

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COMPORTAMENTO E BIOLOGIA ANIMAL

**Caracterização morfo-histológica do segmento sexual renal e
espermatogênese de *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) e *Aspronema
dorsivittatum* (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae)**

Paola Rosa de Oliveira

Juiz de Fora

2017

Caracterização morfo-histológica do segmento sexual renal e espermatogênese de *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) e *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração: Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Iara Alves Novelli

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Bernadete Maria de Sousa

Juiz de Fora

2017

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Oliveira, Paola Rosa de.

Caracterização morfo-histológica do segmento sexual renal e espermatogênese de *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) e *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae) / Paola Rosa de Oliveira. -- 2017.

73 f. : il.

Orientadora: Iara Alves Novelli

Coorientadora: Bernadete Maria de Sousa

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, 2017.

1. Biologia reprodutiva em Reptilia. 2. Lagartos vivíparos. 3. Segmento sexual renal. 4. Espermatogênese. I. Novelli, Iara Alves, orient. II. Sousa, Bernadete Maria de, coorient. III. Título.

Paola Rosa de Oliveira

Caracterização morfo-histológica do segmento sexual renal e espermatogênese de *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) e *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 22 de fevereiro de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Iara Alves Novelli (Orientadora)
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dra. Bernadete Maria de Sousa (Co-orientadora)
Universidade de Santo Amaro

Prof. Dr. Oscar Rocha Barbosa
Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Dr. Samuel Campos Gomides
Pesquisador Autônomo

“Aqueles que passam por nós, não vão sós,
não nos deixam sós. Deixam um pouco de
si, levam um pouco de nós”

O Pequeno Príncipe
(Antoine de Saint-Exupéry)

AGRADECIMENTOS

À Deus e a Nossa Senhora Aparecida, por me guiarem nessa caminhada, mostrando-me o melhor caminho a seguir.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo fomento para pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Comportamento e Biologia Animal, pelo ensino e oportunidade de realização do estudo.

Aos lagartos, o meu intenso amor recém descoberto, que me despertam tamanha curiosidade e que possibilitaram a realização deste trabalho.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Iara Alves Novelli, por ter se tornado mais que uma orientadora. Por nunca medir esforços para a conclusão do nosso projeto. Foi um prazer imenso ter você como orientadora e que venham mais trabalhos e parcerias!

À minha co-orientadora, Prof.^a Dr.^a Bernadete Maria de Sousa, por acreditar no meu potencial, confiando em mim como pessoa e profissional. Obrigada por todos os conselhos e experiências compartilhadas...

À Prof.^a Dr.^a Maria Christina M. N. Castañon, por ser mais que uma simples colaboradora. Agradeço pelos conhecimentos compartilhados, tanto pessoal quanto profissional. Você é uma parte muito importante desse projeto e merece todo o reconhecimento!

Ao Prof. Dr. Fabiano Matos Vieira, por dividir suas experiências e se mostrar sempre disponível a esclarecer dilemas durante esse percurso. Obrigada pela ajuda com as 'tecnologias', sem você estaria agarrada até agora com as imagens!

À Prof.^a Dr.^a Juliane Floriano Lopes Santos, pela disponibilidade e assistência durante as análises estatísticas.

Aos técnicos administrativos do Programa de Pós-Graduação em Comportamento e Biologia Animal, Marlú Carvalho Ferreira e Osmar Goulart Cunha, e a técnica administrativa do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Gislaine Matos Bento, pela disposição, atenção e eficiência sem igual!

À técnica do Laboratório de Histologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Lúcia Mara Januário dos Anjos, por compartilhar sua experiência e aprendizado, e por inúmeras vezes nos ‘socorrer’ nos momentos de desespero. Sua contribuição foi essencial!

Ao técnico do Serviço de Anatomia Patológica (SAP) da Santa Casa de Juiz de Fora, Adalto Regino da Silva, por dividir suas experiências e auxílio com as colorações especiais. Muito obrigada!

À minha mãe Dolores de Carvalho Rosa e minha irmã Bruna Rosa, por serem meu porto seguro, minhas maiores incentivadoras, meus pilares e exemplos. Obrigada por todo apoio, amo vocês!

Ao meu pai Paulo Almeida Oliveira, sua ausência nunca será preenchida e nossos momentos nunca serão esquecidos!!!

À toda a Família Rosa, por compartilhar meus sucessos e me amparar nos momentos difíceis.

Aos queridos estagiários Larissa Cardoso Barbosa, Caroline Nogueira Aguiar, Matheus Nehrer Rodrigues e Isabele Araújo Granato, por não medirem esforços durante o processamento histológico e sempre se mostrarem disponíveis e animados para fazer o necessário. Com certeza essas horas de laboratório ficaram menos cansativas e mais divertidas com a presença e amizade de vocês!

À Doutoranda Sarah da Silva Mendes, por compartilhar angústias e sucessos durante todo esse período e por ser mais que uma colega de bancada, uma grande amiga de vida!

Ao Doutorando Robson Henrique Carvalho, por ser meu maior incentivador para seguir na área de Herpetologia - Répteis; sem o seu apoio inicial, nada disso seria possível!

À Doutoranda Pilar Cozendey Silva, por compartilhar experiências na histologia e na fotodocumentação das lâminas. Obrigada pelos conselhos, foram muito bem-vindos nos momentos de aflição!

Aos amigos do Laboratório de Répteis da Universidade Federal de Juiz de Fora (Herpetofriends), por me ensinarem que independentemente da situação, continue a nadar; e se precisar, nadaremos contigo!

Aos amigos do Laboratório Odile Bain, em especial a Prof.^a Dr.^a Sueli de Souza Lima, por me receber de braços abertos e oferecer mais que o necessário para a execução desse projeto.

Às amigas de graduação e de vida Ludymila Cruz, Ludemila Martins, Ana Luiza Franco, Flávia Rangel e Victória R. Campos, que apesar das minhas ausências, sempre estão presentes, dividindo e comemorando minhas conquistas.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente com este trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Abreviações e Siglas	iii
Lista de Tabelas	v
Lista de Figuras	vi
Resumo	ix
Abstract	xi
Introdução Geral	20
Reprodução em Répteis.....	20
Segmento Sexual Renal.....	22
Espermatogênese.....	23
Espécies estudadas.....	25
Referências.....	28
Objetivos	34
Objetivo geral.....	34
Objetivos específicos.....	34
Capítulo I: Caracterização morfo-histológica do segmento sexual renal de <i>Notomabuya frenata</i> (Cope, 1862) e <i>Aspronema dorsivittatum</i> (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae)	35
Resumo.....	35
Abstract.....	36
Introdução.....	36
Material e Métodos.....	37
Espécimes estudados.....	37
Microscopia de luz.....	38

Microscopia eletrônica de varredura.....	38
Resultados.....	39
Aspecto geral macroscópico do rim.....	39
Aspecto geral microscópico do rim.....	39
Segmento sexual renal.....	40
Discussão.....	47
Características do SSR.....	47
Agradecimentos.....	53
Referências.....	54
Capítulo II: Espermatogênese e organização do epitélio germinativo <i>Notomabuya frenata</i> (Cope, 1862) e <i>Aspronema dorsivittatum</i> (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae).....	57
Resumo.....	57
Abstract.....	58
Introdução.....	58
Material e Métodos.....	60
Espécimes estudados.....	60
Microscopia de luz.....	60
Estágios de maturação da espermatogênese.....	61
Resultados.....	62
Dados morfométricos.....	62
Aspecto geral macroscópico dos testículos e epidídimos.....	63
Análise microscópica dos testículos.....	63
Análise microscópica dos epidídimos.....	66
Discussão.....	67
Agradecimentos.....	70
Referências.....	71

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

- A = Espermatogônia do tipo A
- AB = Alcian Blue
- At = Área de transição
- B = Espermatogônia do tipo B, Células basais
- Cr = Corpúsculo renal
- CRC = Comprimento rostro-cloacal
- Ec = Espermatócito
- Ed = Epidídimo direito
- Ee = Epidídimo esquerdo
- Eg = Epitélio germinativo
- Ep = Epitélio colunar, Epitélio do ducto epididimário
- Et = Espermátide
- Ez = Espermatozóide
- Gs = Grânulos secretores
- H&E = Hematoxilina-eosina
- I = Interstício
- Lu = Lúmen
- MC = Massa corpórea
- Na = Não analisado
- Ne = Não especificado
- P = Células principais
- PAS = Ácido Periódico de Schiff
- RBMSC= Reserva Biológica Municipal Santa Cândida.

- Rd = Rim direito
- Re = Rim esquerdo
- S = Células de Sertoli
- SSR / Ssr = Segmento sexual renal
- TC / Tc = Túbulo coletor
- TCD / Tcd = Túbulo contorcido distal
- TCP / Tcp = Túbulo contorcido proximal
- Td = Testículo direito
- Te = Testículo esquerdo
- Vs / V = Vaso sanguíneo

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1: Características do segmento sexual renal de répteis Squamata já estudados e as observadas em *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum* (presente estudo). (Na) não analisado; (Ne) não especificado; (TC) túbulo coletor; (TCP) túbulo contorcido proximal; (TCD) túbulo contorcido distal; (+) PAS/AB positivo; (-) PAS/AB negativo.

*Classificação taxonômica segundo Pyron et al., 2013.....**50**

Capítulo II

Tabela 1: Data de coleta dos espécimes analisados de *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum* na Reserva Biológica Unilavras – Boqueirão, Ingaí, Minas Gerais.....**61**

LISTA DE FIGURAS

Introdução Geral

Fig. 1. A-B. Fotografia de *Notomabuya frenata* (A) e *Aspronema dorsivittatum* (B) coletados na área de Cerrado *sensu strictu* na Reserva Biológica Unilavras – Boquierão, Ingai, Minas Gerais. Foto: Novelli, I.A.....27

Capítulo I

Fig. 1. A-C. Macrofotografias do sistema urogenital de *Aspronema dorsivittatum*. Fotografia dos rins de *N. frenata* (B) e de *A. dorsivittatum* (C). Testículo direito (Td); Testículo esquerdo (Te); Epidídimo direito (Ed); Epidídimo esquerdo (Ee); Rim direito (Rd); Rim esquerdo (Re). Foto: Novelli, I.A.....39

Fig. 2. A-D. Microfotografias de cortes do rim em *Notomabuya frenata* (A-B) e *Aspronema dorsivittatum* (C-D) coradas com hematoxilina-eosina (H&E). Corpúsculo renal (Cr); Túbulo contorcido proximal (Tcp); Túbulo contorcido distal (Tcd); Túbulo coletor (Tc); Segmento sexual renal (*); Vaso sanguíneo (Vs).....41

Fig. 3. A-D. Microfotografias de cortes do rim de *Notomabuya frenata* (A-B) e *Aspronema dorsivittatum* (C-D) corados com ácido periódico de Schiff (PAS). Corpúsculo renal (Cr); Segmento sexual renal (*); Área de transição (At); Vaso sanguíneo (Vs).....43

Fig. 4. A-D. Microfotografias de cortes do rim de *Notomabuya frenata* (A-B) *Aspronema dorsivittatum* (C-D) corados com Alcian Blue (AB). Corpúsculo renal (Cr); Segmento sexual renal (*); Área de transição (At).....44

Fig. 5. A-D. Microfotografias de cortes do rim de *Notomabuya frenata* (A-B) *Aspronema dorsivittatum* (C-D) corados com tricrômio de Gomori. Corpúsculo renal (Cr); Segmento sexual renal (*); Tecido conjuntivo (seta preta); Vaso sanguíneo (Vs).....45

Fig. 6. A-F. Microfotografias em microscópio eletrônico de varredura de cortes do rim em *Notomabuya frenata* (A-C-E) e *Aspronema dorsivittatum* (B-D-F). Segmento sexual renal (Ssr); Lúmen (Lu); Epitélio colunar (Ep); Grânulos secretores (Gs); Grânulos sendo secretados pelas células epiteliais (seta branca).....46

Capítulo II

Fig. 1. A-C. Macrofotografias do sistema urogenital de *Aspronema dorsivittatum*. Fotografia dos testículos e epidídimos de *N. frenata* (B) e de *A. dorsivittatum* (C). Testículo direito (Td); Testículo esquerdo (Te); Epidídimo direito (Ed); Epidídimo esquerdo (Ee); Rim direito (Rd); Rim esquerdo (Re).Foto: Novelli, I.A.....62

Fig. 2. A-B. Microfotografias do aspecto geral do testículo (A) e do epidídimo (B) de *Notomabuya frenata* coradas com hematoxilina-eosina (H&E).....63

Fig. 3. A-B. Microfotografias do aspecto geral do testículo (A) e do epidídimo (B) de *Aspronema dorsivittatum* corados com hematoxilina-eosina (H&E).....64

Fig. 4. A-D. Microfotografias de cortes do testículo de *Notomabuya frenata* corados com hematoxilina-eosina (H&E). Interstício (I); Vaso sanguíneo (V); Túbulos seminíferos (seta preta); Epitélio germinativo (Eg); Células de Sertoli (S);

Espermatogônia do tipo A (A); Espermatogônia do tipo B (B); Espermatócito (Ec);
Espermátide (Et); Espermatozóide (Ez).....65

Fig. 5. A-D. Microfotografias de cortes do testículo de *Aspronema dorsivittatum* corados com hematoxilina-eosina (H&E). Interstício (I); Vaso sanguíneo (V); Túbulos seminíferos (seta preta); Epitélio germinativo (Eg); Células de Sertoli (S); Espermatogônia do tipo A (A); Espermatogônia do tipo B (B); Espermatócito (Ec); Espermátide (Et); Espermatozóide (Ez).....66

Fig. 6. A-D. Microfotografias de cortes do epidídimo de *Notomabuya frenata* (A-B) e de *Aspronema dorsivittatum* (C-D) corados com hematoxilina-eosina (H&E). Interstício (I); Vaso sanguíneo (V); Epitélio do ducto epididimário (Ep); Células principais (P); Células basais (B); Esteriocílios (seta preta); Espermatozóide (Ez).....67

RESUMO

Caracterização morfo-histológica do segmento sexual renal e espermatogênese de *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) e *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae)

Dentre os estudos sobre características reprodutivas de lagartos, muitos são realizados com espécies de regiões temperadas. Diferentes fatores podem influenciar no ciclo reprodutivo das espécies de lagartos neotropicais como umidade, temperatura e pluviosidade, sendo este último determinante em regiões tropicais. Estudos sobre a biologia reprodutiva de lagartos do gênero *Mabuya* revelaram características peculiares da reprodução e da história de vida; com isso pode ser considerado um táxon modelo para estudos sobre a evolução dos padrões reprodutivos em vertebrados. As espécies *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum*, apesar de apresentarem alguns aspectos reprodutivos conhecidos, muitas de suas características ainda são desconhecidas. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi caracterizar morfo-histologicamente o segmento sexual renal (SSR) e a espermatogênese de *N. frenata* e *A. dorsivittatum*. Os espécimes utilizados neste estudo foram coletados em uma área do bioma Cerrado no estado de Minas Gerais, Brasil. Os rins foram analisados através de microscopia de luz e eletrônica de varredura; e os testículos apenas com microscopia de luz. Ao analisar os rins, constatou-se a presença do SSR apenas em machos sexualmente maduros. O SSR se apresentou revestido por células colunares altas, com núcleo basal e a porção apical repleta de grânulos secretores; tais características morfo-histológicas observadas em ambas as espécies são similares as observadas em outros estudos com diferentes espécies de Squamata. Os testículos foram processados de acordo com técnicas de histologia convencional e analisados por microscopia de luz. Todos os espécimes machos adultos analisados estavam em período reprodutivo, pois apresentavam espermatozoides nos testículos e/ou epidídimos. O epitélio germinativo de ambas as espécies era composto por células germinativas e células de Sertoli,

apresentando um ciclo reprodutivo contínuo. O epidídimo das espécies estudadas apresentou-se revestido por epitélio colunar simples, com células altas, núcleos basais e o lúmen completamente preenchido por espermatozoides. Os espécimes de *N. frenata* e *A. dorsivittatum* analisadas apresentaram o epitélio germinativo organizado de forma similar a outros Squamatas anteriormente estudados. Existem poucos estudos que abordem a descrição morfo-histológica do segmento sexual renal, células germinativas e espermatogênese de lagartos brasileiros. Dessa forma, o presente estudo acrescenta, não somente o conhecimento sobre a biologia reprodutiva nessas espécies, mas auxilia numa maior compreensão sobre estratégia e biologia reprodutivas em espécies vivíparas e neotropicais.

PALAVRAS CHAVE: *Mabuya*, reprodução, histologia, rim, testículos

ABSTRACT

Morpho-histological characterization of the sexual segment of the kidney and spermatogenesis of *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) and *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae)

Among the studies on the reproductive characteristics of lizards, many are carried out with species of temperate regions. Different factors may influence the reproductive cycle of neotropical lizard species such as humidity, temperature and rainfall, being the latter determinant in tropical regions. Studies on the reproductive biology of lizards of the genus *Mabuya* revealed peculiar characteristics of the reproduction and the history of life; with this it can be considered a model taxon for studies on the evolution of the reproductive patterns in vertebrates. The species *Notomabuya frenata* and *Aspronema dorsivittatum*, although presenting some known reproductive aspects, many of its characteristics are still unknown. In this context, the objective of the present study was to characterize the morphologically the sexual segment of the kidney (SSK) and the spermatogenesis of *N. frenata* and *A. dorsivittatum*. The specimens used in this study were collected in an area of the Cerrado biome in the state of Minas Gerais, Brazil. The kidneys were analyzed by light microscopy and scanning electron microscopy; and the testis only with light microscopy. When analyzing the kidneys, the presence of SSK was only found in sexually mature males. The SSK was coated by high columnar cells with basal nucleus and the apical portion filled with secretory granules; Such morpho-histological characteristics observed in both species are similar to those observed in other studies with different Squamata species. The testes were processed according to standard histology techniques and analyzed by light microscopy. All the adult male specimens analyzed were in the reproductive period, as they had spermatozoa in the testis and / or epididymis. The germinal epithelium of both species was composed of germ cells and Sertoli cells, presenting a continuous reproductive cycle. The epididymis of the species studied was coated by simple

columnar epithelium, with high cells, basal nucleus and the lumen completely filled by spermatozoa. The specimens of *N. frenata* and *A. dorsivittatum* analyzed presented the germinative epithelium organized in a similar way to other Squamata previously studied. There are few studies that address the morpho-histological description of the renal sexual segment, germ cells and spermatogenesis of Brazilian lizards. Thus, the present study not only adds knowledge about reproductive biology in these species, but also aids in a better understanding of reproductive strategy and biology in viviparous and neotropical species.

KEY WORDS: *Mabuya*, reproduction, histology, kidney, testis

INTRODUÇÃO GERAL

1. Reprodução em Reptilia

A reprodução é considerada um importante fator no sucesso evolutivo de um organismo e os vertebrados mostram um conjunto surpreendente de comportamentos associados ao acasalamento e à reprodução (Pough et al., 2008). Em vertebrados existem três termos para definir os modos reprodutivos: oviparidade e viviparidade (Rocha-Barbosa et al., 2015). A oviparidade é definida como a postura de ovos que tem embriões em fases relativamente precoces de desenvolvimento. Já a viviparidade é definida como a retenção do embrião em desenvolvimento dentro do útero até que o desenvolvimento esteja concluído. Na viviparidade, a organismo materno deve fornecer um ambiente uterino adequado para a troca de gás e água necessários para suportar o desenvolvimento embrionário (Guillette, 1993; Pough et al., 2008; Silva e Araújo, 2008; Rocha-Barbosa et al., 2015).

No grupo dos Répteis (lagartos, serpentes, anfisbaenias, tuatara, crocodilianos e tartarugas) observa-se uma variedade de modos reprodutivos, desde a oviparidade até a viviparidade (Zug et al., 2001; Pough et al., 2008; Rocha-Barbosa et al., 2015). Diversos autores consideram que a viviparidade evoluiu da oviparidade, sendo esta uma condição ancestral (Guillette, 1993; Lee e Shine, 1998; Shine, 2005; Pough et al., 2008; Blackburn, 2015). Entre os Squamata, a viviparidade evoluiu no mínimo 100 vezes, pelo menos 45 vezes entre os lagartos e 35 vezes entre as serpentes (Guillette, 1993; Thompson et al., 2004; Shine, 2005; Pough et al., 2008; Blackburn, 2015). A evolução da oviparidade para viviparidade está associada a ambientes frios e favoráveis (Guillette, 1993; Shine, 2005); no entanto, outros fatores são sugeridos como forças seletivas da viviparidade, sendo estas o curto tempo de crescimento materno e a alta predação dos ovos (Guillette, 1993; Shine, 2014).

Espécies vivíparas em geral apresentam duas formas de nutrição fetal: através da gema (vitelo) ou por meio de placenta (Blackburn, 2015). A nutrição por meio de uma gema é

denominada viviparidade lecitotrófica; nesta forma, não existe uma conexão placentária aparente entre mãe e embrião sendo observada, por exemplo, no lagarto *Ophiodes striatus* (Spix, 1824) (Anguidae) (Barros e Teixeira, 2007; Montechiaro et al., 2011). Na viviparidade placentotrófica, há uma conexão placentária evidente entre mãe e embrião, ou seja, a mãe fornece os nutrientes necessários para o desenvolvimento do embrião através de uma placenta (Guillette, 1993; Thompson et al., 2004). Dentre as espécies de lagartos vivíparas, as pertencentes a família Mabuyidae, como *Brasiliscincus heathi* (Schmidt e Inger, 1951), exibem a maior de complexidade da placenta, uma vez que esta apresenta um papel importante no transporte de nutrientes e trocas gasosas nessas espécies (Blackburn et al., 1984; Thompson et al., 2004).

De acordo com Guillette (1993), são necessárias algumas modificações anatômicas e fisiológicas para a evolução da viviparidade, no entanto, muitas dessas modificações nas estruturas podem ser observadas ou adquiridas após a evolução, o que dificulta os estudos. Estudos com espécies dos gêneros *Sceloporus* Wiegmann 1828 (Phrynosomatidae) e *Lacerta* Linnaeus, 1758 (Lacertidae) sugerem duas modificações precoces na evolução da viviparidade: a evolução da placenta (diminuição significativa da espessura da casca do ovo, resultando numa distância de difusão reduzida entre suprimentos e sangue embrionário e materno) e o alongamento do período de gestação (relacionado a manutenção do corpo lúteo) (Guillette, 1993). Weekes (1929, 1930, 1935) em seus trabalhos observou que lagartos vivíparos apresentam menos glândulas de casca do ovo do que lagartos ovíparos; esta redução do número de glândulas da casca está associada a uma redução na espessura da casca, mesmo não sendo constante o número de glândulas da casca em lagartos (Guillette, 1993). A redução no número de glândulas da casca do ovo no útero pode ser uma modificação diretamente relacionada à evolução da viviparidade; entretanto, ainda são necessários novos estudos que contribuam para elucidar os mecanismos e as modificações evolutivas do modo reprodutivo em lagartos (Shine, 2005; Blackburn, 2015).

Em Squamata, diferentes fatores podem influenciar no ciclo reprodutivo de uma espécie, como o controle hormonal, padrões de fotoperíodo, temperatura e pluviosidade (Ferreira, 2001, 2003; Ribeiro et al. 2012), sendo este último o fator determinante em regiões tropicais (Ferreira, 2001). Em lagartos, o processo de divisão, proliferação e maturação de células germinativas segue um padrão de ciclo anual e bem definido. Este ciclo sofre variação nas diferentes espécies relacionadas a fatores externos (como temperatura e umidade) e ao potencial de adaptação das espécies a esses fatores (Ferreira, 2001).

Muitos dos estudos relacionados a características reprodutivas são realizados com lagartos de regiões temperadas, existindo poucas informações sobre espécies tropicais (Ferreira, 2003). O ciclo reprodutivo de lagartos tropicais pode ser de três formas: contínua (acasalamento e gametogênese ocorrem durante todo ano) e descontínua (ou sazonal – período de acasalamento e gametogênese ocorrem em épocas diferentes do ano) (Ferreira, 2003; Silveira, 2009; Ferreira et al., 2009; Silva et al., 2016).

A definição do ciclo reprodutivo de uma espécie auxilia na compreensão de como esta se comporta; pois, embora a reprodução não seja crucial para a sobrevivência de um indivíduo, a mesma é essencial para permanência de uma espécie (Loebens et al., 2016).

Os ciclos reprodutivos auxiliam na compreensão da estratégia reprodutiva de uma espécie. A identificação e a definição de características dos ciclos reprodutivos, em machos e fêmeas, tais como a espermatogênese e oogênese e suas mudanças sazonais são muito importantes para estabelecer o ciclo reprodutivo de uma espécie (Silveira, 2009; Lozano et al., 2015).

2. Segmento Sexual Renal

Gampert (1866) foi quem pela primeira vez, observou na serpente *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) (Colubridae), o segmento sexual renal (SSR). Posteriormente, Heidenhain (1874) evidenciou no mesmo animal a natureza granular da secreção que preenchia o citoplasma das células que constituíam essa porção diferenciada do tubo urinário. Tribondeau (1902), ao analisar o rim de *Natrix maura* (Linnaeus, 1758) (Colubridae) e *Vipera aspis* (Linnaeus, 1758) (Viperidae), também notou a presença de uma porção alargada no tubo urinário, cujo diâmetro variava entre as espécies estudadas.

Entretanto, Regaud e Policard (1903a-b) foram os primeiros pesquisadores a interpretarem corretamente esta particularidade do rim de Squamata, ao constatarem que a mencionada porção alargada do tubo urinário existia apenas nos machos de algumas espécies de serpentes. Como esses autores suspeitavam que este segmento do rim pudesse servir à função reprodutiva, deram-lhe a denominação de “segmento sexual”. Além de atribuírem um significado sexual à porção distal dos túbulos renais, os referidos autores fizeram uma alusão à oscilação sazonal que poderia ocorrer nesta estrutura, relacionada com as variações cíclicas dos órgãos reprodutores.

O SSR é uma particularidade observada no rim de Squamata e caracteriza-se por ser uma hipertrofia de uma porção do néfron e/ou do ureter (Regaud e Policard, 1903a-b; Sanyal e

Prasad, 1966; Gabri, 1983; Mendes et al., 2009; Rheubert et al., 2015). Geralmente não está presente em fêmeas e machos imaturos de Squamata (Kühnel e Krisch, 1974; Del Conte e Tamayo, 1973; Sever e Hopkins, 2005; Rheubert et al., 2015).

A funcionalidade do SSR demonstra-se ainda pouco elucidada (Misra et al., 1965; Reddy e Prasad, 1970; Prasad e Reddy, 1972) e acredita-se que exista uma homologia entre essa estrutura e as vesículas seminais dos mamíferos, uma vez que ambos respondem de forma similar aos hormônios andrógenos (Mendes et al., 2009). O segmento sexual apresenta-se indispensável para a cópula e em atividades como espermatogênese e produção de testosterona, uma vez que possui funções associadas à produção de feromônios e participa na produção de secreções da ampola e dos ductos deferentes; separação do sêmen da urina na cloaca; nutrição de espermatozoides; retenção do sêmen na cloaca da fêmea; além de promover um tamponamento da abertura genital da fêmea impedindo que copule com outros machos (Sever et al., 2002; Sever e Hopkins, 2005; Rheubert et al., 2015).

Apesar de sua importância para a reprodução de machos Squamata, existem poucos estudos em espécies deste grupo que relatem a presença/ausência, função e características morfológicas do SSR. Portanto, o presente estudo vem acrescentar sobre o conhecimento sobre o SSR em Squamata, ao analisar esta estrutura em espécies brasileiras.

3. Espermatogênese

A espermatogênese é o processo complexo em que células progenitoras (espermatogônias) se dividem mitoticamente, submetem-se a meiose, e então se diferenciam em espermatozoides (Gribbins, 2011). A espermatogênese em lagartos sofre uma variação anual em períodos ativos e quiescentes (Sanyal e Prasad, 1966; Ferreira e Dolder, 2003; Silveira, 2009), e estes têm sido investigado com o auxílio de diferentes métodos, desde histologia convencional até ultra estrutural (Ferreira e Dolder, 2003; Boretto et al., 2007; Lozzano et al., 2015).

Os Amniota (Répteis, incluindo as Aves e Mamíferos) apresentam testículos tubulares, no qual diversas gerações de células germinativas se desenvolvem de maneira sincronizada; e, durante seu desenvolvimento, estas se deslocam dentro do epitélio seminífero (ou germinativo) da membrana basal em direção ao lúmen central (Gribbins et al., 2003). No entanto, embora a arquitetura testicular em Reptilia se assemelhe a dos demais amniotas, as células germinativas nesse grupo amadurecem e migram para o lúmen e ficam centralizadas nos túbulos seminíferos em grandes “coortes”, similar ao observado em não-amniotas (Gribbins e Gist, 2003; Rheubert

et al. 2014). Rheubert et al. (2014) destacam que as células germinativas podem se desenvolver de duas formas: típica e atípica (ou temporal). Na forma ‘típica’ de desenvolvimento das células germinativas, os túbulos seminíferos podem ser divididos ao longo de seu eixo periférico em seções, que possuem gerações de células germinativas específicas observadas em associações celulares sequenciais consistentes. Já na forma ‘atípica’, a estratégia de desenvolvimento das células germinativas é temporal, uma vez que os eventos espermatogênicos são separados temporalmente (Rheubert et al., 2014).

Estudos sugerem que, em répteis, a estratégia de desenvolvimento das células germinativas seja temporal, ou seja, estas células se organizam em associações celulares consistentes, e até cinco espermátides se agrupam em gerações meióticas e mitóticas (Gribbins et al., 2009). No entanto, existem variações nos ciclos espermatogênicos de lagartos, podendo, portanto, existir variações na forma de estratégia de desenvolvimento dessas células.

O processo de espermatogênese ocorre nos testículos, mais precisamente nos túbulos seminíferos. E, baseado em modificações morfológicas e funcionais, como observado em vertebrados em geral (Pough et al., 2008), é possível descrever três fases para a espermatogênese (Gribbins, 2011):

1. Fase Proliferativa ou Espermatogonial: acontecessem divisões mitóticas rápidas e sucessivas das espermatogônias.
2. Fase Meiótica: ocorre síntese de DNA no espermatócito em pré-leptóteno, síntese de RNA no espermatócito em paquíteno e finalização da meiose, durante a qual ocorre uma divisão reducional acompanhada de recombinação gênica e uma divisão equacional na qual, teoricamente, cada espermatócito secundário dará origem a quatro espermátides haplóides.
3. Fase de Diferenciação ou Espermiogênica: cada espermátide passa por profundas mudanças estruturais e bioquímicas e diferencia-se em espermatozoide.

A compreensão do ciclo espermatogênico de uma espécie pode auxiliar em diversos estudos como de estratégias de conservação e ecologia populacional. Gribbins (2011) destaca que entender os eventos citológicos básicos da espermatogênese em répteis podem auxiliar a resolver as controvérsias e inconsistências existentes no que se refere a períodos resistentes, efeitos de temperatura e estimulação hormonal dentro dos ciclos testiculares de Reptilia.

Diversos estudos descrevendo a espermatogênese em lagartos já foram feitos. Ferreira et al. (2002) descreveram a espermatogênese de *Iguana iguana* (Linnaeus, 1758) (Iguanidae) e

correlacionaram as variações do ciclo espermatogênico com as variações sazonais do Pantanal brasileiro. Gribbins e Gist (2003) caracterizaram as alterações citológicas que ocorreram nas células germinativas de *Podarcis muralis* (Laurenti, 1768) (Lacertidae) coletados em Cincinnati, Ohio. Boretto et al. (2007) estimaram alguns dados como o tamanho mínimo do adulto, dimorfismo sexual e características gerais do ciclo reprodutivo de machos e fêmeas de *Phymaturus punae* Cei, Etheridge e Videla, 1985 (Liolaemidae) pertencentes a uma população dos Andes, na Argentina. Ribeiro et al. (2012) estudaram as mudanças sazonais de atividade e massa de gordura corporal de machos e fêmeas de *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825) e *Tropidurus semiataeniatus* (Spix, 1825) (Tropiduridae) de uma população do Rio Grande do Norte, Brasil. Silva et al. (2016) analisaram as células germinativas e a espermatogênese em *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) (Tropiduridae) provenientes de Cuiabá, Brasil.

Contudo, estudos que auxiliam na compreensão da biologia reprodutiva em lagartos vivíparos são escassos (Boretto et al., 2007; Hernandez-Franyutti e Uribe, 2012; Lozano et al., 2015; Mesquita et al., 2016), portanto, o presente trabalho teve como finalidade acrescentar informações relacionadas ao ciclo testicular de espécies vivíparas brasileira, contribuindo assim para o conhecimento da biologia e ecologia reprodutiva de lagartos brasileiros.

4. Espécies estudadas

Hedges e Conn (2012) realizaram uma revisão sistemática de espécies do gênero *Mabuya* de Ilhas do Caribe, utilizando caracteres morfológicos convencionais (como formato e número de escamas da cabeça) e não convencionais (análises de sequências de DNA). Os referidos autores propuseram 61 espécies que se agruparam em 16 gêneros, sendo 3 nomes genéricos já disponíveis (*Copeoglossum*, *Mabuya* e *Spondylurus*) e 13 novos gêneros, e estes, por sua vez, se agruparam na Família Mabuyidae (Subfamília Mabuyinae) Mittleman, 1952. Dentre as espécies analisadas por Hedges e Conn (2012), destacam-se *Mabuya frenata* e *Mabuya dorsivittata*. Para estas foi proposta uma nova combinação *Notomabuya frenata* (= *Mabuya frenata*) e *Aspronema dorsivittatum* (= *Mabuya dorsivittata*). Com isso, o presente estudo optou por utilizar a nova organização taxonômica proposta por Hedges e Conn (2012).

Grande parte das origens da viviparidade em Squamata ocorreu na família Scincidae, enquanto é desconhecida em lagartos Teiidae e ocorre em dois gêneros de Lacertidae (Guillette, 1993; Thompson et al., 2004; Pough et al., 2008; Silva e Araújo, 2008). Entre os scincídeos, os lagartos do gênero *Mabuya* Fitzinger (1826) apresentam a forma mais avançada de viviparidade em Squamata. Estudos sobre a biologia reprodutiva com espécies pertencentes a esse gênero

revelaram características peculiares da reprodução e da história de vida, com ênfase para a estrutura placentária análoga a dos mamíferos eutérios, ao alto grau de placentotrofia, a reprodução precoce e a gestação que pode variar de 8 a 12 meses (Vitt e Blackburn, 1983; 1991; Blackburn e Vitt; 1992; Blackburn et al., 1984; Ávila-Pires, 1995; Silva e Araújo, 2008).

De acordo com Blackburn e Vitt (1992), o gênero *Mabuya* pode ser considerado um táxon modelo para estudos sobre a evolução dos padrões reprodutivos em vertebrados, por apresentar características peculiares (como descrito anteriormente). Os autores destacam que as características reprodutivas observadas para *Brasiliscincus heathi* (Schmidt e Inger, 1951) e *Copeoglossum nigropunctatum* (Spix, 1825) (Mabuyidae) sejam comuns à maioria, senão a todas as espécies nas Américas. Tal ideia é reforçada por evidências presentes em estudos com outras espécies neotropicais do gênero *Mabuya* (Vanzolini e Rebouças-Spieker, 1976; Vitt, 1991; Stevaux, 1993; Vrcibradic e Rocha, 1998; Rocha e Vrcibradic, 1999) e pelo fato de que esses representantes nas Américas constituir um grupo monofilético originado a partir de uma linhagem africana (Shine, 1985; Bauer, 1993; Greer et al., 2000; Hedges e Conn, 2012). Apesar de aspectos biológicos e ecológicos de espécies do gênero *Mabuya* serem estudados por várias décadas no Brasil, estudos que elucidem a biologia e estratégias reprodutivas nessas espécies ainda são escassos, quando relacionado a sua grande riqueza.

Notomabuya frenata (Cope, 1862) (Mabuyidae) (Fig. 1) ocorre na América do Sul, Argentina, Paraguai, Bolívia e Brasil (Dunn, 1935; Gallardo, 1968). No Brasil, é uma espécie amplamente distribuída, tendo sido registrada do Tocantins ao sul do Pará e no Rio Grande do Sul (Pinto e Araújo, 2000; Vrcibradic e Moura-Leite, 2003). É uma espécie típica do Cerrado e domínios de Chaco (Vanzolini, 1988; Colli et al., 2002), onde ocorre na maioria das fitofisionomias, sendo mais abundante em ambiente de Matas Mesófilas, Cerradão ou Cerrado *sensu strictu* com densa cobertura arbórea (Lucas et al., 2016) e podendo ser ausente ou rara em áreas de Campos (Colli et al., 2002; Nogueira et al., 2005). Pode também ser encontrada em Mata Atlântica, geralmente nas bordas de florestas (Sazima e Haddad, 1992; Sousa et al., 2012).

Aspronema dorsivittatum (Cope, 1862) (Mabuyidae) (Fig. 2) apresenta uma distribuição relativamente ampla na América do Sul (Peters e Donoso-Barros, 1970; Vrcibradic et al., 2004). Distribui-se no Brasil de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul, bem como no Uruguai e Norte da Argentina (Forlani et al., 2010). É encontrada nos domínios da Mata Atlântica (Costa et al., 2009; Rocha et al., 2004; Sousa et al., 2012), e em fisionomias Savânicas e Campestres habitando preferencialmente áreas com grande densidade de gramíneas (Vitt e Caldwell, 1993; Nogueira et al., 2005) e também em áreas de Cerrado, frequentemente associada à formações abertas (Nogueira et al., 2005; Mesquita et al., 2007) e também observada no Cerrado *stricto*

sensu e na Mata de Galeria, como também observado por Novelli et al. (2012a, b). É uma espécie com hábito diurno, que forrageia no folhíço atrás de pequenos artrópodes (Silva e Araújo, 2008). No Cerrado, *A. dorsivittatum* é mais abundante em ambientes de campo limpo, campo sujo e bordas de campo úmido, geralmente com densa cobertura de gramíneas (Nogueira et al., 2005).



Fig. 1. A-B. Fotografia de *Notomabuya frenata* (A) e *Aspronema dorsivittatum* (B) coletado na área de Cerrado *sensu strictu* na Reserva Biológica Unilavras – Boqueirão, Ingaí, Minas Gerais. Foto: Novelli, I.A.

Alguns aspectos reprodutivos de *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum* já foram anteriormente estudados (Vitt e Blackburn, 1991; Rocha e Vrcibradic, 1999) como ciclo reprodutivo, tamanho da ninhada, ciclo dos corpos gordurosos e tamanho mínimo para maturidade sexual (Vrcibradic e Rocha, 1998; Vrcibradic et al., 2004). Entretanto, estudos relacionados à caracterização morfo-histológica do sistema urogenital dessas duas espécies, assim como a presença e a caracterização morfo-histológica do segmento sexual renal (SSR) e a descrição da espermatogênese são inexistentes.

REFERÊNCIAS:

- Ávila-Pires TCS. 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). Zoologische Verhandelingen, Leiden. 706p.
- Bauer AM, Sadlier RA. 1992. The use of mouse glue traps to capture lizards. Herpetol Review 23:112-113.
- Blackburn DG, Vitt LJ, Beuchat CA. 1984. Eutherian-like reproductive specializations in a viviparous reptile. Proceedings of the National Academy of Sciences 81:4860–4863.
- Blackburn DG, Vitt LJ. 1992. Reproduction in viviparous South American lizards of the genus *Mabuya*. Reproductive biology of South American vertebrates: Springer. p 150-164.
- Blackburn DG. 2015. Evolution of viviparity in Squamata Reptiles: reversibility reconsidered. Mol Dev Evol 9999:1-14
- Boretto JM, Ibarzüengoytía NR, Acosta JC, Blanco GM, Villavicencio J, Marinero JA. 2007. Reproductive biology and sexual dimorphism of a high-altitude population of the viviparous lizard *Phymaturus punae* from the Andes in Argentina. Amphibia-Reptile 28:427-432.
- Colli GR, Bastos RP, Araújo AB. 2002. The character and dynamics of the Cerrado Herpetofauna, p 223-241. In: P.S. Oliveira e R.J. Marquis (Eds). The Cerrados of Brazil – Ecology Natural History of a Neotropical Savanna. Columbia University Press, New York, 2002.
- Costa HC, Bérnils RS. 2015. Répteis brasileiros: Lista de espécies 2015. Sociedade Brasileira de Herpetologia 4:75-93.
- Costa HC, Fernandes VD, Rodrigues AC, Feio RN. 2009. Lizards and Amphisbaenians, municipality of Viçosa, state of Minas Gerais, southeastern Brazil. Check List, 5: 732–745.
- Del Conte E, Tamayo JG. 1973. Ultrastructure of the sexual segments of the kidney in male and female lizards, *Cnemidophorus l. lemniscatus* (L.). Z Zellforsch Microsk Anat 144:325-337.
- Dunn ER. 1936. Notes on American *Mabuyas*. Proc Acad Nat Sci Phil 87:533-557.
- Ferreira A, Dolder H. 2003. Cytochemical study of spermatogenesis and mature spermatozoa in the lizard *Tropidurus itambere* (Reptilia, Squamata). Acta Histochemica 105:339-352.
- Ferreira A, Laura IA, Dolder H. 2002. Reproductive cycle of male green iguanas, *Iguana iguana* (Reptilia: Sauria: Iguanidae) in the Pantanal region of Brazil. Braz J Morphol Sci 19:23-28.

- Ferreira A, Silva DN, Van Sluys M, Dolder H. 2009. Seasonal changes in testicular and epididymal histology of the tropical lizard, *Tropidurus itambere* (Rodrigues, 1987), during its reproductive cycle. *Braz J Bio* 69:429-435.
- Ferreira A. 2001. Ciclo reprodutivo e espermiogênese de *Iguana iguana* (Reptilia: Sauria; Iguanidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. 72p.
- Ferreira A. 2003. Estrutura, ultra-estrutura e citoquímica da espermatogênese, dos ductos e ovidutos do lagarto *Tropidurus itambere* durante o ciclo reprodutivo. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. 126p.
- Forlani MC, Bernardo PH, Haddad CFB, Zaher H. 2010. Herpetofauna do Parque Estadual Carlos Botelho, São Paulo, Brasil. *Bio Neotrop*, 10: 265-309.
- Gabri M. 1983. Seasonal changes in the ultrastructure of the kidney collecting tubule in the lizard *Podarcis* (= *Lacerta*) *taurica*. *J Morphol* 175:143-151.
- Gallardo JM. 1968. Las especies argentinas Del género *Mabuya* (Scincidae, Sauria). *Rev M Arg C Natl Bernardino Rivadavia Zool* 9:177-196.
- Gampert O. 1866. Ueber die Niere von *Tropidonotus natrix* und der Cyprinoiden. *Wissensch Zool* 16: 369-373.
- Greer AE, Broadley DG. 2000. Six characters of systematic importance in the scincid lizard genus *Mabuya*. *Hamadryad* 25: 1-12.
- Gribbins KM, Gist DH, Congdon JD. 2003. Cytological evaluation of spermatogenesis and organization of the germinal epithelium in the male slider turtle, *Trachemys scripta*. *J Morphol* 255:337-346.
- Gribbins KM, Gist DH. 2003. Cytological evaluation of spermatogenesis within the germinal epithelium of the male European wall lizard, *Podarcis muralis*. *J Morphol* 258:296-306.
- Gribbins KM, Rheubert JL, Poldemann EH, Collier MH, Wilson B, Wolf K. 2009. Continuous spermatogenesis and the germ cell development strategy within the testis of the Jamaican Gray Anole, *Anolis lineatopus*. *Theriogenology* 72:484-492.
- Gribbins KM. 2011. Reptilian spermatogenesis: a histological and ultrastructural perspective. *Spermatogenesis* 1:250-269.
- Guillette LJ. 1993. The evolution of viviparity in lizards. *Bioscience* 43: 742-751.
- Hedges SB, Conn CE. 2012. A new skink fauna from Caribbean islands (Squamata, Mabuyidae, Mabuyinae). *Zootaxa* 3288:1-244.
- Heidenhain R. 1874. Mikroskopische Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Nieren. *Arch Mikrosk Anat* 10: 1-50.

- Hernández- Franyutti A, Uribe MC. 2012. Seasonal spermatogenic cycle and morphology of germ cells in the viviparous lizard *Mabuya brachypoda* (Squamata, Scincidae). *J Morphol* 273:1199-1213.
- Kühnel W, Krisch B. 1974. On the sexual segment of the kidney in the snake (*Natrix natrix*). *Cell Tissue Res* 148:417-429.
- Lee MSY, Shine R. 1998. Reptilian viviparity and Dollo's Law. *Evolution* 52: 1441-1450.
- Loebens L, Cechin SZ, Theis TF, Moura LB, Almeida-Santos SM. 2016. Reproductive biology of *Philodryas patagoniensis* (Snakes: Dipsadidae) in South Brazil: male reproductive cycle. *Acta Zool* 1-11.
- Lozano A, Uribe MC, Ramírez-Bautista A. 2015. Seasonal and continuous spermatogenesis in the viviparous lizard *Sceloporus grammicus*, a study of the populations in contrasting environments from the Central Mexican Plateau. *Zool Anz* 254:72-85.
- Lucas PS, Novelli IA, Sousa BM. 2016. Assemblage of squamate reptiles in a natural remnant of Cerrado in southern Minas Gerais, Brazil. *Check List* 12: 1866.
- Mendes RMM, Pinheiro NL, Nascimento AA, Santos CN, Ribeiro TP, Santos MAJ, Sales A. 2009. Histologia Comparada de Testículo e do Segmento Sexual do rim de Lagarto Tropical *Tropidurus torquatus* adultos e imaturos. *Revista Universidade Rural. Série Ciências da Vida* 29: 15-20.
- Mesquita DO, Colli GR, Vitt LJ. 2007. Ecological release in lizard assemblages of neotropical savanna. *Oecol* 153:185-195.
- Mesquita DO, Costa GC, Colli GR, Costa TB, Shepard DB, Vitt LJ, Pianka ER. 2016. Life-history patterns of lizard of the world. *Amer Nat* 187:689-705.
- Misra U, Sanyal M, Prasad M. 1965. Phospholipids of the sexual segment of the kidney of the Indian house lizard, *Hemidactylus flaviviridis* Ruppell. *Life Sciences* 4:159-166.
- Montechiaro, L., Kaefer, I.L., Quadros, F.C. & Cechin, S. 2011. Feeding habits and reproductive biology of the glass lizard *Ophiodes cf. striatus* from subtropical Brazil. *North-Western Journal of Zoology*, 7: 63-71.
- Nogueira C, Valdujo H, França FGR. 2005. Habitat variation and lizard diversity in a Cerrado area of Central Brazil. *Stud Neotrop Fauna Environ* 40:105-112.
- Novelli IA, Gouveia, Silva DAN, Lucas OS, Trindade IT, Carvalho RG, Sousa BM. 2012a. Current state of the fauna of the Biological Reserve Squamata Unilavras –Boqueirão. *Pro Homine* 2:7-19.

- Novelli IA, Lucas PS, Carvalho RG, Santos RC, Sousa BM. 2012b. Lagartos em áreas de Cerrado na Reserva Biológica Unilavras-Boqueirão, Ingaí, Sul de Minas Gerais, Brasil. *Bio Neotrop* 12:147-153.
- Peters AJ, Donoso-Barros R, Orejas-Miranda B. 1986. Catalogue of neotropical squamata Part I: Snakes - Part II: Lizards and amphisbaenians with new material by P. E. Vanzolini. Smithsonian Institution Press. 293 p.
- Pinto MGM, Araujo AFB. 2000. Geographic Distribution. *Mabuya frenata*. *Herpetol Review* 31:53.
- Pough FH, Janis CM, Heiser JB. 2008. A vida dos vertebrados. São Paulo: Atheneu Editora. 718 p.
- Prasad M, Reddy P. 1972. Physiology of the sexual segment of the kidney in reptiles. *Gen Comp Endocrinol* 3:649-662.
- Reddy P, Prasad M. 1970. Hormonal control of the maintenance of spermatogenesis and sexual segment in the Indian house lizard *Hemidactylus flaviviridis* Ruppell. *Gen Comp Endocrinol* 14:15-24.
- Regaud C, Policard A. 1903a. Recherches sur la structure du rein de quelques ophidiens. *Arch Anat Microsc* 6:191-282.
- Regaud C, Policard A. 1903b. Variations sexuelles de structure dans le segment préterminal du tube urinifère de quelques ophidiens. *C r Soc Biol* 55:216-218.
- Rheubert JL, Sever DM, Siegel DS, Trauth SE. 2015. Male reproductive anatomy: the gonadoducts, sexual segment of the kidney and cloaca. In: Rheubert JL, Siegel DS, Trauth SE. (editors). *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara*. CRC Press: Taylor e Francis Group. p 253-301.
- Rheubert JL, Touzinsky K, Sever DM, Aldridge RD, Wilmes AJ, Siegel DS, Gribbins KM. 2014. Reproductive biology of *Sceloporus consobrinus* (Phrynosomatidae): male germ cell development and reproductive cycle comparisons within spiny lizards. *J Herpetol* 48:162-171.
- Ribeiro LB, Silva NB, Freire LMX. 2012. Reproductive and fat body cycles of *Tropidurus hispidus* and *Tropidurus semitaeniatus* (Squamata, Tropiduridae) in a caatinga area of northeastern Brazil. *Rev Chil Hist Nat* 85:307-320.
- Rocha CFD, Bergallo HG, Pombal Jr JP, Geise L, Van Sluys M, Fernandes R, Caramaschi U. 2004. Fauna de anfíbios, répteis e mamíferos do estado do Rio de Janeiro, Sudeste do Brasil. *Publ Avulsas Mus Nac*, 104: 3-23.

- Rocha CFD, Vrcibradic V. 1999. Reproductive traits of two sympatric viviparous skinks (*Mabuya macrorhyncha* and *Mabuya agilis*) in a Brazilian restinga habitat. *Herpetol J* 9:43-53.
- Rocha-Barbosa O, Loguercio MFC, Vasconcellos FM, Lins GA, Novelli IA, Hohl LSL. 2015. Reptilia. In: Benedito E (organizadora). 2015. *Biologia e Ecologia dos Vertebrados*. Rio de Janeiro: Editora Roca. 228 p.
- Sanyal M, Prasad M. 1966. Sexual segment of the kidney of the Indian house lizard, *Hemidactylus flaviviridis* Rüppell. *J Morphol* 118:511-527.
- Sazima I, Haddad CFB. 1992. Répteis da Serra do Japi: notas sobre história natural. In *História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal do Sudeste do Brasil* (L.P.C. Morellato, org.). UNICAMP/FAPESP, Campinas. p 212-236.
- Sever DM, Hopkins WA. 2005. Renal sexual segment of the ground skink, *Scincella laterale* (Reptilia, Squamata, Scincidae). *J Morphol* 266:46-59.
- Sever DM, Stevens RA, Ryan TJ, Hamlett WC. 2002. Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*). III. Sexual segment of the male kidney. *J Morphol* 252:238-254.
- Shine R. 2014. Evolution of an Evolutionary Hypothesis: A History of Changing Ideas about the Adaptive Significance of Viviparity in Reptiles. *J Herpetol* 48:147-161.
- Shine R. 2005. Life-history evolution in Reptiles. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 36:23-46.
- Shine R. 1985. The evolution of viviparity in reptiles: an ecological analysis. In: *Biology of the Reptilia*, Volume 15 (C. Gans and F. Billett, eds.), John Wiley and Sons, New York. p. 605-694.
- Silva D, Rodrigues M, Mehanna M, Ferreira A, Dolder H. 2016. Germinative cells and spermatogenesis of the lizard *Tropidurus torquatus* (Tropiduridae) from a urban área in the Cerrado biome of the Brazilian Midwest. *Biosci J* 32:1595-1603.
- Silva VdN, Araújo AFB. 2008. *Ecologia dos lagartos brasileiros*. Rio de Janeiro: Technical Books Editora. 271 p.
- Silveira JA. 2009. Histologia testicular e caracterização dos estádios do ciclo do epitélio seminífero de *Hemidactylus maboia* (Moreau de Jonnes, 1818) (Reptilia, Squamata, Sauria, Gekkonidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. 72 p.
- Sousa BM, Gomides SC, Hudson AA, Ribeiro LB, Novelli IA. 2012. Reptiles of the municipality of Juiz de Fora, Minas Gerais state, Brazil. *Bio Neotrop* 12:35-49.
- Stevaux MN. 1993. Estratégia reprodutiva de *Mabuya* sp. (Sauria: Scincidae): um padrão geral de reprodução para o gênero na região neotropical. *Rev Nordestina Biol* 8:61-86.

- Thompson MB, Adams SM, Herbert JF, Biazik JM, Murphy CR. 2004. Placental function in lizards. *International Congress Series* 1275:218-225.
- Tribondeau M. 1902. Le tube urinifère des serpents contient trois espèces distinctes d'épithélium sécrétoire. *C R Soc Seances Soc Biol Fil* 54:677-679.
- Vanzolini PE, Ramos-Costa AMM, Vitt LJ. 1980. Répteis das caatingas. AABC Rio de Janeiro. 161p.
- Vanzolini PE, Rebouças-Spieker R. 1976, Distribution and differentiation of animals along the coast and in continental islands of the State of São Paulo, Brazil. Reproductive differences between *Mabuya caissara* and *Mabuya macrorhyncha* (Sauria, Scincidae). *Pap Avulsos Zool* 29:95-109.
- Vitt LJ, Blackburn DG. 1983. Reproduction in the lizard *Mabuya heathi* (Scincidae): a commentary on viviparity in New World *Mabuya*. *Can J Zoo* 61:2798-2806.
- Vitt LJ, Blackburn DG. 1991. Ecology and life history of the viviparous lizard *Mabuya bistrriata* (Scincidae) in the Brazilian Amazon. *Copeia* 1991:916-927.
- Vitt LJ, Caldwell JP. 1993. Ecological observations on Cerrado lizards in Rondônia, Brazil. *J Herpetol* 27:46-52.
- Vrcibradic D, Cunha-Barros M, Rocha CFD. 2004. Ecological observations on *Mabuya dorsivittata* (Squamata; Scincidae) from a high altitude habitat in South-Eastern Brazil. *Herpetol J* 14:109-112.
- Vrcibradic D, Moura-Leite JC. 2003. Geographic Distribution. *Mabuya frenata*. *Herpetol Review* 34: 166.
- Vrcibradic D, Rocha CFD. 1998. Reproductive cycle and life-history traits of the viviparous skink *Mabuya frenata* in southeastern Brazil. *Copeia* 1998:612-619.
- Weekes HC. 1929. On placentation in Reptiles. No I. *Proc Linn Soc NSW* 54:36-60.
- Weekes HC. 1930. On placentation in Reptiles. No II. *Proc Linn Soc NSW* 55:550-576.
- Weekes HC. 1935. A review of placentation among reptiles with particular regard to the function and evolution of the placenta. *Proc Zool Soc Lond* 1935: 625-645.
- Zug GR, Vitt J, Caldwell JP. 2001. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. 2 ed. Academic Press, San Diego.

OBJETIVOS

Objetivo geral:

Estudar morfo-histologicamente os rins, testículos e epidídimos de *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum* provenientes de ma área do bioma Cerrado do estado de Minas Gerais.

Objetivos específicos:

- Descrever a morfologia externa dos rins e caracterizar histologicamente o segmento sexual renal em *N. frenata* e *A. dorsivittatum*.
- Descrever a morfologia externa dos testículos e caracterizar histologicamente a espermatogênese e a organização do epitélio germinativo em *N. frenata* e *A. dorsivittatum*.
- Descrever a morfologia externa e caracterizar histologicamente os epidídimos de *N. frenata* e *A. dorsivittatum*.

CAPÍTULO I

Caracterização morfo-histológica do segmento sexual renal de *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) e *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae)

RESUMO

Os rins de duas espécies vivíparas de lagartos neotropicais, *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum* (Mabuyidae) foram analisados através de microscopia de luz e eletrônica de varredura a fim de constatar a presença e estudar a morfologia do segmento sexual renal (SSR). Os espécimes utilizados neste estudo foram coletados em áreas do bioma Cerrado no estado de Minas Gerais, Brasil. Observou-se o SSR apenas em machos sexualmente maduros (com espermatozoides no testículo/epidídimo), mostrando-se ausente em fêmeas e machos sexualmente imaturos. O néfron em ambas as espécies é composto por corpúsculo renal, túbulo contorcido proximal, túbulo contorcido distal, túbulo coletor e segmento sexual renal. A morfo-histologia do SSR em ambas as espécies estudadas apresentou-se similar a observada em outros estudos com diferentes espécies de Squamata, acrescentando assim informações importantes sobre o SSR neste grupo.

PALAVRAS CHAVE: *Mabuya*, reprodução, rins, histologia.

ABSTRACT

The kidneys in two viviparous species of Neotropical lizards, *Notomabuya frenata* and *Aspronema dorsivittatum* (Mabuyidae) were analyzed by light and scanning electron microscopy, in order to determine the presence of the sexual segment of the kidney (SSK) and to study its morphology. The specimens used in this study were collected from the Cerrado region in the state of Minas Gerais, Brazil. The SSK was present only in sexually mature males (with sperm in the testis / epididymis), while it was absent in females and sexually immature males. The nephron in both species consists of renal corpuscle, proximal convoluted tubule, distal convoluted tubule, collecting duct and sexual segment of the kidney. The morphology of SSK in both species was similar to that observed in other studies with different species of Squamata, thus adding important information about the SSK in this group.

KEY WORDS: Skinks, reproduction, kidneys, histology.

INTRODUÇÃO

Estudos sobre a biologia reprodutiva de espécies de lagartos pertencentes a Família Mabuyidae revelaram características peculiares sobre a reprodução e a história de vida. Apresentam características análogas a dos mamíferos eutérios, como uma estrutura placentária, com viviparidade placentotrófica, reprodução precoce e gestação que pode variar de 8 a 12 meses (Vitt e Blackburn, 1991; Blackburn e Vitt, 1992; Silva e Araújo, 2008; Hernandez-Franyutti e Uribe, 2012).

Apesar de aspectos biológicos e ecológicos de espécies pertencentes a essa família serem estudadas por várias décadas no Brasil, estudos que elucidem a biologia e estratégias reprodutivas nestes lagartos ainda são escassos, quando relacionado a sua grande riqueza. Alguns aspectos reprodutivos de *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) e *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Mabuyidae) já foram anteriormente estudados (Vitt e Blackburn, 1991; Rocha e Vrcibradic, 1999) como ciclo reprodutivo, tamanho da ninhada, ciclo dos corpos gordurosos e tamanho mínimo para maturidade sexual (Vrcibradic e Rocha, 1998; Vrcibradic et al., 2004). Entretanto, estudos relacionados à caracterização morfo-histológica do sistema urogenital dessas duas espécies, assim como a presença e a caracterização morfo-histológica do segmento sexual renal (SSR) são inexistentes.

O SSR é uma estrutura observada no rim de Squamata e caracteriza-se por ser uma hipertrofia de uma porção do néfron e/ou do ureter (Regaud e Policard, 1903a-b; Sanyal e Prasad, 1966; Gabri, 1983; Mendes et al., 2009; Rheubert et al., 2015). O SSR geralmente não está presente em fêmeas e machos imaturos de Squamata (Kühnel e Krisch, 1974; Del Conte e Tamayo, 1973; Sever e Hopkins, 2005; Rheubert et al., 2015).

A funcionalidade do SSR demonstra-se ainda pouco elucidada (Misra et al., 1965; Reddy e Prasad, 1970; Prasad e Reddy, 1972; Loebens et al., 2016) e acredita-se que exista uma homologia entre essa estrutura e as vesículas seminais dos mamíferos, uma vez que ambos respondem de forma similar aos hormônios andrógenos (Mendes et al., 2009). O segmento sexual apresenta-se indispensável para a cópula e em atividades como espermatogênese e produção de testosterona, uma vez que possui funções associadas a produção de feromônios e participação da produção de secreções da ampola e dos ductos deferentes; separação do sêmen da urina na cloaca; nutrição de espermatozoides; retenção do sêmen na cloaca da fêmea; além de promover um tamponamento da abertura genital da fêmea impedindo que copule com outros machos (Server et al., 2002; Sever e Hopkins, 2005; Rheubert et al., 2015; Loebens et al., 2016). Dessa forma, o estudo do SSR auxilia na compreensão da biologia reprodutiva e estratégias reprodutivas em Répteis.

Em função da importância do segmento sexual renal para a atividade reprodutiva e fisiológica dos Squamata e a escassez de estudos que abordem essa estrutura em espécies vivíparas neotropicais, o presente estudo teve como objetivo caracterizar morfo-histologicamente o segmento sexual renal em *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum*

MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes estudados

Foram estudados sete espécimes de *N. frenata* (cinco machos adultos e dois machos jovens) e sete espécimes de *A. dorsivittatum* (cinco machos adultos e dois machos jovens), pertencentes a Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Juiz de Fora – Répteis (CHUFJF-Répteis) com os respectivos números de depósito: CHUFJF1127, CHUFJF1140, CHUFJF1149, CHUFJF1180, CHUFJF1236, CHUFJF1238, CHUFJF1240, CHUFJF1241, CHUFJF1247, CHUFJF1273, CHUFJF1303, CHUFJF1343, CHUFJF1345, CHUFJF1408. Os lagartos foram coletados em estudos anteriores (Novelli et al., 2012; Lucas et al., 2016) entre o período de setembro de 2008 a janeiro de 2012 na Reserva Biológica do Boqueirão

(21°20'47"S; 44°59'27" W), no município de Ingaí, bioma Cerrado, Minas Gerais, Brasil. De acordo com os registros da CHUFJF-Répteis, todos os espécimes foram fixados em formalina 10% e conservados em álcool etílico 70%.

Durante a necropsia dos espécimes, parte do sistema urogenital de cada indivíduo foi retirada para, posteriormente, ser submetida às técnicas histológicas. A peça anatômica (Fig. 1) foi clivada em cortes transversais (nas porções cranial, mediana e caudal) ou mantida inteira para o processamento. Após o processamento, o material foi incluído em parafina histológica, em posição longitudinal e/ou transversal. O rim direito de dois espécimes de *N. frenata* e o rim esquerdo de dois espécimes de *A. dorsivittatum* foram preparados para análise em microscopia eletrônica de varredura, enquanto a outra porção (esquerda e direita, respectivamente) foi preparada de acordo com técnicas de histologia convencional para análise em microscopia de luz.

Microscopia de Luz (ML)

Para os estudos do material em microscopia de luz, parte do sistema urogenital foi desidratado em concentrações crescentes de álcool, diafanizados em xilol e impregnados/incluídos em parafina. Posteriormente, foram feitos cortes seriados com 4µm de espessura (Tolosa et al., 2003). As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina (H&E), ácido periódico de Schiff (PAS), Alcian Blue (AB) ph 2,5% (Rheubert et al., 2011) e tricrômio de Gomori. Todo processamento histológico foi realizado no Laboratório de Histologia, do Departamento de Morfologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Minas Gerais. A análise do material e a respectiva fotodocumentação foi realizada em microscópio Olympus BX41 com equipamento fotográfico digital Canon A3100S e ocular micrométrica acoplados ao referido microscópio alocado no Laboratório Avançado de Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Em dois espécimes macho sexualmente maduro de cada espécie, uma porção do rim (direita ou esquerda) foi processada para análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV). A peça anatômica, fixada em formalina 10%, foi desidratada em concentrações crescentes de etanol (70°GL, 80°GL, 90°GL, 96°GL, absoluto). Após a desidratação o material foi submetido a 1,1,1,3,3,3-Hexametildisilazano à 97% para secagem. O material foi montado em stubs com fita adesiva e metalizado em ouro e, posteriormente, analisados em microscópio FEG Quanta FEI operando a 10 kV.

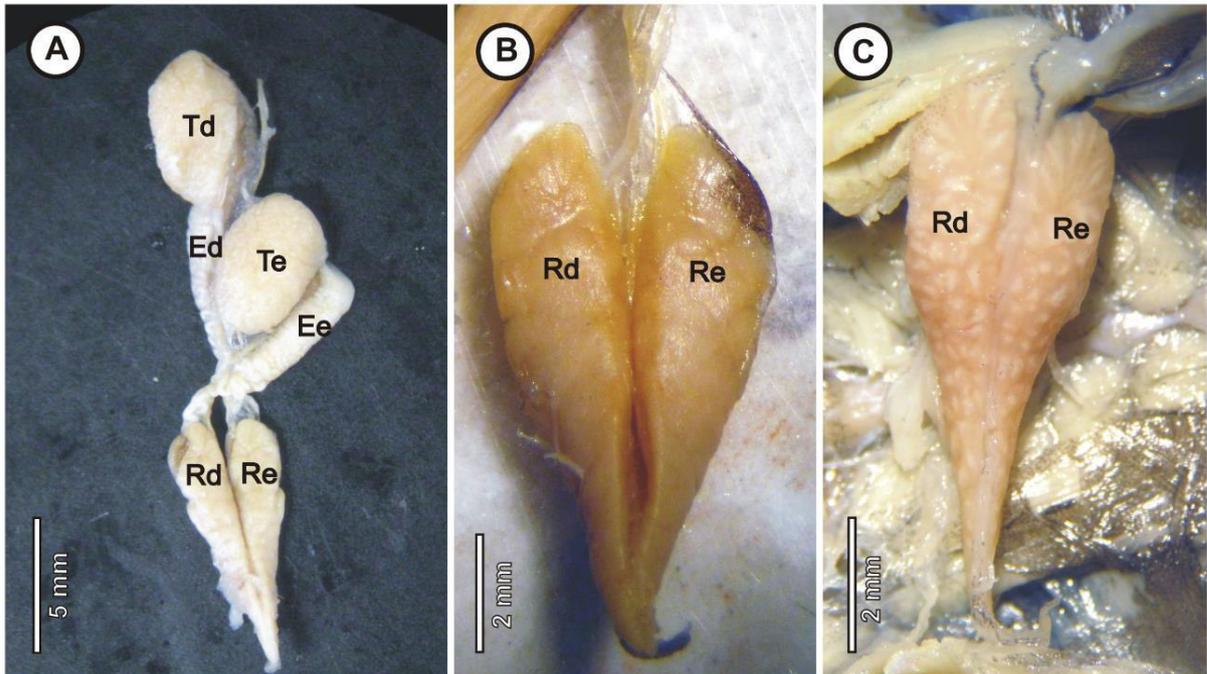


Fig. 1. A-C. Macrofotografias do sistema urogenital de *Aspronema dorsivittatum*. Fotografia dos rins de *N. frenata* (B) e de *A. dorsivittatum* (C). Testículo direito (Td); Testículo esquerdo (Te); Epidídimo direito (Ed); Epidídimo esquerdo (Ee); Rim direito (Rd); Rim esquerdo (Re). Foto: Novelli. I.A.

RESULTADOS

Aspecto geral macroscópico do rim

Os rins de ambas as espécies analisadas se localizaram na porção posterior do tronco. Quanto a morfologia externa, os rins de *N. frenata* apresentaram uma textura lisa enquanto nos rins de *A. dorsivittatum* observou-se uma textura granular (Fig. 1B,C).

Aspecto geral microscópico do rim

A análise morfo-histológica dos rins de *N. frenata* e de *A. dorsivittatum* indicou que ambas as espécies apresentaram a organização dos componentes do néfron nos espécimes analisados de forma serial, ou seja, não há separação evidente entre córtex e medula. (Fig. 2).

O parênquima renal (Fig. 2A,C) caracterizou-se por apresentar os componentes do néfron bem definidos (corpúsculos renais, túbulos contorcidos proximais e distais, túbulo coletor). Nos corpúsculos renais identificou-se o glomérulo e o espaço corpuscular (revestido por epitélio pavimentoso simples) (Fig. 2). Os túbulos contorcidos proximais (TCPs) eram

constituídos por epitélio cúbico simples, com células fortemente acidófilas e com bordas mais intensamente coradas (bordas estriadas ou borda em escova), consistente com a presença de microvilos (Fig. 2). Os túbulos contorcidos distais (TCDs) se destacaram dos TCPs por apresentarem diâmetros menores e revestimento epitelial cúbico simples, fracamente acidófilas (Fig. 2). Os túbulos coletores (TCs), estavam revestidos por epitélio colunar, com células baixas, e leve indício de atividade secretória.

Ao analisar o TC observou-se uma modificação ao final deste túbulo, que assume características diferentes das apresentadas anteriormente; e estas são similares as apresentadas pelo SSR (Fig. 2). Dessa forma, pelas análises morfo-histológicas o SSR de *N. frenata* e de *A. dorsivittatum* se caracteriza por derivar de uma porção hipertrofiada dos túbulos coletores.

Segmento Sexual Renal (SSR)

O SSR foi observado nesse estudo apenas em machos adultos de *N. frenata* e de *A. dorsivittatum*, não estando presente nos espécimes machos jovens analisados.

O SSR analisado em microscopia de luz, corado com H&E, apresentou revestimento por células colunares altas, com o núcleo na porção basal da célula (Fig. 2). O polo apical apresentou na porção luminal grânulos acidófilos em torno de um lúmen centralizado (Fig. 2).

Na porção mediana das células que revestem o SSR de ambas as espécies, foram observados os vacúolos lipídicos (Fig. 2B,D). Ao entorno dos túbulos do SSR destacam-se células fusiformes, com citoplasma delgado, denominadas células mioepiteliais. Estas provavelmente estão relacionadas a contração do SSR, promovendo a liberação dessa secreção no lúmen.

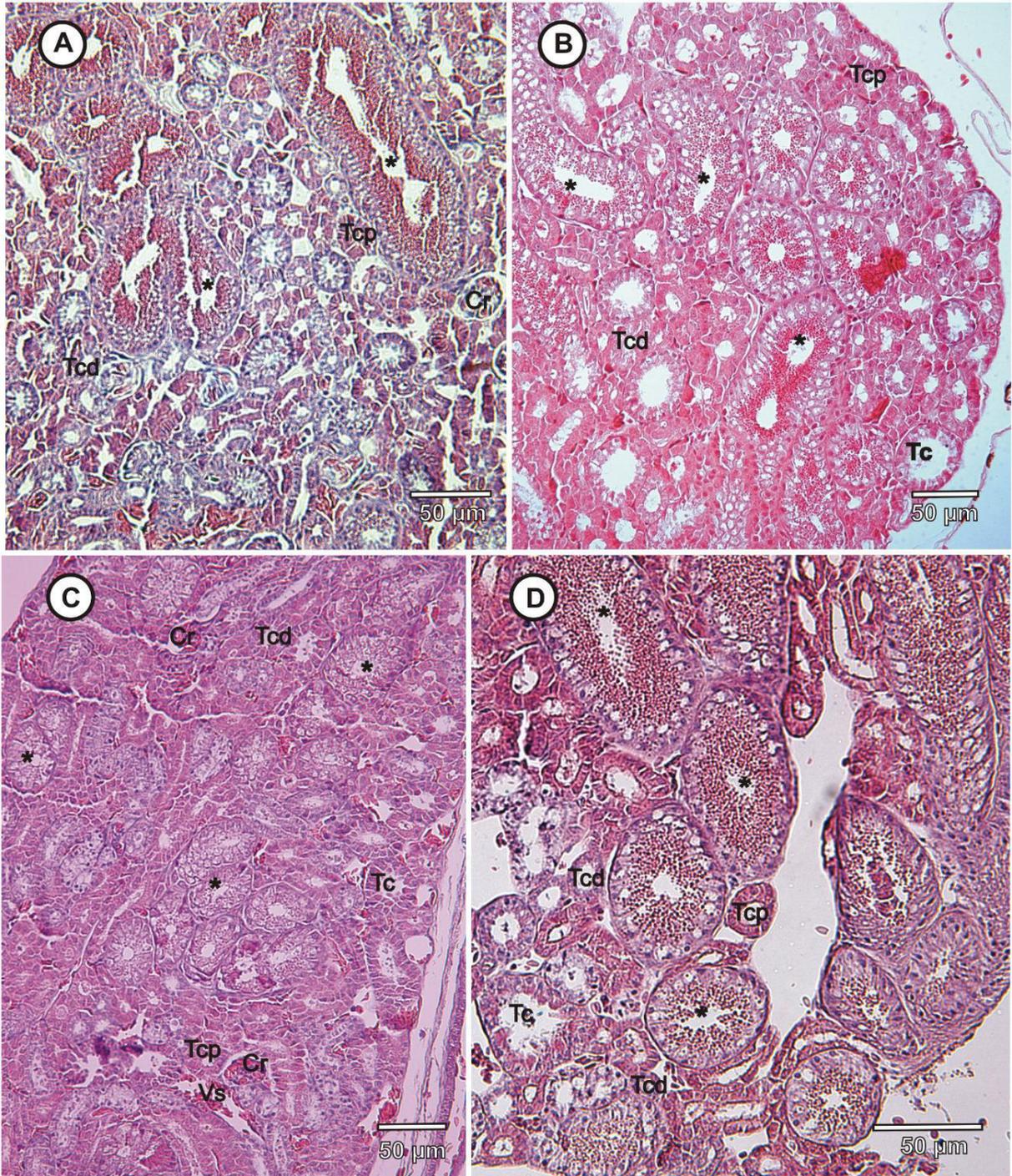


Fig. 2. A-D. Microfotografias de cortes do rim em *Notomabuya frenata* (A-B) e *Aspronema dorsivittatum* (C-D) coradas com hematoxilina-eosina (H&E). Corpúsculo renal (Cr); Túbulo contorcido proximal (Tcp); Túbulo contorcido distal (Tcd); Túbulo coletor (Tc); Segmento sexual renal (*); Vaso sanguíneo (Vs).

Nos rins dos machos sexualmente maduros de *N. frenata* (Fig. 3A,B) e de *A. dorsivittatum* (Fig. 3C,D) corados com Ácido Periódico de Schiff (PAS), as células epiteliais do SSR não apresentaram reação positiva ao PAS; ou seja, o SSR em ambas as espécies não apresentou glicosaminoglicanos neutros. Em algumas regiões observou-se uma porção tubular de diâmetro estreito, revestida por um epitélio mais achatado, embora colunar, cujas células apresentaram uma leve a moderada positividade ao PAS na porção apical (possivelmente associada a composição secretória da mesma). Em ambas as espécies estudadas, evidenciou-se áreas de transição entre o TC e o SSR, sendo estas porções PAS positivas (Fig. 3).

A fim de analisar a presença de glicosaminoglicanos ácidos, os rins de machos sexualmente maduros de *N. frenata* (Fig. 4A,B) e de *A. dorsivittatum* (Fig. 4C,D) foram corados com Alcian Blue (AB). Os rins dos espécimes de *N. frenata* analisados apresentaram de leve a moderada positividade na porção apical de alguns túbulos, revestidos por um epitélio colunar baixo e na continuidade deste túbulo observou-se as modificações do mesmo caracterizando o SSR (Fig. 4A,B). O SSR apresentou reação negativa ao Alcian Blue nos grânulos e nos vacúolos. A coloração Alcian Blue também evidenciou a área de transição entre TC e SSR (Fig. 4A,B). Em *A. dorsivittatum*, o SSR apresentou reação negativa a Alcian Blue (Fig. 4C,D).

Os espécimes de *N. frenata* (Fig. 5A,B) e de *A. dorsivittatum* (Fig. 5C,D) analisadas apresentaram parênquima renal com uma porção escassa de tecido conjuntivo no interstício (evidenciado por tricrômio de Gomori) na qual observou-se delicados feixes de colágeno ao redor dos túbulos e do parênquima renal (Fig. 5).

A análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) evidenciou o revestimento dos túbulos do SSR por epitélio colunar simples, em torno de um lúmen centralizado e a presença de grânulos de secreção na porção apical da célula (Fig. 6).

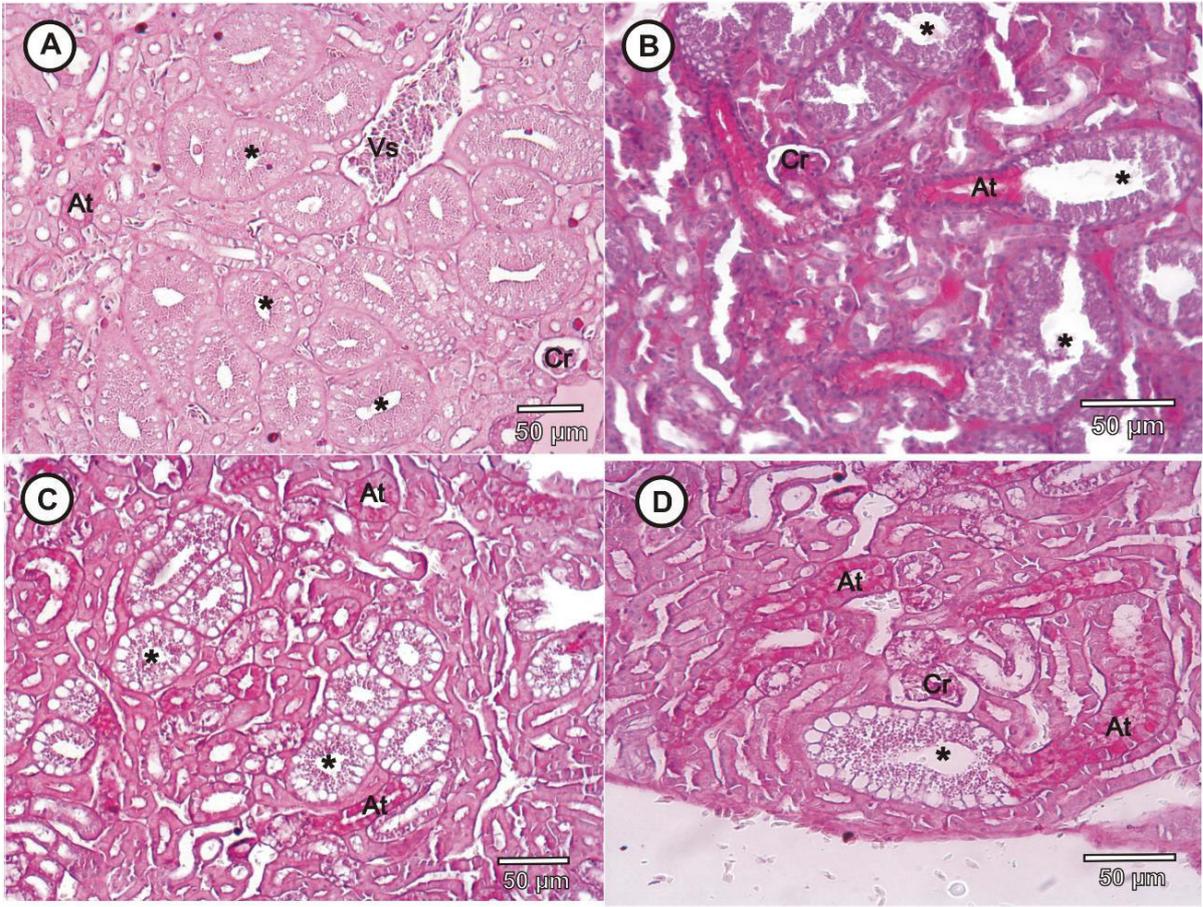


Fig. 3. A-D. Microfotografias em microscópio de luz de cortes do rim de *Notomabuya frenata* (A-B) *Aspronema dorsivittatum* (C-D) corados com ácido periódico de Schiff (PAS). Corpúsculo renal (Cr); Segmento sexual renal (*); Área de transição (At); Vaso sanguíneo (Vs).

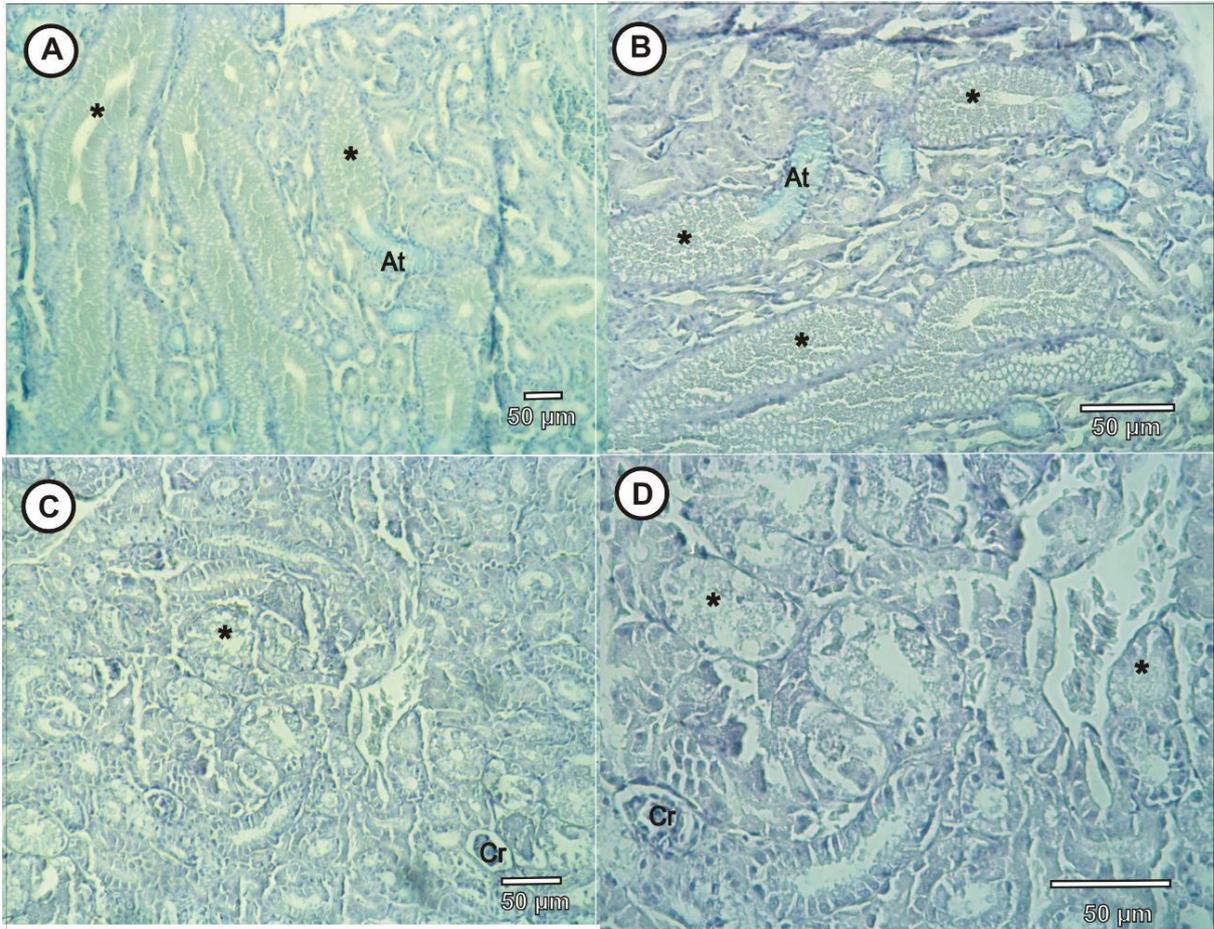


Fig. 4. A-D. Microfotografias em microscópio de luz de cortes do rim de *Notomabuya frenata* (A-B) *Aspronema dorsivittatum* (C-D) corados com Alcian Blue (AB). Corpúsculo renal (Cr); Segmento sexual renal (*); Área de transição (At).

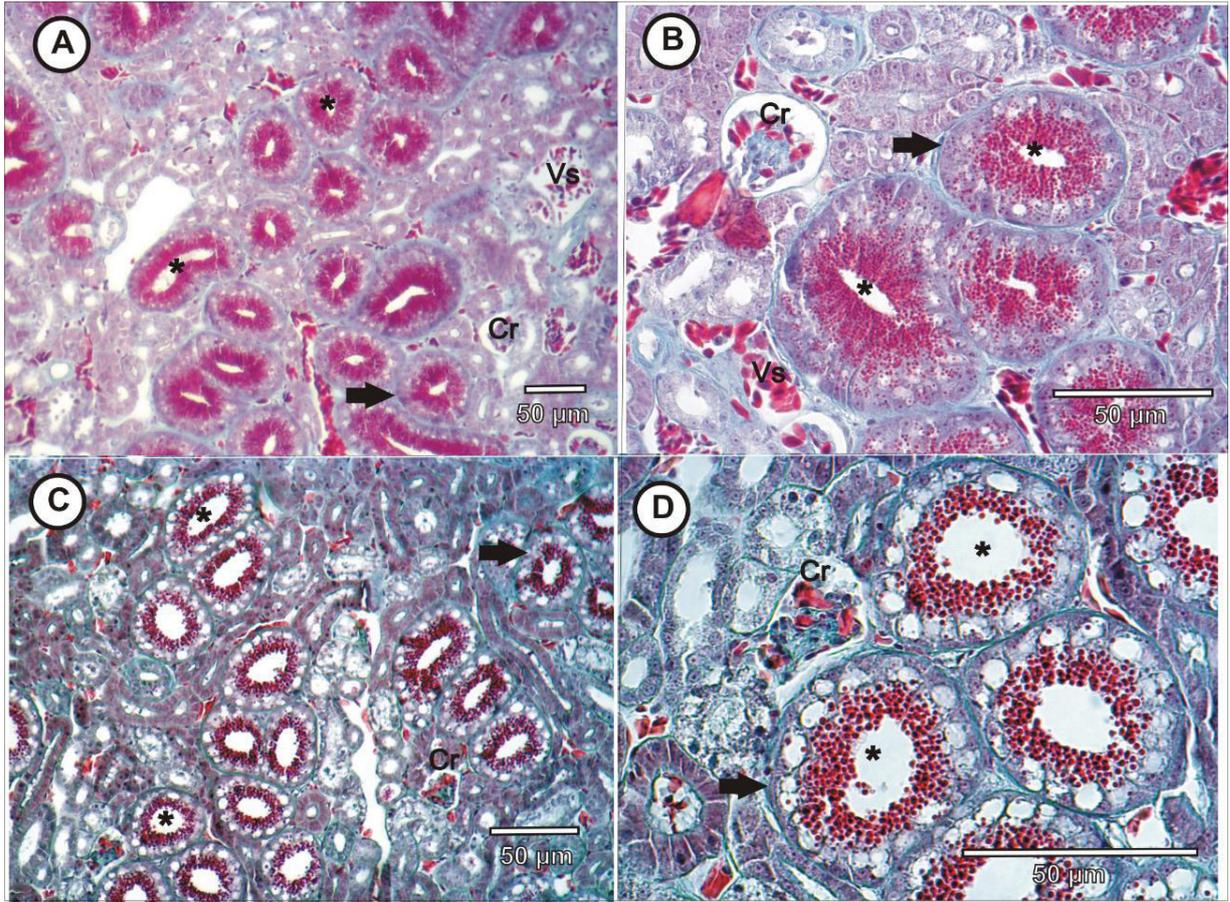


Fig. 5. A-D. Microfotografias em microscópio de luz de cortes do rim de *Notomabuya frenata* (A-B) *Aspronema dorsivittatum* (C-D) corados com tricrômio de Gomori. Corpúsculo renal (Cr); Segmento sexual renal (*); Tecido conjuntivo (seta preta); Vaso sanguíneo (Vs).

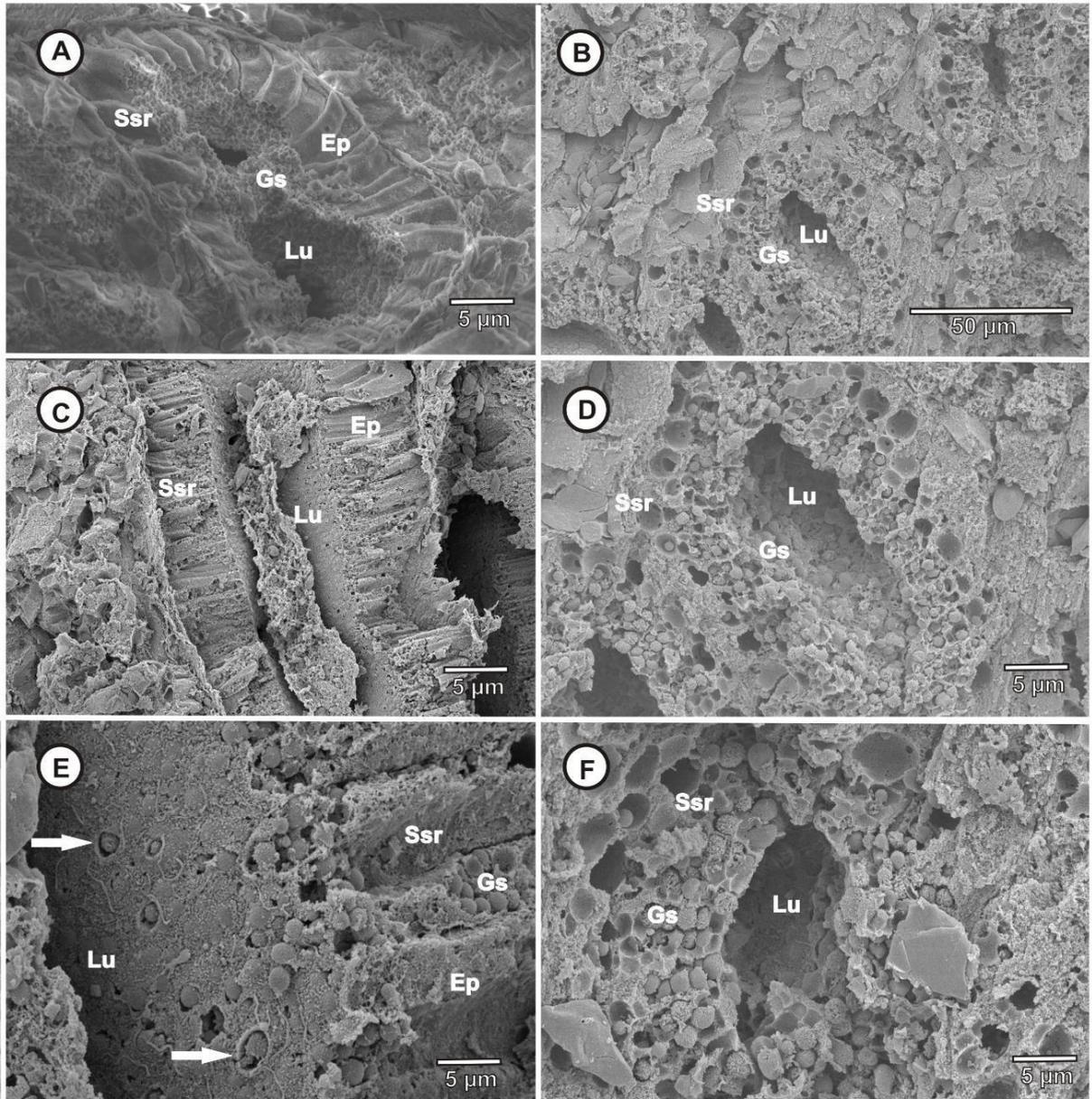


Fig. 6. A-F. Microfotografias em microscópio eletrônico de varredura de cortes do rim em *Notomabuya frenata* (A-C-E) e *Aspronema dorsvittatum* (B-D-F). Segmento sexual renal (Ssr); Lúmen (Lu); Epitélio colunar (Ep); Grânulos secretores (Gs); Grânulos sendo secretados pelas células epiteliais (seta branca).

DISCUSSÃO

Foi observada diferença na morfologia externa dos rins entre as espécies (*N. frenata* – textura lisa; *A. dorsivittatum* – textura granular) nos espécimes analisados. Diante na nova organização taxonômica para essas espécies anteriormente propostas por Hedges e Conn (2012), a diferença morfológica observada caracteriza ambas as espécies. Ressalta-se que estudos de taxonomia são, em sua maioria, baseado em caracteres morfológicos externos (como contagem de escamas, coloração, etc.) e moleculares (DNA). Ao constatar diferenças na morfologia interna (órgãos), o presente estudo sugere uma forma complementar de análise para estudos taxonômicos.

Características do SSR

Nos espécimes de *N. frenata* e *A. dorsivittatum* analisados neste estudo, constatou-se a presença do epitélio de revestimento do tipo colunar simples, com células altas, núcleo na porção basal e na porção mediana e/ou apical os grânulos secretores. Essas características morfo-histológicas foram observadas em diversas famílias de Squamata e estão apresentadas na Tabela 1.

O modo de secreção do SSR é exócrino, uma vez que entre as porções basal e apical da célula são observados vacúolos com provável secreção mucoide e grânulos com secreção proteica (Fig. 2 e Fig. 6); dessa forma, no momento da extrusão, a secreção de ambas as estruturas se misturam, compondo possivelmente uma secreção muco-proteica. A forma de liberação da secreção exócrina no SSR é variável, podendo ser liberada de forma holócrina, merócrina e apócrina, sendo essas formas também observadas nos demais trabalhos com SSR (Tabela 1); entretanto, não foi possível definir qual a forma de liberação da secreção nos espécimes analisados de *N. frenata* e *A. dorsivittatum*.

Sever e Hopkins (2005) destacam que os grânulos do SSR de espécimes *Scincella lateralis* (Say, 1823) (Scincidae), coletados na Carolina do Norte (Estados Unidos da América), podem conter um complexo de lipídeos, glicogênio, mucopolissacarídeos, muco proteínas e fosfatases; sendo que a composição química pode mudar durante as estações reprodutivas no ano. Este fato reforça a necessidade de estudos mais detalhados como de histoquímica para elucidação da composição secretória do SSR não somente nas espécies estudadas, como também no grupo Squamata com um todo.

O SSR dos espécimes analisados de *N. frenata* e de *A. dorsivittatum* não reagiram ao PAS e ao AB, sendo, portanto negativos para glicosanimoglicanos ácidos e neutros. Mendes et

al. (2009) também não observaram positividade ao PAS ao analisar o SSR de *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) (Tropiduridae), no entanto, esses autores não analisaram a reação ao AB. Sever et al. (2012) estudaram o SSR de diversas serpentes pertencentes a diferentes famílias e observaram que os espécimes analisados de Acrochordidae, Uropeltidae e a espécie *Ephalophis greyae* Smith, 1931 (Elapidae) são PAS negativo; enquanto os espécimes analisados de Homalopsidae, Leptotyphlopidae e Elapidae são PAS positivo. Quanto ao AB, Sever et al. (2012) observaram a positividade apenas nos espécimes pertencentes a Homalopsidae. A positividade ao AB também foi observada no SSR de *Hemidactylus turcicus* (Linnaeus, 1758) (Gekkonidae), analisado por Rheubert et al. (2011). No entanto, na maioria das espécies estudadas, não foi observada reação positiva ao AB (Tabela 1), indicando que a ausência de positividade ao AB seja, até o presente estudo, uma característica dessa estrutura em Squamata.

Em *A. dorsivittatum* não foi observada nem no SSR, nem nas áreas de transição AB positivo. Este fato pode se justificar pela composição secretória ser possivelmente diferente da área de transição de *N. frenata*; entretanto, seriam necessários estudos mais detalhados dos componentes da secreção tanto do SSR quanto da área de transição em ambas as espécies.

Del Conte e Tamayo (1973) relataram a maior afinidade ao PAS da primeira porção quando comparada a segunda porção do SSR de *Cnemidophorus lemniscatus* (Linnaeus, 1758) (Teiidae), justificando este resultado devido a segunda porção apresentar um teor de secreção de mucopolissacarídeos inferior e a uma maior abundância de proteínas em relação à primeira porção. A ausência de positividade ao PAS e ao AB em *N. frenata* e *A. dorsivittatum* no SSR e a presença de positividade na área de transição, pode estar relacionada à quantidade ou até mesmo presença/ausência de mucopolissacarídeos e proteínas presentes nos grânulos secretores do SSR.

Estudos que verifiquem a reação do SSR ao Tricrômio de Gomori não são comuns. Os rins de *N. frenata* e de *A. dorsivittatum* corados com Tricrômio de Gomori apresentaram reação similar ao entorno das estruturas do parênquima renal. Este resultado já era esperado uma vez que os túbulos renais se dispõem em um interstício de escasso tecido conjuntivo.

O SSR em lagartos é caracterizado como uma região hipertrofiada de três porções do néfron (segmento intermediário, túbulo contorcido distal e túbulo coletor) e/ou do ureter (Rheubert et al., 2015). Rheubert et al. (2011) ao estudarem o SSR de *Hemidactylus turcicus* (Linnaeus, 1758) (Gekkonidae) apresentaram em seu trabalho duas filogenias que levaram em conta a localização desta estrutura em Squamata feitas a partir de dados morfológicos e moleculares. Segundo este estudo, o SSR da Família Scincidae, tanto na análise morfológica

quanto na molecular realizadas em estudos anteriores, seria uma hipertrofia de uma porção do túbulo coletor e de uma porção do ureter. A análise de ambas as filogenias revelou que diferentes famílias compartilhavam a localização do SSR de acordo com os dados utilizados para análise. Este fato demonstra o quão variável é a localização do SSR e reforça a necessidade de estudos evolutivos relacionados a essa estrutura em lagartos.

Nas espécies estudadas, foi observado uma hipertrofia somente do túbulo coletor, o que também foi relatado para outras espécies (Tabela 1). A hipertrofia do túbulo coletor neste estudo se diferenciou da apresentada em espécies da família Scincidae relatado por Rheubert et al. (2011), uma vez que estes autores consideraram o SSR em Scincidae como uma hipertrofia do túbulo coletor e do ureter. Hedges e Conn (2012) estudaram espécies de *Mabuya* de Ilhas do Caribe e propôs uma nova organização taxonômica. Os referidos autores propuseram uma nova combinação para as espécies *Mabuya frenata* (= *Notomabuya frenata*) e *Mabuya dorsivittata* (= *Aspronema dorsivittatum*) e as classificam como pertencentes a família Mabuyidae. Essa nova hipótese sistemática sustenta a diferença de localização hipertrofiada do néfron observada neste estudo, já que a filogenia proposta por Rheubert et al. (2011) analisaram apenas a família Scincidae e não propuseram nenhuma localização para família Mabuyidae.

Tabela 1: Características do segmento sexual renal de répteis Squamata já estudados e as observadas em *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum* (presente estudo). (Na) não analisado; (Ne) não especificado; (TC) túbulo coletor; (TCP) túbulo contorcido proximal; (TCD) túbulo contorcido distal; (+) PAS/AB positivo; (-) PAS/AB negativo. *Classificação taxonômica segundo Pyron et al., 2013.

Espécies*	País do estudo	Modo reprodutivo	Tipo de epitélio	Posição do núcleo	Forma de secreção	Porção hipertrofiada do rim	PAS	AB	Referência
LACERTILIA									
Teiidae									
<i>Cnemidophorus lemniscatus</i> (Linnaeus, 1758)	Venezuela	Ovíparo	Colunar	Basal	Holócrina/Merócrina	TC	+	-	Del Conte e Tamayo, 1973
Phrynosomatidae									
<i>Phrynosoma cornutum</i> (Harlan, 1824)	Ne	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	Na	Na	Anderson (1960)
Lacertidae									
<i>Podarcis tauricus</i> (Pallas, 1814)	Ne	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TCD/TC	Na	Na	Gabri, 1983
Gekkonidae									
<i>Hemidactylus turcicus</i> (Linnaeus, 1758)	EUA	Ovíparo	Colunar	Basal	Merócrina	TC	+	+	Rheubert et al., 2011
<i>Hemidactylus flaviviridis</i> Rüppell, 1835	Índia	Ovíparo	Colunar	Basal	Apócrina	TC	+	-	Sanyal e Prasad, 1966
Tropiduridae									
<i>Tropidurus torquatus</i> (Wied, 1820)	Brasil	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TC	-	Na	Mendes et al., 2009
Scincidae									
<i>Scincella lateralis</i> (Say, 1823)	EUA	Ovíparo	Colunar	Basal	Apócrina	TCD/TC	+	+	Sever e Hopkins, 2005
Mabuyidae									

<i>Notomabuya frenata</i> (Cope, 1862)	Brasil	Vivíparo	Colunar	Basal	Na	TC	-	-	Presente estudo
<i>Aspronema dorsivittatum</i> (Cope, 1862)	Brasil	Vivíparo	Colunar	Basal	Na	TC	-	-	Presente estudo
SERPENTES									
Viperidae									
<i>Agkistrodon piscivorus</i> (Lacépède, 1789)	EUA	Vivíparo	Colunar	Basal	Apócrina/Merócrina	TCP	+	+	Sever et al., 2008
Acrochordidae									
<i>Acrochordus granulatus</i> (Schneider, 1799)	Filipinas	Vivíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	-	-	Sever et al., 2012
Elapidae									
<i>Micrurus tener</i> Baird e Girard, 1853	EUA	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	+	-	Sever et al., 2012
<i>Naja samarensis</i> Peters, 1861	Filipinas	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	+	-	Sever et al., 2012
<i>Aipysurus eydouxii</i> (Gray, 1849)	Malásia	Vivíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	+	-	Sever et al., 2012
<i>Ephalophis greyae</i> Smith, 1931	Austrália	Vivíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	-	-	Sever et al., 2012
<i>Hydrophis lamberti</i> Smith, 1917	Filipinas	Vivíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	+	-	Sever et al., 2012
<i>Hydrophis ornatus</i> (Gray, 1842)	Malásia	Vivíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	+	-	Sever et al., 2012
<i>Hydrophis platurus</i> (Linnaeus, 1766)	Costa Rica	Vivíparo	Colunar	Mediano	Apócrina	TCD	+	-	Sever et al., 2012
<i>Laticauda colubrina</i> (Schneider, 1799)	Filipinas	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	+	-	Sever et al., 2012
Homalopsidae									
<i>Cerberus rynchops</i> (Schneider, 1799)	Filipinas	Vivíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	+	+	Sever et al., 2012

Leptotyphlopidae

<i>Rena dulcis</i> Baird e Girard, 1853	EUA	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TCD/TC	+	-	Sever et al., 2012
---	-----	---------	---------	-------	----	--------	---	---	--------------------

Uropeltidae

<i>Teretrurus sanguineus</i> (Beddome, 1867)	Índia	Vivíparo	Colunar	Basal	Na	TCD	-	-	Sever et al., 2012
--	-------	----------	---------	-------	----	-----	---	---	--------------------

Colubridae

<i>Sibynomorphus mikanii</i> (Schlegel, 1837)	Ne	Ovíparo	N/E	Basal	Na	Ne	Na	Na	Rojas e Almeida-Santos, 2008
---	----	---------	-----	-------	----	----	----	----	------------------------------

AMPHISBAENIA**Amphisbaenidae**

<i>Amphisbaena vermicularis</i> Wagler, 1824	Brasil	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TC	Na	Na	Valverde et al., 2005
--	--------	---------	---------	-------	----	----	----	----	-----------------------

<i>Amphisbaena alba</i> Linnaeus, 1758	Brasil	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TC	Na	Na	Valverde et al., 2005
--	--------	---------	---------	-------	----	----	----	----	-----------------------

<i>Amphisbaena polystergum</i> (Duméril, 1851)	Brasil	Ovíparo	Colunar	Basal	Na	TC	Na	Na	Valverde et al., 2005
--	--------	---------	---------	-------	----	----	----	----	-----------------------

Diversos estudos sobre SSR em lagartos (Sanyal e Prasad, 1966; Del Conte e Tamayo, 1973; Gabri, 1983; Sever e Hopkins, 2005; Mendes et al., 2009; Rheubert et al., 2011; Rheubert et al., 2015) mostraram um segmento sexual modificado, cuja variação cíclica estaria relacionada com as células intersticiais do testículo, sendo, portanto, a atividade e hipertrofia do órgão uma característica sexual secundária andrógeno-dependente (Forbes, 1941; Krohmer et al., 2004; Cruz et al., 2014; Rheubert et al., 2015). No entanto, estudos que detalhem a histoquímica e consequente função da secreção do SSR e os mecanismos envolvidos na ação do mesmo mostram-se necessários para Squamata.

Os estudos do SSR com lagartos são mais recentes, quando comparados ao estudo dessa estrutura em serpentes, e ainda podem ser considerados com a maior parte desses estudos sendo realizados com espécies ovíparas (Tabela 1). Quando se trata de estudos com espécies vivíparas, as caracterizações do SSR são quase inexistentes. Portanto, o presente estudo vem a acrescentar o conhecimento sobre a biologia reprodutiva e estruturas relacionadas a estratégias reprodutivas de duas espécies de lagartos vivíparos neotropicais até então não estudadas, contribuindo na elucidação de características morfo-histológicas do SSR, uma estrutura considerada de grande importância para compreensão da biologia reprodutiva de répteis Squamata que ainda se apresenta pouco estudada no grupo de lagartos.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil e do Programa Nacional de Pós-Doutorado/CAPES (PNPD/CAPES). Agradecemos ao Prof. Dr. Fabiano Matos Vieira pela assistência técnica nos estudos de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Larissa Cardoso Barbosa, Caroline Nogueira Aguiar e Matheus Nehrer Rodrigues pela assistência nas etapas de preparação de material histológico. Os experimentos e análises envolvendo microscopia eletrônica foram realizados no Centro de Microscopia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

REFERÊNCIAS

- Blackburn DG, Vitt LJ. 1992. Reproduction in viviparous South American lizards of the genus *Mabuya*. Reproductive biology of South American vertebrates: Springer. p 150-164.
- Costa HC, Bérnils RS. 2015. Répteis brasileiros: Lista de espécies 2015. Sociedade Brasileira de Herpetologia 4:75-93.
- Cruz FRM, Mórán NLM, Ríos EA, Ibarzüengoytía, N. 2014. Male reproductive cycles in lizards. In: Rheubert JL, Siegel DS, Trauth SE. (editors). Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara. CRC Press: Taylor e Francis Group. p 302-339.
- Del Conte E. 1972. Granular secretion in the kidney sexual segments of female lizards, *Cnemidophorus l. lemniscatus* (Sauria, Teiidae). J Morphol 137:181-191.
- Del Conte E, Tamayo JG. 1973. Ultrastructure of the sexual segments of the kidney in male and female lizards, *Cnemidophorus l. lemniscatus* (L.). Z Zellforsch Microsk Anat 144:325-337.
- Forbes T. 1941. Observations on the urogenital anatomy of the adult male lizard, *Sceloporus*, and on the action of implanted pellets of testosterone and of estrone. J Morphol 68:31-69.
- Fox W. 1952. Seasonal variation in the male reproductive system of Pacific coast garter snakes. J Morphol 90:481-553.
- Gabri M. 1983. Seasonal changes in the ultrastructure of the kidney collecting tubule in the lizard *Podarcis* (= *Lacerta*) *taurica*. J Morphol 175:143-151.
- Hedges SB, Conn CE. 2012. A new skink fauna from Caribbean islands (Squamata, Mabyuidae, Mabyuinae). Zootaxa 3288:1-244.
- Hernández-Franyutti A, Uribe MC. 2012. Seasonal spermatogenic cycle and morphology of germ cells in the viviparous lizard *Mabuya brachypoda* (Squamata, Scincidae). J Morphol 273:1199-1213.
- Krohmer RW, Martinez D, Mason RT. 2004. Development of the renal sexual segment in immature snakes: effect of sex steroid hormones. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 139:55-64.
- Kühnel W, Krisch B. 1974. On the sexual segment of the kidney in the snake (*Natrix natrix*). Cell Tissue Res 148:417-429.

- Loebens L, Cechin SZ, Theis TF, Moura LB, Almeida-Santos SM. 2016. Reproductive biology of *Philodryas patagoniensis* (Snakes: Dipsadidae) in South Brazil: male reproductive cycle. *Acta Zool* 1-11.
- Lucas PS, Novelli IA, Sousa BM. 2016. Assemblage of squamate reptiles in a natural remnant of Cerrado in southern Minas Gerais, Brazil. *Check List* 12: 1866.
- Mendes RMM, Pinheiro NL, Nascimento AA, Santos CN, Ribeiro TP, Santos MAJ, Sales A. 2009. Histologia Comparada de Testículo e do Segmento Sexual do rim de Lagarto Tropical *Tropidurus torquatus* adultos e imaturos. *Revista Universidade Rural. Série Ciências da Vida* 29: 15-20.
- Misra U, Sanyal M, Prasad M. 1965. Phospholipids of the sexual segment of the kidney of the Indian house lizard, *Hemidactylus flaviviridis* Ruppell. *Life Sciences* 4:159-166.
- Novelli IA, Lucas PS, Carvalho RG, Santos RC, Sousa BM. 2012. Lagartos em áreas de Cerrado na Reserva Biológica Unilavras-Boqueirão, Ingaí, Sul de Minas Gerais, Brasil. *Bio Neotrop* 12:147-153.
- Prasad M, Reddy P. 1972. Physiology of the sexual segment of the kidney in reptiles. *Gen Comp Endocrinol* 3:649-662.
- Pyron RA, Burbrink FT, Wiens JJ. 2013. A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. *BMC Evol Biol* 13:1-53.
- Reddy P, Prasad M. 1970. Hormonal control of the maintenance of spermatogenesis and sexual segment in the Indian house lizard *Hemidactylus flaviviridis* Ruppell. *Gen Comp Endocrinol* 14:15-24.
- Regaud C, Policard A. 1903a. Recherches sur la structure du rein de quelques ophidiens. *Arch Anat Microsc* 6:191-282.
- Regaud C, Policard A. 1903b. Variations sexuelles de structure dans le segment préterminal du tube urinifère de quelques ophidiens. *C r Soc Biol* 55:216-218.
- Rheubert JL, Murray CM, Siegel DS, Babin J, Sever DM. 2011. The sexual segment of *Hemidactylus turcicus* and the evolution of sexual segment location in Squamata. *J Morphol* 272:802-813.
- Rheubert JL, Sever DM, Siegel DS, Trauth SE. 2015. Male reproductive anatomy: the gonadoducts, sexual segment of the kidney and cloaca. In: Rheubert JL, Siegel DS, Trauth SE. (editors). *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara*. CRC Press: Taylor e Francis Group. p 253-301.

- Rocha CFD, Vrcibradic V. 1999. Reproductive traits of two sympatric viviparous skinks (*Mabuya macrorhyncha* and *Mabuya agilis*) in a Brazilian restinga habitat. *Herpetol J* 9:43-53.
- Rojas CA, Almeida-Santos SM. 2008. Influência do ciclo do segmento sexual renal na determinação do acasalamento em *Sibynomorphus mikanii* (dormideira) (Serpentes, Dipsadinae). *Pesq Vet Bras* 28:154-156.
- Sanyal M, Prasad M. 1966. Sexual segment of the kidney of the Indian house lizard, *Hemidactylus flaviviridis* Rüppell. *J Morphol* 118:511-527.
- Sever DM, Stevens RA, Ryan TJ, Hamlett WC. 2002. Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*). III. Sexual segment of the male kidney. *J Morphol* 252:238-254.
- Sever DM, Hopkins WA. 2005. Renal sexual segment of the ground skink, *Scincella laterale* (Reptilia, Squamata, Scincidae). *J Morphol* 266:46-59.
- Sever DM, Siegel DS, Bagwill A, Eckstut ME, Alexander L, Camus A, Morgan C. 2008. Renal sexual segment of the cottonmouth snake, *Agkistridon piscivorous* (Reptilia, Squamata, Viperidae). *J Morphol* 269:640-653.
- Sever DM, Rheubert JL, Gautreaux J, Hill TG, Freeborn LR. 2012. Observations on the sexual segment the kidney of snakes with emphasis on ultrastruture in the yellow-bellied sea snake, *Pelamis platurus*. *Anat Rec* 295:872-885.
- Silva VdN, Araújo AFB. 2008. Ecologia dos lagartos brasileiros. Rio de Janeiro: Technical Books Editora. 271 p.
- Tolosa EMC, Rodrigues CJ, Behmer OA, Neto AGF. 2003. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: Editora Manole Ltda. 331 p.
- Vitt LJ, Blackburn DG. 1991. Ecology and life history of the viviparous lizard *Mabuya bistriata* (Scincidae) in the Brazilian Amazon. *Copeia* 1991:916-927.
- Vrcibradic D, Rocha CFD. 1998. Reproductive cycle and life-history traits of the viviparous skink *Mabuya frenata* in southeastern Brazil. *Copeia* 1998:612-619.
- Vrcibradic D, Cunha-Barros M, Rocha CFD. 2004. Ecological observations on *Mabuya dorsivittata* (Squamata; Scincidae) from a high altitude habitat in South-Eastern Brazil. *Herpetol J* 14:109-112.

CAPÍTULO II

Espermatogênese e organização do epitélio germinativo de *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) e *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Squamata, Mabuyidae)

RESUMO

Os testículos e epidídimos de duas espécies de lagartos vivíparas e neotropicais, *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum* (Mabuyidae) foram analisados a fim de estudar a espermatogênese e a organização do epitélio germinativo. Os espécimes utilizados foram coletados em uma área do Bioma Cerrado, Ingaí, MG., Brasil. Foram estudados dez espécimes machos adultos, sendo 5 espécimes de *N. frenata* e 5 espécimes de *A. dorsivittatum*. As peças anatômicas foram processadas de acordo com a metodologia para histologia convencional, coradas com hematoxilina-eosina e analisadas em microscópio de luz. Todos os espécimes analisados estavam em período reprodutivo, pois apresentavam espermatozoides nos testículos e/ou epidídimos. O epitélio germinativo de ambas espécies foi identificado sendo composto por células germinativas e células de Sertoli, apresentando um ciclo reprodutivo contínuo, também descrito para muitas outras espécies. O epidídimo de ambas espécies apresentou-se revestido por epitélio colunar simples, com células altas, núcleos basais e o lúmen completamente preenchido por espermatozoides. Os espécimes de *N. frenata* e *A. dorsivittatum* analisadas apresentaram o epitélio germinativo organizado de forma similar aos Squamata em geral. No Brasil, existem poucos estudos que abordem células germinativas e espermatogênese de répteis brasileiros. Dessa forma, o presente estudo acrescenta, não somente o conhecimento sobre a biologia reprodutiva nessas espécies, mas auxilia numa maior compreensão sobre estratégia e biologia reprodutivas em espécies vivíparas e neotropicais.

PALAVRAS CHAVE: lagartos vivíparos, reprodução, testículos, epidídimos

ABSTRACT

The testis and epididymides of two species of viviparous and neotropical lizards, *Notomabuya frenata* and *Aspronema dorsivittatum* (Mabuyidae) were analyzed in order to study spermatogenesis and germinal epithelial organization. The specimens used were collected in an area of Cerrado Biome, Ingaí, MG, Brazil. Ten adult male specimens were studied, 5 specimens of *N. frenata* and 5 specimens of *A. dorsivittatum*. The anatomical specimens were processed according to the methodology for conventional histology, stained with hematoxylin-eosin and analyzed under a light microscope. All specimens analyzed were in the reproductive period, as they had spermatozoa in the testis and / or epididymis. The germinal epithelium of both species was identified, consisting of germ cells and Sertoli cells, presenting a continuous reproductive cycle, also described for many other species. The epididymis of both species was coated by simple columnar epithelium, with high cells, basal nuclei and the lumen completely filled by spermatozoa. The specimens of *N. frenata* and *A. dorsivittatum* analyzed presented the germinative epithelium organized in a similar way to Squamata in general. In Brazil, there are few studies that address germ cells and spermatogenesis of Brazilian reptiles. Thus, the present study not only adds knowledge about reproductive biology in these species, but also aids in a better understanding of reproductive strategy and biology in viviparous and neotropical species.

KEY WORDS: viviparous lizards, reproduction, testis, epididymis

INTRODUÇÃO

A espermatogênese é o processo em que células progenitoras (espermatogônias) se dividem mitoticamente, submetem-se a meiose, e então se diferenciam em espermatozoides (Banks, 1992; Gribbins, 2011). Este processo em lagartos sofre uma variação anual em períodos ativos e quiescentes (Sanyal e Prasad, 1966; Ferreira e Dolder, 2003; Silveira, 2009), e estes têm sido investigado de diferentes métodos com técnicas aplicadas para análise em microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão (Gribbins e Gist, 2003; Gribbins et al., 2009; Ferreira et al., 2009; Gribbins, 2014; Ahmed et al., 2016; Silva et al., 2016). Gribbins (2011) destaca em seu estudo que entender os eventos citológicos básicos da espermatogênese pode auxiliar a resolver as controvérsias e inconsistências

existentes no que se refere a efeitos de temperatura e estimulação hormonal dentro dos ciclos testiculares de Reptilia.

O processo de espermatogênese em lagartos já foi descrito em diversas espécies encontradas no território brasileiro. Ferreira et al. (2002) descreveram a espermatogênese do lagarto *Iguana iguana* (Linnaeus, 1758) (Iguanidae) e correlacionaram as variações do ciclo espermatogênico com as variações sazonais do Pantanal brasileiro. Ribeiro et al. (2012) estudaram as mudanças sazonais de atividade e massa de gordura corporal de machos e fêmeas de *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825) e *Tropidurus semiataeniatus* (Spix, 1825) (Tropiduridae) e Silva et al. (2016) analisaram as células germinativas e a espermatogênese em *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) (Tropiduridae).

Estudos sobre a biologia reprodutiva de espécies de lagartos da Família Mabuyidae revelaram características peculiares sobre a reprodução e a história de vida, apresentando características análogas a dos mamíferos eutérios, como uma estrutura placentária, com viviparidade placentotrófica, reprodução precoce e gestação que pode variar de 8 a 12 meses (Vitt e Blackburn, 1991; Blackburn e Vitt, 1992; Zug et al., 2001; Silva e Araújo, 2008; Hernandez-Franyutti e Uribe, 2012).

Apesar de aspectos biológicos e ecológicos de espécies desta Família serem estudados por várias décadas no Brasil, estudos que elucidem a biologia e estratégias reprodutivas ainda são escassos, quando relacionado a outras espécies de lagartos. Aspectos reprodutivos de *Notomabuya frenata* (Cope, 1862) e *Aspronema dorsivittatum* (Cope, 1862) (Mabuyidae) como ciclo reprodutivo, tamanho da ninhada, ciclo dos corpos gordurosos e tamanho mínimo para maturidade sexual já foram estudados por Vitt e Blackburn (1991), Vrcibradic e Rocha (1998) Rocha e Vrcibradic (1999) e Vrcibradic et al. (2004), dessa forma, nos últimos anos, trabalhos sobre aspectos reprodutivos dessas espécies de Mabuyidae no Brasil são inexistentes; assim como estudos que caracterizam a descrição morfo-histológica da espermatogênese e a organização do epitélio germinativo para ambas as espécies.

Estudos que abordam a biologia reprodutiva em lagartos vivíparos são escassos (Boretto et al., 2007; Hernandez-Franyutti e Uribe, 2012; Lozano et al., 2015; Mesquita et al., 2016). Dessa forma, o presente trabalho tem como finalidade acrescentar informações que contribuam para o conhecimento da biologia reprodutiva de espécies vivíparas e neotropicais brasileiras, através da histologia a espermatogênese e organização do epitélio germinativo durante o período reprodutivo de *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes estudados

Foram analisados cinco espécimes machos adulto de *N. frenata* e cinco espécimes machos adulto de *A. dorsivittatum*, pertencentes a Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Juiz de Fora – Répteis (CHUFJF-Répteis). Os lagartos foram coletados em estudos anteriores na Reserva Biológica do Boqueirão (21°20'47"S; 44°59'27" W), no município de Ingaí, bioma Cerrado, Minas Gerais, Brasil (Novelli et al., 2012a,b; Lucas et al., 2016) entre o período de outubro de 2008 a julho de 2012 (Tabela 1). Essa Reserva possui três fitofisionomias: cerrado *sensu stricto*, campos rupestres e mata de galeria. Os espécimes de *N. frenata* foram coletados em área de Mata de Galeria e os espécimes de *A. dorsivittatum* em área de Cerrado *sensu strictu* (Novelli et al, 2012a,b; Lucas et al., 2016). De acordo com os registros da CHUFJF-Répteis, todos os espécimes foram fixados em formalina 10% e conservados em álcool etílico 70%.

Antes da necropsia, foi aferido em todos os espécimes o comprimento rostro-cloacal (CRC) e a massa corpórea (MC) (Novelli et al, 2012a,b; Lucas et al., 2016). Posteriormente foram calculados a média, o desvio padrão e a amplitude (máximo = M e mínimo = m) para cada espécie.

Durante a necropsia dos espécimes, parte do sistema urogenital de cada indivíduo foi retirado para serem submetidos às técnicas histológicas. Antes do processamento, a peça anatômica (Fig. 1) foi clivada em cortes transversais ou mantida inteira para o processamento.

Microscopia de luz (ML)

Para os estudos do material em microscopia de luz, parte do sistema reprodutor foi desidratado em concentrações crescentes de álcool, diafanizados em xilol e impregnados com parafina. Após o processamento, foi realizada a inclusão do material em parafina histológica, em posição longitudinal e transversal. Posteriormente, foram feitos cortes seriados com 4µm de espessura (Tolosa et al., 2003). As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina (H&E).

Tabela 1. Data de coleta dos espécimes analisados de *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum* Reserva Biológica Unilavras – Boqueirão, Ingaí, Minas Gerais.

Espécime*	Data de Coleta
<i>Notomabuya frenata</i>	
1127	17/10/2008
1140	28/11/2008
1238	27/10/2009
1343	03/12/2010
1408	01/07/2012
<i>Aspronema dorsivittatum</i>	
1149	06/03/2009
1236	20/03/2009
1241	20/03/2009
1303	13/08/2010
1345	03/12/2010

*Referente ao número de depósito na Coleção Herpetológica do Laboratório de Répteis da Universidade Federal de Juiz de Fora (CHUFJF-Répteis).

Estágios de maturação da espermatogênese

Os estágios de maturação da espermatogênese foram definidos de acordo com o trabalho de Vieira et al. (2001), sendo cinco estágios: **(I)** túbulos seminíferos contendo espermatogônias como o tipo celular predominante; **(II)** túbulos seminíferos com espermatócitos nas suas margens; **(III)** presença de espermátides na margem luminal dos túbulos seminíferos; **(IV)** pico da atividade reprodutiva, com acumulação de espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos; e **(V)** células da linhagem espermatogênica separadas do epitélio e dispersas em todo o lúmen dos túbulos seminíferos (Ribeiro et al., 2012).

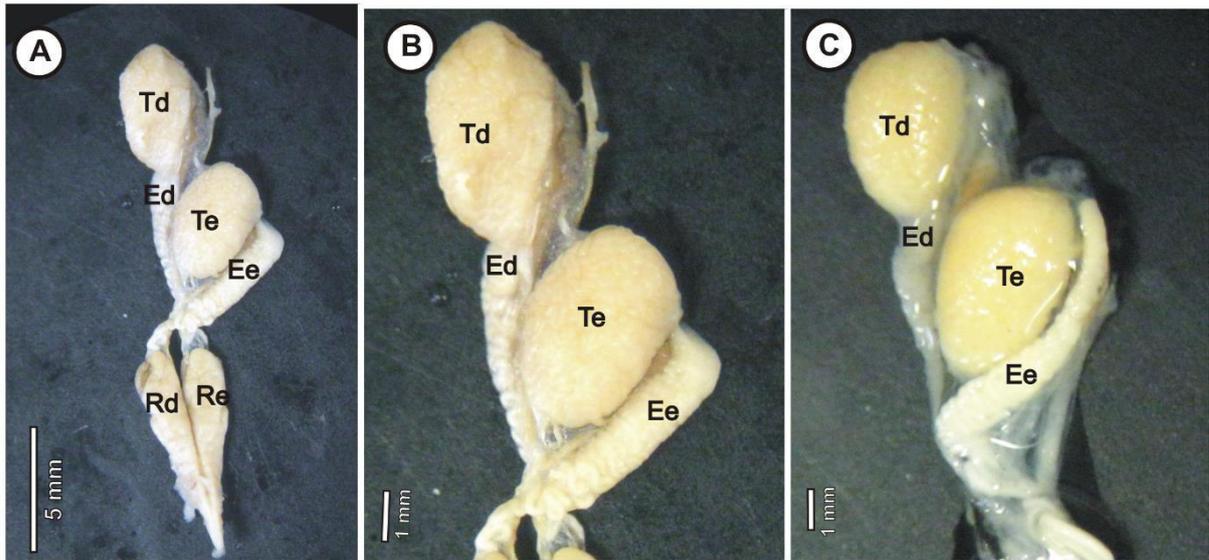


Fig. 1. A-C. Macrofotografias do Sistema urogenital de *Aspronema dorsivittatum*. Fotografia dos testículos e epidídimos de *N. frenata* (B) e de *A. dorsivittatum* (C). Testículo direito (Td); Testículo esquerdo (Te); Epidídimo direito (Ed); Epidídimo esquerdo (Ee); Rim direito (Rd); Rim esquerdo (Re). Foto: Novelli. I. A.

Todo processamento histológico foi realizado no Laboratório de Histologia, do Departamento de Morfologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Minas Gerais. A análise do material e a respectiva fotodocumentação foi realizada em microscópio Olympus BX41 com equipamento fotográfico digital Canon A3100S e ocular micrométrica acoplados ao referido microscópio alocado no Laboratório Avançado de Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais.

RESULTADOS

Dados morfométricos

Os espécimes analisados de *N. frenata* apresentaram um CRC de 6.3 cm (± 0.2 cm, M = 6.6 cm e m = 6.1 cm) e MC de 4.9 g (± 0.7 g, M = 6 g e m = 4 g); enquanto os espécimes de *A. dorsivittatum* apresentaram CRC 6.1 cm (± 0.4 cm, M = 6.55 cm e m = 5.7 cm) e MC de 5.7 g (± 1.9 g, M = 8.6 g e m = 3.5 g).

Aspecto geral macroscópico dos testículos e epidídimos

O sistema reprodutor dos espécimes analisados de *Notomabuya frenata* e *Aspronema dorsivittatum* foi composto por um par de testículos ovais e um par de epidídimos (estes justapostos aos testículos) localizados na região dorsal do abdômen (Fig. 1).

Análise microscópica dos testículos

Todos os espécimes de *N. frenata* e *A. dorsivittatum* analisados apresentaram espermatozoides presentes nos testículos e também nos epidídimos (Fig. 2 e Fig. 3); portanto, estavam em período reprodutivo quando foram coletados.

Na análise histológica dos testículos de *N. frenata* e de *A. dorsivittatum* (Fig. 2 e Fig. 3) observou-se que, em ambas as espécies, os testículos são envolvidos por uma cápsula delgada de tecido conjuntivo, a qual é denominada de túnica albugínea. Os túbulos seminíferos foram observados em diversas secções (transversais, longitudinais, tangenciais e oblíquos). Em função da retração artefactual do interstício (Fig. 4A,D e Fig. 5A,B,C), os mesmos se encontravam envolvidos por um alo claro, criando-se a ideia errônea de espaços entre os túbulos. No interstício foi possível verificar vasos sanguíneos (com hemácias nucleadas). Não foi possível visualizar as células de Leydig devido às técnicas utilizadas.

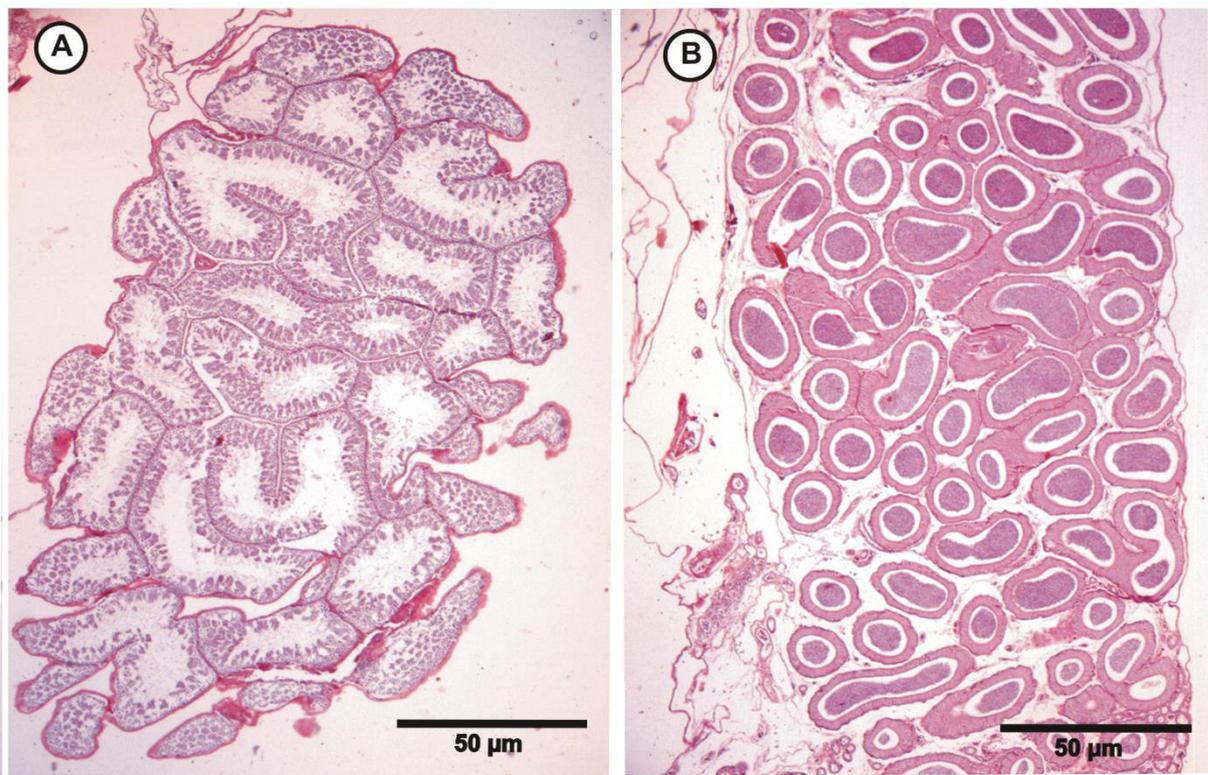


Fig. 2. A-B. Microfotografias do aspecto geral do testículo (A) e do epidídimo (B) de *Notomabuya frenata* corados com hematoxilina-eosina (H&E).

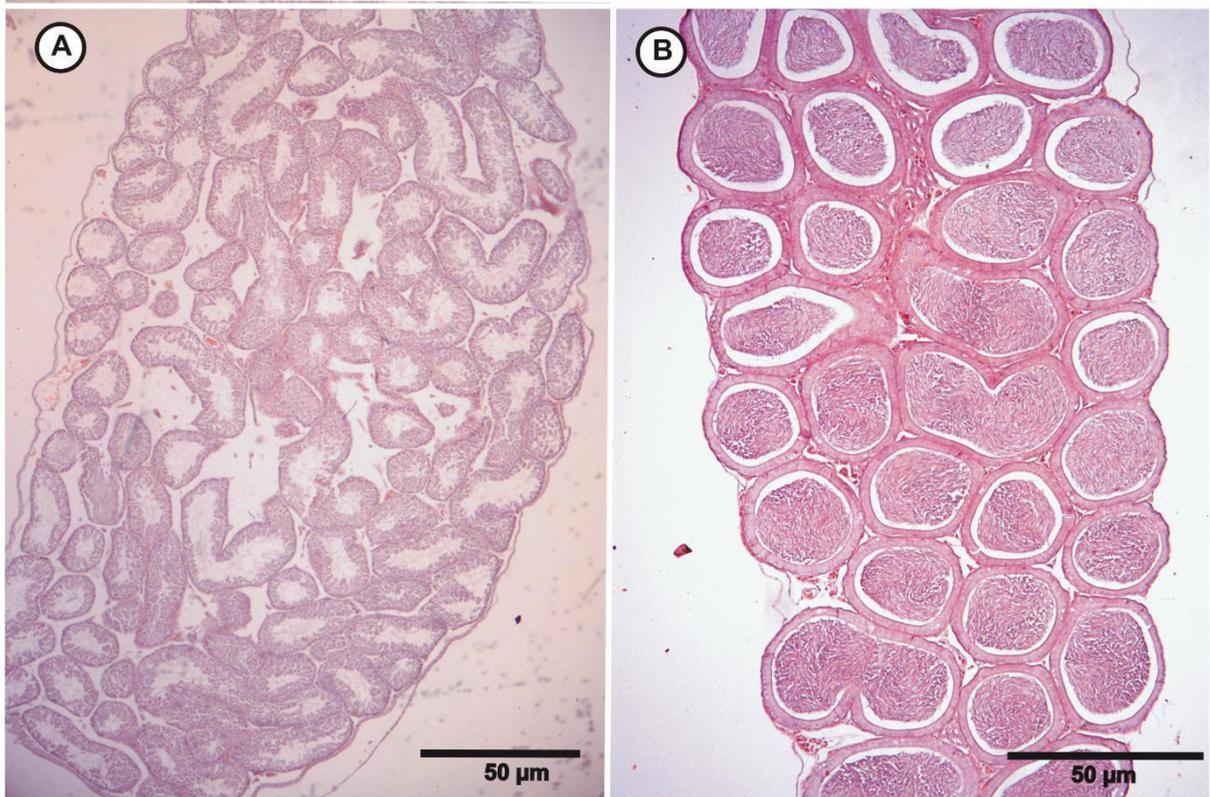


Fig. 3. A-B. Microfotografias do aspecto geral do testículo (A) e do epidídimo (B) de *Aspronema dorsivittatum* corados com hematoxilina-eosina (H&E).

Os túbulos seminíferos são formados por uma parede de epitélio germinativo (Fig. 4 e 5), também denominado epitélio seminífero, compostos por células germinativas e células de Sertoli (Fig. 4C e 5C).

No epitélio germinativo observou-se múltiplas gerações da espermatogênese em um mesmo nível de corte do túbulo seminífero (Fig. 4C e 5C): (1) espermatogônias do tipo A – células que se apresentaram mais basais, com núcleo basofílico, pouco corados; (2) espermatogônias do tipo B – células que se apresentaram em maior número, com núcleo basofílico, mais intensamente corados; (3) espermatócitos primários e secundários – células menores e arredondadas; (4) espermátides – estas se apresentaram quase no compartimento luminal; (5) espermatozoides – visualizados no compartimento luminal. Estas se agruparam formando as chamadas “coortes” (Fig. 4C).

Quanto aos estádios da espermatogênese, foi observado no presente estudo que o epitélio germinativo de ambas as espécies analisadas estava nos estágios IV e V de desenvolvimento.

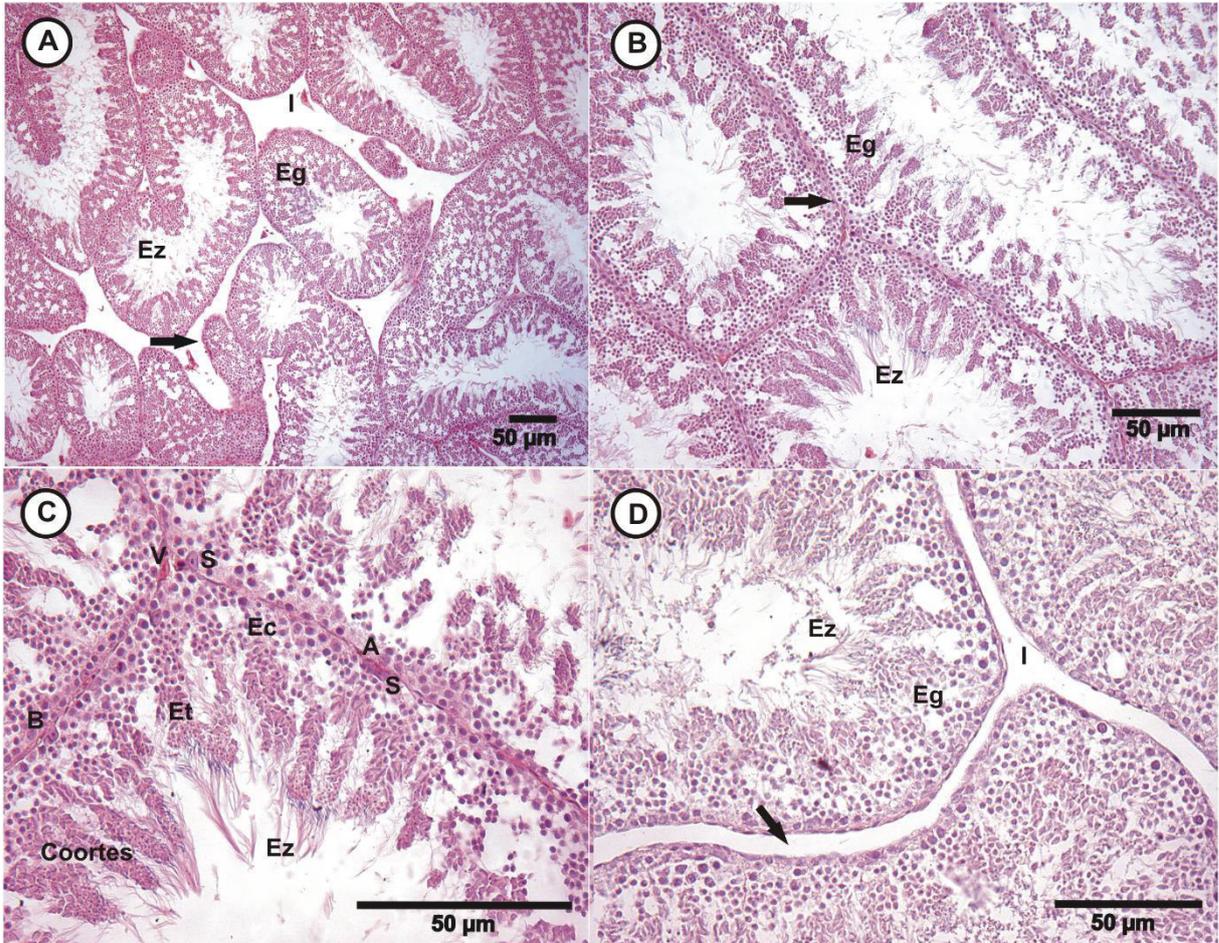


Fig. 4. A-D. Microfotografias de cortes do testículo de *Notomabuya frenata* corados com hematoxilina-eosina (H&E). Interstício (I); Vaso sanguíneo (V); Túbulos seminíferos (seta preta); Epitélio germinativo (Eg); Células de Sertoli (S); Espermatogônia do tipo A (A); Espermatogônia do tipo B (B); Espermatócito (Ec); Espermátide (Et); Espermatozóide (Ez).

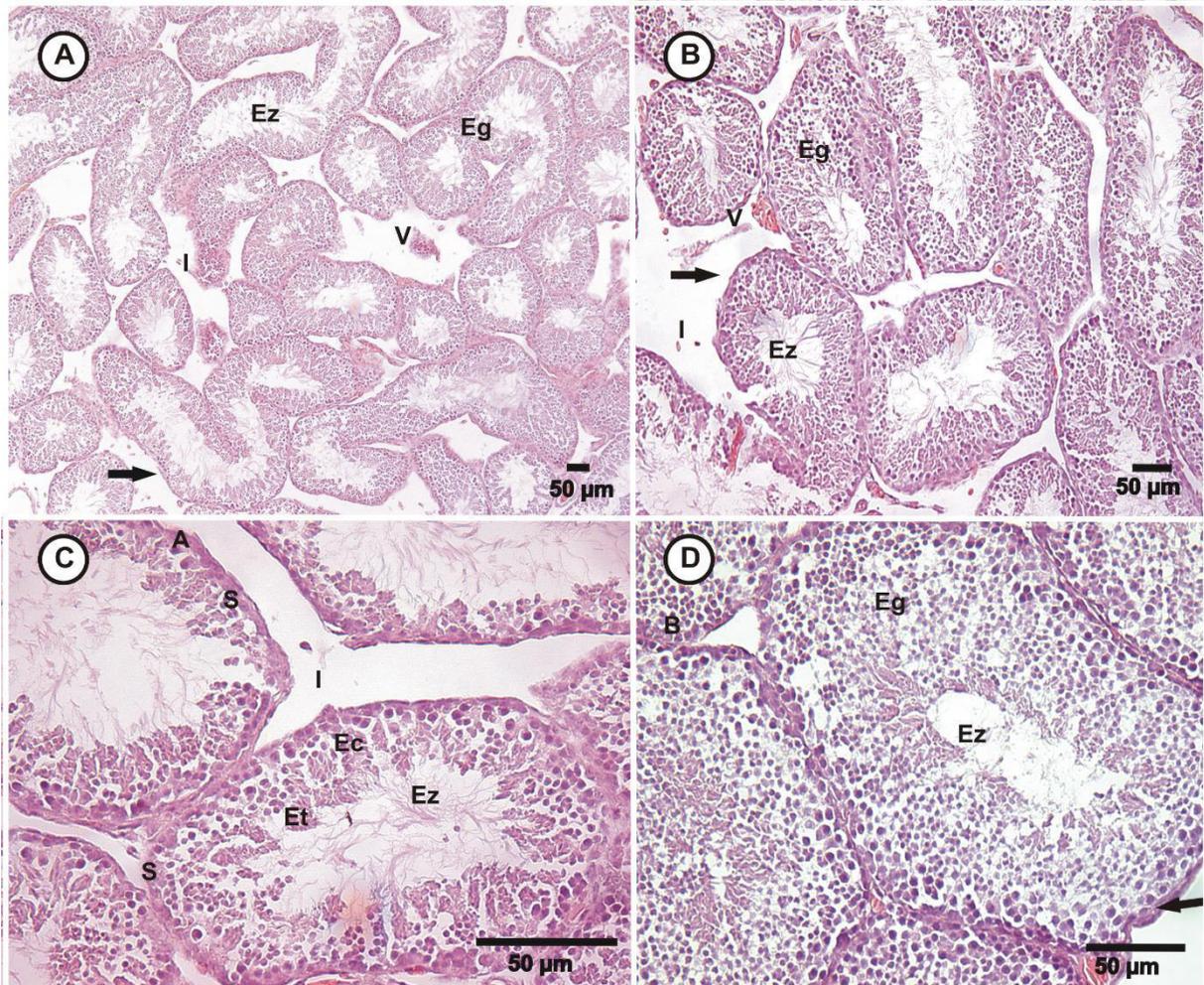


Fig. 5. A-D. Microfotografias de cortes do testículo de *Aspronema dorsivittatum* corados com hematoxilina-eosina (H&E). Interstício (I); Vaso sanguíneo (V); Túbulos seminíferos (seta preta); Epitélio germinativo (Eg); Células de Sertoli (S); Espermatogônia do tipo A (A); Espermatogônia do tipo B (B); Espermatócito (Ec); Espermátide (Et); Espermatozóide (Ez).

Análise microscópica dos epidídimos

Os epidídimos de *N. frenata* (Fig. 6A,B) e de *A. dorsivittatum* (Fig. 6C,D) se apresentaram envolvido por uma cápsula delgada de tecido conjuntivo (Fig. 2 e Fig. 3). O interstício do mesmo, foi composto por um tecido conjuntivo frouxo, artefactualmente retraído (Fig. 6A,B,D), permeado por vasos sanguíneos com hemácias nucleadas (Fig. 6B,C,D).

O ducto epididimário foi observado em secções (transversais, longitudinais, tangenciais e oblíquos), envolvido por uma musculatura lisa fortemente acidófila (Fig. 6A,B,C,D). As secções apresentavam paredes revestidas por um epitélio colunar simples, com células altas e núcleos basais (Fig. 6B,D). Foi possível distinguir dois tipos celulares no epitélio de

revestimento: células principais e células basais (Fig. 6B,D). Na porção apical das células principais observou-se a presença de esteriocílios (Fig. 6B,D).

Os epidídimos de ambas espécies analisadas estavam em estágio IV de desenvolvimento, por apresentar o lúmen repleto de espermatozoides; acompanhando, em partes, o estágio de desenvolvimento da espermatogênese nos testículos.

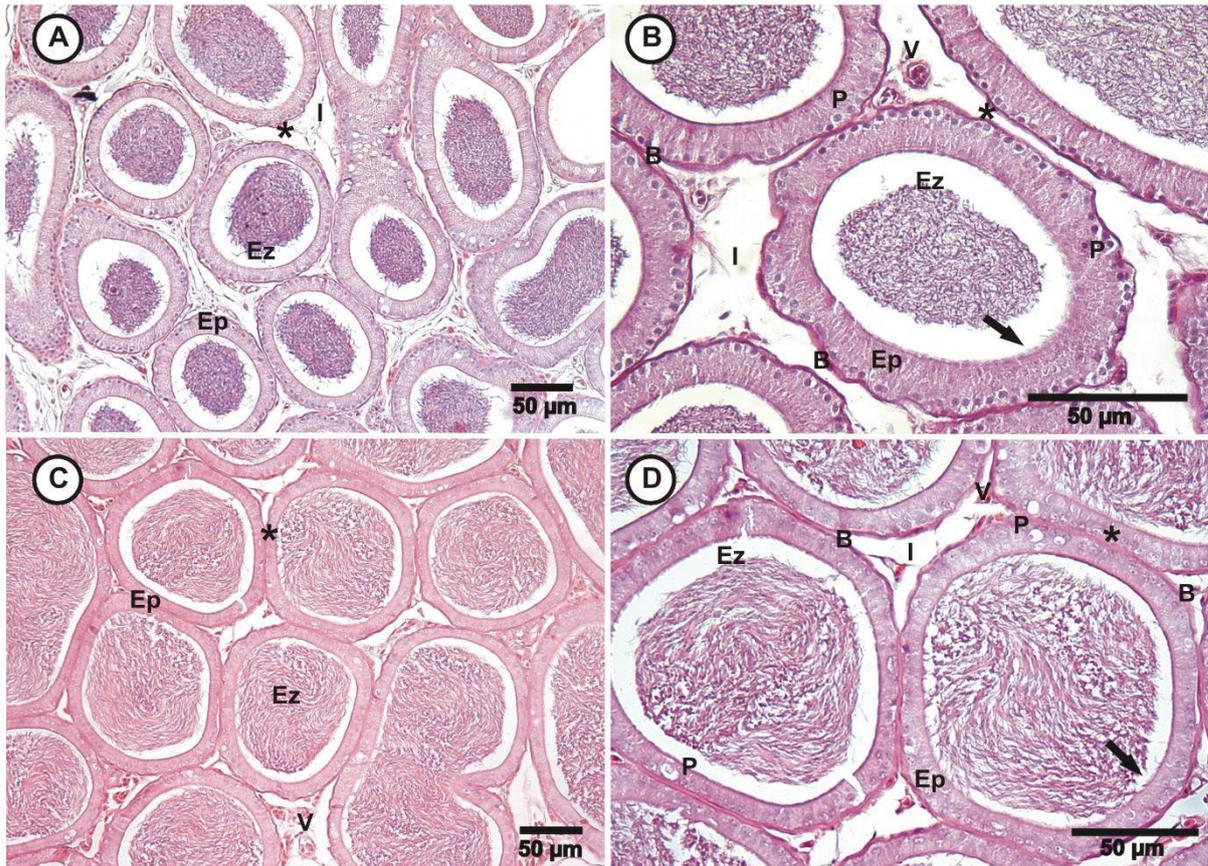


Fig. 6. A-D. Microfotografias de cortes do epidídimo de *Notomabuya frenata* (A-B) e de *Aspronema dorsivittatum* (C-D) corados com hematoxilina-eosina (H&E). Interstício (I); Vaso sanguíneo (V); Musculatura lisa (*); Epitélio do ducto epididimário (Ep); Células principais (P); Células basais (B); Esteriocílios (seta preta); Espermatozóide (Ez).

DISCUSSÃO

Todos os espécimes analisados de *N. frenata* e *A. dorsivittatum* estavam em período reprodutivo, confirmados pela presença de espermatozoides nos testículos e nos epidídimos (Sherbrooke, 1975; Ferreira et al., 2002; Ferreira et al., 2009; Ribeiro et al., 2012) e também

através do CRC e MC dos animais para ambas espécies, conforme relatado nos estudos de Vrcbradic e Rocha (1998) e Vrcibradic et al. (2004), em que machos adultos possuem para *N. frenata* um CRC a partir de 5.8 cm (média) e MC 6.9 g (média) e *A. dorsivittatum* machos adultos possuem um CRC a partir de 6.49 cm (média) e MC 4.9 g (média). O CRC e a MC que as espécies analisadas apresentaram no presente estudo (*N. frenata* – CRC = 6.3 cm e MC = 4.9 g; e *A. dorsivittatum* – CRC = 6.1 cm e MC = 5.7 g) é similar ao apresentados a essas espécies em machos adultos de estudos anteriores, reforçando assim que os espécimes analisados são adultos. Ressalta-se que os estudos de Vrcibradic e Rocha (1998) e Vrcibradic et al. (2004) foram realizados em áreas diferentes da área deste estudo, por isso a diferença observada no CRC e na MC pode ser atribuída a variação populacional. No entanto, necessita-se de estudos mais aprofundados.

Apesar do sistema reprodutor em machos de lagartos sofrer variações ao longo das estações reprodutivas e não reprodutivas no ano (Flemming, 1994; Gribbins e Gist, 2003; Ferreira e Dolder, 2002; Ferreira et al., 2002; Ribeiro et al., 2012), uma vez que este também é controlado por hormônios (Rheubert et al., 2014) e estariam sujeitos a ação de diferentes fatores como temperatura, pluviosidade e padrões de fotoperíodo (Ferreira et al., 2009), não foram observadas alterações na espermatogênese entre as espécies estudadas no presente trabalho e nem entre os espécimes. Entretanto, este fato pode estar relacionado a baixa amostragem, necessitando assim de estudos complementares para ambas as espécies.

Os testículos dos espécimes de *N. frenata* e de *A. dorsivittatum* estavam nos estágios IV e V de desenvolvimento da espermatogênese e os epidídimos em estágio IV; ou seja, o estágio IV marcou o pico da atividade reprodutiva, com acumulação de espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos e os epidídimos com o lúmen completamente preenchido de espermatozoides, já no estágio V foi marcada pelo início da regressão do epitélio germinativo, com as células da linhagem espermatogênica separadas do epitélio. Estes estágios de desenvolvimento das células germinativas também foram observados, de forma similar aos dados do presente estudo, por Ribeiro et al. (2012) ao analisarem o ciclo reprodutivo de *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825) e *Tropidurus semitaeniatus* (Spix, 1825) (Tropiduridae) provenientes de populações do Rio Grande do Norte (Brasil) que apresentaram mudanças morfo-histológicas bastante características de cada estágio; embora estas espécies diferissem quanto ao período de atividade reprodutiva (*T. hispidus* – ativos de outubro a maio; *T. semitaeniatus* – ativos durante todo o ano).

Assim como o presente estudo, Ribeiro et al. (2012) analisou o ciclo reprodutivo de duas espécies de populações provenientes da mesma localidade. Entretanto o número de amostras

foi maior, quando comparado a este estudo, e o período de coleta dos espécimes analisados permitiu uma amostragem mais homogênea ao longo das estações. Reconhece-se a influência de diferentes fatores na reprodução de répteis em geral, como controle hormonal, padrões de fotoperíodo, temperatura e pluviosidade (Ferreira, 2001, 2003; Ribeiro et al., 2012). Nesse contexto, reforça-se a necessidade de estudos mais aprofundados sobre as espécies analisadas neste trabalho que complementem os dados acima mencionados.

As células do epitélio germinativo dos espécimes analisados se apresentaram em “coortes”. Essa organização das células germinativas foi descrita por Gribbins e Gist (2003) e se caracteriza por essas células amudarecerem e migrarem para o lúmen, permanecendo assim centralizadas nos túbulos seminíferos; dessa forma, a organização do epitélio germinativo dos répteis se encontra de forma similar ao dos não-amniotas (Gribbins e Gist, 2003; Rheubert et al., 2014).

O ciclo reprodutivo de *N. frenata* e de *A. dorsivittatum* provavelmente é contínuo na área amostrada; uma vez que foi possível identificar todas as gerações de células germinativas da espermatogênese (espermatogônias, espermatócitos, espermatídes e espermatozoides) e espermatozoides nos túbulos seminíferos durante diferentes períodos do ano (Sherbrooke, 1975) como também relatado no trabalho de Ferreira e Dolder (2002) e Ferreira et al. (2002) para *Iguana iguana* (Linnaeus, 1758) (Iguanidae) de uma população do Mato Grosso de Sul, Brasil.

Inger e Greenberg (1966) relacionaram a presença de ciclo reprodutivo contínuo em lagartos tropicais a condições ecologicamente estáveis, uma vez que o clima tropical seria constante e favorável. Outros fatores, além do clima, também favorecem esse comportamento observado como a disponibilidade de alimento (para lagartos que se alimentam de insetos e outros invertebrados, estes seriam ativos e numerosos ao longo do ano) e a temperatura e umidade relativa (sendo que estas não forneceria restrições fisiológicas para o desenvolvimento de adultos e embriões) (Inger e Greenberg, 1966).

Estudos de características reprodutivas de espécies de lagartos de clima temperado são mais frequentes quando comparado a espécies tropicais (Huang, 1966; Guillette, 1992; Ferreira, 2003; Greenville e Dickman, 2005; Gribbins et al., 2009; Rheubert et al., 2014). Desse modo, o presente estudo é o primeiro que relata a espermatogênese e organização do epitélio germinativo de duas espécies de lagartos vivíparos e neotropicais, resultando em novas informações que auxiliam no estudo sobre a biologia e o ciclo reprodutivo dessas espécies até então pouco conhecidas.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil e do Programa Nacional de Pós-Doutorado/CAPES (PNPD/CAPES). Agradecemos ao Prof. Dr. Fabiano Matos Vieira pela assistência técnica nos estudos de microscopia de luz. Larissa Cardoso Barbosa, Caroline Nogueira Aguiar, Matheus Nehrer Rodrigues e Isabele Araújo Granato pela assistência nas etapas de preparação do material histológico.

REFERÊNCIAS

- Ahmed M, Aldokhi OA, Alenezzy ES. 2016. Ultrastructural differentiation of spermiogenesis in *Scincus scincus* (Scincidae, Reptilia). Saudi Journal of Biological Sciences 1-11.
- Banks WJ. 1992. Histologia Veterinária aplicada. 2. ed. São Paulo: Manole. 629 p.
- Blackburn DG, Vitt LJ. 1992. Reproduction in viviparous South American lizards of the genus *Mabuya*. Reproductive biology of South American vertebrates: Springer. p 150-164.
- Boretto JM, Ibarzüengoytía NR, Acosta JC, Blanco GM, Villavicencio J, Marinero JA. 2007. Reproductive biology and sexual dimorphism of a high-altitude population of the viviparous lizard *Phymaturus punae* from the Andes in Argentina. Amphibia-Reptile 28:427-432.
- Ferreira A, Dolder H. 2002. Ultrastructural analysis of spermiogenesis in *Iguana iguana* (Reptilia: Sauria: Iguanidae). Eur J Morphol 40:89-99.
- Ferreira A, Dolder H. 2003. Cytochemical study of spermatogenesis and mature spermatozoa in the lizard *Tropidurus itambere* (Reptilia, Squamata). Acta Histochemica 105:339-352.
- Ferreira A. 2003. Estrutura, ultra-estrutura e citoquímica da espermatogênese, dos ductos e ovidutos do lagarto *Tropidurus itambere* durante o ciclo reprodutivo. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. 126p.
- Ferreira A, Laura IA, Dolder H. 2002. Reproductive cycle of male green iguanas, *Iguana iguana* (Reptilia: Sauria: Iguanidae) in the Pantanal region of Brazil. Braz J Morphol Sci 19:23-28.
- Ferreira A, Silva DN, Van Sluys M, Dolder H. 2009. Seasonal changes in testicular and epididymal histology of the tropical lizard, *Tropidurus itambere* (Rodrigues, 1987), during its reproductive cycle. Braz J Bio 69:429-435.
- Flemming AF. 1994. Male and Female Reproductive Cycles of the Viviparous Lizard, *Mabuya capensis* (Sauria: Scincidae) from South Africa. J Herpetol 28:334-341.
- Greenville AC, Dickman CR. 2005. The ecology of *Lerista labialis* (Scincidae) in the Simpson Desert: reproduction and diet. J Arid Environments 60:611-625.
- Gribbins KM, Gist DH. 2003. Cytological evaluation of spermatogenesis within the germinal epithelium of the male European wall lizard, *Podarcis muralis*. J Morphol 258:296-306.
- Gribbins KM, Rheubert JL, Poldemann EH, Collier MH, Wilson B, Wolf K. 2009. Continuous spermatogenesis and the germ cell development strategy within the testis of the Jamaican Gray Anole, *Anolis lineatopus*. Theriogenology 72:484-492.

- Gribbins KM. 2011. Reptilian spermatogenesis: a histological and ultrastructural perspective. *Spermatogenesis* 1:250-269.
- Gribbins KM. 2014. Histological analysis of spermatogenesis within non-mammalian vertebrates. *Spermatogenesis* 4:e1011565.
- Guillette LJ. 1992. Morphology of the reproductive tract in a lizard exhibiting incipient viviparity (*Sphenomorphus fragilis*) and its implications for the evolution of the Reptilian placenta. *J Morphol* 212:163-173.
- Hernández-Franyutti A, Uribe MC. 2012. Seasonal spermatogenic cycle and morphology of germ cells in the viviparous lizard *Mabuya brachypoda* (Squamata, Scincidae). *J Morphol* 273:1199-1213.
- Huang WS. 1996. Reproductive cycles and sexual dimorphism in the viviparous skink, *Sphenomorphus indicus* (Sauria: Scincidae), from Wushe, Central Taiwan. *Zool Studies* 35:55-61.
- Inger RF, Greenberg B. 1966. Annual reproductive patterns of lizards from a Bornean Rain Forest. *Ecol* 47:1007-1021.
- Lozano A, Uribe MC, Ramírez-Bautista A. 2015. Seasonal and continuous spermatogenesis in the viviparous lizard *Sceloporus grammicus*, a study of the populations in contrasting environments from the Central Mexican Plateau. *Zool Anz* 254:72-85.
- Lucas PS, Novelli IA, Sousa BM. 2016. Assemblage of squamate reptiles in a natural remnant of Cerrado in southern Minas Gerais, Brazil. *Check List* 12: 1866.
- Mesquita DO, Costa GC, Colli GR, Costa TB, Shepard DB, Vitt LJ, Pianka ER. 2016. Life-history patterns of lizard of the world. *Amer Nat* 187:689-705.
- Novelli IA, Gouveia, RV, Silva DAN, Lucas OS, Trindade IT, Carvalho RG, Sousa BM. 2012a. Current state of the fauna of the Biological Reserve Squamata Unilavras –Boqueirão. *Pro Homine* 2:7-19.
- Novelli IA, Lucas PS, Carvalho RG, Santos RC, Sousa BM. 2012b. Lagartos em áreas de Cerrado na Reserva Biológica Unilavras - Boqueirão, Ingaí, Sul de Minas Gerais, Brasil. *Bio Neotrop* 12:147-153.
- Rheubert JL, Touzinsky K, Sever DM, Aldridge RD, Wilmes AJ, Siegel DS, Gribbins KM. 2014. Reproductive biology of *Sceloporus consobrinus* (Phrynosomatidae): male germ cell development and reproductive cycle comparisons within spiny lizards. *J Herpetol* 48:162-171.

- Ribeiro LB, Silva NB, Freire LMX. 2012. Reproductive and fat body cycles of *Tropidurus hispidus* and *Tropidurus semitaeniatus* (Squamata, Tropiduridae) in a caatinga area of northeastern Brazil. *Rev Chil Hist Nat* 85:307-320.
- Rocha CFD, Vrcibradic V. 1999. Reproductive traits of two sympatric viviparous skinks (*Mabuya macrorhyncha* and *Mabuya agilis*) in a Brazilian restinga habitat. *Herpetol J* 9:43-53.
- Sanyal M, Prasad M. 1966. Sexual segment of the kidney of the Indian house lizard, *Hemidactylus flaviviridis* Rüppell. *J Morphol* 118:511-527.
- Sherbrooke WC. 1975. Reproductive cycle of a Tropical Teiid lizard, *Neusticurus eupleopus*, Cope, in Peru. *Biotropica* 7:194-207.
- Silva D, Rodrigues M, Mehanna M, Ferreira A, Dolder H. 2016. Germinative cells and spermatogenesis of the lizard *Tropidurus torquatus* (Tropiduridae) from a urban área in the Cerrado biome of the Brazilian Midwest. *Biosci J* 32:1595-1603.
- Silva VdN, Araújo AFB. 2008. *Ecologia dos lagartos brasileiros*. Rio de Janeiro: Technical Books Editora. 271 p.
- Silveira JA. 2009. *Histologia testicular e caracterização dos estádios do ciclo do epitélio seminífero de Hemidactylus maboia* (Moreau de Jonnes, 1818) (Reptilia, Squamata, Sauria, Gekkonidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. 72 p.
- Tolosa EMC, Rodrigues CJ, Behmer OA, Neto AGF. 2003. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: Editora Manole Ltda. 331 p.
- Vieira GHC, Wiederhecker HC, Colli GR, Bão SN. 2001. Spermogenesis and testicular cycle of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) in the Cerrado of central Brazil. *Amphibia-Reptilia* 22:217-233.
- Vitt LJ, Blackburn DG. 1991. Ecology and life history of the viviparous lizard *Mabuya bistriata* (Scincidae) in the Brazilian Amazon. *Copeia* 1991:916-927.
- Vrcibradic D, Cunha-Barros M, Rocha CFD. 2004. Ecological observations on *Mabuya dorsivittata* (Squamata; Scincidae) from a high altitude habitat in South-Eastern Brazil. *Herpetol J* 14:109-112.
- Vrcibradic D, Rocha CFD. 1998. Reproductive cycle and life-history traits of the viviparous skink *Mabuya frenata* in southeastern Brazil. *Copeia* 1998:612-619.
- Zug GR, Vitt J, Caldwell JP. 2001. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. 2 ed. Academic Press, San Diego.