**Universidade Federal do Amazonas**
**Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação**
**Departamento de Apoio à Pesquisa**
**Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica**

# Variação na morfologia e na atividade gonadal em função do tamanho corporal e do ciclo reprodutivo dos machos de jacaré-açu e de jacaré-tinga na Reserva Piagaçu-Purus.

Bolsista: Michele Marques de Souza, CNPq.

Manaus
2009

**Universidade Federal do Amazonas**
**Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação**
**Departamento de Apoio à Pesquisa**
**Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica**

RELATÓRIO FINAL
PIBIC: **PIB-B/064/2008**

# Variação na morfologia e na atividade gonadal em função do tamanho corporal e do ciclo reprodutivo dos machos de jacaré-açu e de jacaré-tinga na Reserva Piagaçu-Purus.

Bolsista: Michele Marques de Souza

Orientador: Prof. Dr. José Fernando Marques Barcellos

Manaus
2009

# RESUMO

Grande parte dos estudos sobre a biologia reprodutiva de crocodilianos concentra-se nas fêmeas e na ecologia de nidificação, existindo poucos estudos sobre o ciclo reprodutivo dos machos. Sendo assim, as gônadas dos machos de *Melanosuchus niger* (n = 13) e de *Caiman crocodilus* (n = 16) foram estudadas objetivando descrever a anatomia dos machos dessas espécies macro e microscopicamente. Os animais foram capturados e abatidos nos períodos de março, agosto e dezembro de 2008, na periferia e no limite norte da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus, no Estado do Amazonas, abrangendo nesse período diferentes etapas do pulso anual de inundação do Rio Purus (cheia, vazante e seca, respectivamente). As amostras foram mensuradas, etiquetadas, preservadas com formol 10% tamponado, processados mediante técnica de inclusão em parafina e coloração de rotina hematoxilina-eosina. Nove machos de *Caiman crocodilus* (66,0 ≤ CRC cm ≤ 119,0) e nove machos de *M. niger* (87,5 ≤ CRC cm ≤ 190,0) foram analisados histologicamente. Todos os *C. crocodilus* foram considerados adultos por apresentarem espermatozóides ou restos destes nos túbulos seminíferos, mesmo na época de repouso testicular. Para *M. niger*, indivíduos com CRC ≤ 87,5 cm foram considerados imaturos e a partir dos 90,1 cm de CRC os indivíduos apresentaram alguma capacidade reprodutiva, devendo seu tamanho mínimo reprodutivo estar entre esses dois extremos. Em março, os indivíduos apresentaram testículos pouco vascularizados, relativamente pequenos e com túbulos seminíferos esvaziados, espermatogônias e poucos espermatócitos primários. Em agosto, foi o pico da espermatogênese, onde os túbulos seminíferos exibiram espermatogênese completa para *C. crocodilus.* Em dezembro deu-se o período de início de regressão testicular para ambas as espécies, parecendo mais retardada para o jacaré-açu, o que pode indicar período reprodutivo um pouco mais atrasado para a espécie. A morfologia das gônadas de ambas as espécies variou ao longo dos períodos de amostragem, indicando sincronia do ciclo reprodutivo das duas espécies em relação a fatores ambientais, como o nível da água do Rio Purus.

PALAVRAS-CHAVE: *Melanosuchus niger*, *Caiman crocodilus*, histologia, Reprodução.

# Sumário

1. INTRODUÇÃO ..... 6

2. OBJETIVOS ..... 9

3. MATERIAL E MÉTODOS ..... 10

3.1 Área de estudo e amostragem ..... 10

3.2 Morfometria de órgãos e estruturas reprodutivas ..... 11

3.3 Análise histológica dos testículos ..... 12

3.4 Análise dos dados ..... 13

4. RESULTADOS ..... 14

4.1 Características macroscópicas ..... 15

4.2 Características microscópicas ..... 17

4.3 Variações na atividade testicular ..... 18

5. DISCUSSÃO ..... 23

5.1 Característica morfológicas e ciclo reprodutivo ..... 23

5.2 Tamanho mínimo da maturação sexual ..... 24

6.CONCLUSÕES ..... 26

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 27

8. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES ..... 30

AGRADECIMENTOS ..... 32

APÊNDICE ..... 33

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Núcleo de Estudo e Pesquisa em Ciência da Informação e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pelo Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida no instituto de Ciências Biológicas como sendo parte do programa de iniciação científica PIBIC - PIB-B/064/2008.

# 1. Introdução

O tamanho da população depende de uma gama de fatores e recursos que afetam, direta ou indiretamente, as taxas de incremento (natalidade-imigração) ou decréscimo (mortalidade-emigração), refletindo a dinâmica de cada população (PIANKA, 1983).

Neste cenário de relações ecológicas complexas, a reprodução exerce um papel vital na reposição dos estoques, principalmente em populações de espécies onde a mortalidade é alta, não só pela predação de ovos, filhotes e juvenis, mas também pela caça de subadultos e adultos (THORBJARNARSON, 1996).

A biologia reprodutiva dos crocodilianos tem recebido ampla atenção por parte da comunidade científica, sobretudo para fins de manejo e conservação (THORBJARNARSON & HERNANDEZ, 1993; THORBJARNARSON, 1994; WEBB *et al*, 1987). Entretanto, muitas das informações disponibilizadas referem-se à ecologia de nidificação, restando poucos estudos sobre função e características morfológicas do aparelho reprodutor destes animais, especialmente o que concerne aos machos dos jacarés distribuídos na Amazônia brasileira (CAMPOS, 1993; CAMPOS, 2003; DA SILVEIRA *et al*., 1997).

O papel desempenhado pelos machos de jacarés na reprodução *sensu latu* (desde a corte até o cuidado parental) é pouco evidente quando comparado ao gasto energético elevado e ao papel comportamental evidente das fêmeas (LANG, 1987). Sendo assim, muito do conhecimento sobre a relevância dos machos na população efetiva de crocodilianos só pode ser obtida por análise detalhada do sistema reprodutor (COUTINHO, 2005).

Segundo Campos (2003), na Amazônia ocorrem quatro espécies de jacarés sendo elas *Paleosuchus palpebrosus*, *Paleosuchus trigonatus*, *Caiman crocodilus*

*crocodilus* (Figura 1) e *Melanosuchus niger* (Figura 2), todos pertencentes à família Alligatoridae. As duas últimas espécies citadas acima tiveram os aparelhos reprodutores masculinos, em seus aspectos anatômicos e histológicos, estudados neste trabalho.

Figura 1 –*Caiman crocodilus.*

Figura 2 –*Melanosuchus niger*.

Ambas as espécies são comuns na Amazônia brasileira sendo considerados os maiores predadores generalistas desta região amazônica, alimentando-se de diversos tipos de presas terrestres ou aquáticas (DA SILVEIRA & MAGNUSSON, 1999; DA SILVEIRA & THORBJARNARSON, 1999, DA SILVEIRA & DA SILVEIRA, 1997; MARIONI *et al*., 2008).

Para *C. crocodilus*, denominado popularmente como jacaré-tinga, os machos podem atingir até 2,5 m de comprimento total e pesar até 50 kg (THORBJARNARSON, 1994). Distribui-se amplamente pelas bacias do Rio Orinoco, Lhanos Venezuelanos e bacia Amazônica (ROSS, 1998). Sua reprodução, em aspectos ecológicos, ainda é desconhecida na Amazônia brasileira, apesar deste bioma abranger a maior parte da distribuição da espécie (OUBOTER & NANHOE, 1988).

Os trabalhos mais completos sobre gônadas de machos de jacaré-tinga (*Caiman crocodilus*) foram realizados na Venezuela (THORBJARNARSON, 1994: CABRERA *et al*., 2007). Estes autores demonstraram um efeito forte da variação do nível da água sobre a morfologia e atividade gonadal dos machos desta espécie. Trabalho semelhante

realizado por Coutinho *et al.* (2005) com jacarés-do-pantanal (*Caiman crocodilus yacare*) confirmam a influência desse fator ambiental, altamente relacionado com a disponibilidade de alimentos e as condições fisiológicas para reprodução.

Já o *Melanosuchus niger*, conhecido popularmente como jacaré-açu, pode atingir mais de 4 m de comprimento total e pesar cerca de 400 kg. Este crocodiliano habita tipicamente as florestas alagáveis da Amazônia, onde o nível dos rios pode variar até 15 m anualmente (DA SILVEIRA, 1997, em preparação). Este fator deve exercer efeito acentuado sobre seu ciclo reprodutivo, ocasionando mudanças sazonais no tamanho e na massa, em aspectos macroscópicos, e na composição celular, em aspectos histológicos das estruturas reprodutivas (COUTINHO *et al*., 2005).

Apesar da sua distribuição ampla por países como Brasil, Bolívia, Peru, Colômbia, Equador, Guiana, Suriname e Guiana Francesa (ROSS, 1998) este foi o primeiro estudo desta natureza realizado com a espécie.

A caça ilegal de ambas as espécies que foi praticada na Amazônia brasileira nas últimas décadas baseia-se principalmente na coleta de indivíduos de médio a grande porte, que representam os machos reprodutivos ou aqueles indivíduos em fase de recrutamento para esta parcela da população (DA SILVEIRA, 2001).

Sendo assim, o conhecimento da dinâmica reprodutiva dos machos em populações de *M. niger e de C. crocodilus* é relevante para sua conservação, principalmente quando considerada a lacuna existente a respeito da biologia reprodutiva das duas maiores espécies de crocodilianos em simpatria na Amazônia brasileira.

# 2. Objetivos

**Geral:**

Gerar informações científicas sobre o sistema reprodutor de machos de *Melanosuchus niger* e de *Caiman crocodilus*, visando ampliar o conhecimento sobre a biologia reprodutiva destas espécies em populações de vida livre na Amazônia Central.

**Específicos:**

- Caracterizar a morfologia macroscópica do aparelho reprodutor dos machos de *M. niger* e de *C. crocodilus*;
- Determinar o índice gonadossomático (IGS) destas espécies;
- Relacionar as variáveis morfométricas e o índice gonadossomático (IGS) com o tamanho do indivíduo e a época do ciclo reprodutivo em que o animal foi amostrado;
- Caracterizar a morfologia microscópica do aparelho reprodutor dos machos de *M. niger* e de *C. crocodilus*;
- Avaliar histologicamente a produção de espermatozóides e relacionar com o tamanho do jacaré e a época reprodutiva;
- Determinar o tamanho mínimo reprodutivo para cada espécie;

# 3. Material e métodos

## 3.1 Área de estudo e amostragem

A área de estudo compreendeu a Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu – Purus – RDS- PP (4º 05’ e 5 35’ S e 61 73’ e 63 35’ W) que possui 1.008.167 ha, localizada a 223 km da cidade de Manaus, no Estado do Amazonas. Os animais foram capturados na periferia e limite norte dessa reserva em áreas de várzea que são periodicamente alagadas devido o ciclo sazonal das águas do Rio Purus. (Figura 3).

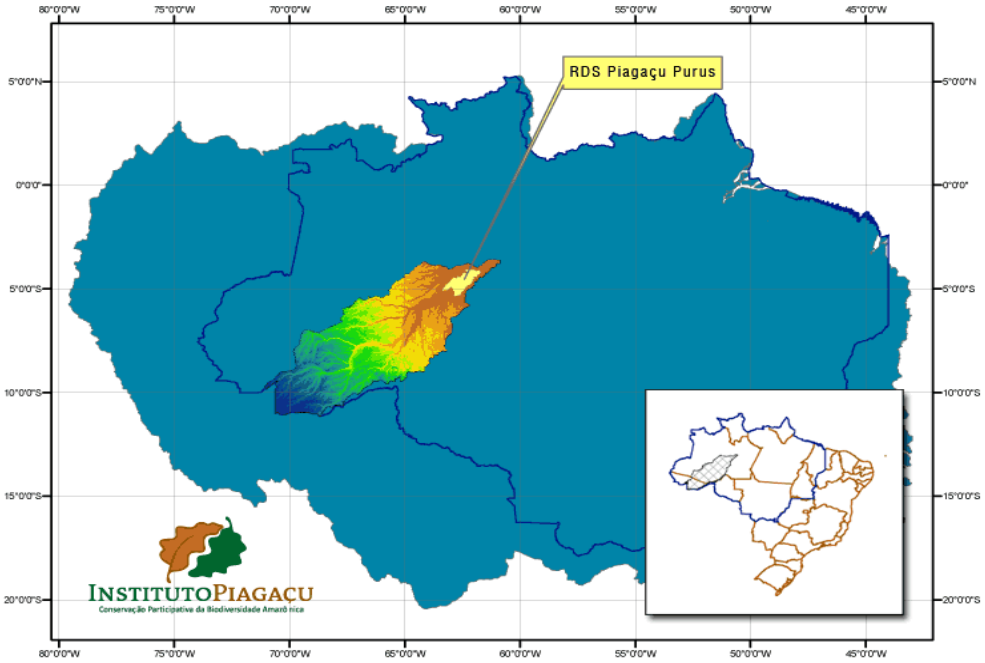



Figura 3 – Localização da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu –Purus (RDS – PP) no Estado do Amazonas, 2008. (Fonte: Instituto Piagaçu).

As coletas foram realizadas em três épocas distintas do ano de 2008, as quais março representou o período da cheia na região, agosto (início da vazante e após a cópula) e início de dezembro (seca e pico da nidificação). Os animais foram capturados e abatidos sob a coordenação do Professor Dr. Ronis Da Silveira (Licenças: SISBIO-IBAMA #14498-1 & 014/07 SEUC/SDS) (Projeto CNPq/408760/2006-0) na base flutuante do projeto BAJAQUEL (Bases técnico- científicas e protocolos de

beneficiamento para a implantação da cadeia produtiva de jacarés e quelônios nas florestas alagáveis de várzea da Amazônia Central.

As capturas foram realizadas à noite, por meio de métodos manuais (cambão, arpão) e contou com a participação de alguns integrantes da equipe do Projeto BAJAQUEL e de ribeirinhos das comunidades alocadas dentro da reserva. Todos os animais foram devidamente identificados com etiquetas plásticas numeradas, medidos (comprimento rostro-cloacal – CRC, pós - cloaca, e total), pesados e sexados, segundo protocolo padrão (DA SILVEIRA *et al.*, 1997).

### 3.2 Morfometria dos órgãos e estruturas reprodutivas

Imediatamente após o abate, os órgãos reprodutores dos animais foram dissecados, medidos e pesados. As duas maiores dimensões ortogonais dos testículos (comprimento e largura) foram mensuradas com auxílio de uma trena metálica e paquímetro graduado em centímetros (Figura 4). A massa dos testículos foi aferida com ajuda de um dinamômetro com capacidade compatível às estruturas.

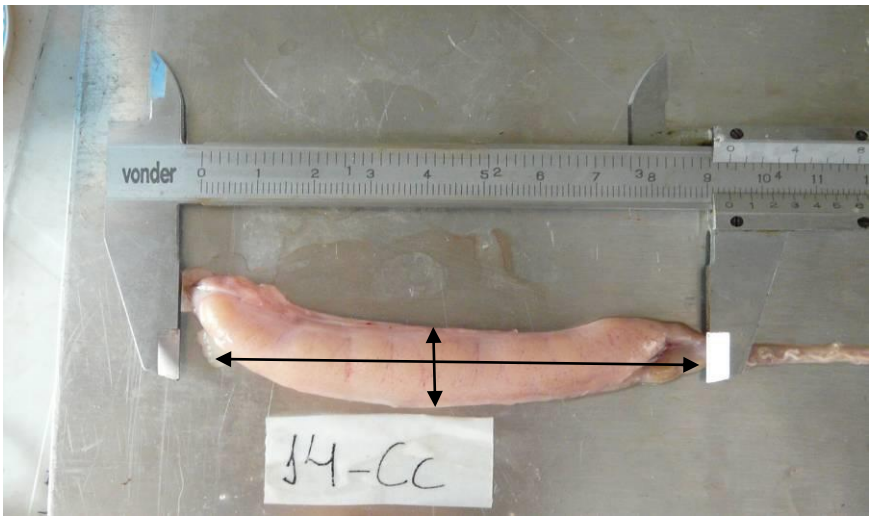



Figura 4 – Testículo esquerdo de *Caiman crocodilus* mensurado com auxílio de paquímetro logo após abate na RDS Piagaçu–Purus em agosto de 2008. As setas indicam os dois maiores eixos ortogonais mensurados. Veja apêndice para maiores detalhes. (#CC14, CRC= 104, 6 cm).

Todo o material reprodutivo foi acondicionado em recipientes de vidro devidamente etiquetados e preservados com formol 10% tamponado a pH 7,0.

### 3.3 Análise histológica dos testículos

Para a preparação das lâminas histológicas, os testículos e epidídimos (direito e esquerdo) foram fragmentados em porções menores (~ 0,5 mm de comprimento) e fixados. Em seguida, os fragmentos foram desidratados em uma bateria de álcool, diafanizados (clarificados) em xilol P.A. e incluídos em parafina. Os blocos de parafina foram cortados em 5$\mu$m de espessura e o material foi montado em lâminas e corados com coloração de rotina hematoxilina-eosina (BANCROFT & STEVENS, 1996).

A análise histológica detalhada do material reprodutivo iniciou-se em fevereiro de 2009 sob a coordenação da Professora MSc. Maria Lúcia Góes de Araújo. Esta fase foi realizada no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas – UFAM e no Laboratório de Anatomia Patológica de Universidade Estadual do Amazonas – UEA-ESA, de acordo com os protocolos de rotina destes laboratórios.

Para a leitura das lâminas histológicas usaram-se o microscópio óptico com atenção para as células presentes e as diferentes fases celulares da espermatogênese. Os campos de maior interesse foram fotografados e estudados com maior acurácia.

Dezoito indivíduos, sendo nove de cada espécie, foram analisados histologicamente, divididos entre as três épocas de capturas já citadas.

Para classificar os indivíduos quanto à sua maturidade sexual foram usadas as seguintes terminações (MOLL & LEGLER, 1971).

- jovem: indivíduo no qual a produção espermatogênica ainda não iniciou, observando-se apenas espermatogônias (células primordiais) e células de Sertoli;

- subadulto: indivíduo capaz de produzir células da linhagem espermatogênica, mas que ainda não alcançou nível máximo de produção de gametas;

- Adulto: indivíduos que apresentam capacidade plena de produzir todas as células da linhagem espermatogênica, com taxa máxima de produção de espermatozóides no período de cópula.

Através dessas análises, o tamanho mínimo reprodutivo foi considerado quando no mínimo 50% dos machos de uma mesma classe de tamanho apresentassem fluido seminal com presença de espermatócitos e espermatozóides nos túbulos seminíferos.

### 3.4 Análise dos dados

Os dados foram apresentados em gráficos de dispersão, com destaque para a espécie, variáveis morfométricas e o período reprodutivo na ocasião da captura. Os parâmetros morfológicos foram descritos por valores extremos, média e desvio padrão.

As diferenças que não puderam ser graficamente visualizadas com facilidade foram averiguadas com teste T e análise de variância (ANOVA). As análises foram realizadas utilizando-se o programa SYSTAT 8.0 e Excel versão 2003.

O índice gonadossomático (IGS) de cada macho foi calculado usando-se a fórmula: IGS = Mt /MT, onde Mt= média da massa dos dois testículos e MT= massa total (massa total do animal) (COUTINHO *et al*., 2005)., multiplicado por mil.

# 4. Resultados

Do total de 29 de jacarés abatidos, 16 indivíduos pertenciam à *Caiman crocodilus* (61.9 ≤ CRC cm ≤ 119.6, média= 87, 0, DP= 16,3) e 13 à *Melanosuchus niger* ( 87.5 ≤ CRC cm ≤ 190.9; média= 100,8 DP= 29,5),. A tabelas 1 e 2 apresentam o número de indivíduos coletados em cada época pré-estabelecida (março, agosto e dezembro), o tamanho em CRC (cm) de cada jacaré e o estado reprodutivo de alguns dos indivíduos obtido pela análise histológica para *C crocodilus* e *M. niger* respectivamente.

Tabela 1 – Códigos, comprimentos rostro-cloacais (CRC), meses de amostragem e fertilidade *C. crocodilus* capturados na RDS Piagaçu – Purus, Amazonas, 2008. (NAH – não analisado histologicamente).

| Nº | **Código** | **CRC (cm)** | **Mês** | **Fertilidade** |
|---|---|---|---|---|
| 1 | CC1 | 61.9 | Mar | NAH |
| 2 | CC2 | 66.0 | Mar | Sim |
| 3 | CC6 | 67.1 | Mar | Sim |
| 4 | CC29 | 71.0 | Dez | NAH |
| 5 | CC7 | 75.6 | Mar | Sim |
| 6 | CC12 | 78.4 | Ago | NAH |
| 7 | CC9 | 81.5 | Ago | Sim |
| 8 | CC4 | 87.6 | Mar | NAH |
| 9 | CC5 | 88.3 | Mar | Sim |
| 10 | CC11 | 93.6 | Ago | NAH |
| 11 | CC26 | 97.5 | Dez | Sim |
| 12 | CC8 | 98.0 | Mar | Sim |
| 13 | CC15 | 99.0 | Ago | Sim |
| 14 | CC13 | 103.5 | Ago | NAH |
| 15 | CC14 | 104.6 | Ago | NAH |
| 16 | CC22 | 119.6 | Dez | Sim |

Tabela 2 – Códigos, comprimentos rostro-cloacais, meses de amostragem e fertilidade de *M. niger* capturados na RDS Piagaçu – Purus (RDS – PP), Amazonas, 2008. (NAH – não analisado histogicamente, * indivíduos considerados subadultos)

| N° | Código | CRC (cm) | Mês | Fertilidade |
|---|---|---|---|---|
| 1 | MN11 | 82.0 | Ago | NAH |
| 2 | MN10 | 84.1 | Ago | NAH |
| 3 | MN8 | 87.5 | Ago | Não |
| 4 | MN3 | 87.6 | Mar | Não |
| 5 | MN2 | 90.1 | Mar | *Sim |
| 6 | MN5 | 91.0 | Mar | *Sim |
| 7 | MN9 | 92.3 | Ago | *Sim |
| 8 | MN12 | 96.0 | Ago | Sim |
| 9 | MN6 | 96.1 | Mar | Sim |
| 10 | MN16 | 98.3 | Ago | NAH |
| 11 | MN18 | 114.0 | Dez | Sim |
| 12 | MN19 | - | Dez | NAH |
| 13 | MN7 | 190.9 | Mar | Sim |

### 4.1 Características macroscópicas

As gônadas de ambas as espécies estudadas apresentaram-se como estruturas pares, assimétricas em seu comprimento, dorsocaudais, unidas por um mesentério de sustentação e localizadas na extremidade retroperitonial superior aos rins (Figura 5). Os testículos possuíam formato elipsóide, alongado e com tamanho, massa e volume variável em relação às épocas amostradas e ao comprimento dos animais.

A cor dos testículos oscilou entre amarelo-creme a rosado, devido variação na vascularização em decorrência da fase do ciclo reprodutivo em que se encontrava o animal. Esta variação foi observada principalmente nos machos adultos, cujos testículos sofrem alterações mais expressivas que os indivíduos jovens ao longo do ciclo reprodutivo. Essa característica foi mais evidente em agosto e dezembro para jacaré – tinga e jacaré-açu, respectivamente.

O enovelamento (ondulação) e aspecto leitoso dos ductos deferentes em agosto para *C. crocodilus* e dezembro para *M. niger*, foram marcantes, o que reforça a idéia de produção espermatogênica nestes meses de amostragem para cada espécie (Figura 5).

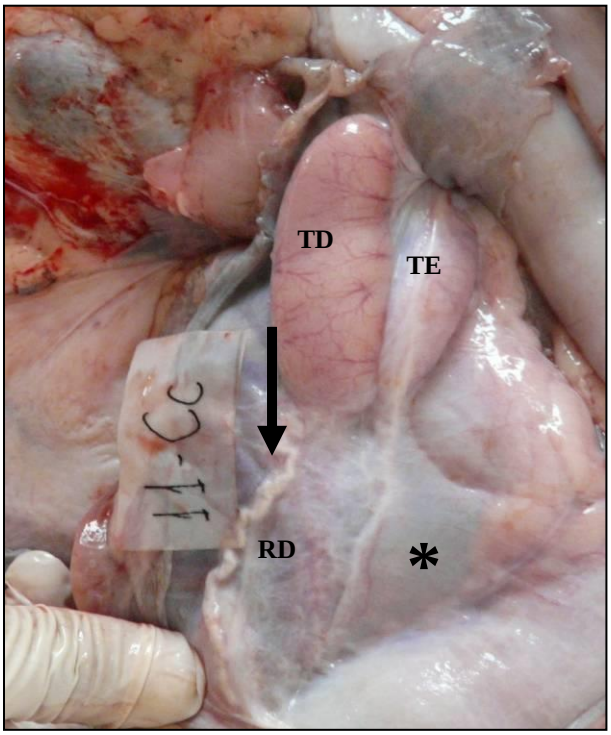



Figura 5 – Vista antero-lateral dos testículos de *Caiman crocodilus* ainda estruturados dentro do corpo do animal logo após o abate. Observar a presença do mesentério de sustentação e ducto deferente com aspecto enovelado e leitoso indicado pela seta. TD - testículo direito; TE - testículo esquerdo; RD - rim direito; * mesentério de sustentação. (#CC11, CRC - 93,6 cm.)

Para ambas as espécies, na maioria dos casos, os testículos direito apresentaram massas maiores que os testículos esquerdo (Fig. 6A e 6B). Para verificar o grau de significância deste dado foi realizado um teste T pareado que comprovou diferenças estatisticamente significativas para *C. crocodilus* (t= 2,193, F= 15, $p < 0,005$), ao contrário do encontrado para *M. niger* (t= 1,594, F = 12, $p < 0,137$).

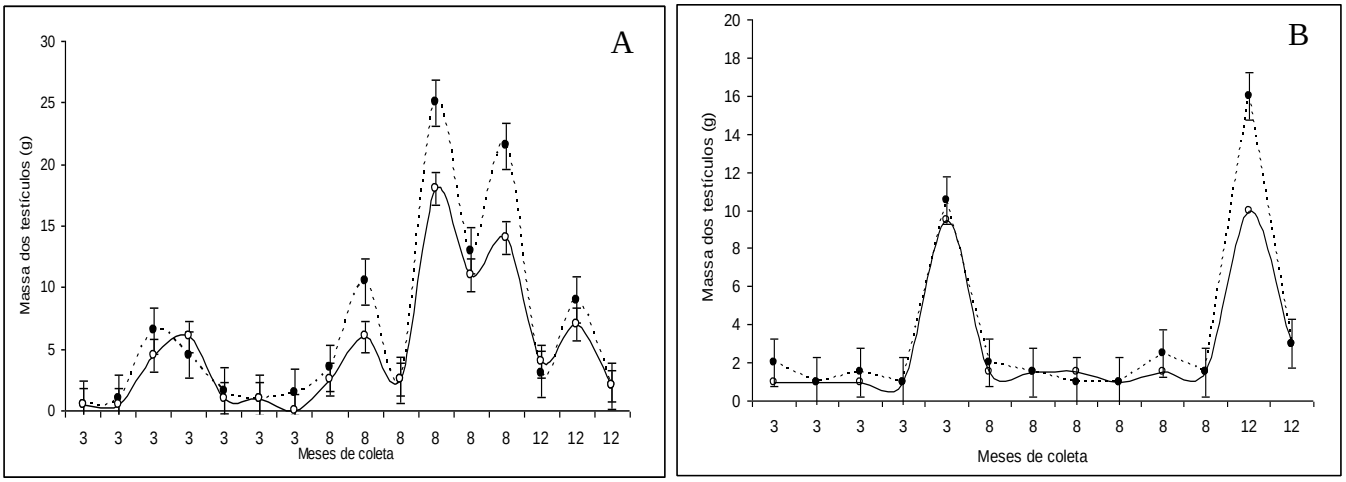



Figura 6 – Massa dos testículos direito (linha pontilhada) e esquerdo (linha contínua) de *C. crocodilus* (A) e *M. niger* (B) capturados na RDS-Piagaçu-Purus, em março (3), agosto (8) e dezembro (12) de 2008.

## 4.2 Características microscópicas

Histologicamente, os testículos de *C. crocodilus* e de *M. niger* são cobertos pela túnica albugínea, uma fina camada de tecido conjuntivo fibromuscular e seus interiores são constituídos basicamente de interstício e túbulos seminíferos Na camada intersticial encontraram-se vasos sanguíneos, que irrigam os testículos, e as células de Leydig, responsáveis pela produção de hormônios, principalmente a testosterona, caracterizando-se por possuir grande quantidade de citoplasma e núcleo quase esférico (Figura7).

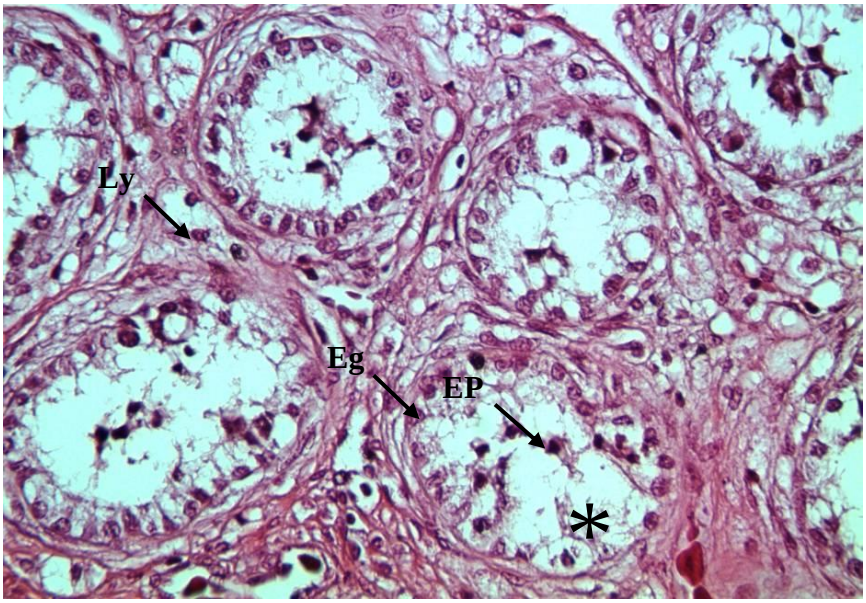



Figura 7 - Parênquima testicular de *M. niger* indicando as fases celulares presentes nos túbulos seminíferos (*) e as células de Leydig no tecido intersticial, seguindo os seguintes códigos: Eg – espermatogônia, EP – espermatócito primário, CL - células de Leydig (fase de quiescência testicular, Hematoxilina – Eosina, 400x. (#MN2, CRC= 90,1 cm).

No interior dos túbulos seminíferos encontram-se as células de Sertoli e as células da linhagem espermatogênica. As primeiras localizam-se na região basal do epitélio dos túbulos seminíferos, com contornos irregulares, cujos núcleos apresentam-se em forma piramidal ou alongada e com nucléolo centralizado.

As células da linhagem espermatogênica amadurecem gradativamente a partir da membrana basal dos túbulos seminíferos até o centro, onde se encontram finalmente as células maduras. O processo de maturação inicia-se com as espermatogônias, passam pelas fases de espermatócitos primários, espermátides e espermatozóides, que se apresentaram, ou não, de acordo com o tamanho e com a etapa do ciclo reprodutivo em que se encontrava o animal.

### 4.3 Variações na atividade testicular

Os testículos de ambas as espécies apresentaram variações em suas dimensões e em sua aparência macroscópica e histológica. Essas mudanças foram observadas principalmente em indivíduos adultos de acordo com os meses de captura e tamanho dos animais.

O índice gonadossomático (IGS) dos animais amostrados foi variável para ambas as espécies e de acordo com as épocas do ano. Para *C. crocodilus* os índices encontrados variaram entre 0,154 e 1,509 (média= 0,5, DP= 0,4) e quando relacionados com o CRC dos animais, foram mais altos em agosto, época de maior produção espermatogênica para a espécie (Gráfico 1A ), não havendo, no entanto, uma correlação as duas variáveis. O mesmo foi observado para *M. niger* cujo IGS variou de 0,069 e 0,605 (média= 0,17 e DP= 0,1). Porém, este índice mostrou-se maior em dezembro para um único animal amostrado nesta época (Mn 18, CRC= 114, 0 cm). Os outros animais de comprimentos semelhantes, independente da época de amostra, obtiveram IGS relativamente mais baixos.

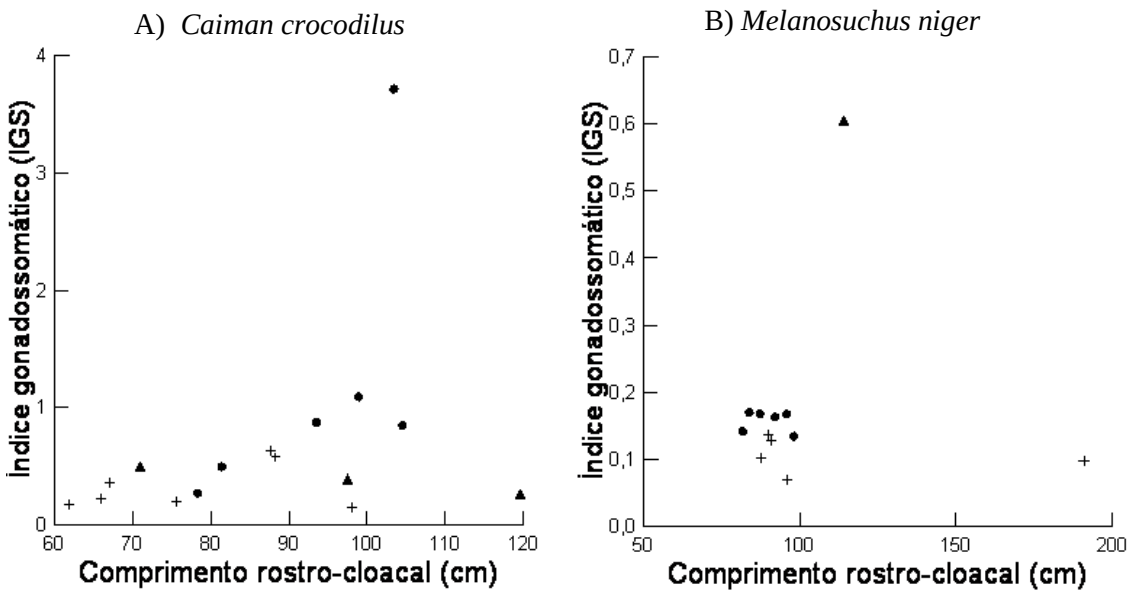



Gráfico 2 – Variação do índice gonadossomático ao longo dos meses de coleta em função do comprimento rostro-cloacal (CRC) para *Caiman crocodilus* (A) e *Melanosuchus niger* (B). (+ = março, • = agosto, ▲= dezembro)

Para os *Caiman crocodilus* analisados histologicamente (n= 9), o CRC variou de 66,0 a 119,0 (média= 88, 6, DP= 18,2). Todos os machos estudados foram considerados adultos, mesmo o menor deles que estava em período de repouso testicular, pois haviam evidências de capacidade para produção de espermatozóides. Desse modo, o tamanho mínimo reprodutivo da população de animais amostrados, deve ser inferior a 66, 0 cm de CRC. (Tabela 1).

Já para os *Melanosuchus niger* analisados histologicamante (n= 9), o CRC variou de 87,5 a 190,0 (média= 105,0, DP= 33, 1). Diferente de *C. crocodilus*, houve diferenças em relação às classificações quanto à maturidade sexual (Tabela 2).

Dois machos de jacaré- açu capturados em março (Mn 3, CRC= 87,6 cm) e agosto (Mn 8, CRC= 87,5 cm) classificaram-se como imaturos por possuírem testículos reduzidos, com túbulos seminíferos de aspecto vacuolizado, formados basicamente por espermatogônias grandes na base dos túbulos seminíferos e células de Sertoli (Figura 8)

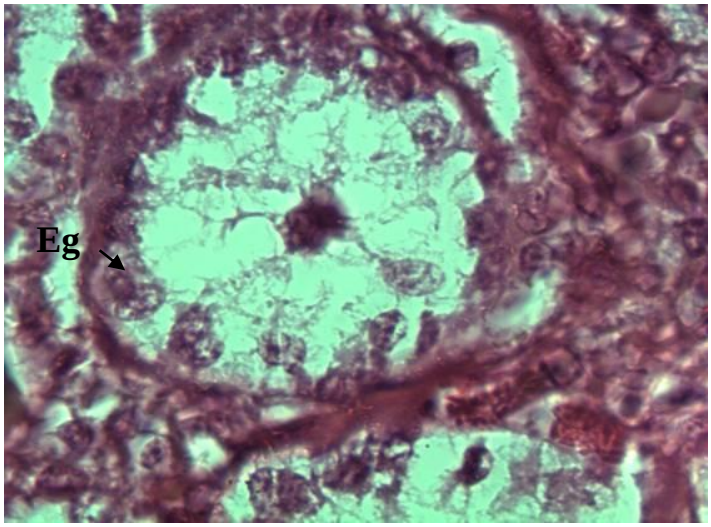



Figura 8 – Túbulo seminífero de exemplar imaturo de *M. niger* coletado em agosto de 2008 na Re RDS Piagaçu – Purus, Amazonas. Note aspecto vazio dos túbulos, com espermatogônias (Eg) grandes em sua base. Hematoxilina –Eosina 1000x. (#MN 8, CRC= 87, 5cm).

Três indivíduos foram identificados como subadultos, dentre esses, dois foram capturados em março (Mn 2, CRC= 90.1 cm e Mn 5, CRC= 91,0 cm) e um agosto (Mn 9, CRC= 92, 0 cm) que foram aqueles que apresentaram grupos clônicos de espermatócitos primários, que possivelmente estaria hapto para reproduzir na próxima estação reprodutiva (Figura 9). Sendo assim, o tamanho mínimo reprodutivo destes animais estaria entre 87,6 < CRC cm ≤ 90,1).

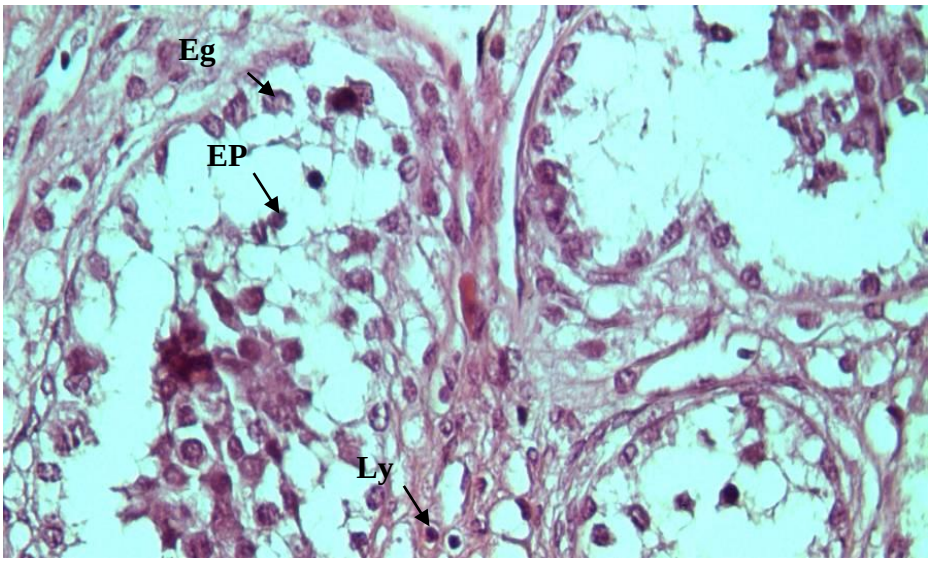



Figura 9– Corte de túbulos seminíferos de exemplar subadulto de *M. niger* capturado na RDS Piagaçu – Purus, Amazonas, 2008. Espermatogônia (Eg), espermatócito primário(Ep), células de Leydig (CL). Hematoxilina –Eosina 400x. (#MN 2, CRC= 90,1 cm).

Para os machos adultos de ambas as espécies que tiveram os testículos analisados em março, período da cheia, apresentaram-se em repouso testicular, com gônadas relativamente mais leves e com túbulos seminíferos relativamente reduzidos contendo espermatogônias, espermatócitos primários e em alguns animais, restos de espermatozóides em processo de reabsorção celular avançado. (Figura 10)

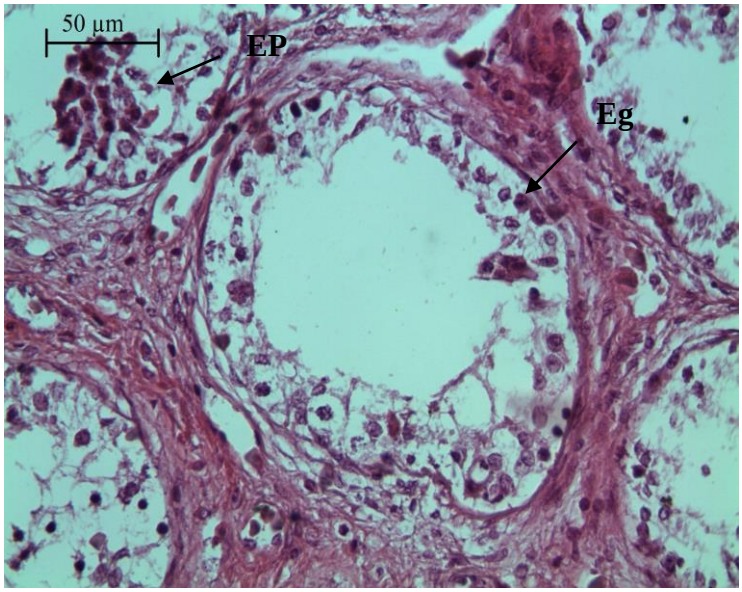



Figura 10 – Túbulo seminífero de *C. crocodilus* capturado em março de 2008, na RDS Piagaçu – Purus em período de repouso testicular. Note espermatogônia (Eg) e grupo de espermatócitos primários clônicos (EP). Hematoxilina –Eosina, 400x. (#CC6, CRC= 67,1). .

Os machos de *Caiman crocodilus* analisados em agosto, período de pós-cópula ou cópula em que o nível da água está regredindo, apresentaram-se com testículos com aspecto macroscópico inflado e túbulos seminíferos com paredes estreitas, com aspecto desorganizado devido período de plena produção espermatogênica. Foram encontradas todas as fases celulares da linhagem espermatogênica: espermatogônias, espermatócitos, espermátides superabundantes e espermatozóides (Figura 11). Nos ductos deferentes, também foi evidenciada grandes concentração de espermatozóides.

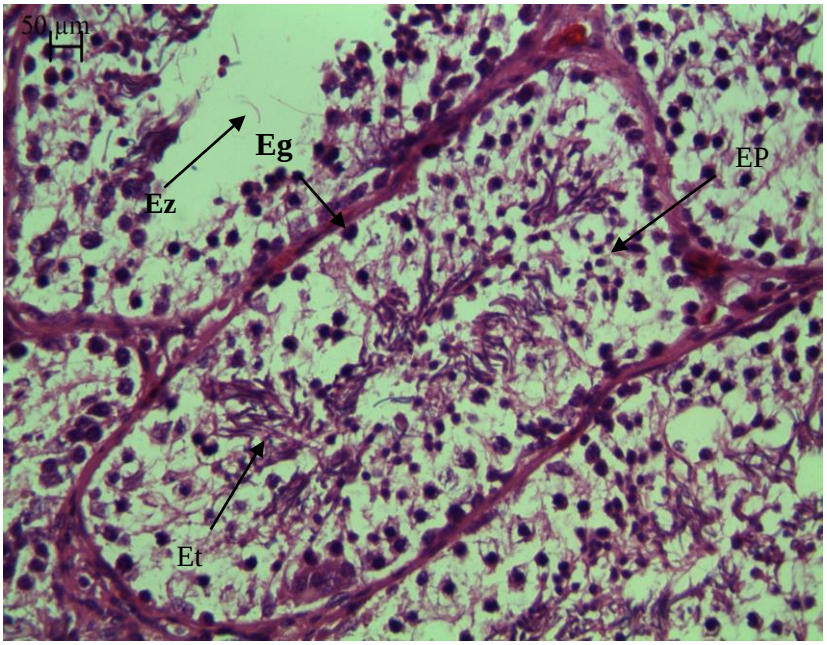



Figura 11 – Túbulo seminífero de macho adulto de *C. crocodilus* capturado em agosto, período de proliferação das células da linhagem espermatogênica. Espermatogônia (Eg), espermatócito primário (EP), espermátides (Et), espermatozóides (Ez). Hematoxilina –Eosina, 400x. (#CC 9, CRC= 81,5 cm).

Um macho de *M. niger* (Mn 12, CRC= 96, 0 cm) analisado em agosto foi classificado como adulto, mas este estava em provável repouso testicular, apresentando espermatogônias, espermatócitos primários e resquícios de espermatozóides, como os animais capturados em março. Talvez a proliferação celular estivesse retardada ou esse indivíduo não reproduziria na estação reprodutiva próxima, quando os níveis de água estivessem mais baixos.

Em dezembro, os *C. crocodilus* apresentaram túbulos seminíferos em aparente início de repouso testicular, com aspecto mais esvaziado que a estação anterior. O número de espermatozóides mostrou-se reduzido dentro dos testículos, mas em grande quantidade dentro dos ductos epididimários, indicando transição quase total dos gametas para a região periférica do aparelho reprodutor. O mesmo ocorreu para *M. niger*, o que pode indicar um período de reprodução para esta última espécie posterior ao de *C. crocodilus*, corroborando com os dados macroscópicos já descritos.

# 5. Discussão

## 5.1 Características morfológicas e ciclo reprodutivo

A reprodução sazonal tem sido documentada para muitos vertebrados, incluindo os Testudines (VERDEJA, 2000, MAHMOUD & KLICKA, 1972), Squamatas (GRIBBINS *et al.*, 2008) e crocodilianos (THORBJARANARSON, 1994) e é interpretada como uma adaptação para otimização no tempo de nascimento, épocas em que fêmeas e filhotes estão mais susceptíveis a mortalidade natural;

Segundo Thorbjarnarson, (1994), nos trópicos, as estações reprodutivas são influenciadas principalmente por fatores ambientais como a temperatura e nível da água.

Para as gônadas dos crocodilianos estudados no presente trabalho, os testículos analisados em março, período da cheia, encontram-se em repouso testicular, e os filhotes de *C. crocodilus* e *M. niger* podem ser encontrados, sendo, portanto, o período de eclosão produto da seleção natural, onde a disponibilidade de habitats alagados é maior e garante maior dispersão dos indivíduos (DA SILVEIRA *et al.*, 1997, COUTINHO et al., 2005, MOURÃO, 1996 ).

A taxa máxima de produção espermatogênica é alcançada, entre julho e agosto (período da vazante na região) para as espécies analisadas, devendo haver um pequeno retardo de tempo para o início da espermatogênese de *Melanosuchus niger* em relação à *Caiman crocodilus*, indicando não haver sincronização entre o período reprodutivo entre as espécies. As mesmas características foram encontradas para *C. crocodilus* dos Lhanos Venezuelanos (maio e junho) e *C. yacare* (março e abril), no Pantanal, devendo-se a variação entre as épocas semelhantes acontecer apenas em virtude das diferenças latitudinais (THORBJARNARSON, 1994; COUTINHO *et al*., 2005).

### 5.2 Tamanho mínimo da maturação sexual

Segundo Coutinho *et al*., (2005), os crocodilianos possuem histórico de vida relativamente longo e seu processo de diferenciação espermatogênica inicia-se muito cedo. A produção espermática aumenta gradativamente, não em função do índice gonadossomático, mas devido o aumento no diâmetro dos túbulos seminíferos no testículo (COUTINHO *et al*., 2000), podendo isso explicar o fato dos IGS`s encontrados não terem tido uma relação direta com o comprimento dos animais e meses de coleta.

A definição de tamanho reprodutivo para fins de manejo e conservação deve ser analisada e reconsiderada, pois o estabelecimento de tamanho reprodutivo varia entre a população e entre populações distintas (AYARZAGUENA, 1983; THORJARNARSON, 1994).

Em trabalho realizado por Thorbjarnarson (1994) com *Caiman crocodilus* dos Llanos Venezuelanos, demonstra-se que os machos com 75 cm de CRC tem alguma capacidade de produção espermatogênica e a maturidade sexual completa só é atingida com 96 cm de CRC ou mais. Coutinho *et al.* (2005), descreve o tamanho de machos reprodutivos de *Caiman yacare*, espécie encontrada no Pantanal, a partir de 90 cm de CRC, o que indica uma variação não muito grande entre os tamanhos reprodutivos, apesar da diferenciação geográfica.

Dentre os jacarés analisados tanto macroscopicamente quanto microscopicamente o tamanho mínimo das populações estudadas de *Caiman crocodilus* (< 66,0 cm CRC) e *Melanosuchus niger* (87,6 < CRC cm≤ 190, 0) foram estabelecidos usando-se o critério de diferenciação celular evidente e produção de espermatozóides, associada às características macroscópicas.

No entanto, apesar da capacidade produção espermatogênica, este fator não indica necessariamente que os machos histologicamente analisados, tivessem acasalado na

época reprodutiva. Entre os machos de crocodilianos, há o hábito territorialista, onde os maiores machos são capazes de copular com mais de uma fêmea e afastar indivíduos de menor porte dos locais de maior concentração de fêmeas (THORJARNARSON, 1994; MOURÃO *et al.*, 1996).

Estas informações podem ser importantes para a conservação dos jacarés daquela região, pois apesar da aparente capacidade reprodutora estabelecida, os animais têm tamanho reprodutivo relativamente baixo, em relação às outras populações de crocodilianos da Região Amazônica brasileira. Isso pode ser uma resposta ao efeito de pressão de caça sofrida pelos animais daquela região de coleta.

A caça ilegal desenfreada pode causar impactos em populações de crocodilianos, adiantando o tamanho reprodutivo das populações afetadas, efeito sofrido principalmente por machos grandes (que são os mais caçados), pois onde a caça reduz a densidade de adultos na população, os subadultos atingem rapidamente capacidade reprodutiva (MOURÃO *et al*., 1996; REBELO & MAGNUSSON, 1983).

# 6. CONCLUSÕES

Os testículos mostraram uma variação em suas características macro e microscópicas ao longo dos meses de amostragem. Testículos de machos imaturos variam pouco ao longo do ciclo reprodutivo, mas são os machos adultos que demonstram características modificações evidentes em sua morfologia ao longo do ciclo reprodutivo.

A produção espermática aumenta gradativamente com o tamanho do animal, não exatamente devido ao aumento do índice gonadossomático, mas sim pelo aumento em proporção volumétrica dos túbulos seminíferos.

Para *Caiman crocodilus*, o tamanho mínimo reprodutivo da população estudada no Rio Purus deve iniciar-se em tamanhos de CRC < 66,0 cm. Para *Melanosuchus niger* o tamanho mínimo está entre 87,5 ≤ CRC cm ≤ 90, 1 cm. Esses tamanhos foram considerados baixos em relação ao esperado para ambas as espécies, podendo ser um reflexo de pressão de caça daquela região de estudo, que há muito tempo é praticada ilegalmente, devendo concentrar um pouco mais de atenções aos estudos reprodutivos dos jacarés da região de estudo aqui amostrada.

# 7. Referências Bibliográficas


AYARZAGUENA, J.S. Ecologia de del caiman de anteojos o baba (*Caiman crocodilus* L.) em los Lhanos de Apure (Venezuela). Dõnana Acta Vert., n, 10, p. 7 – 136, 1983.

BANCROFT, J. D.; STEVENS, A. Theory and Practice of Histological techniques. 4th Ed. New York: Churchill Livingstone, 1996.

CABRERA, F. A.; GARCIA, G. C.; GONZÁLES-VERA, M. A.; ROSSINI, M. Características histológicas del aparato genital masculino de la baba (*Caiman crocodilus crocodilus).* Revista Científica, FCV-LUZ, v. 17, n. 2, p. 123-130. 2007.

CAMPOS, Z. Effect of habitat on survival of eggs and sex ratio of hatchlings of *Caiman crocodilus yacare* in the Pantanal, Brazil. Journal of Herpetology, v. 27, n. 2, p. 127-132, 1993.

CAMPOS, Z. Observações sobre a Biologia reprodutiva de 3 espécies de jacarés na Amazônia Central. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Corumbá, n. 43, p. 19, dez. 2003.

COUTINHO, M., CAMPOS, Z., CARDOSO, F., MASSARA, P., CASTRO, A. Reproductive biology and this implication for management of *Caiman yacare* in the Pantanal Wetland, Brazil. Crocodilian Biology and evolution, Chipping Norton, p. 229 – 243, 2005.

DA SILVEIRA, R., Monitoramento, Crescimento e Caça de Jacaré-Açu (*Melanosuchus niger*) e de Jacaré-Tinga (*Caiman crocodilus crocodilus*) na RDS Mamirauá e ESEC Anavilhanas, Amazônia Central, Brasil. 2001. 150f. Tese de Doutorado - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brasil.

DA SILVEIRA, R.; DA SILVEIRA, B. B. Capture and recapture of an adult black caiman in Mamirauá. Newsletter Crocodile Specialist Group – IUCN/SSC, v. 16, n. 2, p.18-20, 1997.

DA SILVEIRA, R.; MAGNUSSON, W. E. Diets of Spectacled and Black caiman in the anavilhanas Archipelago, Central Amazonia, Brazil. Journal of Herpetology, v. 33, n. 2, p. 181-192, 1999.

DA SILVEIRA, R.; THORBJARNARSON J. B. Conservation implications of commercial hunting of black and spectacled caiman in the Mamirauá Sustainable Development Reserve, Brazil. Biological Conservation, v. 88, p.103 – 109, 1999.

DA SILVEIRA, R., MAGNUSSON, W. E., CAMPOS, Z. Monitoring the Distribution, Abundance and Breeding Areas of *Caiman crocodilus* crocodilus and *Melanosuchus niger* in the Anavilhanas Archipelago, Central Amazonia, Brazil. Journal of Herpetology, v. 31, n. 4, p. 514-520, 1997.

GRIBBINS, K.M., RHEUBERTJ. L., COLLIER, M. H., D. S. SIEGEL, SEVER, D. M. Histological analysis of spermatogenesis and the germ cell development strategy within the testis of the male Western Cottonmouth Snake, *Agkistrodon piscivorus leucostoma*. Science Direct, Annals of anatomy, v. 190 , p. 461- 476, 2008.

LANG, J. W. Crocodilian behaviour: implications for management. In: Webb, G. J. W.; Manolis, S. C.; Whitehead P. J. (Eds.). Wildlife and Management: Crocodiles and Alligators. Surrey Beatty & Sons Pty Limited., p. 273-293, 1987.

MAHMOUD, I.Y., KLICKA, J. Seasonal gonadal changes in Kinosternid turtles. Journal of Herpetology, v. 6, n. 3, p.183-189, 1972.

MARIONI, B.; DA SILVEIRA, R.; MAGNUSSON W. E. THORBJARNARSON, J. Feeding Behavior of Two Sympatric Caiman Species, *Melanosuchus niger* and *Caiman crocodilus*, in the Brazilian Amazon. Journal of Herpetology, v. 42, n. 4, p. 768–772, 2008.

MOLL. E. O., LEGLER, J. M. The life history a neotropical slider turtle, *Pseudemys scripta* (SCHOEPFF) in Panama. Bulletin of the Los Angeles county museum of Natural History, n. 11, p. 101, 1971.

MOURÃO, G.; CAMPOS, Z.; COUTINHO, M. Size structure of illegally harvested and surviving Caiman *Caiman crocodiles yacare*. In Patanal, Brazil. Biological conservation, n.75, p.261- 265, 1996.

OUBOTER P., E.; NANHOE, L. M. R. Habitat selection and migration of *Caiman crocodilus crocodilus* in a swamp and swamp-forest habitat in Northern Suriname. Journal of Herpetology, v. 2, p. 283-294. 1988.

PIANKA, E. Evolutionary Ecology. 4th Ed. New York: Harper & Row, Publisher, Inc, 1983. 416p.

ROSS, J. P. Crocodiles: Status Survey and Conservation Action Plan. 2nd Ed. Crocodile Specialist Group. IUCN/SSC, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 1998, 96p.

THORBJARNARSON, J. B. Reproductive characteristics of the order Crocodylia. Herpetologica, v. 52, p. 8-24, 1996.

THORBJARNARSON, J. B. Reproductive ecology of the Spectacled caiman (*Caiman crocodilus*) in the Venezuelan Llanos. Copeia, v. 4, p. 907-919, 1994.

THORBJARNARSON, J. B; HERNÁNDEZ, G. Reproductive ecology of the Orinoco crocodile (*Crocodylus intermedius*) in Venezuela. I. Nesting ecology and egg and cluth dimensions. Journal of Herpetology., v. 27, p. 367 – 370, 1993.

VERDEJA, S.A.M., Estudio histológico del testículo y epidídimo de *Kinosternon leucostomum*, (Chelonia: Kinosternidae) en un ciclo anual. 2000. 73f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Division de Estudios de Posgrado, Universidad Nacional Autônoma de México, México D.F.

WEBB, G. J. W.; MANOLIS, S. C.; SACK, G. C. *Crocodylus johnstoni* and *C. porosus* coexisting in a tidal river. Australian Wildlife Research, v. 10, p. 639-650, 1983.

## 8. Cronograma de Atividades

| Nº | Descrição | Ago 2008 | Set | Out | Nov | Dez | Jan 2009 | Fev | Mar | Abr | Mai | Jun | Jul |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | Revisão bibliográfica | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| **2** | Amostragem* | ✓ | | | ✓ | | | | | | | | |
| **3** | Iniciação à técnica histológica | | | ✓ | | ✓ | | | | | | | |
| **4** | Histologia das gônadas | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | |
| **5** | Análise dados e elaboração de relatório Parcial | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | |
| **6** | Elaboração do Resumo e Relatório Final | | | | | | | | | | | ✓ | |
| **7** | Preparação da Apresentação Final para o Congresso. | | | | | | | | | | | | ✓ |

* Amostragem realizada também em março (coleta de material).

✓ Realizado ✗ Pendente

# Agradecimentos

A Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP), ao Projeto BAJAQUEL, ao Instituto Piagaçu e à Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pelo apoio logístico e financeiro;

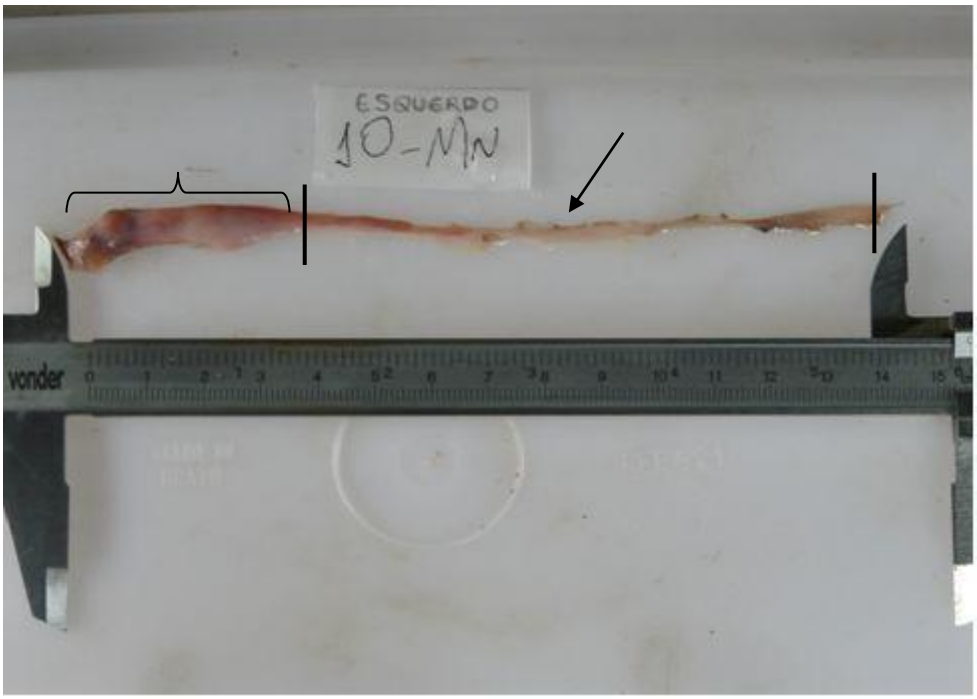
Ao CNPQ pela concessão da bolsa de iniciação científica;

Ao Dr. José Fernando, à MSc.Maria Lucia Góes e ao Dr. Ronis Da Silveira pela orientação, apoio e críticas que me ajudam sempre a melhorar o desenvolvimento deste trabalho;

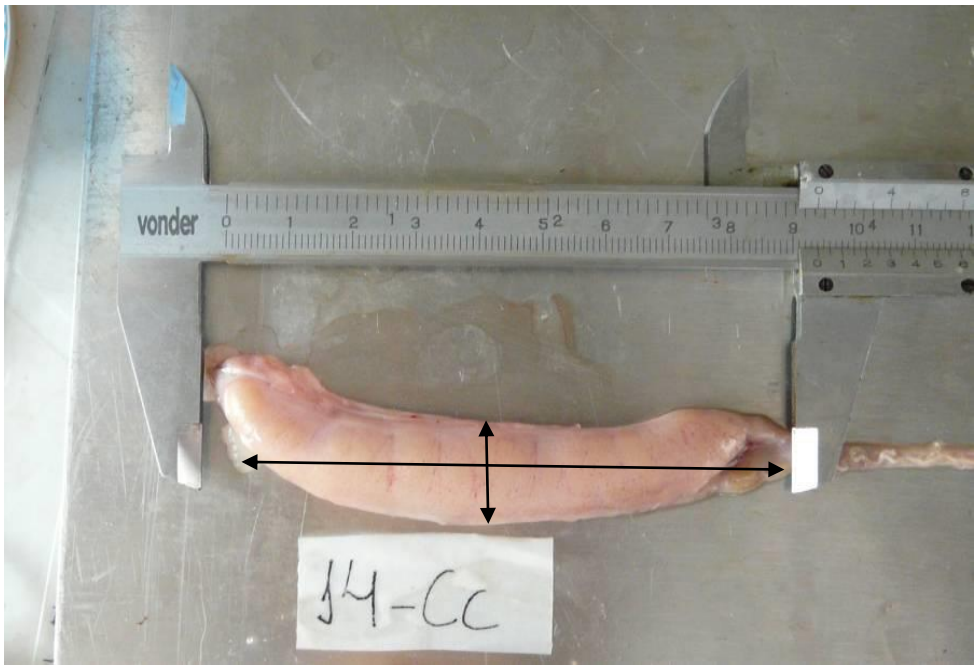
Às técnicas do Laboratório de Histologia Maíza da Conceição e Rose Campos;

Aos colegas de trabalho, amigos e familiares pela paciência e colaboração.

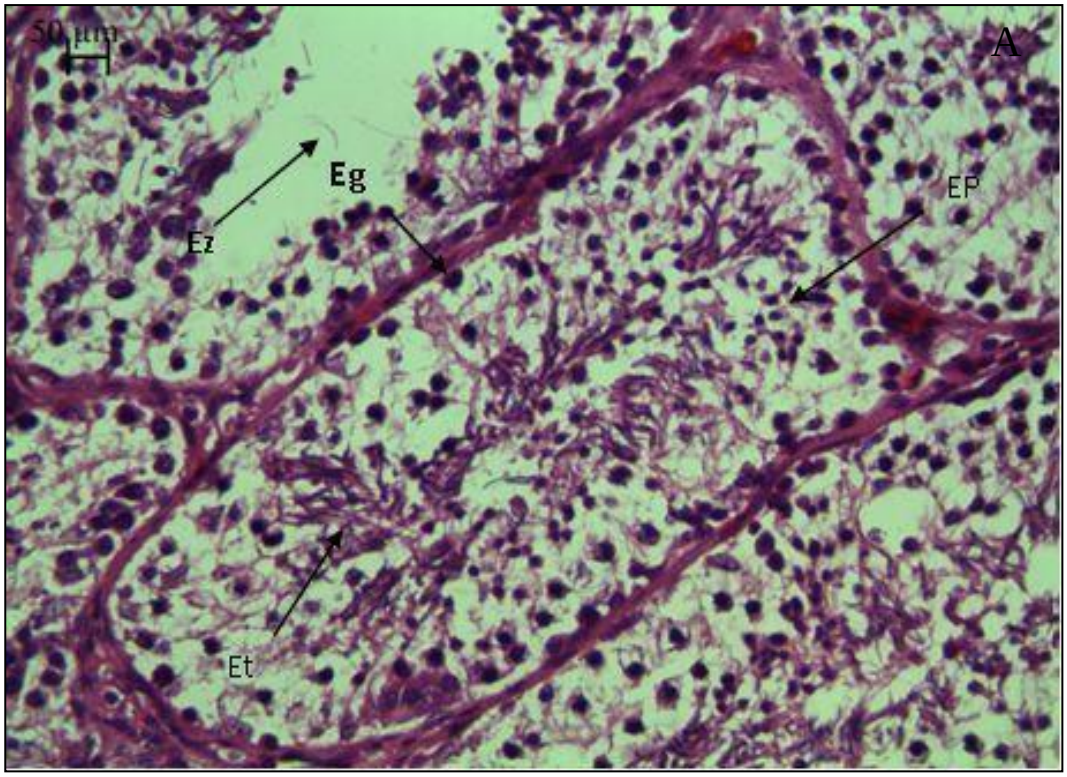
# Apêndice

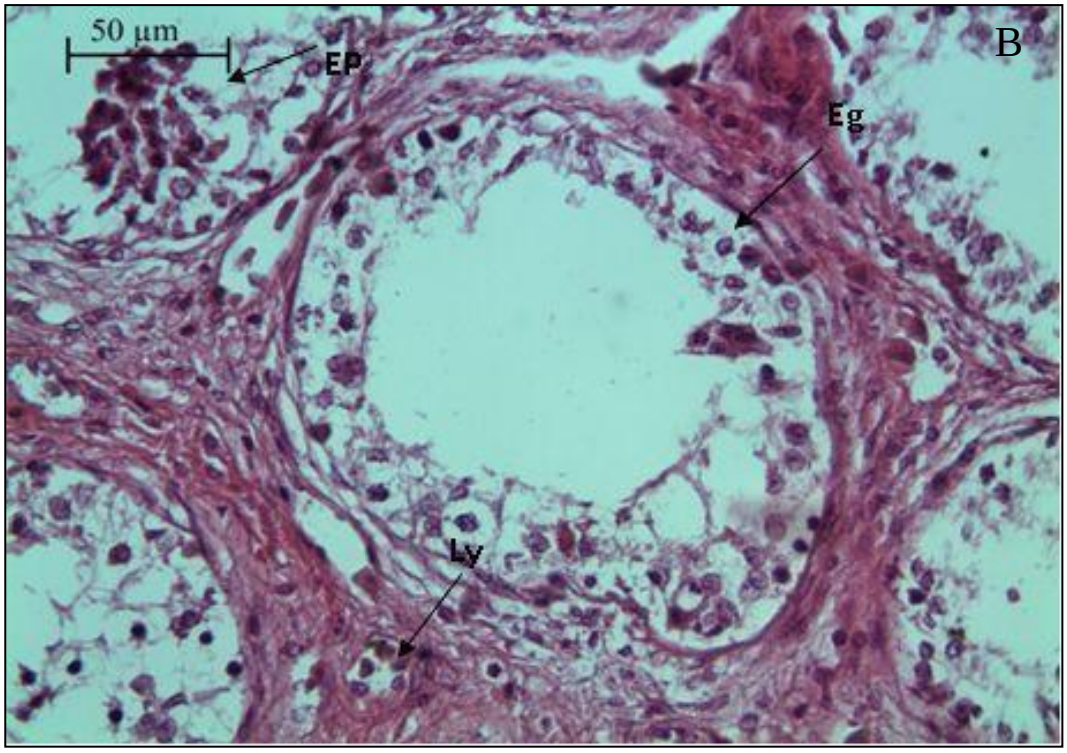



Apêndice 1 – Testículo de indivíduo imaturo de *M. niger* capturado na RDS-Piagaçu-Purus em agosto de 2008. Note aspecto achatado do testículo e pequeno comprimento (aproximadamente 3cm). O epidídimo encontra-se junto ao testículo em parte proximal e a estrutura indicada pela seta corresponde à parte terminal do epidídimo. (#MN 10, CRC 84,1). Não houve acesso a *C. crocodilus* imaturos com mesmo aspecto.

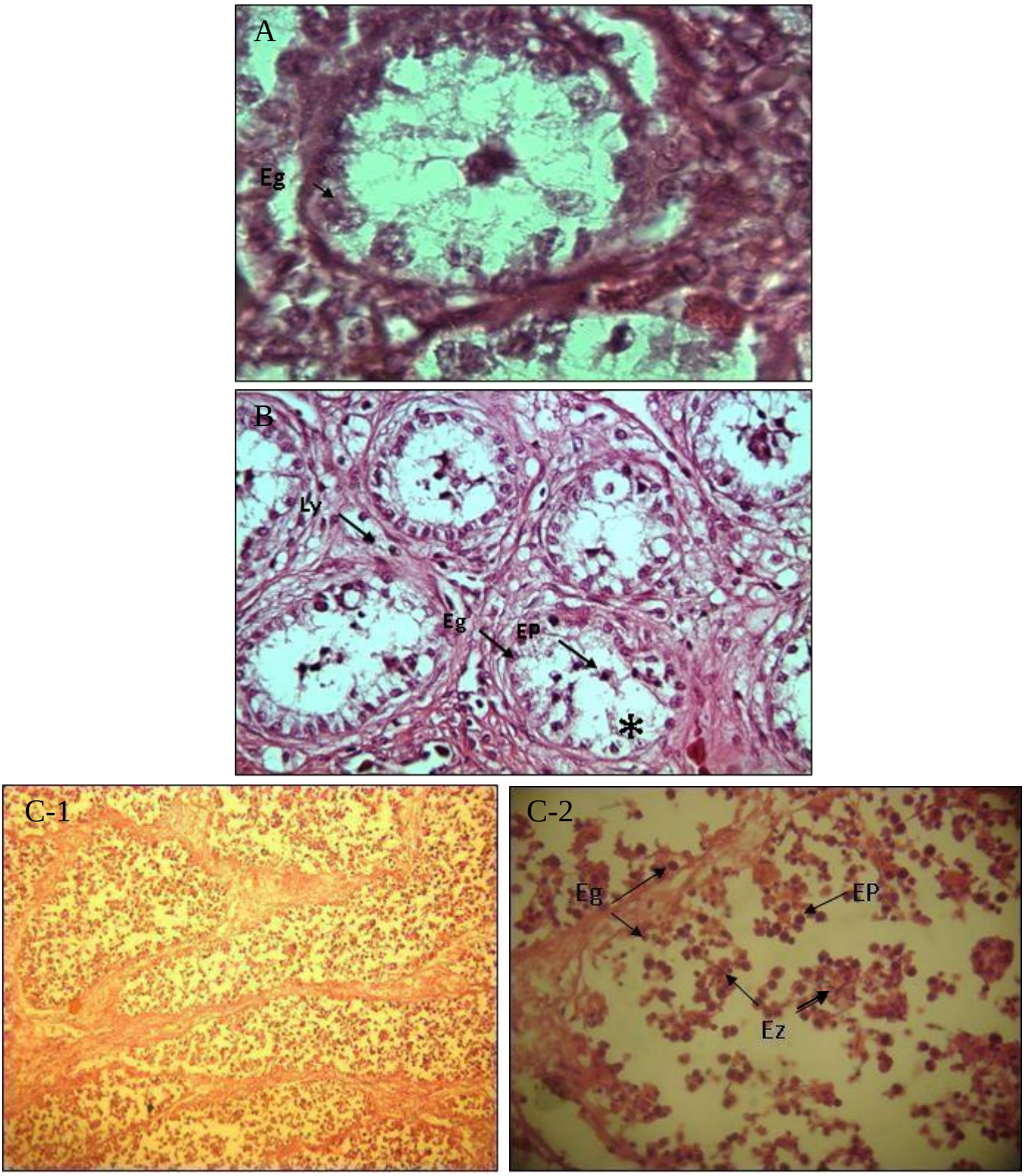



Apêndice 2 – Testículo de *C. crocodilus* adulto capturado em agosto de 2008, época de plena produção espermatogênica que pode ser comprovada através da análise histológica. As setas indicam as duas maiores dimensões ortogonais mensuradas. A massa dos testículos é aferida para estimar o IGS. (#CC14, CRC= 104, 6cm). O aspecto do testículo de *M. niger* adulto é bastante semelhante.




Apêndice 3 - Cortes histológicos de testículos de *C.. crocodilus* capturados na RDS Piagaçu-Purus, 2008 (A) Túbulo seminífero de indivíduo maduro capturado em março, época de repouso testicular . Nota-se uma luz grande ao centro e também a presença de espermatogônias (Eg), grupos clônicos de espermatócitos (EP) e células de Leydig no interstício , 400x (#CC6, CRC 67,1). (B) Túbulo seminífero de adulto capturado em agosto, período de atividade testicular da espécie naquela área de amostragem. Nota-se a presença de espermatogônias (Eg), espermatócitos (EP), espermatides (Et), espermatozóides (Ez) e na camada instersticial as células de Leydig (Ly), 400x (#CC29 CRC 81,5). Hematoxilina-eosina.




Apêndice 4 - Cortes histológicos de testículos de *M. niger* . capturados na RDS Piagaçu-Purus, 2008 (A) Túbulo seminífero (*) de indivíduo imaturo capturado em agosto. Nota-se apenas a presença de espermatogônias (Eg) grandes e luz no centro do túbulo, 1000x (#MN8, CRC 87,6). (B) Túbulo seminífero de subadulto capturado em março note presença de espermatogônias (Eg), espermatócitos (EP) e na camada instersticial as células de Leydig (Ly), 400x (#MN2, CRC 90,1). (C-1) Túbulo seminífero de adulto capturado em dezembro. Veja aspecto desorganizado das células dentro dos túbulos e fina camada intersticial, indicativo de atividade testicular. 100x (C-2) Um dos túbulos seminíferos da imagem anterior em maior aumento mostrando a presença de espermatogônias (Eg), espermatócitos (EP) e espermatozóides (Ez) em seu interior. 400x. (#MN18, CRC 114,0). Hematoxilina-eosina