

KATIANE DE OLIVEIRA PINTO COELHO NOGUEIRA

MORFOLOGIA E ULTRA-ESTRUTURA DO OVIDUTO DE *Hemidactylus mabouia*
(MOREAU DE JONNÈS, 1818) (REPTILIA, SQUAMATA, SAURIA, GEKKONIDAE)
DURANTE O CICLO REPRODUTIVO

Dissertação apresentada
à Universidade Federal de
Viçosa, como parte das
exigências do Programa de
Pós-Graduação em Biologia
Celular e Estrutural, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

KATIANE DE OLIVEIRA PINTO COELHO NOGUEIRA

**MORFOLOGIA E ULTRA-ESTRUTURA DO OVIDUTO DE *Hemidactylus mabouia*
(MOREAU DE JONNÈS, 1818) (REPTILIA, SQUAMATA, SAURIA, GEKKONIDAE)
DURANTE O CICLO REPRODUTIVO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e Estrutural,
para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2008.

Prof^a. Izabel R. S. C. Maldonado
(Co-Orientadora)

Prof^a. Luciane C. O. Lisboa

Prof. Oswaldo P. Ribeiro Filho

Prof^a. Silvia das Graças Pompolo

Prof. Clóvis Andrade Neves
(Orientador)

“O essencial é saber ver. Saber ver
sem estar a pensar. Saber ver
quando se vê, e nem pensar quando
se pensa! Mas isso, tristes de nós
que trazemos a alma vestida!
Isso exige um estudo profundo, uma
aprendizagem de desaprender.”
(Fernando Pessoa)

Ao meu esposo Leonardo Brandão Nogueira
e ao meu filho Lucas Oliveira Brandão.

AGRADECIMENTOS

Ao ensino público e de qualidade da Universidade Federal de Viçosa, sem o qual dificilmente teria acesso a um curso de pós-graduação. A Capes pelo suporte financeiro ao longo dos últimos anos.

A Deus, por sua imensa bondade em me prover a vida.

Ao meu esposo Leonardo pelo inigualável incentivo, confiança e dedicação à nossa família que me permitiu ter tranquilidade nos momentos de ausência.

Ao meu querido filho Lucas, por ser o incentivo de toda minha caminhada. Foi o pensamento em você que me trouxe forças nos momentos mais difíceis.

A minha amada mãe pelo seu amor, fonte de força, simplicidade e otimismo que regem minha vida.

Ao meu pai pelo orgulho e o brilho nos olhos a cada passo da minha caminhada, na qual sempre procurei seguir o exemplo de honestidade, dignidade e respeito.

Ao meu irmão, Amantino, pelo elo de cumplicidade e fraternidade que nos une.

A toda minha família, fonte de apoio e carinho.

Ao professor Clóvis Andrade Neves pela orientação, pelos grandes ensinamentos e exemplo de ética profissional. Sou muito grata por ter aceitado o desafio de me orientar e me proporcionar a oportunidade de trabalhar com lagartixas, animais que para muitos parecem asquerosos, mas que possuem uma histologia maravilhosa que conquistou minha admiração!

Aos meus conselheiros Renato Neves Feio e Izabel Regina C. Maldonado pela sabedoria, simplicidade e por estarem sempre à disposição para ajudar e ensinar.

À professora Silvia Pompolo pela prestatividade em ceder seu laboratório e materiais, e pela gentileza em aceitar o convite para participar e enriquecer com sua competência e experiência este trabalho.

Ao laboratório de Biologia Estrutural: aos professores Adilson e Sérgio, aos amigos Mariana Lanna, Lílian, Manuela, Raquel, Juliana. Ao Alex pelo companheirismo diário e disponibilidade em sempre me ajudar.

Ao meu querido amigo Vinícius, por estar presente nos momentos mais difíceis me auxiliando na microscopia eletrônica e na confecção da versão final deste trabalho. Bem humorado, otimista e sempre transmitindo palavras de apoio e carinho.

À Sirlene, minha companheira na realização deste trabalho.

Ao professor Lino, por me ajudar nos momentos difíceis do início do curso, me possibilitando dar continuidade ao mesmo.

À Luciane, pela simpatia, incentivo e pela força nos momentos mais difíceis.

Ao professor Oswaldo, por ter aceito o convite para participar deste trabalho.

Ao professor Marcelo Vilela, pelas longas conversas que me proporcionaram conforto e ânimo para nunca desistir de um sonho.

Ao coordenador do Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural, professor José Eduardo Serrão sempre empenhado em aprimorar a qualidade do programa e também por sua infinita prestatividade.

Ao núcleo de Microscopia e Microanálise pelo suporte da minha pesquisa, em especial à doce Cláudia.

Ao Departamento de Biologia Geral pelo apoio logístico, em especial a Beth e Diana.

A todos os meus contemporâneos da Biologia Celular e Estrutural, em especial: Cirlei, Marcília, Mônica, que fizeram estes quase dois anos inesquecíveis!

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira, filha de José Mauro Santana Pinto Coelho e Teresinha do Carmo de Oliveira Pinto Coelho. Nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 05 de outubro de 1981.

Em fevereiro de 2005 casou-se com Leonardo Brandão Nogueira e, em julho do mesmo ano recebeu o maior presente de Deus, seu filho Lucas Oliveira Brandão.

Em agosto de 2006, graduou-se como Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG. Durante o período de graduação, de 2003 a 2006, foi estagiária do Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFRV e monitora de histologia.

Em maio de 2006, iniciou o curso de Mestrado em Biologia Celular e Estrutural, na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, defendendo a tese em fevereiro de 2008. No mesmo ano ingressou no curso de Doutorado em Biologia Celular e Estrutural pela Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. OBJETIVOS	02
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	03
4. ARTIGOS	
4.1. Morfologia e Ultra-estrutura do Oviduto de <i>Hemidactylus mabouia</i> (Moreau de Jonnès, 1818) (Reptilia, Squamata, Sauria, Gekkonidae).....	04
4.2. Modificações Estruturais no Oviduto de <i>Hemidactylus mabouia</i> (Moreau de Jonnès, 1818) (Reptilia, Squamata, Sauria, Gekkonidae) Durante o Ciclo Reprodutivo.....	23
5. CONCLUSÃO GERAL	42

RESUMO

NOGUEIRA, Katiane de Oliveira Pinto Coelho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2008. **Morfologia e ultra-estrutura do oviduto de *Hemidactylus mabouia* (Moreau de Jonnès, 1818) (Reptilia, Squamata, Sauria, Gekkonidae) durante o ciclo reprodutivo.** Orientador: Clóvis Andrade Neves. Co-Orientadores: Izabel Regina dos Santos Costa Maldonado e Renato Neves Feio.

Em geral, o aparelho reprodutor feminino dos répteis é constituído por um par de ovários e pelos ovidutos que funcionam como um conduto para o ovo desde a ovulação até a oviposição. As lagartixas pertencem ao gênero *Hemidactylus*, o qual está inserido na família Gekkonidae e na ordem Squamata. A estrutura do oviduto de lagartixas da espécie *Hemidactylus mabouia* foi analisada ao microscópio eletrônico de varredura e ao microscópio de luz através de técnicas de rotina e histoquímicas, que evidenciaram a presença de quatro regiões distintas que começando anteriormente são: infundíbulo, segmento mais anterior do oviduto que se abre na cavidade celomática; tuba uterina, local de estocagem de espermatozóides; útero, região onde é formada a casca do ovo e vagina, porção final do oviduto. Ao longo do ciclo reprodutivo o oviduto sofre modificações morfológicas marcantes permitindo a identificação de quatro fases distintas denominadas: proliferativa, vitelogênica, gravídica e regressiva. Este estudo obteve resultados consistentes com outros trabalhos envolvendo répteis, além disso, forneceu dados que poderão contribuir de maneira significativa para a compreensão da filogenia e de aspectos comportamentais da biologia reprodutiva de *H. mabouia*.

ABSTRACT

NOGUEIRA, Katiane de Oliveira Pinto Coelho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2008. **Oviductal Morphology and Ultrastructure of the *Hemidactylus mabouia* Moreau de Jonnès, 1818) (Reptilia, Squamata, Sauria, Gekkonidae) during the reproductive cycle.** Adviser: Clóvis Andrade Neves. Co-Advisers: Izabel Regina dos Santos Costa Maldonado and Renato Neves Feio.

In general, the female reproductive tract of reptiles consists of a pair of ovaries and oviducts that act as a conduct for the egg between ovulation to oviposition. The gekkonid lizard belong to the genus *Hemidactylus*, which is inserted in the family Gekkonidae and in the order Squamata. The oviduct structure of the *Hemidactylus mabouia* was examined by light and scanning electron microscopy through routine and histochemical techniques which revealed the presence of four distinct regions that, starting anteriorly, include: infundibulum, earlier segment of the oviduct that opens to the coelomic cavity; uterine tube, place of sperm storage; uterus, where it is formed the eggshell; and vagina, final portion of the oviduct. Over the course of the reproductive cycle the oviduct undergoes morphological changes allowing the identification of four distinct phases: proliferative, vitellogenic, gravidity and regressive. This study obtained results consistent with other studies involving reptiles, in addition, provided data that could contribute significantly to the understanding of phylogeny and behavioral aspects of the reproductive biology of *H. mabouia*.

1. INTRODUÇÃO GERAL

As lagartixas são répteis de hábito crepuscular/noturno intimamente associadas a habitações humanas (Rocha *et al.*, 2002). No entanto, pode ocorrer em outros ambientes naturais não antrópicos como a Floresta Amazônica, a Mata Atlântica, o Cerrado, a Caatinga, as Restingas e algumas ilhas da costa brasileira (Anjos, 2004). As lagartixas pertencem ao gênero *Hemidactylus*, o qual está inserido na família Gekkonidae e na ordem Squamata. Segundo Pough *et al.* (1993), a família Gekkonidae compreende 733 espécies de lagartos terrestres e arborícolas de tamanho diminuto (3 cm) a médio (30 cm). Os espécimes adultos de lagartixas (*Hemidactylus mabouia*) normalmente tem tamanhos que variam entre 5 e 7 cm sem considerar a cauda.

Originárias da África, as lagartixas dispersaram-se por todos os continentes, com exceção da Antártica, o que demonstra a grande capacidade de adaptação desse animal à diversidade ambiental (Pough *et al.*, 1993). No Brasil, a espécie *Hemidactylus mabouia* ocorre em todas as regiões (Vanzolini, 1978; Vanzolini *et al.*, 1980). Normalmente as espécies exóticas são motivos de preocupação em virtude do prejuízo que podem causar a populações e comunidades de organismos nativos com os quais interagem ou nas quais estejam inseridas. No entanto, diferente de outros animais exóticos, as lagartixas parecem não oferecer ameaças às espécies nativas, já que ocuparam um nicho ainda inabitado por outros répteis. Além disso, elas podem ser extremamente úteis na predação e controle biológico de insetos que muitas vezes são considerados pragas domésticas.

O desenvolvimento de trabalhos envolvendo a descrição da histologia do aparelho reprodutor feminino de *H. mabouia* contribuiria de maneira significativa para a compreensão posterior de aspectos comportamentais de sua biologia reprodutiva. Isso é de grande valia principalmente para animais exóticos, pois constitui um elemento essencial para planejar seu controle ou mesmo erradicação caso esses animais venham a trazer efeitos negativos sobre populações nativas. Além disso, *H. mabouia* é uma espécie comumente encontrada e de fácil acesso, o que a torna hábil para ser usada como modelo para análises morfológicas comparativas entre espécies de répteis.

2. OBJETIVOS

O trabalho foi realizado com os seguintes objetivos:

- descrever a morfologia do oviduto de *Hemidactylus mabouia* durante o período vitelogênico;
- descrever as modificações que ocorrem no oviduto durante seu ciclo reprodutivo;
- estabelecer padrões morfológicos do ciclo reprodutivo que possam ser usados como modelo de estudo da biologia reprodutiva deste e de outros répteis; e
- gerar dados morfológicos que possam ser utilizados em estudos filogenéticos dos Squamata.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anjos LA (2004) Ecologia de um lagarto exótico (*Hemidactylus mabouia*, Gekkonidae) vivendo na natureza (campo ruderal) em Valinhos, São Paulo. Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.

Pough FH (1993). A vida dos vertebrados. São Paulo. Ed. Ateneu. 875p.

Rocha CFD; Dutra GF; Vcibradic CD; Menezes VA (2002) The terrestrial reptile fauna of the Abrolhos archipelago: species list and ecological aspects. Braz. J. Biol., 62(2): 285-291.

Vanzolini PE (1978) On south america *Hemidactylus* (Sauria, Gekkonidae). Pap. Av. Zool., 31: 307-343.

Vanzolini PE; Ramos-Costa AMM; Vitt LJ (1980) Répteis das Caatingas. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro, Brasil. 1980.

Morfologia e Ultra-estrutura do Oviduto de *Hemidactylus mabouia* (Moreau de Jonnès, 1818) (Reptilia, Squamata, Sauria, Gekkonidae)

Resumo. Os répteis da família Gekkonidae exibem uma variedade de padrões reprodutivos que pode ser observada pela presença de representantes vivíparos e ovíparos. A espécie *Hemidactylus mabouia*, constituída por indivíduos ovíparos possui uma grande capacidade reprodutiva. As fêmeas podem depositar ninhadas contendo dois ovos ao longo de todo o ano, que aliado a estratégia alimentar generalista e a plasticidade na utilização de distintos habitats favorecem o sucesso evolutivo desta espécie. Com o emprego de técnicas histológicas de rotina e histoquímicas, em conjunto com a microscopia eletrônica de varredura, descrevemos a morfologia do oviduto de fêmeas vitelogênicas de *H. mabouia*. Esta estrutura é formada por quatro regiões distintas: infundíbulo, segmento que se abre na cavidade celomática e recebe o ovócito liberado no momento da ovulação; tuba uterina, local onde ocorre a estocagem de espermatozóides; útero, região responsável pela produção da casca do ovo e vagina, porção final do oviduto que desemboca na cloaca. O oviduto de *H. mabouia* se assemelha ao de algumas outras espécies de lagartos ovíparos descritos. Entretanto, algumas diferenças foram notadas e podem fornecer dados para a compreensão da biologia reprodutiva desta e de outras espécies de répteis. Esta descrição, também gerou informações que podem ser utilizadas em estudos filogenéticos.

Palavras-chave. *Hemidactylus mabouia*, oviparidade, capacidade reprodutiva, infundíbulo, tuba uterina, útero, vagina.

Oviductal Morphology and Ultrastructure of the *Hemidactylus mabouia* Moreau de Jonnès, 1818) (Reptilia, Squamata, Sauria, Gekkonidae)

Abstract. The reptiles of the family Gekkonidae display a variety of reproductive patterns that can be observed by the presence of viviparous and oviparous representatives. The specie *Hemidactylus mabouia*, consisting of oviparous individuals, have a great reproductive capacity. Females can deposit hatches containing two eggs throughout the year, allied to generalist food strategy and plasticity in the use of different habitats favour the evolutionary success of this specie. Routine histological and histochemical techniques associated with scanning electron microscopy were used to describe the morphology of the oviduct of vitellogenic females of *H. mabouia*. This structure is formed by four different regions: infundibulum, which opens into the coelomatic cavity and receives the oocyte released at the time of ovulation; uterine tube, where sperm storage take place; uterus, responsible for the eggshell production; and vagina, final portion of the oviduct that leads out to the cloaca. The oviduct of *H. mabouia* is similar to other species of oviparous lizards. However, some differences were observed and could provide data to the understanding of the reproductive biology of this and other species of reptiles. This study also provided information that can be used in phylogenetic studies.

Key Words: *Hemidactylus mabouia*, oviparity, reproductive capacity, infundibulum, uterine tube, uterus, vagina.

Introdução

As múltiplas funções do oviduto dos répteis refletem a variedade de padrões de reprodução exibidos por esse diverso grupo animal. Isso pode ser observado entre os lagartos da família Gekkonidae, a qual possui representantes vivíparos e ovíparos (Girling '98). Estes últimos ainda apresentam significativa variação nos padrões da casca do ovo, que podem ser macias (Packard *et al.* '82) ou rígidas (Couper *et al.* '93). Em geral, o aparelho reprodutor feminino dos répteis é constituído por um par de ovários e pelos ovidutos que funcionam como um conduto para o ovo desde a ovulação até a oviposição e/ou parturição; sendo ainda o local para a fertilização e, em algumas espécies, para estocagem de espermatozoides. Em indivíduos ovíparos o oviduto participa ativamente da produção da casca que envolve o ovo; nos vivíparos atua na formação da placenta (Girling, 2002). O termo oviduto, em répteis, designa as estruturas derivadas dos ductos de Müller no período embrionário (Girling *et al.*, '97). Em geral, o oviduto pode ser dividido anatomicamente em cinco regiões que começando da extremidade anterior são: infundíbulo, tuba uterina, istmo, útero e vagina. Algumas dessas regiões, que sofrem modificações morfológicas expressivas em função do período do ciclo sexual em que se encontram, podem não ser reconhecidas em todas as espécies de répteis (Girling, 2002).

O oviduto de exemplares da família Gekkonidae, a qual pertence o gênero *Hemidactylus*, tem sido muito estudado na tentativa de criar um modelo de estudo para esse grupo, além de descrever características que possam contribuir para sua filogenia (Picariello *et al.*, '89; Girling *et al.*, '97; '98; 2000). Embora existam trabalhos que retratem a ecologia (Zamprogno *et al.*, 1998; Rocha *et al.*, 2002) e o comportamento (Vitt, 1986; Vanzolini, 1978) da espécie *Hemidactylus mabouia*, a morfologia do oviduto ainda não foi descrita.

Fêmeas de *H. mabouia* podem depositar mais de uma ninhada anual, sendo que cada ninhada consiste de dois ovos (Vitt, 1986). Além dos aspectos reprodutivos, uma característica relevante de *H. mabouia* é sua estratégia alimentar generalista que, associada a sua plasticidade no uso de distintos habitats, pode ser considerada como atributo ecologicamente importante que, provavelmente favorece a colonização e o estabelecimento desta espécie em ambientes novos (Zamprogno *et al.*, 1998).

Estudos morfológicos do aparelho reprodutor feminino de *H. mabouia* contribuirão de maneira significativa para a compreensão posterior de aspectos comportamentais de sua biologia reprodutiva. Além disso, *H. mabouia* é uma

espécie comumente encontrada e de fácil manipulação, o que a torna hábil para ser usada como modelo para análises morfológicas comparativas entre espécies de répteis.

Neste estudo descrevemos a histologia e com o auxílio da microscopia eletrônica de varredura a ultra-estrutura de cada segmento do oviduto de *H. mabouia* no período vitelogênico.

Materiais e Métodos

Foram utilizadas seis fêmeas adultas de *Hemidactylus mabouia*, doadas pelo Museu de Zoologia João Moojen, da Universidade Federal de Viçosa (UFV) (**Tab. 1**). A caracterização dos exemplares como adultos se baseou nos estudos de Rocha *et al.* (2002).

Tabela 1: Identificação, comprimento, peso, período do ciclo e local de coleta dos exemplares de *H. mabouia* utilizados no presente estudo.

<i>Animal</i>	<i>Comprimento crânio-cloacal (mm)</i>	<i>Peso (g)</i>	<i>Período do ciclo</i>	<i>Local da coleta</i>
L11	57,0	3,81	Vitelogênico	Viçosa-MG
L52	57,2	3,65	Vitelogênico	Cambuci-RJ
L53	52,9	2,62	Vitelogênico	Cambuci-RJ
L60	55,5	3,24	Vitelogênico	Viçosa-MG
L68	56,2	3,62	Vitelogênico	Viçosa-MG
L69	51,4	2,86	Vitelogênico	Viçosa-MG

Todos os animais foram anestesiados e eutanasiados sob métodos rotineiros de laboratório.

A identificação e coleta dos órgãos do aparelho reprodutor foram realizadas *in situ* através de uma incisão longitudinal mediana na região ventral dos animais em solução salina. Fragmentos dos órgãos e regiões foram imediatamente fixados em solução de Carson (Carson *et al.*, 1973) por, no mínimo, 24 horas à temperatura ambiente.

Os fragmentos do material coletado e destinados ao estudo sob microscopia de luz foram desidratados em concentrações crescentes de álcool (70°, 80°, 95° e 100° GL) com trocas a cada trinta minutos. Após a desidratação, foram incluídos

em glicol-metacrilato (Historesin®, Leica) e levados à estufa (45°C) por 24 horas para polimerização.

O material foi seccionado na espessura de 0,5 e 2µm, em micrótomo automático (Leica mod. RM-2155.) com navalhas de vidro. As secções obtidas foram coradas com azul de toluidina-borax 1% (AT) ou submetidas as seguintes técnicas histoquímicas: ácido periódico de Schiff (PAS) e alcian blue pH 2,5 (AB) para detecção de glico-conjugados neutros e ácidos, respectivamente; sulfato de azul do Nilo (AN) para detecção de lipídeos ácidos e neutros (Bancroft e Stevens, 1996); e xilidine Pouceau (XP) para detecção de proteínas (Mello e Vidal, 1980), após os tratamentos foram montadas com Entellan® (Merk).

A análise e documentação do material foi realizada em microscópio Olympus BX-60 com câmera digital Q-Color 3 (Olympus) no Laboratório de Citogenética de Insetos da UFV.

Para análise ultra-estrutural, fragmentos dos tecidos foram fixados em solução de Karnovsky por 4 horas em temperatura ambiente. Depois de lavados em tampão cacodilato de sódio 0,1M (pH 7,2) foram desidratados em série crescente de etanol e submetidos ao CPD (critical point drying). O material foi montado em “stubbs” e coberto por uma fina camada de ouro para posterior análise ao microscópio eletrônico de varredura (SEM) (LEO VP1430) no Núcleo de Microscopia e Micro-análise da UFV.

As imagens digitalizadas de microscopia de luz tiveram seus aumentos calculados com o uso do aplicativo Image-Pro Plus 4.5 (Media Cybernetcs) e as pranchas montadas com auxílio do Power Point (Microsoft).

Resultados

Os ovidutos são órgãos pares posicionados na cavidade celomática das fêmeas. Normalmente, a extremidade anterior do oviduto direito se localiza anteriormente ao esquerdo. Cada oviduto de *H. mabouia* pode ser dividido anatomicamente em quatro regiões que começando da extremidade anterior são: infundíbulo, tuba uterina, útero e vagina. O istmo não foi identificado nessa espécie. A vagina é a porção final do oviduto que termina na cloaca, região composta de três câmaras onde desembocam os sistemas digestivo, genital e urinário (Fig.1).

Infundíbulo

O infundíbulo é o segmento mais anterior do oviduto. Organiza-se em diversas dobras longitudinais que se acomodam na cavidade celomática. Sua

extremidade anterior possui um óstio, através do qual o ovócito penetra após a ovulação.

A mucosa do infundíbulo (Fig. 2A e 2B) é constituída por um epitélio simples contendo predominantemente células ciliadas e, em menor quantidade, células não-ciliadas. As células epiteliais são alongadas em função das inúmeras pregas da mucosa. Os cílios são desenvolvidos e chegam a ter altura equivalente ao restante do citoplasma. Os núcleos das células não-ciliadas se projetam, juntamente com o citoplasma apical fazendo protuberância para o lúmen. A membrana basal das células epiteliais não se cora pelo AT, originando regiões claras entre as células epiteliais e a lâmina própria. A lâmina própria é delgada, com conjuntivo frouxo e não possui glândulas. Abaixo da mucosa ocorre uma camada delgada de músculo liso com uma ou duas células de espessura. Estas células apresentam superfície irregular e não tem uma orientação claramente definida. Envolvendo a túnica muscular está posicionada a serosa, formada por epitélio simples pavimentoso recobrendo um fino feixe conjuntivo muito vascularizado e com numerosos mastócitos.

Algumas células não ciliadas possuem grânulos apicais ricos em glico-conjugados ácidos, pois eram AB positivos e PAS negativos.

Tuba Uterina

Anatomicamente é um discreto espessamento entre a porção terminal do infundíbulo e o início do útero.

O epitélio da tuba uterina é composto, também, por células ciliadas e por células secretoras, entretanto estas células são muito mais altas do que aquelas do infundíbulo. A secreção desta região é altamente metacromática quando corada com AT (Fig. 2C) e respondem positivamente ao PAS e ao AB, indicando a presença de glico-conjugados neutros e ácidos na secreção. O epitélio de revestimento penetra na lâmina própria e origina criptas compostas exclusivamente por células ciliadas. Algumas criptas estavam repletas de espermatozóides (Fig. 2D). A lâmina própria, a muscular e a serosa são semelhantes às do infundíbulo.

Útero

O útero possui a parede com inúmeras dobras e pode ser reconhecido anatomicamente como a região mais espessa de todo o oviduto. O epitélio é constituído por células colunares com núcleos elípticos, essas podem ou não conter cílios. As células não-ciliadas são de dois tipos: uma possui a superfície luminal abaulada com microvilosidades, enquanto a outra tem ápice mais estreito com

superfície lisa (Fig. 2E). Cortes semifinos do útero de uma fêmea em período vitelogênico tardio, com um dos ovócitos no infundíbulo, permitiram observar que este epitélio é simples, apesar de parecer estratificado na maioria dos cortes analisados. Nesta fêmea, as células epiteliais apresentaram o volume sensivelmente aumentado. A região infra-nuclear das células epiteliais é rica em material granular ortocromático quando corado com o AT. Abaixo da lâmina epitelial há uma profusão de pequenos vasos sanguíneos formando extenso plexo entre o epitélio e as glândulas (Fig. 2F). As técnicas histoquímicas para verificação da presença de glico-conjugados demonstraram que a borda apical das células não-ciliadas exibem positividade homogênea (não granular) tanto para PAS quanto para AB. As células que revestem o ducto das glândulas apresentam grânulos PAS positivos. Grânulos positivos para glico-conjugados neutros (Fig. 3A) e ácidos ocorrem no conjuntivo subjacente muito próximo ao epitélio. É interessante notar que as células não ciliadas, ao contrário daquelas da tuba, não apresentam aspecto morfológico de células secretoras. As técnicas histoquímicas utilizadas para detecção de proteínas e lipídeos reagiram negativamente com as células epiteliais de revestimento do útero.

As glândulas uterinas, também denominadas glândulas da casca, são do tipo simples tubulosa ramificada (Fig. 3B, 3C e 3D). As células glandulares apresentam núcleo arredondado com cromatina descondensada e nucléolo evidente. O citoplasma é claro e a extremidade apical das células possui borda em escova pouco desenvolvida delimitando um pequeno lúmen. As células glandulares reagiram negativamente às técnicas histoquímicas para glico-conjugados e proteínas. Reação positiva para gorduras neutras foi notada em grânulos localizados abaixo do núcleo de algumas células e próximo à borda em escova, no lúmen (Fig. 3E).

O tecido conjuntivo que circunda as glândulas é frouxo e ricamente vascularizado. Nesse conjuntivo é comum a ocorrência de mastócitos e de grandes células contendo vacúolos PAS positivos, que são, provavelmente, macrófagos.

A túnica muscular que envolve a mucosa é espessa, formada por um feixe de fibras com orientação circular interno e outro com orientação longitudinal externamente. A serosa, assim como nas outras regiões do oviduto circunda a muscular.

Vagina

A vagina é a região final do oviduto. Possui mucosa organizada em dobras que aumentam de tamanho à medida que se aproximam da cloaca. As

características morfológicas da parede vaginal possibilitam sua divisão em dois segmentos. Segmento anterior, logo após o útero; e posterior que desemboca na cloaca. Ambas as porções da vagina estão envolvidas pela camada muscular, que se espessa à medida que se aproxima da cloaca.

A região anterior da vagina é constituída por um epitélio simples prismático formado por células ciliadas e secretoras. Células ciliadas predominam e estão presentes em grande número em toda a extensão da vagina anterior (Fig. 4A). Dois tipos de células secretoras foram observados (Fig. 4B). O primeiro tipo predomina imediatamente após o útero. Essas células possuem uma fina granulação ortocromática no citoplasma apical e núcleo claro de forma piramidal situado na base da célula. O outro tipo celular possui secreção metacromática e predomina na região posterior, próxima à transição vagina anterior – posterior (Fig. 4C). O citoplasma dessas células está repleto de secreção rica em glico-conjugados neutros e ácidos e morfologicamente se assemelham às células caliciformes clássicas.

A vagina posterior possui epitélio estratificado com células grandes repletas de secreção (Fig. 4D). Essa secreção apresenta leve positividade à técnica de AB e não reage às técnicas para glico-conjugados neutros (PAS) e para proteínas (XP). As células mais superficiais desse epitélio geralmente são achatadas, fazem protrusão para o lúmen e apresentam uma fina camada granular de secreção contendo glico-conjugados neutros em sua porção apical.

Discussão

O comprimento dos exemplares de *Hemidactylus mabouia* utilizados nesse estudo variou entre 51,4 e 57,2 mm, conforme os padrões estabelecidos por Rocha *et al.* (2002) para caracterizá-los como adultos. O período do ciclo foi reconhecido pela palpação do abdômen dos animais e pela confirmação da presença de um grande folículo, que em *H. mabouia* tinha cerca de 6 mm de diâmetro, em cada ovário, o que está de acordo com os critérios utilizados por Girling (1998) em outros Gekkonidae para determinação da fase vitelogênica.

A terminologia usada para a divisão anatômica e histológica do oviduto dos répteis varia entre os autores, principalmente quando se trata de comparações interespecíficas. Segundo Guillette *et al.* ('89) três regiões distintas geralmente são reconhecidas nos ovidutos dos Squamata: infundíbulo, útero e vagina. O infundíbulo pode ser subdividido em dois segmentos, sendo o posterior denominado

tuba por alguns autores (Girling, 2002). Server *et al.* (2000) utilizou esse mesmo padrão para o oviduto da serpente *Seminatrix pygaea*. Organização semelhante foi observada nos ovidutos de *Hemidactylus mabouia* que foram anatomicamente divididos em quatro regiões: infundíbulo, tuba, útero e vagina. Essa divisão anatômica não segue os padrões estabelecidos por Picariello *et al.*, ('89) ao estudar *Tarentola mauritanica*, um lagarto ovíparo da família Gekkonidae. De acordo com esse estudo o oviduto de *T. mauritanica* é dividido em cinco regiões que respectivamente são: infundíbulo, tuba uterina, istmo, útero e vagina. Essa mesma divisão anatômica foi feita para quatro espécies da família Gekkonidae: *Hemidactylus turcicus*, *Saltuarius wyberba*, *Hoplodactylus maculatus* e *Hoplodactylus duvaupellii* por Girling *et al.* ('98), que definiu o istmo como uma pequena região glandular de transição entre tuba e o útero. Contudo, como já relatado anteriormente, esta região não foi observada nesse estudo.

O comportamento das células não-ciliadas que fazem protrusão para o lúmen do infundíbulo de *H. mabouia* também foi notado no infundíbulo de *Hemidactylus turcicus* por Girling (2002). Essas observações podem ser explicadas pela influência de alguns hormônios sobre o oviduto. Sabe-se que o estrogênio, hormônio secretado pelo ovário, é responsável por estimular o crescimento e hipertrofia do oviduto enquanto a progesterona atua na indução da produção e liberação de diversas proteínas no oviduto dos mamíferos e dos répteis (Roberts e Bazer, '88; Abrams Motz e Callard, '91). Dentre estas proteínas destaca-se a avidina (albúmen) em répteis (Guillette *et al.* '91; Callard *et al.*, '92). Essa proteína possui propriedades antimicrobianas, nutritivas, de proteção mecânica e hídrica para o embrião em desenvolvimento (Palmer e Guillette, '91). Apesar de tamanha importância destinada ao albúmen no desenvolvimento de embriões de répteis e aves, em *H. mabouia* essa proteína não foi observada. Esse dado é consistente com as observações feitas por Packard *et al* ('88) e Cordenio-López *et al* ('95). Segundo esses autores parece que os ovos dos répteis da subclasse Lepidosauria (Tuatara e Squamata) perderam a camada de albúmen. É possível que a secreção AB positiva notada em algumas das células não ciliadas sejam resquícios da secreção de albúmen que em associação com os cílios, possa ter alguma função protetora, já que o oviduto se abre na cavidade celomática.

A observação das células não ciliadas no infundíbulo e na tuba ao microscópio eletrônico de varredura foi dificultada pela presença de grande quantidade de células ciliadas que cobriam quase toda a superfície desses órgãos em *Lampropholis guichenoti* (Adams *et al.*, 2004) Em *H. mabouia* a superfície

apical das células não ciliadas foram facilmente observadas entre os cílios e sua natureza secretora pode ser confirmada pela histologia e histoquímica.

A tuba uterina de *H. mabouia* se apresenta anatomicamente como um discreto espessamento entre a porção terminal do infundíbulo e o início do útero. Apesar da dificuldade na sua identificação ao olho desarmado, não pode ser considerada somente uma região de transição, pois existem diferenças histológicas significativas, tanto em relação ao infundíbulo, quanto ao útero. Além disto, é a região onde ocorre a estocagem de espermatozóides. Dentre as funções da tuba talvez uma das mais relevantes seja a estocagem de espermatozóides. Esse comportamento já foi observado em outras espécies de Squamata, além de quelônios e crocodilos (Girling, 2002). Em lagartos a estocagem de espermatozóides já foi observada na porção posterior do infundíbulo (similar à tuba uterina em *H. mabouia*), na vagina ou em ambas as regiões (Siegel *et al.*, 2007). Essa variação nos locais de estocagem está diretamente relacionada com os padrões evolutivos dos répteis, segundo os quais a estocagem de espermatozóides evoluiu independentemente nos diferentes grupos (Server e Hamlett., 2002). Certamente a estocagem de espermatozóides está diretamente relacionada com o sucesso evolutivo desses grupos. Em algumas espécies ela é essencial, pois o ciclo reprodutivo de machos e fêmeas é assincrônico e, esse recurso permite que a cópula seja um processo independente da fertilização (Girling, 2002), o que pode explicar a capacidade de postura de ovos de fêmeas de *H. mabouia* ao longo de todo ano. A estocagem de espermatozóides na tuba uterina de *H. mabouia* indica que esta seja a possível região de fertilização nesta espécie, já que o ovócito liberado no momento da ovulação é capturado pelo infundíbulo, atravessando essa região até alcançar a tuba uterina, onde encontrará os espermatozóides. Estes provavelmente são liberados das criptas nesse momento por simples pressão mecânica exercida pelo ovócito sobre elas. No entanto, não existem evidências que comprovem essa hipótese e outros autores sugerem o infundíbulo como o possível local da fertilização, pois ela deve ocorrer antes do ovo ficar coberto pelo albúmen e/ou pelas membranas da casca do ovo (Girling *et al.*, '97).

As células não ciliadas da tuba uterina em tartarugas e crocodilos são responsáveis pela secreção do albúmen (Girling *et al.*, '98), no entanto, como não há produção de albúmen em Squamata provavelmente essas células exercem outras funções em *H. mabouia*. Nesta espécie as células não ciliadas se coram fortemente quando submetidas às técnicas histoquímicas para glico-conjugados neutros e ácidos, indicando uma função secretória. Resultados semelhantes foram relatados por Girling (2002) para secreções produzidas pela tuba uterina em várias

espécies de Squamata. Esses resultados coincidiram com os observados por Server e Ryan ('99) para a técnica de PAS, no entanto, esses autores observaram uma fraca positividade ou resultados negativos para AB na área de estocagem de espermatozóides da serpente *Seminatrix pygaea*. O papel exato exercido pela secreção da tuba não está muito bem estabelecido, já que ainda não se conhece em detalhes sua composição química. No entanto, é provável que a secreção da tuba uterina de *H. mabouia* esteja envolvida na atração e nutrição dos espermatozóides como sugerido para outras espécies (Adams e Cooper '88; Siegel *et al.* 2007). A presença de criptas para estocagem de espermatozóides na tuba uterina de *H. mabouia* e em outros Squamata parece ser um caracter filogenético primitivo se comparado com aquelas espécies que possuem estas estruturas na vagina, embora o número de espécies estudadas seja ainda pouco consistente (Sánchez-Martínez *et al.*, 2007).

O útero de *H. mabouia* revestido por um epitélio colunar com células ciliadas e não ciliadas, se enquadra nas descrições anteriores relacionadas ao útero de outros lagartos ovíparos feitas por diversos autores, tanto em seus aspectos histológicos quanto histoquímicos (Guillette *et al.*, '89; Picariello *et al.*, '89; Palmer *et al.*, '93; Perkins *et al.*, '96; Girling *et al.*, '97, '98, 2000; Girling, 2002). A combinação de técnicas histológicas com a MEV permitiu observar que a morfologia descrita por Girling *et al.* ('98) para *H. turcicus* e Adams *et al.*, (2004) para *Lampropholis guichenoti* é semelhante à de *H. mabouia*. Não há evidências de secreção nas células epiteliais de revestimento do útero de *H. mabouia* durante o período vitelogênico e os glico-conjugados presentes nas células não-ciliadas, provavelmente fazem parte do glicocálice, enquanto os grânulos da região basal são material de reserva. O aumento na altura das células no período vitelogênico tardio está de acordo com os achados de Girling *et al.* (2000) que demonstram que altos níveis de estrógeno levam ao aumento significativo do volume celular.

A presença de inúmeras glândulas uterinas, provavelmente responsáveis pela secreção de componentes da casca do ovo, observadas em *H. mabouia* é consistente com as descrições feitas para lagartos ovíparos da família Gekkonidae (Guillette *et al.*, '89; Palmer *et al.*, '93; Girling *et al.*, '98). Em espécies vivíparas de Squamata o número de glândulas é muito reduzido (Girling, 2002). Apesar da conhecida função secretora exercida pelas glândulas uterinas, elas reagiram negativamente às técnicas para identificação de glico-conjugados e proteínas no período vitelogênico de *H. mabouia*. Ausência de glico-conjugados nas glândulas uterinas também foi notada nas espécies ovíparas *Hoplodactylus maculatus* e *Hemidactylus turcicus* (Girling *et al.*, '97, '98). Lipídeos neutros foram encontrados

nas glândulas de um dos exemplares analisados neste trabalho, resultado consistente com o observado por Server *et al.* (2000) nas glândulas uterinas da serpente vivípara *Seminatrix pygaea*. A natureza da secreção destas glândulas é, provavelmente, modificada em função de pequenas alterações hormonais ao longo do ciclo sexual, o que poderia explicar pequenas diferenças nos resultados histoquímicos em diferentes exemplares.

Adams e Cooper ('88) ao estudarem a morfologia vaginal do lagarto *Holbrookia propinqua*, identificaram três regiões caracterizadas como anterior, média e posterior, todas com a presença de células ciliadas. Entretanto, segundo Sánchez-Martínez *et al.* (2007) a vagina dos Squamata não apresenta diferenças consistentes em sua morfologia que justifiquem sua divisão em regiões; e quando estas ocorrem são em resposta à fases do ciclo sexual. Contudo, em *H. mabouia* a transição entre as regiões anterior e posterior da vagina é claramente demarcada, não só pela transição de um tipo de epitélio em outro, mas também por modificações na musculatura e aumento no número e no tamanho de pregas, como também observado em *Sceloporus woodi* por Palmer *et al.* ('93). No entanto, um arranjo diferente foi observado por Botte ('73) e Girling *et al.* ('97, '98). Segundo esses autores as dobras da mucosa reduzem de tamanho à medida que se aproximam da cloaca.

A vagina não possui criptas no delgado tecido conjuntivo que constitui sua lâmina própria, o que indica que os espermatozóides não ficam estocados na vagina nessa espécie de lagarto. Essa porção final do oviduto é o conduto para a passagem do ovo durante a oviposição. A presença de pregas na mucosa da vagina aumenta a superfície desse órgão para permitir a passagem do ovo. Além disso, a musculatura desenvolvida da vagina posterior age como um esfíncter que permite a manutenção do ovo no útero, durante o período gravídico e ajuda a expelir o ovo no momento da parturição (Girling *et al.*, '97).

A importância da descrição histológica, histoquímica e ultra-estrutural do oviduto de *H. mabouia* durante o período vitelogênico não se limita aos aspectos morfológicos observados. Ela fornece dados que poderão ser utilizados em estudos comportamentais e ecológicos desta e de outras espécies de lagartos, bem como esclarecer aspectos importantes sobre a filogenia dos Squamata.

Referências Bibliográficas

- Abrams-Motz V; Callard IP (1991) Seasonal variations in oviductal morphology of the painted turtle, *Chrysemys picta*. J. Morphol. 207: 59-71.
- Adams CS; Cooper WE (1988) Oviductal morphology and sperm storage in the keeled earless lizard, *Holbrookia propinqua*. Herpetologica, 44(2): 190-197.
- Adams CS; Hosie MJ; Murphy CR; Thompson MB (2004) Changes in oviductal morphology of the skink, *Lampropholis guichenoti*, associated with egg production. J. Morphol. 262: 536-544.
- Bancroft JD; Stevens A (1996) Theory and Practice of Histological Techniques. 4^a ed. Churchill Livingstone, New York. 766p.
- Botte V (1973) Some aspects of oviduct development in the lizard *Lacerta sicula* in relation to the annual cycle. Boll. Zool. 40: 315-321.
- Callard IP; Fiteti LA; Perez LE; Sorbera LA; Giannoukos G; Klosterma LL; Tsang P; McCracken JA (1992) Role of the corpus luteum and progesterone in the evolution of vertebrate viviparity. Am. Zool. 32: 264-75.
- Carson FL; Martin JH; Lynn JA (1973) Formalin fixation for electron microscopy: a re-evaluation. A. J. Clin. Pathol. 59:365-373.
- Corden-López N; Morales MH (1995) Lack of proteins of oviductal origin in the eggs of a tropical anoline lizard. Physiol. Zool. 68: 512-523.
- Couper PJ; Covacevich JA; Mortiz C (1993) A review of the leaf-tailed geckos endemic to eastern Australia: a new genus, for new species, and other new data. Mem. Queensl. Mus. 34: 95-124.
- Girling JE; Cree A; Guillette LJ (1997) Oviductal structure in a viviparous New Zealand gecko, *Hoplodactylus maculatus*. J. Morphol. 324: 51-68.
- Girling JE; Cree A; Guillette LJ (1998) Oviductal structure in four species of gekkonid lizard differing in parity mode and eggshell structure. Reprod. Fertil. Dev. 10: 139-154.
- Girling JE; Guillette LJ; Cree A (2000) Ultrastructure of the uterus in an ovariectomized gecko (*Hemidactylus turcicus*) after administration of exogenous estradiol. J. Exp. Zool. 286: 76-89.
- Girling JE (2002) The reptilian oviduct: A review of structure and function and directions for future research. J. Exp. Zool. 293:141-170.
- Guillette LJ; Fox SL; Palmer BD (1989) Oviductal morphology and egg shelling in the oviparous lizard *Crotaphilus collaris* and *Eumeces obsoletus*. J. Morphol. 201: 145-159.

- Guillette LJ; DeMarco V; Palmer BD (1991) Exogenous progesterone or indomethacin delays parturition in the viviparous lizard *Sceloporus jarrovi*. Gen. Comp. Endocrinol. 81: 105-112.
- Mello MLS; Vidal BC (1980) Práticas de Biologia Celular. Editora Edgard Blücher Ltda. São Paulo, Brasil. 71p.
- Packard MJ; Packard GC; Boardman TJ (1982) Structure of eggshells and water relations of reptilian eggs. Herpetologica, 38:136-155.
- Packard MJ; Thompson MB; Goldie KN; Vos M (1988) Aspects of shell formation in eggs of the tuatara, *Sphenodon punctatus*. J. Morphol. 197: 147-157.
- Palmer BD; Guillette LJ (1991) Oviductal proteins and their influence on embryonic development in the birds and reptiles. Ferguson MWJ; Deeming DC; Editors. Environmental influences of avian and reptilian embryonic development. Cambridge: Cambridge University press. p.29-46.
- Palmer BD; DeMarco VC; Guillette LJ (1993) Oviductal morphology and the eggshell formation in the lizard, *Sceloporus woodi*. J. Morphol. 217: 205-217.
- Perkins JM; Palmer BD (1996) Histology and functional morphology of the oviduct of an oviparous snake, *Diadophis punctatus*. J. Morphol. 277: 67-79.
- Picariello O; Ciarcia G; Angelini F (1989) The annual cycle of oviduct in *Tarentola m. mauritanica* L. (Reptilia, Gekkonidae). Amphib-Reptilia, 10: 371-386.
- Roberts RM; Bazer FW (1988) The functions of the uterine secretions. J. Reprod. Fertil., 82: 875-92.
- Rocha CFD; Dutra GF; Vcibradic CD; Menezes VA (2002) The terrestrial reptile fauna of the Abrolhos archipelago: species list and ecological aspects. Braz. J. Biol. 62(2): 285-291.
- Sánchez-Martínez PM; Ramírez-Pinilla MP; Miranda-Esquivel DR (2007) Comparative histology of the vaginal-cloacal region in Squamata and its phylogenetic implications. Acta Zool. (Stockholm) 88(4):289-307.
- Server DM; Ryan TJ (1999) Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*). I. Evidence for oviductal sperm storage . J. Morphol. 241:1-18.
- Server DM; Ryan TJ; Morris T; Patton D; Swafford S (2000) Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*). II. Annual oviductal cycle. J. Morphol. 245:146-160.
- Server DM; Hamlett WC (2002) Female sperm storage in reptiles. J. Exp. Zool. 292:187-199.
- Siegel D; S; Server DM (2007) Sperm aggregations in female *Agkistrodon piscivorus* (Reptilia:Squamata): a histological and ultrastructural investigation. J. Morphol. 269(2):189-206.
- Vanzolini PE (1978) On South America *Hemidactylus* (Sauria, Gekkonidae). Pap.Av.Zool. 31: 307-343.

- Vitt LJ (1986) Reproductive tactics of sympatric gekkonid lizards with a comment on the evolutionary and ecological consequences of invariant clutch size. *Copeia*, 3: 773-786.
- Zamprogno C; Teixeira RL (1998) Hábitos alimentares da lagartixa-de-parede *Hemidactylus mabouia* (Reptilia, Gekkonidae) da planície litorânea do norte do Espírito Santo, Brasil. *Rev. Brasil. Biol.* 58(1): 143-150.

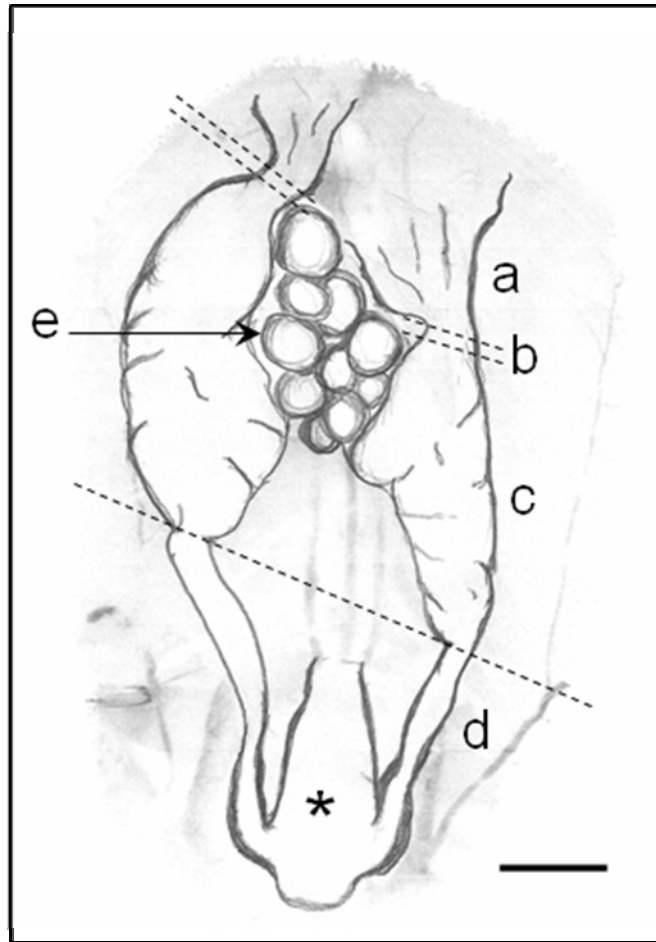


Figura 1. Desenho esquemático do aparelho reprodutor feminino de *H. mabouia*. a – infundíbulo; b - tuba uterina; c – útero; d – vagina; e – ovários; * - cloaca. Barra: 2 mm.