

MORFOLOGIA TESTICULAR DE *SCINAX PUSILLUS* (ANURA: HYLIDAE).

Wadson Rodrigues Rezende¹, Lia Raquel de Souza Santos¹, Rinneu Elias Borges²,
Lilian Franco Belussi³, Gabriela Baroni Leite³, Classius de Olivera³

RESUMO: Para os anuros, há extensa bibliografia sobre o comportamento reprodutivo, mas poucas foram desenvolvidas para descrever a biologia reprodutiva com ênfase em análise morfológica testicular das gônadas. Esse trabalho objetivou-se em realizar a descrição morfológica e morfométrica das gônadas de machos de *Scinax pusillus*, bem como a mensuração dos tipos celulares presentes no parênquima testicular desta espécie. Machos de *Scinax pusillus* foram coletados no Parque Nacional das Emas, dissecados por um corte médio ventral, os testículos foram retirados e encaminhados para rotina de fixação e inclusão histológica, corados e seccionados em micrótomo a 2,0 μm . Os testículos de *S. pusillus* apresentam comprimento médio de 1,38 mm e peso aproximado de 0,00038 gramas uma área total de 25406,56 μm^2 (0,025 mm²) 2,4% (ou 0,000609 mm²) são ocupados por melanócitos testiculares. Houve diferença significativa interindividual para a área ocupada pelos melanócitos no parênquima testicular ($F= 34,4479$; $p<0,01$); o diâmetro locular médio para a espécie é de 168,83 μm^2 (0,000168 mm²), e no parênquima testicular foi possível observar a formação cística dos tipos celulares, mediante a presença de células de Sertoli. A espécie apresenta padrão anatômico testicular comum e coloração testicular escura devido a presença de melanócitos no parênquima gonadal. Apresenta disposição cística e todos os tipos celulares da linhagem espermatogênica estão presentes no parênquima testicular, o que reflete o período reprodutivo desta espécie de anuro.

PALAVRAS-CHAVE: Anura; morfologia; morfometria; testículo.

INTRODUÇÃO

A grande eficiência da dispersão dos vertebrados se deu, entre outros fatores, da adaptação de seus órgãos e ciclos reprodutivos ao ambiente no qual eles estão envolvidos. O controle dos ciclos reprodutivos requer que os organismos sejam capazes de detectar as mudanças no ambiente e ajustar os parâmetros fisiológicos de acordo com as condições necessárias. Desta forma, a atividade reprodutiva de anuros de regiões tropicais sazonais é associada ao período úmido (Santos e Oliveira, 2007).

Com relação ao sistema reprodutor, os anfíbios apresentam um par de gônadas e órgãos acessórios, incluindo ductos e outras estruturas. Para os machos os testículos geralmente são arredondados, compactos e de coloração geralmente amarelada (Goin e Goin, 1962).

¹ Instituto Federal Goiano/Rio Verde (IFGoiano); ² Universidade de Rio Verde (UniRV); ³ Universidade Estadual Paulista (UNESP/IBILCE).

Estas estruturas são rodeadas por uma cápsula fina e fibrosa de tecido conjuntivo denominada túnica albugínea, que apresenta estruturas seminíferas (Oliveira et al., 2002; Santos e Oliveira, 2007).

Em escala microscópica o parênquima testicular, apresenta alguns tipos celulares distintos: Espermatogônias localizadas na base do epitélio germinativo e, na sequência da diferenciação, os espermátócitos, espermátides e espermatozoides podem ser identificados, sendo estes últimos encontrados no lúmen locular. (Oliveira et al., 2003).

Além das características peculiares da reprodução, os vertebrados ectotérmicos possuem um sistema bem desenvolvido de células contendo melanina, distribuídas entre os vários órgãos (fígado, baço, pulmão, coração, timo, e gônadas) e tecidos (meninges e os tecidos conectivos em torno dos vasos sanguíneos) compondo um sistema pigmentar extracutânea (Gallone et al., 2002). Em anfíbios, células semelhantes a melanócitos foram descritos na epiderme e em vários órgãos (Agius e Agbede, 1984; Zuasti et al, 1998;. Oliveira e Zieri, 2005; Zieri et al, 2007.) que produzem e armazenam melanina no interior de estruturas esféricas ou ovóides denominados melanossomas (Agius e Roberts, 2003;. Zieri et al., 2007). A melanina apresenta como funções a neutralização de radicais livres e degradação de material derivado de agentes potencialmente tóxicos estando assim relacionada ao sistema inato de muitos vertebrados (Mackintosh, 2001; Johnson et al., 1999; Frangioni et al., 2000; Sichel et al., 1997; Scalia et al., 1990; Zuasti et al., 1989; Geremia et al., 1989).

O gênero *Scinax* Wagler, 1830, ocorre a partir de leste e sul do México até a Argentina e Uruguai, incluindo Trinidad e Tobago e Santa Lúcia. *Scinax* é atualmente o maior gênero da família Hylidae, com 101 espécies reconhecidas (SBH, 2014), e novas espécies estão sendo descritas mais frequentemente (por exemplo, 14 novas espécies descritas nos últimos três anos e a espécie *S. pusillus* ocorre na região central do Cerrado brasileiro (Bursquetti et al., 2014).

De modo geral, os estudos sobre aspectos reprodutivos dos anuros hílideos descrevem principalmente o comportamento reprodutivo, sendo poucos estudos anatômicos descrevendo o sistema reprodutivo com ênfase na morfologia gonadal (Santos e Oliveira, 2007). Diante disto, esse trabalho objetivou-se em realizar a descrição morfológica e morfométrica das gônadas de machos de *Scinax pusillus*, bem como a mensuração dos tipos celulares presentes no parênquima testicular desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Machos de *Scinax pusillus* foram coletados no Parque Nacional das Emas (18°07, 348'S; 052°54,917'W) em Mineiros, GO durante a estação reprodutiva. Os animais foram mortos por excesso de benzocaína e seccionados com incisão mediana ventral. As gônadas foram removidas e fixadas em fomaldeído (10%), pesadas (g) e medidas com paquímetro digital com precisão de 0,05 mm e incluídas em resina do tipo Methacrilato glicol (Historesin Leica®). Posteriormente foram seccionadas a 2,0 µm e coradas por Hematoxilina/eosina. As lâminas montadas foram fotografadas (Olympus BX 60) e um total de 125 campos foram analisados através do programa Image Pró-Plus 6.0. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa BioEstat 5.0 e a normalidade dos dados foi realizada o pelo teste de Shapiro-Wilk e em seguida aplicado o teste de ANOVA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testículos de *S. pusillus* estão localizados na cavidade abdominal em posição ventral aos rins. Apresentam discreta coloração escura, comprimento médio de 1,38 mm e peso aproximado de 0,00038 gramas. De acordo com Franco-Belussi et al. (2009), este típico padrão de coloração testicular é encontrado em algumas espécies de anuros, e confere a tonalidade escura devido a presença de melanócitos no parênquima testicular. Para *S. pusillus*, de uma área total de 25406,56 µm² (0,025 mm²) 2,4% (ou 0,000609 mm²) são ocupados por melanócitos testiculares. Houve diferença significativa entre os indivíduos para a área ocupada pelos melanócitos no parênquima testicular (F= 34,4479; p<0,01) (Figura 1). De acordo com Franco-Belussi et al. (2009), *Physalaemus cuvieri* e *Eupemphix nattereri* também apresentaram uma variação interespecífica quanto ao presença de melanócitos na morfologia gonadal. Quanto à arquitetura histológica testicular, o diâmetro locular médio para a espécie é de 168,83 µm² (0,000168 mm²), e no parênquima testicular foi possível observar a formação cística dos tipos celulares, mediante a presença de células de sertoli, presentes no parênquima gonadal. Estes tipos celulares variam desde espermatogônias primárias localizadas na periferia dos lóculos a espermatozoides livres no lúmen ou em regiões adjacentes (Figura 2). Este arranjo germinativo também foi relatado para outras espécies de anuro, como *Dendropsophus minutus* (Santos et al., 2011) e *Scinax fuscovarius* (Oliveira e Vicentini, 1998).

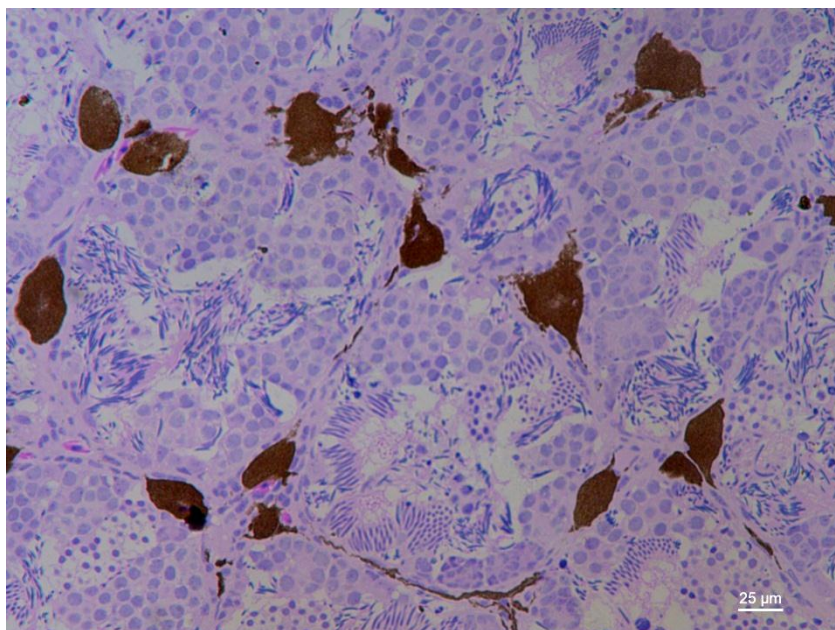


Figura 1: Corte histológico testicular de *Scinax pusillus*, demonstrando a presença de melanócitos testiculares.

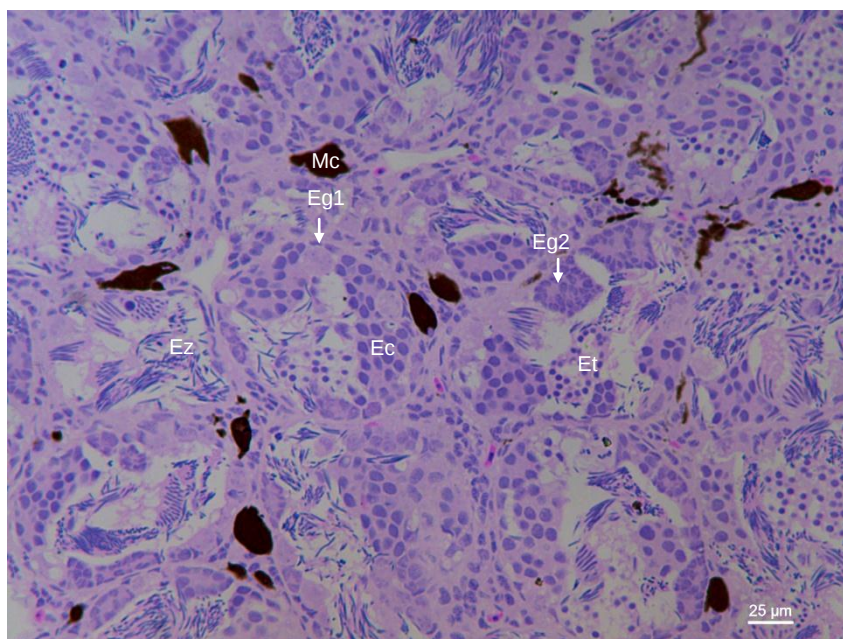


Figura 2. Corte histológico testicular de *S. pusillus*, representando os tipos celulares da linhagem espermatogênica: **Eg1**- espermatogônia primária; **Eg2** - espermatogônia secundária; **Ec**- espermatócito; **Et**- espermátide; **Ez**-espermatozoide; **Mc**- Melanócito.

CONCLUSÕES

Scinax pusillus apresenta padrão anatômico testicular comum e coloração testicular escura devido a presença de melanócitos no parênquima gonadal. Apresenta disposição

cística e todos os tipos celulares da linhagem espermatogênica estão presentes no parênquima testicular, o que reflete o período reprodutivo desta espécie de anuro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGIUS, C.; ROBERTS, R.J. Review: Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Biology*. v.26, p.499-509, 2003.
- AGIUS, C.;AGBEDE, S.A. An electron microscopical study on the Genesis of lipofuscin, melanin and haemosiderin in the tissues of fish. *Journal of Fish Biology*.v.24,n.4,p.471-488, 1984.
- BRUSQUETTI, F.;JANSEN, M.;BARRIOAMORÓS, C.;SEGALLA, M.;HADDAD, C.F.B. Taxonomic review of *Scinax fuscomarginatus* (Lutz,1925) and related species (Anura; Hylidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 171,783-821,2014.
- FRANCO-BELUSSI, L.; ZIERI, R.; SANTOS, L.R.S.; MORESCO, R.M.; OLIVEIRA,C. Pigmentation in Anuran testes: Anatomical pattern and variation. *The Anatomical Record*. v.292, p.178-182, 2009.
- FRANGIONI, G.;BORGIOILLI, G.;BIANCHE, S. Relationships between hepatic melanogenesis na respiratory conditions in the newt, *Triturus carnifex*. *Journal of Experimental Zoology*.v.287,p.120-127, 2000.
- GALLONE, A; GUIDA, G; MAIDA, I; CICERO, R. Spleen and liver pigmented macrophages of *Rana esculenta* L. A new melanogenic system? *Pigment Cell Research* 15:32–40, 2002.
- GEREMIA,E;CORSARO,C.;BARATTA,D.;SANTORO,C.;SCALIA,M.;SICHEL,G. Antioxidant enzymatic systems in pigment tissue of Amphibia.*Pigment Cell Research*.v.2,p.208-212, 1989.
- GOIN, C. J.; GOIN, O. B. *Introduction to herpetology*. San Francisco: W. H. Freeman, 341,1962.
- JOHNSON, J.C.;SCHWIESOW, T.;EKWALL, A.K.;CHRISTIANSEN ,J.L. Reptilian melanomacrophages function under conditions of hypothermia:Observations on phagocytic behavior. *Pigment Cell Research*.v.12,n.6,p.376-382, 1999.
- MACKINTOSH, J.A. The antimicrobial properties of melanocytes, melanosomes and melanin and the evolution of Black skin. *Journal of Theoretical Biology*.v.211,p.101-113, 2001.

- OLIVEIRA, C.; SANT'ANA, A.C.; OMENA, P.M.; SANTOS, L.R.S.; ZIERI, R. Morphological considerations on the seminiferous structures and testes of anuran amphibians: *Bufo crucifer*, *Physalaemus cuvieri* and *Scinax fuscovarius*. *Biociências* 11:39–46, 2003.
- OLIVEIRA, C; ZANETONI, C; ZIERI, R. Morphological observations on the testes of *Physalaemus cuvieri* (Amphibia, Anura). *Revista Chilena Anatomia* 20:263–268, 2002.
- OLIVEIRA, C; ZIERI, R. Pigmentação testicular em *Physalaemus nattereri* (Steindachner) (Amphibia, Anura) com observações anatômicas sobre o sistema pigmentar extracutâneo. *Revista Brasileira de Zoologia* 22:454–460, 2005.
- OLIVEIRA, C.;VICENTINI, C.A. Descrição anatômica dos testículos e corpos adiposos de *Scinax fuscovarius* (Anura, Hylidae). *Biociências*, Porto Alegre, v.6,n.1,p.79-88,1998.
- SANTOS, L.R.S;OLIVEIRA ,C. Morfometria testicular durante o ciclo reprodutivo de *Dendropsophus minutus* (Peters)(Anura,Hylidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 24(1):64-70,março 2007.
- SBH, 2014. *Sociedade Brasileira de Herpetologia*. Disponível em: http://www.sbherpetologia.org.br/images/LISTAS/lista_anfibios_2012.pdf. Acessado em: 22/08/2014.
- SICHEL, G.;SCALIA, M.;MONDIO, F.;CORSARO, C. The amphibian Kupffer cell build and demolish melanosomes:na ultrastructural point of view. *Pigment Cell Research*.v.10,p.271-287, 1997.
- ZIERI, R. TABOGA, S.R.; OLIVEIRA, C. Melanocytes in the testes of *Eupemphix nattereri* (Anura: Leiuperidae): Histological, stereological and ultrastructural aspects. *The Anatomical Record*. V.290,p.795-800, 2007.
- ZUASTI, A.;JARA, J.R.;FERRE, C;SOLANO, F. Occurrence of melanin granules and melanosynthesis in the kidney of *Sparus auratus*. *Pigment Cell Research*.v.2,p.93-100.,1989.