

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

Barbara Bernardes Calbo

**Metabolismo lipídico da espécie estivante *Physalaemus albifrons***

**Spix, 1824 (Anura: Leiuperidae) na Caatinga Brasileira**

Ilha Solteira – SP  
Janeiro de 2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
Câmpus de Ilha Solteira

## Metabolismo lipídico da espécie estivante *Physalaemus albifrons* Spix, 1824

(Anura: Leiuperidae) na Caatinga Brasileira

**Orientada:** Barbara Bernardes Calbo  
**Orientadora:** Profa. Dra. Crístiele da Silva Ribeiro

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Ilha Solteira - SP  
Janeiro de 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

C143m Calbo, Barbara Bernardes.  
Metabolismo lipídico da espécie estivante *Physalaemus albifrons spix*, 1824  
(*Anura: Leiuperidae*) na caatinga brasileira / Barbara Bernardes Calbo. -- Ilha  
Solteira: [s.n.], 2022  
41 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso ( Graduação em Ciências Biológicas) -  
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2022

Orientador: Cristéle Da Silva Ribeiro  
Inclui bibliografia

1. Anuros. 2. Estivação. 3. Lipídeos. 4. Membranas.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Ilha Solteira

#### ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

"METABOLISMO LIPÍDICO DA ESPÉCIE ESTIVANTE *PHYSALAEEMUS ALBIFRONS* SPIX, 1824  
(ANURA: LEIUPERIDAE) NA CAATINGA BRASILEIRA "

BÁRBARA BERNARDES CALBO

#### REGULAMENTO SOBRE A AVALIAÇÃO:

Artigo 25º - § 2º A apresentação pública do trabalho de TCC deverá ser de no mínimo 20 (vinte) minutos e máxima de 40 (quarenta) minutos. Após um intervalo de 5 (cinco) minutos, haverá a arguição do Trabalho pelos examinadores. O tempo de arguição, será de até 15 (quinze) minutos para cada examinador, e até 15 (quinze) minutos o tempo para a resposta do(a) aluno(a) a cada examinador ou no caso de se optar pelo diálogo o tempo conjunto entre examinador e acadêmico(a) será de no máximo 30 (trinta) minutos.

Artigo 24º - No julgamento do TCC, a banca examinadora deverá avaliar a apresentação oral, escrita e a defesa do trabalho durante a arguição. O conceito final será APROVADO(A) ou REPROVADO(A).

#### COMISSÃO EXAMINADORA

1ª EXAMINADORA (Orientadora-Presidente)

Nome: Prof. Dr.ª. Cristiele da Silva Ribeiro

*Cristiele S. Ribeiro*

2ª EXAMINADOR

Nome: Me. Lucas Spada

*Lucas Spada*

3ª EXAMINADORA

Nome: Dr.ª. Marcela da Silva Rúbio

*Marcela S. Rúbio*

#### CONCEITO

(x) Aprovado(a)

( ) Reprovado(a)

Ilha Solteira-SP, 08 de fevereiro de 2022.

Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Cursos: Agronomia, Ciências Biológicas, Eng. Civil, Eng. Elétrica, Eng. Mecânica, Física, Matemática e Zootecnia.  
Avenida Brasil Centro, 56 Caixa Postal 31 CEP 15385-000 Ilha Solteira São Paulo Brasil  
tel (18) 3743 1100 fax (18) 3742 2735 [stcom@adm.feis.unesp.br](mailto:stcom@adm.feis.unesp.br) [www.feis.unesp.br](http://www.feis.unesp.br)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço especialmente à Prof. Dra. Cristiéle da Silva Ribeiro por me orientar e auxiliar no projeto e na faculdade e por fazer com que eu tenha com quem me espelhar. Agradeço também minha família que sempre me apoiou e incentivou a seguir meus sonhos, estando sempre ao meu lado, minha tia Neusa Calbo, formada em Ciências da Vida pelo IBILCE, que foi meu primeiro contato com a biologia, aos meus companheiros do laboratório LEFISA, os quais sempre me ajudaram nas horas de necessidades e aos professores da Unesp de Ilha Solteira, por fazer com que eu tenha me apaixonado pela carreira.

**Metabolismo lipídico da espécie estivante *Physalaemus albifrons* Spix, 1824 (Anura:  
Leiuperidae) na Caatinga Brasileira<sup>1</sup>**

**Lipid metabolism of the estivating species *Physalaemus albifrons* Spix, 1824 (Anura:  
Leiuperidae) in the Brazilian Caatinga**

Barbara Bernardes Calbo<sup>1</sup>(<https://orcid.org/0000-0001-5770-5368>);  
Cristiéle da Silva Ribeiro<sup>1</sup>(<https://orcid.org/0000-0003-4382-9575>).

<sup>1</sup>Laboratório de Estudos em Fisiologia Animal (LEFISA), Departamento de Biologia e Zootecnia,  
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
– UNESP, Ilha Solteira, SP, Brasil.

Correspondence to: Cristéle da Silva Ribeiro, Universidade Estadual Paulista, DBZ, Rua Monção,  
226, Zona Norte, CEP 15385-000, Ilha Solteira, SP. e-mail: [cristiele.ribeiro@unesp.br](mailto:cristiele.ribeiro@unesp.br)

(With 7 figures)

**Keywords:** Frogs, aestivation, lipids, membranes, Caatinga.

**Palavras-chave:** Anuros, estivação, lipídeos, membranas, Caatinga.

---

<sup>1</sup> O presente artigo seguirá as regras da revista científica **Brazilian Journal of Biology**, pertencente ao Instituto Internacional de Ecologia, para a qual os autores supracitados pretendem submetê-lo. As instruções da revista se encontram no Anexo 2.

## **Abstract**

In this work we analyzed concentrations of total lipids and fatty acid profile during activity and activation of *Physalaemus albifrons*. The samples were collected in Angicos/RN, caatinga region, during drought and rains. The lipids were extracted with chloroform: methanol, the data quantified by colorimetric method, calculated in excel and statistically analyzed, using the test-t. The fatty acids were separated by column chromatography, the fatty acid composition was determined using gas chromatograph with a flame ionizer. The fatty acids were identified based on retention times. For epithelial tissue, there was no statistical difference, and it remained stable during activity and activation. Muscle and hepatic tissues had decreased lipids during activity, explained by the rapid response to water changes. Liver tissue had high levels of saturated fatty acids (SAT) and monounsaturated fatty acids(MUFA) being an energetic substrate and low levels of polyunsaturated acids (PUFA).

## **Resumo**

### **Metabolismo lipídico da espécie estivante *Physalaemus albifrons* Spix, 1824 (Anura: Leiuperidae) na Caatinga Brasileira**

Neste trabalho analisaram-se concentrações de lipídeos totais e o perfil de ácidos graxos durante atividade e estivação de *Physalaemus albifrons*. As coletas foram realizadas na cidade de Angicos/RN, região da caatinga, durante o período de estiagem e chuvas. Os lipídeos foram extraídos com a utilização de clorofórmio:metanol, sua quantificação foi realizada por método colorimétrico e analisados estatisticamente, utilizando o test-t. Os ácidos graxos foram separados por meio de cromatografia de coluna e a sua composição foi determinada utilizando cromatógrafo gasoso com ionizador de chama, identificando-se com base nos tempos de retenção. Os resultados obtidos para o tecido epitelial não apresentaram diferenças estatísticas, tendo se mantido estável durante atividade e estivação. Os tecidos musculares e hepáticos tiveram diminuição lipídica durante atividade, explicados pela rápida resposta às mudanças hídricas. O tecido hepático teve altos níveis de ácidos graxos saturados (SAT) e monoinsaturados (MUFA) sendo um substrato energético e baixos níveis de poliinsaturados (PUFA).

## Introdução

A Caatinga é um bioma exclusivo do Brasil, ocupa cerca de 10% do território nacional, distribuído em uma área de cerca de 800.000 km<sup>2</sup> (Rodrigues, 2002), sendo predominante na região nordeste, com algumas áreas no Estado de Minas Gerais (Leal et al., 2003) (Anexo 2- Figura 1). O nome “caatinga” é de origem Tupi-Guarani e significa “floresta branca”, que certamente caracteriza bem o aspecto da vegetação na estação seca, quando as folhas caem (Albuquerque e Bandeira, 1995). Embora a diversidade de plantas e animais em ambientes áridos e semiáridos seja menor que nas florestas tropicais, apresentam plantas e animais adaptados a suas condições extremas, o que os tornam ambientes com alta taxa de endemismos de fauna e flora (Leal et al., 2003). As Caatingas semiáridas, comparadas a outras formações brasileiras, apresentam muitas características extremas dentre os parâmetros meteorológicos, como a mais alta radiação solar e temperatura média anual, baixa nebulosidade e as mais baixas taxas de umidade relativa e de precipitações, sendo irregulares e limitadas, na maior parte da área, a um período muito curto no ano (Reis, 1976).

Durante algum tempo, também entre herpetólogos, prevaleceu a ideia de que a Caatinga não tinha fauna própria (Vanzolini, 1974, 1976, 1988, Mares et al., 1981). Dispondo de mais informação, sabemos que há endemismos neste bioma, e que estes, deixando de lado aqueles restritos a ambientes florestados, estão geralmente associados a regiões com solos arenosos (Rodrigues, 1984b, 1987, 1988). Conhecem-se hoje, de localidades com a feição característica da caatinga semiárida, 48 anfíbios anuros (Leal et al., 2003) (Anexo 1- Tab. 1), as quais são capazes de sobreviver durante a fase de estiagem, adotando diversas estratégias fisiológicas, dentre estas a depressão metabólica (Navas et al., 2004).

A estivação dos vertebrados ectotérmicos, é típica de ambientes semiáridos e envolve mudanças em microhabitat, comportamento e fisiologia (Carvalho et al., 2010). Em termos de fisiologia, a depressão metabólica é um dos aspectos mais marcantes, em que a taxa metabólica é diminuída abaixo dos níveis basais típicos (Stuart et al., 1997). Em associação, envolve-se uma



redução coordenada das atividades motora e metabólica, que acontecem em paralelo com as mudanças do ambiente, quando esta passa a ter recursos alimentares e hídricos reduzidos, juntamente com o aumento da temperatura ambiente (Hochachka e Somero, 2002; Pinder et al., 1992; Withers e Thompson, 2000).

Esses ajustes, ligados ao conceito de estivação, são resultado de processos adaptativos favorecidos em ambientes sazonais de diversos tipos (Storey e Storey, 2004). Pereira (2009), investigou aspectos fisiológicos e comportamentais em *Pleurodema diplolistris* (Peters, 1870) e descreveu características peculiares referentes à história natural, regulação metabólica e balanço hídrico destes animais, sendo esta espécie considerada um estivador atípico pela capacidade de responsividade e atividade de indivíduos enterrados meses após a última chuva.

Diferentemente das espécies descritas como estivadores típicos australianos e americanos, os anfíbios da Caatinga não apresentam estruturas especializadas tipo *cocoons* (casulos) (Berner et al., 2009), fazendo com que os indivíduos apresentem responsividade quando estimulados no meio da estivação. Tal ocorrência se deve por conta da depressão metabólica, que fica no nível de 50%, valor modesto quando comparado ao descrito para espécies do semiárido australiano, que podem atingir 85% (Withers, 1993). Esta característica é apresentada pelas espécies *Proceratophrys cristiceps* (Muller, 1884), *Physalaemus albifrons* (Spix, 1824) e *Pleurodema diplolistris* (Peters, 1870), que, apesar de apresentarem a estivação como ajuste metabólico durante o período de estiagem, parecem apresentar escopo bastante diferenciado no grau de diminuição da taxa metabólica (Navas et al., 2004).

Dentre os anfíbios nativos do Brasil e encontrados na caatinga, a espécie *Physalaemus albifrons* (Spix, 1824) (Anexo 2- Fig 2) possui destaque, sendo observada em áreas abertas, desde o estado do Maranhão até o sul de Minas Gerais (Andrade e Juncá, 2004) e geralmente é encontrada perto de água, em solo alagado, com o corpo parcialmente submerso ou em macrófitas aquáticas e possui hábito noturno, iniciando a vocalização ao entardecer (Arzabe et al., 2005; Vieira et al., 2007).

Segundo Pereira (2009) essas espécies merecem atenção detalhada pois parece tratar-se de um modo atípico de estivação associada à escassez de água durante estiagem, convertendo a espécie em um modelo ideal para estudos comparativos e para se estudar o papel da plasticidade fisiológica da extensão e distribuição de aspectos de anuros.

Tendo em vista as especificidades da estivação nos anfíbios da Caatinga Brasileira em comparação com espécies australianas e americanas, justifica-se a investigação de ajustes para a manutenção do balanço energético no nível celular, sendo elas as mudanças na concentração de lipídeos teciduais e composição de membrana em compensação a mudanças em fatores ambientais, mudanças estas que são vistas como resposta primária em animais ectotérmicos impostos a desafios climáticos (Farkas et al., 2000; Hochachka e Somero, 2002).

Contextualizando a grande gama de respostas ao mesmo desafio fisiológico e a inexistência de estudos focados nas espécies da Caatinga com características tão peculiares, o objetivo deste trabalho foi verificar o papel da variação das condições hídricas sobre pontos importantes da dinâmica do metabolismo lipídico em *Physalaemus albifrons*, compreendendo assim pontos importantes e aplicáveis na área de conservação, além de conhecimentos básicos da fisiologia desta espécie.

## **Material e Métodos**

### **Aquisição dos espécimes**

As colheitas foram realizadas no município de Angicos/RN (região de Caatinga), localizado geograficamente em S05° 41'23.6'' e W36° 26'25.8'' (Anexo 2- figura 3). Foram realizadas em dois períodos distintos, sendo no chuvoso (atividade dos animais) e estiagem (estivação dos animais) (Anexo 2- Figura 4). Os espécimes de *Physalaemus albifrons* foram coletados de forma manual,

dessensibilizados com gelo, os animais foram transportados em nitrogênio líquido até o laboratório de Estudos em Fisiologia Animal (LEFISA), com manutenção em freezer -80°C até o momento das análises.

### **Análises laboratoriais**

Os lipídeos totais foram extraídos dos tecidos hepático, muscular e epitelial com uma solução de clorofórmio: metanol: água (2:1:0,5) segundo o método de Folch et al., (1957) e quantificados pelo método colorimétrico descrito por Frings et al., (1972). O extrato lipídico total foi evaporado em atmosfera de nitrogênio para posteriores análises cromatográficas.

A partir do extrato lipídico, foi conduzida a separação dos lipídios polares (fosfolipídeos) e neutros (triglicerídeos, colesterol e ácidos graxos livres, dentre outros) do tecido hepático, em cromatografia de coluna (Yang, 1995). As frações polar e neutra foram então metiladas com cloreto de acetila, seguindo-se o método ácido proposto por Kitson et al., (1996), armazenadas sob uma atmosfera de nitrogênio e analisadas quanto à composição de ácidos graxos. A composição dos ácidos graxos dos tecidos foi determinada utilizando-se cromatógrafo gasoso acoplado a um ionizador de chama (FID) (Varian, GC 3900) pelo LAMEROA. A identificação dos ácidos graxos foi feita com base nos tempos de retenção, utilizando-se padrões compostos de metil ésteres (FAME) (SUPELCO, *37 components*, Larodan Chemical Company - Mixture Me93 e Qualmix PUFA fish M - Menhaden Oil), com resultados expressos em porcentagens.

### **Análises estatísticas**

Os dados obtidos foram comparados usando o teste t de *Student*, ao nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ), por meio do programa estatístico *Sigma Stat for Windows (Version 3.10 Copyright©)*.

## Resultados e Discussões

Os resultados de lipídeos totais teciduais de *P. albifrons* foram apresentados na Figura 5 (Anexo 2 – Figura 5), os quais mostram as concentrações comparativas da estivação e atividade dos animais.

Os lipídeos biológicos são um grupo de compostos quimicamente diversos, cuja característica em comum que os define é a insolubilidade em água. Gorduras e óleos são as principais formas de armazenamento de energia em muitos organismos, os quais podem ser divididos em de reserva nutritiva e estruturais. Os lipídeos estruturais têm papel relevante na manutenção da estrutura das membranas celulares, muitas propriedades dessas membranas decorrem das características químicas e físicas (Junqueira e Carneiro, 2012).

A característica central na arquitetura das membranas biológicas é uma dupla camada de lipídeos que atua como barreira à passagem de moléculas polares e íons. Os lipídeos de membrana são anfipáticos: uma extremidade da molécula é hidrofóbica e a outra é hidrofílica (Nelson e Cox, 2014). Estes compostos desempenham um papel significativo na bioquímica das membranas e têm um impacto direto sobre processos mediados por estas, tais como osmorregulação, assimilação de nutrientes e transporte celular (Ratnayake e Ackman, 1979; Linko et al., 1985).

Avaliando-se a questão ligada aos depósitos lipídicos preferenciais, é possível inferir que esta depende diretamente do período amostrado para *P. albifrons*, com o tecido hepático como principal tecido armazenador durante a estivação e tecido epitelial como principal armazenador durante a atividade. Outro fator preponderante é a época em que os animais foram colhidos, em que os resultados demonstram um período bastante crítico para os anfíbios, em que passaram por quase nove meses sem chuva (Anexo 2- figura 6), o que pode ter praticamente cessado os estoques hepáticos e musculares, evidenciado pelos baixíssimos valores destes tecidos.

Os vertebrados apresentam diferentes padrões de armazenamento de lipídeos, onde nos mamíferos o tecido adiposo aparece como principal depósito, enquanto entre os ectotermos, este

padrão parece ser bastante diversificado, dependendo do meio em que os animais vivem (Sheridan, 1994). Nos répteis, muito similar ao observado para mamíferos, existem vários pontos de acúmulo de gordura, principalmente sob a forma de corpos gordurosos (Fitzpatrick, 1976). Para peixes e anfíbios existe uma tendência de armazenamento bastante diversificada, com vistas ao rápido recrutamento de reservas quando necessário, basicamente os tecidos acumuladores de lipídeos são o fígado, músculo e tecido adiposo distribuído nos tecidos (Sheridan, 1998).

Observou-se que para o tecido epitelial não houve diferença estatística ( $P=0,164$ ), entre os períodos amostrados, podendo significar que o tecido epitelial se mantém estável, pois a pele possui um papel importante no controle osmorregulatório destes animais, sendo mantido intacto (Silva et al., 2017).

Os tecidos musculares e hepáticos apresentaram o mesmo padrão, com diminuição da concentração lipídica durante o período de atividade ( $P=0,046$  para músculo e  $P=0,03$  para fígado) em comparação com o período de estivação, este padrão pode ser explicado pela característica dos anfíbios anuros de responder rapidamente às mudanças hídricas, voltando à atividade e se reproduzindo ao primeiro sinal de chuva (Pereira, 2009), prontos para o amplexo, estratégia muito difundida entre os anuros estivadores.

Dada a variedade estrutural e diferenças metabólicas, a deposição de ácidos específicos pode variar entre os tecidos (Beckmann et al., 2014). Assim, a análise do perfil de FA tecidual pode ajudar a elucidar padrões de mobilização e explorar mudanças na dieta ao longo do tempo (Every et al., 2016). As duas frações de ácidos graxos hepáticos analisadas mostraram resultados bastante similares no período de atividade (Anexo 2- Figura 7). Os ácidos graxos neutros (triglicerídeos) e polares (fosfolipídeos de membrana) apresentaram altas porcentagens de ácidos graxos saturados (SAT), seguido por monoinsaturados (MUFA) e poliinsaturados (PUFA), mesmo padrão de distribuição encontrado por Özogul et al., (2009) na espécie de anuro *Rana esculenta* (Linnaeus, 1758). Por ser o órgão aparentemente mais importante no armazenamento de substrato energético,

observa-se que os ácidos graxos notadamente estruturais (PUFA) se mostram bastante reduzidos, em detrimento das altas porcentagens de SAT e MUFA.

Foi possível observar para ambas as frações altas concentrações do SAT C16:0, pois C16:0 é o metabólito chave em vertebrados (Anexo1- tabela 2). Dois MUFA também se sobressaíram em porcentagem em ambas as frações, o C16:1 e C18:1 (Anexo1- tabela 2), estes dois ácidos graxos também mostraram altas concentrações em períodos próximos da reprodução no anfíbio *Siphonops annulatus* (Mikan, 1820), o que pode mostrar uma preparação do tecido hepático para mobilização destes ácidos graxos altamente energéticos para o tecido ovariano na vitelogênese (Gomes, *et al.*, 2013)

### **Conclusão**

Os tecidos hepáticos e musculares apresentaram o mesmo padrão, com níveis maiores de substrato lipídico durante o período de estivação e diminuição durante as atividades, onde o tecido hepático mostrou-se fundamental para manter as atividades fisiológicas nesses anfíbios. O tecido epitelial não possui alteração no substrato lipídico, sendo que é um tecido de grande importância, mantendo o controle osmorregulatório, se mantendo inalterado em ambos os períodos.

O tecido hepático, por manter grandes quantidades de substrato lipídico para manter as atividades fisiológicas nesses animais, possuem altos níveis de ácidos graxos SAT e MUFA, sendo esses ácidos graxos de energia, já o ácido graxo PUFA, teve níveis baixos, pois sua função é estrutural.

### **Referências**

ALBUQUERQUE, S. G. and G. R. L. BANDEIRA, 1995. Effect of thinning and slashing on forage phytomass from a caatinga of Petrolina, Pernambuco, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 30: 885-891.

ANDRADE, G. and F. JUNCÁ. 2004, *Physalaemus albifrons*. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1.

ARZABE, C. G. SKUK, G.G, SANTANA, F.R, DELFIM, Y.C.C, LIMA, S.H.F, ABRANTES, 2005. Herpetofauna da área de Curimataú, Paraíba; p. 259- 274. In F.S. Araújo, M.J.N. Rodal and M.R.V. Barbosa (ed.). *Análise das variações da biodiversidade do Bioma Caatinga: suporte a estratégias regionais de conservação*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente.

BECKMANN, C. L., MITCHELL, J. G., STONE, D. A. and HUVENEERS, C., 2014. Inter tissue differences in fatty acid incorporation as a result of dietary oil manipulation in port jackson sharks (*Heterodontus portusjacksoni*). *Lipids*, vol.49, pp. 577-590.

BERNER, N.J., ELSE, P.L., HULBERT, A.J., MANTLE, B.L., CRAMP, R.L. and FRANKLIN, C.E., 2009. Metabolic depression during aestivation does not involve remodeling of membrane fatty acids in two Australian frogs. *Journal of Comparative Physiology*, vol. 179, pp. 857-866.

CASTRO D.P., RODRIGUES J.F.M., BORGES-LEITE M.J., LIMA D.C., BORGES-NOJOSA DM., 2019. A diversidade de anuros indica que as florestas neotropicais relicuais da Caatinga estão mais relacionadas à Mata Atlântica do que à Amazônia. *PeerJ* 6: e6208 <https://doi.org/10.7717/peerj.6208>

CARVALHO, J.E., NAVAS, C.A. and PEREIRA, I.C., 2010. Energy and water in aestivating amphibians. In: Carlos Arturo Navas; Jose Eduardo de Carvalho. (Org.). *Aestivation: Molecular and Physiological Aspects*. Heidelberg: Springer-Verlag.

EVERY, S. L., PETHYBRIDGE, H. R., CROOK, D. A., KYNE, P. M. and FULTON CJ., 2016. Tropical shark trophic niches. Comparison of fin and muscle tissues for analysis of signature fatty

acids in tropical euryhaline sharks. *Journal of Experimental Marine Biology Ecology*, vol. 479, pp. 46–53.

FARKAS, T., KITAJKA, K., FODOR, E., CSENGERI, L., LAHDES, E., YEO, Y.K., KRASZNA, Z. and HALVER, J.E., 2000. Docosahexaenoic acid-containing phospholipids molecular species in brain of vertebrates. *Proceedings of the National Academy Society of the United States of America*, vol.67, pp.19-42.

FITZPATRICK, L.C., 1976. Life history patterns of storage and utilization of lipids for energy in amphibians. *American Zoologist*, vol. 16, pp. 725-732.

FOLCH, J., LEES, M. and SLOANE STANLEY, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biology Chemistry*, vol. 226, pp. 497-509.

FRINGS, C.S., FENDLEY, T.W., DUNN, R.T. and QUEEN, C., 1972. A. Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Clinical chemistry*, vol. 18, pp. 673–4.

GOMES, A.D., NAVAS, C.A., JARED, C., ANTONIAZZI, M.M., MOREIRA, R.G., 2013. Metabolic and endocrine changes during the reproductive cycle of dermatophagic caecilians in captivity, 2013. *Zoology (Jena)*, vol. 116, pp. 277-285.

HOCHACHKA, P.W. and SOMERO, G.N.,2002. *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution*, New York: Oxford University Press.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J, 2012 *Biologia celular e molecular*. 9<sup>th</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp. 61.

KITSON, G., LARSEN, B.S. and MCEWEN, C.N., 1996. *Gas chromatography and mass spectrometry: A practical guide*, Academic Press, New York.

LEAL, I.R., TABARELLI, M. and SILVA, J.M.C., 2003. *Ecologia e Conserservação da Caatinga*. Barroso Barros, Recife: Ed. Universitária da UFPE, 822 p.



- LINKO, R.R., KAITARANTA, J.K. and VUORELA, R., 1985. Comparison of the fatty acids in Baltic herring and available plankton feed. *Comparative Biochemistry and Physiology*, vol. 82B, pp.699–705.
- MARES, M. A., M. R. WILLIG, K. E. STREILEIN & T. E. LACHER JR, 1981. The mammals of northeastern Brazil: a preliminary assessment. *Annals of the Carnegie Museum* 50: 81-137.
- MCEWEN, B.S. and WINGFIELD, J.C., 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behavior*, vol.43, pp.2-15.
- NAVAS, C., ANTONIAZZI, M. M. and JARED, C.A., 2004. A preliminary assessment of anuran physiological and morphological adaptation to the Caatinga, a Brazilian semi-arid environment. *International Congress Series*, vol. 1275, pp.298-305.
- NELSON, D.L.; COX, M.M., 2014. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6th ed. São Paulo: Artmed, 357 p.
- ÖZOGUL, F., OLGUNOGLU, A.I., BOGA, E.K., 2009. Comparison of fatty acid, mineral and proximate composition of body and legs of edible frog (*Rana esculenta*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 34, pp.558-565.
- PEREIRA, I.C., 2009. Aspectos Fisiológicos e Ecológicos da Estivação em *Pleurodema diplolistris* (Leiuperidae / Anura). São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Fisiologia, 70p. Dissertação de mestrado
- PINDER, A. W., STOREY, K. B. and ULTSCH, G. R., 1992. Estivation and Hibernation. In: FEDER, M. E., BURGGREEN, W.W. (Eds.) *Environmental Physiology of the Amphibians*. Chicago: University of Chicago Press, p. 250-274.
- RATNAYAKE, W.N. and ACKMAN, R.G., 1979. Fatty alcohols in capelin, herring and mackerel oils and muscle lipids: II. A comparison of fatty acids from wax esters with those of triglycerides. *Lipids*, vol. 14, pp.804–810.

- REIS, A. C., 1976. Clima da caatinga. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 48: 325-335.
- RODRIGUES, M. T., 1984. Uma nova espécie brasileira de *Tropidurus* com crista dorsal (Sauria, Iguanidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, S. Paulo 35: 169-175.
- RODRIGUES, M. T., 1987. Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao sul do rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia*, S. Paulo 31: 105-230.
- RODRIGUES, M. T., 1988. Distribution of lizards of the genus *Tropidurus* in Brazil (Sauria, Iguanidae). Pp. 305-315 in W. R. Heyer & P. E. Vanzolini (eds.) *Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brasil.
- RODRIGUES, M.T. 2002. Herpetofauna da Caatinga. In: LEAL, I. R., TABARELLI, M. and SILVA, J.M.C., ed. *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, pp. 181- 236.
- SHERIDAN, M.A., 1994. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comparative Biochemistry Physiology*, vol. 107B, pp. 495-508.
- SHERIDAN, M.A., 1998. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comparative Biochemistry Physiology*, vol. 90B, pp. 679-690.
- SILVA, H.A.M., SILVA-SOARES, T., BRITO-GITIRANA, L., 2017. Comparative analysis of the integument of different tree frog species from *Oloolygon* and *Scinax* genera (Anura: Hylidae). *Zoologia*, vol. 34, pp. e20176.
- STOREY, K.B. and STOREY, L.M., 2004. Biochemical adaptation to extreme environments In: W. Walz (Ed.), *Integrative Physiology: In the Proteomics and Post-Genomics Age*, Humana Press Inc, Totowa (2004), pp. 169–200.
- STUART, J.A., GILIS, T.E. and BALLANTYNE, J.S., 1997. Remodeling of phospholipid fatty acids in mitochondrial membranes of estivating snails. *Lipids*, vol. 33, pp.787-793.
- VANZOLINI, P. E.. 1974. Ecological and geographical distribution of lizards in Pernambuco, northeastern Brazil (Sauria). *Papéis Avulsos de Zoologia* 28: 61-90.

- VANZOLINI, P. E., 1976. On the lizards of a Cerrado-Caatinga contact: evolutionary and zoogeographical implications (Sauria). *Papéis Avulsos de Zoologia* 29: 111-119.
- VANZOLINI, P. E., 1988. Distributional patterns of south american lizards. Pp. 317-342 in W. R. Heyer & P. E. Vanzolini (eds.) *Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brasil.
- VIEIRA, W.L.S., C. ARZABE and G.G. SANTANA, 2007. Composição e distribuição espaço – temporal de Anuros no Cariri Paraibano, Nordeste do Brasil. *Oecologia Brasiliensis* 11(3): 383-396.
- WITHERS, P. C., 1993. Metabolic Depression During Estivation in the Australian Frogs, *Neobatrachus* and *Cyclorana*. *Australian Journal of Zoology*, vol. 41, pp.467-473.
- WITHERS, P. C. and THOMPSON, G. G., 2000. Cocoon formation and metabolic depression by the aestivation hylid frogs *Cyclorana australis* and *Cyclorana cultripes* (Amphibia: Hylidae). *Journal of the Royal Society of Western Australia*, vol. 83, pp.39-40.
- YANG, Z., 1995. Development of a gas chromatographic method for profiling neutral lipids in marine samples. MSc Thesis, Memorial University of Newfoundland St. John's, Newfoundland

# ANEXO 1

**Lista de tabelas**

**Tabela 1.** Classificação ecológica e zoogeográfica de anuros em diferentes regiões e catalogados nas Caatingas do Brasil.

| <b>Taxon (Autor, ano)</b>                                   | <b>Categoria Ecológica</b> | <b>Horário de Atividade</b> | <b>Habit Preferido</b> | <b>Padrão de Distribuição</b> |
|---|----------------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------------|
| <b>Amphibia</b>   |                            |                             |                        |                               |
| <b>Bufonidae</b>  |                            |                             |                        |                               |
| <i>Bufo granulatus</i> (Spix, 1824)                         | T                          | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Bufo paracnemis</i> (A. Lutz, 1925)                      | T                          | N                           | DL                     | AO                            |
| <b>Hylidae</b>  |                            |                             |                        |                               |
| <i>Corythomantis greeningi</i> (Boulenger, 1986)            | A/T                        | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Hyla crepitans</i> (Wied, 1824)                          | A                          | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Hyla microcephala</i> (Cope, 1886)                       | A                          | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Hyla minuta</i> (Peters, 1872)                           | A                          | N                           | DL                     | ?                             |
| <i>Hyla nana</i> (Boulenger, 1889)                          | A                          | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Hyla raniceps</i> (Cope, 1862)                           | A                          | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Hyla soaresi</i> (Caramaschi & Jim, 1983)                | A                          | N                           | DL                     | ?                             |
| <i>Scinax aurata</i> (Wied, 1821)                           | A/T                        | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Scinax gr. Catharinae</i> (Lutz, 1973)                   | A/T                        | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Scinax eurydice</i> (Bokermann, 1968)                    | A/T                        | N                           | DL                     | ?                             |
| <i>Scinax oliveirai</i> (Bokermann, 1963)                   | T                          | N                           | DL                     | ?                             |
| <i>Scinax pachychnus</i> (Miranda-Ribeiro, 1937)            | A/T                        | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Scinax ruber</i> (Laurenti, 1768)                        | A/T                        | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Scinax x-signatus</i> (Spix, 1824)                       | A/T                        | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Phrynohyas venulosa</i> (Laurenti, 1768)                 | A                          | N                           | DL                     | R                             |
| <i>Phyllomedusa bahiana</i> (A. Lutz, 1925)                 | A                          | N                           | NF                     | R                             |
| <i>Phyllomedusa hypochondrialis</i> (Daudin, 1800)          | A                          | N                           | NF                     | AO                            |
| <i>Trachycephalus atlas</i> (Bokermann, 1966)               | T/A                        | N                           | DL                     | AO                            |
| <i>Xenohyla izecksoni</i> (Caramaschi, 1998)                | A                          | N                           | DL                     | ?                             |
| <b>Leptodactylidae</b>                                      |                            |                             |                        |                               |
| <i>Adenomera</i> sp.  | T                          | D                           | NE                     | ?                             |
| <i>Ceratophrys joazeirensis</i> (Mercadal, 1986)            | T                          | N                           | DL                     | ?                             |
| <i>Eleutherodactylus ramagii</i> (Boulenger, 1888)          | T                          | N                           | DD                     | R                             |
| <i>Leptodactylus fuscus</i> (Schneider, 1799)               | T                          | N                           | NE                     | ?                             |
| <i>Leptodactylus labyrinthicus</i> (Spix, 1824)             | T                          | N                           | NE                     | AO                            |
| <i>Leptodactylus latinasus</i> (Jiménez de la Espada, 1875) | T                          | N                           | NE                     | ?                             |
| <i>Leptodactylus mystaceus</i> (Spix, 1824)                 | T                          | N                           | NE                     | R                             |
| <i>Leptodactylus natalensis</i> (Lutz, 1930)                | T                          | N                           | NE                     | R                             |
| <i>Leptodactylus ocellatus</i> (Linnaeus, 1758)             | T                          | N                           | NE                     | AO                            |
| <i>Leptodactylus podicipinus</i> (Cope, 1862)               | T                          | N                           | NE                     | ?                             |
| <i>Leptodactylus syphax</i> (Bokermann, 1969)               | T                          | N                           | NE                     | ?                             |
| <i>Leptodactylus troglodytes</i> (Lutz, 1926)               | T                          | N                           | NE                     | AO                            |
| <i>Odontophrynus carvalhoi</i> (Savage & Cei, 1965)         | T                          | N                           | DL                     | ?                             |
| <i>Physalaemus albifrons</i> (Spix, 1824)                   | T                          | N                           | NE                     | AO                            |

|   |   |     |    |    |
|---|---|-----|----|----|
| <i>Physalaemus centralis</i> (Bokermann, 1962)            | T | N   | NE | AO |
| <i>Physalaemus cicada</i> (Bokermann, 1966)               | T | N   | NE | ?  |
| <i>Physalaemus cuvieri</i> (Fitzinger, 1826)              | T | N   | NE | ?  |
| <i>Physalaemus gracilis</i> (Boulenger, 1883)             | T | N   | NE | ?  |
| <i>Physalaemus kroeyeri</i> (Reinhardt & Lutken, 1862)    | T | N   | NU | ?  |
| <i>Pleurodema diploristris</i> (Peters, 1870)             | T | N   | NE | AO |
| <i>Proceratophrys cristiceps</i> (Muller, 1884)           | T | N   | DL | AO |
| <i>Pseudopaludicola falcipes</i> (Hensel, 1867)           | T | D   | NE | AO |
| <i>Pseudopaludicola mystacalis</i> (Cope, 1887)           | T | D   | NE | AO |
| <b>Microhylidae</b>                                       |   |     |    |    |
| <i>Dermatonotus muelleri</i> (Boettger, 1885)             | F | N   | DL | AO |
| <i>Elachistocleis piauiensis</i> (Caramaschi & Jim, 1983) | F | N   | DL | ?  |
| <b>Pipidae</b>  |   |     |    |    |
| <i>Pipa carvalhoi</i> (Miranda-Ribeiro, 1937)             | Q | N   | DL | AO |
| <b>Pseudidae</b>  |   |     |    |    |
| <i>Pseudis bolbodactyla</i> (A. Lutz, 1925)               |   |     |    |    |
| <b>Caecilidae</b>   |   |     |    |    |
| <i>Chthonerpeton arii</i> (Cascon & Lima-Verde, 1994)     | Q | D/N | VV | MD |
| <i>Siphonops paulensis</i> (Boettger, 1892)               | F | D/N | OV | AO |
| <i>Siphonops annulatus</i> (Mikan, 1820)                  | F | D/N | OV | AO |

(A) arborícola, (F) fossorial, (Q) aquática e (T) terrestre; (D) diurnas ou (N) noturnas; (DD) desenvolvimento direto, (DL) desova em ambientes lênticos, (NE) desova em ninho de espuma, (NF) desova em folha fora da água, (OV) ovíparos e (VV) vivíparos; (AO) ampla ocorrência no domínio; (R) distribuição de caráter relictual; (DSF) distribuição restrita à região dos campos de dunas do médio São Francisco e areias adjacentes; (MD) distribuição dependente da rede de drenagem, (?) sem informação.

Fonte: Ecologia e Conservação da Caatinga.

**Tabela 2** - Ácidos graxos (%) neutros e polares de *Physalaemus albifrons* durante o período de atividade (Média ± Erro Padrão).

|             | Neutros<br>(Média ± Erro<br>Padrão) |             | Polares<br>(Média ± Erro<br>Padrão) |
|-------------|-------------------------------------|-------------|-------------------------------------|
| C14:0       | 1,4±0,26                            | C14:0       | 2,0±0,29                            |
| C14:1       | 1,3±0,01                            | C14:1       | 0,8±0,10                            |
| C15:0       | 0,5±0,09                            | C15:0       | 0,4±0,09                            |
| C15:1       | 0,2±0,01                            | C15:1       | 0,4±0,05                            |
| C16:0       | 37,6±1,38                           | C16:0       | 33,3±3,76                           |
| C16:1       | 11,6±1,03                           | C16:1       | 15,2±1,73                           |
| C17:0       | 0,9±0,20                            | C17:0       | 1,4±0,34                            |
| C17:1       | 0,6±0,20                            | C17:1       | 0,4±0,06                            |
| C18:0       | 9,2±0,85                            | C18:0       | 9,4±1,20                            |
| C18:1       | 30,9±2,17                           | C18:1       | 30,7±2,94                           |
| C18:2n6     | 3,4±1,18                            | C18:2n6     | 3,9±0,84                            |
| C18:3n6     | 1,8±0,56                            | C18:3n6     | 1,3±0,24                            |
| C18:4n3     | 0,5±0,17                            | C18:4n3     | 0,2±0,03                            |
| C20:4n6     | 0,3±0,17                            | C20:0       | 0,4±0,01                            |
| C22:0       | 0,3±0,18                            | C20:1       | 0,1±0,04                            |
| C22:2n6     | 0,2±0,10                            | C20:2n6     | 0,1±0,01                            |
| C23:0       | 0,2±0,08                            | C20:4n6     | 0,80±0,01                           |
| C22:5n6     | 0,3±0,14                            | C20:3n3     | 0,1±0,07                            |
| C22:6n3     | 0,3±0,10                            | C20:5n3     | 0,3±0,16                            |
|             |                                     | C22:0       | 0,9±0,43                            |
|             |                                     | C22:1       | 0,2±0,09                            |
|             |                                     | C22:2n6     | 0,5±0,01                            |
| <b>SAT</b>  | 50,1±0,87                           | <b>SAT</b>  | 47,1±3,96                           |
| <b>MUFA</b> | 43,3±2,08                           | <b>MUFA</b> | 47,1±4,51                           |
| <b>PUFA</b> | 6,5±1,67                            | <b>PUFA</b> | 5,8±1,13                            |

SAT- Somatória de ácidos graxos saturados; MUFA- Somatória de ácidos graxos monoinsaturados;  
PUFA- Somatória de ácidos graxos Polinsaturados.

# ANEXO 2

**Lista de figuras**



**Figura 1-** Mapa das regiões ocupadas pelo bioma Caatinga. Disponível em:

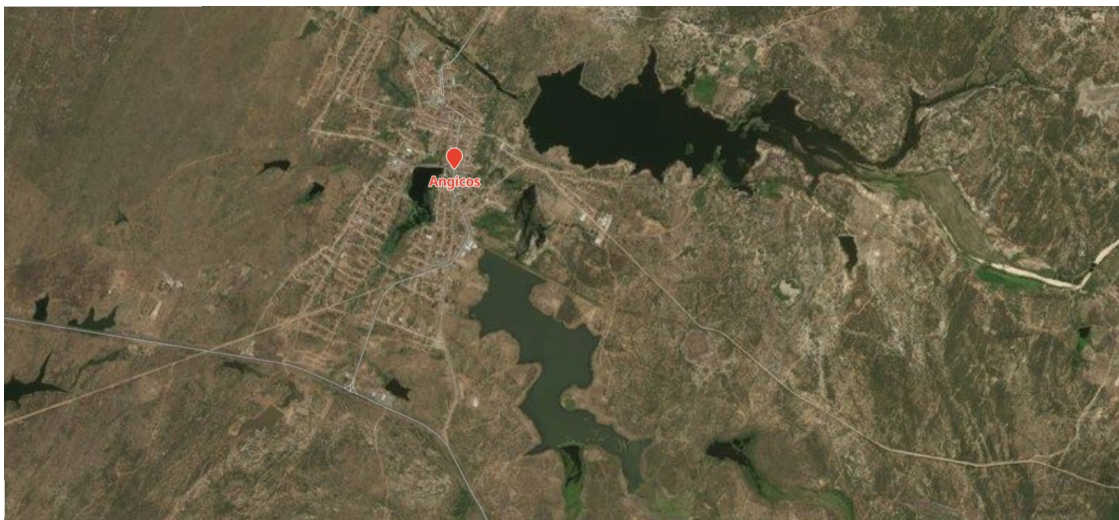
<https://www.nationalgeographicbrasil.com/natgeo-ilustra/caatinga>



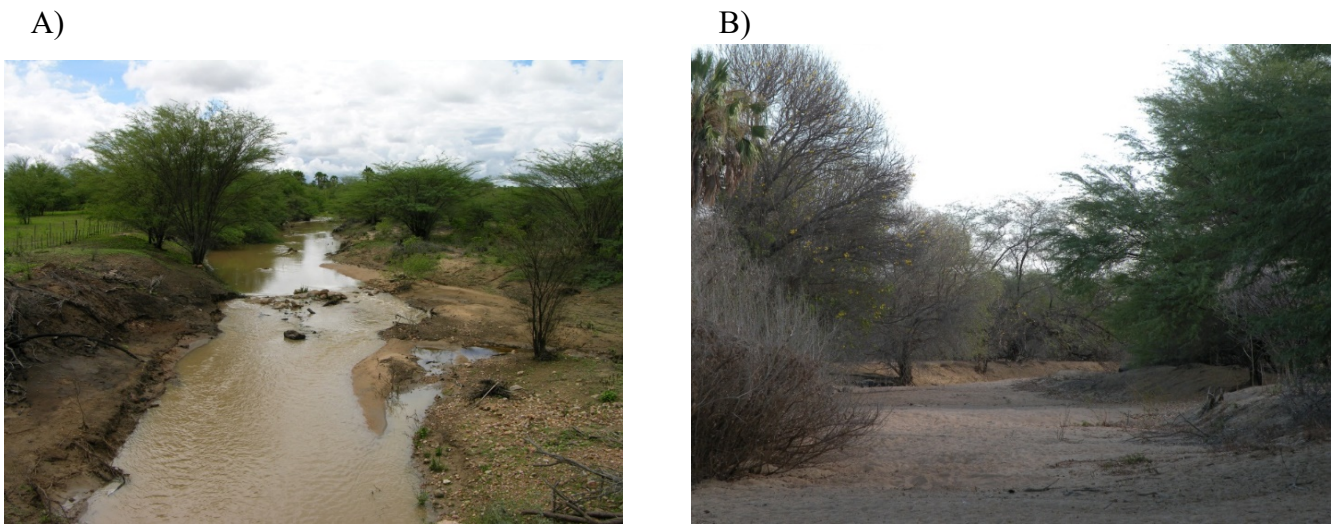
**Figura 2**-- Espécie modelo do estudo, *Physalaemus albifrons* (Spix, 1824). Fonte: Pedro L. V. Peloso, 2010.



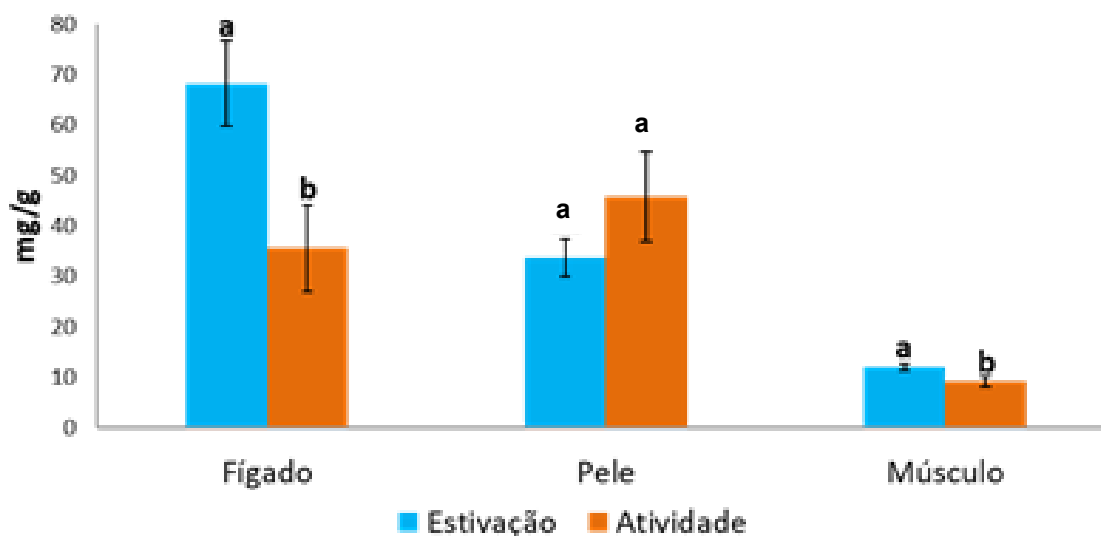
**Figura 3**- Mapa da Região de Angicos/RN. Disponível em: <https://google-earth.gosur.com/en/?ll=-5.667765789672856,-36.57951646760512&z=14.304334019564713&t=satellite>



**Figura 4-** Caracterização dos períodos de amostragem dos espécimes em Angicos, Rio Grande do Norte, Brasil. (A) Chuvoso; (B) Estiagem. Autoria própria: Crístiele da Silva Ribeiro, 2011.



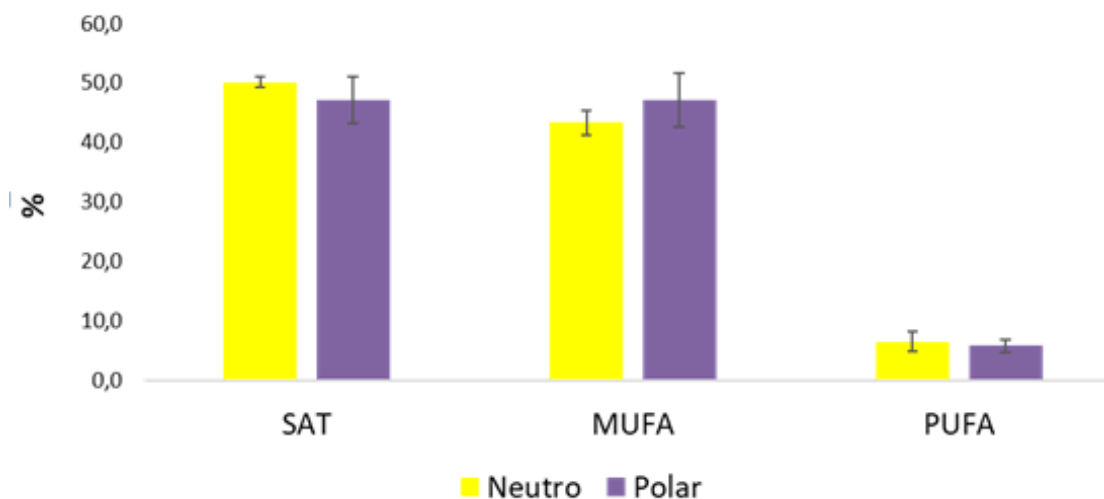
**Figura 5-** Concentração de lipídeos totais teciduais (mg/g) em amostras teciduais de *Physalaemus albifrons* durante os períodos de estivação (azul) e atividade (laranja). <sup>a,b</sup> médias seguidas por letras nas colunas possuem diferença estatística significativa perante o teste t de *Student* ( $P < 0,05$ ). Onde os tecidos hepáticos e musculares tiveram resultados similares, onde há maiores concentrações de lipídeos na estivação e uma diminuição dessa concentração no período de estiagem. Já para o tecido epitelial, não houve diferenças significativas para ambos os períodos analisados.



**Figura 6-** Precipitação da cidade de Angicos/RN do ano de 2021. Disponível em: <http://meteorologia.emparn.rn.gov.br/graficos-variaveis>



**Figura 7-** Percentual hepático dos principais grupos de ácidos graxos neutros (amarelo) e polares (roxo) de *Physalaemus albifrons* durante o período de atividade. O tecido hepático mostrou uma maior concentração de ácidos graxos saturados (SAT) e monoinsaturados (MUFA), com baixas concentrações de polinsaturados (PUFA).



# ANEXO 3

Instruções aos autores da Revista em que será submetido o presente artigo, **Brazilian Journal of Biology**, pertencente ao Instituto Internacional de Ecologia.