



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

SABRINA KAYNE HONÓRIO DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO CELULAR DOS TESTÍCULOS DE *Leptodactylus macrosternum*
(ANURA: LEPTODACTYLIDAE)**

CUITÉ/PB

2016

SABRINA KAYNE HONÓRIO DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO CELULAR DOS TESTÍCULOS DE *Leptodactylus macrosternum*
(ANURA: LEPTODACTYLIDAE)**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande, como um dos requisitos para obtenção do Grau de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador: Professor: MSc. Márcio Frazão Chaves

CUITÉ/PB

2016



Biblioteca Setorial do CES.

Junho de 2021.

Cuité - PB

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

S586c Silva, Sabrina Kayne Honório da.

Caracterização celular dos testículos de *Leptodactylus macrosternum* (ANURA: LEPTODACTYLIDAE). / Sabrina Kayne Honório da Silva. – Cuité: CES, 2016.

30 fl.

Monografia (Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2016.

Orientador: Márcio Frazão Chaves.

1. Espermatogênese. 2. Anuros. 3. Organização celular. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 59

SABRINA KAYNE HONÓRIO DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO CELULAR DOS TESTÍCULOS DE *Leptodactylus macrosternum*
(ANURA: LEPTODACTYLIDAE)**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de
Campina Grande, como um dos requisitos para obtenção do Grau de Licenciatura em Ciências
Biológicas.

Aprovada em ___ / ___ / ___

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. MSc. Márcio Frazão Chaves (Orientador)

Prof^a Dr^a Michelle Gomes Santos


MSc Givanilson Brito Oliveira

Dedico meu trabalho de conclusão de curso a toda minha família e amigos, que sempre acreditaram que eu seria capaz e me incentivaram chegar até aqui. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Deus, refúgio e fortaleza, socorro presente em todas as horas de angústia, por ter me escolhido e sustentado. Por ter aliviado meu coração sempre que me via atordoada e sem saída, por todas as graças derramadas sobre minha vida, por todo o favor e pelo Seu amor incondicional para comigo, obrigada pela vida!

Agradeço aos meus pais por todo o incentivo, todo o amor, cuidado e atenção que sempre tiveram comigo. Por todo o esforço que fizeram para com que eu chegasse até aqui. Por não medirem esforços e serem tão presentes. Por nunca terem desistido de mim a acreditarem que eu sou capaz.

Agradeço aos meus amigos que se tornaram minha segunda família: Joseph Neves, Thatiany Maurício, Géssica Tavares, e Morgana Isadora por estarem do meu lado em todas as situações e me ajudarem com uma palavra, um abraço, um sorriso. Obrigada por sempre se fazerem tão presentes na alegria e na tristeza; na saúde e na doença e mesmo que a graduação nos separe. “Amigos são anjos que Deus nos apresenta” e estes se fazem presentes em minha vida, com toda certeza, para sempre.

Em muito especial, quero agradecer a Géssica Tavares por ter-me aguentado ao seu lado desde o primeiro dia na universidade, por não ter me deixado desistir nas inúmeras vezes que eu tentei.

Agradeço a Thatiany por ter me acompanhado em todas as fases e atribulações que passei no decorrer do desenvolvimento do meu trabalho. Foram tardes e noites que passamos no laboratório realizando os procedimentos que tínhamos que cumprir. E desde o começo até o final, permanecemos juntas. Em meio a tudo, sempre rolava aquela conversa sobre o que estávamos passando: desabafos, conselhos, choros, risadas. Obrigada pelas suas palavras de incentivo e coragem, por permanecer do meu lado como amiga e mãe às vezes, aparando meu choro. Momentos que jamais serão esquecidos independentes da distância em que um dia vamos enfrentar.

Obrigada as minhas companheiras de casa por suportarem meu estresse, mau humor, por me ajudarem e compreenderem os momentos que fui insuportável: Sheiny, Bianca, e especificamente a Rayssa Cristina por sua companhia e companheirismo durante essa reta final. Por toda sua ajuda nas madrugadas, por ter feito você me suportar, pelos dias que dividi com você minhas aflições. E, perdão por não ter te deixado dormir e assistir as suas séries. Sou eternamente grata a você por tudo.

Agradeço ao meu amigo Giva por toda a paciência que teve comigo, auxílio e tempo dedicado a me ajudar a concluir esse trabalho. Por todas as palavras de conforto, auxílio e força, foi uma ajuda mais que fundamental.

A academia de guerreiros da qual faço parte e pude ter o privilégio de treinar durante os quatro anos que aqui passei Real Fight BJJ, o meu muitíssimo obrigado por todos os treinos na companhia de vocês, pelos campeonatos que pude participar e pelas conversas jogadas fora no tatame (sem dúvidas, as melhores). Obrigada de todo o coração ao mestre Ítalo, que sempre me ouviu, aconselhou e nunca permitiu com que eu me distanciasse da academia, embora nos últimos dias a falta de tempo, tenha se tornado um obstáculo no caminho. Prometo voltar a treinar e levar onde for o nome da academia. No mais, obrigada a todos que fazem parte e me perdoem não citar todos os nomes, sintam-se todos homenageados.

Obrigada por toda compreensão dos meus amigos e supervisora do projeto Pibid.

Agradeço também ao meu orientador e amigo Marcio Frazão Chaves pelo incentivo e ajuda na construção do trabalho. Por ter aberto as portas do seu laboratório para mim e ter acreditado nos meus esforços.

Por fim, agradeço a todos que me ajudaram de forma direta e indiretamente na minha caminhada e aos que permaneceram em minha vida até aqui, Analina, Maria Alana, Guerra Junior, Neilton.

*"Não te mandei eu? Sê forte e corajoso; não temas,
nem te espantes, porque o Senhor, teu Deus,
é contigo por onde quer que andares". Josué 1:9*

RESUMO

O estudo sobre a atividade reprodutiva das espécies é de fundamental importância para entender os processos pelos quais os organismos passam e se adaptam. O presente trabalho buscou por meio de levantamento bibliográfico, comparar e analisar as semelhanças ou diferenças dentre outros representantes de anuros anfíbios, com ênfase na relação histológica testicular durante o processo de espermatogênese. Por meio da identificação e descrição histológica das diferentes células encontradas nos testículos de *Leptodactylus macrosternum*. Foram coletados 41 exemplares da espécie, na Fazenda do Cajueiro, município de Catolé do Rocha/PB, durante o período de outubro de 2013 a junho de 2014, através de intensivas buscas auditivo-visuais nas áreas amostradas. Em seguida, os espécimes foram levados para o Laboratório de Biossistemática de Anfíbios (LABAN) – UFCG/CES onde os espécimes foram eutanasiados, fotografados e identificados, e posteriormente, removidos as gônadas e realizado cortes histológicos para montagem das lâminas. As células de linhagem germinativa mostraram-se organizadas em cistos, dentro do epitélio seminífero, com a presença de todas as células organizadas em diferentes estágios de diferenciação, caracterizando em uma espermatogênese cística, característica comum em todos os anfíbios. *L. macrosternum*, assim como as demais espécies analisadas neste estudo, apresentou características histológicas testiculares idênticas. Entre os aspectos estudados, a única diferença relevante foi observada na coloração das gônadas.

Palavras-chave: Espermatogênese. Anuros. Organização celular.

ABSTRACT

The study on the reproductive activity of species have fundamental importance to understand the processes whereby organisms pass and adapt. This study sought through literature, compare and analyze the similarities or differences among others amphibians' representatives, with an emphasis on testicular histology relationship during the spermatogenesis process. By identifying and histological description of the different cells found in the *Leptodactylus macrosternum* testis. 41 specimens of the species were collected at Fazenda Cajueiro, city of Catolé do Rocha/PB, during the period of October 2013 to June 2014, through intensive auditory-visual searches in the sampled areas. Then the specimens were taken to the Laboratório de Biossistemática de Anfíbios (LABAN) –UFCG/CES where the specimens were euthanized, photographed and identified, and subsequently the gonads were removed and performed histological sections for blades mounting. The germ cell lineage were shown to be arranged in cysts, within the seminiferous epithelium with the presence of all cells organized in different stages of differentiation which is in a cystic spermatogenesis, common feature in all amphibians. *L. macrosternum*, as well as other species analyzed in this study, showed equal testicular histological characteristics. Among the aspects studied the only significant difference were the staining of testis.

Key-words: Spermatogenesis. Anura. Cellular organization.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Área do município de Catolé do Rocha-PB (vista aérea) e área da fazenda do cajueiro com localização da área de coleta (círculo amarelo destacado)..... 18
- Figura 2- *Leptodactylus macrosternum*..... 19
- Figura 3- Abertura ventral do exemplar *L. macrosternum* (A); Posição dos testículos na cavidade ventral (B)..... 20
- Figura 4- Túnica Albugínea em destaque (seta) e os lóculos do epitélio seminífero (circulados)..... 22
- Figura 5- Identificação das espermátogônias localizadas na periferia locular (10X)..... 22

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3. REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 Ordem Anura	15
3.1.1 A Família Lepidodactylidae	15
3.1.2 Biologia reprodutiva de Anuros	16
3.2 Caatinga e fauna de Anfíbios	17
4. METODOLOGIA	18
4.1. Descrição da Área de Estudo	18
4.2 Atividades de Campo	19
4.3 Análise Histológica	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	21
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

A atividade reprodutiva dos anuros sofre interferência devido às condições físicas do ambiente, dentre estas, os fatores que mais interferem na reprodução de anuros são a temperatura do ar e a umidade relativa, que estão estritamente relacionadas ao índice pluviométrico (JIM, 1980); (SASSO-CERRI et al., 2004).

Anfíbios anuros apresentam espermatogênese de forma cística, ou seja, as células germinativas ocorrem em grupos organizados e definidos (FERREIRA, 2009). Cada cisto possui células no mesmo estágio de diferenciação e no túbulo seminífero, podemos encontrar vários cistos em estágios diferentes ou semelhantes, dependendo do tipo do ciclo reprodutivo de cada espécie (HERMOSILLA et al., 1983; OLIVEIRA et al. 2003a; 2003b). Trabalhos realizados por Lofts (1974), baseados em características histológicas e comportamentais, definiram os ciclos reprodutivos dos anuros em contínuo, potencialmente contínuo e descontínuo.

Os ciclos espermatogênicos descontínuos, são típicos de zonas climáticas temperadas, apresentam discreto período de reprodução com mudanças relevantes no tamanho das gônadas, produção de gametas e estruturas sexuais acessórias. Típicos de regiões tropicais, os ciclos potencialmente contínuos e contínuos são caracterizados pela produção constante na atividade espermatogênica, (SANTOS e OLIVEIRA, 2007).

Sendo marcado pelo clima semi-árido, o domínio morfoclimático da Caatinga ocupa aproximadamente 800.000 Km², apresentando imprevisibilidade da distribuição temporal e espacial das chuvas, agravado por temperaturas anuais elevadas e relativamente constantes, variando entre 24°C e 29°C (RODRIGUES, 2003; AB'SABER, 2005). Há uma variação anual considerável da precipitação e em intervalos de dez a vinte anos diminuem para menos da metade da média (menos de 1.000 mm por ano), podendo ainda esse fenômeno durar de três a cinco anos seguidos, conhecido como "seca" (VELLOSO et al., 2002).

Nessas áreas, a quantidade limitada de chuvas determina o padrão reprodutivo dos anfíbios anuros. Nesses ambientes os animais estão reprodutivamente ativos por dois ou três meses durante o ano, período este determinado pelo aumento nas taxas de pluviosidade da região (RODRIGUES, 2003). Durante a estiagem, as espécies de anuros que ocorrem nesta região apresentam mecanismos fisiológicos e comportamentais de altas temperaturas e escassez de água (ABE, 1990).

Pertencente à família Leptodactylidae, *Leptodactylus macrosternum* é uma espécie amplamente distribuída em toda a América do Sul, a leste dos Andes, ocorrendo da Venezuela

à Argentina, incluindo o Brasil. É considerada uma espécie generalista, bem adaptada a ambientes perturbados e com ocorrência em áreas abertas e secas, bem como em florestas tropicais úmidas (FROST, 2013). Depositam seus ovos em ninhos de espumas na superfície de lagos, onde também há o desenvolvimento de girinos. São animais de porte médio, com focinho afilado vivendo sob o solo ou em corpos d'água.

Com base em análises histológicas, o referido trabalho buscou fazer uma comparação com outras espécies de anfíbios anuros, utilizando por meio de levantamentos bibliográficos estudos sobre a organização testicular da espécie *L. macrosternum*, correlacionando com as células descritas analisadas. Devido à escassez de trabalhos nesta área esta pesquisa torna-se de suma importância para o conhecimento da composição da fauna de anfíbios na caracterização histológica testicular de anuros da caatinga.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Identificar e descrever histologicamente as diferentes células encontradas durante o processo de espermatogênese nos testículos de *Leptodactylus macrosternum*.

2.2 Específicos

- Descrever a organização histológica testicular.
- Identificar os diferentes tipos celulares.
- Identificar a organização do processo de espermatogênese dentro dos testículos e suas diferentes fases.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Ordem Anura

Atualmente, são conhecidas 6.240 espécies de anfíbios (FROST, 2013) distribuídas principalmente nos trópicos e regiões temperadas. Ocorrem também em algumas ilhas oceânicas, especialmente aquelas do sul do Oceano Pacífico e nos desertos, dos mais brandos aos mais extremos (DUELLMAN & TRUEB, 1994). A ordem Anura possui 5.504 espécies sendo constituídas por sapos, rãs e pererecas compondo o grupo de anfíbios com maior representatividade (FROST, 2013).

Segundo Orr (1986), os anuros possuem membros pélvicos e alongados, corpo curto e flexível. Compreendem anfíbios sem cauda e que possuem membros modificados para o salto, também conhecidos como Salientia. A maioria das espécies de anuros apresenta reprodução noturna e uma pele permeável. Entretanto, a reprodução não está restrita somente a períodos de estação chuvosa, podendo ocorrer também na estação seca, se disponível ambiente favorável como corpos d'água permanentes (BASTOS et. al., 2003).

3.1.1 A Família Leptodactylidae

Segundo Frost (2014), a família Leptodactylidae apresenta em torno de 200 espécies neotropicais, distribuídas principalmente na América do Sul, dividida em quatro gêneros. *Leptodactylus* é tido como o mais numeroso, composto por 88 espécies sendo que, destas, 75 ocorrem no Brasil, Oliveira et al. (2010).

Leptodactylus macrosternum é uma espécie de rã de médio porte que tem por nome vulgar rã-manteiga, pode atingir até 11 cm de comprimento rostro-cloacal (SOEIRO, 2003), apresentam um dorso acinzentado com pregas longitudinais proeminentes. São animais de hábitos noturnos e têm como habitat preferencial corpos da água lânticos, como banhados, arroios e canais onde vivem agarrados há gramíneas (FREITAS e SILVA, 2004). Podem ser encontrados em regiões tropicais da América do Sul em habitats terrestres, entretanto necessita de água para reprodução (HEYER, 1969, HEYER e GIARETTA, 2009).

Andrade e colaboradores (2012) mencionaram a presença de *Leptodactylus macrosternum* no Noroeste do Brasil, em regiões de manguezais, onde a concentração de salinidade da água apresenta variações entre as correntes de marés.

3.1.2 Biologia reprodutiva de Anuros

Anfíbios, de uma forma geral, apresentam ciclo de vida complexo e uma grande variedade no modo reprodutivo, sejam em estratégias reprodutivas ou comportamentais de atração sexual (DUELLMAN e TRUEB, 1994; FEIO et al., 1999; POUGH et al., 1999). O período reprodutivo desta espécie é diretamente relacionado com estações chuvosas. Sendo assim, o macho utiliza de estratégias de vocalização de notas curtas e de baixa frequência a fim de chamar atenção da fêmea. Os ovos apresentam uma cor escurecida, e são envoltos em uma espuma branca, espécie de “ninho”.

Segundo Pough e colaboradores (2003) além da temperatura e clima, fatores pluviométricos exercem forte influência na atividade reprodutiva, como competição por alimento, predação e a temperatura da água, afetando na reprodução destes animais por induzir a liberação de hormônios reprodutores.

Representado por um par de testículos, órgãos pares, compactos e arredondados, nos anfíbios, o aparelho reprodutor masculino ainda apresentam variação na sua coloração do amarelo ao esbranquiçado (GOIN e GOIN, 1962). São constituídos por unidades aproximadamente esféricas, chamadas de lóculos seminíferos, que alojam as células da linhagem germinativa (OLIVEIRA e VICENTINI, 1998). Revestidos externamente por uma cápsula de tecido conjuntivo, denominada de túnica albugínea, (OLIVEIRA, 1996). São ligados aos ductos arquinéfricos, de forma direta ou indireta, transportando o esperma até a cloaca (ROMER e PARSONS, 1985). Emerson (1997) afirmou que: os testículos, em vertebrados, apresentam duas principais funções: a produção de hormônio (andrógeno) e a produção de espermatozoides.

De acordo com Duellman e Treb (1994) os testículos podem apresentar variações em suas formas anatômicas, relacionando com o período reprodutivo em formato e peso. Ainda segundo Santos (2007) a forma, o tamanho e o peso dos testículos refletem uma característica anatômica associada ao biótipo do animal. Algumas alterações morfofuncionais estão relacionadas com a sazonalidade da reprodução, (LOFTS, 1974). O aumento de tamanho e peso ocorre durante a fase de espermatogênese, em unidades testiculares, chamadas de lóculos (DUELLMAN E TRUEB, 1986).

Imersos em tecido conjuntivo frouxo, os lóculos, contém vasos sanguíneos e vasos linfáticos, nervos e células de Leydig, produtoras de hormônios (LOFTS, 1974; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). Estas Células de Leydig são responsáveis pela produção de

andrógenos, entre eles, principalmente a testosterona. Alguns hormônios entre eles a testosterona secretados por estas células atuam de forma fundamental no controle das funções reprodutoras masculinas, diferenciação e funcionamento dos órgãos reprodutivos, caracterizando uma espécie e influenciando a produção de espermatozóides (RODRIGUES e FAVARETTO, 1999). O processo da espermatogênese dos anuros é cístico, as células germinativas organizam-se em grupos bem definidos.

3.2 Caatinga e fauna de Anfíbios

De acordo com Moreira e Barreto (1996) as condições climáticas podem intervir e determinar os padrões de atividades dos Anuros, já que estes são organismos ectotérmicos e possuem uma pele permeável, tornando-os vulneráveis a alterações externas.

Os últimos estudos envolvendo anuros mostram que o sistema de acasalamento não é aleatório, sendo explicado pela competição entre machos (ARAK, 1983), ou por escolha da fêmea (RYAN, 1985) já que estas são consideradas um recurso limitante para o sucesso reprodutivo dos machos (WELLS, 1977^a; RYAN, 1985; ROBERYSON, 1986).

Em um levantamento sobre as espécies de anfíbios na região do nordeste do estado do Piauí, realizado por Loebmann e Mai (2008), constatou-se uma diversidade de vinte e uma espécimes de seis famílias de anuros, dentre as quais a família Leptodactylidae foi a segunda família com maior distribuição na região sendo representada com quatro espécimes.

Nas áreas abertas brasileiras, a Caatinga apresenta-se dentro de um domínio morfoclimático, ocupando aproximadamente uma área de 800.000km², possuindo uma vasta fauna de reptéis e anfíbios. Na caatinga, atualmente são conhecidas quarenta e oito espécies de anfíbios anuros incluindo o *L. macrosternum* (LEAL et. al., 2005).

Na região Paraibana, algumas espécies foram descritas. Em Cabaceiras, Cascon (1987) apontou 18 espécies de anfíbios e Arzabe (1999) apontou 16 espécies em São José do Bonfim. Um dos fatores limitantes para melhor conhecimento dos anfíbios da caatinga é a inconstância e variação das chuvas, visando que muitas das espécies são ativas e estão disponíveis para a reprodução unicamente no período chuvoso (VANZOLINI, 1974; VANZOLINI, 1976; VITT e VANGLIDER, 1983). Outras espécies como *Dendropsophus minutus*, pertecente a família Hylidae, *Scinaxfus covarius*, *Physalaemus cuvieri* e *Eupemphix nattereri*, apresentam semelhanças nos hábitos reprodutivos, de habitat, noturnos e com ampla distribuição geográfica (LUTZ, 1958) que podem ser encontradas em corpos d'aguas estagnados juntos a vegetação baixa e em locais perturbados pela ação antrópica (CARDOSO, 1981).

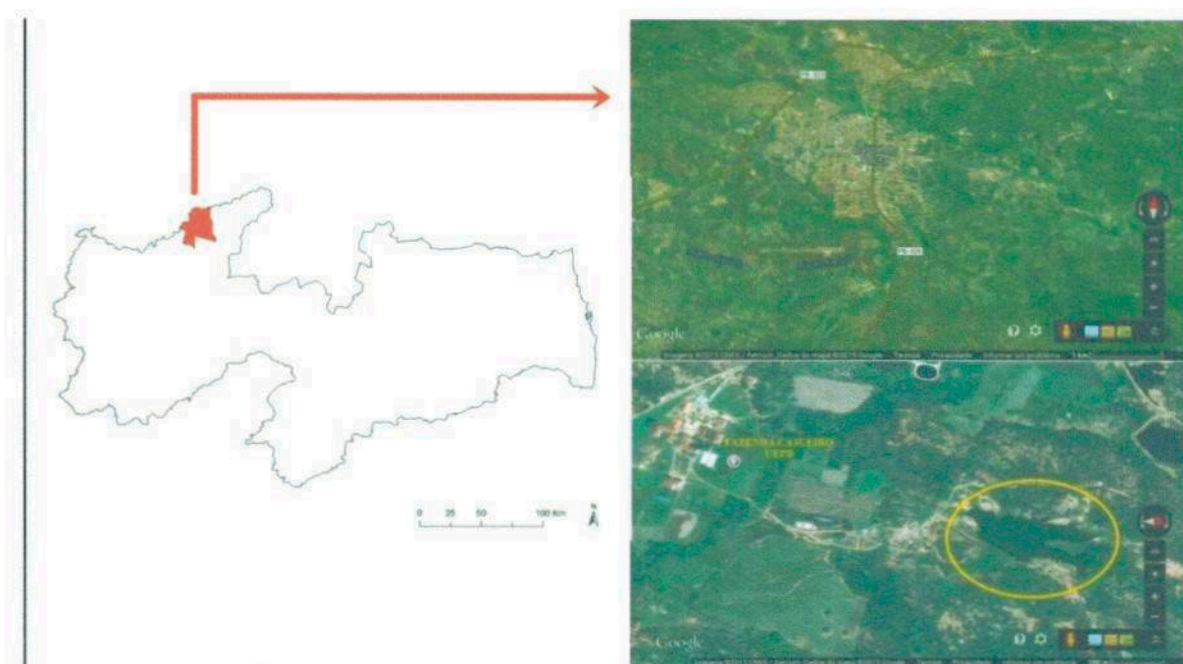
4. METODOLOGIA

4.1. Descrição da Área de Estudo

Os animais foram coletados no município de Catolé do Rocha/PB, mais precisamente na Fazenda do Cajueiro, com localização geográfica $6^{\circ}20'38''S$, $37^{\circ}44'48''W$. Este trabalho foi realizado através de uma parceria entre o Centro de Educação e Saúde – CES/UFCG/ Cuité – PB e o Centro de Ciências Humanas e Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, Campus IV. O referido município está localizado no Nordeste brasileiro caracterizado como região semi-árida, no Estado da Paraíba, distante 430 km da capital João Pessoa/ PB, com altitude de 272 m.

O município de Catolé do Rocha apresenta clima bastante seco e muito quente, com estação chuvosa no verão e média anual de $26,9^{\circ}C$, e no período mais frio uma temperatura superior a $18^{\circ}C$. A fazenda cajueiro onde foi realizada a coleta, localiza-se a 2 km do centro da cidade de Catolé do Rocha-PB, constituída por 112 hectares de terra, áreas de caatinga do tipo arbórea e arbustiva também fazem parte região. Uma grande riqueza em plantas espinhosas cactáceas e espécies frutíferas (Figura 1).

Figura 1- Área do município de Catolé do Rocha-PB (vista aérea) e área da fazenda do cajueiro com localização da área de coleta (círculo amarelo destacado).



Fonte: Dyego Costa, 2015

4.2 Atividades de Campo

Para a caracterização das células da linhagem espermatogênica de *L. macrosternum* (Figura 2) foram coletados 41 indivíduos durante o período de outubro de 2013 a junho de 2014.

Figura 2- *Leptodactylus macrosternum*.



Fonte: Dyego Costa, 2015.

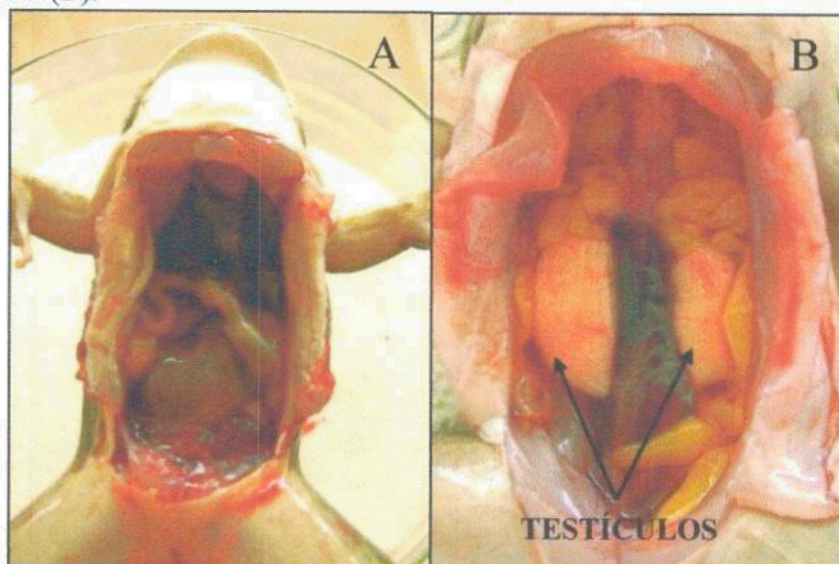
As coletas dos anfíbios consistiram em buscas auditivo-visuais intensivas nas áreas amostradas, onde foram realizadas caminhadas percorrendo as áreas de entorno e margens do açude pertencentes ao local amostrado, utilizando-se lanternas e captura manual dos indivíduos. Em seguida, foram eutanasiados através de uma dosagem do anestésico Xilocaína. Trazidos para o Laboratório de Biossistemática de Anfíbios, foram fotografados, sacrificados em solução Xilol. Cada indivíduo recebeu uma etiqueta numerada e fixada em seu corpo. Após a identificação, os exemplares foram preparados e fixados com solução de formol a 10%. Com a utilização de materiais cirúrgico-oftalmológicos, foram removidas as gônadas

4.3 Análise Histológica

Após a retirada das gônadas, estas foram fixadas em solução Formol 10% por 24 horas e depois desidratados em série crescentes de álcool Hopwood (1990). Os testículos foram incluídos em parafina, seccionados à 5,0 μm e corados com Hematoxilina/Eosina Robinson e Gray(1990). Para análise morfológica, as lâminas montadas foram observadas ao microscópio Olympus BX 60 e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50 no laboratório da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité (Figura 3).

As células da espermatogênese foram reconhecidas de acordo com trabalhos descritos por Hemosilla et al (1983) e Oliveira et al (2003a; 2003b).

Figura 3- Abertura ventral do exemplar *L. macrosternum* (A); Posição dos testículos na cavidade ventral (B).



Fonte: Dyego Costa

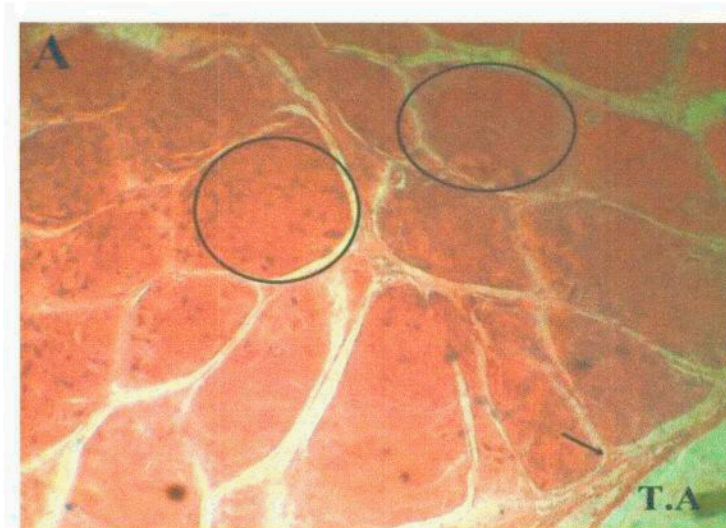
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos anfíbios anuros, o aparelho reprodutor masculino é representado por um par de testículos, ovóides, envoltos por uma camada fibrosa elástica (LOFTS, 1974), localizada na cavidade corporal junto a outros órgãos. O aparelho reprodutor de machos *L. macrosternum* mostraram-se iguais em aspectos histológicos anatômicos as demais espécies comparadas nesse estudo representante do grupo Anura.

A espécie, *L. macrosternum*, apresentou uma coloração amarelada e pouca variação de tamanho. Oliveira e Zieri (2005) relatam tonalidade escurecida nos testículos em espécies como *Physalaemus cuvieri* e *Eupemphix nattereri* (= *Physalaemus nattereti*) (Leptodactylidae) devido à presença de células pigmentadas no seu citoplasma, até então com função desconhecida, denominadas melanócitos. Entretanto para outras espécies de anuro como *Dendropsophus minutus* e *Scinaxfus covarius* (Hilídeo) Oliveira e Vicentini (1998) apresentaram coloração branco-leitosa.

A espermatogênese é o processo fisiológico, no qual resulta na produção dos espermatozóides, partindo de células germinativas, por meio de meiose. Os testículos, divididos em lóculos, onde estão localizadas as células, e são envoltos por uma camada transparente denominada túnica albugínea (Figura4). A espermatogênese da ordem anura apresenta todas as células da linhagem germinativa: espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozóides arranjados dentro do epitélio seminífero formando cistos. Cada cisto possui células no mesmo estágio de diferenciação, ou cistos em estágios diferentes, dependendo do ciclo reprodutivo. (HERMOSILLA et. al., 1993; OLIVEIRA et. al., 2003a 2003b). O que foi comprovado nesse estudo para a espécie *L. macrosternum*. Ferreira et. al. (2009), constatou que anuros da família Hylidae, mostraram cistos bem definidos, em que as espermatogônias estão localizadas na periferia do túbulo, observados também entre outras espécies de anuros

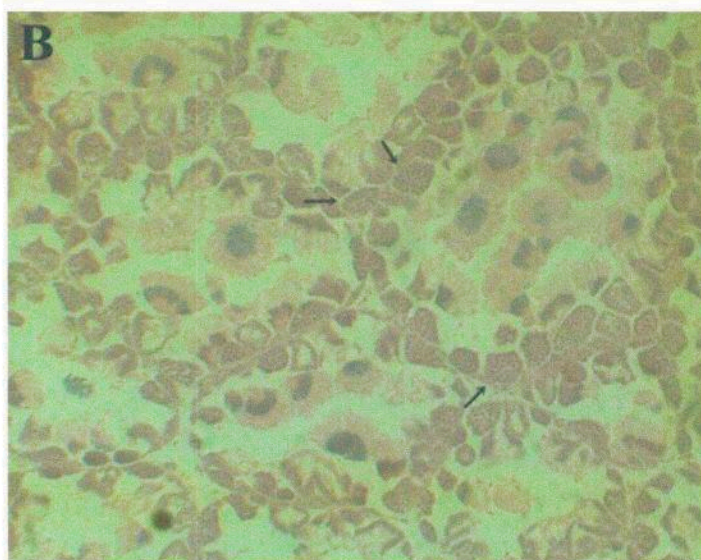
Figura 4- Túnica Albugínea em destaque (seta) e os lóculos do epitélio seminífero (circulados).



Fonte: Dados da pesquisa

As células base têm como nome: espermatogônias, e estas, apresentam-se com seus núcleos bem visíveis e arredondados, localizadas na periferia locular, sendo de fácil percepção nas lâminas. Possuem cromatina densa, facilitando assim sua coloração. Estas células estão em fase de divisão, por meio de meiose, e assim dão origem às outras células (Figura 5).

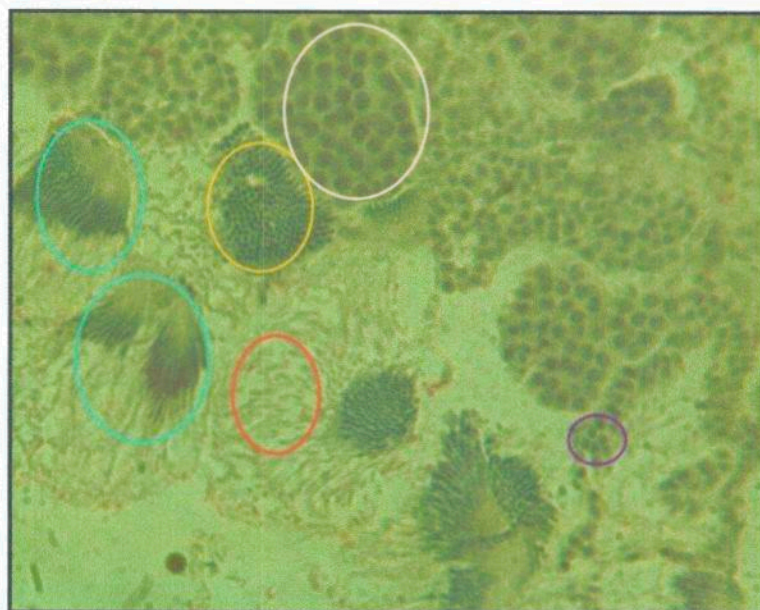
Figura 5- Identificação das espermatogônias localizadas na periferia locular (10X).



Fonte: Dados da pesquisa

O estágio de espermatócitos primários, também são encontrados na periferia do lóculo, que apresentam um núcleo volumoso, entretanto pode se observar que a cromatina já está se condensando. Os espermatócitos secundários apresentam núcleo bem menor e bem mais denso. Diferente da primeira célula, estas por sua vez sofrem uma divisão mitótica em duas células espermatócitos secundários, que darão origem as Espermátides. As espermátides são células pouco coradas e com núcleos mais esféricos. Em fase de maturação, se diferenciam em um processo chamado espermiogênese, e a partir daí temos os espermatozóides, os quais se apresentam dispersos (Figura 6).

Figura 6- Círculos verde – Espermátides Secundária; Círculo vermelho – Espermatozóide; Círculo rosa – Espermatócitos; Círculo Roxo – Espermatôgonias; Círculo Amarelo – Espermátide de primária



Fonte: Dados da pesquisa

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testículos em vertebrados detém algumas funções, como produção de alguns hormônios. São responsáveis também pela produção de espermatozóides e desta forma propagação de suas espécies. Entender os processos de variações que possam ocorrer entre espécies, é determinante para conservação e preservação de tais.

As células de linhagem germinativas organizadas em cistos, dentro do epitélio seminífero, com a presença de todas as células organizadas em diferentes estágios de diferenciação, caracterizando em uma espermatogênese cística é uma característica comum em todos os anfíbios.

Leptodactylus macrosternum junto com as demais espécies comparadas no presente estudo, mostraram-se iguais em relação a caracterização histológica testicular, e seu ciclo espermatogênico. A única diferença observada na pesquisa foi a variação da coloração dos testículos *Leptodactylus* com as espécies comparadas.

PERSPECTIVAS

Para auxílio nas aulas de Histologia, pretende-se desenvolver a construção de um material didático na forma de um laminário. Contendo lâminas histológicas do tecido de testículos de anuros, como também a criação de um atlas ilustrativo para compor o acervo da Biblioteca setorial do Centro de Educação e Saúde, podendo ser utilizado como um roteiro de apoio as aulas praticas e apoio para estudos mais específicos na área.

REFERÊNCIAS

- ABE, A. S.; GARCIA, L. S. [Changes in body fluids of the frog *Leptodactylus fuscus* during estivation (Anura, Leptodactylidae)]. **Revista brasileira de biologia**, v. 50, n. 1, p. 243-247, 1990.
- ABSÁBER, A. N. **Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas**. Ateliê Editorial, 2003
- ALVES, B. C. F. Aspectos ecológicos de *Hypsiboas Crepitans* e *H. albomarginatus* (Anura: Hylidae) em um remanescente de Mata Atlântica na Paraíba. 2012.
- ANDRADE, S. P.; VAZ-SILVA, W.. First state record and distribution extension of *Pleurodema diplolister* (Peters 1870)(Anura: Leiuperidae) from state of Goiás, Brazil. **Check List**, v. 8, n. 1, p. 149-151, 2012.
- ARAK, A. Male-male competition and mate choice in anuran amphibians. **Mate choice**, p. 181-210, 1983.
- ARZABE, C. Reproductive activity patterns in two different altitudinal sites within the Brazilian Caatinga. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. (3), p.851- 864, 1999.
- BASTOS, Rogério P. et al. Anfíbios da floresta nacional de Silvânia, Estado de Goiás. Stylo gráfica e editora, Goiânia, 2003.
- CARDOSO, A. J. Organização espacial e temporal na reprodução e vida larvária em uma comunidade de hílídeos no sudeste do Brasil (Amphibia, Anura). **Campinas, Brazil: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)**, 1981.
- CASCON, P. **Observações sobre diversidade, ecologia e reprodução na anurofauna de uma área de caatinga**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal da Paraíba-UFPB, João Pessoa, 64p, 1987
- COSTA, D. F. SILVA. **Dieta de *Leptodactylusmacrosternum***. Cuité 2015.
- DUELLMAN, W. E.; TRUEB, Linda. **Biology of amphibians**. JHU press, 1986.
- DUELLMAN, W.E; TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. McGraw-Hill, Baltimore; London. 1994
- FEIO, R. N.; SANTOS, P. S.; CARAMASCHI, U. New records of Amphibians from Parque Estadual do Rio Doce, State of Minas Gerais, Brazil. **Herpetological Review**, v. 30, n. 1, p. 56-56, 1999.
- FERREIRA, A; SANTOS, A. B. R; MEHANNA, M. Organização celular dos testículos em Hylidae e Leptodactylidae, no Pantanal (Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil) **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 31, n. 4, p. 447-452, 2009.

FIGUEIREDO, M. R. C. et al. Efeito da Temperatura e do Fotoperíodo sobre o Desenvolvimento do Aparelho Reprodutor de Rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 916-923, 2001.

FREITAS, M. A.; SILVA, T. F. S. **Anfíbios na Bahia: um guia de identificação**. Marco Antonio de Freitas e Thais Figueiredo Santos Silva, 2004.

FROST, J. M. et al. Atomistic origins of high-performance in hybrid halide perovskite solar cells. **Nano letters**, v. 14, n. 5, p. 2584-2590, 2014.

GOIN, O. B.; GOIN, C. J. Amphibian eggs and the montane environment. **Evolution**, p. 364-371, 1962. Guanabara Koogan S. A., 427p.

HERMOSILLA, I. B.; URBINA, A. P.; CABRERA, J. C. P. Espermatogénesis en la rana chilena *Caudiverbera caudiverbera* (Linne, 1758)(Anura, Leptodactylidae). **Bol. Soc. Biol. Concepción**, v. 54, p. 103-115, 1983.

HEYER, W. R. The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Evolution**, p. 421-428, 1969.

HEYER, W. R.; GIARETTA, A. A. Advertisement calls, notes on natural history, and distribution of *Leptodactylus chaquensis* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) in Brasil. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 122, n. 3, p. 292-305, 2009.

JIM, J. Aspectos ecológicos dos anfíbios registrados na região de Botucatu, São Paulo (Amphibia, Anura). **Aspectos ecológicos dos anfíbios registrados na região de Botucatu, São Paulo (Amphibia, Anura)**, 1980.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. 1999. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro:

LEAL, I.R., TABARELLI, M. et.al. **Ecologia e conservação da caatinga**. 2ª ed. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2005.

LEITE, G. B et al. **Descrição Histológica Da Espermatogênese No Anuro *Rhinellasnneideri* (ANURA: BUFONIDAE)**. Disponível em <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/resumos/resumos/4522.htm>> Acessado em 23 de março de 2016.

LOEBMANN D., MAI A.C.G., List of species Amphibia, Coastal zone, state of Piauí, Northeastern Brazil. **Check List** 4(2): p. 161-170, 2008.

LOFTS. B. Reproduction in: B.LOFTS (Ed). **Physiology of the amphibians**. New York, **Academic Press**, p.107-208 v 592, 1974.

LUTZ, B.; CARVALHO, A. L. Novos anfíbios anuros das serras costeiras do Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 56, n. 1, p. 239-249, 1958.

MASSURA, T. Y. M. **Anatomia Do Aparelho Reprodutor Masculino de *Dendropsophus minutuse Dendropsophus nanus* (Anura, Hylidae) durante o ciclo reprodutivo**. 2008

MOREIRA, G.; BARRETO, L. Alimentação e variação sazonal na frequência de captura de anuros em duas localidades do Brasil Central. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 13, n. 2, p. 313-320, 1996.

OLIVEIRA, C. de et al. Morphological considerations on the seminiferous structures and testes of anuran amphibians: *Bufo crucifer*, *Physalaemus cuvieri* and *Scinax fuscovarius*. **Biociências**, v. 11, n. 1, p. 39, 2003.

OLIVEIRA, C.; VICENTINI, C. A. Descrição anatômica dos testículos e corpos adiposos de *Scinax fuscovarius* (Anura, Hylidae). **Biociências**, v. 6, n. 1, p. 79-88, 1998.

OLIVEIRA, H. H. P.; SOUZA C.C.N et. al.; **Citogenética comparativa das famílias leptodactylidae e hylidae do cerrado goiano**. Goiânia, v.37, n. 9/10, p. 725-735, set./out, 2010.

ORR, R. T. *Biologia dos vertebrados*. 5. ed. São Paulo: Livraria Rocca Ltda., 1986. p. 508.
POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. *A vida dos vertebrados*. S50 Paulo: Atheneu, 2003.

POUGH, F. Harvey et al. **Vertebrate life**. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1999.
RODRIGUES, J. A.; FAVARETTO, ALV. Sistema Reprodutor. Cap. 73, 868-891 pp.
Fisiologia. Aires, MM. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1999.

RODRIGUES, M Trefaut. Herpetofauna da caatinga. **Ecologia e conservação da Caatinga**, p. 181-236, 2003.

ROMER, A. S.; PARSONS, T. S. Órgãos dos sentidos. **Anatomia comparada dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu, p. 438-488, 1985.

RYAN, M. J. **The túngara frog: a study in sexual selection and communication**. University of Chicago Press, 1985.

SANTOS, L. R de S. **Ciclo Reprodutivo de Machos de *Dendropsophus minutus* (Anura, Hylidae)** 2006

SANTOS, Lia R. S.; OLIVEIRA, C. de. Morfometria testicular durante o ciclo reprodutivo de *Dendropsophus minutus* (Peters) (Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, p. 64-70, 2007.

SASSO-CERRI, E et al. Testicular morphological changes during the seasonal reproductive cycle in the bullfrog *Rana catesbeiana*. **Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology**, v. 301, n. 3, p. 249-260, 2004.

SILVA, T. H; **ASPECTOS HISTOMORFOMÉTRICOS DO FÍGADO DE *Leptodactylus macrosternum***. Cuité, 2015.

SOEIRO, M. S. Notas Sobre A Herpetofauna Da Ilha Do Monte Cristo, SAUBARA, BAHIA. 2013

VANZOLINI, P. E. Ecological and geographical distribution of lizards in Pernambuco, northeastern Brasil (Sauria). **Pap. Av. Zool.**, n. 28, p.61-90, 1974.

VANZOLINI, P. E. On the lizards of a Cerrado-Caatinga contact: evolutionary and zoogeographical implications (Sauria). **Pap. Av. Zool.**, n. 29, p.111-119, 1976.

VELLOSO, A. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; PAREYN, Frans G. C. Ecorregiões propostas para o Bioma Caatinga. Associação Plantas do Nordeste; Instituto de Conservação Ambiental. **The Nature Conservancy do Brasil, Recife**, 2002.

VITT, L. J.; VANGLIDER, L. D. **Ecology of a snake community in northeastern Brazil. Amphibia-Reptilia**, n. 4, p. 273-296, 1983.

WELLS, K. D. The social behaviour of anuran amphibians. **Animal Behaviour**, v. 25, p. 666-693, 1977.

WOGEL, H.; ABRUNHOSA, P. A.; POMBAL JR, José P. Atividade reprodutiva de *Physalaemus signifer* (Anura, Leptodactylidae) em ambiente temporário. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 92, n. 1, p. 57-70, 2002.

ZIERI, Rodrigo; TABOGA, Sebastião R.; OLIVEIRA, Classius de. Espermiogênese em *Eupemphix nattereri* (Anura, Leiuperidae): aspectos ultra-estruturais. **Iheringia: Série Zoologia**, p. 193-199, 2008.