

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
Programa de Pós-graduação em Biologia de Vertebrados

Paula Cristina Barnabé

Morfologia dos ovidutos de anuros em diferentes modos reprodutivos

Belo Horizonte, 29 de março de 2019

Paula Cristina Barnabé

Morfologia dos ovidutos de anuros em diferentes modos reprodutivos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Biologia de Vertebrados.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Barreto Nascimento

Belo Horizonte, 29 de março de 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

B259m	Barnabé, Paula Cristina Morfologia dos ovidutos de anuros em diferentes modos reprodutivos / Paula Cristina Barnabé. Belo Horizonte, 2019. 51 f. : il.
	Orientadora: Luciana Barreto Nascimento Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados
	1. Anfíbios. 2. Anuro - Reprodução. 3. Gônadas - Maturação. 4. Morfologia (Animais). 5. Peixe - Reprodução. 6. Oócitos. I. Nascimento, Luciana Barreto. II. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados. III. Título.
	SIB PUC MINAS
	CDU: 597

Ficha catalográfica elaborada por Fernanda Paim Brito - CRB 6/2999

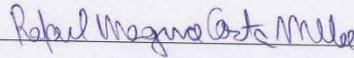
“Morfologia dos ovidutos de anuros em diferentes modos reprodutivos”

Paula Cristina Barnabé

Defesa de Dissertação em 29/03/2019

Resultado: **APROVADA**

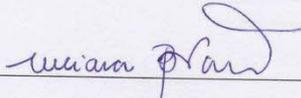
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Rafael Magno Costa Melo (UFMG)



Prof. Dr. Lucas Marcon (UEMG)



Profa. Dra. Luciana Barreto Nascimento (Orientadora PUC Minas)

AGRADECIMENTOS

A coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo;

Ao FIP pelo financiamento dos materiais utilizados no projeto aprovado (FIP 2018/1136-1S);

ICMBIO e a Fundação de Parques Municipais de Belo Horizonte pelas autorizações de coleta e pesquisa;

A Luciana Barreto Nascimento pela oportunidade, confiança, paciência e aprendizados durante o período da minha graduação e agora na orientação deste estudo;

Aos membros da banca por aceitarem o convite e pelas críticas e sugestões que irão enriquecer o trabalho;

Ao Museu de Ciências Naturais da PUC Minas, em especial ao pessoal da Coleção de Herpetologia pela estrutura e aprendizados;

Ao Programa de Pós Graduação em Biologia de Vertebrados da PUC Minas pela oportunidade, estrutura e aprendizados;

Ao Rubens Miranda pela confecção das lâminas e pelo carisma;

Ao José Enemir dos Santos, Rogério Matos e Lucas Marcon, Nilo Bazzoli pelos ensinamentos e dicas de preparação de material e análises;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados, Angélica Vasconcellos, Conrado Galdino, Daniel Carvalho, Gisele Dantas, Gilmar Santos, Paula Eterovick, Sônia Talamoni, Nilo Bazzoli e José Enemir, os quais tive o prazer em aprender e conviver durante esse período.

Agradeço ao Fábio Veridiano pelas ilustrações contidas neste trabalho;

Agradeço a Deus e a mãezinha Guadalupe por me mostrar que tudo está previsto, por me guiar, por nunca ter faltado nos momentos difíceis e por sempre reforçar em minha vida que não devemos ter “Medo de Nada, só Amor”;

Aos meus pais Rosaura e Joaquim pelo amor, apoio, paciência e cuidado, vocês são maravilhosos eu não teria chegado até aqui sem vocês. A minha sobrinha/irmã Beatriz, minha base e força. Sem vocês nada seria possível;

A toda minha família pelo carinho, em especial à minha Tia Penha, minha segunda mãezinha;

Ao meu parceiro de vida Fábio, por todo apoio, amizade, companheirismo e paciência, sem você a jornada seria muito mais pesada! Você é luz a minha vida;

Aos amigos que me ajudaram nas adversidades desse estudo (Fernanda Keller, John Lennon, Izabella França, Gerson Muzzi e Felipe Carvalho) e aos amigos do laboratório;

A todos os integrantes da família Ervilha e ZQ que estiveram ao meu lado nos momentos de descontração, desabafos e momentos inesquecíveis;

A família TLC que fortaleceu minha fé e não me deixou desanimar em frente aos desafios.

“a recompensa das que se tornaram esforçadas pioneiras nas artes e nas ciências; das que para ele se preparam. Das que pela educação que dão às suas filhas lhes sugerem as mais nobres aspirações, que pela reverência que inspiram aos seus filhos lhes ensinam a venerar a mulher, finalmente das que com seu amor esclarecido, abrem ao homem novos horizontes, cheios de harmonia e de luz. (...) Verão elas seu esforço coroado, não por um sucesso passageiro e estéril, mas por uma vitória definitiva, profunda e real.”

Bertha Maria Júlia Lutz (1894 – 1976)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** (A) Representação dos ovidutos dentro da cavidade peritoneal da fêmea em vista ventral. (B) Porções dos ovidutos onde foram realizados os cortes histológicos: porção Reta (PR); porção convoluta (PC), com a zona proximal intermediária (IPZ), a parte pré convoluta (PPC) e a parte convoluta (PaC); e Ovissaco (O). Adaptado de Crespo et al. (2012). 18
- Figura 2:** Morfologias da porção convoluta dos ovidutos. A: Convoluções separadas e não sobrepostas. B: Convoluções sobrepostas em toda região. C: Convoluções sobrepostas e região PaC com convoluções separadas e não sobrepostas. D: Convoluções sobrepostas e região PaC apresentando um alargamento das dobras. E: Convoluções separadas e não sobrepostas e a região PaC apresentando um alargamento das dobras. Legenda: porção Reta (PR); porção convoluta (PC), com a zona proximal intermediária (IPZ), a parte pré convoluta (PPC) e a parte convoluta (PaC)..... 24
- Figura 3:** A: Porção reta, corte transversal de *P. burmeisteri*, corado com HE. B: Porção reta, corte transversal de *S. fuscovarius*, corado com TG. C: IPZ de *B. albomarginata*, corte transversal, corado com HE. D: PPC de *R. rubencens*, corte transversal, corado com HE. E: IPZ de *D. rubicundulus*, corte transversal, corado com HE. F: Ovissaco de *O. longilínea*, corte transversal, corado com HE. Legenda: cc (células caliciformes); ci (cílios); GL (glândulas); L (lúmen); PJ (projeções epiteliais); S (serosa); Se (secreção); Oócito (OC). Barra de escala: A, B, C e F= 20 µm; E= 50 µm; D= 100 µm. 25
- Figura 4:** A: Ovissaco de *I. langsdorffii*, corte transversal, corado com HE. B: Ovissaco de *P. burmeisteri* corte transversal, corado com HE. C: PR de *S. fuscovarius*, corte transversal, PAS+. D: PPC de *I. izecksonhi*, corte transversal, PAS+. E: PaC de *L. latrans*, corte transversal, ABr+. F: Oócitos no ovissaco de *D. rubicundulus*, corte transversal, PAS+. Legenda: cc (células caliciformes); GL (glândulas); GLs (glândulas); J (envoltório); L (lúmen); PJ (projeções epiteliais); S (serosa), Se (secreção); Oócito (OC). Barra de escala: A, C e E= 20 µm; B, D e F= 50 µm. 30

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Medidas anatômicas dos ovidutos e suas regiões e porções nos diferentes modos reprodutivos (média \pm desvio padrão, amplitude). Medidas em mm. Legenda: C. O (comprimento do ovissaco); C. PC (comprimento da porção convoluta); C. PR (comprimento da porção reta); CRC (comprimento rostro-cloacal); L. O (largura do ovissaco); L. PaC (largura da região da parte convoluta); L. PPC (largura da região da parte pré convoluta); L. PR (largura da porção reta); MR (modo reprodutivo); N (número de fêmeas); OT (comprimento total do oviduto); + fêmeas com oócitos no ovissaco. Cor cinza = MR relacionados a ambiente aquático. 21
- Tabela 2:** Resultados dos testes de correlação entre o comprimento rostro-cloacal, comprimento do oviduto e suas porções. Legenda: CRC (comprimento rostro-cloacal); MR (modo reprodutivo); O (comprimento do ovissaco); OT (Comprimento do oviduto total); PC (comprimento da porção convoluta); PR (comprimento da porção reta); * resultados significativos. Cor cinza = espécies com os MR relacionados a ambiente aquático. 23
- Tabela 3:** Altura e largura (média, erro padrão e amplitude) das projeções epiteliais da porção reta, nos diferentes modos reprodutivos. +Legenda: MR (modo reprodutivo). Cor cinza = espécies com os MR relacionados a ambiente aquático, cor branca= espécies com os MR relacionados a ambiente terrestre. 26
- Tabela 4:** Medidas (média, erro padrão e amplitude) de altura do epitélio glandular, altura e largura das projeções epiteliais das regiões da porção convoluta. Medidas em μm . Legenda: MR (modo reprodutivo); parte convoluta (PaC); parte pré convoluta (PPC); zona proximal intermediária (IPZ). Cor cinza = MR relacionados a ambiente aquático. 27

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1:** Características morfológicas do epitélio do ovissaco das espécies de anuros estudadas. Legenda: Célula Caliciforme (CC), Modo reprodutivo (MR). 31
- Quadro 2:** Reações histoquímicas das porções do oviduto analisadas. Legenda: Ácido Periódico–Schiff (PAS); Alcian Blue (AB) pH 2.5; azul de Bromofenol (ABr); células caliciformes (CC); MR (modo reprodutivo); parte convoluta (PaC); parte pré convoluta (PPC); PC (porção convoluta); zona proximal intermediária (IPZ). 33

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Quadro do estágio reprodutivo e período do ciclo reprodutivo das fêmeas analisadas no estudo.....	45
Anexo 2: Diagramas de dispersão do comprimento rostro-cloacal, comprimento oviduto total e comprimento do oviduto total e suas porções	47
Anexo 3: Medidas de comprimento do epitélio glandular, altura e largura das projeções epiteliais nos diferentes períodos do ciclo reprodutivo. (média, erro padrão e amplitude). medidas em μm	51

LISTA DE ABREVIATURAS

aff. – afin;

e.g. – exemplo;

μm – micrômetro;

mm- milímetro.

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	14
Introdução	15
Materiais e métodos	17
Obtenção de exemplares e processamento dos espécimes	17
Histologia e histoquímica	18
Análises morfológicas, histológicas e histoquímicas	19
Análise das características dos ovidutos com os modos reprodutivos	19
Resultados	20
Morfologia geral dos ovidutos	20
Histologia geral do oviduto	24
Porção Reta (PR).....	24
Porção convoluta (PC)	26
Ovissaco (O)	29
Secreções dos ovidutos	32
Envoltórios do oócito no ovissaco	35
Discussão	35
Referências bibliográficas	41
ANEXO 1	45
ANEXO 2	47
ANEXO 3	51

RESUMO

Estudos que avaliam as secreções dos ovidutos nos diferentes modos reprodutivos (MR) são incipientes para anuros, principalmente da região Neotropical. Apesar disto, eles são essenciais para uma melhor compreensão sobre a biologia reprodutiva das espécies. Deste modo, analisamos fêmeas em estágio avançado de maturação gonadal em 27 espécies, que apresentam nove modos reprodutivos distintos. Nossos objetivos foram verificar e descrever características morfológicas dos ovidutos, indicando variações relacionadas aos modos reprodutivos, e determinar a natureza da secreção dos ovidutos, associando-as a possíveis funções. Atividades de campo foram realizadas no período chuvoso para coleta das fêmeas reprodutoras (ou maduras) e, posteriormente, análises morfológicas foram conduzidas para obtenção de dados macroscópicos, histomorfométricos e histoquímicos referentes às cinco regiões do oviduto. No total 57 fêmeas foram analisadas, pertencentes a 27 espécies, sendo que 22 possuem modos reprodutivos com desova em ambiente aquático (MR 1,2,4,5 e 11) e cinco com maior terrestrialidade (MR 19,23,24 e 30). Nas correlações realizadas entre o comprimento rostro-cloacal, comprimento do oviduto total e das suas porções, foi possível verificar correlações positivas e significativas apenas para os modos reprodutivos relacionados ao ambiente aquático. Na porção reta, verificamos nas espécies que apresentam o modo reprodutivo relacionados à terrestrialidade, uma menor altura das projeções epiteliais e um aumento da altura da serosa e septos. A menor altura das projeções e a maior altura da serosa e septos estão possivelmente relacionados com o maior diâmetro dos ovos e menor fecundidade dessas espécies (MR 19 e 24). Encontramos um alargamento da região caudal da parte convoluta (PaC) nas espécies com nidificação de espuma (MR 11 e 30). Essa região apresenta o epitélio glandular com maior altura e possuía secreções que correspondem aos produtos que vão originar a espuma que envolve os ovos. Nas análises histoquímicas do ovidutos, as regiões produzem e secretam diferentes produtos. Nas espécies com os modos reprodutivos relacionadas à maior terrestrialidade, essas secreções são importantes na proteção contra possíveis patógenos, predadores e dessecação e naquelas com desova em ambiente aquático, elas auxiliariam na fixação dos ovos entre si, ou nos substratos e, até mesmo, flutuação das desovas. Nos ovissacos, as espécies dos MR 1 e 2 (água parada e corrente, respectivamente), podem apresentar as mesmas características de organização e composição dos produtos que envolvem os oócitos. Os oócitos das espécies dos MR 1 e MR 2, apresentaram maior número de envoltórios e maior altura desses envoltórios do que espécies do MR 4, podendo ter relação direta ao local de desova.

Palavras chaves: anfíbios, neotropicais, histomorfologia, fêmeas, oócitos

ABSTRACT

Studies evaluating the secretions of oviducts in different reproductive modes (MR) are incipient for anurans, especially in the Neotropical region. Despite this, they are essential for a better understanding of the reproductive biology of species. Thus, we analyzed females at an advanced stage of gonadal maturation in 27 species, which present nine distinct reproductive modes. Our objectives were to verify and describe morphological characteristics of the oviducts, indicating variations related to the reproductive modes, and to determine the nature of oviduct secretion, associating them with possible functions. Field activities were carried out in the rainy season to collect the breeding (or mature) females and, later, morphological analyzes were conducted to obtain macroscopic, histomorphometric and histochemical data regarding the five regions of the oviduct. In total, 57 females were analyzed, belonging to 27 species, 22 of which had reproductive modes with spawning (MR 1,2,4,5 and 11) and five with greater terrestriality (MR 19,23,24 and 30). In the correlations between body length, total oviduct length and their portions, it was possible to verify positive and significant correlations only for the reproductive modes related to the aquatic environment. In the straight portion, we observed in the species that present the reproductive mode related to terrestrial, a smaller height of the epithelial projections and an increase of the height of the serosa and septa. The lower height of the projections and the higher height of the serosa and septa are possibly related to the larger diameter of the eggs and lower fecundity of these species (MR 19 and 24). We found an enlargement of the caudal region of the convoluted part (PaC) in the foamed nesting species (MR 11 and 30). This region presents the glandular epithelium with greater height and had secretions that correspond to the products that will originate the foam that surrounds the eggs. In the histochemical analyzes of oviducts, we observed that the regions produce and secrete different products. In species with reproductive modes related to greater terrestriality, these secretions are important in the protection against possible pathogens, predators and desiccation and in those with spawning in the aquatic environment, they would assist in the fixing of the eggs to each other, or in the substrates and, even, flotation of the spawning. In ovissacos, we observed that species of MR 1 and 2 (standing water and current, respectively), may present the same characteristics of organization and composition of products that involve the oocytes. The oocytes of the MR 1 and MR 2 species had a higher number of wraps and higher height of these wraps than the MR 4 species, being able to have a direct relation to the spawning site.

Keywords: amphibians, neotropical, histomorphology, females, oocytes