros são produzidos e secretados por esta via. Durante o verão, período de maior índice espermiogênico, foi observado maior atividade secretiva do SSR, sendo o mesmo padrão identificado em *Sibynomorphus mikanii* (ROJAS et al., 2013). O SSR da espécie em estudo ainda demonstrou que a altura epitelial do ducto se contrapõe com a área luminal, pois, nos períodos em que o epitélio está mais alto, seu lúmen mostrou menor área em μm^2 e concomitantemente, menos secretivo, como mostram os animais de inverno.

5.6 Conclusão

Os machos de *A. ameiva* neste estudo apresentaram ciclo reprodutivo sazonal para o nível populacional, com indivíduos semi-sincronizados e para o nível individual, o ciclo reprodutivo é contínuo. Tendo em vista que neste tipo de ciclo (sazonal) os órgãos reprodutores podem sofrer variação na atividade testicular em determinados meses do ano, como demonstraram os espécimes utilizados neste estudo, no qual foi observado maior atividade testicular durante a primavera e o verão, com uma diminuição significativa da espermatogênese durante o inverno e uma diminuição também da espermiogênese durante o outono e o inverno. Concomitantemente, as análises revelaram um possível período de cópula para estes animais, dado este período a primavera, estação na qual foi encontrado maior quantidade de espermatozoides nos ductos epididimários e deferentes, que presumivelmente estão concentrados no período nupcial.

5.7 Agradecimentos

Nós agradecemos ao Prof. Dr. Classius de Oliveira pelo suporte científico e responsável pelo laboratório de Anatomia Comparada do IBILCE-UNESP, ao Professor Sebastião Roberto Taboga e ao técnico Luiz Roberto Falheiros Júnior, do laboratório de Microscopia e Microanálise do IBILCE-UNESP, pelo suporte técnico e ao curador Valdir José Germano, do Instituto Butantan, pela identificação da espécie. Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, processo 88887.486267/2020-002 para Maciel, ES.

5.9 Referências Bibliográficas

- ALMEIDA-SANTOS et al. Biologia reprodutiva de serpentes: Recomendações para a coleta e análise de dados. São Paulo: Herpetologia Brasileira, v. 3, p. 15-24, 2014.
- ADOLPH, S. C. Influence of behavioral thermoregulation on microhabitat use by two *Sceloporus* lizards. *Ecology*, v. 71, n. 1, p. 315-327, 1990.
- BARROS, V. A. et al. Male reproductive cycle of *Bothrops pubescens* (Serpentes, Viperidae) from southern Brazil. *South American Journal of Herpetology*, v. 24, n. 1, p. 1-10, 2022.
- BARROS, V. A.; ROJAS, C. A.; ALMEIDA-SANTOS, S. M. Mating plugs and male sperm storage in *Bothrops cotiara* (Serpentes, Viperidae). *Herpetological journal*, v. 27, n. 1, 2017.
- BLACKBURN, D. G.; STEWART, J. R. Viviparity and Placentation in Snakes. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes*, CRC Press, p. 119-182, 2016.
- BONNET, X.; BRADSHAW, D.; SHINE, R. Capital versus income breeding: an ectothermic perspective. *Oikos*, p. 333-342, 1998.
- COLLI, G. R.; PERES JR, A. K.; ZATZ, M. G. Foraging mode and reproductive seasonality in tropical lizards. *Journal of Herpetology*, p. 490-499, 1997.
- COX, R. M. e KAHR A. F. Sexual Selection and Sexual Dimorphism. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*, CRC Press, p. 78-108, 2014.
- DE OLIVEIRA GASPAROTTO et al. Agonistic and mating behaviour of the endemic lizard *Trachylepis atlantica* from the Fernando de Noronha archipelago, Brazil. *Herpetological Bulletin*, n. 158, 2021.
- DIKE J. U. V. Cues for Reproduction in Squamate Reptiles. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*, CRC Press, p. 109-143, 2014.

FERREIRA, A. et al. Seasonal changes in testicular and epididymal histology of the tropical lizard, *Tropidurus itambere* (Rodrigues, 1987), during its reproductive cycle. *Braz. J. Biol.*, p. 429-436, 2009.

GRIBBINS, K. et al. Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*). V. The temporal germ cell development strategy of the testis. *Acta Zoologica*, v. 86, n. 4, p. 223-230, 2005.

GRIFFITH, O. W. et al. Ancestral State Reconstructions Require Biological Evidence to Test Evolutionary Hypotheses: A Case Study Examining the Evolution of Reproductive Mode in Squamate Reptiles. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, v. 324, n. 6, p. 493-503, 2015.

GUILLETTE, L. J.; CASAS-ANDREU, G. Seasonal variation in fat body weights of the Mexican high elevation lizard *Sceloporus grammicus microlepidotus*. *Journal of Herpetology*, v. 15, n. 3, p. 366-371, 1981.

JELLEN, B. C.; ALDRIDGE, R. D. Paternity Patterns. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Snakes*, CRC Press, p. 619-644, 2016.

KENAGY, G.J.; TROMBULAK, S.C. Size and function of mammalian testes in relation to body size. *J. Mamm.*, v.67, p.1-22, 1986.

LOEBENS, L. et al. Reproductive biology of *Philodryas patagoniensis* (Snakes: Dipsadidae) in south Brazil: male reproductive cycle. *The Royal Swedish Academy of Sciences*, 2016.

LOURDAIS, O. et al. Capital-breeding and reproductive effort in a variable environment: a longitudinal study of a viviparous snake. *Journal of Animal Ecology*, p. 470-479, 2002.

MATHIES, T. Reproductive cycles of tropical snakes. *Reproductive biology and phylogeny of snakes*, v. 9, p. 511-550, 2011.

MENDES, R. M. M. et al. Histologia Comparada de Testículo e do Segmento Sexual do Rim de Lagarto Tropical *Tropidurus torquatus* Wied, 1820 (Squamata: Tropiduridae) Adulto e Imaturo. Rio de Janeiro: Rev. de Ciên. da Vida, v. 29, 2009.

MÉNDEZ DE LA CRUZ et al. Male Reproductive Cycles in Lizards. In: Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara, CRC Press, p. 302-339, 2014.

MESQUITA, Daniel O. et al. Life-history patterns of lizards of the world. The American Naturalist, v. 187, n. 6, p. 689-705, 2016.

NEAVES, W. Discovery of Parthenogenesis in Lizards. In: Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara, CRC Press, p. 196-212, 2014.

NORVAL, G. e SLATER, K. Interrelation of fat body mass, liver mass, and environmental parameters on the reproductive cycle of the brown anole (*Anolis sagrei*), an introduced lizard in Taiwan. Herpetol. Conserv. Biol, v. 14, p. 67-79, 2019.

ORTIZ, et al. Reproductive biology of a viviparous lizard (*Mabuya dorsivittata*) from the subtropical Wet Chaco of Argentina: geographical variations in response to local environmental pressures. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 91, 2019.

PIZZATTO, L. et al. Herpetologia no Brasil Vol II, Chapter: Biologia reprodutiva das serpentes Brasileiras, Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2006.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. A Vida dos Vertebrados. São Paulo: Atheneu Editora, 4ª ed., p., 2008.

PUCHTLER, H. et al. Methacarn (methanol-Carnoy) fixation. Histochemie, v. 21, n. 2, p. 97-116, 1970.

RAMALHO, R. A. et al. Mating behaviour of the lizard *Ameiva ameiva* in Brazil. Herpetological Bulletin, n. 158, 2021.

RHEUBERT, J. L. et al. Male Reproductive Anatomy: The Gonadoducts, Sexual Segment of the Kidney, and Cloaca. In: Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara, CRC Press, p. 253-301, 2014.

ROCHA, C. F. D. Body size, female reproduction and sexual dimorphism in the lizard *Ameiva ameiva* (Teiidae) in a restinga of southeastern Brazil. Rio de Janeiro: Revista Brasileira de Zoologia, p. 82-91, 2008.

ROJAS, C. A. et al. The Reproductive Cycle of the Male Sleep Snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) From Southeastern Brazil. Journal Of Morphology, p. 215–228, 2013.

SHINE, R. The evolution of Oviparity in Squamate Reptiles: An Adaptationist Perspective. Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution, v. 324, n. 6, p. 487-492, 2015.

SPEYBROECK, J. et al. Species list of the European herpetofauna – 2020 update by the Taxonomic Committee of the Societas Europaea Herpetologica. Amphibia-Reptilia, v. 41, n. 2, p. 139-189, 2020.

STEWART, J. R. e BLACKBURN, D. G. Viviparity and Placentation in Lizards. In: Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara, CRC Press, p. 448-563, 2014.

TORRES, M. M. et al. Hemipenes in females of the mexican viviparous lizard *Barisia imbricata* (Squamata: Anguidae): an example of heterochrony in sexual development. Tlalnepantla: Wiley Periodicals, p. 270-277, 2015.

VALENCIA-LIMON, E. R. et al. Dimorfismo sexual y ciclo reproductor de *Sceloporus horridus horridus* (Wiegmann 1939) (Sauria: Phrynosomatidae). Acta Zoológica Mexicana, v. 30, n. 1, p. 91-105, 2014.

VILAMAIOR, P. S. L. et al. The postnatal growth of the rat ventral prostate in Wistar rats: a stereological and morphometrical study. Anat Rec, p. 885–892, 2006.

VITT, L. J. Reproductive tactics of *Ameiva ameiva* (Lacertilia: Teiidae) in a seasonally fluctuating tropical habitat. *Canadian Journal of Zoology*, v. 60, n. 12, p. 3113-3120, 1982.

VITT, L. J. Lizard Reproduction: A History of Discovery. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*, CRC Press, p. 1-26, 2014.

VITT, L. J.; COLLI, G. R. Geographical ecology of a Neotropical lizard: *Ameiva ameiva* (Teiidae) in Brazil. *Los Angeles: Department of Biology*, v. 72, p. 1986-2008, 1994.

WAPSTRA, E. e OLSSON, M. The Evolution of Polyandry and Patterns of Multiple Paternity in Lizards. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*, CRC Press, p. 564-589, 2014.

WHILE, G. M. et al. The Evolutionary Ecology of Parental Care in Lizards. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*, CRC Press, p. 590-619, 2014.

WEIBEL, E. R. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Lab Invest*, p. 131–155, 1978.

XAVIER, M. A. et al. Reproductive Biology of *Ameivula nigrigula* (Squamata: Teiidae) in Caatinga domain, Northeastern Brazil. *Herpetological Conservation and Biology*, v. 17, n. 1, p. 95-102, 2022.

6 Resultados Gerais:

- O sistema reprodutor masculino de *A. ameiva* é constituído por: rede testicular, ductulo eferente, epidídimo, ducto deferente e ampola;
- Espermatozoides foram observados em todas as regiões do ducto seminal;
- Os hemipênis de *A. ameiva* são monolobulados, cilíndricos, alongados e ornamentados com ondulações transversais;
- O epidídimo é mais enovelado e mais espesso que o ducto deferente;
- O SSR de *A. ameiva* foi identificado no córtex da região ventral dos rins a partir da hipertrofia dos túbulos contorcidos distais;
- O SSR apresentou função secretora para carboidratos neutros, podendo essa secreção estar relacionada a manutenção e viabilidade de espermatozoides no ducto deferente;
- O IGS foi maior nos animais coletados durante a primavera e o verão;
- A espermatogênese ocorreu com maior atividade durante a primavera e o outono devido a maior altura do epitélio dos TS;
- Houve regressão testicular parcial observada no inverno;
- A espermiogênese ocorreu com maior intensidade durante o verão;
- O epitélio do SSR esteve mais hipertrófico entre o inverno-primavera;
- O SSR esteve mais secretivo durante o verão, reagindo positivamente ao PAS;
- Os espermatozoides estiveram em maiores quantidades durante a primavera, sugerindo o período de cópula da espécie dessa região (Olimpia-SP);
- O ciclo de gordura (corpos adiposos) foi inversamente proporcional com o período de maior atividade reprodutiva (primavera-verão);
- Os machos de *A. ameiva* apresentaram um padrão característico de ciclo reprodutivo sazonal para o nível populacional, com indivíduos semi-sincronizados e para o nível individual, ciclo reprodutivo contínuo.

6.1 Conclusão Geral

A morfologia testicular, dos ductos seminais e dos órgãos acessórios (ampola e SSR) dos machos de *A. ameiva* foi descrita neste trabalho, apontando as principais diferenças entre elas. Foi descrito pela primeira vez a presença de uma ampola no ducto deferente e do SSR na espécie, que é uma particularidade do grupo Squamata. O ciclo reprodutivo é sazonal ao nível populacional, sofrendo variação na atividade testicular em alguns meses do ano (aumento da espermiogênese no verão e redução durante o outono e o inverno e diminuição da espermatogênese no inverno), além de as análises sugerirem a primavera como o possível período de cópula para os exemplares estudados neste trabalho. Sabendo que estudos sobre lagartos neotropicais são escassos, principalmente na família Teiidae, nós acreditamos que os nossos resultados contribuirão com estudos sobre a biologia reprodutiva do grupo Squamata de um modo geral.