



# INFLUENCIA DO AMBIENTE E COMPORTAMENTO SOBRE CARACTERÍSTICAS TEGUMENTARES DA ESPÉCIE *PHYSALAEMUS BILIGONIGERUS* (ANURA, LEIUPERIDAE).

T.L. Albernaz<sup>1</sup>

M.B. Santos<sup>2</sup>; M.C.L.M. Oliveira<sup>2</sup>; R.D. Jardim<sup>3</sup>; J.C.M. Soares<sup>4</sup>; A.S. Varela Junior<sup>3</sup>

1 - Bolsista, Graduanda em Biologia, 2 - Mestrando em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, 3 - Professor Efetivo, 4 - Técnico em Laboratório, Universidade de Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Av. Itália s/n, Campus Carreros, 96201 - 900, Rio Grande, RS, Brasil. Telefone: 55 53 32336986- thaisealbernaz@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

Os anfíbios são vertebrados com ampla distribuição geográfica. Atualmente, no mundo, são conhecidas cerca de 5.067 espécies de anfíbios anuros (IUCN 2004). O Brasil abriga a maior riqueza de anuros do planeta, com 849 espécies registradas até o momento (SBH 2009).

Anuros são elementos importantes nas cadeias ecológicas (Stebbins & Cohen, 1995), devido a ampla distribuição, estando presentes em muitos tipos de ecossistemas. Entretanto, são sensíveis a alterações ambientais, necessitando de condições ótimas para sobrevivência, tornando - o excelente bioindicador de impactos ambientais (Loebmann, 2000).

Recentemente, vários estudos têm comprovado um declínio mundial nas populações de anuros (Rabb, 1990; Vial, 1991), levando algumas espécies à extinção (Haddad & Prado, 2005). Esse declínio tem sido atribuído vários fatores ambientais, como chuva ácida, aumento da radiação ultravioleta, e desmatamento, e fragmentação de seu ambiente (Rabb, 1990; Stebbins & Cohen, 1995; Haddad, 1998; Pough *et al.*, 1999). Algumas características citológicas minimizam o impacto destes fatores, como exemplo tem os melanóforos que bloqueiam parcialmente a incidência de radiação sobre as camadas mais internas do tegumento, além de participarem da defesa (camuflagem) dada pela combinação morfológica e ecológica.

Apesar do recente aumento no número de estudos de caráter ecológico sobre população de anfíbios neotropicais, muito pouco se sabe sobre a histologia (Azevedo *et al.*, 2005). Esse tipo de estudo, apesar de negligenciado, tem ligação direta com aspectos ecológicos uma vez que a pele acumula funções de respiração, defesa e barreira para regulação térmica. Apesar da grande diversidade de estratégias de sobrevivência, apresentada pelos anfíbios, muitas vezes integradas a aspectos morfológicos e/ou fisiológico (Dodd, 1976; Toledo & Jared, 1995), entretanto, há poucos estudos descrevendo a interação entre ambiente e a histologia/micromorfometria de anuros brasileiros.

Embora o tegumento dos anfíbios anuros possua uma organização estrutural básica, cada espécie pode apresentar características particulares, refletindo adaptações anatômicas correlacionáveis com diferentes habitats ecológicos (Clarke, 1997).

É importante considerar que o *Physalaemus biligonigerus* (Cope, 1861) habita banhados, charcos semipermanentes e valetas em zonas periféricas das cidades com vegetação de gramíneas ou juncos. Escava tocas com os tubérculos especializados nas patas posteriores. Sendo composto de uma pele que tem abundantes glandulas em forma de verrugas, com um par de glandulas inguinais notáveis, o dorso é liso com placas glandulares chatas, e de coloração muito variavel, desde verde a castanho com bandas longitudinais escuras, já o ventre é liso e de cor branca, densamente granular nas coxas e possuem prega abdominal. (Loebmann, 2005). Entretanto não foi avaliado a micromorfometria da pele ou estabeleceu - se uma correlação com seu habitat.

Em decorrência destes fatos, este trabalho tem por objetivo analisar a pele de diferentes regiões do tegumento de *Physalaemus biligonigerus*, considerando a espessura da camada epitelial e da camada cromatófórica (melanóforos) das diferentes regiões tegumentares, traçando um paralelo com o seu comportamento e modo de vida.

## OBJETIVOS

Em decorrência destes fatos, este trabalho tem por objetivo analisar a pele de diferentes regiões do tegumento de *Physalaemus biligonigerus*, considerando a espessura da camada epitelial e da camada cromatófórica (melanóforos) das diferentes regiões tegumentares, traçando um paralelo com o seu comportamento e modo de vida.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 - Coleta:

Os animais foram coletados nos arredores do município do Rio Grande, RS, em uma região conhecida por Cassino e Corredor do Senandes, compreendidos entre as coordenadas 32°07'54.65" - 32°17'35.07" S, 52°06'38.80" - 52°20'53.36" O, aproximadamente ao nível do mar. O local apresenta ambientes úmidos bem preservados associados a mosaicos de dunas, banhados, campos, matas de restinga e lagoas temporárias. O clima da região é classificado como mesotérmico superúmido, com médias de temperatura máxima anual de 23,3<sup>o</sup> C e mínima de 12,7<sup>o</sup> C. As estações do ano são bem definidas, com homogeneidade pluviométrica, e média anual de precipitação total de 1.252 mm (Vieira, 1983). Os anuros foram capturados por meio de armadilhas de interceptação e queda (*pitfall traps with drift fence*) (Greenberg *et al.*, 1994). Foram escolhidos indivíduos adultos da espécie *Physalaemus biligonigerus*.

### 2.2 - Métodos histológicos:

No laboratório cada indivíduo foi fotografado e estereografado na lupa sobre papel A4 na região dorsal e ventral. Após foi colocado na geladeira por um período variável de tempo, até tornarem - se não responsivos á manipulação (cerca de 10 a 15 minutos), sendo a seguir feita a secção cervical. Após os fragmentos da pele das regiões dorsal e ventral do tronco, dorsal e ventral da perna (fêmur) foram cortados e finalmente, colocados em formol tamponado 10%. Os fragmentos fixados foram desidratados, diafanizados, impregnados e incluídos em paraplast Xtra®. Os blocos foram cortados com 5 µm de espessura, de cada região foram confeccionadas 5 laminais com 6 cortes. e após estas laminais foram coradas em hematoxilina eosina e Tricromico de Mallory (Behmer, *et al.*, 003).

O material foi analisado a luz do microscópio óptico Olympus com objetiva de 40X, sendo fotomicrografada com a câmera Sony DSC - H1. De cada lamina foram micrografadas cinco regiões tegumentares diferentes. As micrografias foram analisadas morfométricamente através programa IMAGE J, calibrado com uma lamina milimetrada, provida de divisões de 0,01 mm (10 µm). Sendo feita posteriormente a mensuração do epitélio e da camada cromatófórica.

### 2.3 - Análise estatística:

Foi verificada a normalidade através do Teste de Shapiro - Wilk. Sendo posteriormente feita a análise de variância para medidas não paramétricas (Kruskal - Wallis Test). Através do programa Statistix 8®.

## RESULTADOS

As espessuras do epitélio das regiões dorsal e ventral do tronco, externa e interna da perna foram, respectivamente, de 3,21; 1,55; 1,66 e de 1,13 µm, já em relação à espessura da camada cromatófórica obteve - se 0,0; 1,59; 0,0; 0,90 µm respectivamente. A média da espessura do epitélio dorsal do tronco foi superior (P <0,05) a das demais regiões, já a espessura do epitélio ventral do tronco não diferiu (P >0,05) da externa da perna, entretanto, foram superior (P <0,05) a região interna da perna A espessura da camada

cromatófórica da região dorsal do tronco não diferiu (P >0,05) da externa da perna, entretanto, foram superior (P <0,05) a do ventre do tronco e interna da perna, que não diferiram (P >0,05) entre si.

A pele tem um papel importante para na sobrevivência diária dos anfíbios como também em sua capacidade de utilização de diferentes nichos ecológicos. (Heatwole *et al.*, 1994). Assim, estes resultados podem evidenciar adaptações da espécie ao ambiente. Segundo Serrano (1998), a espécie *Scinax hiemalis* (Haddad & Pombal, 1987), da família Hylidae, possui a pele consideravelmente fina em todas as regiões, comparando com demais espécies de seu estudo, sugerindo que a economia de água não é necessária para este animal. Isto ocorre devido seu habitat ser bastante úmido, Já o *P. biligonigerus*, exibe a espessura aumentada nas regiões em que esta espécie está mais exposta (dorso do tronco e exterior da perna). Pois, apesar dos anfíbios serem amplamente tolerantes á variações climáticas, eles são incapazes de suportar alterações bruscas da umidade relativa em seu ambiente, uma vez que sua pele permeável os torna particularmente vulneráveis a perda de água.

A espécie *Cycloramphus dubius* (Miranda - Ribeiro, 1920) da família leptodactíleões, demonstrou uma semelhança com o *P. biligonigerus*, quanto a morfometria tegumentar, possuindo uma derme mais compacta com as fibras colágenas espessas e densamente agrupadas permitindo um controle mais eficiente da perda de água, evidenciando que estão expostas á um ambiente mais seco. Além disso, o *C. dubius* e o *P. biligonigerus* possuem uma espessa camada cromatófórica nas regiões em que estão mais expostas, estas são formadas somente por melanóforos, características que também ajudam no controle mais eficiente contra a desidratação (Dullman & Trueb, 1986).

Segundo Serrano (1998), a camada cromatófórica da espécie *Phyllomedusa burmeisteri* (Boulenger, 1882) apresenta melanóforos, xantóforos e iridóforos, obtendo assim uma pigmentação de predominância verde claro, já o *P. biligonigerus* possui sua camada com apenas melanóforos apresentando um aspecto mais verde escuro e marrom. Dessa maneira observamos os diferentes tipos de habitats, sendo primeira espécie verde, possuindo hábitos mais arborícolas, já a segunda se mantém em um substrato mais escuro. Essas adaptações para manter a camuflagem.

Estas diferenças e similaridades tegumentares estão relacionadas intimamente com o modo de vida e habitat das diferentes espécies. Evidenciando diferentes mecanismos de adaptação ao ambiente em que cada espécie vive.

## CONCLUSÃO

Concluimos que as regiões tegumentares da espécie *P. biligonigerus* tem sua constituição e morfometria diferente, sendo isto influenciado pelo comportamento da espécie e habitat que vive.

## REFERÊNCIAS

Azevedo, R.A.; Pelli, A.A.; Ferreira - Pereira, A.; Santana, A.S.J.; Felseburgh, F.A.; Brito -

- Gitirana, L. 2005.** Structural aspects of the Eberth Katschenko layer of *Bufo ictericus* integument: histochemical characterization and biochemical analysis of the cutaneous calcium (Amphibian, Bufonidae). *Micron*, 36: 61–65.
- Behmer, O.A.; Tolosa, E.M.C.; Freitas Neto A.G.; Rodrigues, C.J. 2003.** Manual de técnicas para histologia normal e patológica, 2.ed., Barueri, SP, Ed. Manole, 256p.
- Clarke, B.T. 1997.** The natural history of amphibian skin secretions, their normal functioning and potential medical applications. *Biol. Rev.*, v.72, p.365 - 379,
- Dodd, C.K. Jr. 1976. A bibliography of anuran defensive mechanisms. *Smith. Herpetol. Inform. Serv.* 37, 1–10.
- Duellman, W.E., Trueb, L. 1986.** *Biology of Amphibians*. New York: McGraw - Hill, 670p.
- Greenberg, C. H., Neary, D. G., & Harris, L. D. 1994. A comparison of herpetofaunal sampling effectiveness of pit-fall single - ended and double - ended funnel traps used with drift fences. *Journal of Herpetology* 28(3): 319 - 324.
- Haddad, C. F. B. and Prado, C. P. A. 2005.** Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *Bioscience, Estados Unidos*, v. 55, (3)207 - 217.
- Haddad, C. F. B. 1998.** Biodiversidade dos anfíbios no Estado de São Paulo. In: Joly, C. A., Bicudo, C. E. M. (Org.) Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX. 6: Vertebrados: p. 15 - 26.
- Heatwole, H., Barthalmus, G. T., Heatwole, A.Y. 1994.** The integument. In: *Amphibian biology*, Surrey Beatty, Chipping Norton, N.S.W., v.1, 418p.
- IUCN 2004** red list of threatened species. IUCN Species Survival Commission, Gland, Suíça e Cambridge, Reino Unido. Disponível em <<http://www.redlist.org>> (acessado em maio de 2009).
- Loebmann, Daniel. 2000.** Distribuição, sistemática e indentificação de anuros no município de Rio Grande/RS, Dissertação (Graduação em oceanologia), FURG, 80p.
- Pough, F. H.; Heiser, J. B. & McFarland, W. N. 1999.** *A Vida dos Vertebrados*. 2<sup>o</sup> Edição. Atheneu Editora, São Paulo, 798 p.
- Rabb, G. B. 1990.** Declining amphibian population. *Species*, (13 - 14): 33 - 34
- SBH. 2006.** Lista de espécies de anfíbios do Brasil. Sociedade Brasileira de Herpetologia (SBH): <http://www.sbherpetologia.org.br/checklist/anfibios.htm> (acessado em maio de 2009).
- Serrano .R.E.W. 1998.** Estudo Histológico, Histoquímico e Morfométrico Comparado da Pele, das Glândulas cutâneas sexualmente dimórficas de Três Espécies de Anfíbios Anuros, (Dissertação em biologia), UNICAMP, 81p.
- Stebbins, R. C. & Cohen, N. W. 1995.** *A Natural History of Amphibians*. Princeton University Press. New Jersey. 316p.
- Toledo, R.C. & Jared, C. 1995.** Cutaneous granular glands and amphibian venoms. *Comp. Biochem. Physiol.* 111A,1–29.
- Vial, J. L. 1991.** Declining amphibian populations task force. *Species* (16): 47 - 48.
- Vieira, E. F. 1983.** *Rio Grande: Geografia Física, Humana e Econômica*. Porto Alegre: Sagra, 158p.
- Verdade, V. K. 2005.** Relações filogenéticas entre as espécies dos gêneros *Cycloramphus* Tschudi 1838 e *Zachaeus* Cope 1866 (Anura, Leptodactylidae). Ph.D. Thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.