

# Organização celular dos testículos em Hylidae e Leptodactylidae, no Pantanal (Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil)

Adelina Ferreira<sup>1\*</sup>, Ana Barbara dos Santos Rosa<sup>1</sup> e Mahmoud Mehanna<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Correa da Costa, s/n, 78060-900, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: adelina@cpd.ufmt.br

**RESUMO.** O objetivo deste trabalho foi analisar e comparar a organização das células germinativas em diferentes estádios de diferenciação celular nos machos adultos de *Dendropsophus nanus* (Boulenger, 1889), *Pseudis limellum* (Cope, 1862), *Pseudis paradoxa* (Linnaeus, 1758) e *Scinax acuminatus* (Cope, 1862), pertencentes à família Hylidae, e de *Leptodactylus chaquensis* (Cei, 1950) e *L. podicipinus* (Cope, 1862), pertencentes à família Leptodactylidae, coletados no Pantanal e na serra da Bodoquena, no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Os testículos foram retirados, fixados, desidratados em uma série alcoólica e incluídos em resina plástica do tipo metacrilato glicol (Historesin Leica®); cortados a 3 µm, corados com azul de toluidina 1% e observados no microscópio de luz. Constatou-se que os indivíduos da família Hylidae apresentam, em todas as épocas do ano, presença de todas as células de linhagem germinativa da espermatogênese. Já os indivíduos da família Leptodactylidae apresentam todas as células da linhagem germinativa somente no período chuvoso. As variações das características na organização dos epitélios seminíferos, assim como da evidente diferença na quantidade de espermatozoides no interior dos túbulos, demonstram que os anuros estudados apresentam diferentes formas de desenvolvimento da espermatogênese ao longo do ano: de forma cíclica para os da família Hylidae e acíclica, com liberação explosiva de espermatozoides, para os da família Leptodactylidae.

**Palavras-chave:** espermatogênese, *Dendropsophus*, *Leptodactylus*, *Pseudis*, *Scinax*, pantanal, Serra da Bodoquena.

**ABSTRACT.** Cellular organization of the testes in Hylidae and Leptodactylidae, in the Pantanal (Mato Grosso do Sul State, Brazil). The objective of this work was to make a comparative analysis of germ cell organization at different stages of cellular differentiation in adult males of *Dendropsophus nanus* (Boulenger, 1889), *Pseudis limellum* (Cope, 1862), *P. paradoxa* (Linnaeus, 1758), and *Scinax acuminatus* (Cope, 1862), belonging to the family Hylidae; and *Leptodactylus chaquensis* (Cei, 1950) and *L. podicipinus* (Cope, 1862), belonging to the family Leptodactylidae, collected in the Pantanal and in Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brazil. The testes were removed and fixed, dehydrated in a graded series of ethanol, and embedded in methacrylate glycol resin (Historesin Leica®). The sections were stained by 1% toluidine blue and observed under light microscope. It was detected that all individual of the Hylidae family show, throughout the year, the presence of all germ cell types of spermatogenesis. However, all Leptodactylidae family individuals only show the presence of all germ cell types during the rainy season. The variations of characteristics in seminiferous epithelium organization, as well as the evident difference in the amount of spermatozoa inside the tubules, are evidence that the anurans in this work show different forms of spermatogenesis development throughout the year: the cycle is continuous for the Hylidae family, and discontinuous with explosive release of spermatozoa for the Leptodactylidae family.

**Key words:** spermatogenesis, *Dendropsophus*, *Leptodactylus*, *Pseudis*, *Scinax*, pantanal, Serra da Bodoquena.

## Introdução

A espermatogênese dos anuros é cística, ou seja, as células germinativas ocorrem em grupos organizados e definidos. Cada cisto possui células no mesmo estágio de diferenciação e, no túbulo seminífero, podemos encontrar vários cistos em estágios diferentes ou em estágios semelhantes,

dependendo do tipo do ciclo reprodutivo de cada espécie (HERMOSILLA et al., 1983; OLIVEIRA et al., 2003a; 2003b).

Os ciclos reprodutivos de anuros foram explorados e classificados de acordo com as características histológicas e comportamentais por Lofts (1974), e podem ser: contínuo, potencialmente

contínuo e descontínuo. Vários estudos foram feitos com o objetivo de descrever histologicamente os testículos de anuros de localidades brasileiras com clima tropical (TABOGA; DOLDER, 1991; OLIVEIRA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2003a; 2003b). Os trabalhos mais detalhados quanto às características da espermatogênese foram preparados com anuros de regiões temperadas (RITKE; LESSMAN, 1994), que, na maioria das vezes, apresentam ciclo reprodutivo descontínuo e sincronizado. Esse tipo de ciclo possui uma interrupção periódica que está sob o controle de um ritmo endógeno, independentemente de fatores ambientais.

Apresentando menor heterogeneidade de habitats e maior disponibilidade de corpos d'água permanentes, a planície alagável do Pantanal abriga espécies de anfíbios em geral abundantes e de ampla distribuição. Entretanto, as áreas de entorno, como a serra da Bodoquena, são desconhecidas do ponto de vista da sua anurofauna (STRÜSSMANN; PRADO, 2000). Os dados conhecidos para a atividade reprodutiva de anuros nestas regiões foram estudados por Prado e Uetanabaro (2000) para a biologia reprodutiva de *Lysapsus limellus* (= *Pseudis limellum*), Prado et al. (2000) para estratégias reprodutivas, Prado et al. (2002) para modo reprodutivo e por Prado e Haddad (2003) para variações morfológicas no tamanho dos testículos e comportamento reprodutivo de *Leptodactylus chaquensis* e *L. podicipinus*. Quanto à análise histológica também são escassos e recentes os trabalhos com uma descrição do ciclo espermatogênico de *Pseudis limellum* (FERREIRA et al., 2008). Em todos os casos supracitados, as espécies são do Pantanal da sub-região do Miranda e não existem dados da biologia reprodutiva de anuros na serra da Bodoquena.

São escassas as informações a respeito do período e local de reprodução para anuros desta região. Dados morfológicos sobre os períodos reprodutivos de diversas espécies são inexistentes na literatura. Acreditamos que existem diferenças na organização e nas características celulares dos testículos entre as espécies de anuros do mesmo gênero e de gêneros diferentes, assim como entre as localidades com condições climáticas divergentes. O objetivo deste trabalho é indicar se há diferenças para as espécies *Leptodactylus chaquensis*, *L. podicipinus*, *Dendropsophus nanus*, *Pseudis limellum*, *Pseudis paradoxa* e *Scinax acuminatus* habitantes do Pantanal Sul-mato-grossense e da serra da Bodoquena.

## Material e métodos

Machos adultos de *Dendropsophus nanus* (Boulenger, 1889), *Pseudis limellum* (Cope, 1862), *P. paradoxa* (Linnaeus, 1758) e *Scinax acuminatus* (Cope, 1862), pertencentes à família Hylidae, e *Leptodactylus chaquensis* (Cei, 1950) e *L. podicipinus* (Cope, 1862), pertencentes à família Leptodactylidae, foram coletados em lagoas e áreas inundadas nas regiões do Pantanal Sul-mato-grossense, nas sub-regiões do Miranda, Aquidauana e Nhumirim, e nas áreas de entorno, serra da Bodoquena, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. As coletas foram realizadas nos períodos chuvosos e propícios à reprodução, entre os anos de 1983 a 2001. Os espécimes foram fixados em formalina 10% e mantidos em álcool 70% na Coleção Zoológica de Referência da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (ZUFMS) e da Coleção Zoológica de Referência da Universidade Estadual Paulista *Campus* de Rio Claro.

## Área de estudo

O Pantanal é formado por enorme planície aluvial, drenada por complexa cadeia de rios e córregos entremeados por cerrados, matas e campos inundáveis. É dividido em sub-regiões que recebem nomes locais com base no regime de inundações e tipo de cobertura vegetal (SILVA; ABDON, 1998). Silva e Abdon (1998) identificaram dez sub-regiões, as quais foram nomeadas por Cáceres, Poconé, Barão de Melgaço, Paiaguás, Nhecolândia, Aquidauana, Paraguai, Miranda, Nabileque e Abobral. Segundo Silva e Abdon (1998), no Pantanal, as médias mensais de temperatura oscilam entre 19,9°C (julho em Aquidauana) e 27,4°C (dezembro em Corumbá), e são comuns, em quase todos os anos, resfriamentos abaixo dos 10°C, com curta duração (dois a três dias), entre os meses de abril e setembro. A serra da Bodoquena constitui planalto escarpado a Oeste, no sentido da Planície do Pantanal. Apesar de ser caracteristicamente uma área de mata do planalto do entorno do Pantanal, ambos os biomas apresentam características de temperatura e chuvas muito semelhantes.

## Análise histológica

Os animais utilizados neste trabalho fazem parte do acervo da Coleção Zoológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e foram aproveitados para análise histológica. Para tanto, os testículos foram retirados e refixados em formalina 10%, desidratados em uma série alcoólica e incluídos em resina do tipo metacrilato glicol (Historesin Leica®); depois de cortados de forma semisseriada e transversalmente (2 µm), foram corados pelo azul de toluidina 1% e observados no microscópio de luz Olympus BX 60. A

célula da espermatogênese foi reconhecida de acordo com o descrito por Hermosilla et al. (1983) e Oliveira et al. (2003a; 2003b).

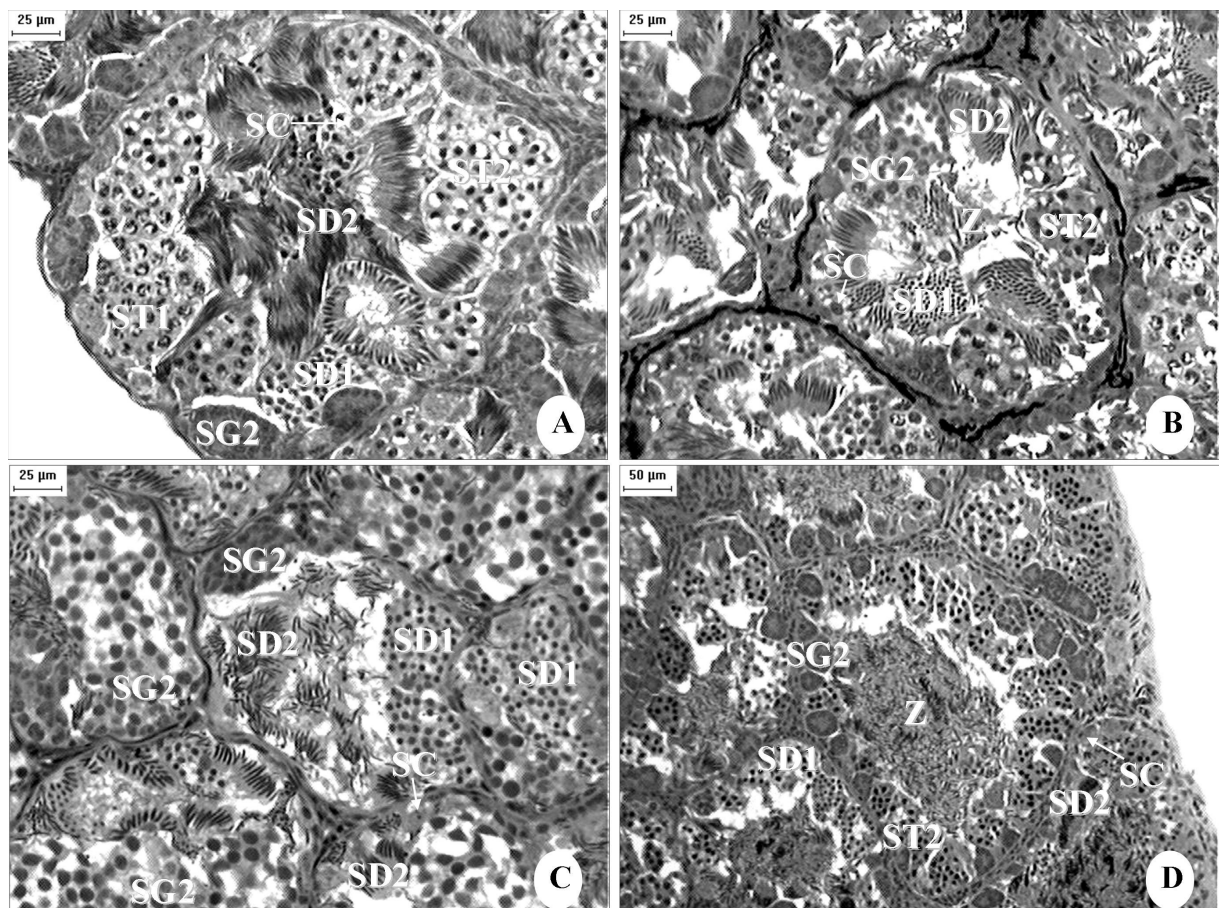
### Resultados e discussão

As espécies exibiram diferenças e peculiaridades no arranjo do epitélio seminífero, com diferenças na produção de espermatozoides. As diferenças estruturais observadas são típicas de cada espécie.

Os anuros das espécies *Dendropsophus nanus*, *Pseudis limellum*, *P. paradoxa* e *Scinax acuminatus*, três gêneros representantes da família Hylidae, apresentaram em todas as épocas do ano, tanto no Pantanal quanto na serra da Bodoquena, a espermatogênese caracterizada pela presença de todas as células da linhagem germinativa. Apesar de existirem variações de um túbulo seminífero a outro (quanto à proporção de células germinativas presentes e/ou ausentes), a presença de espermatozoides é constante em todos os túbulos. Este aspecto morfológico caracteriza uma

espermatogênese cíclica com todos os estádios de diferenciação celular presentes no túbulo seminífero, inclusive espermatozoides (Figura 1).

Os anuros da família Hylidae apresentam, geralmente, cistos bem definidos, em que as espermatogônias estão localizadas na periferia do túbulo; são células com aspecto volumoso, com núcleo irregular e cromatina condensada na periferia, são fracamente coradas e estão normalmente associadas às células de Sertoli, que possuem um núcleo com aspecto semilunar e nucléolo bem evidente (Figura 1A). Os cistos de espermatócitos são caracterizados por células em diferentes graus de compactação cromatínica que caracterizam as fases da divisão meiótica (Figura 1B). As espermatídes podem ser esféricas ou fusiformes e estão organizadas em feixes (Figura 1C). Os espermatozoides livres no centro do túbulo são caracterizados por possuírem núcleo com cromatina altamente compacta (Figura 1D).

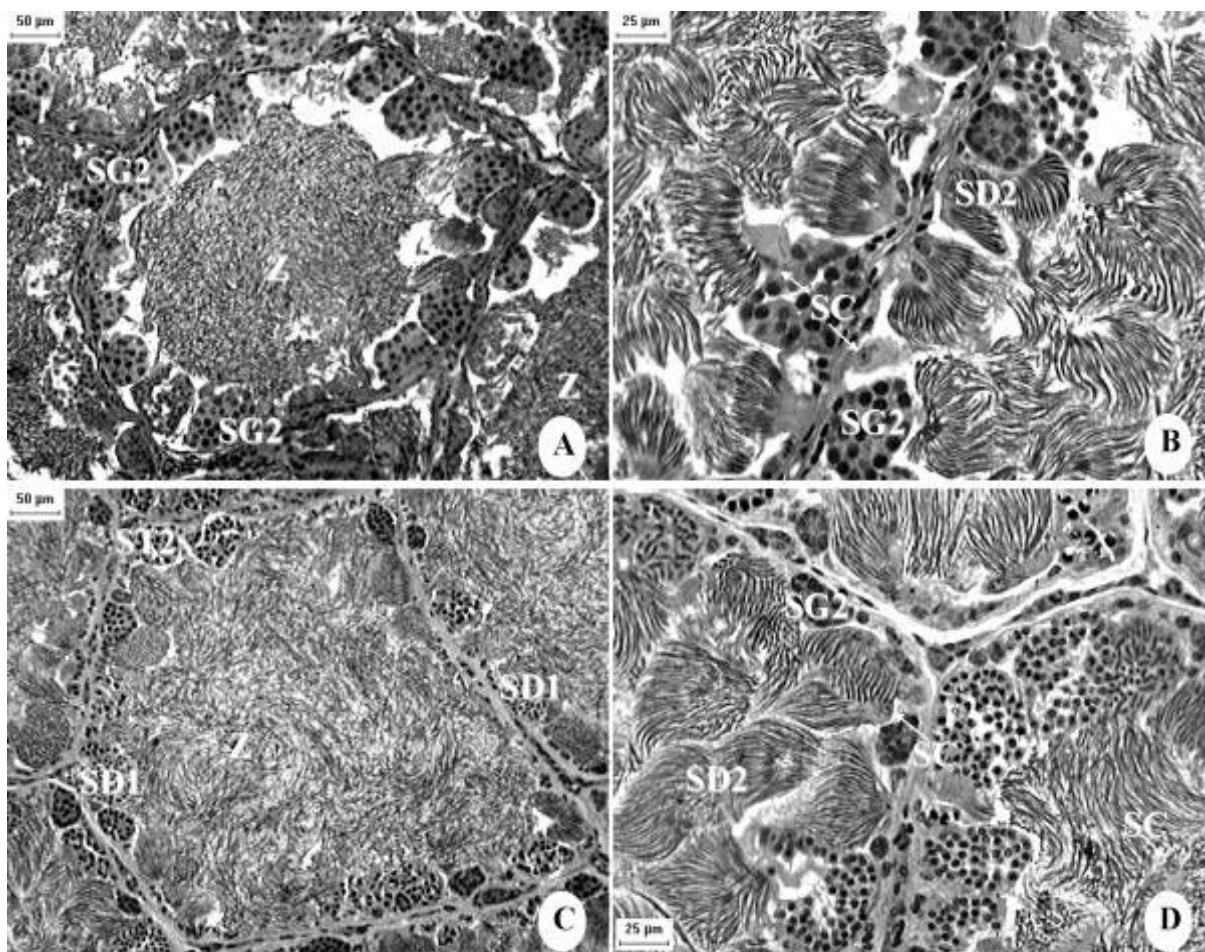


**Figura 1.** A – *Dendropsophus nanus* (serra da Bodoquena, em abril de 2001); B – *Pseudis limellum* (Pantanal, em dezembro de 1989); C – *Pseudis paradoxa* (serra da Bodoquena, em novembro de 2000); D – *Scinax acuminatus* (Pantanal, em novembro de 2000). SG2: Espermatogônia secundária; ST1: Espermatócito primário; ST2: Espermatócito secundário; SD1: Espermatíde primária; SD2: Espermatíde secundária; Z: Espermatozoide. As setas indicam as Células de Sertoli (SC). Cortes corados pelo azul de toluidina 1%.

Os anuros das espécies *Leptodactylus chaquensis* e *L. podicipinus*, que representam um gênero dentro da família Leptodactylidae, apresentam espermatozoides em grande quantidade no interior dos túbulos seminíferos. No entanto, apenas cistos de espermatogônias são observados na periferia do túbulo. Cistos de espermatócitos e espermatídes arredondadas são raros ou esporádicos. Este aspecto morfológico caracteriza espermatogênese acíclica em que nem todos os estádios da diferenciação celular são observados, mas a presença de espermatídes alongadas com disposição em leque e espermatozoides livres é constante (Figura 2). Os anuros da família Leptodactylidae apresentam espermatozoides ocupando todo o centro do túbulo seminífero, em todos os períodos analisados. Em nossas observações, para *Leptodactylus chaquensis*, no Pantanal da sub-região de Aquidauana e Miranda, o período em que os espermatozoides estão totalmente livres no centro dos túbulos seminíferos ocorre no mês de outubro (Figura 2A), intercalado por dois períodos de

organização dos feixes de espermatídes alongadas nos meses de agosto e dezembro (Figura 2B). Já para *L. podicipinus*, no Pantanal da sub-região de Nhecolândia, o período do mês de dezembro é caracterizado por apresentar túbulos seminíferos que possuem espermatozoides livres (Figura 2C) e espermatídes alongadas organizadas em feixes no mês de outubro (Figura 2D).

Em regiões tropicais, o período propício à reprodução dos anuros está associado às condições ambientais quentes e úmidas. Saidapur (1983), Montero e Pisanó (1992) e Huang e Lin (1997) acreditavam que essas características ambientais eram suficientes para desencadear um processo contínuo de produção de gametas, em que a atividade gonadal pode estar relacionada com o padrão de temperatura ou pluviosidade. No entanto, observamos que, apesar de os gametas estarem realmente sendo produzidos durante os períodos chuvosos e quentes do ano, existem diferenças peculiares quanto à organização celular das células germinativas.



**Figura 2.** A e B – *Leptodactylus chaquensis* (A: Pantanal, em outubro de 1991, B: serra da Bodoquena, em setembro de 1995); C e D – *Leptodactylus podicipinus* (Pantanal, em novembro de 1991). SG2: Espermatogônia secundária; ST1: Espermatócito primário; ST2: Espermatócito secundário; SD1: Espermatíde primária; SD2: Espermatíde secundária; Z: Espermatozoide. As setas indicam as Células de Sertoli (SC). Cortes corados pelo azul de toluidina 1%.

Nas descrições morfológicas para os ciclos contínuos, a afirmação de que os túbulos seminíferos apresentam cistos de células germinativas em vários estádios de maturação (DUELLMAN, 1988) está correta, quando confrontada aos anuros da família Hylidae por nós analisados. A afirmação de que nos ciclos descontínuos as células germinativas amadurecem uniformemente em cada túbulo (LOFTS, 1974), quando confrontada com o observado para os anuros da família Leptodactylidae, também está de acordo, pois notamos algumas variações, em que muitos espermatozoides são liberados em determinado período, o que poderia caracterizá-los como descontínuos; não podemos, no entanto, afirmar que isso seja um padrão para todas as épocas do ano.

Nas regiões tropicais de clima sazonal, a atividade reprodutiva de anuros está intimamente relacionada ao período chuvoso (DUELLMAN; TRUEB, 1986), padrão que tem sido confirmado por outros autores (HOOGMOED; GORZULA, 1979; AICHINGER, 1987; SANTOS; OLIVEIRA, 2008). No entanto, Hoogmoed e Gorzula (1979), estudando 13 espécies de anuros na Venezuela, observaram que, embora a maioria das espécies se reproduza no período de estiagem, quando ocorrem chuvas inesperadas, estes anuros demonstram a capacidade de reproduzir-se continuamente quando as condições ambientais são favoráveis, conclusão corroborada por Ferreira et al. (2008) para *Dendropsophus minutus* no Pantanal. Com base nisso, acreditamos que a maioria dos anuros da região do Pantanal e seu entorno encontra condições favoráveis para se reproduzir em ambas as estações (chuvosa e seca), ainda que cada espécie possa apresentar períodos reprodutivos diferentes.

Segundo Prado et al. (2002), a reprodução de *Leptodactylus podicipinus* ocorreu durante o ano todo no Pantanal, e mesmo durante os meses de seca foram encontrados machos vocalizando na borda de lagoas que estavam secando. Já a reprodução de *L. chaquensis* ocorreu durante os meses chuvosos de outubro a março.

O Pantanal abriga fauna de anuros bastante diversificada, que inclui, além de formas terrícolas e subarborícolas, duas espécies de hábitos semiaquáticos, com grande habilidade para a natação e o mergulho (*Pseudis limellum* e *P. paradoxa*). A grande maioria das espécies de anuros do Pantanal suporta o período de seca abrigada em locais úmidos e rapidamente se dispersa e coloniza os campos uma vez inundados (*i. e. Dendropsophus nanus*, *Scinax acuminatus*). Espécies como *Leptodactylus chaquensis* e *L. podicipinus* permanecem nas proximidades da linha de contato entre os biótopos aquáticos e terrestres (STRÜSSMANN; PRADO, 2000).

Aspectos da biologia reprodutiva de anuros da família Leptodactylidae no Pantanal foram muito bem explorados por Prado et al. (2002) e Prado e Haddad

(2003). A reprodução de *Leptodactylus podicipinus* e *L. chaquensis* ocorre o ano todo. Isso é possível, em parte, pela disponibilidade de ambientes aquáticos ao longo do ano na região, apesar da sazonalidade em relação às chuvas e às inundações. O que realmente parece importar para estas espécies é a pequena profundidade das margens de lagoas que estejam cheias ou secando, e ainda de áreas inundadas (PRADO et al., 2002). Em todos os trabalhos, o período reprodutivo coincide com o período de maior precipitação. Nossa observação demonstrou que a espermatogênese dos anuros da família Leptodactylidae é acíclica, e corrobora os dados de modos reprodutivos, em que os períodos chuvosos aumentam a disponibilidade de corpos d'água.

A estratégia reprodutiva utilizada pelos anuros da família Hylidae é a construção de 'piscinas' nas margens do ambiente aquático. A desova e os girinos, durante os primeiros dias de vida, ficam protegidos contra alguns predadores. Quando o nível da água sobe, invade as 'piscinas' e os girinos, em um estágio mais desenvolvido, deslocam-se para a poça (MARTINS; HADDAD, 1998). Isso torna este grupo muito mais dependente do regime de chuvas. Nossa observação demonstrou que a espermatogênese dos anuros da família Hylidae é cíclica, e corrobora os dados de modos reprodutivos, em que os espermatozoides são produzidos continuamente e os indivíduos parecem 'preparados' para copular com qualquer pequena chuva que ocorra, o que, pelo seu pequeno porte corporal, seria suficiente para encher as 'piscinas' por eles construídas.

Um dos poucos trabalhos com ciclo reprodutivo no gênero *Leptodactylus* foi realizado por Donnelly (1999), que observou o ciclo reprodutivo de *Eleutherodactylus bransfordii* na Costa Rica utilizando medidas macroscópicas do tamanho das gônadas. Nesta região, apesar da sazonalidade variável, o ciclo é caracteristicamente contínuo.

As peculiaridades dos aspectos morfológicos observados refletem as particularidades dos grupos de anuros, tanto das estratégias reprodutivas quanto da forma que cada estratégia pode ser característica das condições bióticas do ambiente em que vivem. Os anuros do gênero *Leptodactylus* depositam seus ovos em ninhos de espumas depositados na superfície de lagos e os girinos se desenvolvem no mesmo local. A espuma auxilia na proteção contra a dessecação e predadores, fornecendo também a oxigenação dos ovos (PRADO et al., 2002).

As variações das características na organização dos epitélios seminíferos, assim como da evidente diferença na quantidade de espermatozoides no interior dos túbulos, levam-nos a acreditar que os anuros estudados apresentam diferentes formas de desenvolvimento da

espermatogênese ao longo do ano: de forma cíclica para os da família Hylidae e acíclica, com liberação explosiva de espermatozoide, para os da família Leptodactylidae.

### Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (Fapemat - processo # 0769/2006) pelo auxílio concedido.

### Referências

- AICHINGER, M. Annual activity patterns of anurans in a seasonal neotropical environment. **Oecologia**, v. 1987, n. 71, p. 583-592, 1987.
- DONNELLY, M. A. Reproductive phenology of *Eleutherodactylus bransfordii* in Northeastern Costa Rica. **Journal of Herpetology**, v. 33, n. 4, p. 624-631, 1999.
- DUELLMAN, W. E. Patterns of species diversity in anuran amphibians in the American Tropics. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 75, n. 1, p. 79-104, 1988.
- DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1986.
- FERREIRA, A.; MEHANNA, M.; PRADO, C. A. P. Morphologic and morphometric analysis of testis of *Pseudis limellum* (Cope, 1862) (Anura, Hylidae) during the reproductive cycle in the Pantanal, Brazil. **Biocell**, v. 32, n. 2, p. 185-194, 2008.
- HERMOSILLA, I. B.; URBINA, A. P.; CABRERA, J. C. P. Espermatogênese em la rana Chilena *Caudiverbera caudiverbera* (Linne, 1758) (Anura, Leptodactylidae). **Boletín de la Sociedad de Biología de Concepcion**, v. 54, n. 1, p. 103-115, 1983.
- HOOGMOED, M.; GORZULA, S. Checklist of the savanna inhabiting frogs of the el Manteco region with notes on the its ecology and the description of a new species of tree frog (Hylidae, Anura). **Zoologische Mededeelingen**, v. 54, n. 13, p. 183-216, 1979.
- HUANG, W. S.; LIN, J. Y. Y. Male reproductive cycle of the toad *Bufo melanostictus* in Taiwan. **Zoological Science**, v. 14, n. 3, p. 497-503, 1997.
- LOFTS, B. Seasonal changes in the functional activity of the interstitial and spermatogenic tissues of the green frog, *Rana esculenta*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 4, n. 2, p. 550-562, 1974.
- MARTINS, M.; HADDAD, C. F. B. Vocalizations and reproductive behaviour in the Smith frog, *Hyla faber* Weed (Amphibia: Hylidae). **Amphibia-Reptilia**, v. 9, n. 1, p. 49-60, 1998.
- MONTERO, R.; PISANÓ, A. El ciclo espermatogénico de *Hyla pulchella andina*: um análisis numérico. **Acta Zoologica**, v. 41, n. 2, p. 173-180, 1992.
- OLIVEIRA, C.; ZANETONI, C.; ZIERI, R. Morphological observations on the testes of *Physalaemus cuvieri* (Amphibia, Anura). **Revista Chilena de Anatomía**, v. 20, n. 3, p. 263-268, 2002.
- OLIVEIRA, C.; VICENTINI, C. A.; TABOGA, S. R. Structural characterization of nuclear phenotypes during *Scinax fuscovarius* spermatogenesis (Anura, Hylidae). **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 75-83, 2003a.
- OLIVEIRA, C.; SANT'ANNA, A. C.; OMENA, P. M.; SANTOS, L. R. S.; ZIERI, R. Morphological considerations on the seminiferous structures and testes of anuran amphibians: *Bufo crucifer*, *Physalaemus cuvieri* and *Scinax fuscovarius*. **Biociências**, v. 11, n. 1, p. 39-46, 2003b.
- PRADO, C. P. A.; HADDAD, C. F. B. Testes size in Leptodactylid frogs and occurrence of multimale spawning in the genus *Leptodactylus* in Brazil. **Journal of Herpetology**, v. 37, n. 2, p. 354-362, 2003.
- PRADO, C. P. A.; UETANABARO, M. Reproductive biology of *Lysapsus limellus* Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) in the Pantanal, Brasil. **Zoocriaderos**, v. 3, n. 1, p. 25-30, 2000.
- PRADO, C. P. A., UETANABARO, M.; LOPES, F. S. Reproductive strategies of *Leptodactylus chaquensis* and *L. podicipinus* in the Pantanal, Brasil. **Journal of Herpetology**, v. 34, n. 1, p. 135-139, 2000.
- PRADO, C. P. A.; UETANABARO, M.; HADDAD, C. F. B. Description of a new reproductive mode in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with a review of the reproductive specialization toward terrestriality in the genus. **Copeia**, v. 2002, n. 4, p. 1128-1133, 2002.
- RITKE, M.; LESSMAN, C. Longitudinal study of ovarian dynamics in female Gray treefrogs (*Hyla chrysoscelis*). **Copeia**, v. 1994, n. 4, p. 1014-1022, 1994.
- SAIDAPUR, S. K. Patterns of testicular activity in Indian amphibians. **Indian Review of Life Science**, v. 3, n. 1, p. 157-184, 1983.
- SANTOS, L. R.; OLIVEIRA, C. Histological aspects and structural characteristics of the testes of *Dendropsophus minutus* (Anura, Hylidae). **Micron**, v. 39, n. 1, p. 1266-1270, 2008.
- SILVA, J. S. V.; ABDON, M. M. Delimitação do Pantanal brasileiro e suas sub-regiões. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. especial, p. 1703-1711, 1998.
- STRÜSSMANN, C.; PRADO, C. P. A. Amphibians and reptiles of selected localities in the southern Pantanal floodplains and neighboring cerrado areas, Mato Grosso do Sul, Brasil. In: WILLINK, P. W.; CHERNOFF, B.; ALONSO, L. E.; MONTAMBAULT, J. R. (Ed.). **A biological assessment of the aquatic ecosystems of the Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil**. Washington, D.C.: Conservation International, 2000. p. 98-102.
- TABOGA, S. R.; DOLDER, H. Análise histológica da espermatogênese de *Hyla ranki* (Amphibia, Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Ciências Morfológicas**, v. 8, n. 2, p. 66-71, 1991.

Received on May 9, 2008.

Accepted on December 8, 2008.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.