



Universidade Federal do Amazonas



Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Departamento de Apoio à Pesquisa

Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica

**Biologia reprodutiva de fêmeas de *Caiman crocodilus* e de *Melanosuchus niger*
(Crocodylia/Alligatoridae) na várzea do baixo Rio Purus, Amazônia Central.**

Shamila Évellem Magalhães da Silva

**Manaus
2010**



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/036/2009

**Biologia reprodutiva de fêmeas de *Caiman crocodilus* e de *Melanosuchus niger*
(Crocodylia/Alligatoridae) na várzea do baixo Rio Purus, Amazônia Central**

Bolsista: Shamila Évellem Magalhães da Silva

Orientador: Prof. Dr. Ronis Da Silveira

**Manaus
2010**

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.

Aporte financeiro para a coleta e análise osteocronológica também foram oriundos do Edital 016/2006 do CNPq, MPA (ex SEAP/PR) e CT-INFRA, mediante o Processo 408760/06-9 para RDS. Também aportaram recursos a *Wildlife Conservation Society* e a Rufford Small Grant.

O presente documento foi elaborado na forma de manuscrito para submissão em periódico peer-review, no formato da revista *Acta Amazonica* ISSN 0044-5967, versão impressa.

**Biologia reprodutiva de fêmeas de *Caiman crocodilus* e de *Melanosuchus niger*
(Crocodylia/Alligatoridae) na várzea do baixo Rio Purus, Amazônia Central**

Shamila Évellem Magalhães da SILVA¹, Maria Lúcia Góes de ARAÚJO², Boris MARIONI³, Ronis DA SILVEIRA¹

¹ Laboratório de Zoologia Aplicada à Conservação - ZAC, Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. General Rodrigo Otávio 3000, CEP 69077000, Manaus, Amazonas, Brasil.

² Laboratório de Bases Biológicas, Universidade do Estado do Amazonas (UEA) . Rua Carvalho Leal, Cachoeirinha, Manaus, Amazonas, Brasil.

³ Instituto Piagaçu, Programa de Conservação em Crocodilianos, Rua UZ 8, Morada do Sol, Aleixo, CEP 6900-000, Manaus, Amazonas, Brasil.

1 O jacaré-tinga (*Caiman crocodilus*) e o jacaré-açu (*Melanosuchus niger*) estão entre os
2 maiores e mais abundantes predadores aquáticos amazônicos e possuem um longo
3 histórico de comercialização da sua pele e carne. Este estudo objetivou analisar alguns
4 parâmetros do aparelho reprodutor das populações de fêmeas de *C. crocodilus* e de *M.*
5 *niger* que ocorrem na Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Piagaçu-Purus.
6 A coleta de dados e as análises foram realizadas entre 2008 e 2010. Nesse período
7 foram amostradas 12 fêmeas de *C. crocodilus* e oito de *M. niger*. Deste total, sete
8 fêmeas de cada espécie foram analisadas histologicamente visando determinar o
9 tamanho mínimo de maturação. Em março, período da enchente na Amazônia Central,
10 as fêmeas de ambas as espécies apresentaram nos ovários folículos primordiais,
11 primários e pré-vitelogênicos, além de folículos vitelogênicos e pós-ovulatórios em
12 atresia avançada. Em agosto, que corresponde ao início da vazante, as fêmeas
13 apresentaram folículos primordiais, primários, pré-vitelogênicos e vitelogênicos. Estas
14 também continham nos ovários alguns folículos pós-ovulatórios e vitelogênicos em
15 atresia. No final do período da vazante, em dezembro, ocorreram muitos folículos
16 primários, primordiais, pré-vitelogênicos, vitelogênicos e pós-ovulatórios, esses dois
17 últimos em atresia. Folículos primordiais e primários ocorreram em todos os estágios
18 reprodutivos de ambas as espécies, comportando-se como estoque de reserva para a
19 próxima reprodução. O índice gonadossomático (IGS) de cada fêmea foi expresso pelo
20 quociente da massa dos ovários pela massa total do exemplar, multiplicado 1000. A
21 variação do IGS para fêmeas de *C. crocodilus* (n = 9) foi de 0,694 a 45,906 (média =
22 10,658; DP = 16,732) e para fêmeas de *M. niger* (n = 8), o IGS variou de 0,278 a 39,08
23 (média = 5,380; DP = 13,619). Estes dados sugerem que a morfologia do aparelho
24 reprodutor de fêmeas das duas espécies varia em função do tamanho ou idade, e
25 sazonalmente ao longo do ano, em função do pulso de inundação anual da várzea do Rio
26 Purus. Assim, o tamanho mínimo de maturação encontrado para fêmeas de *C.*
27 *crocodilus* foi de 62,8 cm de CRC e de 101,7 cm de CRC para as *M. niger*. A
28 histoquímica, com o uso dos corantes PAS e alcianblue, evidenciou glândulas que
29 secretam albumina na região do tubo dos ovidutos. O aumento da atividade destas
30 glândulas ocorreu durante a pré-vitelogênese e anteriormente à postura dos ovos. A
31 consolidação da casca dos ovos a partir albumina ocorreu na região do útero, que
32 corresponde à porção final do oviduto. Na seqüência a esta região ocorreu a porção
33 útero-vaginal, aonde detectamos a ocorrência de espermatozoides. Este estudo pioneiro
34 sobre a biologia reprodutiva de crocodilianos amazônicos, especialmente do *M. niger*
35 poderão balizar o futuro manejo sustentável destas espécies na bacia amazônica.

36

37 Palavras-chave: Crocodylia, Alligatoridae, Biologia reprodutiva, histoquímica

38

39 **INRODUÇÃO**

40 Muitas das informações disponíveis sobre a biologia reprodutiva das fêmeas de
41 crocodilianos estão relacionadas à produção de ninhos, duração do período da postura,
42 tamanho de ovos e filhotes e sua relação com tamanho das fêmeas (Greer 1975;
43 Thorbjarnarson 1994, 1996; Campos e Magnusson 1995). Estas se destacam dos
44 machos pela escolha, e talvez defesa, do sítio de nidificação e o cuidado parental
45 acentuado do ninho e da prole (Webb e Smith 1987).

46 Muitos modelos de uso sustentável das espécies consideram vários aspectos da
47 biologia reprodutiva das fêmeas, como a idade e/ou tamanho da primeira reprodução, a
48 fecundidade e a fertilidade (Bodmer e Robinson 2003).

49 O ciclo reprodutivo desses répteis envolve mudanças regulares e integradas em
50 sua anatomia e fisiologia que são controladas por fatores intrínsecos (ritmo interno) ou
51 extrínsecos (temperatura, umidade, alimento; Moll 1979; Fitch 1982).

52 Os ovários exibem mudanças sazonais típicas, atingindo maior tamanho na
53 estação da reprodução, quando os folículos estão aumentados preparando-se para a
54 ocorrência da ovulação, tornando-se menores após essa fase (Mulaik 1946; Varma
55 1970; Presst 1971; Goldberg 1975). Os ovidutos são tubos musculares altamente
56 contorcidos, com três regiões anatômicas e funcionais bem definidas:anterior, média e
57 posterior. Apresentam modificações estruturais de acordo com a função que exercem:
58 recepção e condução do ovócito recém ovulado (De Pérez *et al.* 2002), síntese de
59 componente protéico e calcário da formação dos ovos nas espécies ovíparas em Reptilia
60 (Fox 1977), recepção de espermatozóide, e em algumas espécies de Chelonia funcionam
61 como reservatório espermático (Solomon e Baird 1979), o que explicaria diferentes
62 desovas ao longo de uma estação reprodutiva (Owens 1980).

63 As fêmeas de *Caiman crocodilus* podem atingir até 1,3 m de comprimento total
64 (Thorbjarnarson 1996) e de *Melanosuchus niger* raramente excedem os 2,8 m (Da
65 Silveira 2003). Na Amazônia, as informações sobre reprodução de fêmeas do jacaré-
66 tinga (*Caiman crocodilus crocodilus*) limitam-se a estudos da ecologia de nidificação
67 (Da Silveira *et al.* 1997; Campos 2003). A reprodução desta espécie foi muito estudada
68 nos Llanos venezuelanos, mas somente uma população foi satisfatoriamente avaliada
69 quanto ao efeito sazonal no aparelho reprodutor das fêmeas, em função do tamanho e do
70 ciclo reprodutivo (Thorbjarnarson 1994). Nestes habitats abertos, o tamanho mínimo
71 reprodutivo das fêmeas (120 cm) já foi determinado inclusive por histologia de gônadas
72 (Thorbjarnarson, 1996).

73 Quanto ao jacaré-açu (*Melanosuchus niger*) sua biologia reprodutiva é
74 basicamente desconhecida, limitando-se a informações anedóticas sobre nidificação e a
75 um estudo da ecologia reprodutiva realizado na Reserva Mamirauá (Thorbjarnarson e
76 Da Silveira 2000). O incremento no conhecimento da biologia reprodutiva das fêmeas
77 destas espécies será valioso para a tomada de decisões visando à conservação e o
78 manejo das duas maiores espécies de crocodilianos amazônicos. Além de preencher essa
79 lacuna sobre o conhecimento da vitelogênese dos jacaré-tinga e jacaré-açu.

80

81 MATERIAL E MÉTODOS

82 **Área de estudo.** As gônadas em análise foram obtidas de populações selvagens de
83 jacarés da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP), que
84 possui 1.008.167 ha e está localizada na Amazônia Central (4°05' e 5°35' S e 61° 73' e
85 63°35' W), aproximadamente a 170 km a oeste de Manaus. Os exemplares de *Caiman*
86 *crocodilus* e de *Melanosuchus niger* foram capturados no extremo norte da RDS-PP.

87 Esta área é sazonalmente alagada pelo Rio Purus, com o pico da inundação ocorrendo
88 em junho. A disponibilidade de ambientes aquáticos durante o período da seca afeta a
89 dinâmica populacional da vida selvagem, em particular dos jacarés (Campos *et al.*
90 1995).

91 **Esforço Amostral.** As amostras foram obtidas mediante abate realizado pela equipe
92 técnica do Projeto Bajaquel (Licenças: SISBIO-IBAMA #14498-1 & 014/07
93 SEUC/SDS). Os abates foram realizados em março, agosto e dezembro de 2008; e em
94 junho de 2009. No total, foram obtidas as gônadas de 12 fêmeas de *C. crocodilus* e de 8
95 fêmeas de *M. niger*.

96 **Morfometria dos órgãos e estruturas reprodutoras.** As duas maiores dimensões
97 ortogonais dos ovários e dos cinco maiores folículos de cada ovário foram mensuradas
98 através de paquímetro graduado em cm. Também foram mensuradas as três maiores
99 larguras ao longo dos ovidutos. O índice gonadossomático (IGS) de cada fêmea foi
100 calculado através da divisão da massa total dos ovários pela massa corporal total do
101 exemplar, multiplicado por 1000. Todo o material reprodutivo foi devidamente
102 etiquetado, acondicionado e preservado com formol 10% tamponado em pH 7,0.

103 **Histologia das gônadas.** A análise das gônadas foi realizada no Laboratório de
104 Histologia do Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da
105 UFAM e da Universidade do Estado do Amazonas – Ciências da Saúde (UEA). Esta
106 etapa contou com a colaboração efetiva da Professora Msc. Maria Lúcia Góes de
107 Araújo. No laboratório, fragmentos das amostras de oviduto e de ovário foram
108 desidratados em série de álcool, clareado com xileno, embebido em parafina e corado
109 com Hematoxilina-Eosina (HE), segundo técnica histológica de rotina (Bancroft e
110 Stevens 1996).

111 **Histoquímica.** O tecido do oviduto recebeu duas colorações distintas de ácido periódico
112 Schiff (PAS) e Alcian Blue (pH 2,5) para determinar as características histoquímicas
113 das mucosas e alteração na atividade da secreção ao longo do ciclo. Sete fêmeas de cada
114 espécie foram histologicamente analisadas até junho de 2010.

115 **Análise estatística.** Os dados foram apresentados em gráficos de dispersão, com
116 destaque para espécie, tamanho e o período reprodutivo. Os parâmetros morfológicos
117 foram descritos por valores extremos, média e desvio padrão. A associação entre as
118 variáveis morfométricas e o índice gonadossomático com o tamanho das fêmeas e a
119 época do ciclo reprodutivo foram mensuradas com o coeficiente de correlação de
120 Pearson.

121

122 **RESULTADOS**

123 As gônadas de oito fêmeas de jacaré-açu (*Melanosuchus niger*) e de 12 de jacaré-
124 tinga (*Caiman crocodilus*) apresentaram morfologia similar, sendo compostas por um
125 par de ovários e um par de ovidutos que convergem para a cloaca. Os ovários são
126 ovóides e de tamanhos distintos.

127 Em *M. niger*, a maior dimensão linear (comprimento) dos ovários variou de 13,06
128 a 97,7 cm e a segunda maior dimensão (largura) ortogonal ao comprimento variou de
129 2,43 a 16,3 cm. A massa dos ovários variou de 0,003 a 1,7 kg (média= 0,03, DP=
130 0,594). Ocorreu variação na massa dos ovários do mesmo indivíduo.

131 Para o *C. crocodilus*, a maior dimensão linear (comprimento) dos ovários variou
132 de 5,62 a 28,27 cm e a segunda maior dimensão (largura) ortogonal ao comprimento
133 variou de 2,42 a 13,54 cm. A massa dos ovários variou de 0,005 a 0,412 kg (média =
134 0,047, DP = 0,148).

135 A análise macroscópica evidenciou a presença de 4 regiões distintas ao longo dos
136 ovidutos. A região proximal ao ovário é o infundíbulo, recebe o ovócito durante a
137 ovulação. A essa se segue a região tubo uterina, que é onde ocorre a fecundação do
138 óvulo e provavelmente o armazenamento de espermatozóides. A terceira região é o
139 istimo, que é a área de transição entre o tubo e o útero. A quarta região é o útero, que se
140 caracteriza pela abundância de glândulas responsáveis pela formação da casca do ovo
141 (Figura 2).

142 A parede do oviduto tanto de *C. crocodilus* quanto de *M. niger* é formada por
143 tecido epitelial cúbico baixo e tecido conjuntivo, muscular e a mucosa. A espessura da
144 parede muscular varia de acordo com a região. A microscopia óptica permitiu
145 determinar na superfície da mucosa células ciliadas, colunares, células secretoras e não
146 secretoras. A caracterização dos tipos celulares secretores foi mediante aplicação de
147 testes histoquímicos.

148 Em fêmeas vitelogênicas a secreção do conteúdo foi evidenciado através de
149 grânulos nas células epiteliais da mucosa e nas células glandulares. Na lâmina própria se
150 encontram vasos sanguíneos, linfáticos e glândulas encarregadas da secreção da casca
151 do ovo, estas últimas foram evidenciadas durante a fase pré-ovulatória (Tabela 1).

152 **Infundíbulo.** Ao nível morfológico camadas do tecido do infundíbulo aparecem
153 translúcidas. Considerado a região de recepção da casca do ovócito recém ovulado.
154 Fêmeas pré-vitelogênicas, a mucosa da extremidade proximal é plana e estabelece
155 pregas de altura homogênea, com células epiteliais colunares ou baixas. Em fêmeas
156 vitelogênicas, as pregas apresentaram maior tamanho. As células epiteliais contem uma
157 área que com um agregado de grânulos que não mostram nenhuma afinidade por PAS
158 ou alcian blue pH 2,5. A maioria das células do epitélio luminal desse segmento são

159 secretoras com grânulos abundantes que coram intensamente com PAS e em menor
160 proporção para alcian blue pH 2,5 no ápice das pregas. Em fêmeas vitelogênicas a
161 reação com PAS foi positiva na maioria das células. A reação positiva com alcian blue
162 pH 2,5 nessas células está associado a secreção de glicoproteína, um componente da
163 albumina e a síntese de mucosubstâncias (glicosaminoglicanas). As células do epitélio
164 dessa região para fêmeas de *M. niger* e *C. crocodilus* tem uma menor afinidade por
165 alcian blue pH 2,5.

166 **Tubo.** Essa região é reconhecida pelo aparecimento das glândulas produtoras do
167 componente da albumina, no entanto não reagiram positivamente com PAS e alcian
168 blue (pH 2,5). No epitélio luminal durante a pré-vitelogênese , as células secretoras
169 colunares estavam em maior proporção; em vitelogênese os tipos celulares apresentam
170 uma aparência mais volumosa, aumentando o material de secreção enquanto que na em
171 uma fêmea de *C. crocodilus* que encontrava-se grávida, as células do epitélio
172 apresentavam áreas “vazias”, que indicavam a perda do material de secreção. A reação
173 das células secretoras com alcian blue (pH 2,5) foi negativa.

174 **Istimo.** Contém células colunares ciliadas e secretores, mas não possuem glândulas
175 tubulares. Morfologicamente mostra-se muito liso e um pouco transparente. O epitélio
176 cora para PAS positiva e alcian blue negativa.

177 **Útero.** Responsável pela síntese de proteínas e de componentes calcários da cobertura
178 do ovo. A mucosa do útero apresentam pregas muito grandes, células epiteliais
179 secretoras, corando PAS positivas e alcian blue (pH 2,5) negativas. As glândulas do
180 útero alojadas no tecido conjuntivo são glândulas tubulares, muito numerosas e
181 desenvolvidas. Essas células possuem grânulos que não reagem com PAS ou alcian blue
182 (pH 2,5), e se hipertrofiam durante a vitelogênese. A parte posterior do útero é

183 determinada por um alargamento do oviduto e formação das pregas, a região é o maior
184 segmento, com paredes muito grossas e luz de grande porte.

185 **Junção uterovaginal.** Região mais distante do oviduto encarregada de recepção de
186 esperma e expulsar o ovo já formado.

187 **Índice gonadosomático.** A massa corporal total de oito fêmeas de *M. niger* variou de
188 6,6 a 62,0 kg (média = 36,2, DP = 17,0). A soma da massa dos dois ovários dessas
189 fêmeas variou de 0,003 a 1,7 kg (média = 0,231, DP = 0,594). Logo, o índice
190 gonadosomático (IGS) das fêmeas desta espécie variou de 0,278 a 39,080 (média =
191 5,380, DP = 13,619).

192 A massa corporal das 10 fêmeas de *C. crocodilus* variou de 6,7 a 15,4 kg (média =
193 10,4; DP = 2,8). A soma da massa dos dois ovários dessas mesmas fêmeas variou de
194 0,005 a 0,412 kg (média = 0,103; DP = 0,148). Assim, o IGS das fêmeas desta espécie
195 variou de 0,694 a 45,906 (média = 10,658; DP = 16,732).

196 O comprimento rostro-cloacal (CRC) das fêmeas de *M. niger* analisadas variou de
197 72,6 a 124,8 cm (média = 107,3 cm, DP = 17,4), e das fêmeas de *C. crocodilus* de 62,2
198 a 81,9 cm (média = 70,9 cm, DP = 6,5). A análise visual dos dados indicou que o IGS
199 não variou entre meses ou com o aumento do CRC, em ambas as espécies (Figura 5).
200 Vale destacar que o IGS de uma fêmea de *M. niger* (CRC = 116,4 cm) e de duas fêmeas
201 de *C. crocodilus* (CRC = 63,0 e 72,5 cm), capturadas em agosto de 2008, foi sete vezes
202 maior do que o IGS médio dos demais *M. niger*, e entre três e quatro vezes maior do
203 que o IGS médio das fêmeas de *C. crocodilus* (Figura 3). Esse aumento no IGS se deve
204 a presença de folículos vitelogênicos e pré-ovulatórios.

205 **Descrição das células germinativas.** Histologicamente, o ovário tanto de *C. crocodilus*
206 e *M. niger* compreende a zona cortical, na qual ocorre a oogênese e o desenvolvimento

207 de folículos. Os elementos que puderam ser encontrados imersos no estroma do ovário
208 estão listados na Tabela 1, e incluem: a) a oogônia; b) folículos ovarianos em diferentes
209 fases de maturação com oócitos em diferentes estágios de desenvolvimento; c) folículos
210 pós-ovulatórios (corpo lúteo) e d) folículos atrésicos (Tabela 2).

211 **Tamanho mínimo de maturação.** Durante o período de coleta (março, agosto e
212 dezembro - 2008) foram capturadas fêmeas reprodutivas e não reprodutivas. Fêmeas
213 não reprodutivas apresentaram oogônias e folículos pré-vitelogênicos. Fêmeas
214 reprodutivas apresentaram oogônias, folículos pré-vitelogênicos, folículos atrésicos,
215 folículos vitelogênicos, e folículos pós-ovulatórios estes últimos indicativos de
216 maturidade. Tanto fêmea de *C. crocodilus* (n = 1; CRC = 62,2 cm ; 6,7 kg) quanto
217 fêmea de *M. niger* (n = 1; CRC = 124,8 cm; 62 kg) capturadas em março apresentaram
218 oogônias, folículos pré-vitelogênicos, folículos vitelogênicos e folículos pós-ovulatórios
219 em estado de atresia. Em agosto (*C. crocodilus*: n = 3; 62,8 a 72,0 cm de CRC; 6,15 a
220 12,0 kg e *M. niger*: n = 2; 101,7 a 116,4 cm de CRC; 26,50 a 43,50 kg), apresentaram
221 oogônias, folículos pré-vitelogênicos, folículos vitelogênicos, folículo pós-ovulatório.
222 Em dezembro (*C. crocodilus*: n = 3; 64,2 a 81,9 cm de CRC; 7,2 a 15,40 kg e *M. niger*:
223 n = 3; 105,0 a 119,3 cm de CRC; 31 a 44 kg), foram encontrados oogônias, folículos pré-
224 vitelogênicos, folículos pós-ovulatórios e folículos vitelogênicos e pós-ovulatório em
225 atresia. Apenas uma fêmea de *M. niger* (CRC = 96,2 cm; 27 kg) capturada na estação
226 reprodutiva não apresentou folículos pós-ovulatórios, vitelogênicos e nenhum tipo de
227 folículo atrésico, indicando que a fêmea ainda era jovem e não tinha reproduzido.
228 Apenas uma fêmea de *C. crocodilus* (CRC = 72,0 cm; 12 kg), capturada em agosto, foi
229 encontrada com ovos (3,7-3,90 cm de diâmetro) no oviduto. Em dezembro, fêmeas
230 apresentaram no ovário um grande número de folículos pós-ovulatórios em adiantado
231 estado de atresia.

232 Todas as sete fêmeas de *C. crocodilus* analisadas apresentaram-se reprodutivas. A
233 menor fêmea reprodutiva de *C. crocodilus* analisada apresentou 62,8 cm de CRC e 6,15
234 kg. Três das cinco fêmeas entre 63,0 a 72,0 cm CRC, que foram examinadas na época
235 da cópula e oocitação, o oviduto estava com evidentes de hipertrofia. A maior fêmea
236 analisada tinha 81,9 cm de CRC.

237 Dentre as sete fêmeas de *M. Níger* analisadas, apenas uma fêmea de 96,2 cm de
238 CRC não tinha reproduzido. A menor fêmea reprodutiva de *M. niger* analisada
239 apresentou 101,7 cm de CRC. E uma fêmea de 116,4 cm CRC capturada na época da
240 reprodução apresentou sinais de hipertrofia em seu oviduto. A maior fêmea analisada
241 tinha 124,8 cm de CRC. Portanto, o tamanho mínimo observado para *C. crocodilus* foi
242 de 62,8 cm de CRC e para *M. niger* foi de 101,7 cm de CRC dentro das amostras
243 analisadas.

244 **Ciclo sazonal.** O ciclo da atividade ovariana é relatado para fêmeas adultas de *M. niger*
245 e *C. crocodilus* capturadas durante os meses de março, agosto e dezembro de 2008.
246 Oogônias e folículos pré-vitelogênicos foram observados durante todos os períodos
247 amostrais.

248 De janeiro a março é o período de reestruturação das gônadas e ocorre a fase
249 proliferativa caracterizado pela mitose de oogônias, aumento do número de folículos
250 pré-vitelogênicos para início de um novo ciclo reprodutivo. A fase vitelogênica, de
251 março a agosto, se caracteriza pela presença de folículos em vitelogênese ativa, que
252 culmina no aparecimento de folículos ovarianos maduros (folículos vitelogênicos pré-
253 ovulatório). Em maio a junho ocorre oocitação, na qual os ovócitos já maduros são
254 liberados e fecundados, período denominado cópula, onde se observa os folículos pós-
255 ovulatórios. E assim, na fase gravídica, grandes ovos (3,5 a 3,7 cm de diâmetro) ocupam

256 os ovidutos e podem ser facilmente observados através da parede abdominal das
257 fêmeas. A fase regressiva sucede a gravídica e se inicia logo após a postura dos ovos,
258 caracterizando-se pela presença de sinais de regressão tanto nos ovários quanto nos
259 ovidutos.

260

261 **DISCUSSÃO**

262 O sistema reprodutor das fêmeas de ambas as espécies apresentou órgãos pareados
263 funcionais conforme descrito por Calderón (1998) e Bahamón (2000), assim como um
264 padrão anatômico e morfológico comum em espécies de Vertebrata (Lombardi 1998).

265 Há uma diferenciação no comportamento anatômico nas diferentes espécies de
266 fêmeas de jacarés estudadas. Embora fêmeas de jacaré-tinga (*Caiman crocodilus*)
267 apresentem tamanho corporal relativamente menor que as fêmeas de jacaré-açu
268 (*Melanosuchus niger*), o aparelho reprodutor mostrou-se mais desenvolvido, baseado no
269 desenvolvimento folicular e de oócitos de fêmeas capturadas no período de máxima
270 atividade vitelogênica (agosto).

271 As fêmeas de ambas as espécies apresentaram mudanças significantes na massa
272 dos ovários ao longo do período estudado. Segundo Coutinho *et al.* (2005), estudando
273 fêmeas de *C. crocodilus yacare*, a massa dos ovários podem aumentar em até 500 vezes
274 durante o ciclo sazonal de desenvolvimento dos folículos. Esse aumento é atribuído a
275 vitelogênese.

276 A vitelogênese se define como um processo durante o qual os folículos
277 incrementam seu tamanho em virtude de um maior desenvolvimento de seus
278 constituintes que conduzem a transformação e acumulação do material energético que
279 requer a maturação do oócito como parte da etapa preparatória para oocitação e um

280 eventual processo de fertilização e desenvolvimento (De Pérez *et al.* 1999). Isso é uma
281 característica comum nas espécies de Vertebrata através de numerosos processos
282 durante a fase de crescimento (Anderson e Albertini 1976; Gilula *et al.*, 1978; Browne
283 *et al.*, 1979; Browne e Werner, 1984; Kessel *et al.*, 1985). Durante a foliculogênese se
284 identificaram estados de desenvolvimento similar a classificação proposta por Uribe e
285 Guillette (2000) em *Alligator mississippiensis*.

286 A caracterização dos tipos celulares do epitélio do oviduto são similares aos
287 obtidos em Squamata (Hiffman e Wimsatt, 1992; Palmer e Guillette 1988;
288 Shanthakumari 1992; Perkis e Palmer 1996; Blackburn 1998), Testudines (Abrams e
289 Callard 1991; Sarkar *et al.* 1995), Crocodylia (Palmer e Guillette 1992) e em Aves
290 (Draper *et al.* 1972; Solomon 1975). E durante a fase pré-ovulatória, as pregas do
291 infundíbulo adquirem maior tamanho (Calderón 1998; Bahamon 2000). Eventos
292 semelhantes foram descritos em outros répteis, como *Lissemys punctata punctata*,
293 Sarkar *et al.* 1995; *Chrysemys picta*, Abrams e Callard 1991). Mas durante a fase pós-
294 ovulatória ocorre um processo inverso, a fase de regressão do oviduto.

295 A localização, morfologia e histologia das regiões do oviduto de *M. niger* e *C.*
296 *crocodilus* corroboram com as descrições dos mesmos elementos para *C. crocodilus*
297 *fuscus* (Bahamón 2000) e *Alligator mississippiensis* (Palmer e Guillette 1992).

298 Em *Alligator mississippiensis* (Wyburn *et al.* 1970; Palmer e Guillette 1992),
299 durante a vitelogênese e uma parte da gravidez, as células do epitélio luminal se
300 hipertrofia. Da mesma forma como foi observado sobre as células durante essa fase em
301 *M. niger* e *C. crocodilus*. A evidente hipertrofia na mucosa uterina durante a
302 vitelogênese e gravidez pode estar associada com níveis mais altos de hormônios

303 ovarianos, principalmente estradiol, como sugerido por outras espécies de répteis
304 (Guillette 1998).

305 As fêmeas de jacaré-tinga (*Caiman crocodilus*) começam a reproduzir com
306 tamanho menor que fêmeas de jacaré-açu (*Melanosuchus niger*). De acordo com
307 Thorbjarnarson (1994), *C. crocodilus* atingem a maturidade sexual com
308 aproximadamente 60 cm de CRC, um tamanho inferior aos machos (75 cm de CRC),
309 nos llanos venezuelanos.

310 Dentro dos exemplares analisados histologicamente, *C. crocodilus* iniciam sua
311 maturidade sexual com 65,4 cm de CRC, o que corrobora com os dados apresentados
312 por Thorbjarnarson (1994). Já para os exemplares de *M. niger* o tamanho mínimo
313 estimado foi de 105,3 cm de CRC.

314 De acordo com o ciclo reprodutivo de ambas as espécies foram observadas que em
315 dezembro, a atividade ovariana é relativamente baixa, estabilizando a fase de
316 crescimento vegetativo dos folículos pré-vitelogênicos. Em março, as fêmeas iniciam a
317 fase de crescimento dos folículos vitelogênicos. O processo culmina em agosto, com
318 aparecimento de folículos pré-ovulatórios. Nesse período, os ovidutos estão com as
319 regiões glandulares bem desenvolvidas. Em seguida, aparecem os ninhos, pico da
320 estação da postura. No período de postura e imediatamente após este, observou-se
321 aumento na ocorrência de folículos pós-ovulatório, seguido de folículos pós-ovulatórios
322 em atresia e folículos atrésicos no período de repouso reprodutivo. Este período é
323 seguido por uma nova fase de crescimento vegetativo dos folículos, que caracteriza o
324 início de um novo ciclo ovariano.

325 Nas espécies estudadas, o maior aumento de massa ovariana ocorreu de março a
326 agosto, que é coincidente com o período de final redução de pluviosidade na área da

327 Reserva Piagaçu-Purus. Folículos em vitelogênese avançada foram observados a partir
328 de agosto e folículos pré-vitelogênicos ocorreram ao longo do ano, como estoque de
329 reserva para a próxima estação reprodutiva o que indica uma sazonalidade no ciclo
330 reprodutivo.

331 O ciclo reprodutivo de répteis é influenciado por fatores como temperatura,
332 fotoperíodo, índice pluviométrico, umidade e condição nutricional (Duval *et al.* 1982).
333 Poucos dados sobre crocodilianos estão disponíveis, mas entre as espécies de regiões de
334 clima temperado (*Alligator mississippiensis*) a época reprodutiva é condicionada pela
335 temperatura (Joanen e Mcnease 1979, 1980; Kushlan e Jacobsen 1990).

336 Nos trópicos, as estações são definidas principalmente pelas variações nas
337 precipitações. Jacarés exibem um ciclo reprodutivo fortemente correlacionado com o
338 ciclo anual das chuvas e inundações (Staton e Dixon, dados não publicados;
339 Ayarzagüena 1983). Na Venezuela, *Caiman crocodilus* apresenta ciclo reprodutivo
340 associado a essas mesmas variáveis ambientais. O mesmo fato foi observado nas
341 espécies deste estudo.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Anderson, R. e Albertini, D. F. 1976. Gap junctions between the oocyte and companion follicle cells in the mammalian ovary. *J. Cell Biol.* 71: 680-686.
- Bahamón R. E. 2000. Descripción histológica del oviducto de *Caiman crocodilus fuscus*. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Bancroft, J. D. e Stevens, A. 1996. *Theory and Practice of Histological techniques*. 4ª Edição. New York: Churchill Livingstone. 10: 184-194.
- Bodmer, R. R. e Robinson, J. G. 2003. Análise da Sustentabilidade de caça em florestas tropicais no Peru-Estudo de caso. In: Cullen Jr., L.; Rudran, R.; Valladares-Padua, C. (Eds.) *Métodos de Estudo em Biologia da Conservação e Manejo da Vida Silvestre*. Ed. Da UFPR; Fundação O Boticário de Proteção à Natureza. 593-630.
- Browne, C. L., Wiley, H. S. e Dumont, J. N. 1979. Oocyte follicle gap junctions in *Xenopus laevis* and the effects of gonadotropin on their permeability. *Science* 203: 182-18.
- Browne, C. L. e Werner W. 1984. Intercellular junctions between the follicle cells and oocytes of *Xenopus laevis*. *J. Exp. Zool.* 230: 105-113.
- Calderón, M. L. 1998. Histología y morfología funcional del tracto reproductor femenino de *Caiman crocodilus fuscus* en los diferentes estados reproductivos. Trabajo de grado. Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander.
- Callebaut, M e Van Nassauw, L. 1987. Demonstration by monoclonal antidesmin of a myoid tissue coat in the preovulatory ovarian tunica albuginea of the turtle *Pseudemys scripta elegans*. *Med. Sci. Res.* 15: 1129-1130.
- Campos, Z. & Magnusson, W. 1995. Relationship between rainfall, nesting habitat and fecundity of *Caiman crocodilus yacare* in the Pantanal, Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 11: 351-358.

- Campos, Z. M. 2003. Observações sobre a Biologia Reprodutiva de 3 Espécies de Jacarés na Amazônia Central. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Pantanal.
- Coutinho, M.; Campos, Z.; Cardoso, F.; Massara, P. & Castro, A. Reproductive Biology and its Implication for Management of *Caiman crocodilus yacare* in the Pantanal Wetland Brazil. *In: Crocodylan Biology and Evolution*. Referência incompleta
- Duval, D.L.;L.J. Guillette Jr. e R.E. Jones. 1982. Environmental control of reptilian reproductive cycles. *In: Biology of the reptilian*. Vol 13. C. Gans and F. H. Pough (eds). Academic Press, New York, New York. 201-231.
- Da Silveira, R. 2003. Avaliação Preliminar da Distribuição, Abundância e da Caça de Jacarés no Baixo Rio Purus *in* Piagaçu-Purus: Bases Científicas para a Criação de uma Reserva de Desenvolvimento Sustentável, ed. by C. de Deus, R. Da Silveira e L.H. Py-Daniel. Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá: Manaus. 1-64.
- Da Silveira, R.; Magnusson, W. E. e Campos, Z. 1997. Monitoring the Distribution, Abundance and Breeding Areas of *Caiman crocodilus crocodilus* and *Melanosuchus niger* in the Anavilhanas Archipelago, Central Amazonia, Brazil. *Journal of Herpetology*, 31 (4): 514-520.
- De Pérez, G; Ramírez, M. P. e Calderón, M. L. 1999. Estudio preliminar de La ultraestructura de la pared del ovario y de folículos previtelogénicos y vitelogénicos tempranos de *Caiman crocodilus fuscus*. (Reptilia, Crocodylidae). *Rev. Acad. Colomb. Cienci.* 23: 453-464.
- Fitch, H. S. 1982. Reproductive cycles in tropical reptiles. *Occasional Papers of the Museum of Natural History University of Kansas, Lawrence*, (96): 1-53.
- Gilula, N. B., Epstein, M. L. e Beers, W. H.. 1978. Cell-to-cell communication and ovulation. A study of the cumulus-oocyte complex. *J. Cell Biol.* 78: 58-75.

- Goldberg, S. R. 1975. Reproduction in the sage brush lizard, *Sceloporus graciosus*. American Midland Naturalist, Notre Dame, (93): 177-187.
- Greer, A. E. 1975. Clutch size in crocodylians. Journal of Herpetological. 9: 319-322.
- Guraya, S. S. 1989. Ovarian follicles in reptiles and birds. Springer-Verlag, Berlin. 287..
- Joanen, T & L.L. Mcnease. 1975. Notes on the reproductive biology and captive propagation of the *American alligator*. Proc. Ann. Conf. S.E. Assoc. Game Fish Comm. 29: 407-415.
- Kessel, R. G., Tung, H. N., Roberts, R. e Beams, H. W. 1985. The presence and distribution of gap junctions in the oocyte-follicle cell complex of the zebrafish, *Brachydanio rerio*. J. Submicrosc. Cytol. 17: 239-253.
- Klosterman, L. L. 1983. The ultrastructure of germinal nests in the ovary of *Gerrhonotus coeruleus* (Reptilia: Anguidae). J. Morphol. 178: 247-265.
- Klushlan, J.A.; & T. Jacobsen. 1990. Enviromental variability and the reproductive success of the Everglades alligator. Amer. Zool. 29:999-1018.
- Lombardi J. 1998. Comparative Vertebrate Reproduction. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Moll, E. O. 1979. Reproductive cycles and adaptations. *In*: Harless, M. e Morlock H. eds. Turtles: Perspectives and Research. New York, John Wiley & Sons. 305-331.
- Mulaik, D. 1946. A comparative study of the urogenital systems of an oviparous and two ovoviviparous species of the lizard genus *Sceloporus*. Bulletin University Utah Biology Series, Utah, (37): 3-24.
- Presst, I. 1971. An ecological study of the viper *Vipera berus* in southern Britain. Journal of Zoology, London, (164): 373-418.
- Thorbjarnarson, J. 1994. Reproductive ecology of the spectacle caiman (*Caiman crocodilus*) in the Venezuelan Llanos. Copeia. 4: 907-919.

- Thorbjarnarson, J. 1996. Reproductive characteristics of the order Crocodylia. *Herpetologica*. 52: 8-24.
- Thorbjarnarson, J. B & Da Silveira, R. 2000. Secrets of the flooded forest. *Natural History*. 3: 70-79.
- Uribe, M.C.A.; Méndez, M. E., Gonzáles J. E. e Guillette, L. J. Jr. 1995. Seasonal variation in ovarian histology of the viviparous lizard *Sceloporus torquatus torquatus*. *J. Morphol.* 226: 103-119.
- Uribe, M.C.A.; Portales, G. L. & Guillette L, J. Jr. **Ovarian folliculogenesis in the oviparous Mexican Lizard *Ctenosaura Pectinata***. *J. Morphol.* 230: 99-112. 1996.
- Uribe, M.C.A. & Guillette, L.J. Jr. **Oogenesis and ovarian histology of the American alligator *Alligator mississippiensis***. *J. Morphol.* 245: 225-40. 2000.
- Varma, S. K. **Morphology of ovarian changes in the garden lizard *Calotes versicolor***. *Journal of Morphology*, New York, (131): 95-209. 1970.
- Webb G. J. W.& Smith, A. M. A. **Life history parameters, population dynamics and the management of crocodilia**. In: Webb, G. J. W.; Manolis, S. C.; Whitehead P. J. (Eds.). *Wildlife and Management: Crocodiles and Alligators*. Surrey Beatty & Sons Pty Limited. 199-210. 1987.

Tabela 1 - Critério usado para estabelecer a condição reprodutiva de *M. niger* e *C. crocodilus*

N (<i>M. niger</i>)	N (<i>C. crocodilus</i>)	Status reprodutivo	Critérios de Avaliação
2	6	Pré-ovulatória	Grandes folículos ovarianos, sem ovos no oviduto (Figura 2A)
3	4	Pós-ovulatória Pré-oviposição	Ovos no oviduto*, corpos lúteos e comportamento de nidificação (Figura 2B)
0	0	Pós-ovulatória Pós-oviposição	Ovos no ninho
3	2	Não-reprodutiva	Pequenos folículos no ovário, oviduto regredido.

*Uma fêmea de *C. crocodilus* apresentou ovos no oviduto (na região uterina)

Tabela 2 - Descrição das células germinativas de *M. niger* e *C. crocodilus*

Tipo de estrutura	Característica microscópica	Indicador na biologia reprodutiva
Oogônia	São células arredondadas, com citoplasma claro e presença de um núcleo proeminente e redondo. Não são visíveis macroscopicamente. Apresentam diâmetro de 0,03 a 0,1 mm, e se mantém como uma célula permanente onde uma porção de células permanece como fonte, e as demais diferenciam em oócitos. Ocorrem em regiões denominadas de ninhos germinativos. Associados aos ninhos observam-se cordões de células foliculares. Figura 4	Presente em fêmeas imaturas e maduras. Ao longo de todo o ano.
Folículo pré-vitelogênico	Tem diâmetro de 0,15 a 0,3 mm. Apresentam uma camada de células foliculares em torno do oócito primário. O núcleo do oócito é central e com vários nucléolos periféricos visíveis. A teca está presente como uma delgada camada de tecido conjuntivo. Figura 5.	Presente em fêmeas imaturas e maduras. Ao longo de todo ano.
Folículo vitelogênico	Tem diâmetro mínimo de 0,38 mm. Observa-se a espessamento da teca, com individualização da teca externa (fibrosa) e interna (vascularizada), aparecimento e espessamento da zona pelúcida (zona hialina e zona radiata) e espessamento da camada de células foliculares. O núcleo do oócito torna-se excêntrico, pela incorporação no ooplasma de grânulos de vitelo a partir da região do córtex. Observa-se um rápido aumento de diâmetro nesta fase em virtude do acúmulo de vitelo. Figura 6.	Presente em fêmeas em maturação. De março a agosto.
Folículo pré-ovulatório	Folículos pré-ovulatórios chegam até 3,6 cm de diâmetro para fêmeas de <i>C. crocodilus</i> e para fêmeas de <i>M. niger</i> 4,4 cm de diâmetro. Apresentam uma teca externa bem espessa e fibrosa, a teca interna é mais delgada. Uma única camada de células foliculares cúbicas constitui a granulosa. O ooplasma apresentam grânulos de vitelo de aspecto heterogêneo, alguns agrupados em vacúolos, no pólo vegetal da célula. O núcleo é visível no pólo animal. A zona pelúcida hialina e radiata estão bem individualizadas. Figura 7.	Presente em fêmeas maduras, em período de cópula. De maio a agosto.
Folículo atrésico* * Atresia pode ocorrer em qualquer fase do desenvolvimento folicular	Folículos em diferentes fases de atresia foram observados (Figura 8 e figura 9). A atresia se inicia com a proliferação e invaginação das células foliculares para o interior do ooplasma, seguida de desorganização da teca e da granulosa, causada por apoptose celular, e presença de células sangüíneas de defesa como macrófago e mastócito. O final da atresia é caracterizado pela invasão das células do estroma ovariano no folículo em regressão.	Encontrado em fêmeas imaturas e maduras com a maior incidência em fêmeas pós postura. Agosto a março.

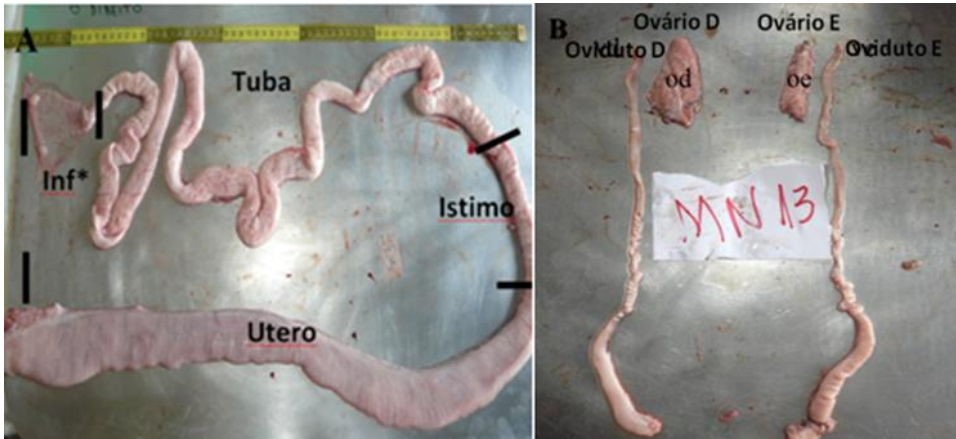


Figura 1 - Morfologia sistema reprodutor de uma fêmea de *M. niger*. (A) Regiões do oviduto, MN14. (B) Ovários e Ovidutos de uma fêmea jovem, MN13. Inf*, infundíbulo.

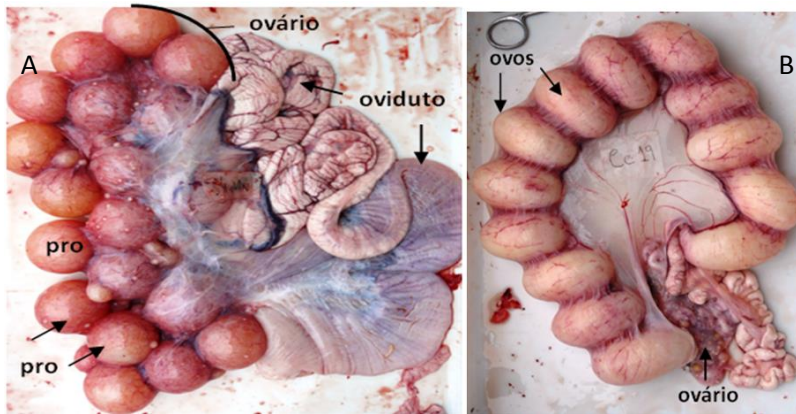


Figura 2 (A) – Uma fêmea de *M. niger* (MN14) em estado de pré-ovulatória com folículos pré-ovulatórios no ovário. **po**, pré-ovulatório. Figura 2 (B) – Uma fêmea de *C. crocodilus* (Cc19) em estado de pós-ovulatória (pré-oviposição), com ovos no oviduto.

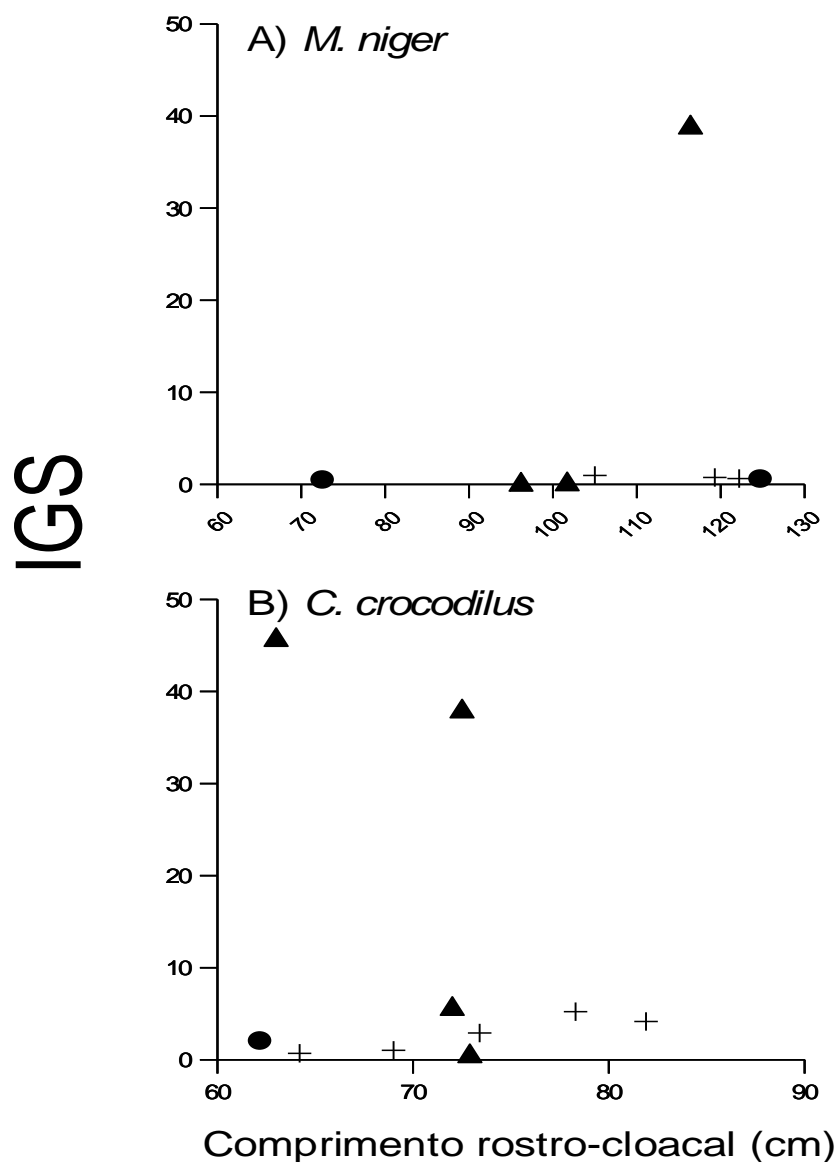


Figura 3 - Relação entre o comprimento rostro-cloacal e o índice gonadosomático (IGS) das fêmeas de *M. niger* (A) e de *C. crocodilus* (B) capturadas na RDS Piagaçu-Purus em março (círculo), agosto (triângulo) e dezembro (cruz) de 2008.

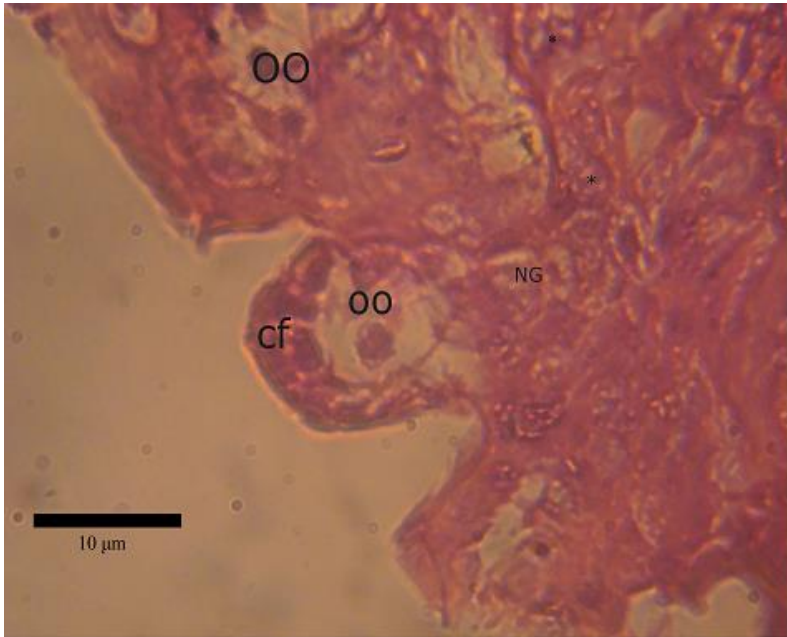


Figura 4- Oogônia (OO), células foliculares (cf), ninhos germinativos (NG), oogônias em mitose (*). Hematoxilina-eosina.

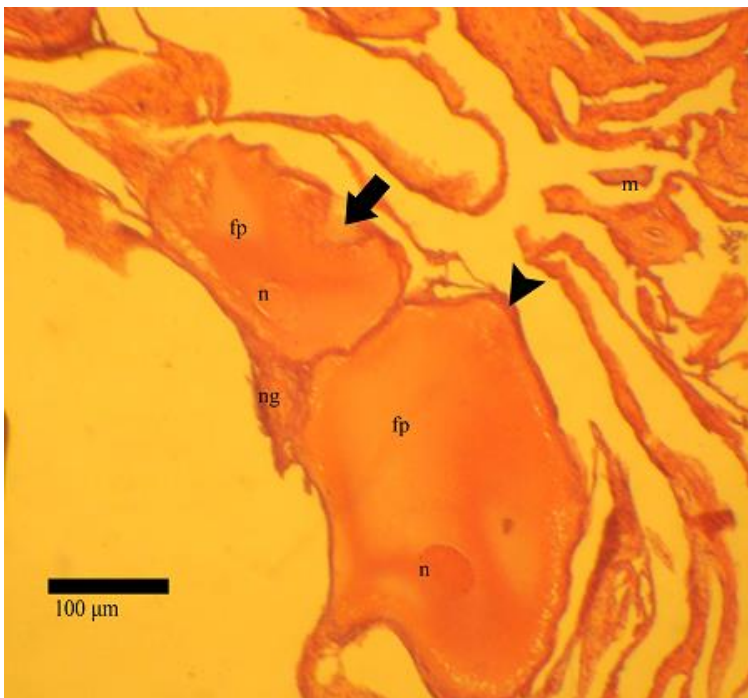


Figura 5 - Folículos pré-vitelogênico (pf), núcleo (n), folículos pré-vitelogênicos (pf), células foliculares e teca (cabeça de seta) proliferação de células foliculares e invasão no ooplasma indicando primeiro estágio de atresia (seta). Hematoxilina-eosina.

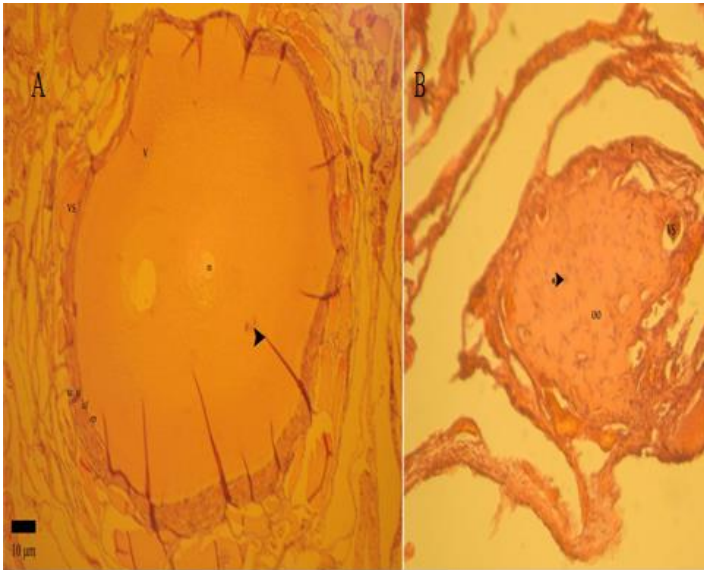


Figura 6- A -Folículo em início de vitelogênese. vitelo (v). teca interna (ti), teca externa (te), células foliculares (cf), zona pelúcida (zp), núcleo (n), artefato (cabeça de seta). B- Folículo vitelogênico em atresia .oo (ooplasma), invasão de células da teca asterisco vaso sanguíneo (vs). Hematoxilina-eosina.

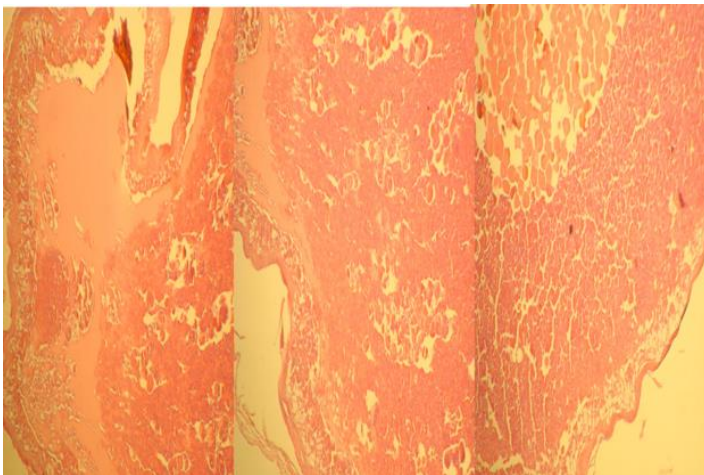


Figura 7- Folículo pré-ovulatório. Zona pelúcida hialina (zh), zona pelúcida radiata (zr), núcleo no polo animal (n), ooplasma (oo), vitelo (v), teca externa (te), vacúolo com grânulos de vitelo (seta). Hematoxilina-eosina.

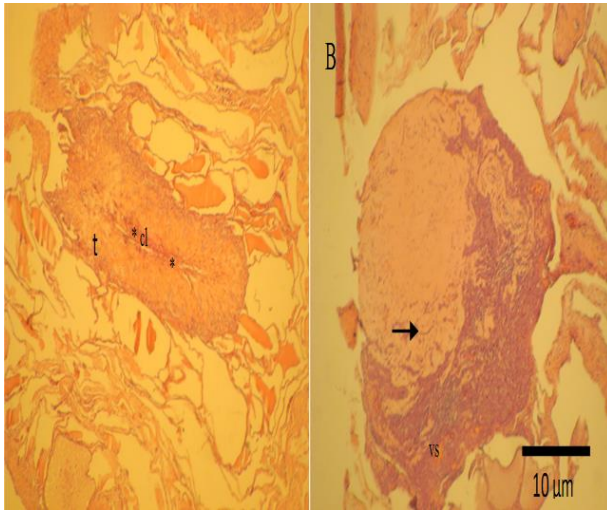


Figura 8 - Folículo pós-ovulatório, teca (t), células luteínicas (*cl), lúmen (asterisco), invasão de células foliculares e da teca vasos sanguíneos. (seta).