

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

IGOR CARRIJO FERNANDES DE ARAÚJO

**Caracterização morfológica dos espermatozoides de jabuti-piranga *Chelonoidis carbonaria* Spix, 1824**

UBERLÂNDIA

2022

IGOR CARRIJO FERNANDES DE ARAÚJO

**Caracterização morfológica dos espermatozoides de jabuti-piranga *Chelonoidis carbonaria* Spix, 1824**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito obrigatório para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos

UBERLÂNDIA

2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A663<br>2022 | <p>Araújo, Igor Carrijo Fernandes de, 1996-<br/>Caracterização morfológica dos espermatozoides de<br/>jabuti-piranga <i>Chelonoidis carbonaria</i> Spix, 1824<br/>[recurso eletrônico] / Igor Carrijo Fernandes de Araújo.<br/>- 2022.</p> <p>Orientador: André Luiz Quagliatto Santos.<br/>Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de<br/>Uberlândia, Pós-graduação em Ciências Veterinárias.<br/>Modo de acesso: Internet.<br/>Disponível em: <a href="http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.659">http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.659</a><br/>Inclui bibliografia.<br/>Inclui ilustrações.</p> <p>1. Veterinária. I. Santos, André Luiz Quagliatto ,<br/>1961-, (Orient.). II. Universidade Federal de<br/>Uberlândia. Pós-graduação em Ciências Veterinárias. III.<br/>Título.</p> <p>CDU: 619</p> |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

IGOR CARRIJO FERNANDES DE ARAÚJO

**Caracterização morfológica dos espermatozoides de jabuti-piranga *Chelonoidis carbonaria* Spix, 1824**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito obrigatório para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Uberlândia, 19 de dezembro de 2022

Banca Examinadora:

---

Profº Dr. André Luiz Quagliatto Santos – FAMEV - UFU

---

Profº Drª. Teresinha Inês de Assumpção – FAMEV - UFU

---

Profº Drª. Lília Queiroz Luz Hirano – Universidade de Brasília

---

Profº Dr. José Octavio Jacomini – FAMEV - UFU

UBERLÂNDIA

2022

*“Dedico à minha mãe,  
Luzia Aparecida Fernandes,  
ao meu irmão, Fabrício Carrijo Fernandes de Ávila,  
à minha tia, Rosa Maria Fernandes e  
à todas as pessoas que  
ocupam um espaço especial em meu coração.”*

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe primeiramente, que sem ela, com certeza eu nunca teria chegado tão longe. Obrigado por ser essa mulher guerreira, forte e por todos os puxões de orelha que recebi desde pequeno. Obrigado por ser esse porto seguro que me traz conforto e me guia pelo caminho do bem. Obrigado por ter dado o seu melhor para que eu pudesse chegar aqui. É completamente impossível colocar em palavras o quanto eu sou grato por tudo.

Ao meu irmão Fabrício que com certeza, mesmo não podendo se expressar, sempre esteve ao meu lado e foi um dos motivos que me mantiveram forte e persistente neste caminho. Eu te sinto com o coração, irmão.

À minha tia Rosa, que é minha segunda mãe, e sempre me ofereceu colo mesmo com seu jeito atrapalhado de se expressar. Saiba que serei eternamente grato por sempre ter segurado as pontas e ter feito o possível pra me dar forças e amparo na busca dos meus sonhos.

Aos meus amigos e familiares, que puderam me confortar e socorrer nos diversos momentos ao longo destes anos.

Aos professores que tive ao longo de minha vida e que possuem grande parcela na formação da pessoa que me tornei hoje.

À Universidade Federal de Uberlândia e a Faculdade de Medicina Veterinária pelo apoio oferecido desde o meu ingresso.

*“A felicidade só é verdadeira quando  
compartilhada.”*

(Henry Thoreau)

## RESUMO

Os testudines são répteis que apresentam boa capacidade de viver longos anos em cativeiro, sendo que as espécies do gênero *Chelonoidis* ocorrem em toda América do Sul. O jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria* Spix, 1824) é considerado o quelônio mais criado em cativeiro no Brasil, porém pouco se conhece sobre sua reprodução e as pesquisas são escassas sobre as características de suas células espermáticas. O objetivo deste estudo foi avaliar a morfologia dos espermatozoides e suas alterações em jabuti-piranga. Foram utilizadas amostras de sêmen de nove animais colhidas anteriormente em outras pesquisas e que se encontravam no Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal de Uberlândia. Foi analisada a conformação do espermatozoide por fotomicrografias que foram obtidas em um microscópio Leica DM500 e a análise das imagens capturadas foi realizada no *software* “open source” Image J, para obter informações relativas às dimensões de comprimento total, de cabeça, peça intermediária e cauda dos espermatozoides. A morfologia espermática foi avaliada pelo método de preparação em câmara úmida sob microscopia óptica de contraste de fase verificando os defeitos apresentados pelos espermatozoides. Também foram feitos esfregaços do sêmen corados pelo vermelho congo. Os dados foram apresentados de forma descritiva. As dimensões médias de comprimento encontradas para os espermatozoides foram: cabeça  $15,91 \pm 0,89 \mu\text{m}$ ; peça intermediária,  $4,64 \pm 0,32 \mu\text{m}$ ; e cauda  $47,56 \pm 1,61 \mu\text{m}$ ; sendo que o comprimento total encontrado foi de  $68,12 \pm 1,74 \mu\text{m}$ . As anormalidades de maior ocorrência encontradas foram defeitos de peça intermediária, contorno anormal de cabeça, cauda dobrada, cabeça isolada normal e cauda enrolada. Ainda são necessários mais estudos sobre estes répteis a fim de definir seus parâmetros reprodutivos.

**Palavras-chave:** reprodução; sêmen; répteis; testudines.

## ABSTRACT

Chelonians are reptiles that has a good capacity to live for long years in captivity, this specie belongs to genus Chelonidis and occur throughout South America. Jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria* Spix, 1824) is considered the most bred chelonian in captivity, but little is known about its reproduction and research is scarce about the characteristics of its sperm cells. The aim of this study was to evaluate sperm morphology and its alterations in jabuti-piranga. Semen samples from nine animals previously collected in other studies and which were located at the Animal Reproduction Laboratory of the Federal University of Uberlândia were used. The sperm conformation was analyzed by photomicrographs that were obtained in a Leica DM500 microscope and the analysis of the captured images was performed in the “open source” software Image J, to obtain information regarding the dimensions of total length, head, middle piece and tail of sperm. Sperm morphology was evaluated by wet-mount preparation (one drop of semen in a glass slide covered by a coverslip) by phase-contrast microscopy, verifying the defects presented by the spermatozoa. Semen was also stained with Red Congo in a glass slide. Data were presented descriptively. The average dimensions in length found for the spermatozoa were: head  $15.91 \pm 0.89 \mu\text{m}$ ; middle piece,  $4.64 \pm 0.32 \mu\text{m}$ ; and tail  $47.56 \pm 1.61 \mu\text{m}$ ; and the total length found was  $68.12 \pm 1.74 \mu\text{m}$ . The most frequent abnormalities found were midpiece defects, abnormal head shapes, bent tail, normal isolated head and folded tail. More studies are still needed on these reptiles in order to define their reproductive parameters.

**Keywords:** reproduction; sperm; reptiles; testudines.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|            |                                                                   |    |
|------------|-------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - | Diferentes espermatozoides entre as espécies.....                 | 15 |
| Figura 2 - | Característica de espermatozoide de répteis .....                 | 16 |
| Figura 3 - | Espermatozoide de lagarto e serpente.....                         | 17 |
| Figura 4 - | Espermatozoide de ave.....                                        | 17 |
| Figura 5 - | Espermatozoide normal de jabuti-piranga.....                      | 21 |
| Figura 6 - | Alterações morfológicas em espermatozoides de jabuti-piranga..... | 23 |

## SUMÁRIO

|   |                                             |    |
|---|---------------------------------------------|----|
| 1 | INTRODUÇÃO .....                            | 12 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....                 | 14 |
|   | 2.1 Testudines.....                         | 14 |
|   | 2.2 Espermatozoides .....                   | 15 |
|   | 2.3 Morfologia espermática nos répteis..... | 16 |
|   | 2.4 Anormalidades espermáticas .....        | 18 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS .....                    | 19 |
|   | 3.1 Local de execução .....                 | 19 |
|   | 3.2 Material utilizado .....                | 19 |
|   | 3.3 Análise das amostras.....               | 19 |
|   | 3.4 Análise das imagens.....                | 19 |
|   | 3.5 Análise dos dados .....                 | 20 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                 | 21 |
| 5 | CONCLUSÃO.....                              | 24 |
|   | REFERÊNCIAS.....                            | 25 |

## 1 INTRODUÇÃO

Os jabutis são testudines de hábitos terrestres, pertencentes à classe Reptilia e à família Testudinidae. No geral, os répteis ocorrem em zonas tropicais e subtropicais, sendo dificilmente encontrados próximos aos polos (BAROUDI, 1970). Em território nacional, existem duas espécies de jabutis, o jabuti-tinga (*Chelonoidis denticulata* Linnaeus, 1766) e o jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria* Spix, 1824), sendo este o quelônio mais encontrado em cativeiro devido ao fato de que o Brasil é responsável por um vasto comércio ilegal de animais silvestres, além de outros aspectos culturais existentes no país (PINHEIRO e MATIAS, 2004).

Apesar do jabuti-piranga não estar presente na lista de animais com risco de extinção, sua conservação e das tartarugas marinhas é um assunto internacional e pertinente, pois estas espécies possuem crescimento lento, fator este que as predispõem a riscos (BURKE et al., 1993; GIBBONS, 1994). Portanto, estudos relacionado a aspectos básicos da biologia desses animais são fundamentais para construção de ferramentas e estratégias que ajudem na manutenção e restabelecimento de populações existentes e ameaçadas (POUGH et al., 1999).

A reprodução em cativeiro de jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) pode resultar em anormalidades reprodutivas, morfológicas e comportamentais, principalmente quando a criação desses animais ocorre em um ambiente diferente de seu habitat natural. Essa condição, por exemplo, pode levar à masculinização das fêmeas como consequência de alterações nas temperaturas ambientais durante a fase do desenvolvimento embrionário ou pelo desbalanceamento endócrino causado pela temperatura média baixa durante a fase pós-natal (GUIX et al., 2001).

A maturidade sexual dos jabutis é atingida entre 5 a 7 anos de vida e seu período reprodutivo é diretamente relacionado às estações do ano, com tendências a ter início em outubro e seu auge em janeiro (FRANCISCO, 1997). O ciclo reprodutivo de répteis é diretamente influenciado por fatores ambientais como a temperatura e o fotoperíodo, considerados fatores cruciais (GANS e CREWS, 1992).

Em relação à anatomia do sistema reprodutor dos jabutis-piranga, os machos apresentam um falo de cor escura, longo, macio e expansível que quando ereto, tem sua parte muscular exposta para fora da cloaca, com uma prega seminal que tem como função realizar o transporte do sêmen. Possuem os testículos internos e localizados anteriormente aos rins (BOYER e BOYER, 1999).

A análise do sêmen que consiste em avaliar os aspectos físicos (volume, motilidade, cor, vigor e concentração) e características morfológicas do espermatozoide e suas anormalidades é uma ferramenta de extrema importância no que se diz respeito ao conhecimento reprodutivo dos machos de qualquer espécie animal. Por desenvolver um papel fundamental na fecundação sabe-se que as anormalidades em espermatozoides estão diretamente correlacionadas com a infertilidade na maioria das espécies (CBRA, 2013).

Nos répteis, alguns estudos sobre a análise de sêmen já foram relatados para algumas espécies dentre elas: crocodilos (ROMERO-SOLÓRZANO et al., 2010; JOHNSTON et al., 2014), iguanas (HEALY; JAMIESON, 1994; ZIMMERMAN et al., 2013), jacarés (ASSUMPÇÃO et al., 2017), tartarugas (TANASANTI et al., 2007), lagartos (TEIXEIRA et al., 2002) e serpentes (INNOCENTI et al., 2006; TOURMENTE et al., 2007; ZACARIOTTI e GUIMARÃES, 2010).

Assim, pouco se conhece sobre sua reprodução e análise de sêmen em jabutis e as pesquisas são escassas sobre as características de suas células espermáticas. Diante disto, o objetivo deste estudo foi avaliar a morfologia dos espermatozoides de jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria* Spix, 1824) e suas alterações.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Testudines

Aproximadamente 355 espécies de quelônios foram relatadas como pertencentes filogeneticamente à ordem Testudines (VAN DIJK et al., 2014). Quando se analisa os dados em relação à extinção ou ameaçados de extinção, mais da metade das espécies de quelônios se encontram nesta situação. A tartaruga-marinha-pequena (*Lepidochelys kempii*) é um exemplo de espécie que se encontra em perigo crítico de extinção (IUCN, 2019).

As ameaças comumente relatadas para os quelônios, são o comércio ilegal para mantê-los como animais de estimação e para venda de cascos, captura accidental, caça furtiva para questões medicinais e destruição de seus habitats (IUCN, 2019).

No Brasil, a ocorrência de quelônios é basicamente limitada à duas espécies, sendo o jabuti-tinga (*Chelonoidis denticulata*) e o jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*). O jabuti-piranga é considerado o quelônio mais encontrado em cativeiro em nosso país, principalmente pelo amplo comércio ilegal de animais silvestres e por fatores culturais (PINHEIRO e MATIAS, 2004). Assim, com ampla distribuição geográfica, vivendo em diversos tipos de ambientes, são comumente encontrados em áreas de cerrado e matas, nas regiões do Nordeste, Sudeste e Sul do país (IBAMA, 2022).

As duas espécies de quelônios se assemelham fisicamente quando é levado em consideração suas características físicas e anatômicas, tendo o corpo coberto em sua maior parte por um casco alto, e um plastrão na parte inferior de onde surgem a cabeça, membros e cauda. Além disso, o jabuti-piranga é conhecido também como “jabuti-vermelho” por conter manchas vermelhas em sua cabeça, patas e cauda. Estes animais possuem dimorfismo sexual externo quando atingem a maturidade sexual, assim, é possível diferenciar o macho da fêmea por sua anatomia, sendo que as fêmeas apresentam plastrão reto com cauda curta, e os machos um plastrão côncavo e cauda alongada (PRITCHARD, 1979; POUGH, 1997; FARIA, 2000).

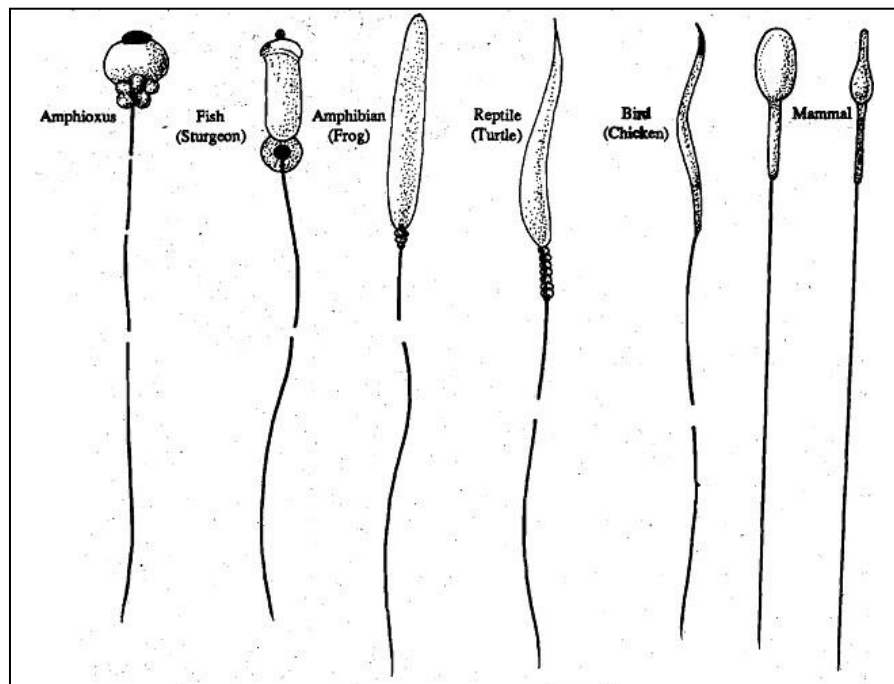
Os quelônios são animais onívoros e sua dieta consiste basicamente na ingestão de frutas, folhas e cogumelos. Em relação ao tamanho desses animais, a fêmea de jabuti-piranga é menor que o macho, medindo cerca de 28,9 cm e o macho 30,4 cm em média. O peso desses animais varia entre 6 a 12 kg, atingem a maturidade sexual entre os 5 e 7 anos de vida, podendo viver até 80 anos em média (FRANCISCO, 1997). Possuem período reprodutivo

sazonal em dependência das estações do ano, normalmente se iniciando em outubro, com alta incidência em janeiro, variando conforme o ambiente e região em que se encontram (FRANCISCO, 1997). A temperatura e o fotoperíodo são relatados como fatores de extrema influência no ciclo reprodutivo de répteis em geral, ou seja, são animais dependentes de condições ambientais adequadas para reproduzirem normalmente (GANS e CREWS, 1992).

## 2.2 Espermatozoides

No reino animal a informação hereditária é carregada e conservada dentro do núcleo na cabeça do espermatozoide. Sabe-se que a célula espermática no geral é basicamente dividida em três partes: cabeça, peça intermediária e cauda (TEMPLE-SMITH et al., 2018). A forma com que as estruturas se apresentam é variável de acordo com as espécies (figura 1).

Figura 1 – Diferentes formas dos espermatozoides nas espécies.



Fonte: <http://www.expertsmind.com/questions/structure-of-the-sperm-30129966.aspx>.

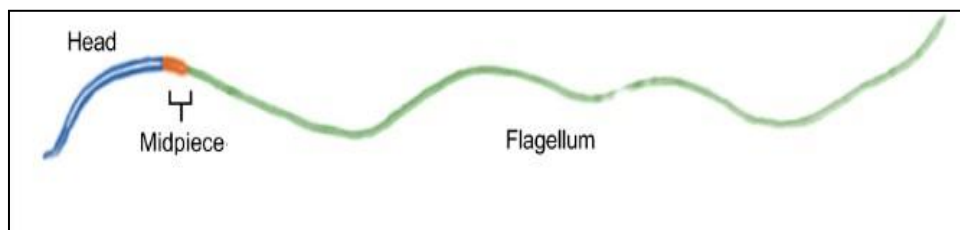
Cada parte de um espermatozoide tem uma finalidade no processo de fertilização. A cauda é responsável por realizar os movimentos natatórios, produzindo a motilidade

necessária para que o mesmo consiga atravessar o trato reprodutivo feminino e alcance o óvulo para o processo de fecundação. A peça intermediária é composta basicamente de mitocôndrias, organelas celulares responsáveis por fornecer energia em forma de adenosina trifosfato para a movimentação. A cabeça aloja o núcleo com o material genético e seu acrossoma com as enzimas necessárias para que o espermatozoide penetre no óvulo (TEMPLE-SMITH et al., 2018).

### 2.3 Morfologia espermática nos répteis

Os répteis são vertebrados ectotérmicos que possuem uma variação magnífica em sua forma física e comportamental. A célula espermática desses animais é caracterizada como filiforme e curvada, possuindo a mesma divisão de cabeça, peça intermediária e cauda, com diferentes comprimentos em tamanho dentre as ordens dessa classe (figura 2). Possuem uma característica particular em que a motilidade espermática se apresenta maior em temperaturas mais baixas (TEMPLE-SMITH et al., 2018).

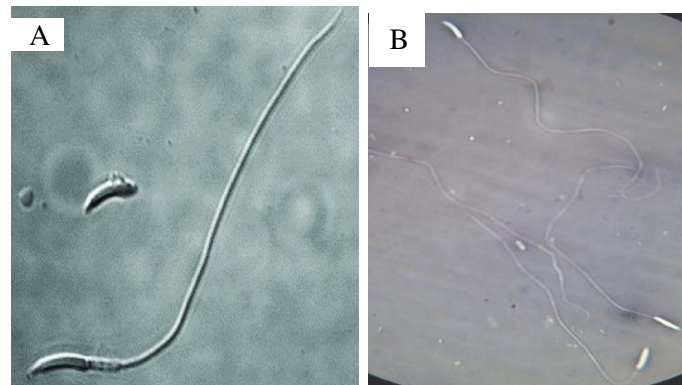
Figura 2 – Característica do espermatozoide nos répteis.



Fonte: Kustra et al. (2019).

Estudos mostram que a morfologia espermática básica de crocodilianos são semelhantes a de quelônios, diferindo apenas em algumas características em sua ultraestrutura como, por exemplo, o arranjo de mitocôndrias da peça intermediária. Lagartos e serpentes também aparentam ter características semelhantes em sua morfologia espermática (figura 3) (TEMPLE-SMITH et al., 2018).

Figura 3 – Característica dos espermatozoides nos lagartos (A) (*Varanus panoptes*) e serpentes (B) (*Crotalus spp*).



Fonte: Campbell et al. (2020) e Mascorro et al. (2019).

Os répteis e as aves são pertencentes a um grupo de organismos e têm o mesmo ancestral em comum (Sauropsida). A morfologia da célula espermática de ambas as classes também se assemelham, principalmente em relação à cabeça do espermatozoide, que se apresenta em conformação filiforme (figura 4) (GRIBBINS, 2011; SANTIAGO-MORENO et al., 2016; FITRI et al., 2020).

Apesar da semelhança morfológica, o comprimento dos espermatozoides varia muito entre estas classes e espécies. A cauda do espermatozoide de codorna doméstica possui em média 208  $\mu\text{m}$  e do galo doméstico aproximadamente 82  $\mu\text{m}$  (VERNON e WOOLLEY, 1999). Já os répteis têm tamanho menor, sendo que Kimsakulvech e Suttiyotin (2020) registraram o comprimento da cauda do espermatozoide de tartaruga-do-pântano-preto com média de 48,53  $\mu\text{m}$ . Já em jacaré-tinga (*Caiman crocodilus*), Assumpção et al. (2017) relataram a cauda do espermatozoide destes animais com  $58,49 \pm 0,29 \mu\text{m}$  em média.

Figura 4 – Morfologia do espermatozoide de ema-australiana (*Dromaius novaehollandiae*).



Fonte: Plessis e Soley (2014).

## 2.4 Anormalidades espermáticas

As alterações na morfologia espermática estão correlacionadas diretamente com a fertilidade (CASAGRANDE et al., 1979; RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2005). Lagerlöf (1936) relatou que se for encontrado a presença de 20% ou mais de espermatozoides anormais em uma amostra, junto da presença de células espermáticas imaturas, esses dados seriam sugestivos da ocorrência de distúrbios na espermatogênese. A classificação de alterações morfológicas em espermatozoides de mamíferos, peixes e aves está relatada pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013), porém, não há classificação para animais selvagens e répteis.

A classificação binária dos defeitos espermáticos em maiores e menores é utilizada com maior frequência, inclusive na interpretação de resultados de espermograma. Os defeitos maiores seriam aqueles que teriam maior impacto na fertilidade, normalmente associados com doenças testiculares ou epididimárias. Já os defeitos menores, teriam menor importância no quesito fertilidade (BLOM, 1972; SILVA et al., 1993).

Para fazer a avaliação da morfologia espermática, se analisa os defeitos de forma e estrutura, podendo classificá-los em defeitos de cabeça e cauda (peça intermediária e principal). Os defeitos maiores na cabeça são: acrossoma subdesenvolvido, cabeça isolada anormal, contorno anormal, estreita na base, piriforme, pequena anormal e pounce formation. Os defeitos maiores de peça intermediária são: gota citoplasmática proximal, pseudogota e peça intermediária rudimentar. Temos também na peça principal a cauda fortemente dobrada. As formas teratológicas também são classificadas como defeitos maiores. Já os defeitos menores são: cabeça delgada, gigante, pequena normal, cabeça isolada normal, defeitos de implantação, cauda dobrada, gota citoplasmática distal e cauda enrolada na porção final (BLOM, 1972; CBRA, 2013).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local de execução

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais. Esta pesquisa foi autorizada pela Comissão de Ética na Utilização de Animais, processo nº 23117.089609/2022-21.

#### 3.2 Material utilizado

Foram utilizadas amostras de sêmen de nove jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) provenientes de coletas de pesquisas anteriores e que estavam armazenadas no Laboratório de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária.

#### 3.3 Análise das amostras

A morfologia espermática foi avaliada pelo método de preparação em câmara úmida sob microscopia óptica de contraste de fase, sendo contadas 200 células, verificando os defeitos apresentados pelos espermatozoides em sua cabeça, peça intermediária e cauda. Também foram feitos esfregaços do sêmen coradas pelo Vermelho Congo.

Foram obtidas fotomicrografias dos espermatozoides em um microscópio Leica DM500 equipado com objetiva planocromática 100/1,25, condensadora pré-focalizada e pré-centralizada, iluminação LED, intensidade da iluminação mantida sempre ao máximo e o diafragma da condensadora rotacionado na posição 100x. As condições de iluminação foram mantidas constantes para todas as lâminas analisadas. As imagens avaliadas foram capturadas por uma câmera digital Leica ICC50 HD acoplada ao microscópio e software de captura Leica LAS EZ (Leica Microsystems, Suíça).

Como não há classificação oficial para répteis foi seguida a classificação do tipo de anormalidades descritas em mamíferos (CBRA, 2013).

#### 3.4 Análise das imagens

A análise das imagens capturadas foi realizada no *software* “open source” ImageJ, através do qual obteve-se informações relativas às dimensões de comprimento total, de cabeça, peça intermediária e cauda dos espermatozoides em micrometros ( $\mu\text{m}$ ).

O aplicativo foi calibrado com o uso da ferramenta “Set Scale” seguindo as instruções encontradas no próprio *software*. Sob as condições ópticas utilizadas, onde 1  $\mu\text{m}$  corresponde a 15,6 pixels.

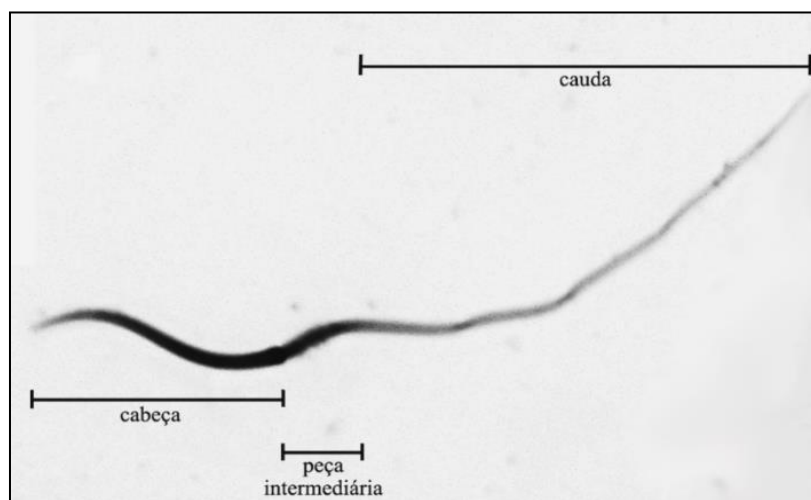
### **3.5 Análise dos dados**

A análise dos dados encontrados foi feita de forma descritiva e registrados de acordo com suas médias e desvios padrões.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As dimensões em comprimento encontradas para o espermatozoide de jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) foram, em média: cabeça =  $15,91 \pm 0,89 \mu\text{m}$ ; peça intermediária =  $4,64 \pm 0,32 \mu\text{m}$  e cauda =  $47,56 \pm 1,61 \mu\text{m}$ ; sendo que o comprimento médio total encontrado foi de  $68,12 \pm 1,74 \mu\text{m}$  (figura 5).

Figura 5 – Fotomicrografia de espermatozoide de jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*). Coloração Cerovsky. Aumento de 1000 x.



Fonte: O autor.

Os espermatozoides de jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) apresentaram um formato filiforme, com cabeça alongada e em forma de S. Características semelhantes a outros répteis como as serpentes (ZACARIOTTI e GUIMARÃES, 2010), as tartarugas (TANASANTI et al., 2007), os crocodilos (JAMIESON et al., 1997; GRIBBINS et al., 2011) e os jacarés (ASSUMPÇÃO et al., 2017).

Semelhante resultados deste estudo foram obtidos por Kimsakulvech e Suttiyotin (2020) que verificaram em tartaruga-do-pântano-preto (*Siebenrockiella crassicollis*) comprimento total, de cabeça, peça intermediária e cauda em espermatozoides de  $71,33 \pm 1,55 \mu\text{m}$ ,  $14,00 \pm 0,38 \mu\text{m}$ ,  $4,92 \pm 0,16 \mu\text{m}$  e  $48,53 \pm 0,25 \mu\text{m}$ , respectivamente. Adicionalmente resultados próximos aos desta pesquisa foram obtidos por Assumpção e colaboradores (2017) em espermatozoides de jacaré-tinga (*Caiman crocodilus*), sendo cabeça com  $20,09 \pm 0,85 \mu\text{m}$ ; peça intermediária com  $2,40 \pm 0,16 \mu\text{m}$  e cauda com  $58,49 \pm 0,29 \mu\text{m}$ ; e comprimento médiototal  $80,98 \pm 1,29 \mu\text{m}$ .

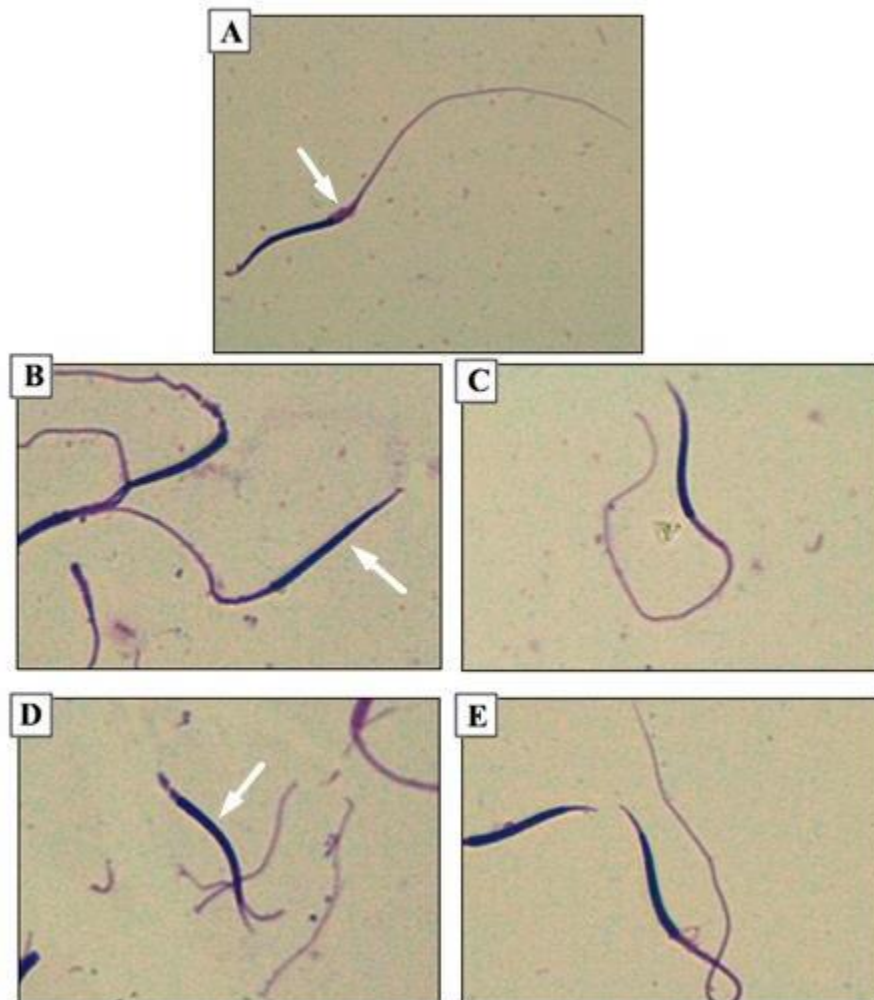
Fitri et al. (2020) verificaram dimensões menores das células espermáticas que as deste estudo em *Mauremys caspica* e *Chrysemys picta*, com tamanho total de 50 µm e 50–55 µm, respectivamente. Também Al-Dokhi et al. (2007) encontraram resultados diferentes principalmente no tamanho da cauda do espermatozoide em *Chelonoidis carbonaria* e *Mauremys caspica*.

Lagartos e crocodilos apresentam espermatozoides com comprimentos totais maiores que os quelônios deste estudo com 75,58 µm e  $97 \pm 2,3$  µm em média, respectivamente (TEIXEIRA et al., 2002; GRIBBINS et al., 2011). Também as iguanas possuem espermatozoides bem maiores, com tamanho aproximado em 146 µm (HEALY e JAMIENSON, 1994). As variações morfométricas dos espermatozoides entre as espécies têm correlação direta com o ambiente em que vivem e com o padrão de acasalamento das espécies (MORROW e GAGE, 2001).

Dentre as anormalidades espermáticas observamos principalmente cinco tipos delas, sendo que as de maior frequência na espécie foram: defeitos de peça intermediária, contorno anormal de cabeça, cauda dobrada, cabeça isolada normal e cauda enrolada (Figura 6).

Existe uma classificação das anormalidades em espermatozoides para animais domésticos, o que ainda não foi proposto para os répteis em geral (CBRA, 2013).

Figura 6 – Fotomicrografia das alterações morfológicas nos espermatozoides dos jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*). A) Defeito de peça intermediária (seta); B) Contorno anormal de cabeça (seta); C) Cauda dobrada; D) Cabeça isolada normal (seta); E) Cauda enrolada. Coloração Cerovsky. Aumento de 1000x.



Fonte: O autor.

Há poucos relatos na literatura sobre alterações morfológicas das células espermáticas em jabutis e outros répteis. Assumpção e colaboradores (2017) evidenciaram a ocorrência das mesmas alterações morfológicas em espermatozoides de *Caiman crocodilus*, que foram: cauda dobrada e enrolada, contorno anormal de cabeça, defeitos de peça intermediária e cabeça isolada normal. Já Sandmaier e colaboradores (2021) relataram a elevada presença de espermatozoides com cauda dobrada em crocodilos (*Crocodylus mindorensis*), o mesmo observado em iguana-verde (*Iguana iguana*) por Zimmerman e colaboradores (2013).

## **5 CONCLUSÃO**

A morfologia dos espermatozoides em jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) é semelhante a de outros répteis, com pouca diferença no formato da cabeça. O sêmen demonstrou boa qualidade morfológica, com poucos tipos de anormalidades celulares. Existem poucos relatos sobre a reprodução de jabutis e os parâmetros reprodutivos para a espécie ainda não foram definidos. Ainda são necessários mais estudos sobre esses répteis a fim de contribuir para a sua conservação e preservação.

## REFERÊNCIAS

- AL-DOKHI, A. O. *et al.* Ultrastructure of spermatozoa of the freshwater turtle *Mauremys caspica* (Chelonian, Reptilian). **Internacional Journal of Zoological Research**, 3:53-64, 2007. <https://doi.org/10.3923/ijzr.2007.53.64>
- ASSUMPÇÃO, T. I. *et al.* Assisted reproduction in alligators: physical and morphological characterization of spectacled caiman semen *Caiman crocodilus Linnaeus*, 1758. **International Journal of Current Science and Technology**, v. 5, p. 513-516, 2017.
- BAROUDI, R. **Elementos da zoologia**. 6. ed. São Paulo: Nobel, p. 125-152, 1970.
- BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermiogram. Proc. 7th **Symp. Int. Zootec**, Milan p. 125-139, 1972.
- BOYER, T. H.; BOYER, D. M. Turtles, tortoises and terrapins. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 61–78, 1999. <https://doi.org/10.1016/B0-72-169327-X/50011-0>
- BURKE, V. J. *et al.* Conservation of the turtles: the chelonian dilemma. In: Annual symposium on sea turtle biology and conservation, Jekyll Island: Department of Commerce. **National Oceanic and Atmospheric Administration**, 1993.
- CAMPBELL, L. *et al.* A model protocol for the cryopreservation and recovery of motile lizard sperm using the phosphodiesterase inhibitor caffeine. **Conservation Physiology**, v. 8, p. 1-9, 2020. <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa044>
- CASAGRANDE, J. F. *et al.* Patologia espermática agrupada Segundo Blom (1972) na avaliação de sêmen para congelação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, p.19-23, 1979.
- CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013) Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, p.103, 2013.
- FARIA, N. T. Irrigação dos órgãos celomáticos do jabuti (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824). In: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária-SBMV, 2000, Águas de Lindóia. **Resumos...**, p. 2, 2000.
- FITRI, W. *et al.* Spermatozoa morphometry and ultrastructure in estuarine crocodile (*Crocodylus porosus*). **Asian Pacific Journal of Reproduction**, p. 104-108, 2020. <https://doi.org/10.4103/2305-0500.281080>
- FRANCISCO, L. R. **Répteis do Brasil: manutenção em cativeiro**. São José dos Pinhais: Amaro, p. 208, 1997.
- GANS, C.; CREWS, D. (Ed.) **Hormones, brain and behavior: biology of the reptilia**, Chicago: University of Chicago Press. v. 18, p. 564, 1992.
- GIBBONS, J. W. Reproductive patterns of reptiles and amphibians: considerations for captive breeding and conservation. In: MURPHY, J. B.; ADLER, K.; COLLINS, J. T.

Captive management and conservation of amphibians and reptiles. **Society for the Study of Amphibians and Reptiles: Ithaca**, v. 2, p. 119-123, 1994.

GRIBBINS K. M., *et al.* Ultrastructure of the Spermatozoon of the American Alligator, *Alligator mississippiensis* (Reptilia: Alligatoridae). **Journal of Morphology**, p. 1281-1289, 2011. <https://doi.org/10.1002/jmor.10984>

GUIX, J. C. *et al.* Masculinization of captive females of *Chelonoidis carbonaria* (Testudinidae). **Revista Española de Herpetología**, p. 67-75, 2001.

HEALY, J. M.; JAMIESON, B. G. M. The Ultrastructure of Spermatogenesis and Epididymal Spermatozoa of the Tuatara *Sphenodon punctatus* (Sphenodontida, Amniota). **Philosophical Transactions of Royal Society of London**, p. 187-199, 1994. <https://doi.org/10.1098/rstb.1994.0060>

INNOCENTI, M. C., *et al.* Avaliação do espermograma, validação da coloração simples do acrossoma e da atividade mitocondrial (citocromo C oxidase) em espermatozoide normal de cascavel (*Crotalus durissus terrificus*). In: the proceedings of “10th Congresso da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens”. p. 166, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, IBAMA. **Brazilian action plan for the conservation of amazon freshwater turtles**, 2022. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>>. Acesso em: 14 mai. 2022.

IUCN (2019) **IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org>>. Acesso em: 15 set. 2022.

JAMIESON B. G. M., *et al.* The ultrastructure of spermatozoon of the Australian freshwater crocodile, *Crocodylus johnstoni kreft* (Crocodylidae, Reptilia). **Journal of submicroscopic cytology and pathology**, p. 265-274, 1997.

JOHNSTON S. D. *et al.* Semen collection and seminal characteristics of the Australian saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*). **Aquaculture**, p. 25-35, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.002>

KIMSAKULVECH, S.; SUTTIYOTIN, P. Ultrastructural characteristics of black marsh turtle spermatozoa obtained by electroejaculation. **Journal of Veterinary Medicine**, p. 1-6, 2020. <https://doi.org/10.1111/ahc.12592>

KUSTRA, M. C. *et al.* Sperm morphology and count vary with fine-scale changes in local density in a wild lizard population. **Oecologia**, p. 555-564, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00442-019-04511-z>

LAGERLÖF, N. Sterility in bulls. **Veterinary Record**, p. 1159-1173, 1936.

MASCORRO, G. F. *et al.* **Características del eyaculado y el espermatozoide de las serpientes**. In: RÍOS, E. A.; MASCORRO, G. F. El espermatozoide: una mirada desde México. Editorial, México, p. 119-135, 2019.

MORROW, E. H.; GAGE, M. J. G. Consistent significant variation between individual males

in spermatozoal morphometry. **Journal of Zoology**, p. 147-153, 2001.

<https://doi.org/10.1017/S0952836901000656>

PINHEIRO F. P.; MATIAS C. A. R. Fauna silvestre apreendida e resgatada no estado do Rio de Janeiro no ano de 2003. **Anais XXVIII Congresso da Sociedade de Zoológicos do Brasil**, Rio de Janeiro, RJ, Fundação RIOZOO, 2004.

PLESSIS, L.; SOLEY, J. T. A re-evaluation of sperm ultrastructure in the emu, *Dromaius novaehollandiae*. **Theriogenology**, p. 1073-1084, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.034>

POUGH, F. H. **Herpetology**. New Jersey: Prentice Hall, p. 75, 1997.

POUGH, F. H. *et al.* **A vida dos vertebrados**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, p. 356-384, 1999.

PRITCHARD, P. C. H. **Encyclopedia of turtles**. New Jersey: TFH Publications, p.326-330, 1979.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Methods for semen evaluation and their relationship to fertility. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia, GO. **Anais...** Belo Horizonte, MG: CBRA, 2005.

ROMERO-SOLÓRZANO L. *et al.* Extracción y análisis de las características macroscópicas y microscópicas del semen de cocodrilo del orinoco (*Crocodylus intermedius*). **Revista Memorias de la Conferencia Interna em Medicina y Aprovechamento de Fauna Silvestre, Exótica y no Convencional**, p.48-58, 2010.

SANDMAIER, S. E. S. *et al.* Characterisation of sperm production and morphology in the male Philippine crocodile *Crocodylus mindorensis* via voluntary behavioural training.

**Reproduction, Fertility and Development**, p. 410-416, 2021.

<https://doi.org/10.1071/RD21016>

SANTIAGO-MORENO, J. *et al.* Recent advances in bird sperm morphometric analysis and its role in male gamete characterization and reproduction technologies. **Asian Journal of Andrology**, p. 882-888, 2016. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.188660>

SILVA, A. E. D. F. *et al.* **Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e outros fatores que a influenciam**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, p. 51, 1993.

TANASANTI, M., *et al.* **Electroejaculation and semen evaluation in olive ridley turtle (*Lepidochelys olivacea*) and hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) in Thailand**. In the proceedings of “4th International Symposium on SEASTAR 200 and Asian Bio-logging Science” p.29-32, 2007.

TEIXEIRA, R. D. *et al.* A comparative ultra structural study of spermatozoa of the teiid lizards *Cnemidophorus gularis gularis*, *Cnemidophorus ocellifer*, and *Kentropyx altamazonica* (Reptilia, Squamata, Teiidae). **Tissue & Cell**, p. 135- 142, 2002.

[https://doi.org/10.1016/S0040-8166\(02\)00021-6](https://doi.org/10.1016/S0040-8166(02)00021-6)

TEMPLE-SMITH, P. D. *et al.* Sperm: Comparative Vertebrate. In SKINNER, M. K. (Ed.), **Encyclopedia of Reproduction**. vol. 6, p. 210–220. Academic Press: Elsevier, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20558-X>

TOURMENTE, M., *et al.* Sperm motility parameters to evaluate the seminal quality of *Boa constrictor occidentalis*, a threatened snake species. **Research in Veterinary Science**, 82:93-98, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.06.001>

VAN DIJK, P. P. *et al.* Turtles of the world: Annotated checklist of taxonomy, synonymy, distribution with maps, and conservation status. In: RHODIN, A. G. J.; PRITCHARD, P. C. H.; VAN DIJK, P. P.; SAUMURE, R. A.; BUHLMANN, K. A.; IVERSON, J. B.; MITTERMEIER, R. A. Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. **Chelonian Research Monographs** p. 329–479, 2014.  
<https://doi.org/10.3854/crm.5.000.checklist.v7.2014>

VERNON, G.; WOOLLEY, D. M. **Three-dimensional motion of avian spermatozoa**. Cell Motil. Cytosk., New York, p. 149-161, 1999. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0169\(1999\)42:2<149::AID-CM6>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0169(1999)42:2<149::AID-CM6>3.0.CO;2-0)

ZACARIOTTI, R. L.; GUIMARÃES, M. A. B. V. Aplicações da biotecnologia na reprodução de serpentes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, p. 98-104, 2010.

ZIMMERMAN, D. *et al.* Collection and characterization of semen from green iguanas (*Iguana iguana*). **American Journal of Veterinary Research**, p. 1536–1541, 2013.  
<https://doi.org/10.2460/ajvr.74.12.1536>



## ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

|                                    |                                                                                                           |                 |       |                       |       |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------|-----------------------|-------|
| Programa de Pós-Graduação em:      | CIÊNCIAS VETERINÁRIAS                                                                                     |                 |       |                       |       |
| Defesa de:                         | DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO PPGCVET Nº 13/2022                                                      |                 |       |                       |       |
| Data:                              | 19 DE DEZEMBRO DE 2022                                                                                    | Hora de início: | 09:00 | Hora de encerramento: | 11:30 |
| Matrícula do Discente:             | 12012MEV007                                                                                               |                 |       |                       |       |
| Nome do Discente:                  | IGOR CARRIJO FERNANDES DE ARAÚJO                                                                          |                 |       |                       |       |
| Título do Trabalho:                | Caracterização morfológica dos espermatozoides de jabuti-piranga <i>Chelonoidis carbonaria</i> Spix, 1824 |                 |       |                       |       |
| Área de concentração:              | SAÚDE ANIMAL                                                                                              |                 |       |                       |       |
| Linha de pesquisa:                 | CLÍNICA MÉDICA, CIRURGIA E MORFOLOGIA                                                                     |                 |       |                       |       |
| Projeto de Pesquisa de vinculação: | COMPONENTES ANATÔMICOS DOS SISTEMAS ORGÂNICOS DE ANIMAIS DOMÉSTICOS E SILVESTRES                          |                 |       |                       |       |

Reuniu-se no por videoconferência, na Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, assim composta: professores Teresinha Inês de Assumpção (FAMEV/UFU); Líria Queiroz Luz Hirano (FAV/UnB) e André Luiz Quagliatto Santos (FAMEV/UFU), orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr. André Luiz Quagliatto Santos, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de **Mestre**.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **André Luiz Quagliatto Santos, Usuário Externo**, em 21/12/2022, às 14:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **LÍRIA QUEIROZ LUZ HIRANO, Usuário Externo**, em 21/12/2022, às 14:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Teresinha Ines de Assumpção, Professor(a) do Magistério Superior**, em 21/12/2022, às 14:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4126756** e o código CRC **2DFF9431**.