

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO

JÁREDE BARRETO DO NASCIMENTO

**ESPERMATOGÊNESE DE *Amphisbaena pretrei* Duméril & Bibron
1839 (Squamata, Amphisbaenidae)**

Maceió-AL

2021

JÁREDE BARRETO DO NASCIMENTO

**ESPERMATOGÊNESE DE *Amphisbaena pretrei* Duméril & Bibron
1839 (Squamata, Amphisbaenidae)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Leonora Tavares Bastos.

Maceió-AL

2021

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

N244e Nascimento, Járede Barreto do.
Espermatogênese de *Amphisbaena pretrei* Duméril & Bibron 1839
(Squamata, Amphisbaenidae) / Járede Barreto do Nascimento. – Maceió, 2021.
34 f. : il.

Orientadora: Leonora Tavares Bastos.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas:
bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências
Biológicas e da Saúde. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 31-34.

1. Espermatogênese. 2. *Amphisbaena pretrei* - Reprodução. I. Título.

CDU: 598.113.5

JÁREDE BARRETO DO NASCIMENTO

ESPERMATOGÊNESE DE *Amphisbaena pretrei* Duméril & Bibron 1839 (Squamata, Amphisbaenidae)

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 04/02/2021

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dra. Leonora Tavares Bastos

Universidade Federal de Alagoas

Orientadora

MsC. Selma Torquato da Silva

Museu de História Natural da Universidade Federal de Alagoas

MsC. Ubiratan Gonçalves da Silva

Museu de História Natural da Universidade Federal de Alagoas

Maceió-AL

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me ajudado e me confortado nos momentos difíceis e trabalhosos durante todo a graduação de ciências biológicas bacharelado. Aos meus familiares, que sempre estiveram ao meu lado, incentivando-me a continuar o curso e finalizá-lo. Em especial, minha mãe Beatriz, meu pai Jesiel, minhas irmãs Jane Kézia e Jarezia.

Às "colôios" Jordana, Adriane e Talita que se tornaram amigas preciosas durante os anos de graduação, sempre tornando os momentos leves e divertidos. Também à minha amiga e colega de laboratório Polyanne que me acompanhou em todos os processos do laboratório, nas idas ao campo, e ao Museu de História Natural da Universidade Federal de Alagoas (MHN).

Agradeço à Fátima, técnica do laboratório do Setor de Histologia e Embriologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, que esteve sempre me acompanhando e me direcionando nos procedimentos histológicos. À Selma Torquato, curadora do MHN, que disponibilizou os espécimes para que o estudo fosse realizado. Aos professores e técnicos do Laboratório de Biologia Celular localizado no Núcleo de Pesquisa Multidisciplinar da UFAL, que me permitiram utilizar o equipamento para fotografar as lâminas histológicas.

De maneira especial, quero agradecer à minha orientadora Leonora Tavares Bastos que desde o ano de 2015 tem me acompanhado e incentivado durante os estudos e procedimentos a serem realizados para a conclusão do meu curso, além da realização de outras atividades de graduação. Todavia, não somente isto, também se tornou uma amiga, sempre oferecendo bons conselhos e desenvolvendo uma relação muito especial.

Por último, porém não menos importante, quero agradecer aos grupos cristãos Grupo de apologética cristã estudantil (GrACE), Cru campus, Associação Brasileira de Cristãos na Ciência (ABC²) da UFAL que contribuíram de maneira significativa em minha vida pessoal e acadêmica, tendo proporcionado uma gama maior de conhecimento e vínculos preciosos de amizade. Além disso, ter me

permitido conhecer Alex, meu noivo, que está sempre ao meu lado, me apoiando e me ajudando a seguir em frente.

RESUMO

São reconhecidas mais de 11.400 espécies de répteis, que incluem as tartarugas, crocodilianos, tuatara, lagartos, serpentes, e anfisbênias. As anfisbênias são répteis conhecidos como cobra-de-duas-cabeças e possuem hábitos fossoriais. Seis famílias de anfisbênias são reconhecidas: Amphisbaenidae, Trogonophidae, Cadeidae, Blanidae, Bipedidae, e Rhineuridae. A família Amphisbaenidae tem 12 gêneros e 182 espécies. O gênero *Amphisbaena* é o maior da família Amphisbaenidae, com 102 espécies reconhecidas. A espécie *Amphisbaena pretrei* é endêmica do Brasil e tem grande representatividade no país; pode ser encontrada desde o Rio Grande do Norte a Minas Gerais. Apesar de ter sido avaliada como menos preocupante (LC) na Lista Vermelha da União Internacional para Conservação da Natureza (UICN), seu hábito fossorial confere vulnerabilidade à espécie. A reprodução nos répteis é diversa, a maioria reproduz-se de maneira sexuada, podendo ser ovíparos ou vivíparos. A espermatogênese ocorre nos túbulos seminíferos, e os espermatozoides podem ser encontrados nos túbulos seminíferos, epidídimo, e ductos deferentes. Ainda, o ciclo reprodutivo dos machos pode ser contínuo ou sazonal. A espermatogênese de *Amphisbaena pretrei* foi descrita através de dados macroscópicos e microscópicos do testículo. Foram mensurados o CRC e comprimento total do animal; foi medido e pesado o testículo direito dos 4 espécimes utilizados no estudo. Os dados referentes a precipitação e temperatura foram obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Os machos em fase reprodutiva foram coletados em junho e agosto. A análise do ciclo reprodutivo dos espécimes de *A. pretrei* demonstrou que o espécime MUFAL 10519 apresenta-se no estágio 2, o espécime MUFAL 10760 apresenta-se no estágio 2, o espécime MUFAL 10742 apresenta-se no estágio 3, e o espécime MUFAL 10815 apresenta-se no estágio 4. Foi observada uma relação significativa entre os estágios reprodutivos e o volume testicular dos 4 espécimes. Nossos resultados sugerem que o ciclo reprodutivo da espécie *Amphisbaena pretrei* seja sazonal.

Palavras-chaves: espermatogênese, reprodução, *Amphisbaena pretrei*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Fotomicrografias de testículo de *Tropidurus torquatus* mostrando o estágio 1 (Fig. 2), estágio 2 (Fig. 3), estágio 3 (Fig. 4), estágio 4 (Fig. 5), e estágio 5 (Fig. 6).
Fonte: VIEIRA et al. (2001).....13
- Figura 2 - Fotografia de um exemplar de *A. pretrei* mostrando o testículo direito (seta). Fotografia obtida por meio da câmera Samsung WB100.....17
- Figura 3 - Fotomicrografia de testículo de *A. pretrei* (MUFAL 10519), na qual podemos observar presença de lúmen do túbulo seminífero (*), célula de Sertoli (S), espermatogônia (Eg), e espermatócito (Ec). Coloração Hematoxilina-Eosina. 40X..18
- Figura 4 - Fotomicrografia de testículo de *A. pretrei* (MUFAL 10742), na qual podemos observar a presença de lúmen (*), célula de Sertoli (S), espermatogônia (Eg), espermatócito (Ec), e espermátide (Et). Coloração Hematoxilina-Eosina. 40X.....19
- Figura 5 - Fotomicrografia de testículo de *A. pretrei* (MUFAL 10760), onde podemos observar a presença de lúmen (*), célula de Sertoli (S), espermatogônia (Eg), e espermatócito (Ec). Coloração Hematoxilina-Eosina. 40X.....20
- Figura 6 - Fotomicrografia de testículo de *A. pretrei* (MUFAL 10815), onde observa-se a presença de lúmen (*), célula de Sertoli (S), espermatogônia (Eg), espermatócito (Ec), espermátide (Et), e espermatozoide (Ez). Coloração Hematoxilina-Eosina. 40X.....21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Espécimes macho de <i>Amphisbaena pretrei</i>	16
Tabela 2 - Dados de temperatura e precipitação do ano de 2012 (INMET, 2020)...	16
Tabela 3 - Dados dos espécimes machos de <i>A. pretrei</i> . Comprimento rostro-cloacal (CRC), Comprimento Total do espécime (CT), Comprimento do testículo (CMT), Largura do Testículo (LT), peso do Testículo (PT).....	23

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Relação entre CRC dos espécimes de <i>A. pretrei</i> e os estágios reprodutivos.....	23
Gráfico 2 - Relação entre volume testicular dos espécimes de <i>A. pretrei</i> e os estágios reprodutivos.....	24
Gráfico 3 - Relação entre peso testicular dos espécimes de <i>A. pretrei</i> e os estágios reprodutivos.....	26
Gráfico 4 - Dados mensais de temperatura e precipitação coletados no ano de 2012 (INMET 2020).....	27
Gráfico 5 - Relação entre temperatura média e o estágios reprodutivos dos espécimes de <i>A. pretrei</i>	28
Gráfico 6 - Relação entre precipitação e os estágios reprodutivos dos espécimes de <i>A. pretrei</i>	28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. JUSTIFICATIVA	14
3. OBJETIVOS	15
4. MATERIAIS E MÉTODOS	15
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
6. CONCLUSÃO	30
7. REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

Os répteis recentes compreendem as tartarugas, crocodilianos, tuatara, lagartos, serpentes, e anfisbênias. Atualmente, neste grupo, são reconhecidas mais de 11.400 espécies (UETZ; FREED; HOŠEK, 2021). Os répteis são vertebrados ectotérmicos que obtêm energia para realizar suas atividades de forma direta, expondo seu corpo ao sol, ou indireta, descansando sobre uma rocha previamente aquecida. Portanto, a temperatura do ambiente pode influenciar no comportamento das espécies deste grupo (POUGH; JANIS; HEISER, 2008). A termorregulação em anfisbênias se dá, principalmente, através da procura por locais de temperatura mais amenas, como o solo, e exibindo maior atividade nos períodos de chuva (NAVEGA-GONÇALVES; BENITES, 2019).

As anfisbênias são répteis da ordem Squamata conhecidas popularmente, como cobra de duas cabeças, possuem hábitos extremamente fossoriais, e seus crânios têm uma constituição bastante rígida, o que contribui para a escavação (HICKMAN; ROBERTS; LARSON, 2004; POUGH; JANIS; HEISER, 2008). Têm corpo alongado e anelado. A maioria possui cauda curta, e não possuem membros, com exceção do gênero *Bipes*, da família Bipedidae. Algumas espécies de anfisbênias apresentam autotomização de cauda sem que haja regeneração da mesma. O formato variado de cabeça está intimamente relacionado com o tipo de escavação das espécies e sua alimentação inclui tanto invertebrados quanto vertebrados (POUGH; JANIS; HEISER, 2008; VITT, CALDWELL, 2014).

Seis famílias de anfisbênias são reconhecidas atualmente: Amphisbaenidae, Trogonophidae, Cadeidae, Blanidae, Bipedidae, e Rhineuridae. A família Amphisbaenidae tem em torno de 12 gêneros e 182 espécies. O gênero *Amphisbaena* tem maior quantidade de representantes dentro da família Amphisbaenidae, com 102 espécies reconhecidas. Todos os representantes deste gênero possuem cabeça redonda, porém divergem quanto ao formato da cauda, com ou sem quilha, e podem ou não apresentar autotomia de cauda (MOTT; VIEITES, 2009; UETZ; FREED; HOŠEK, 2021).

A espécie *Amphisbaena pretrei* é endêmica do Brasil (GANS, 1965) e tem grande representatividade no país. Distribui-se ao longo de 1,597,625 km², e pode

ser encontrada desde o Rio Grande do Norte até Minas Gerais. Foi avaliada como menos preocupante (LC) na Lista Vermelha da União Internacional para Conservação da Natureza (UICN). No entanto, apesar de ter sido avaliada como menos preocupante, seu hábito fossorial confere vulnerabilidade à espécie. É necessário, então, que haja proteção, principalmente, em relação aos impactos ambientais que podem destruir seu habitat (MOTT; MORAIS; KAWASHITA-RIBEIRO, 2008; COLLI et al., 2016; UICN, 2020).

A reprodução nos répteis é diversa, a maioria reproduz-se sexuadamente, podendo ser ovíparos ou vivíparos. A espermatogênese ocorre nos túbulos seminíferos, e os espermatozoides podem ser encontrados nos túbulos seminíferos, epidídimo, e ductos deferentes (POUGH; JANIS; HEISER, 2008; VITT; CALDWELL, 2014). Nos répteis são observados dois tipos principais de ciclo reprodutivo: contínuo, quando não há variação na atividade reprodutiva do animal (HERNÁNDEZ-GALLEGOS et al., 2002) e sazonal, quando há variação da atividade reprodutiva ao longo do ano (AGUIRRE; ORTIZ; HERNANDO, 2017).

Os répteis, principalmente lagartos, têm sido alvos de estudos sobre espermatogênese de maneira mais intensa, como, por exemplo, em espécies neotropicais *Tropidurus hispidus* e *Tropidurus semitaeniatus* (RIBEIRO; SILVA; FREIRE, 2012), *Tropidurus torquatus* (VIEIRA et al., 2001), *Iguana iguana* (FERREIRA; LAURA; DOLDER, 2002), e *Aspidocelis (Cnemidophorus) tigris* (GOLDBERG; LOWE, 1966). Vieira et al. (2001) classificam o ciclo reprodutivo do lagarto neotropical *Tropidurus torquatus* em 5 estágios. O estágio 1 é caracterizado pela ausência de lúmen nos túbulos seminíferos e presença de espermatócitos, espermátides, e espermatozoides. O estágio 2 é caracterizado pela abertura do lúmen dos túbulos seminíferos e pela presença de espermatogônias. Também são observados espermatócitos na margem do lúmen dos túbulos seminíferos. O estágio 3 é caracterizado pela presença de espermatogônias e espermatócitos. Além disso, espermátides são observadas na margem do lúmen dos túbulos seminíferos. O estágio 4 é caracterizado pela presença de espermatogônias, espermatócitos, espermátides, e espermatozoides são observados no lúmen dos túbulos seminíferos. O estágio 5 é marcado pela presença de restos celulares no lúmen do túbulo seminífero.

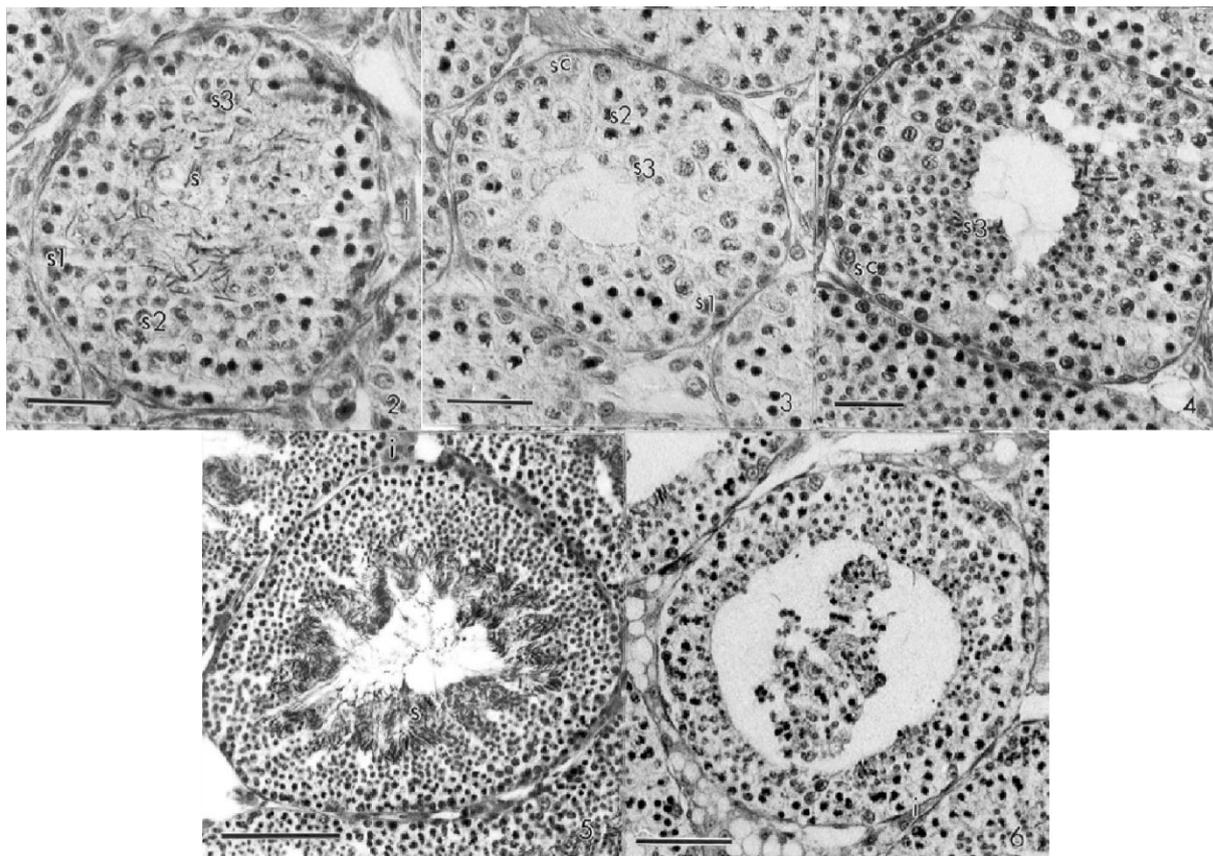


Figura 1 - Fotomicrografias de testículo de *Tropidurus torquatus* mostrando o estágio 1 (Fig. 2), estágio 2 (Fig. 3), estágio 3 (Fig. 4), estágio 4 (Fig. 5), e estágio 5 (Fig. 6).
Fonte: Vieira et al. (2001).

O testículo de *Amphisbaena silvestrii* é semelhante ao testículo de outros anfisbenídeos (CASSEL et al., 2017). Em *Amphisbaena alba*, o ciclo reprodutivo dos machos é sazonal e o período reprodutivo é mais longo do que das fêmeas (COLLI; ZAMBONI, 1999).

2. JUSTIFICATIVA

Em répteis são observados ciclos reprodutivos sazonais e contínuos. Em *Ameiva ameiva* (COLLI, 1991; COLLI; PINHO, 1997), *Tropidurus hispidus* e *Tropidurus semitaeniatus* (RIBEIRO; SILVA; FREIRE, 2012), *Urosaurus bicarinatus* (RAMÍREZ-BAUTISTA; VITT, 1998), *Aspidocelis (Cnemidophorus) tigris* (GOLDBERG; LOWE, 1966), e em *Cercosaura schreibersii* e *Contomastix (Cnemidophorus) lacertoides* (BALESTRIN; CAPPELLARI; OUTEIRAL, 2010) foi observado nos machos ciclo reprodutivo sazonal, porém em *Potamites (Neusticurus) ecleopus* (SHERBROOKE, 1975), *Anolis lineatopus* (GRIBBINS et al., 2009), *Kentropyx calcarata* (FRANZINI et al., 2019), e *Sceloporus bicanthalis* (HERNÁNDEZ-GALLEGOS et al., 2002) foi observado nos machos ciclo reprodutivo contínuo.

Estudos sobre as anfisbênias têm sido realizados de forma progressiva (COLLI; ZAMBONI, 1999; VEGA, 2001; ANDRADE; NASCIMENTO; ABE, 2006; NAVEGA-GONÇALVES, 2009; AGUIRRE; ORTIZ; HERNANDO, 2017; NAVEGA-GONÇALVES; BENITES, 2019). A biologia reprodutiva de *Amphisbaena pretrei* foi inferida com dados de Maceió, município de Alagoas, nordeste do Brasil (MATIAS, 2013). O presente estudo descreve a espermatogênese em *Amphisbaena pretrei* e sua realização colabora para um melhor entendimento dos padrões reprodutivos existentes em anfisbênias, bem como contribui no entendimento dos processos ecológicos e evolutivos (AGUIRRE; ORTIZ; HERNANDO, 2017; CASSEL et al., 2017). Este trabalho também incentiva as pesquisas sobre reprodução em anfisbênias, e contribui para a elucidação da história natural deste grupo.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

- 3.1.1. Descrever a espermatogênese de *Amphisbaena pretrei* através de dados macroscópicos e microscópicos do testículo.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3.2.1. Realizar descrição macroscópica do testículo dos espécimes de *Amphisbaena pretrei* com o auxílio de estereomicroscópio;
- 3.2.2. Descrever o ciclo reprodutivo, avaliando as modificações nas células do epitélio germinativo ao longo do ciclo testicular a fim de determinar se a reprodução em espécimes machos de *Amphisbaena pretrei* é contínua ou sazonal;
- 3.2.3. Avaliar se há correlação entre Comprimento Rostro-Cloacal e as fases do ciclo reprodutivo;
- 3.2.4. Avaliar se há correlação entre volume testicular e peso testicular e as fases do ciclo reprodutivo;
- 3.2.5. Avaliar se há correlação entre precipitação e temperatura e as fases do ciclo reprodutivo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os espécimes utilizados foram obtidos na Coleção Herpetológica do Museu de História Natural da Universidade Federal de Alagoas. Os espécimes foram levados ao Laboratório do Setor de Histologia e Embriologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade Federal de Alagoas.

Foram aferidas as medidas do comprimento rostro-cloacal (CRC) e comprimento total dos espécimes. O testículo direito de cada espécime foi removido e foram aferidas as medidas do comprimento e largura do testículo direito com um paquímetro digital, e foi aferido o peso em uma balança de precisão.

Devido a conservação do espécime em álcool 70%, os testículos foram desidratados a partir de álcool 90%, em seguida, imersos em álcool 100%, diafanizados em xilol, infiltrados, e incluídos em parafina. O material foi cortado utilizando o micrótomo (5µm). Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina-eosina (HE) e revestidos com verniz acrílico para fixação da lamínula à lâmina. O material foi visualizado no microscópio de luz e fotografado com câmera Olympus DP25 acoplada ao microscópio de luz binocular BX51 do Laboratório de Biologia Celular (LBC/UFAL).

Para que houvesse melhor interpretação dos dados do ciclo reprodutivo, decidiu-se que seriam analisados espécimes do mesmo ano e do mesmo local. O ano de 2012 foi escolhido devido a uma maior quantidade de representantes machos da espécie. Todos os espécimes analisados foram coletados no município de Maceió, estado de Alagoas, no bioma Mata Atlântica do Nordeste do Brasil.

Os estágios reprodutivos dos espécimes MUFAL 10519, MUFAL 10742, MUFAL 10760, e MUFAL 10815 (Tabela 1) foram determinados com base no estudo de espermatogênese da espécie *Tropidurus torquatus* (VIEIRA et al., 2001).

Tabela 1 - Espécimes macho de *Amphisbaena pretrei*

Espécimes	Mês da coleta	Ano de coleta	Coletor
MUFAL 10519	Março	2012	C. V. Rocha
MUFAL 10742	Junho	2012	G. Matias
MUFAL 10760	Junho	2012	G. Matias
MUFAL 10815	Agosto	2012	G. Matias

Os dados referentes à precipitação e temperatura foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (Tabela 2).

Tabela 2 - Dados de temperatura e precipitação do ano de 2012 (INMET, 2020)

Mês	Precipitação	Temp. Máx.	Temp. Mín.
Março	139,9	30,3	22,8
Junho	272,8	28,2	22,3

Agosto	154,4	27,5	21,2
--------	-------	------	------

O volume testicular foi estimado usando a fórmula elipsoide $v=4/3\pi abc$, no qual “v” é volume, “a” e “c” são a metade da largura do órgão e “b” a metade do comprimento do órgão. Foram utilizados os testes de correlação de Pearson e regressão linear simples na ferramenta Excel 2019 para estimar a relação entre os dados obtidos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Descrição macroscópica do testículo dos espécimes de *Amphisbaena pretrei*

Os testículos de *Amphisbaena pretrei* mostraram-se alongados, estreitos, e ligeiramente achatados dorsoventralmente, apresentando-se semelhantes aos testículos de *Amphisbaena kingii* (NAVEGA-GONÇALVES, 2009), e *Amphisbaena silvestrii* (CASSEL et al., 2017).

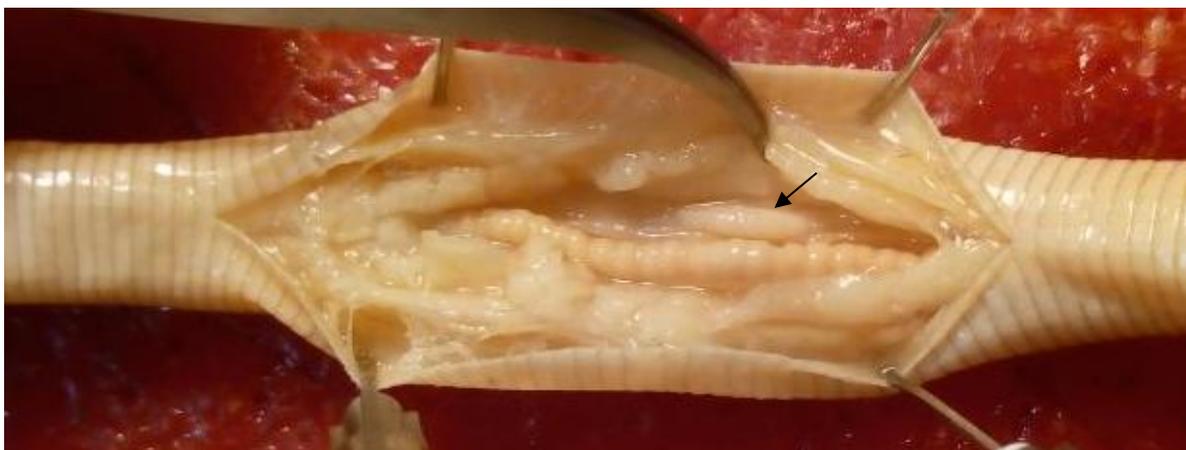


Figura 2 - Fotografia de um exemplar de *A. pretrei* mostrando o testículo direito (seta). Fotografia obtida por meio da câmera Samsung WB100.

5.2. Descrição do ciclo reprodutivo

Nos espécimes de *Amphisbaena pretrei* analisados, foi possível observar as fases do ciclo reprodutivo, e ao avaliar o epitélio germinativo determinou-se o estágio do ciclo reprodutivo de cada espécime. Foram observados os estágios 2, 3, e 4 do ciclo testicular (figuras 3 a 6), descritos a seguir.

No espécime MUFAL 10519, coletado no início do outono (março), podemos observar o estágio 2 no qual o lúmen do túbulo seminífero está aberto, há a presença de célula de Sertoli, espermatogônia próximo à base do epitélio, e espermatócitos na margem do lúmen do túbulo seminífero (Figura 3).

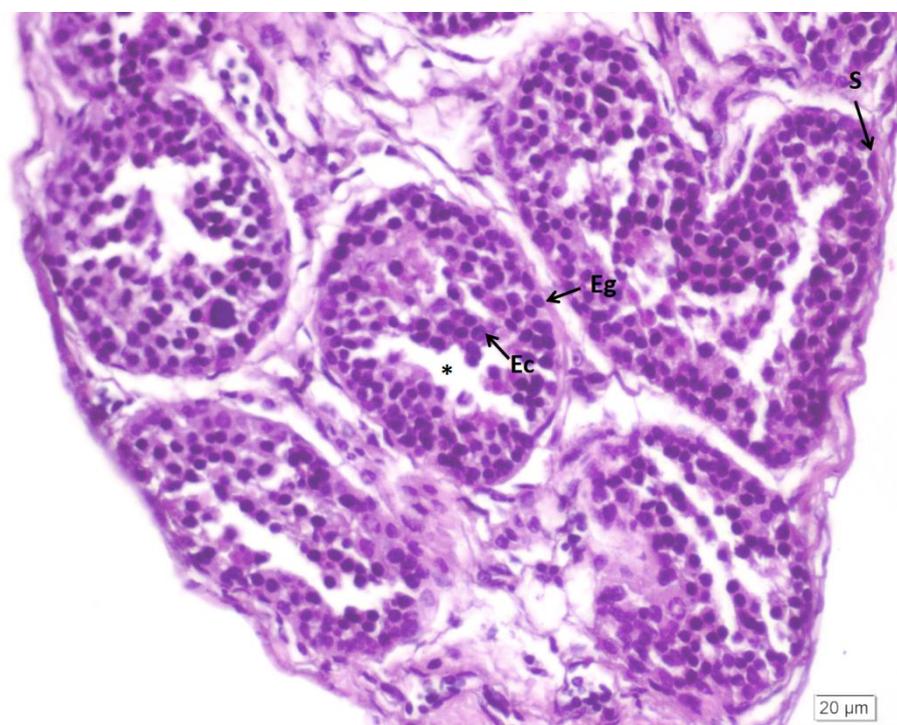


Figura 3 - Fotomicrografia de testículo de *A. pretrei* (MUFAL 10519), na qual podemos observar presença de lúmen do túbulo seminífero (*), célula de Sertoli (S), espermatogônia (Eg), e espermatócito (Ec). Coloração Hematoxilina-Eosina. 40X.

No espécime MUFAL 10742, coletado no final do outono (junho), podemos observar o estágio 3, com a presença de espermatogônia na base do epitélio germinativo, espermatócitos próximos ao lúmen do túbulo seminífero, e espermatídes tardias na margem do lúmen do túbulo seminífero. Este espécime de *A. pretrei* foi considerado reprodutivo pelo fato de apresentar espermatídes tardias na margem do lúmen do túbulo seminífero (Figura 4).

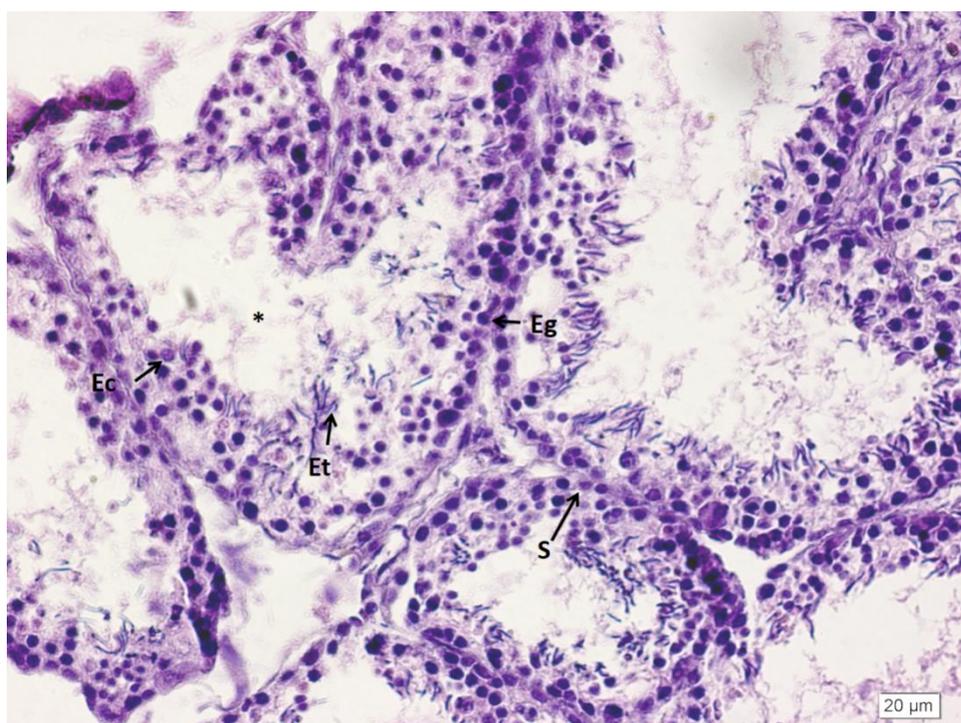


Figura 4 - Fotomicrografia de testículo de *A. pretrei* (MUFAL 10742), na qual podemos observar a presença de lúmen (*), célula de Sertoli (S), espermatogônia (Eg), espermatócito (Ec), e espermatíde (Et). Coloração Hematoxilina-Eosina. 40X.

No espécime MUFAL 10760, coletado no final do outono (junho), observa-se o estágio 2, onde podemos observar o lúmen do túbulo seminífero, células de Sertoli, espermatogônia, e espermatócitos na margem do lúmen do túbulo seminífero (Figura 5).

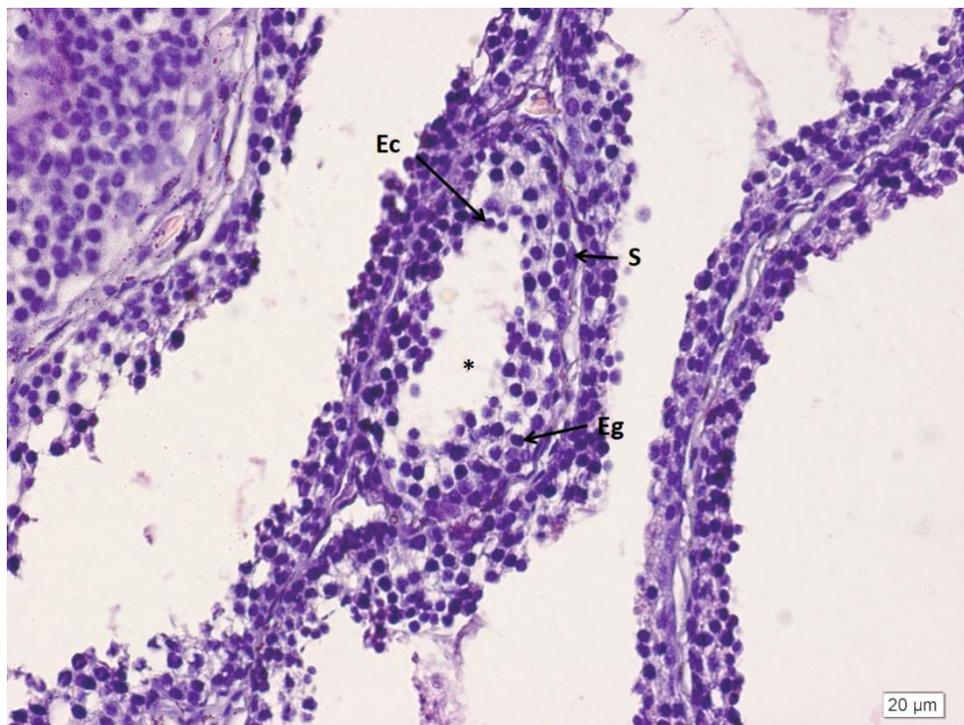


Figura 5 - Fotomicrografia de testículo de *A. pretrei* (MUFAL 10760), onde podemos observar a presença de lúmen (*), célula de Sertoli (S), espermatogônia (Eg), e espermatócito (Ec). Coloração Hematoxilina-Eosina. 40X.

No espécime MUFAL 10815, coletado no inverno (agosto), podemos observar o estágio 4, com células de Sertoli e espermatogônia na base do epitélio germinativo, espermatócito, e espermatídes próximo à margem do lúmen do túbulo seminífero, e espermatozoides no lúmen do túbulo seminífero (Figura 6).

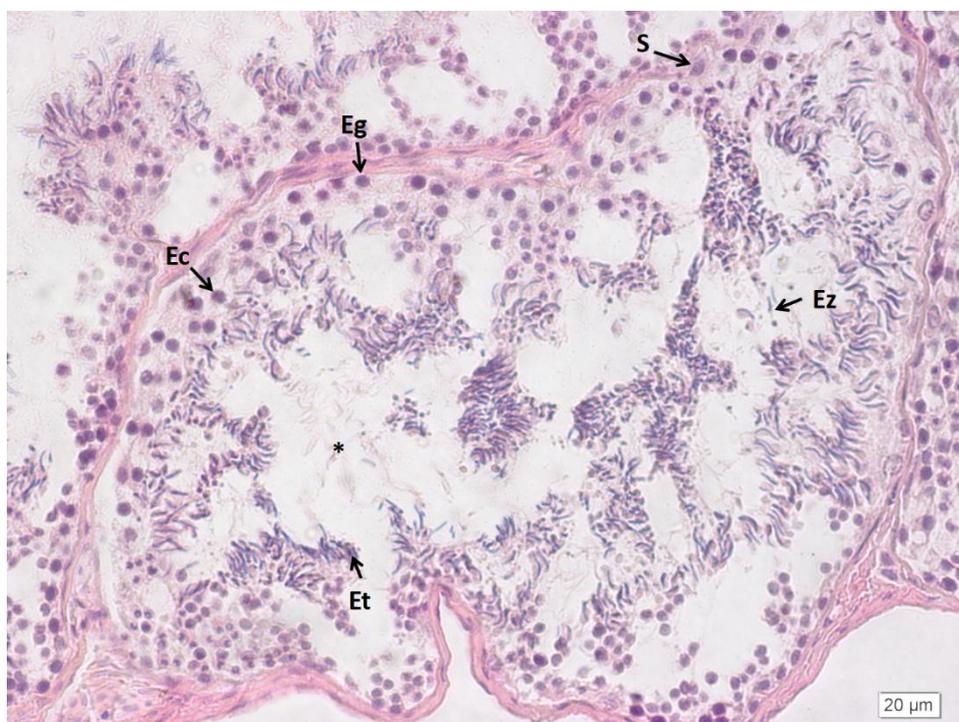


Figura 6 - Fotomicrografia de testículo de *A. pretrei* (MUFAL 10815), onde observa-se a presença de lúmen (*), célula de Sertoli (S), espermatogônia (Eg), espermatócito (Ec), espermatíde (Et), e espermatozoide (Ez). Coloração Hematoxilina-Eosina. 40X.

No presente estudo, foram observadas modificações nas células do epitélio germinativo ao longo do ciclo testicular, caracterizando 4 estágios reprodutivos. O espécime MUFAL 10519 e o espécime MUFAL 10760 não apresentam-se em estágio reprodutivo. O espécime MUFAL 10742 e o espécime MUFAL 10815 apresentaram-se reprodutivos.

Dados morfológicos macroscópicos foram utilizados para determinar o ciclo reprodutivo em répteis. Em *Cnemidophorus lemniscatus*, o ciclo reprodutivo foi considerado sazonal a partir da observação do comprimento dos testículos (MAGNUSSON, 1987). Em *Ameivula ocellifera*, o ciclo reprodutivo foi considerado contínuo por meio da observação do volume testicular (SALES; FREIRE, 2016). Em

Amphisbaena alba, o ciclo reprodutivo foi considerado sazonal através da observação do volume testicular e dos epidídimos que apresentaram-se enovelados (COLLI; ZAMBONI, 1999). Em *Amphisbaena (Anops) kingii*, o ciclo reprodutivo foi considerado sazonal a partir do peso dos testículos e aspecto dos epidídimos (VEGA, 2001).

Dados morfológicos microscópicos foram utilizados para determinar o ciclo reprodutivo. Os machos de *Amphisbaena mertensii* coletados no outono (maio) apresentavam espermátocitos na margem do lúmen, sendo considerados não reprodutivos. O período reprodutivo da espécie *A. mertensii* ocorreu de meados do outono até o final da primavera, e os espécimes coletados desde o inverno (agosto) até o final da primavera (dezembro) apresentaram os túbulos seminíferos repletos de espermatozoides (estágio 4). Além disso, o volume testicular destes espécimes foram os maiores registrados. Dessa forma, com base na variação da reprodução de *A. mertensii* ao longo do ano, o ciclo reprodutivo da espécie foi considerado sazonal (AGUIRRE; ORTIZ; HERNANDO, 2017). Semelhante ao que foi observado em *A. mertensii*, o espécime de *A. pretrei* (MUFAL 10519) coletado no início do outono (março) apresentava-se não reprodutivo (estágio 2). Os túbulos seminíferos do espécime de *A. pretrei* (MUFAL 10815) coletado no inverno (agosto) apresentaram-se repletos de espermatozoides e reprodutivo (estágio 4). As variações do desenvolvimento observadas em *A. pretrei* a partir da realização dos procedimentos, análises histológicas e morfológicas, dão evidências de que o ciclo reprodutivo da espécie seja sazonal.

5.3. Correlação entre Comprimento Rostro-Cloacal e as fases do ciclo reprodutivo

Foram analisados 4 espécimes machos de *A. pretrei*. O espécime MUFAL 10519, coletado no início do outono (março), apresentou o menor CRC (Tabela 3) e se encontra no estágio 2 do ciclo reprodutivo. O espécime MUFAL 10760, coletado no final do outono (junho), apresentou o maior CRC (Tabela 3) e se encontra no estágio 2 do ciclo reprodutivo. O espécime MUFAL 10742, coletado no final do outono (junho) se encontra no estágio 3 do ciclo reprodutivo. O espécime MUFAL 10815, coletado no inverno (agosto), se encontra no estágio 4 do ciclo reprodutivo e foi o menor macho reprodutivo (Tabela 3). Não foi observada relação significativa entre o CRC dos espécimes e os estágios reprodutivos ($p= 0,990$) (Gráfico 1).

Tabela 3 - Dados dos espécimes machos de *A. pretrei*. Comprimento rostro-cloacal (CRC), Comprimento Total do espécime (CT), Comprimento do testículo (CMT), Largura do Testículo (LT), peso do Testículo (PT).

Espécimes	Mês de coleta	CRC (mm)	CT (mm)	CMT (mm)	LT (mm)	PT (g)
MUFAL 10519	Março	222	247	7,71	0,99	0,004
MUFAL 10815	Agosto	277	309	13,90	3,00	0,047
MUFAL 10742	Junho	282	319	9,81	1,80	0,007
MUFAL 10760	Junho	292	332	7,55	1,45	0,007
MÉDIA		279,5	314	8,76	1,62	0,007

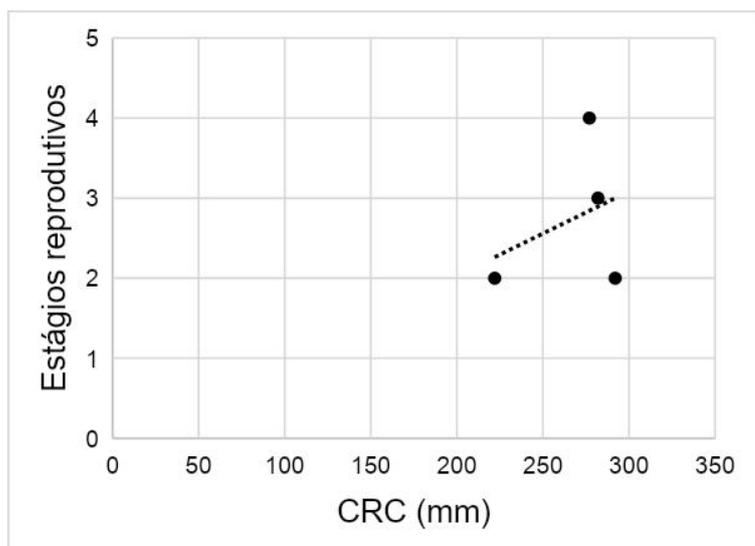


Gráfico 1 - Relação entre CRC dos espécimes de *A. pretrei* e os estágios reprodutivos.

O CRC dos 4 espécimes analisados variou entre 222 mm e 292 mm, valores referentes ao menor e maior macho, MUFAL 10519 e MUFAL 10760, respectivamente. Entretanto o CRC de machos de *A. pretrei* de Alagoas (MATIAS, 2013) variou entre 141 mm e 381 mm, e a maturidade sexual foi estipulada entre 228 e 381 mm de CRC. Não foi possível, diante do tamanho amostral reduzido, estipular a maturidade sexual dos espécimes de *A. pretrei* do presente estudo.

5.4. Correlação entre volume testicular e peso testicular e as fases do ciclo reprodutivo

Uma relação positiva entre os estágios reprodutivos dos espécimes de *A. pretrei* do presente estudo e o volume testicular foi observada ($r = 0,941$) e esta apresentou-se significativa ($p = 0,018$) (Gráfico 2).

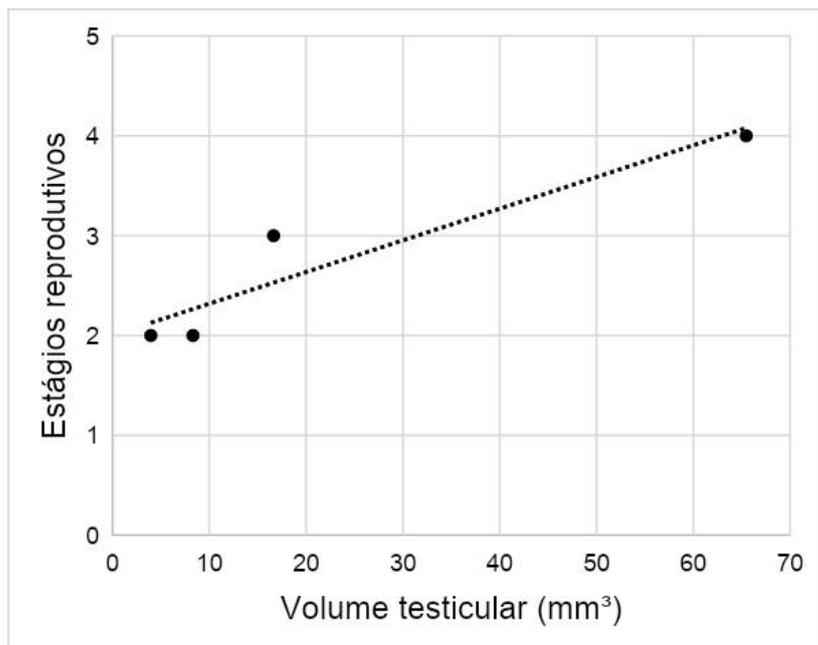


Gráfico 2 - Relação entre volume testicular dos espécimes de *A. pretrei* e os estágios reprodutivos.

O peso dos testículos tem relação significativa com os estágios reprodutivos ($r = 0,885$, $p = 0,030$) (Gráfico 3).

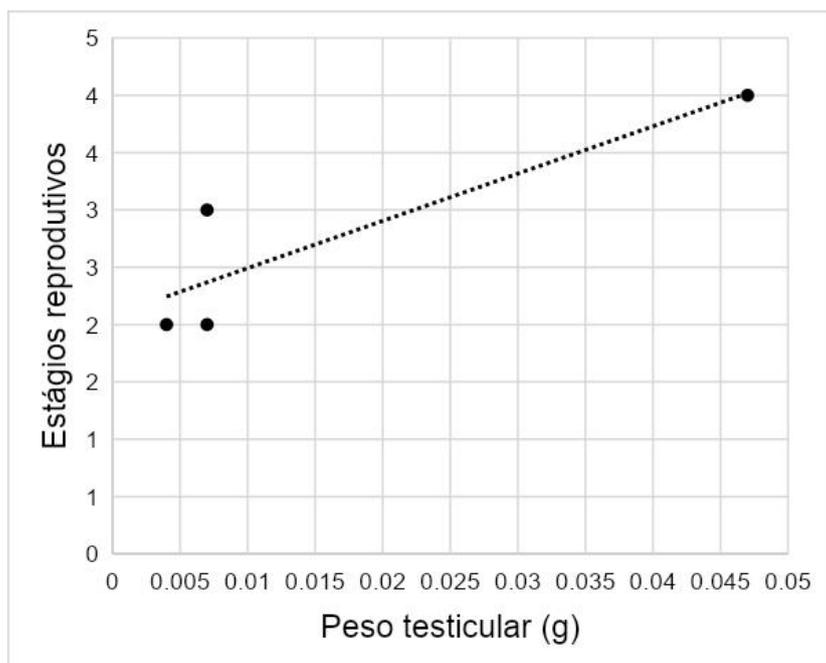


Gráfico 3 - Relação entre peso testicular dos espécimes de *A. pretrei* e os estágios reprodutivos.

A relação significativa entre o volume testicular e peso testicular, e os estágios reprodutivos também foi observada em *Amphisbaena mertensii*, na qual os espécimes com os maiores valores de volume testicular, apresentavam-se no estágio 4 do ciclo reprodutivo (AGUIRRE; ORTIZ; HERNANDO, 2017). O espécime MUFAL 10815 apresentou maior volume testicular no inverno (agosto) no presente estudo, e apresentou-se reprodutivo. Em *Amphisbaena (Anops) kingii*, foi observado maior volume e peso testicular no mesmo período (inverno) (VEGA, 2001).

5.5. Correlação entre temperatura e precipitação e as fases do ciclo reprodutivo

No início do outono (março), onde a precipitação foi de 132,9 mm e a temperatura média de 26,6°C, foi coletado o espécime de *A. pretrei* (MUFAL 10519) não reprodutivo (encontra-se no estágio 2 do ciclo reprodutivo). No final do outono (junho), onde a precipitação foi a mais alta registrada, foi coletado o espécime de *A. pretrei* (MUFAL 10760) não reprodutivo (encontra-se no estágio 2). No mesmo período (junho), foi coletado o espécime de *A. pretrei* (MUFAL 10742) reprodutivo (encontra-se no estágio 3). No inverno (agosto), onde a temperatura média foi a

mais baixa do ano de 2012, foi coletado o espécime de *A. pretrei* (MUFAL 10815) reprodutivo (encontra-se no estágio 4). Os dados referentes à precipitação e temperatura de todos os meses do ano de 2012 foram plotados num gráfico para melhor visualização das relações destes dados e os estágios reprodutivos (Gráfico 4).

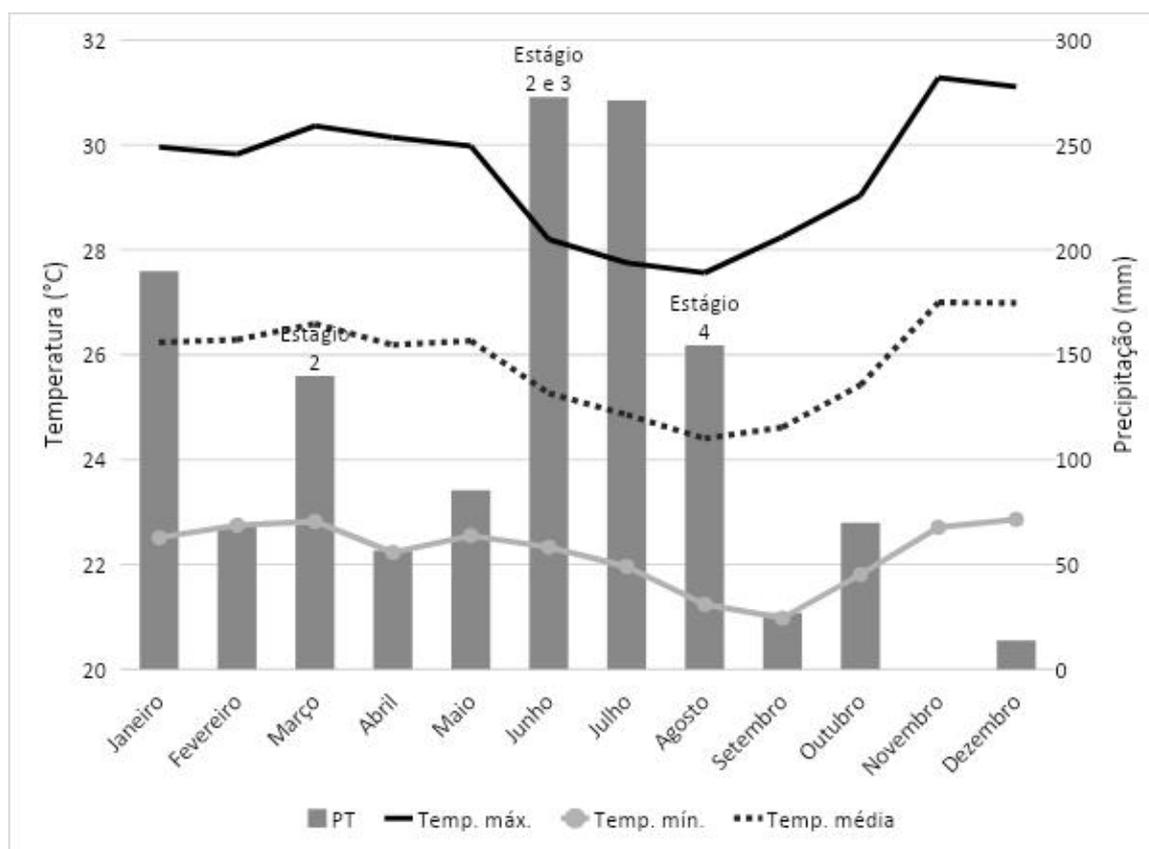


Gráfico 4 - Dados mensais de temperatura e precipitação coletados no ano de 2012 (INMET 2020).

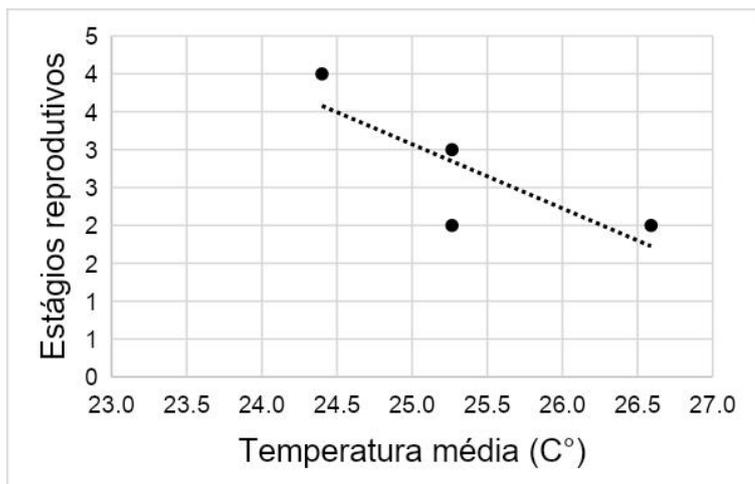


Gráfico 5 - Relação entre temperatura média e o estágios reprodutivos dos espécimes de *A. pretrei*.

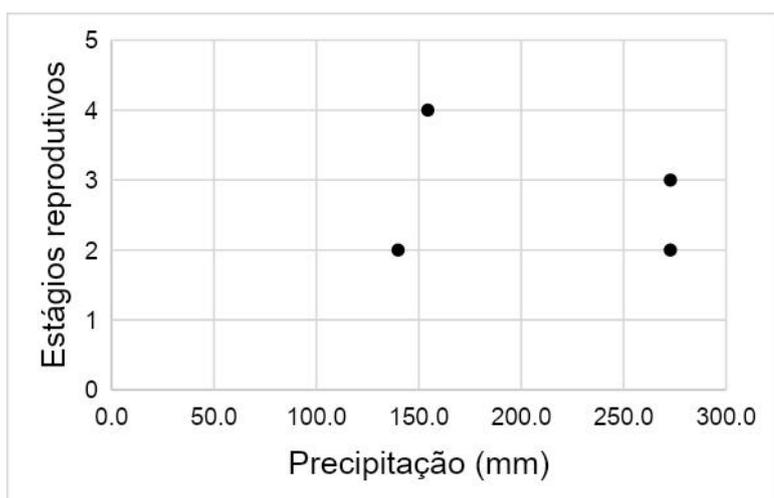


Gráfico 6 - Relação entre precipitação e os estágios reprodutivos dos espécimes de *A. pretrei*.

Em *A. pretrei*, foi observada uma relação inversa entre a temperatura média ($r = -0,799$) e os estágios reprodutivos, todavia esta correlação não é significativa ($p = 0,168$) (Gráfico 5). A correlação entre os dados de precipitação e os estágios reprodutivos é baixa ($r = 0,231$) e não é significativa ($p = 0,229$) (Gráfico 6).

Em *Ameivula ocellifera*, o volume testicular não variou ao longo do ano, a relação entre temperatura e precipitação e o estado reprodutivo não foi observada, e o ciclo reprodutivo foi considerado sazonal (SALES; FREIRE, 2016). Em *Tropidurus itambere*, o ciclo reprodutivo foi considerado sazonal e foi observada uma relação entre precipitação e o período reprodutivo (FERREIRA et al., 2009). Semelhante ao que foi observado em *A. ocellifera*, os espécimes de *A. pretrei* não apresentaram uma relação entre temperatura e precipitação e os estágios reprodutivos, no entanto, apresentaram variação no volume testicular ao longo do ano. Também, em *A. pretrei* foram observadas células germinativas mais desenvolvidas, ou seja, espermatozoides nos túbulos seminíferos durante o inverno, no período mais chuvoso e de temperaturas mais baixas.

6. CONCLUSÃO

Nossos resultados sugerem que o ciclo reprodutivo da espécie *Amphisbaena pretrei* seja sazonal.

Não foi observada uma relação significativa entre o CRC dos espécimes e os estágios reprodutivos. Este dado pode indicar que o CRC não seja um indicativo de que o espécime esteja reprodutivo.

Existe correlação significativa entre volume testicular e os estágios reprodutivos. Essa relação é positiva, como indicada pelo teste de correlação de Pearson. Portanto, ao passo que o testículo do espécime aumenta em volume, é possível observar um estágio reprodutivo mais avançado.

Uma relação significativa entre temperatura e precipitação, e os estágios reprodutivos não foi observada. O resultado pode ter sido influenciado negativamente devido ao número baixo de espécimes.

7. REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, F. D.; ORTIZ, M. A.; HERNANDO, A. B. Testicular cycle of *Amphisbaena mertensii* Strauch, 1881 (Squamata: Amphisbaenidae) in northeastern Argentina. **Herpetology Notes**, v. 10, n. May, p. 141–145, 2017.
- ANDRADE, D. V.; NASCIMENTO, L. B.; ABE, A. S. Habits hidden underground: a review on the reproduction of the Amphisbaenia with notes on four neotropical species. **Amphibia-Reptilia**, v. 27, n. 2, p. 207–217, 2006.
- BALESTRIN, R. L.; CAPPELLARI, L. H.; OUTEIRAL, A. B. Biologia reprodutiva de *Cercosaura schreibersii* (Squamata, Gymnophthalmidae) e *Cnemidophorus lacertoides* (squamata, teiidae) no escudo Sul-Riograndense, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 1, p. 132–139, 2010.
- CASSEL, M. et al. Spermatogenesis of *Amphisbaena silvestrii* (Boulenger, 1902): First Report for Amphisbaenidae. **Journal of Herpetology**, v. 51, n. 1, p. 109–113, 2017.
- COLLI, G. R. Reproductive Ecology of *Ameiva ameiva* (Sauria, Teiidae) in the Cerrado of Central Brazil. **Copeia**, v. 1991, n. 4, p. 1002, 1991.
- COLLI, G. R.; PINHO, A. A. Interstitial cell cycle of *Ameiva ameiva* (Sauria, Teiidae) in the Cerrado region of Central Brazil. **Journal of Morphology**, v. 233, n. 2, p. 99–104, 1997.
- COLLI, G. R.; ZAMBONI, D. S. Ecology of the Worm-Lizard *Amphisbaena alba* in the Cerrado of Central Brazil. **Copeia**, v. 1999, n. 3, p. 733–742, 2 ago. 1999.
- COLLI, G. R. et al. In the depths of obscurity: Knowledge gaps and extinction risk of Brazilian worm lizards (Squamata, Amphisbaenidae). **Biological Conservation**, v. 204, p. 51–62, 2016.
- 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.**, v. 69, n. 2, p. 429–435, 2009.

FERREIRA, A.; LAURA, I. A.; DOLDER, H. Reproductive cycle of male green iguanas, *Iguana iguana* (Reptilia: Sauria: Iguanidae), in the Pantanal region of Brazil. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 19, n. 1, p. 23–28, 2002.

FRANZINI, L. D. et al. Autecology of *Kentropyx calcarata* (Squamata: Teiidae) in a Remnant of Atlantic Forest in Eastern South America. **Journal of Herpetology**, v. 53, n. 3, p. 209, 2019.

GANS, C. Redescription of *Amphisbaena pretrei* Dumeril and Bibron and *A. leucocephala* Peters, with a Discussion of Their Relation and Synonymy (Amphisbaenia: Reptilia). **American Midland Naturalist**, v. 74, n. 2, p. 387–407, 1965.

GOLDBERG, S. R.; LOWE, C. H. The Reproductive Cycle of the Western Whiptail Lizard (*Cnemidophorus tigris*) in Southern Arizona. **Journal of Morphology**, v. 188, n. 4, p. 543–548, 1966.

GRIBBINS, K. M. et al. Continuous spermatogenesis and the germ cell development strategy within the testis of the Jamaican Gray Anole, *Anolis lineatopus*. **Theriogenology**, v. 72, n. 4, p. 484–492, 2009.

HERNÁNDEZ-GALLEGOS, O. et al. Continuous spermatogenesis in the lizard *Sceloporus bicanthalis* (Sauria: Phrynosomatidae) from high elevation habitat of Central Mexico. **Herpetologica**, v. 58, n. 4, p. 415–421, 2002.

HICKMAN, C. P.; ROBERTS, L. S.; LARSON, A. Princípios integrados de zoologia. 11 ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2004.

INMET, 2020. **Instituto Nacional de Meteorologia**. <https://portal.inmet.gov.br/> (acessado em 25 de maio de 2020).

MAGNUSSON, W. E. Reproductive Cycles of Teiid Lizards in Amazonian Savanna. **Journal of Herpetology**, v. 21, n. 4, p. 307–316, 1987.

MATIAS, Gesika D. A. Dimorfismo sexual e aspectos da biologia reprodutiva dos anfisbenídeos neotropicais *Amphisbaena lumbricalis* e *A. pretrei* (Squamata: Amphisbaenidae) do nordeste brasileiro. **Monografia** (Bacharel em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 50 p., 2013.

MOTT, T.; MORAIS, D. H.; KAWASHITA-RIBEIRO, R. A. Reptilia, Squamata, Amphisbaenidae, *Anops bilabialatus*: distribution extension, meristic data, and conservation. **Check List**, v. 4, n. 2, p. 146–150, 1 maio 2008.

MOTT, T.; VIEITES, D. R. Molecular phylogenetics reveals extreme morphological homoplasy in Brazilian worm lizards challenging current taxonomy. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 51, n. 2, p. 190–200, 2009.

NAVEGA-GONÇALVES, M. E. C. Anatomia visceral comparada de seis espécies de Amphisbaenidae (Squamata: Amphisbaenia). **Zoologia (Curitiba)**, v. 26, n. 3, p. 511–526, set. 2009.

NAVEGA-GONÇALVES, M. E. C. & BENITES, J. P. A. Amphisbaenia: adaptações para o modo de vida fossorial. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 20, n. 2, p. 1–30, 2019.

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

RAMÍREZ-BAUTISTA, A.; VITT, L. J. Reproductive biology of *Urosaurus bicarinatus* (Sauria: Phrynosomatidae) from a tropical dry forest of Mexico. **The Southwestern Naturalist**, v. 43, n. 3, p. 381–390, 1998.

RIBEIRO, L. B.; SILVA, N. B.; FREIRE, E. M. X. Reproductive and fat body cycles of *Tropidurus hispidus* and *Tropidurus semitaeniatus* (Squamata, Tropiduridae) in a caatinga area of northeastern Brazil. **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 85, n. 3, p. 307–320, 2012.

SALES, R. F. D.; FREIRE, E. M. X. Reproductive biology of a whiptail lizard (Teiidae: *Ameivula*) in the Brazilian Caatinga. **Salamandra**, v. 52, n. 2, p. 189–196, 2016.

SHERBROOKE, W. C. Reproductive Cycle of a Tropical Teiid Lizard, *Neusticurus epleopus* Cope, in Peru. **Biotropica**, v. 7, n. 3, p. 194–207, 1975.

UETZ, P.; FREED, P. & HOŠEK, J. (eds.). **The Reptile Database**, 2020. Disponível em: < <http://www.reptile-database.org/db-info/SpeciesStat.html>>. Acessado em: 24 de fevereiro de 2021.

UICN, 2020. Lista vermelha de espécies ameaçadas da UICN. Versão 2020-1. <https://www.iucnredlist.org/>. (acessado em 19 de julho de 2020).

VEGA, L. E. Reproductive and feeding ecology of the amphisbaenian *Anops kingii* in East-Central. **Amphibia Reptilia**, v. 22, n. 4, p. 447–454, 2001.

VIEIRA, G. et al. Spermiogenesis and testicular cycle of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) in the Cerrado of central Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v. 22, p. 217–233, 2001.

VITT, L. J. & CALDWELL, J. P. Herpetology. An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. Fourth Edition. Amsterdam: **Elsevier**, 2014.