

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo

IFSP campus Barretos

Departamento de Biologia

Ana Luiza Lima Dorigo Bonifácio

**IMPACTOS DA DEGRADAÇÃO AMBIENTAL SOBRE A REPRODUÇÃO DE
SCINAX FUSCOVARIUS (ANURA, HYLIDAE): UMA ABORDAGEM MORFOLÓGICA**

Barretos

2021

Ana Luiza Lima Dorigo Bonifácio

**IMPACTOS DA DEGRADAÇÃO AMBIENTAL SOBRE A REPRODUÇÃO DE
SCINAX FUSCOVARIUS (ANURA, HYLIDAE): UMA ABORDAGEM MORFOLÓGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso ou Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus Barretos

Orientador: Prof (a). Dr (a). Rodrigo Zieri

Barretos, 2021

B715i Bonifácio, Ana Luiza Lima Dorigo
Impactos da degradação ambiental sobre a reprodução de
Scinax Fuscovarius (Anura, Hylidae): uma abordagem morfológica /
Ana Luiza Lima Dorigo Bonifácio. – 2021.
23 f. : il.; 30 cm

Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Ciências
Biológicas) - Instituto Federal de São Paulo - Campus Barretos,
2021.

Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Zieri

1.Anuros. 2.Bioindicadores. 3.Degradação ambiental. 4. Scinax
fuscovarius. I.Título.

CDD: 631.4

Ficha Catalográfica elaborada pela bibliotecária Juliana Alpino de Sales CRB 8/8764,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos seres superiores, por sempre me acompanharem, me dando forças para continuar e superar cada desafio sem desistir.

Agradeço à Instituição (IFSP) e todos docentes pelos quatro anos de muitas experiências e conhecimentos na realização do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Zieri, pessoa e professor com um coração enorme e sempre muito dedicado, me ajudando durante todo meu percurso na instituição. O senhor é mais que um professor, é um amigo, é um herói.

Aos meus pais por estarem comigo, me ajudando, me motivando ser alguém melhor e me protegendo sempre.

À minha amiga Clara Fernanda, que esteve comigo nesses quatro anos me ajudando e sempre acreditando em mim, minha eterna parceira.

Agradeço ao Prof. Dr. Michel Varajão Garey, por ter fornecido todo material e ajudar no desenvolvimento do projeto, em parceria com a UNILA- Universidade Federal da Integração Latino-Americana.

“Tudo aquilo que o homem ignora, não existe para ele. Por isso o universo de cada um, se resume no tamanho de seu saber.”
Albert Einstein

RESUMO

Os anfíbios são considerados organismos não-alvos e extremamente vulneráveis às alterações ambientais por apresentarem características específicas como permeabilidade cutânea e ciclo de vida dependente dos ambientes aquático e terrestre. Em razão da perda de habitat natural pela atividade agropastoril e as mudanças climáticas, muitas espécies de anuros neotropicais têm apresentado acentuado declínio em suas populações. Deste modo, a avaliação dos efeitos ambientais sobre órgãos reprodutivos nesses animais poderá fornecer informações sobre o papel desses organismos como bioindicadores, além de responder questões sobre a atividade reprodutiva, com enfoque morfológico, os possíveis efeitos e eventuais modificações nesses organismos. O objetivo deste trabalho foi investigar, por meio de análises morfológicas, a resposta dos testículos de *Scinax fuscovarius* (Anura, Leptodactylidae), órgãos de função reprodutiva e hormonal, frente ao grau de degradação ambiental em duas diferentes áreas da região de Foz do Iguaçu – PR, Zona Rural e Parque Nacional do Iguaçu (PNI). Observamos, neste trabalho, a influência ambiental nos testículos da espécie *S. fuscovarius*, tendo as espécies da região rural maior volume relativo encontrado para os lóculos seminíferos e espermátides, o que reflete, respectivamente, no maior tamanho locular e maior número de espermátides no interior dos testículos, quando comparados aos espécimes do PNI. *S. fuscovarius* é uma espécie generalista e abundante em ambientes antropizados. Além disso, a ocupação de nichos antropizados sugere que a espécie é capaz de se beneficiar e aproveitar dos recursos, porém, a abundância pode trazer uma elevada competição por parceiro sexual, o que pode explicar um maior investimento reprodutivo nas espécies viventes na zona rural, que se manifesta nas condições morfológicas gonadais de *S. fuscovarius*.

Palavras-chave: Anuros, Bioindicadores, Degradação ambiental, *Scinax fuscovarius*, Testículos

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.	8
2 OBJETIVOS	11
2.1 <i>Objetivo Geral</i>	11
2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	11
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 <i>Área de estudo</i>	12
3.2 <i>Escolha das áreas de coleta</i>	12
3.3 <i>Procedimentos experimentais</i>	13
3.4 <i>Análises morfológicas, histoquímicas e estereológicas</i>	14
3.5 <i>Análises estatísticas</i>	14
4 RESULTADOS	15
5 DISCUSSÃO.	18
6 CONCLUSÃO.	19
7 REFERÊNCIAS.	20

INTRODUÇÃO

A poluição do ar, solo e água afeta diversos grupos de animais aquáticos e terrestres, incluindo os anfíbios, e podem provocar, além de letalidade, morbidade, distúrbios comportamentais, anormalidades eritrocitárias, impactos na função endócrina, na expressão gênica e também na reprodução, levando nesse caso, desde alterações na produção de gametas até hermafroditismo, e várias dessas substâncias poluidoras estão fortemente vinculadas à atividade industrial, às práticas agrícolas e também ao lixo e esgoto produzidos pela intensa urbanização (RELYEA e JONES, 2009; MORESCO et al., 2014; GONCALVES et al., 2014; FREITAS et al., 2017).

Diante desse contexto, destaca-se uma grande quantidade de contaminantes emergentes e poluentes orgânicos persistentes (POPs) que podem apresentar grande potencial de risco ao ecossistema e ainda, por não estarem em sua vasta maioria legislados, não estão incluídos nos programas de monitoramento de rotina e podem ser detectados em diferentes matrizes ambientais (ar, solo e sedimentos, água e alimentos), mesmo em concentrações muito baixas (ng/L ou µg/L) (ASSUNÇÃO e PESQUERO, 1999; SROGI, 2008; ROCHA et al., 2016; MONTAGNER et al., 2017). Em sua maioria, esses contaminantes são de origem antrópica ou intensificados pela ação humana, e citamos como exemplos produtos farmacêuticos, produtos de limpeza e higiene pessoal, hormônios, drogas, cafeína, adoçantes artificiais, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, micro plásticos e pesticidas, dentre os quais encontra-se agentes químicos com ação herbicida e inseticida (KOLPIN, 2002; GILROY et al., 2012; ELIZALDE-VELASQUEZ et al., 2017).

Quando se atenta para os anfíbios, nota-se que estão sujeitos às mais variadas fontes de contaminação aquática, particularmente na fase larval, na qual apresentam tanto a pele quanto os ovos permeáveis. Contudo, o adulto também pode apresentar respostas a estressores no meio terrestre (BRODEUR e CANDIOTI, 2017).

Estudos *in vivo* mostram que os anuros neotropicais (larvas e adultos) são excelentes bioindicadores da qualidade ambiental, pois apresentam uma rápida resposta a agentes estressores, como: temperatura (SANTOS et al., 2014), radiação ultravioleta (FRANCO-BELUSSI et al., 2018) infecção bacteriana (FRANCO-BELUSSI et al., 2014), hormônios sexuais (ZIERI et al., 2015), fármacos (GREGORIO et al., 2016; ELIZALDE-VELÁZQUEZ et al., 2017), metais potencialmente tóxicos (NATALLE et al., 2006), agrotóxicos (PÉREZ-IGLESIAS et al., 2018; FREITAS et al., 2019) dentre outros agentes xenobióticos, que induzem

efeitos no crescimento, desenvolvimento, sistema imunológico, metabolismo, comportamento, em células pigmentadas presentes na pele e vísceras e também nas células reprodutivas.

Algumas características específicas dos anfíbios como permeabilidade da pele e ciclo de vida dependente dos ambientes aquático e terrestre, os tornam vulneráveis às alterações nesses dois tipos de ambiente (DUELLMAN e TRUEB, 1999). Ademais, em consequência, principalmente, da perda de habitat natural e das mudanças climáticas, muitas espécies neotropicais têm apresentado acentuado declínio em suas populações (CATENAZZI, 2015; VASCONCELOS et al., 2018). Deste modo, a avaliação dos efeitos de xenobióticos ambientais com ação *in loco* sobre órgãos reprodutivos em espécies de anuros neotropicais é importante e poderá fornecer informações, em curto prazo, sobre o papel desses organismos como bioindicadores e em médio e longo prazo, sobre a taxa reprodutiva, traçando paralelos com fatores ecológicos, comportamentais e evolutivos para esses organismos.

Órgãos genitais e estressores ambientais.

O sistema genital dos anuros é constituído por um par de gônadas que estão localizadas na cavidade celomática, ventralmente aos rins e separados pela coluna vertebral e por ductos arquinéfricos condutores de gametas até a cloaca (DUELLMAN e TRUEB, 1999). Os testículos são revestidos externamente por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso, a túnica albugínea, a qual apresenta-se transparente, permitindo a observação dos lóculos seminíferos, que são unidades esféricas de coloração esbranquiçada que alojam as células da linhagem germinativa, circundada pelo estroma de sustentação com distintas células somáticas (OLIVEIRA e ZIERI, 2005). No epitélio germinativo, as células da linhagem reprodutiva se associam às células de sustentação, ou de Sertoli, e assim constituem cistos espermatogênicos. Cada cisto agrupa células no mesmo estágio de diferenciação, estabelecendo uma sincronia de desenvolvimento (TABOGA e DOLDER, 1991; OLIVEIRA et al., 2003).

Segundo Silva 2016, a espermatogênese que ocorre nos lóculos, se caracteriza por um processo fisiológico que realiza a produção de células germinativas, a partir da meiose. Apresenta-se todas as células germinativas, espermatogônias, espermatócitos, espermatídes e espermatozoides. Cada célula germinativa tem sua diferença e peculiaridade. As espermatogônias, conhecidas como células progenitoras, ficam localizadas na parte periférica do lóculo. Ainda no início da meiose, o núcleo da espermatogônia é denso e compactado, o qual dar origem a outras células após a divisão; os espermatócitos são células mais arredondadas, apresentam uma cromatina mais condensada e núcleos menores; as espermatídes são alongadas,

localizadas nos centros loculares, em processo de maturação, ocorre diferenciação na espermiogênese, dando início a transformação em espermatozoides.

Em anuros, os testículos ainda podem apresentar graus de pigmentação, variando de branco, amarelo ou marrom escuro, sendo nesse caso, pela presença de melanócitos ao redor dos lóculos seminíferos (estroma testicular) e superficialmente abaixo da túnica albugínea (OLIVEIRA e ZIERI, 2005; FRANCO-BELUSSI et al., 2008).

Alguns estudos relacionam a poluição ambiental com anomalias no sistema genital de anuros, uma vez que os agentes xenobióticos podem atuar como desreguladores endócrinos que levam a alterações fisiológicas e histológicas como indução ao hermafroditismo, inibição no desenvolvimento das gônadas, alteração da coloração por meio da atividade melanogênica de melanócitos gonadais e até mesmo o declínio da capacidade reprodutiva (BILA e DEZOTTI, 2007, MORESCO et al., 2014, ÇAKICI, 2015).

Trabalhos que tratam dos efeitos de contaminantes sobre os órgãos reprodutivos em anuros, com possíveis alterações estruturais e histopatológicas desses órgãos, são escassos e podem ser um importante indicador da qualidade do meio e uma ferramenta auxiliar para explicar o decréscimo de populações pela interferência antrópica no processo reprodutivo.

Nossa hipótese é que regiões naturais mais degradadas afetem diretamente os anuros pelo elevado grau de poluição e interferência de xenobióticos, ocasionando alterações morfológicas em estruturas testiculares e produção de gametas, indicando que esses animais estão suscetíveis aos efeitos negativos da degradação e poluição ambiental, o que poderá comprometer substancialmente sua taxa reprodutiva e até mesmo a capacidade adaptativa, corroborando com dados sobre declínio de anuros, tendo a degradação ambiental como fator principal.

OBJETIVOS

Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi investigar, por meio de análises morfológicas, a resposta dos testículos, órgãos de função reprodutiva e hormonal, frente ao grau de degradação ambiental em duas diferentes áreas da região de Foz do Iguaçu – PR, Zora Rural e Parque Nacional do Iguaçu (PNI).

Objetivos específicos

- Analisar histologicamente os possíveis efeitos e eventuais modificações dos órgãos reprodutivos frente ao grau de degradação ambiental mensurando a proporção relativa e volume de células de linhagem espermatogênética e células intersticiais.
- Comparar as respostas, correlacionando os dados reprodutivos morfológicos para a espécie entre os diferentes ambientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

Para o desenvolvimento do projeto, foram utilizadas amostras de testículos de 14 machos adultos (sete indivíduos por região), em atividade de vocalização, de *Scinax fuscovarius* (LUTZ, 1925), espécie nativa, com ampla distribuição pela região sudeste do Brasil e encontradas nas duas distintas regiões que foram utilizadas nesses estudo e descritas abaixo. Essa proposta está vinculada ao trabalho de ecologia realizada em parceria com o grupo de pesquisa em Ecologia de Populações e Comunidades Neotropicais, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana-UNILA, contemplada pelos editais PRPPG N° 110, de 17 de setembro de 2018 e PRPPG 80/2019.

As coletas dos espécimes foram realizadas em corpos d'água em duas diferentes áreas do município de Foz do Iguaçu – PR, área rural (25°32'49"S; 54°35'11"O) e Parque Nacional do Iguaçu (25°05' a 25°41'S, 53°40' a 54°38'O), durante o verão de 2019 e 2020 para estudos populacionais, sendo os procedimentos de coleta e manuseio autorizados pelo SisBio (N° 60073, 42012) e licença para coleta no PNI (Parque Nacional do Iguaçu): 70732-1. A manipulação e os experimentos, nesta etapa, foram realizados de acordo com o guia de cuidados e uso de animais de laboratório.

A parceria se estabeleceu com o intuito de complementar os estudos a partir de análises morfológicas, em parceria entre o IFSP e UNILA. Sob orientação técnica do IFSP, o material biológico foi submetido aos procedimentos de fixação e conservação para microscopia de luz, submersos em solução etílica a 70%, acondicionados em geladeira dentro de tubos plásticos tipo Eppendorf.

Escolha das áreas de coleta

A vegetação original da região de Foz do Iguaçu é composta por Floresta Estacional Semidecidual (AB'SABER, 2003), que foram intensamente devastadas pela atividade agropastoril, restando apenas o Parque Nacional do Iguaçu (PNI) e pequenos fragmentos da Floresta Estacional Semidecidual cercados de áreas de pastagem e/ou monocultura. O PNI, um dos locais de captura das espécies, é um dos maiores remanescentes de Mata Atlântica e unidade de proteção integral, localizada na região oeste do Estado do Paraná, com uma área de 185.262,5 hectares, que se estende ao longo de cinco municípios: Céu Azul, Foz do Iguaçu, Matelândia,

São Miguel do Iguaçu e Serranópolis do Iguaçu, sendo, portanto, considerado área controle para esse projeto.

Os ambientes amostrados foram divididos em duas categorias de uso de solo (MCKINNEY 2002 - modificado): rural e florestal. Área rural, regiões com mais de 50% da área do buffer destinado a extensas plantações agrícolas e pastagens (<2% de usos urbanos). As áreas florestais são aquelas nas quais o corpo d'água possuem mais do 50% de suas margens cobertas por vegetação arbórea e mais de 50% da área do buffer coberta por vegetação florestal, sendo que, para determinação da paisagem na qual o corpo d'água está inserido foi feita com base em imagens de satélite RapidEye (2013) e utilizando um buffer de 500 metros em torno de cada corpo d'água. O tamanho do buffer foi determinado com base em estudos de ecologia de paisagem envolvendo anuros (e.g., SEMLITSCH e BODIE, 2003). Deste modo, a paisagem foi caracterizada a partir da identificação de diferentes usos do solo: monocultura (áreas de cultivo de grãos), pastagem (terrenos de pastejo de gado), mata (remanescentes de Floresta Estacional Semidecidual), áreas de regeneração (manchas de floresta em estado inicial de recuperação), silvicultura, uso urbano (edificações) e água (corpos d'água lênticos e lóticos).

A utilização de animais dessa região se justifica pela ausência de dados ecotoxicológicos subsidiados pela morfologia, que permitam ver diretamente a integridade histológica de órgãos e, indiretamente, outros fenômenos biológicos interligados e complementares, envolvendo espécies nativas de anuros que ocorrem simultaneamente nos ambientes descritos, sendo que a área com elevado grau de preservação (PNI) servirá com área controle.

Outra questão importante é o aproveitamento de material biológico que esteve à disposição para esse estudo, corroborando com o projeto de estudos ecológicos já em execução pelo grupo de pesquisa. Além disso, os dados obtidos aqui poderão ser utilizados para comparação com outras áreas e espécies de anuros, particularmente em regiões que nitidamente não apresentem locais de relativa preservação devido ao uso intensivo do solo, como ocorre na maioria das regiões interioranas do estado de São Paulo.

Procedimentos experimentais

Para retirada do órgão, os animais foram dissecados por meio de incisão mediana na região ventral, expondo os testículos que foram removidos e imersos em solução fixadora Karnovsky (tampão fosfato Sörensen 0,1M, tampão fosfato pH 7.2 contendo paraformaldeído 5% e glutaraldeído 2.5%) e mantidos em solução alcoólica 70% pois, posteriormente, foram encaminhados à rotina histológica (RIBEIRO e LIMA, 2000), seguindo protocolo para desidratação em série alcoólica e inclusão em parafina.

Analises morfológicas

Secções de 3µm foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) e fotografadas em microscópio de luz com câmara fotográfica acoplada. Para as análises estereológicas de densidade volumétrica, foram examinados dez campos histológicos de cada animal (400x), sobrepostos por graticulado digital com 252 intersecções (WEIBEL, 1978), para comparar a proporção relativa (volume relativo) de células germinativas (espermatogônias I e II, espermatócitos I e II, espermátides iniciais e tardias e espermatozoides).

Analises estatísticas

As análises foram conduzidas utilizando o programa R version 2.11.1 (R Development Core Team, 2010). Análises de normalidade e homogeneidade dos dados foram feitas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, e transformados por meio de logaritmo [$\log(x+1)$] para valores não homogêneos. Foi realizada análise de variância (ANOVA One-way) seguido de teste a posteriori de Tukey para identificar diferenças estatísticas entre os parâmetros analisados e os diferentes tipos de ambientes. Tiveram validade estatística valores de $P < 0.05$ (ZAR, 1999).

RESULTADOS

A espécie *Scinax fuscovarius*, teve nesse trabalho parâmetros morfológicos do estroma testicular analisados, tais como a proporção relativa (volume relativo) de células de linhagem espermatogênicas: espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozóides, além da proporção relativa ocupada pelos lóculos seminíferos, lúmen e interstício testicular, sob influência dos ambientes de Zona Rural e do PNI, com diferentes graus de antropização. Diferenças foram encontradas na proporção relativa dos lóculos seminíferos e das espermátides quando comparados os espécimes das duas áreas.

A análise morfológica nos permitiu identificar e quantificar as estruturas testiculares, identificando cada uma das células reprodutivas, bem como outros componentes presentes no órgão genital da espécie (Figura 1, A-B).

Segundo nossas análises, para o ambiente Rural, encontramos os seguintes valores para os parâmetros analisados: lóculo seminífero principal = 29,9%; lóculos satélites = 21,9%; lúmen = 8,7% interstício = 3,8%; espermatogônia = 3% espermatócito = 12,1%; espermátides 18,5%; espermatozóide 1,7%. Já para os animais coletados no PNI, obtivemos os seguintes resultados: lóculo seminífero principal = 24,8%; lóculos satélites = 27,8%; lúmen = 12,7% interstício = 3,9%; espermatogônia = 3,6% espermatócito = 11,3%; espermátides 13,9%; espermatozóide 1,6% (Tabela 1).

De todos esses parâmetros analisados, foram encontradas diferenças significativas para o volume relativo dos lóculos seminíferos principais e satélites, sendo que o volume relativo dos lóculos principais dos animais coletados em ambiente rural foi maior quando comparado com animais do PNI. Por outro lado, os lóculos satélites tiveram maior volume relativo nos animais do PNI. Outro parâmetro que apresentou diferença significativa foi o volume relativo ocupado pelas espermátides, com maior porcentagem de células em animais pertencentes à zona rural (Figura 2, A-C).

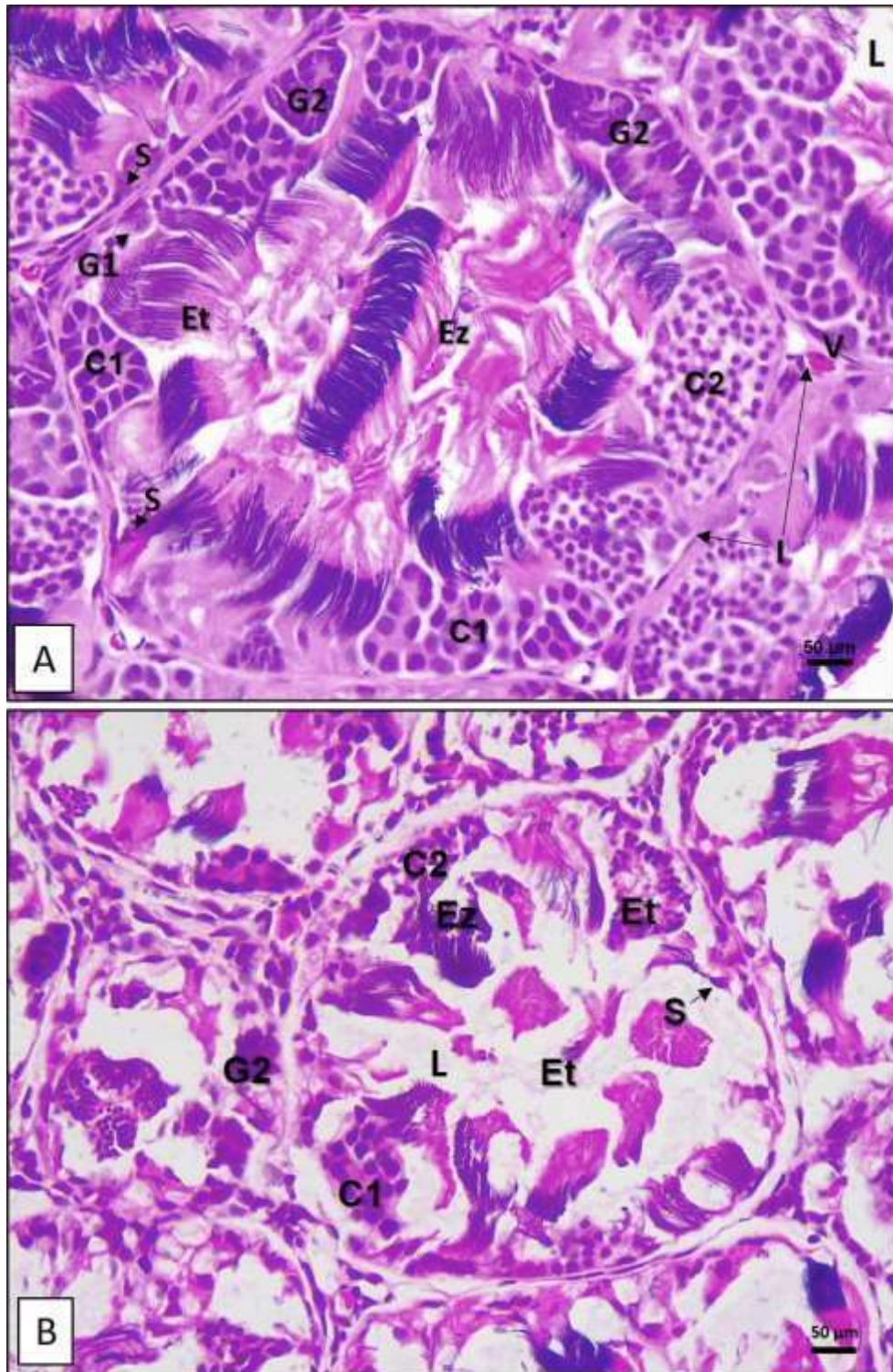


FIGURA 1 - Parênquima testicular de *Scinax fuscovarius*, destacando a estrutura locular contendo em seu interior os cistos espermatogênicos, representando espécimes da Zona Rural (A) e espécimes do PNI (B). I= interstício; L= lume; S= célula de Sertóli; V= vaso sanguíneo; G1= espermatogônia inicial; G2= espermatogônia tardia; C1= espermatócito inicial; C2= espermatócito tardio; Et= espermátide; Ez= espermatozóide.

TABELA 1. Análise quantitativa exploratória dos componentes testiculares em *Scinax fuscovarius*^a

PARÂMETROS	Zora Rural	PNI
Lóculo Principal	*68.5 ± 16.7	*56.4 ± 13.4
Lóculo Adjacente	*50.2 ± 16.4	*63.3 ± 13.4
Lúmen	20.0 ± 15.9	28.9 ± 10.8
Interstício	8.7 ± 2.5	9.0 ± 3.2
Espermatogônias	7.0 ± 8.0	8.4 ± 3.1
Espermatócitos	27.8 ± 10.6	25.9 ± 9.0
Espermátides	*42.4 ± 14.1	*31.7 ± 12.2
Espermatozoides	4.0 ± 4.7	3.6 ± 7.0

^aAnimal (RURAL = 7; PNI = 7); campos histológicos (n = 10). Os valores representam a média ± SD. *Parâmetros com resultados significativos (P<0,005).

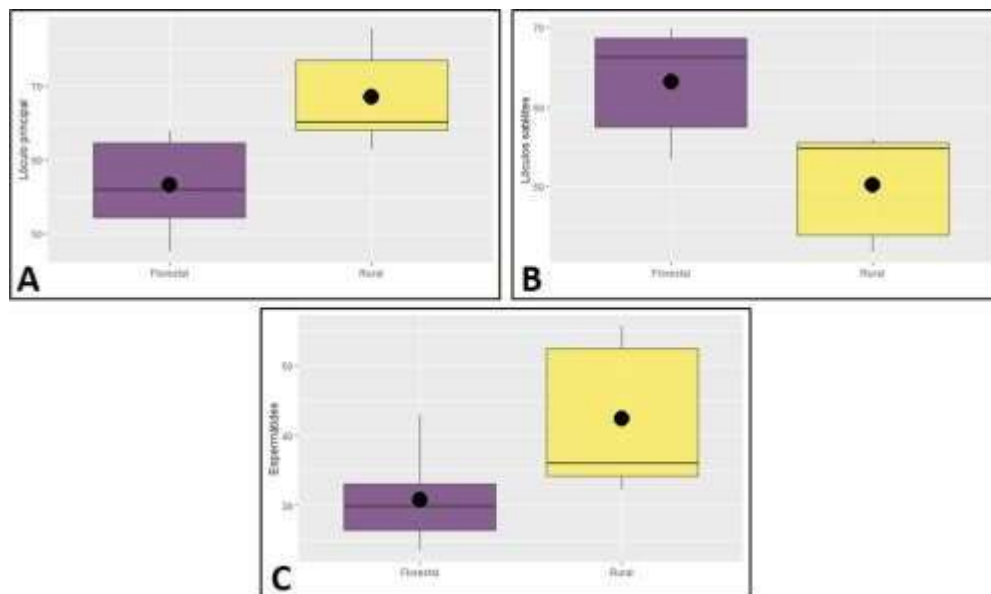


FIGURA 2 - Variação do volume relativo dos lóculos seminíferos e espermátides de *Scinax fuscovarius*, tendo como variável preditora os distintos ambientes (Rural e PNI). Linhas horizontais inferiores e superiores representam, respectivamente, o primeiro e o terceiro quartil e a linhas horizontais no interior representam a mediana. ANOVA one-way seguida do teste de Tukey (p<0.05).

DISCUSSÃO

Neste trabalho, observamos alterações nos parâmetros morfológicos ligados ao sistema genital masculino de *S. fuscovarius*, dentre os quais, diferenças no volume relativo ocupado pelos lóculos seminíferos, aqui discriminados em lóculo principal e adjacentes, além da diferença na proporção (volume relativo) de espermátides, sob influência do ambiente em que esses animais se encontram.

Trabalhos comparativos que mostram a interferência do ambiente natural no órgão genital de anuros adultos são escassos (Moresco et al, 2014; Rezende et al 2021) e ainda grande parte desses estudos que tratam dessa temática são realizados sob condições controladas (Zieri et al, 2015, Gregorio et al, 2018). Assim, o atual trabalho é bastante relevante por trazer novos dados sobre os aspectos reprodutivos de uma espécie nativa, de ampla abrangência territorial, em condições naturais.

Em relação aos lóculos seminíferos, encontramos lóculos principais mais volumosos nos animais capturados na região rural, o que também reflete no tamanho dessa estrutura, onde cada um dos lóculos se apresenta proporcionalmente maior, quando comparados com os animais do PNI. Moresco et al (2014), encontraram uma alta frequência de gônadas intersexuais em *Physalaemus cuvieri*, o que pode estar relacionado ao efeito residual persistente de agrotóxicos encontrados no próprio ambiente. Çakici et al (2015) observaram em *Bufo variabilis* que o inseticida Carbaril promoveu desde desarranjo na forma dos lóculos seminíferos e aumento dos espaços intersticiais até necrose das células germinativas, com efeito dose-dependente dessa substância. Nossos resultados também sugerem que o ambiente tem um alto grau de interferência na estrutura gonadal de *S. fuscovarius*.

Para as células da reprodutivas, encontramos maior volume relativo de espermátides em animais também da área rural, mostrando uma correlação positiva com o tamanho do lóculo seminífero. Em laboratório, a espécie *Rhinella schneideri* apresentou aumento no número de espermatogônias e espermátides, bem como diminuição do número de espermatozoides e da área locular quando tratados com o a substância antiandrogênica Flutamida (Gregorio et al, 2016), mostrando que essa substância atua como disruptor endócrino em organismos que vivem em ambientes contaminados. Em *S. fuscovarius*, o maior número de espermátides, células que passarão pelo processo de espermiogênese e que originarão os espermatozoides, pode estar relacionado ao mais alto investimento reprodutivo das espécies pertencentes à zona rural.

S. fuscovarius é uma espécie generalista e abundante em ambientes antropizados (Silva et al. 2011), sendo, por esse motivo, considerada indicador de qualidade ambiental. Além disso, a ocupação preferencial de nichos antropizados sugere maior aproveitamento dos recursos, porém, a abundância pode trazer uma elevada competição por parceiro sexual, o que pode explicar um maior investimento reprodutivo, que se manifesta nas condições morfológicas gonadais da espécie nesses dois tipos de ambientes.

CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível observar a influência ambiental na estrutura gonadal da espécie *S. fuscovarius*, tendo as espécies da região rural maior volume de lóculos seminíferos e de espermátides, o que reflete, respectivamente, no maior tamanho locular e maior número de espermátides no interior dos testículos, quando comparados aos espécimes do PNI. *S. fuscovarius* é uma espécie generalista, com alta taxa de ocupação de nichos antropizados, refletindo na abundância dessa espécie na região rural. Essa condição ecológica pode refletir num elevado investimento reprodutivo, que se manifesta nas condições morfológicas gonadais da espécie nesses dois tipos de ambientes. Essas alterações morfológicas colaboram com o status de indicadores de qualidade ambiental.

REFERÊNCIAS

- AB'SÁBER, A.N. 2003. **Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas**. Vol. 1. Ateliê Editorial.
- ASSUNÇÃO, J.V.; PESQUERO, C.R. **Dioxinas e furanos: origens e riscos**. Rev. Saúde Pública, v. 33, p. 5, 1999.
- BILA, D.M.; DEZOTTI, M. **Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências**. Química Nova. v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007.
- BRODEUR, J.C.; CANDIOTI, J.V. **Impacts of Agriculture and Pesticides on Amphibian Terrestrial Life Stages: Potential Biomonitor/Bioindicator Species for the Pampa Region of Argentina**. In Ecotoxicology and Genotoxicology. p.163-194, 2017.
- ÇAKICI, Ö. **Toxic effects of carbaryl on the histology of testes of *Bufo variabilis* (Anura: Bufonidae)**. Acta Herpetologica. v. 10, n. 1, p. 23-29, 2015.
- CATENAZZI, A. **State of the world's amphibians**. Annual Review of Environment and Resources. v. 40, p. 91-119, 2015.
- DUELLMAN, W.E., TRUEB, L. **Biology of Amphibia**. McGraw-Hill Book Company, New York. p. 670, 1999.
- ELIZALDE-VELÁZQUEZ A. et al. **Ecotoxicological Studies of Pharmaceuticals in Aquatic Organisms**. In: Gómez-Oliván L. (eds) **Ecopharmacovigilance**. The Handbook of Environmental Chemistry, springer, Cham environments. Integrative Comparative Biology. v. 51, p. 552–62, 2017.
- FEDER, M.E.; BURGGREN, W.W. **Skin Breathing in Vertebrates**. Scientific American. v. 253, n. 5, p. 126–142, 1985.
- FRANCO-BELUSSI L, et al. 2009. **Pigmentation in anuran testes: anatomical pattern and variation**. Anatomical Record, v. 292, p. 178-182, 2009.
- FRANCO-BELUSSI, L. et al. **Morphological effects of bacterial compounds on the testes of *Eupemphix nattereri* (Anura)**. Animal Biology. v. 64, p. 261-275, 2014.
- FRANCO-BELUSSI, L.; FANALI, L.Z.; DE OLIVEIRA, C. **UV-B affects the immune system and promotes nuclear abnormalities in pigmented and non-pigmented bullfrog tadpoles**. Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology.180:109-117. 2018.
- FREITAS, J.S.; TERESA, F.B.; ALMEIDA D.E. **Influence of temperature on the antioxidant responses and lipid peroxidation of two species of tadpoles (*Rhinella schneideri* and *Physalaemus nattereri*)**

exposed to the herbicide sulfentrazone (Boral 500SC®). *Comp. Biochem. Physiol. Part C.* v. 197, p. 32-44, 2017.

FREITAS, J.S. et al. **Effects of 2,4-D-based herbicide (DMA® 806) on sensitivity, respiration rates, energy reserves and behavior of tadpoles.** *Ecotoxicology and Environmental Safety.* p. 182, 2019.

GILROY, È.A.M. et al. **Behaviour of pharmaceuticals in spiked lake sediments – Effects and interactions with benthic invertebrates.** *Chemosphere.* v. 86, n. 6, p. 578–584, 2012.

GONÇALVES, M.W. et al. **Detecting genomic damages in the frog *Dendropsophus minutus*: preserved versus perturbed areas.** *Environ Sci Pollut Res.* v. 22, p. 3947–3954, 2014.

GREGORIO, L.S. et al. **Flutamide effects on morphology of reproductive organs and liver of Neotropical Anura, *Rhinella schneideri*.** *Aquatic Toxicology.* v. 176, p. 181–189, 2016.

GREGORIO, L.S. et al. **LPS-induced alterations in reproductive organs and liver pigmentation in the toad *Rhinella diptycha* (Bufonidae).** *Canadian Journal Of Zoology (ONLINE),* v. 96, p. 1336-1345, 2018.

KOLPIN, D.W. et al. **Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance.** *Environmental Science & Technology.* v. 36, n. 6, p. 1202–1211, 2002.

MCKINNEY, M.L. **Urbanization, Biodiversity and Conservation.** *Bioscience.* v. 52, p. 321-338, 2002.

MONTAGNER, C.C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R.D. **Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios.** *Quim. Nova.* v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2017.

MORESCO, R.M.; MARGARIDO, V.P.; OLIVEIRA, C. **A persistente organic pollutant related with unusual high frequency of hermaphroditism in the neotropical anuran *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826.** *Environmental Research.* v. 132, p. 6–11, 2014.

NATALE, G.S. et al. **Acute and chronic effects of Cr (VI) on *Hypsiboas pulchellus* embryos and tadpoles.** v. 72, p. 261–267, 2006.

OLIVEIRA, C. 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. 39-46, 2003.

OLIVEIRA, C.; ZIERI, R. **Pigmentação testicular em *Physalaemus nattereri* (Steindachner) (Amphibia, Anura) com observações anatômicas sobre o sistema pigmentar extracutâneo.**

- Revista Brasileira de Zoologia. v. 22, n. 2, p. 454-460, 2005. PÉREZ IGLESIAS, J.M. et al. **Are the damaging effects induced by the imazethapyr formulation Pivot® H in *Boana pulchella* (Anura) reversible upon ceasing exposure?** Ecotoxicology and environmental safety. v. 148, p. 1-10, 2018.
- RELYEA, R.A.; JONES, D.K. **The toxicity of roundup original max to 13 species of larval amphibians.** Environmental Toxicology and Chemistry. v. 28, n. 9, p. 2004–2008, 2009.
- REZENDE, W.R.; et al. **Testicular morphometric changes in neotropical anurans from agroecosystems.** Environmental Pollution, v. 271, p. 116-265, 2021.
- ROCHA, E.; MONTEIRO, R. A. F.; PEREIRA, C. A. **Liver of the brown trout, *Salmo trutta* (Teleostei, Salmonidae): a stereological study at light and electron microscopic levels.** The Anatomical Record, v. 247, n. 3, p. 317-328, 1997.
- ROCHA, D.A.M. et al. **Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) in Brazilian cow milk.** Science of the Total Environment. v. 572, p. 177–184, 2016.
- SANTOS, L.R.S. et al. **Effects of thermal stress on hepatic melanomacrophages of *Eupemphix nattereri* (Anura).** The Anatomical Record. v. 297, p. 864-875, 2014.
- SEMLITSCH, R.D., BODIE, J.R. **Biological Criteria for Buffer Zones around Wetlands and Riparian Habitats for Amphibians and Reptiles.** Conservation Biology, v. 17, p. 1219-1228, 2003.
- SILVA, R.A; MARTINS, I.A; ROSSA-FERES, D.C. **Environmental heterogeneity: Anuran diversity in homogeneous environments.** Zoologia 28 (5): 610–618, 2011.
- SILVA, H.K.S. **Caracterização celular dos testículos de *Leptodactylus macrosternum* (anura: leptodactylidae).** Monografia (Curso de Ciências Biológicas)- centro de educação e saúde/UFCG, 2016
- SROGI, K. **Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in environmental and human samples: a review.** Environmental Chemistry Letters. v. 6, n. 1, p. 1–28, 2008.
- TABOGA, S.R.; DOLDER, M.A. H. **Análise histológica da espermatogênese de *Hyla ranki* (Amphibia, Anura, Hylidae).** Revista Brasileira de Ciências Morfológicas. v. 2, p. 66-71, 1991.
- VASCONCELOS, T.S.; NASCIMENTO, B.T.M.; PRADO, V.H.M. **Expected impacts of climate change threaten the anuran diversity in the Brazilian hotspots.** *Ecol* v.00. p. 1–13, 2018.

VILAMAIOR, P.S.L.; TABOGA S.R.; CARVALHO H.F. **The postnatal growth of the rat ventral prostate in Wistar rats: a stereological and morphometrical study.** The Anatomical Record. v. 288A, p. 885–892, 2006.

WEIBEL, E.R. **Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs.** Lab Invest. v. 12, p. 131–155, 1978.

ZAR, J. **Biostatistical analyses.** Printice Hall, New Jersey, 663p. 1999.

ZIERI, R. et al. **Sex hormones change visceral pigmentation in Eupemphix nattereri (Anura): effects in testicular melanocytes and hepatic melanomacrophages.** Animal Biology. v. 65, p. 21-32, 2015.