

## **AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA TESTICULAR DE ANUROS PRESENTES EM AMBIENTE AGRÍCOLA E UNIDADE DE CONSERVAÇÃO**

Cirley Gomes Araújo dos Santos<sup>1</sup>, Rhayane Alves de Assis<sup>2</sup>, Wadson Rodrigues Rezende<sup>3</sup>  
Marcelino Benvindo-Souza<sup>4</sup>, Rinneu Elias Borges<sup>5</sup>, Lia Raquel de Souza Santos<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Graduanda do curso de Ciências Biológicas, Instituto Federal Goiano, Rio Verde-GO, email: cirleygomesrv2014@hotmail.com

<sup>2</sup>Mestranda em Biodiversidade e Conservação, IFGoiano, Rio Verde-GO.

<sup>3</sup>Doutorando em Biologia Animal, UNESP, São José do Rio Preto-SP.

<sup>4</sup>Doutorando em Ciências Ambientais, UFG, Campus Samambaia, Goiânia-GO.

<sup>5</sup> Doutor em Biologia Animal, UNIRV, Rio Verde-GO.

<sup>6</sup>Orientadora, Prof<sup>a</sup>. IFGoiano, Rio Verde-GO.

### **Introdução**

As práticas agrícolas, em conjunto com outros fatores como as atividades industriais, são apontadas como causas da degradação de corpos d'água em todo o mundo (POLLO et al., 2016), o que pode acarretar na contaminação de organismos que vivem nesses ambientes. A exposição dos anuros a produtos provenientes da agricultura está associada a alterações reprodutivas como anormalidade e hermafroditismo, além de consequentemente causar declínios populacionais (MCCOY et al., 2008).

Segundo Duellman e Trueb (1994) os testículos dos anuros são estruturas pares, ovais ou esféricas, situadas ventralmente ao nível da metade anterior dos rins. Nos vertebrados essas estruturas possuem determinadas funções, sendo a produção de hormônios e de espermatozoides, as mais importantes (HILDEBRAND, 1995). Trabalhos sobre a morfologia dos testículos são importantes uma vez que estes órgãos estão relacionados à manutenção das espécies nos mais diferentes habitats.

No Brasil, ocorre a utilização de agrotóxicos em larga escala na agricultura e o município de Rio Verde, por sua vez, está situado no sudoeste do estado de Goiás e é considerado um dos dez municípios que mais consomem agrotóxicos no país (PIGNATI et al.,

2017). Sendo assim, as pressões causadas pela agricultura podem afetar o desenvolvimento das estruturas reprodutivas, sendo importante avaliar as consequências dessa exposição. Neste sentido, propomos analisar a morfologia gonadal quanto ao peso e comprimento dos testículos de duas espécies de anuros adultos coletados em ambiente de soja e comparar os resultados com animais de unidade de conservação e mantidos em laboratório, visando investigar se as espécies apresentam diferenças nas gônadas entre esses ambientes.

### **Materiais e Métodos**

As coletas dos indivíduos foram realizadas em corpos d'água durante a estação chuvosa através de busca ativa. Posteriormente foi realizada a identificação das duas espécies (*L. fuscus* e *P. nattereri*; Figura 1). Nos ambientes de soja no município de Rio Verde foram coletados 10 espécimes de *L. fuscus* e 20 de *P. nattereri*, dos quais 10 foram mantidos em laboratório por 30 dias para averiguação da recuperação das características reprodutivas. No Parque Nacional das Emas, foram coletados 10 indivíduos da espécie *L. fuscus* como animais controle. Foram realizadas as análises de peso e medidas biométricas dos animais. Posteriormente os animais foram eutanasiados em solução de Benzocaína e foi feita a remoção dos testículos, os quais foram pesados através de balança analítica de precisão (0,001g) e medidas do comprimento foram feitas com auxílio de paquímetro digital.



**Figura 1:** Fotodocumentação das espécies *Leptodactylus fuscus* (A) e *Physalaemus nattereri* (B).

Todos os procedimentos foram encaminhados à apreciação pela Comissão de Ética do IF Goiano (CEUA/IF Goiano), tendo sido emitida a devida licença (n. 6643030518) e para o SISBIO/ICMBIO sendo autorizada a coleta dos animais (n. 62687/2018). Os espécimes

utilizados foram depositados na coleção herpetológica do Laboratório de Biologia Animal do IFGoiano.

### Análises Estatísticas

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e quando necessário, os dados foram submetidos à normalização  $(x+0,5)^{1/2}$ . As diferenças na morfologia gonadal foram analisadas pelo teste T quando paramétricas e Mann-Whitney quando não paramétricas. Para a espécie *L. fuscus* os resultados obtidos foram comparados entre a área de cultivo de soja e do PNE, enquanto para a espécie *P. nattereri* foi feita a comparação entre a área de cultivo de soja e a recuperação em laboratório. Foi considerado  $p < 0,05$  como referência para se atribuir significância estatística.

### Resultados e Discussão

As médias e desvio padrão das medidas dos indivíduos avaliados são demonstrados na tabela 1. Foi encontrada diferença significativa para os antímeros gonadais direito ( $t=2.12$ ;  $p < 0.05$ ) e esquerdo ( $t=4.12$ ;  $p < 0.05$ ) entre os ambientes de soja e do PNE para a espécie *L. fuscus* havendo um peso maior dos testículos coletados na área de soja (Figura 2). Já para a espécie *P. nattereri* nenhuma relação significativa foi encontrada quanto ao peso dos testículos direito ( $t= 1.56$ ;  $p > 0.05$ ) e esquerdo ( $t=1.20$ ;  $p > 0.05$ ) entre animais da soja e em recuperação.

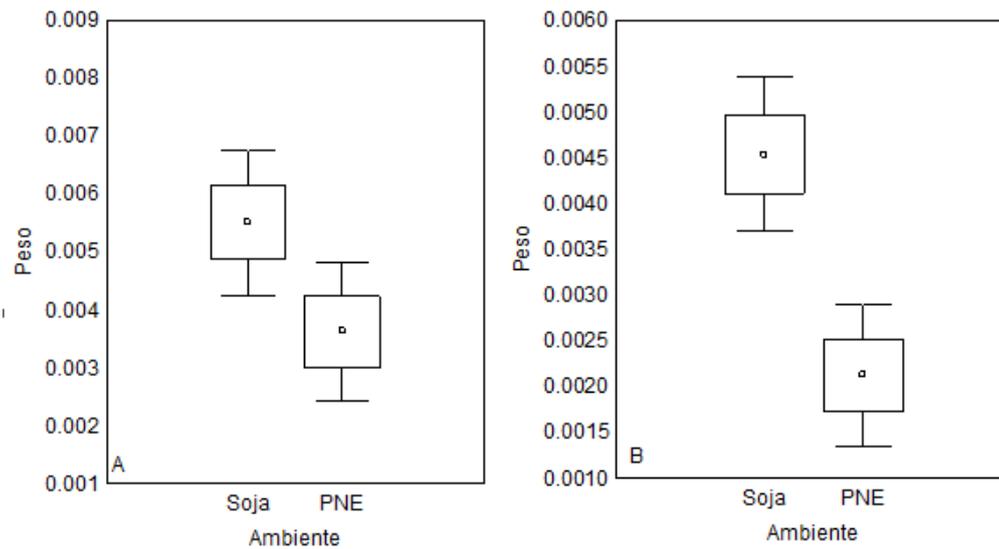
**Tabela 1** – Comparação das médias de peso e comprimento dos testículos de *P. nattereri* e *L. fuscus* dentro de cada ambiente.

| Espécie             | Média ± Desvio Padrão |             |              |              |             |
|---------------------|-----------------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
|                     | Ambiente              | P- TD       | C- TD        | P- TE        | C- TE       |
| <i>P. nattereri</i> |                       |             |              |              |             |
| Soja                | 0.024±0.022           | 5.080±0.824 | 0.018±0.020  | 4.992±0.801* | 7.889±1.494 |
| Recuperação         | 0.012±0.003           | 4.504±0.671 | 0.009±0.002  | 4.022±0.415  | 6.254±0.727 |
| <i>L. fuscus</i>    |                       |             |              |              |             |
| Soja                | 0.005±0.002*          | 3.083±0.648 | 0.004±0.001* | 2.653±0.421  | 9.631±0.810 |
| PNE                 | 0.003±0.001           | 2.940±0.665 | 0.002±0.001  | 3.000±0.425  | 9.314±0.928 |

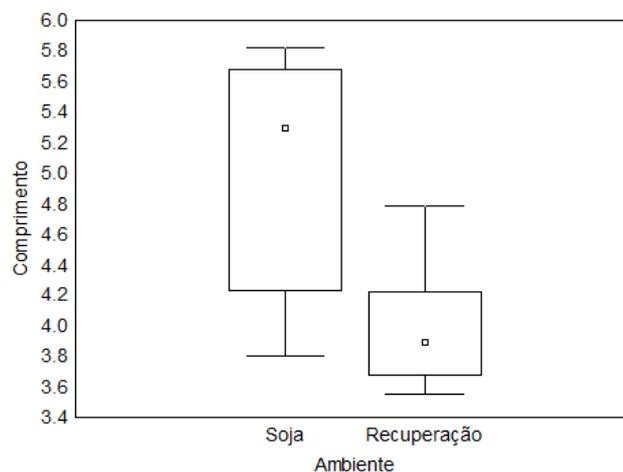
P= Peso; C= Comprimento; TD= Testículo direito; TE= Testículo esquerdo; P- Total= Peso total do indivíduo. \* Indicam diferenças significativas.

Quanto ao comprimento dos testículos, não foram encontradas diferenças significativas para ambos os antímeros testiculares em *L. fuscus* (TD=  $t=0.48$ ;  $p > 0.05$ ; TE=  $t=-1.83$ ;  $p > 0.05$ ) bem como para o testículo direito de *P. nattereri* ( $t=1.71$ ;  $p > 0.05$ ). Porém, para esta espécie, o

teste *Mann-Whitney* indicou comprimento significativamente maior nos testículos dos animais da soja em comparação com os de recuperação ( $u=13.00$ ;  $p<0.05$ ; Figura 3). Quanto ao peso total dos animais, não houve diferença significativa para nenhuma das espécies em todas as condições ( $p>0.05$ ).



**Figura 2:** Diferenças significativas para os pesos (g) dos testículos direito (A) e esquerdo (B) dos animais da espécie *L. fuscus* coletados em ambiente de soja e no PNE ( $p<0.05$ ).



**Figura 3:** Diferença significativa entre o comprimento (mm) do testículo esquerdo dos animais da espécie *P. nattereri* coletados em ambiente de soja e os mantidos em recuperação em laboratório ( $p<0.05$ ).

As exposições a substâncias químicas podem causar diversos efeitos, agindo como desreguladores endócrinos, prejudicando o desenvolvimento, crescimento, diferenciação gonadal e reprodução (MCCOY et al., 2017), resultando no desenvolvimento anormal dos

órgãos ou estruturas reprodutivas. Para *L. fuscus* e *P. nattereri* não foram encontrados outros estudos que avaliaram o peso e comprimento dos testículos de animais de áreas agrícolas. No entanto, nossos resultados concordam com os de HECKER et al. (2009) os quais encontraram um aumento das gônadas em anuros da espécie *Xenopus laevis* expostos a atrazina em ambiente agrícola de cultivo de milho. Os autores justificaram esse aumento devido às diferenças quanto aos recursos alimentares, podendo ser uma consequência da eutrofização causada nessas áreas de agricultura que é capaz de aumentar a biomassa de invertebrados aquáticos e assim os espécimes investiriam mais energia para o crescimento das gônadas, dada a importância dessa estrutura reprodutiva.

Já, Hecker et al. (2005) em seu estudo sobre o efeito do contaminante atrazina não encontraram alteração no tamanho e no peso das gônadas de *Xenopus laevis*. Outros estudos já mostraram que áreas agrícolas estão relacionadas a alterações histopatológicas nos testículos de anuros (MCCOY et al., 2008; MCCOY et al., 2017). Desta forma, análises histológicas são necessárias para complementar os dados aqui apresentados.

## Referências

- DUELLEMAN, W.E. & L. TRUEB. 1994. **Biology of amphibians**. New York, McGraw Hill, 670p.
- HECKER, M. GIESY, J. P. JONES, P. D. JOOSTE, A. M. CARR, J.A SOLOMON, K. R. SMITH, E. E. KRAAK, G. V. D. KENDALL, R. J. PREEZ, L. D. Plasma sex concentrations and gonadal aromatase activities in African clawed frogs (*Xenopus laevis*) from south Africa. **Environmental Toxicology**, v.23. p. 1996-2007, 2009.
- HILDEBRAND, M. 1995. **Análise da estrutura dos vertebrados**. São Paulo, Atheneu, 700p.
- MCCOY, K. A.; BORTNICK, L. J.; CAMPBELL, M.; HAMLIN, H. J.; GUILLETTE JR, J.; MARY C, M, ST. Agriculture Alters Gonadal Form and Function in the Toad *Bufo marinus*, v. 116, n. 11, 2008.
- MCCOY, K.A. AMATO, C.M. GUILLETE JR, L.J. MARY, C.M. Giant toads (*Rhinella marina*) living in agricultural areas have altered spermatogenesis. **Science of the total environment**, v. 609, p. 1230-1237, 2017.
- PIGNATI, W. A.; LIMA, F. A. N. S.; LARA, S. S.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.; LEÃO, L. H. C.; PIGNATTI, M. G. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.22, n. 10, p. 3281-3293, 2017.

POLLO, F. E.; GRENAT, P. R.; OTERO, M. A.; SALAS, N. E.; MARTINO, A. L.  
Assessment in situ of genotoxicity in tadpoles and adults of frog *Hypsiboas cordobae*  
(Barrio 1965) inhabiting aquatic ecosystems associated to fluorite mine. **Ecotoxicology and  
Environmental Safety**, v. 133, p. 466-474, 2016.