

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo  
desta dissertação será  
disponibilizado somente  
a partir de 28/02/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
Campus de São José do Rio Preto

Bruno Serra de Lacerda Valverde

Efeitos sistêmicos viscerais e somáticos do Benzo-[alfa]-pireno em  
*Physalaemus nattereri* mediante as vias de exposição oral e  
injetável

São José do Rio Preto

2018

Bruno Serra de Lacerda Valverde

Efeitos sistêmicos viscerais e somáticos do Benzo-[alfa]-pireno em  
*Physalaemus nattereri* mediante as vias de exposição oral e  
injetável.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Classius de Oliveira

São José do Rio Preto

2018

Valverde, Bruno Serra de Lacerda.

Efeitos sistêmicos viscerais e somáticos do Benzo-[alfa]-pireno em *Physalaemus nattereri* mediante as vias de exposição oral e injetável / Bruno Serra de Lacerda Valverde . -- São José do Rio Preto, 2018  
70 f. : il.

Orientador: Classius de Oliveira  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e Ciências  
Exatas

1. Ecologia animal. 2. Anuro. 3. Poluição. 4. Eritrócitos. 4. Fígado. 5.  
Intestino delgado. 6. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. I.  
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de  
Biociências, Letras e Ciências Exatas. II. Título.

CDU – 597.8

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE  
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Bruno Serra de Lacerda Valverde

Efeitos sistêmicos viscerais e somáticos do Benzo-[alfa]-  
pireno em *Physalaemus nattereri* mediante as vias de  
exposição oral e injetável.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

### Comissão Examinadora

Prof. Dr. Classius de Oliveira

UNESP – São José do Rio Preto

Orientador

Prof. Dr. André Luis da Cruz

Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Irene Bastos Franceschini Vicentini

UNESP – Bauru

São José do Rio Preto

28 de fevereiro de 2018

*Dedico este trabalho para as futuras gerações.*

*Que ele inspire suas pesquisas.*

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador Prof. Dr. Classius de Oliveira pela oportunidade dada a mim, durante minha graduação e pós-graduação, em ser membro do Laboratório de Anatomia Comparada. Sua confiança e ensinamentos lapidaram e moldaram o pesquisador que sou hoje e isso possibilitou a execução deste e de muitos outros trabalhos.

A Dra. Lilian Franco Belussi, minha coorientadora durante minha trajetória no Laboratório de Anatomia Comparada. Agradeço por todos os auxílios, companheirismo e ensinamentos que possibilitaram a execução de muitos trabalhos, e que contribuíram para eu me tornar o pesquisador que sou hoje.

Aos membros do Laboratório de Anatomia Comparada (Arleto Tenório dos Santos; Erick Augusto Bassi; Gabriel da Cunha Canevari; Lara Salgueiro de Gregório; Lara Zácari Fanali; Luciana Trevizan; Maysa Succi Domingues; Rinneu Elias Borges e Wadson Rodrigues Rezende) pela amizade, pela colaboração, pelos ensinamentos e pela paciência durante a minha trajetória científica junto ao Laboratório.

Aos meus muitos amigos, colegas e familiares que sempre estão ao meu lado proporcionando momentos de felicidades, reflexões e risadas não importando a distância. Suas amizades são muito importantes para mim e auxiliaram, diretamente e indiretamente, na execução deste trabalho de mestrado.

Aos meus pais pelos ensinamentos, tanto intelectual como de vida, que me moldaram e fizeram ser o que sou. Vocês sempre me apóiam em todas as

milhas escolhas e decisões e isso é o mais do que suficiente para mim. Amo  
você.



**“O que prevemos raramente ocorre; o que menos  
esperamos geralmente acontece.”**

**(Benjamin Disraeli)**

## RESUMO

Os anuros se encontram em declínio populacional, sendo uma das causas atribuídas à poluição de seus habitats. Características como ausência de cascas nos ovos, ciclo de vida dependente da água e elevada permeabilidade tegumentar tornam os anuros suscetíveis a compostos químicos presentes no ecossistema aquático e terrestre. Dentre esses compostos temos o benzo-[alfa]-pireno (BaP) um contaminante ambiental amplamente encontrado no ambiente em que os anuros vivem, o qual possui efeitos carcinogênicos e tóxicos. Esses efeitos são observados nos anuros, especificamente nas células pigmentares internas, no epitélio intestinal e nas células sanguíneas; sendo dessa forma considerados biomarcadores para o BaP. O objetivo desse estudo foi analisar os efeitos sistêmicos do BaP em *Physalaemus nattereri*, e se esses efeitos são influenciados pela via de exposição. Para isso foram coletados 24 espécimes, os quais receberam 3mg/Kg de BaP, diluído em óleo mineral, ou apenas o óleo (controle), por uma via oral ou injetável. Nossos resultados demonstraram que a via de exposição influencia nos efeitos do BaP sobre as células pigmentares, as quais apresentaram um aumento e uma diminuição em sua área pigmentar; e sobre a espessura do epitélio intestinal, que apresentou uma diminuição mais acentuada na via oral do que na injetável. O BaP também é responsável por aumentar a frequência de anormalidades nucleares, no entanto essas não foram influenciadas pela via de exposição, demonstrando efeitos genotóxicos do BaP independente da via de exposição. Esses resultados demonstram que o BaP tem o potencial de causar um efeito sistêmico, sendo evidenciado pelas alterações morfológicas nas células pigmentares internas do fígado e do testículo, no epitélio intestinal e nas células sanguíneas de *P. nattereri*.

**Palavras chave:** Eritrócitos, Fígado, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos, Intestino Delgado, Testículo.

## **ABSTRACT**

*Anurans are in declining population, being one of the causes attributed to the pollution of their habitats. Characteristics such as absence of eggshells, water-dependent life cycle and high skin permeability make anurans susceptible to chemical compounds present in aquatic and terrestrial ecosystem. Among these compounds we found benzo-[alpha]-pyrene (BaP) an environmental contaminant widely found in the environment in which anurans live. BaP present carcinogenic and toxic effects in animals. These effects are observed in anurans, specifically in the internal pigment cells, in the intestinal epithelium and in the blood cells; being thus considered biomarkers for BaP. The aim of this study was to analyze the systemic effects of BaP on *Physalaemus nattereri*, and whether these effects are influenced by the route of exposure. For this, 24 specimens were collected, which received 3mg/kg of BaP diluted in mineral oil, or just the oil (control), by an oral or injectable route. Our results demonstrated that the route of exposure influences the effects of BaP on the pigmentary cells, which presented an increase and a decrease in their pigmentary area; and on the thickness of the intestinal epithelium, which presented a more pronounced decrease in the oral route than in the injectable. BaP is also responsible for increasing the frequency of nuclear abnormalities, but these were not influenced by the route of exposure, demonstrating genotoxic effects of BaP independent of the route of exposure. These results demonstrate that BaP has the potential to cause a systemic effect, being evidenced by the morphological alterations in the internal pigment cells of the liver and the testis, in the intestinal epithelium and in the blood cells of *P. nattereri*.*

*Keywords: Erythrocytes, Liver, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Small Intestine, Testis.*

## Lista de símbolos e abreviações

- **cm:** centímetros.
- **g:** gramas.
- **g/L:** gramas/litro, gramas por litro.
- **h:** horas.
- **LPS:** lipopolissacarídeo.
- **M:** molar.
- **mg/Kg:** miligrama/quilograma, miligrama por quilograma.
- **mL:** mililitros.
- **n:** número amostral, número de espécimes.
- **Nle<sup>4</sup>, D-Phe<sup>7</sup>- $\alpha$ -MSH:** análogo do hormônio estimulante de melanócitos.
- **SE:** *Standard error*.
- **sp:** espécie.
- **$\mu\text{m}$ :** micrometros.
- **$\mu\text{m}^2$ :** micrometros quadrados.
- **°C:** graus Celsius.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	09
<b>ABSTRACT</b> .....	10
<b>I – Introdução Geral</b> .....	14
Anuros como bioindicadores ambientais.....	14
<i>Phsalaemus nattereri</i> como modelo de estudo.....	14
Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos: benzo-[alfa]-pireno.....	15
Efeitos sistêmicos de contaminantes nos anuros.....	16
<i>Efeitos de contaminantes no intestino de anuros:</i> .....	17
<i>Efeitos de contaminantes nas células sanguíneas:</i> .....	17
<i>Efeitos de contaminantes nas células pigmentares internas:</i> .....	19
<b>II – Objetivos</b> .....	20
Geral.....	20
Específicos.....	21
<b>III – Materiais e Métodos</b> .....	21
Experimentos <i>in vivo</i> .....	21
<i>Coleta dos espécimes</i> .....	21
<i>Experimento com o benzo-[alfa]-pireno</i> .....	21
Análises.....	23
<i>Quantificação da área de melanina:</i> .....	23
<i>Quantificação da pigmentação na superfície dos órgãos:</i> .....	23
<i>Morfometria do epitélio intestinal:</i> .....	24
<i>Quantificação de anormalidades nucleares:</i> .....	25

<b>IV – Resultados</b> .....	26
Resultados do intestino e das células sanguíneas.....	28
Manuscrito 1: Distintas vias de exposição do benzo-[alfa]-pireno podem potencializar os efeitos genotóxicos e morfológicos no anuro <i>Physalaemus nattereri</i> .....	29
Resultados da pigmentação interna.....	42
Manuscrito 2: Exposição aguda ao benzo-[alfa]-pireno altera a pigmentação melânica do anuro <i>Physalaemus nattereri</i> : efeitos subletais nos melanócitos e melanomacrófagos.....	43
<b>V – Conclusões</b> .....	61
<b>VI – Referências bibliográficas</b> .....	62

## I – INTRODUÇÃO GERAL

### **Anuros como bioindicadores ambientais:**

A classe *Amphibia* surgiu a 350 milhões de anos, tendo sido os primeiros vertebrados a alcançarem o ambiente terrestre, estando ainda dependentes do ambiente aquático ou de microhabitats úmidos para a reprodução (Duellman & Trueb, 1994; Vitt & Caldwell, 2014). Atualmente a classe *Amphibia*, subclasse Lissamphibia, é constituída por três ordens (7728 sp.): Anura (sapos, rãs e pererecas - 6806 sp.), Caudata (salamandras e tritões - 715 sp.) e Gymnophiona (cecílias - 207 sp.); os quais compartilham características como: ciclo de vida bifásico com um estágio larval aquático e um adulto terrestre, e pele glandular com ausência de estruturas epidérmicas (Duellman & Trueb, 1994; Kardong, 2012; Frost, 2017).

Desde a década de 1980, herpetólogos tem relatado o declínio populacional dos anuros e a partir disso, estudos foram intensificados para se atribuir os fatores desse declínio (Mattoon, 2001; Collins & Stofer, 2003). Dentre estes fatores temos: alterações de habitat (Blaustein & Wake, 1995; Delis *et al.*, 1996; Bruhl *et al.*, 2013; Lipinski *et al.*, 2016), doenças emergentes (Carvalho *et al.*, 2017), introdução de espécies invasoras (Blaustein & Wake, 1995) e a radiação ultravioleta (Lipinski *et al.*, 2016).

Por se encontrarem associados aos ambientes aquático e terrestre os anuros são considerados importantes bioindicadores da qualidade do meio ambiente, uma vez que apresentam ovos sem casca e elevada permeabilidade cutânea, com rica vascularização da pele; o que possibilitam a absorção de compostos químicos presentes na água, solo ou no ar (Blaustein & Wake, 1995; Young *et al.*, 2004; DeGarady & Halbrook, 2006; Blaustein & Bancroft, 2007).

### ***Physalaemus nattereri* como modelo de estudo:**

*Physalaemus nattereri* (Steindachener, 1863) é um anuro da família Leptodactylidae, subfamília Leiuperinae, com ampla distribuição geográfica ao longo das regiões central e sudeste do Brasil, oeste da Bolívia e do Paraguai (Aquino *et al.*, 2004). A espécie apresenta hábito alimentar carnívoro, especificamente insetívoro e é caracterizada pela presença de duas macroglândulas na região inginal (Lenzi-Mattos *et al.*, 2005; Araújo *et al.*, 2009).

Esta espécie tem sido utilizada como um modelo experimental para estudos em laboratório, visto que se comporta muito bem às condições laboratoriais devido a características como, fácil manipulação e boa adaptabilidade a cativeiro, onde se alimenta “*ad libitum*” (Franco-Belussi *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2014; Zieri *et al.*, 2015; Franco-Belussi *et al.*, 2016). Além disso, a espécie apresenta ampla ocorrência na região sudeste do Brasil (Aquino *et al.*, 2004), o que possibilita a coleta de exemplares com número amostral suficiente para a execução de experimentos laboratoriais.

### **Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos: benzo-[alfa]-pireno:**

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) são uma classe de compostos químicos caracterizados pela presença de dois ou mais anéis aromáticos (benzeno) condensados (IPCS, 1998; Netto *et al.*, 2000). Esta classe apresenta mais de 100 compostos químicos, os quais são originados a partir da queima incompleta de matéria orgânica, tendo como fonte de origem: emissões industriais de aço, alumínio e ferro; fumaça do tabaco; incêndios florestais; processamento de carvão, óleo e gás natural; e exaustão de veículos automotores (IPCS, 1998; ATSDR, 2011).

Dentre os HPAs, o benzo-[alfa]-pireno (BaP) é o mais conhecido e estudado (Caruso & Alaburda, 2008) devido sua propriedade carcinogênica, sendo classificado como agente de grupo 1 – carcinogênico para humanos – pela *International Agency for*



*Research on Cancer* (IARC, 2013). Este composto químico pode ser encontrado na água, nos animais, no ar e nas plantas o que possibilita sua absorção por diferentes vias de exposição (Wilcke *et al.*, 2003; Nasr *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2011).

O BaP, assim como os HPAs, é lipossolúvel e pode ser absorvido naturalmente por via cutânea, oral ou respiratória (Netto *et al.*, 2000). Após sua absorção o BaP é metabolizado pelo organismo (Autrup *et al.*, 1977, 1982; Lemaire *et al.*, 1990) e durante esse processo são gerados metabólitos – grupos: diol, epóxido, fenol, hidróxi e quinonas – (Selkirk, 1977; Gelboin, 1980), os quais são responsáveis por ocasionar efeitos adversos que incluem: carcinogênese, citotoxicidade, estresse oxidativo e mutagênese (Gelboin, 1980; Quaroni & Isselbacher, 1981; Shimizu *et al.*, 2000; Costa *et al.*, 2010).

Esses efeitos adversos sofrem alterações decorrentes do tempo e da via de exposição do BaP (Lemaire *et al.*, 1992a; De Oliveira *et al.*, 2017). Além disso, a via de exposição também influencia no tempo de metabolismo do BaP (Lemaire *et al.*, 1990, 1992b) o que influencia no seu tempo permanência no organismo e na geração de metabólitos.

### **Efeitos sistêmicos de contaminantes nos anuros:**

Como os anuros encontram-se associados ao ecossistema aquático e terrestre (Blaustein & Wake, 1995; Blaustein *et al.*, 2003), sua exposição a contaminantes ambientais, como o BaP, pode ocorrer por diferentes vias naturais; o que influencia nos seus efeitos adversos (Lemaire *et al.*, 1992a).

Esses efeitos são observados em diferentes sistemas de anuros – digestório, circulatório e reprodutor e são analisados utilizando, como ferramenta, os biomarcadores morfológicos; que incluem: o epitélio intestinal, os eritrócitos e as células pigmentares (Sadinski *et al.*, 1995; De Oliveira *et al.*, 2017; Fanali *et al.*, 2017).

### *Efeitos de contaminantes no intestino de anuros:*

O intestino delgado é um dos órgãos que compõem o sistema digestório dos anuros, juntamente com a cavidade oral, faringe, esôfago, estômago e intestino grosso. Esse órgão, nos anuros, é composto por quatro camadas histológicas: serosa, muscular, submucosa e mucosa. A camada mucosa corresponde à porção epitelial do órgão, sendo constituída por um epitélio colunar simples, com borda em escova, intercalado com células caliciformes (Duellman & Trueb, 1994; Stevens & Hume, 1995). A função desse órgão está relacionada com absorção de partículas nutritivas, complementação e finalização da atividade digestiva (Duellman & Trueb, 1994; Zug *et al.*, 2001).

Alterações morfológicas no intestino delgado são observadas em anuros expostos a compostos agrícolas, como: fungicidas, herbicidas, inseticidas e nitratos. Essas alterações incluem: edema, hemorragia, inflamação, má formação no órgão, necrose e vacuolização das células epiteliais (Krishnamurthy *et al.*, 2008; Lenkowski *et al.*, 2010; Çakici, 2014, 2016). O BaP também induz alterações morfológicas, sendo elas o aumento e a diminuição na espessura do epitélio (Fanali *et al.*, 2017).

Estudos utilizando peixes (James *et al.*, 1997; Lemaire *et al.*, 1990, 1992b; Van Veld *et al.*, 1988) e mamíferos (Autrup *et al.*, 1977; Stohs *et al.*, 1977; Autrup *et al.*, 1982; Cavret & Feidt, 2005) demonstraram a capacidade de órgãos extra-hepáticos, como o intestino delgado, em metabolizar o BaP; sendo esse metabolismo desempenhado pelas células epiteliais (Stohs *et al.*, 1977; Cavret & Feidt, 2005).

Dessa forma o intestino delgado e o seu epitélio, estão sujeitos aos efeitos adversos do BaP, os quais incluem alterações morfológicas e ultraestruturais (Fair & Fortner, 1987; Lemaire *et al.*, 1992a; Yuen *et al.*, 2007; Fanali *et al.*, 2017).

### *Efeitos de contaminantes nas células sanguíneas:*

Os eritrócitos correspondem a um dos três elementos celulares presentes na corrente sanguínea dos anuros, juntamente com leucócitos e trombócitos (Duellman & Trueb, 1994; Claver & Quaglia, 2009). A análise de amostras sanguíneas e a caracterização morfológica dos eritrócitos têm sido utilizadas para se verificar o status fisiológico dos animais, frente a agentes tóxicos (citotóxicos, genotóxicos e hematotóxicos; Fenech, 2007; Claver & Quaglia, 2009; Strunjak-Perovic *et al.*, 2010; Muranli & Guner, 2011; Lajmanovich *et al.*, 2014; Sayed, 2015).

A caracterização do núcleo de eritrócitos, quanto à presença de anormalidades nucleares, tem sido uma das principais ferramentas para verificar os efeitos de compostos químicos, dentre esses: B $\alpha$ P, cromo, herbicidas e inseticidas; os quais induzem um aumento na frequência de anormalidades nucleares (Cabagna *et al.*, 2006; Yin *et al.*, 2009; Domingues *et al.*, 2010; Lajmanovich *et al.*, 2014; Pérez-Iglesias *et al.*, 2014, 2016).

O micronúcleo (MN) é uma anormalidade nuclear originada a partir da fragmentação de parte ou de todo um cromossomo durante a divisão nuclear, especificamente na anáfase, devido à exposição de compostos genotóxicos (Fenech, 2007; Muranli & Guner, 2011). Estes cromossomos, ou fragmentos de cromossomo estão envolvidos por uma lâmina nuclear e apresentam características morfológicas similares ao núcleo (Fenech *et al.*, 2011). Dentre outras anormalidades nucleares podemos citar: *bud* nuclear, que apresenta a mesma morfologia do MN, porém encontra-se conectado ao núcleo por um pedúnculo nucleoplasmático; células binucleadas, que exibem dois núcleos; e ponte nucleoplasmática, caracterizada por dois núcleos interconectados devido a um despareamento de DNA (Carrasco *et al.*, 1990; Fenech, 2007; Lajmanovich *et al.*, 2014; Alimba & Bakare, 2016; Franco-Belussi *et al.*, 2016; Pérez-Iglesias *et al.*, 2016).

### *Efeitos de contaminantes nas células pigmentares internas:*

Os vertebrados ectotérmicos (peixes, anfíbios e répteis) apresentam células pigmentares contendo melanina interna, frequentemente encontrados em diferentes órgãos e tecidos (Roberts, 1975; Agius, 1980; Franco-Belussi *et al.*, 2009; Moresco & Oliveira, 2009). Estas células apresentam a capacidade de sintetizar melanina, por um processo denominado melanogênese, e armazenar melanina no interior de melanosomos (Roberts, 1975; Purrello *et al.*, 2001; Colombo *et al.*, 2011; Videira *et al.*, 2013).

Em anuros é possível distinguir duas linhagens de células pigmentares: os melanócitos e os melanomacrófagos (Colombo *et al.*, 2011; Franco-Belussi *et al.*, 2013). Os melanócitos são células derivadas da crista neural ectodérmica, similares aos melanócitos dérmicos, sendo frequentemente observados no: coração, intestino, mesentério, nervos, peritônio parietal, pulmões e nos rins (Zuasti *et al.*, 1998; Moresco & Oliveira, 2009; Colombo *et al.*, 2011; Franco-Belussi & Oliveira, 2011; Franco-Belussi *et al.*, 2017). A função dos melanócitos esta relacionada com a própria função da melanina, que atua na neutralização de agentes bacterianos e na proteção contra radicais livres (Wolk *et al.*, 1985; Sichel, 1988; Hoogduijin *et al.*, 2004).

Os melanomacrófagos, por sua vez, são derivados de células-tronco hematopoiéticas, sendo encontrados em órgãos hematopoiéticos, como o baço e o fígado (Roberts, 1975; Agius, 1980). Os melanomacrófagos apresentam atividade fagocítica (Christiansen *et al.*, 1996) e atuam na detoxificação de xenobióticos; a partir de uma ação enzimática, que age no processo de biotransformação/detoxificação, conjunta com a melanina, que atua na neutralização de compostos tóxicos (Sichel, 1988; Fenoglio *et al.*, 2005; Pérez-Iglesias *et al.*, 2016).

## V – Conclusões

- Nosso estudo utiliza as células melânicas internas, o epitélio intestinal e os eritrócitos como biomarcadores morfológicos para os efeitos do BaP em anuros;
- O BaP é responsável por alterar a pigmentação interna, a espessura média do epitélio intestinal e a frequência de anormalidades nucleares nos eritrócitos em *P. nattereri*;
- As alterações são influenciadas pela via de exposição, demonstrando a importância da utilização de diferentes vias para se avaliar os efeitos adversos do BaP;
- Nossos resultados demonstram que o BaP não atua especificamente sobre um tipo celular/órgãos, mas que apresenta um efeito sistêmico geral, o que pode comprometer a homeostase do animal.

## VI – Referências Bibliográficas:

AGIUS, C. 1980. Phylogenetic development of melano-macrophage centres in fish. **Journal of Zoology**. 191: 11-31.

ALIMBA, C.G.; BAKARE, A.A. 2016. In vivo micronucleus test in the assessment of cytogenotoxicity of landfill leachates in three animal models from various ecological habitats. **Ecotoxicology**. 25: 310-319.

AQUINO, L.; REICHLE, S.; SILVANO, D.; SCOTT, N. 2004. *Physalaemus nattereri*. The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T57267A11597340.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T57267A11597340.en>

Acesso em: Janeiro de 2018

ARAÚJO, M.S.; BOLNICK, D.I.; MARTINELLI, L.A.; GIARETTA, A.A.; REIS, S.F. 2009. Individual-level diet variation in four species of Brazilian frogs. **Journal of Animal Ecology**. 78: 848-856.

AUTRUP, H.; GRAFSTROM, R.C.; BRUGH, M.; LECHNER, J.F.; HAUGEN, A.; HARRIS, C.C. 1982. Comparison of Benzo(a)pyrene metabolism in bronchus, esophagus, colon, and duodenum from the same individual. **Cancer Research**. 42: 934-938.

AUTRUP, H.; HARRIS, C.C.; FUGARO, S.; SELKIRK, J.K. 1977. Effect of various chemicals on the metabolism of Benzo(a)pyrene by cultured rat colon. **Chemico-Biological Interactions**. 18: 337-347.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2009. Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs).

Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/csem/pah/docs/pah.pdf>

Acesso em: Dezembro de 2017

BARAKAT, A.O.; MOSTAFA, A.; WADE, T.L.; SWEET, S.T.; EL SAYED, N.B. 2011. Distribution and characteristics of PAHs in sediments from the Mediterranean coastal environment of Egypt. **Marine Pollution Bulletin**. 62: 1969-1978.

BLAUSTEIN, A.R.; BANCROFT, B.A. 2007. Amphibian population declines: evolutionary considerations. **BioScience**. 57: 437- 444.

BLAUSTEIN, A.R.; ROMANSIC, J.M.; KIESECKER, J.M.; HATCH, A.C. 2003. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. **Diversity and Distributions**. 9: 123-140.

BLAUSTEIN, A.R.; WAKE, D.B. 1995. The puzzle of declining amphibian populations. **Scientific America**. 272: 52-58.

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: LARRAMENDY, M.L. (Ed.). **Ecotoxicology and genotoxicology: non-**

**traditional terrestrial models.** Croydon: The Royal Society of Chemistry, 2017. p. 163-194.

BRUHL, C.A.; SCHIMIDT, T.; PIEPER, S.; ALSCHER, A. 2013. Terrestrial pesticide exposure of amphibians: an underestimated cause of global decline? **Scientific Reports.** 3: 1-4.

CABAGNA, M.C.; LAJMANOVICH, R.C.; PELTZER, P.M.; ATTADEMO, A.M.; ALE, E. 2006. Induction of micronuclei in tadpoles of *Odontophrynus americanus* (Amphibia: Leptodactylidae) by the pyrethroid insecticide cypermethrin. **Toxicological & Environmental Chemistry.** 88: 729-737.

ÇAKICI, O. 2014. Carbaryl-induced histopathologic alterations in the digestive tract of the Levantine frog, *Pelophylax bedriagae* (Anura: Ranidae). **Toxicologic Pathology.** 42: 1032-1040.

ÇAKICI, O. 2016. Histopathological study of toxic effects of carbaryl on digestive tract of *Bufo variabilis* (Anura: Bufonidae). **Environmental Science and Pollution Research.** 23: 13432-13437.

CARRASCO, K.R.; TILBURY, K.L.; MYERS, M.S. 1990. Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.** 47: 2123-2136.

CARUSO, M.S.F.; ALABURDA, J. 2008. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – benzo(a)pireno: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz.** 67: 1-27.

CARVALHO, T.; BECKER, C.G.; TOLEDO, L.F. 2017. Historical amphibian declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis. **Proceedings of the Royal Society of London B.** 284:20162254

CAVRET, S.; FEIDT, C. 2005. Intestinal metabolismo of PAH: in vitro demonstration and study of its impact on PAH transfer through the intestinal epithelium. **Environmental Research.** 98: 22-32.

CHRISTIANSEN, J.L.; GRZYBOWSKI, J.M.; KODAMA, R.M. 1996. Melanomacrophage aggregations and their age relationships in the yellow mud turtle, *Kinosternon flavescens* (Kinosternidae). **Pigment Cell Research.** 9: 185-190.

CLAVER, J.A.; QUAGLIA, A.I.E. 2009. Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates. **Journal of Exotic Pet Medicine.** 18: 87-97.

COLLINS, J.P.; STORFER, A. 2003. Global amphibian declines: sorting the hypotheses. **Diversity and Distributions.** 9: 89-98.

COLOMBO, S.; BERLIM, I.; DELMAS, V.; LARUE, L. Classical and non-classical melanocytes in vertebrates. BOROVSANSKY, J.; RILEY, P. (Ed.). **Melanins and melanosomes: biosynthesis, biogenesis, physiological and pathological functions.** Wiley-Blackwell, 2011. p. 21-62.

COSTA, C.; CATANIA, S.; DE PASQUALE, R.; STANCANELLI, R.; SCRIBANO, G.M.; MELCHINI, A. 2010. Exposure of human skin to benzo[a]pyrene: role of CYP1A1 and aryl hydrocarbon receptor in oxidative stress generation. **Toxicology**. 271: 83-86.

DE OLIVEIRA, C.; FRANCO-BELUSSI, L.; FANALI, L.Z.; SANTOS, L.R.S. Use of melanin-pigmented cells as a new tool to evaluate effects of agrochemicals and other emerging contaminants in Brazilian anurans. In: LARRAMENDY, M.L. (Ed.). **Ecotoxicology and genotoxicology: non-traditional terrestrial models**. Croydon: The Royal Society of Chemistry, 2017. p. 125-142.

DEGARADY, C.J.; HALBROOK, R.S. 2006. Using anurans as bioindicators of PCB contaminated streams. **Journal of Herpetology**. 40: 127-130.

DELIS, P.; MUSHINSKY, H.R.; MCCOY, E.D. 1996. Decline of some west-central Florida anuran populations in response to habitat degradation. **Biodiversity and Conservation**. 5: 1579-1595.

DOMINGUES, I.; OLIVEIRA, R.; LOURENÇO, J.; GRISOLIA, C.K.; MENDO, S.; SOARES, A.M.V.M. 2010. Biomarkes as a tool to assess effects of chromium (VI): comparison of responses in zebrafish early stages and adults. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**. 152: 338-345.

DUELLMAN, W.E.; TRUEB, L.1994. **Biology of amphibians**. McGraw-Hill Book Company, Toronto. p. 670.

FAIR, R.H.; FORTNER, A.R. 1987. Effect of ingested Benzo[a]pyrene and cadmium on tissue accumulation, hydroxylase activity, and intestinal morphology of the black sea bass, *Centropristis striata*. **Environmental research**. 42: 185-195.

FANALI, L.Z.; FRANCO-BELUSSI, L.; BONINI-DOMINGOS, C.R.; OLIVEIRA, C. 2018. Effects of benzo[a]pyrene on the blood and liver of *Physalaemus cuvieri* and *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae). **Environmental Pollution**. 237: 93-102.

FANALI, L.Z.; VALVERDE, B.S.L.; FRANCO-BELUSSI, L.; PROVETE, D.B.; OLIVEIRA, C. 2017. Response of digestive organs of *Hypsiboas albopunctatus* (Anura: Hylidae) to benzo[a]pyrene. **Amphibia-Reptilia**. 38: 175-185.

FENECH, M. 2007. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**. 2: 1084-1104.

FENECH, M.; KIRSCH-VOLDERS, M.; NATARAJAN, A.T.; SURRALLE, J.; CROTT, J.W.; PARRY, J.; NORPPA, H.; EASTMOND, D.A.; TUCKER, J.D.; THOMAS, P. 2011. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**. 26: 125-132.

FENOGLIO, C.; BONCOMPAGNI, E.; FASOLA, M.; GANDINI, C.; COMIZZOLI, S.; MILANESI, G.; BARNI, S. 2005. Effects of environmental pollution on the liver parenchymal cells and kupffer-melanomacrophagic cells of the frog *Rana esculenta*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 60: 259-268.



FRANCO-BELUSSI, L.; CASTRUCCI, A.M.L.; OLIVEIRA, C. 2013. Responses of melanocyte and melanomacrophages of *Eupemphix nattereri* (Anura: Leiuperidae) to  $\text{Nle}^4$ ,  $\text{D-Phe}^7$ - $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone and lipopolysaccharides. **Zoology**. 116: 316-324.

FRANCO-BELUSSI, L. FANALI, L.Z.; DE OLIVEIRA, C. 2018. UV-B affects the immune system and promotes nuclear abnormalities in pigmented and non-pigmented bullfrog tadpoles. **Journal of Photochemistry and Photobiology**. 180: 109-117.

FRANCO-BELUSSI, L.; LEITE, G.B.; FREITAS, J.S.; OLIVEIRA, C. 2014. Morphological effects of bacterial compounds on the testes of *Eupemphix nattereri* (Anura). **Animal Biology**. 64: 261-275.

FRANCO-BELUSSI, L.; OLIVEIRA, C. 2011. Lipopolysaccharides induce changes in the visceral pigmentation of *Eupemphix nattereri* (Anura: Leiuperidae). **Zoology**. 114: 298-305.

FRANCO-BELUSSI, L. PROVETE, D.B.; DE OLIVEIRA, C. 2017. Environmental correlates of internal coloration in frogs vary throughout space and lineages. **Ecology and Evolution**. 7: 9222-9233.

FRANCO-BELUSSI, L.; SANTOS, L.R.S.; ZIERI, R.; OLIVEIRA, C. 2012. Visceral pigmentation in three species of the genus *Scinax* (Anura: Hylidae): distinct morphological pattern. **The Anatomical Records**. 295: 298-306.

FRANCO-BELUSSI, L.; SKOLD, H.N.; OLIVEIRA, C. 2016. Internal pigment cells respond to external UV radiation in frogs. **Journal of Experimental Biology**. 219: 1378-1383.

FRANCO-BELUSSI, L.; ZIERI, R.; SANTOS, L.R.S.; MORESCO, R.M.; OLIVEIRA, C. 2009. Pigmentation in anuran testes: anatomical pattern and variation. **The Anatomical Record**. 292: 178-182.

FROST, D.R. 2017. Amphibian species of the world: an online reference. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, USA. Electronic database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>  
Acesso em: Novembro de 2017.

GELBOIN, H.V.; 1980. Benzo[a]pyrene metabolism, activation, and carcinogenesis: role and regulation of mixed-function oxidase and related enzymes. **Physiological Reviews**. 60: 1107-1166.

GUPTA, S.; KUMAR, K.; SRIVASTAVA, A.; SRIVASTAVA, A.; JAIN, V.K. 2011. Size distribution and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in aerosol particle samples from the atmospheric environment of Delhi, India. **Science of the total environment**. 409: 4674-4680.

HOOGDUIJIN, M.J.; CEMELI, E.; ROSS, K.; ANDERSON, D. THODY, A.J.; WOOD, J.M. 2004. Melanin protects melanocytes and keratinocytes against  $\text{H}_2\text{O}_2$ -

induced DNA strand breaks through its ability to bind  $\text{Ca}^{2+}$ . **Experimental Cell Research**. 294: 60-67.

IARC, International Agency for Research on Cancer. 2013. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; v. 103.

Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol103/index.php>

Acesso em: Março de 2018.

IPCS (International Programme on Chemical Safety). 1998. Selected non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons.

Disponível em:

<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc202.htm#SectionNumber:12>

Acesso em: Dezembro de 2017.

JAMES, M.O.; ALTMAN, A.H.; MORRIS, K.; KLEINOW, K.M.; TONG, Z. 1997. Dietary modulation of phase 1 and phase 2 activities with benzo(a)pyrene and related compounds in the intestine but not the liver of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Drug Metabolism and Disposition**. 25: 346-354.

JENG, H.A.; YORDT, D.; DAVIS, S.; SWANSON, J.R. 2013. Assessment of alteration of reproductive system in vivo induced by subchronic exposure to benzo(a)pyrene via oral administration. **Environmental Toxicology**. 30: 1-8.

JOO, D.H.; CHA, H.J.; KIM, K.; JUNG, M.; KO, J.M.; AN, I.S.; LEE, S.N.; JANG, H.H.; BAE, S.; ROH, N.K.; AHN, K.J.; AN, S. 2015. Benzo(a)pyrene represses melanogenesis in B16F10 mouse melanoma cells. **Molecular & Cellular Toxicology**. 11: 349-355.

KARDONG, K.V. 2012. Vertebrates: comparative anatomy, function, evolution. 6ed. **McGraw-Hill**, New York. p. 503-544.

KRISHNAMURTHY, S.V.; MEENAKUMARI, D.; GURUSHANKARA, H.P.; VASUDEVA, V. 2008. Nitrate-induced morphological anomalies in the tadpoles of *Nyctibatrachus major* and *Fejervarya limnocharis* (Anura: Ranidae). **Turkish Journal of Zoology**. 32: 239-244.

LAJMANOVICH, R.C.; CABAGNA-ZENKLUSEN, M.C.; ATTADEMO, A.M.; JUNGES, C.M.; PELTZER, P.M. BASSÓ, A.; LORENZATTI, E. 2014. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in tadpoles of the common toad (*Rhinella arenarum*) treated with the herbicides Liberty® and glufosinate-ammonium. **Mutation Research**. 769: 7-12.

LEMAIRE, P.; BERHAUT, J.; LEMAIRES-GONY, S.; LAFURIE, M. 1992a. Ultrastructural changes induced by benzo[a]pyrene in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver and intestine: importance of the intoxication route. **Environmental research**. 57: 59-72.

LEMAIRE, P.; LEMAIRES-GONY, S.; BERHAUT, J.; LAFURIE, M. 1992b. The uptake, metabolism and biological half-life of benzo[a]pyrene administered by force-

feeding in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 23: 244-251.

LEMAIRE, P.; MATHIEU, A.; CARRIERE, S.; DRAL, P.; GIUDICELLI, J.; LAFURIE, M. 1990. The uptake metabolism and biological half-life of benzo[a]pyrene in different tissues of sea bass, *Dicentrarchus labrax*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 20: 223-233.

LENKOWSKI, J.R.; SANCHEZ-BRAVO, G.; MCLAUGHLIN, K.A. 2010. Low concentrations of atrazine, glyphosate, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, and triadimefon exposures have diverse effects on *Xenopus laevis* organ morphogenesis. **Journal of Environmental Sciences**. 22: 1305-1308.

LENZI-MATTOS, R.; ANTONIAZZI, M.M.; HADDAD, C.F.B.; TAMBOURGI, D.V.; RODRIGUES, M.T.; JARED, C. 2005. The inguinal macroglands of the frog *Physalaemus nattereri* (Leptodactylidae): structure, toxic secretion and relationship with deimatic behavior. **Journal of Zoology**. 266: 385-394.

LIPINSKI, V.M.; SANTOS, T.G.; SCHUCH, A.P. 2016. An UV-sensitive anuran species as an indicator of environmental quality of the Southern Atlantic Rainforest. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**. 165: 174-181.

MATTOON, A. 2001. Deciphering amphibian declines. **State of World**. p. 63-82.

MILLER, K.P.; RAMOS, K.S. 2001. Impact of cellular metabolism on the biological effects of benzo[a]pyrene and related hydrocarbons. **Drug Metabolism Reviews**. 33: 1-35.

MOREAU, M.; BOUCHARD, M. 2015. Comparison of the kinetics of various biomarkers of benzo[a]pyrene exposure following different routes of entry in rats. **Journal of Applied Toxicology**. 35: 781-790.

MORESCO, R.M.; OLIVEIRA, C. 2009. A comparative study of the extracutaneous pigmentary system in three anuran amphibians species evaluated during the breeding season. **South American Journal of Herpetology**. 4: 1-8.

MURANLI, F.D.G.; GUNER, U. 2011. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in erythrocytes of mosquito fish (*Gambusia affinis*) following exposure to the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin. **Mutation Research**. 726: 104-108.

NASR, I.N.; ARIEF, M.H.; ABDEL-ALEEM, A.H.; MALHAT, F.M. 2010. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in aquatic environment at El Menofiya governorate, Egypt. **Journal of Applied Sciences Research**. 6: 13-21.

NETTO, A.D.P.; MOREIRA, J.C.; DIAS, A.E.X.O.; ARBILLA, G.; FERREIRA, L.F.V.; OLIVEIRA, A.S.; BAREK, J. 2000. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química Nova**. 23: 765-773.

PADRÓS, J., PELLETIER, É., RIBEIRO, C.O. 2003. Metabolic interactions between low doses of benzo[a]pyrene and tributyltin in arctic charr (*Salvelinus alpinus*): a long-term in vivo study. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 192: 45-55.

PÉREZ-IGLESIAS, J.M.; FRANCO-BELUSSI, L.; MORENO, L.; TRIPOLE, S.; OLIVEIRA, C.; NATALE, G.S. 2016. Effects of glyphosate on hepatic tissue evaluating melanomacrophages and erythrocytes response in neotropical anuran *Leptodactylus latinasus*. **Environmental Science and Pollution Research**. 23: 9852-9861.

PÉREZ-IGLESIAS, J.M.; RUIZ DE ARCAUTE, C.; NIKOLOFF, N.; DURY, L.; SOLONESKI, S.; NATALE, G.S.; LARRAMENDY, M.L. 2014. The genotoxic effects of the imidacloprid-based insecticide formulation glaxoxan imida on Montevideo tree frog *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 104: 120-126.

PURRELLO, M.; SCALIA, M.; CORSARO, C.; PIETRO, C.; PIRO, S.; SICHEL, G. 2001. Melanosynthesis, differentiation, and apoptosis in kupffer cells from *Rana esculenta*. **Pigment Cell Research**. 14: 126-131.

QUARONI, A.; ISSELBACHER, K.J. 1981. Cytotoxic effects and metabolism of benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in duodenal and ileal epithelial cell cultures. **Journal of the National Cancer Institute**. 67: 1353-1362.

REGNAULT, C.; WORMS, I.A.M.; OGER-DEFEEUX, C.; MELODELIMA, C.; VEYRENC, S.; BAYLE, M.L.; COMBOURIEU, B.; BONIN, A.; RENAUD, J.; RAVETON, M.; REYNAUD, S. 2014. Impaired liver function in *Xenopus tropicalis* exposed to benzo[a]pyrene: transcription and metabolic evidence. **BMC Genomics**. 15: 1-16.

ROBERTO, A.; LARSSON, B.S.; TJALVE, H. 1996. Uptake of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene and benzo(a)pyrene in melanin-containing tissues. **Pharmacology & Toxicology**. 79: 92-99.

ROBERTS, R.J. Melanin-containing cells of teleost fish and their relation to disease. In: RIBELIN, W.E.; MIGAKI, G. (Ed.) **The pathology of fishes**. The University of Wisconsin Press, 1975. p. 399-428.

SADINSKI, W.J.; LEVAY, G.; WILSON, M.C.; HOFFMAN, J.R.; BODELL, W.J.; ANDERSON, S.L. 1995. Relationships among DNA adducts, micronuclei, and fitness parameters in *Xenopus laevis* exposed to benzo[a]pyrene. **Aquatic Toxicology**. 32: 333-352.

SANTOS, L.R.S.; FRANCO-BELUSSI, L.; ZIERI, R.; BORGES, R.E.; OLIVEIRA, C. 2014. Effects of thermal stress on hepatic melanomacrophages of *Eupemphix nattereri* (Anura). **The Anatomical Record**. 297: 864-875.

SAYED, A.E.D.H. 2015. Hematotoxic and biochemical effects of UVA on the Egyptian toad (*Bufo regularis*). **International Journal of Radiation Biology**. 92: 35-41.

SELKIRK, J.K. 1977. Benzo[a]pyrene carcinogenesis: a biochemical selection mechanism. **Journal of Toxicology and Environmental Health: Current Issues**. 2: 1245-1258

SHIMIZU, Y.; NAKATSURU, Y.; ICHINOSE, M.; TAKAHASHI, Y.; KUME, H.; MIMURA, J.; FUJII-KURIYAMA, Y.; ISHIKAWA, T. 2000. Benzo[a]pyrene carcinogenicity is lost in mice lacking the aryl hydrocarbon receptor. **PNAS**. 97: 779-782.

SICHEL, G. 1988. Biosynthesis and function of melanins in hepatic pigmentary system. **Pigment Cell Research**. 1: 250-258.

STEVENS, C.E. AND HUME, I.D. 1995. **Comparative physiology of the vertebrate digestive system**. 2nd. Ed. Cambridge University Press. 406 p.

STOHS, S.J.; GRAFSTRGM, R.C.; BURKE, M.D.; ORRENIUS, S. 1977. Benzo(a)pyrene metabolism by isolated rat intestinal epithelial cells. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 179: 71-80.

STRUNJAK-PEROVIC, I.; LISICIC, D.; COZ-RAKOVAC, R.; POPOVIC, N.T.; JADAN, M.; BENKOVIC, V.; TADIC, Z. 2010. Evaluation of micronucleus and erythrocyte nuclear abnormalities in Balkan whip snake *Hierophis gemonensis*. **Ecotoxicology**. 19: 1460-1465.

VAN VELD, P.A.; PATTON, J.S.; LEE, R.F. 1988. Effect of preexposure to dietary Benzo[a]pyrene (BP) on the first-pass metabolism of BP by the intestine of toadfish (*Opsanus tau*): in vivo studies using portal vein-catheterized fish. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 92: 255-265.

VAN VELD, P.A.; VETTER, R.D.; LEE, R.F.; PATTON, J.S. 1987. Dietary fat inhibits the intestinal metabolism of the carcinogen benzo[a]pyrene in fish. **Journal of Lipid Research**. 28: 810-817.

VERMA, N.; PINK, M.; RETTENMEIER, A.W.; SCHMITZ-SPANKE, S. 2012. Review on the proteomic analyses of benzo[a]pyrene toxicity. **Proteomics**. 12: 1731-1755.

VIDEIRA, I.F.S.; MOURA, D.F.L.; MAGINA, S. 2013. Mechanisms regulating melanogenesis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 88: 76-83.

VITT, L.J.; CALDWELL, J.P. 2014. **Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles**. 4 Ed. Academic Press. p. 757.

WILCKE, W.; AMELUNG, W.; KRAUSS, M.; MARTIUS, C.; BANDEIRA, A.; GARCIA, M. 2003. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) patterns in climatically different ecological zones of Brazil. **Organic Geochemistry**. 34: 1405-1417.

WOLKE, R.E.; GEORGE, C.J.; BLAZER, V.S. Pigmented macrophage accumulations (MMC; PMB): possible monitors of fish health. In: HARGIS, W.J. (Ed.) **Parasitology and Pathology of Marine Organisms of the World Ocean**. U.S.

Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service, 1985. p. 93-98

YIN, X.; ZHU, G.; LI, X.B.; LIU, S. 2009. Genotoxicity evaluation of chlorpyrifos to amphibian Chinese toad (Amphibian: Anura) by comet assay and micronucleus test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. 680: 2-6.

YOUNG, B.E.; STUART, S.N.; CHANSON, J.S.; COX, N.A.; BOUCHER, T.M. 2004. Joyas que Están Desapareciendo: El Estado de los Anfibios en el Nuevo Mundo. **NatureServe**.

YUEN, B.B.H.; WONG, C.K.C.; WOO, N.Y.S.; AU, D.W.T. 2007. Induction and recovery of morphofunctional changes in the intestine of juvenile carnivorous fish (*Epinephelus coioides*) upon exposure to foodborne benzo[a]pyrene. **Aquatic Toxicology**. 82: 181-194.

ZIERI, R.; FRANCO-BELUSSI, L.; SANTOS, L.R.S.; TABOGA, S.R.; OLIVEIRA, C. 2015. Sex hormones change visceral pigmentation in *Eupemphix nattereri* (Anura): effects in testicular melanocytes and hepatic melanomacrophages. **Animal Biology**. 65: 21-32.

ZUASTI, A.; JIMÉNEZ-CERVANTES, C.; GARCÍA-BORRÓN, J.C.; FERRER, C. 1998. The melanogenic system of *Xenopus laevis*. **Archives of Histology and Cytology**. 61: 305-316.

ZUG, G.R.; VITT, L.J.; CALDWELL, J.P. 2001. **Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles**. 2nd. Ed. Academic Press. p. 630.