

## Impactos da degradação ambiental sobre a reprodução de *Scinax fuscovarius* (Anura, Hylidae): uma abordagem morfológica

Clara Fernanda Barbosa Alves<sup>1</sup>, Ana Luiza Lima Dorigo Bonifácio<sup>1</sup>, Michel Varajão Garey<sup>2</sup>, Rodrigo Zieri<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>IFSP – Campus Barretos. clara.fernanda@aluno.ifsp.edu.br

<sup>2</sup>UNILA – Universidade Federal da Integração Latino - Americana – Foz do Iguaçu - PR

Palavras-chave: Anuros, Bioindicadores, Degradação ambiental, Testículos.

### Introdução

Os anfíbios apresentam características específicas como permeabilidade cutânea e ciclo de vida dependente dos ambientes aquático e terrestre, tornando-os extremamente vulneráveis quanto as alterações ambientais (DUELLMAN e TRUEB, 1999). Ademais, essas características específicas permitem que os anfíbios sejam considerados bons bioindicadores de qualidade ambiental pois apresentam uma rápida resposta a agentes estressores como temperatura, infecção bacteriana, hormônios sexuais, fármacos, agrotóxicos, metais potencialmente tóxicos, dentre outros agentes xenobióticos que afetam o organismo desses animais causando, letalidade, morbidade, impactos na função endócrina, expressão gênica e inclusive na reprodução, que nesse caso, pode provocar alterações na produção dos gametas. Em consequência desses fatores e, 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). Entretanto, trabalhos que tratam dos efeitos de contaminantes sobre os órgãos reprodutivos em anuros, com possíveis alterações estruturais 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. A presente pesquisa tem como hipótese que regiões naturais mais degradadas afetem diretamente os anuros em razão do 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.

### Objetivos

O objetivo do presente trabalho foi investigar, por meio de análises morfológicas, a resposta dos testículos, órgão 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).

### Material e Métodos

Testículos de 14 machos adultos de *Scinax fuscovarius* (sete indivíduos por região), em atividade de vocalização, foram coletados em corpos d'água em duas diferentes áreas no município de Foz do Iguaçu – PR, Zona Rural e Parque Nacional do Iguaçu (PNI), durante o verão de 2019 e 2020 (SisBio Nº 60073, 42012; Licença para coleta no PNI: 70732-1). Os testículos dos animais foram removidos e imersos em solução fixadora Karnovsky e mantidos em solução alcoólica 70% pois, posteriormente foram encaminhados para a rotina histológica, seguindo o protocolo para desidratação em série alcoólica e inclusão em parafina. Secções de 3µm foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) e fotografadas em microscópio de luz com câmera fotográfica acoplada. Para as análises estereológicas, examinou-se dez campos histológicos de cada animal (400x), sobrepostos por graticulado digital com 252 intersecções (WEIBEL, 1978), para comparar a porcentagem de células germinativas (espermatogônias I e II, espermátocitos I e II, espermátides iniciais e

tardias e espermatozoides). Para as análises estatísticas, utilizou-se o programa R version 2.11.1 (R Development Core Team, 2010). As análises de normalidade e homogeneidade dos dados foram realizadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, e transformado por meio de logaritmo [ $\log(xp1)$ ] para valores não homogêneos. Também, foi feita a análise de variância (ANOVA One way) seguida do teste a posteriori de Tukey para identificar diferenças estatísticas entre os parâmetros analisados e os diferentes tipos de ambientes. Tiveram validade estatísticas valores de  $P < 0.05$ .

## Resultados e Discussão

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

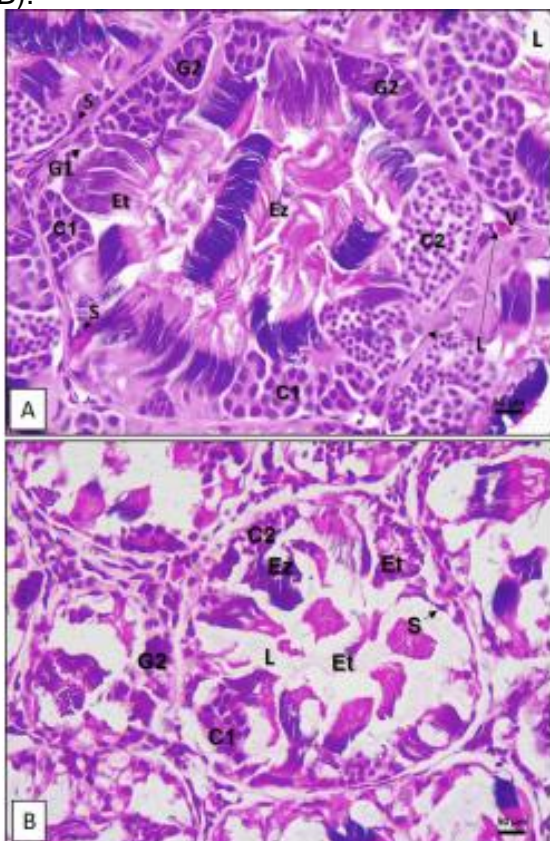


FIGURA 1 - Parênquima testicular de *Scinax fuscovarius*, destacando a estrutura locular contendo em seu interior os cistos espermatogênicos, representando espécimes da Zona Rural (A) e espécimes do PNI (B). I= interstício; L= lúmen; S= célula de Sertoli; V= vaso sanguíneo; G1= espermatogônia inicial;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

Ademais, foram realizadas as análises dos parâmetros morfológicos do estroma testicular, tais como a proporção relativa das células da linhagem espermatogênica: espermatogônias, espermátocitos, espermátides e espermatozoides, além da proporção relativa ocupada pelo lúmen, interstício testicular e lóculos seminíferos, que foram discriminados neste trabalho como lóculos centrais e adjacentes, referente a espécie *S. fuscovarius* em relação a influência dos ambientes Rural e PNI, o qual, foi possível encontrar diferenças significativas entre esses parâmetros quando comparado os espécimes das duas áreas (Tabela 1).

TABELA 1. Análise quantitativa exploratória dos componentes testiculares em *Scinax fuscovarius*<sup>a</sup>

Parâmetros	Zona Rural	PNI
Lóculo Central	*68.5 ± 16.7 (29,9%)	*56.4 ± 13.4 (24,8%)
Lóculo Adjacente	*50.2 ± 16.4 (21,9%)	*63.3 ± 13.4 (27,8%)
Lúmen	20.0 ± 15.9 (8,7%)	28.9 ± 10.8 (12,7%)
Interstício	8.7 ± 2.5 (3,8%)	9.0 ± 3.2 (3,9%)
Espermatogônias	7.0 ± 8.0 (3%)	8.4 ± 3.1 (3,6%)
Espermátocitos	27.8 ± 10.6 (12,1%)	25.9 ± 9.0 (11,3)
Espermátides	*42.4 ± 14.1 (18,5%)	*31.7 ± 12.2 (13,9%)
Espermatozoides	4.0 ± 4.7 (1,7%)	3.6 ± 7.0 (1,6%)

<sup>a</sup>Animal (RURAL = 7; PNI = 7); campos histológicos (n = 10). Os valores representam a média ± SD.  
<sup>b</sup>Parâmetros com resultados significativos ( $P < 0,005$ ).

Desta forma, com base nos parâmetros analisados, observamos maior proporção relativa para os lóculos seminíferos e espermátides em organismos do ambiente rural, quando comparados aos animais do PNI, representando, respectivamente, maior tamanho da estrutura locular e maior número de espermátides no interior dos testículos (Figura 2, A-C).

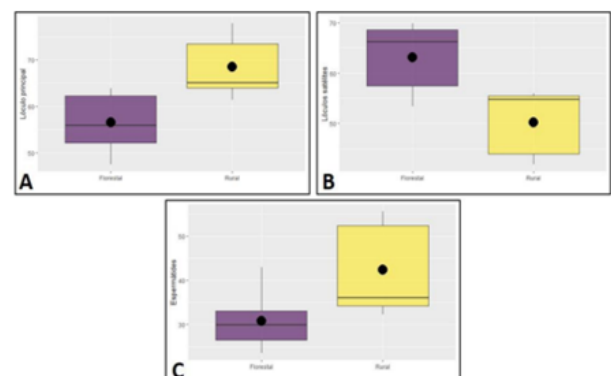


FIGURA 2 - Variação da proporção relativa dos lóculos seminíferos e espermátides de *Scinax fuscovarius*, tendo como variável preditora os distintos ambientes (Rural e PNI). Linhas horizontais inferiores e superiores representam, respectivamente, o primeiro e o terceiro quartil e a linhas horizontais no interior representam a mediana. ANOVA one-way seguida do teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

Nossos resultados mostram que o ambiente interfere na estrutura gonadal da espécie *S. fuscovarius*, como também foi observado em uma outra espécie denominada *Bufotes variabilis*, onde o inseticida carbaril promoveu desde desarranjo na forma dos lóculos seminíferos e aumento dos espaços intersticiais até necrose das células germinativas (Çakici, et al, 2015). Em relação ao maior número de espermátides presentes no interior dos testículos em *S. fuscovarius*, foi possível observar também essa alteração nas células da linhagem reprodutiva em *Rhinella schneideri*, que apresentou aumento no número de espermatogônias e espermátócitos, bem como a diminuição no número de espermatozoides e da área locular quando tratados com a substância Flutamida (Gregorio et al, 2016), evidenciando que essa substância atua como disruptor endócrino em organismos que vivem em ambientes contaminados.

## Conclusões

Neste trabalho, foi possível observar a influência ambiental na estrutura gonadal da espécie *S. fuscovarius* que apresentou maior número de espermátides e maior tamanho locular nos organismos de ambiente rural. *S. fuscovarius* é abundante em nichos antropizados e essa condição ecológica pode refletir num elevado investimento reprodutivo que se evidencia nas alterações morfológicas gonadais.

## Agradecimentos

Agradecemos ao IFSP – Campus Barretos pela concessão da bolsa de IC (PIBIFSP edital nº 37/2021, edição 2022). Ao professor Dr. Michel Varajão Garey (UNILA – PR) pela captura dos animais e análises estatísticas dos dados. Aos técnicos de laboratório do IFSP pelo auxílio.

## Referências Bibliográficas

ÇAKICI, Ö. **Toxic effects of carbaryl on the histology of testes of *Bufotes 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.

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

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.

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