

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 30/07/2026

Caracterização de órgãos imunes em três espécies de anuros neotropicais

Taynara Ribeiro Farias Leão

DOUTORADO

PÓS-GRADUAÇÃO
EM BIODIVERSIDADE



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Câmpus de São José do
Rio Preto

TAYNARA RIBEIRO FARIAS LEÃO

CARACTERIZAÇÃO DE ÓRGÃOS
IMUNES EM TRÊS ESPÉCIES DE
ANUROS NEOTROPICAIS

São José do Rio Preto
2025



TAYNARA RIBEIRO FARIAS LEÃO

**CARACTERIZAÇÃO DE ÓRGÃOS
IMUNES EM TRÊS ESPÉCIES DE
ANUROS NEOTROPICAIS**

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

Financiadora: CAPES

Orientador(a): Prof. Dr. Classius de Oliveira

Coorientador(a): Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes

São José do Rio Preto
2025

L437c Leão, Taynara Ribeiro Farias
Caracterização de órgãos imunes em três espécies de anuros neotropicais / Taynara Ribeiro Farias Leão. -- São José do Rio Preto, 2025
125 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Classius de Oliveira
Coorientador: Carlos Eurico dos Santos Fernandes

1. Anura. 2. Histologia comparada. 3. Estereologia. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O impacto social dessa pesquisa é significativo, pois contribui para a valorização da biodiversidade do Pantanal Sul e para a conscientização da sociedade sobre a importância dos anfíbios como indicadores de equilíbrio ambiental. Ao investigar órgãos vitais como fígado, rim, baço, pele e sangue de três espécies de anuros neotropicais, o estudo gera conhecimento que pode subsidiar ações de conservação e políticas públicas voltadas à preservação do bioma, além de despertar o interesse da população local e regional para a proteção de seu patrimônio natural. A elaboração de um e-book voltado à divulgação científica amplia esse alcance, transformando dados técnicos em informação acessível a estudantes, professores e comunidade em geral, fortalecendo o vínculo entre ciência e sociedade. Dessa forma, a pesquisa não apenas aprofunda a compreensão científica, mas também promove educação ambiental, engajamento social e estímulo à participação cidadã na defesa dos recursos naturais e na preservação da fauna pantaneira.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The social impact of this research is significant, as it contributes to the appreciation of the biodiversity of the Southern Pantanal and raises public awareness of the importance of amphibians as indicators of environmental balance. By investigating vital organs such as the liver, kidney, spleen, skin, and blood of three species of Neotropical anurans, the study generates knowledge that can inform conservation actions and public policies aimed at preserving the biome, in addition to sparking the interest of local and regional populations in protecting their natural heritage. The development of an e-book aimed at scientific dissemination broadens this reach, transforming technical data into accessible information for students, teachers, and the community at large, strengthening the bond between science and society. In this way, the research not only deepens scientific understanding but also promotes environmental education, social engagement, and encourages citizen participation in the defense of natural resources and the preservation of the Pantanal animals.

TAYNARA RIBEIRO FARIAS LEÃO

**CARACTERIZAÇÃO DE ÓRGÃOS
IMUNES EM TRÊS ESPÉCIES DE
ANUROS NEOTROPICAIS**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Câmpus de São José do Rio Preto para obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

Data da defesa: 30/07/2025

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Classius de Oliveira
UNESP - São José do Rio Preto
Orientador

Profa. Dra. Lia Raquel de Souza Santos
IF- Goiano - Câmpus Rio Verde

Profa. Dra. Fernanda Cristina Alcantara dos Santos
UFGO- Câmpus II- Samambaia

Prof. Dr. Robson de Andrade Rodrigues
UFSC – Câmpus Florianópolis

Prof. Dr. Marcelino Benvindo de Souza
UEG – Câmpus de Goiânia

Às grandes cientistas da história que abriram caminho para que hoje, nós
(mulheres) pudéssemos pisar em um chão mais firme.
Deixo uma pequena peça desvendada nesse enorme
quebra-cabeça que é o mundo.

AGRADECIMENTOS

Á Deus por ter me dado à vida e a oportunidade de estudá-la. Agradeço por ter acompanhado minha trajetória enquanto bióloga e todos os momentos felizes e tristes dessa caminhada, sempre me mostrando o caminho e colocando pessoas especiais em todo o percurso. Obrigada Pai!

A minha mãe, Joelma, por ter feito o impossível para educar-me da melhor maneira, driblando problemas e abdicando de muito para si, para que eu pudesse colocar os pés em locais inimagináveis. Obrigada por ser meu porto-seguro e cumprir o papel de pai e mãe sempre.

A minha avó “Silvia” por todo amor a mim dedicado, por ter investido em minha educação e por apoiar-me sempre, mesmo não entendendo direito o que eu faço. Agradeço por cada caderno, apostila, lápis e lanches, além do melhor colo do mundo. Obrigada por estar comigo nas subidas e descidas da vida. Te amo vovó!

Ao meu companheiro Rodrigo (Pázinho), que chegou de uma maneira surpreendente no meio desse projeto de vida, mas foi abrigo, aconchego e um lugar seguro quando precisei. Agradeço por estar comigo nesse espaço de tempo e poder dividir a carga dos problemas em dias nublados. Agradeço pela ajuda com os cálculos que por vezes, perturbaram minha mente de bióloga, mas que permeiam sua mente matemática de maneira deslumbrante. Amo-te!

A minha irmã Thays, cunhado Renan e sobrinha Aila Liz, que são fundamentais em minha vida e que sempre estiveram presentes. Agradeço pelo presente que me deram no ano de 2024 e que faz minha vida mais feliz. A Didi te ama Aila!

Ao Prof. Carlos Eurico por todo apoio durante a realização desse trabalho. Obrigada pelas viagens, pelas caçadas de sapos noturnas, por me ensinar tudo sobre patologia e análises morfométricas, pela paciência de realmente orientar-me nesses 12 anos. Desde 2013, quando bati na porta da sua sala, jamais fui a mesma, pois você me proporcionou a maior realização da vida enquanto pesquisadora: juntar histologia com sapos! Você é um dos meus maiores inspiradores profissionais! Obrigada tchê!

Ao Prof. Classius pela oportunidade de realizar um doutoramento no Ibilce. Agradeço por ter aberto as portas do laboratório para realização desse trabalho e por me atender todas as vezes que precisei: desde um reagente até viagens a

congressos. Obrigada por me lapidar enquanto pesquisadora e por espalhar seu amor pela sapiada por aí.

A Lilian que sempre esteve presente na rotina do laboratório. Lembro-me quando lia seus artigos na graduação e o quanto sempre te admirei como pesquisadora. Obrigada pelo auxílio nas coletas, análises e correções. Esse trabalho também possui uma sementinha sua.

A Prof. Iraceles (Ira/Chefa) que me ensinou a enxergar o mundo rosa e roxo. Obrigada por me apresentar a histologia e tudo que pode ser visto mais de perto e com outros olhos. Sou uma admiradora do seu trabalho e do seu legado como docente da UFMS. Obrigada pelas conversas e conselhos em dias difíceis e por sempre acreditar que eu poderia chegar mais longe. Te amo!

A Marci (ami) e Lu por todo companheirismo e amizade que vão além do laboratório. Obrigada por deixarem a estrada mais leve e engraçada e por acreditarem em meu potencial profissional e pessoal. Amo vocês!

A todos que contribuíram de alguma forma para que esse sonho pudesse sair do papel e torna-se realidade.

O presente trabalho foi realizado na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS e Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – campus de São José do Rio Preto, e teve o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES: 001 – Taynara R.F.L.) e da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento Do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (Chamada FUNDECT N° 06/2017 – UNIVERSAL-MS), aos quais agradeço.

“Dou mais respeito
às que vivem de barriga no chão
tipo água pedra **sapo**.
Entendo bem o sotaque das águas
Dou respeito às coisas desimportantes
e aos **seres desimportantes**.
Prezo insetos mais que aviões.
Prezo a velocidade
das tartarugas mais que a dos mísseis.
Tenho em mim um atraso de nascença.
Eu fui aparelhado
para gostar de passarinhos.
Tenho abundância de ser feliz por isso.
Meu quintal é maior do que o mundo.”
(Manoel de Barros, 2003, p. 9)

RESUMO

Essa investigação comparou órgãos viscerais, pele e sangue de três espécies de anuros do Pantanal Sul - *Leptodactylus chaquensis* (Cei 1950) , *Pseudis platensis* (Gallardo, 1961) e *Trachycephalus typhonius* (Linnaeus, 1758) por meio de análises morfológicas, esteriológicas e ultraestruturais. As análises revelaram padrões específicos de organização e funcionalidade dos órgãos, refletindo a filogenia e adaptações morfofisiológicas associadas aos diferentes hábitos ecológicos e reprodutivos dessas espécies. No fígado, observaram-se diferenças marcantes na morfometria dos hepatócitos, na organização dos espaços sinusoidais e na densidade de melanomacrófagos. *L. chaquensis* possui hepatócitos menores e fígado celularmente denso, com forte presença de melanomacrófagos, sugerindo intensa atividade metabólica e imunológica, principalmente em fêmeas, diferenciando o papel dos sexos na reprodução. *P. platensis* exibiu maior densidade de centros de melanomacrófagos, característica associada ao hábito semi-aquático e contato direto com patógenos. *T. typhonius*, por sua vez, mostrou alta vascularização associada a maior área de hepatócito, por ser uma espécie arborícola e possuir alta demanda energética. Os rins apresentaram diferenças na densidade volumétrica. *T. typhonius* possui maior proporção de corpúsculos renais e espaço intersticial, indicando elevada taxa de filtração. Os túbulos contorcidos distais apresentam-se em maior proporção em *L. chaquensis*, enquanto *P. platensis* teve maior densidade de túbulos proximais. Em relação ao baço o IES foi menor em *P. platensis*, porém a espécie apresentou a maior abundância de centros de melanomacrófagos, indicando investimento em imunidade inata. A pele revelou adaptações estruturais distintas, como maior espessura e presença de glândulas granulares em *T. typhonius*, associadas à defesa química, enquanto a camada de Eberth-Kastschenko foi mais espessa em *L. chaquensis*, indicando adaptação a choques mecânicos e controle osmótico, além de refletir traço evolutivo. A morfometria eritrocitária indicou diferenças no transporte de oxigênio, com *T. typhonius* apresentando hemácias maiores e mais elipsoidais, facilitando a oxigenação. O perfil leucocitário demonstrou variações imunológicas: monócitos predominantes em *P. platensis*, neutrófilos e eosinófilos em *L. chaquensis* e basófilos em *T. typhonius*. Em conjunto, os resultados evidenciam que as estruturas viscerais, a pele e o sangue refletem a complexa interação entre morfologia,

ecologia e evolução nos anuros neotropicais, destacando a plasticidade adaptativa dessas espécies diante das pressões ambientais do Pantanal Sul. Esses dados contribuem para a compreensão da dinâmica de distribuição populacional, biologia evolutiva e metabolismo dos anfíbios e oferecem subsídios para estudos de conservação e ecotoxicologia.

Palavras-chave: anuros, morfologia comparativa, densidade volumétrica, morfometria, microscopia eletrônica.

ABSTRACT

This investigation compared the visceral organs, skin, and blood of three species of anurans from the Southern Pantanal *Leptodactylus chaquensis* (Cei 1950) , *Pseudis platensis* (Gallardo, 1961) e *Trachycephalus typhoni* (Linnaeus, 1758) por through morphological, stereological, and ultrastructural analyses. The analyses revealed specific patterns of organ organization and functionality, reflecting the phylogeny and morphophysiological adaptations associated with the different ecological and reproductive habits of these species. In the liver, striking differences were observed in hepatocyte morphometry, sinusoidal space organization, and melanomacrophage density. *L. chaquensis* has smaller hepatocytes and a cellularly dense liver with a strong presence of melanomacrophages, suggesting intense metabolic and immunological activity, particularly in females, differentiating the role of the sexes in reproduction. *P. platensis* exhibited a higher density of melanomacrophage centers, a characteristic associated with its semi-aquatic habit and direct contact with pathogens. *T. typhoni* showed high vascularization associated with a larger hepatocyte area, due to its arboreal nature and high energy demand. The kidneys showed differences in volumetric density. *T. typhoni* has a higher proportion of renal corpuscles and interstitial space, indicating a high filtration rate. Distal convoluted tubules are more common in *L. chaquensis*, while *P. platensis* had a higher density of proximal tubules. In the spleen, the SI was lower in *P. platensis*, but the species had the highest abundance of melanomacrophage centers, indicating an investment in innate immunity. The skin revealed distinct structural adaptations, such as greater thickness and the presence of granular glands in *T. typhoni*, associated with chemical defense, while the Eberth-Kastschenko layer was thicker in *L. chaquensis*, indicating adaptation to mechanical shocks and osmotic control, in addition to reflecting evolutionary history. Erythrocyte morphometry indicated differences in oxygen transport, with *T. typhoni* exhibiting larger and more ellipsoidal red blood cells, increasing oxygenation. The leukocyte profile demonstrated immunological variations: monocytes predominated in *P. platensis*, neutrophils and eosinophils in *L. chaquensis*, and basophils in *T. typhoni*. All the results demonstrate complex interplay between morphology, ecology, and evolution in Neotropical anurans, highlighting the adaptive plasticity of these species in the face of the environmental pressures of the Southern Pantanal. The data contribute to

understanding the population distribution dynamics, evolutionary biology, and metabolism of amphibians and offer insights into conservation and ecotoxicology studies.

Keywords: anurans, comparative morphology, volumetric density, morphometry, electron microscopy.

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

- x** – Aumento (magnificação em microscopia)
- nm** – Nanômetro (10^{-9} metros)
- L** – Litro (unidade de volume)
- ml** – Mililitro (10^{-3} L, unidade de volume)
- µm** – Micrômetro (10^{-6} metros)
- µm²** – Micrômetro quadrado (unidade de área)
- g** – Grama (unidade de massa)
- °** – Grau (utilizado para ângulos ou temperatura, ex.: °C)
- %** – Porcentagem (valor relativo em 100 partes)
- µ** – Prefixo micro (10^{-6}), usado em µm, µm² etc.
- =** – Igualdade (equivalência matemática)
- π** – Pi (constante matemática $\approx 3,14159$)
- ®** – Marca registrada (símbolo de registro de marca)
- ±** – Mais ou menos (indica variação, erro padrão ou desvio)
- >** – Maior que (comparação matemática)
- – Ponto médio (multiplicação ou notação em fórmulas químicas)
- <** – Menor que (comparação matemática)

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

- **UFMS** – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
- **UNESP** – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
- **CAPES** – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- **FUNDECT** – Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul
- **SisBio** – Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
- **CEUA** – Comissão de Ética no Uso de Animais
- **ZUFMS** – Coleção Zoológica de Referência da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
- **HE** – Hematoxilina-Eosina (técnica de coloração histológica)
- **PAS** – Ácido Periódico-Schiff (técnica de coloração histoquímica)
- **IES** – Índice Esplênossomático
- **IHS ou HSI** – Índice Hepatossomático
- **IRS** – Índice Renossomático
- **CMMs** – Centros de Melanomacrófagos
- **LAPEX** – Laboratório de Patologia Experimental
- **IBILCE** – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas
- **USP** – Universidade de São Paulo
- **LMME** – Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica
- **MGGW** – May-Grünwald-Giemsa-Wright (coloração hematológica)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	ANFÍBIOS: CARACTERÍSTICAS E EVOLUÇÃO	13
1.2	ANUROS: COMPONENTES DO SISTEMA IMUNE	15
1.3	ÁREA DE COLETA: O PANTANAL	19
2	OBJETIVOS	21
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	AMOSTRAGEM	22
3.2	HEMATOLOGIA	22
3.3	BIOMETRIA E HISTOQUÍMICA TECIDUAL	21
3.4	ANÁLISES TECIDUAIS E ESTEREOLOGIA	23
3.5	ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL	24
4	RESULTADOS	26
	ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL, MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DO FÍGADO DE TRÊS ESPÉCIES DE ANUROS DO PANTANAL-SUL	27
	ANÁLISE COMPARATIVA DA PELE E DO SANGUE DE TRÊS ESPÉCIES DE ANUROS NEOTROPICAIS DO PANTANAL-SUL	59
	DESCRIÇÃO E DENSIDADE ESTRUTURAL DO BAÇO E RIM DE TRÊS ESPÉCIES DE ANUROS NEOTROPICAIS DO PANTANAL-SUL	89
	PRODUTO: E-BOOK PANTANAL E OS BIOINDICADORES.	114
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	115
	REFERÊNCIAS	116

1. INTRODUÇÃO

1.1. ANFÍBIOS: CARACTERÍSTICAS E EVOLUÇÃO

Há aproximadamente trezentos e cinquenta milhões de anos os primeiros tetrápodes apareceram, possivelmente a partir de peixes com nadadeiras lobadas (Hildebrand & Goslow, 2006; Pough et al., 2013). Esse grupo basal de anfíbios, posteriormente adquiriram características biológicas que lhes proporcionaram maior independência da água, mas o resquício dessa transição é refletido na reprodução desses organismos, que varia de ovos aquáticos e larvas para viviparidade e desenvolvimento direto (Schoch, 2009; Pough et al., 2013).

A Classe Amphibia abrange animais vertebrados com dois côndilos occipitais no crânio e que possuem uma vértebra sacral. Apresentam pele glandular e ausência de anexos epidérmicos, a respiração é essencialmente cutânea e na maioria das vezes, há presença de uma fase larval aquática. Lissamphibia, Subclasse dos anfíbios viventes, é composta por três Ordens: Anura, representada por sapos, rãs e pererecas; Caudata, sendo salamandras e tritões e Gymnophiona, as chamadas cecílias (Pough et al., 2013; Vitt & Caldwell, 2014).

No mundo existem cerca 8.897 espécies de anfíbios, sendo 7.847 anuros, 825 salamandras e 225 cecílias, desde 1985, o número total de espécies reconhecidas mais que dobraram, ainda assim diversas espécies são descritas a cada ano (AmphibiaWeb, 2025). A maior diversidade de anuros ocorre na região Neotropical (Stuart et. al., 2008) e no Brasil encontramos 1.199 espécies de anuros, representados por 20 famílias e 107 gêneros (AmphibiaWeb, 2025; Segalla et. al. 2021; Frost, 2021) país com maior biodiversidade mundial. Estes organismos são importantes para a biodiversidade terrestre porque possuem papéis fundamentais em teias alimentares, além de conectarem ecossistemas aquáticos e terrestres (Urbina-Cardona, 2008).

A maior variação de modos reprodutivos entre os tetrápodes viventes é observada em anuros, onde as estratégias reprodutivas podem ser classificadas de acordo com o padrão temporal e comportamentos reprodutivos (Wells, 1977; Crump, 2015), enquanto que os modos reprodutivos levam em consideração detalhes como local de desova, forma de desova e estágio de desenvolvimento na eclosão (Crump, 2015). Os anuros podem apresentar reprodução explosiva quando ocorre em poucos dias, ou prolongada, em algumas semanas, mas no geral, anuros

neotropicais apresentam reprodução prolongada. Porém o padrão temporal pode variar de acordo com diversos fatores como predação, competição e oportunidade de forrageamento, ou abióticos, como sazonalidade de chuva e disponibilidade de corpos d'água (Crump, 2015).

Na região Neotropical são estimados 40 modos reprodutivos, sendo 28 modos presentes no Brasil (Crump, 2015; Pombal & Haddad, 2007). O modo reprodutivo mais comum no grupo é caracterizado pela deposição de ovos aquáticos, os quais darão origem a girinos que completarão a metamorfose na água, para então ocupar o ambiente terrestre (Haddad & Prado, 2005). Independente das estratégias ou modos reprodutivos, a reprodução em Anura depende da comunicação sonora neste grupo, chamada de vocalização, possivelmente originada no início da história evolutiva do grupo (Duelman & Trueb, 1999; Crump, 2015). A principal vocalização, denominada canto de anúncio, é emitida pelos machos com o objetivo de atrair fêmeas, variando entre espécies, sendo um caractere taxonômico (Pombal & Haddad, 2007). Além do canto de anúncio, são reconhecidos padrões de vocalização de defesa, encontros agonísticos, manutenção de contato, resposta e territorialidade (Toledo et al., 2015).

Por apresentarem ciclo de vida dependente de regiões úmidas e conectarem ambientes aquáticos e terrestres, anuros crescentemente vem sendo utilizados como modelos experimentais, pois possuem potencial bioindicador, uma vez que são vulneráveis a contaminação tanto aquática como terrestre, sendo ferramentas importantes para os estudos de monitoramento de áreas (Brodeur & Candioti, 2017; Rohman et al., 2020).

Desta maneira, os anuros desempenham um papel significativo como modelo de estudo para pesquisa em diversos processos biológicos (Feder & Burggren, 1992), como: modos reprodutivos, anatomia comparada, histologia, embriologia, ecologia e genética. Ao que diz respeito à diversidade de espécies de anfíbios anuros atuais, a riqueza de modos reprodutivos e *hábitats*, deve-se ao desenvolvimento de um sistema imunológico com mecanismos capazes de driblar patógenos encontrados em ambientes aquáticos e terrestres, desvendando aspectos da história evolutiva dos tetrápodes e conquista do ambiente terrestre (Duelman & Trueb, 1999; Hildebrand & Goslow, 2006).

1.2. ANUROS: COMPONENTES DO SISTEMA IMUNE

A pele é a primeira barreira de proteção contra possíveis fatores externos nos anuros e pode conter secreções mucosas que contém peptídeos antimicrobianos e uma variedade de proteínas associadas ao sistema imune inato (Rollins-Smith et al. 2011; Catenazzi, 2015). Os anfíbios possuem a pele delgada e semipermeável sendo esta uma importante superfície de trocas gasosas (Tattersall & Ultsch, 2008) atuando na proteção mecânica, defesa física, osmorregulação, camuflagem e até percepção sensorial (Cao et al., 2024). A respiração através da pele é possível devido às características como presença de glândulas que mantém a pele úmida, além de um sistema vascular desenvolvido sob a epiderme (Sulaiman et al., 2025).

Nesses animais a pele é composta pela epiderme e derme, que possui duas regiões: a derme esponjosa e a derme compacta (Brito-Gitirana & Azevedo, 2005). A camada epidérmica é estratificada e formada pelo estrato córneo, cujas células são normalmente queratinizadas; estrato intermediário com células poligonais que variam de formato colunar a achatado e estrato germinativo com células cúbicas ou colunares (George & Castro, 1998; Varga et al., 2019). As principais células são os queratinócitos da epiderme que apresentam uma estrutura especializada com junções celulares estreitas que evitam a entrada de patógenos, além disso possuem receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) que detectam moléculas associadas a invasores, iniciando respostas imunológicas inatas essenciais para a defesa do organismo (Varga et al., 2019).

Segundo Cao et al. (2024), a derme possui três camadas principais: a derme esponjosa, a camada de Eberth-Katschenko e a derme compacta. A derme esponjosa, localizada logo abaixo da epiderme, é composta por tecido conjuntivo frouxo, com abundância de capilares, cromatóforos (como melanóforos, iridóforos e xantóforos), fibras colágenas e estruturas glandulares, sendo essencial para a troca gasosa e armazenamento de substâncias bioativas. A seguir, a camada de Eberth-Katschenko é apresentada como uma zona acelular rica em glicosaminoglicanos, como ácido hialurônico e dermatan sulfato, que contribuem significativamente para a retenção de água, atuando como barreira contra a desidratação, especialmente em espécies de ambientes áridos ou de baixa umidade (Barrinuevo, 2017) sendo comum em algumas famílias (Ponssa et al., 2017). Por fim, a derme compacta, localizada mais profundamente, é constituída por fibras colágenas que se iniciam

não modeladas e profundamente tornam-se feixes organizados, caracterizando tecido conjuntivo denso modelado, fornecendo resistência mecânica e estrutural a pele (Barrinuevo, 2017; Ponssa et al., 2017; Cao et al. 2024).

Anuros apresentam maior vascularização na região dorsal anterior, assim acredita-se que esta região seja mais eficiente para as trocas gasosas cutâneas (Czopek, 1965; Llewelyn et al. 2020). Devido a permeabilidade cutânea, alguns estudos demonstraram a plasticidade morfofuncional tegumentar frente a herbicidas e metais, podendo refletir na taxa metabólica e consumo de oxigênio destes animais (Fenoglio et al., 2006; Rissoli et al., 2016). Dessa maneira faz se necessárias adaptações naturais no tegumento desses animais, como já reportado em relação à espessura da camada Eberth-Kastschenko, que se apresenta mais espessa em anuros terrestres e mais fina ou ausente em anuros aquáticos (Barrinuevo, 2017).

Quando os patógenos ultrapassam a barreira tegumentar, entram em contato com o sistema circulatório e possivelmente são reconhecidos pelo sistema imune inato, composto principalmente por monócitos e neutrófilos (Grogan et al., 2018). Além do plasma, o sangue dos anfíbios é composto por eritrócitos, leucócitos e trombócitos (Arıkan & Çiçek, 2014). Os leucócitos granulocíticos podem ser subdivididos em heterófilos, eosinófilos e basófilos; enquanto os agranulócitos podem ser subdivididos em linfócitos e monócitos. Os heterófilos e eosinófilos apresentam grânulos acidofílicos no citoplasma; no entanto, os basófilos têm grânulos basofílicos (Arıkan & Çiçek, 2011).

Em anfíbios, assim como em peixes e répteis os eritrócitos nucleados, ovais a achatados, sendo considerados os maiores dentre os vertebrados (Claver & Quaglia, 2009). Por outro lado, o número de células e a quantidade de hemoglobina presente são baixos (Glomski et. al., 1997). A vida útil dos eritrócitos é em média de 700 a 1400 dias, podendo variar de acordo com a época de reprodução ou hibernação destes animais, devido à atividade metabólica que altera a hematopoiese (Altland & Brace, 1962; Nano et. al., 1991).

A eritropoiese durante o estágio larval ocorre principalmente nos rins e fígado (Broyles et al., 1981). O timo é o principal local de maturação de linfócitos T e também contribui para a produção de células B, embora apresente variação de acordo com a espécie (Hansen & Zapata, 1998; Claver & Quaglia, 2009). Após a metamorfose, a produção de células sanguíneas passa a ser realizada na medula óssea juntamente com baço, acompanhando mudanças sazonais (Glomski et. al.,

1997). O baço realiza trombopoiese e eritropoiese, mas o fígado atua como local secundário para esta atividade (Claver & Quaglia, 2009).

Os linfócitos estão presentes em maior número no sangue periférico e caracterizam-se por núcleo redondo com cromatina densa e citoplasma basofílico (Franco-Belussi et al., 2022). Os neutrófilos apresentam-se em menor proporção que os linfócitos e possuem frequentemente núcleo segmentado, com morfologia variada, enquanto os eosinófilos apresentam núcleo segmentado e numerosos grânulos ovalados ou esféricos, fracamente acidófilos no citoplasma (Bain & Harr, 2022; Franco-Belussi et al., 2022). Basófilos possuem núcleo sem segmentação e citoplasma com evidentes grânulos basofílicos com baixa ocorrência no sangue periférico e monócitos apresentam núcleo geralmente excêntrico que ocupam quase a totalidade da célula, citoplasma levemente vacuolado e pouco basofílico (Turner, 1988; Bain & Harr, 2022; Franco-Belussi et al., 2022).

O sistema hematopoiético envolve diferentes tecidos responsáveis pelas funções de defesa, produção, multiplicação e diferenciação das células sanguíneas. Em anuros, esse sistema é constituído pelo baço, rim, fígado e medula óssea (Claver & Quaglia, 2009; Duellman e Trueb, 1999). O baço está localizado na cavidade abdominal, é um órgão encapsulado, de cor vermelho escuro e formato oval ou esférico (Akat, 2018). É dividido em polpa branca e vermelha, semelhantemente aos mamíferos (Alvarez, 1990; Akat, 2018), ocorrendo diferença entre as proporções dessas porções (Pitchappan, 1980; Gül et al. 2011). Além das polpas, o baço é constituído por um estroma sustentado por células reticulares, pequenas arteríolas circundadas por fibras reticulares e, internamente, por células mioendoteliais (Dulak, 1990; Barrutia et al. 1985; Akat, 2018). Outras funções importantes do baço são a produção e a reciclagem de células sanguíneas, além da fagocitose e maturação dos eritrócitos (Nilsson, 2012).

Os rins são responsáveis pela homeostasia orgânica, a partir da síntese e eliminação de compostos nitrogenados e secreção de hormônios, como por exemplo, a renina que atua na pressão sanguínea e a eritropoietina, que estimula a formação de eritrócitos e a ativação da vitamina D3 (Larsen & Perkins Jr., 2001). O néfron é a unidade básica presente no rim, sendo composto pelocorpúsculo renal (glomérulo e cápsula de Bowman), onde ocorre a filtração do sangue e túbulos renais, no qual as substâncias podem ser reabsorvidas e ou excretadas (Junqueira & Carneiro, 2013) estruturas podem variar de acordo com o grupo de vertebrados e

ocupam posições distintas entre a medula e o córtex renal (George & Castro, 1998; Hildebrand & Goslow, 2006).

Os rins dos anuros são estruturas localizadas retroperitonealmente e aderentes à pele da região dorsal do animal, recoberto por uma cápsula de tecido conjuntivo e normalmente não apresenta diferenciação histológica entre medula e o córtex (Akat, 2019). Os corpúsculos renais são compostos por uma cápsula de Bowman e pelo glomérulo. A cápsula de Bowman apresenta duas camadas e um espaço por onde o filtrado irá percorrer (Akat, 2019). Os túbulos proximais são formados por células epiteliais cúbicas com uma borda em escova, enquanto os túbulos distais apresentam epitélio cúbico simples sem a borda em escova. No geral os rins de anuros não apresentam a alça de Henle conforme observado nos vertebrados superiores, e o ducto coletor é constituído por um epitélio cúbico ou colunar (Çakici, 2015; Akat, 2019). Akat (2019) relata a presença de ácido hialurônico no interstício ao redor dos ductos coletores no rim de uma espécie de anuro aquática relacionando-o às funções de equilíbrio hídrico e eletrolítico. Características estruturais e funcionais dos rins como um grande fluxo sanguíneo, além de um sistema de transporte de íons, somados a enzimas de biotransformação e sua capacidade de concentrar solutos durante a produção de urina, tornam os rins órgãos ativos na defesa destes organismos (Pfaller & Gstraunthaler 1998; Van Vleet & Schnellmann 2003).

O fígado é a maior glândula encontrada nos vertebrados, sendo peculiar de cada subfiló e podendo variar entre as diversas classes (Hildebrand & Goslow, 2006), suas funções incluem secreção da bile, armazenamento de glicogênio e lipídios, síntese de proteínas e metabolização de drogas (George & Castro, 1998). Os anuros possuem hepatócitos, componente principal do fígado, apresentados normalmente de forma poliédrica com núcleo esférico, banhados por capilares sanguíneos, conhecidos como sinusóides (Leão et al., 2021). No fígado destes animais, contêm um tipo celular que possui atividade fagocítica parecida com macrófagos, que normalmente associam-se criando nódulos pigmentados conhecidos como centro de melanomacrófagos. Estes macrófagos pigmentados acumulam-se no fígado devido ao metabolismo hepático e são responsáveis pela coloração típica deste órgão (Franco-Belussi et al., 2012). Estas células fazem parte do sistema imunológico e estão distribuídas difusamente no baço (Zapata et al. 1996; Agius & Roberts, 2003; Passantino et al. 2014), rins (Akat, 2019) e no

parênquima hepático, possuindo melanina, lipofuscina e hemossiderina no seu citoplasma.

1.3. ÁREA DE COLETA: O PANTANAL

O Pantanal é uma planície aluvial com aproximadamente 150.355 km², e está localizada à Oeste do soerguimento dos Andes, com 80-150 metros em relação ao nível do mar e envolta por planaltos cujas altitudes variam entre 200 a 1200 metros (Alho, 2008; Mercante et al., 2011). Caracterizado segundo Köppen com o clima de Savana, possui alternância de períodos: chuvosos e quentes ocorrendo de outubro a abril, e secos e frios de março a setembro (Junk & Cunha, 2005, Junk et al., 2006; Alho, 2008). Estes ciclos influenciam diretamente a diversidade biológica, pois alteram os habitats, variam a disponibilidade de recursos alimentares e abastecem os rios. (Alho & Gonçalves, 2005; Keddy & Fraser, 2005).

Padrões geológicos, hidrográficos, presença de mosaicos vegetacionais, ciclos de cheia e seca, além de elevada abundância da flora e fauna, elegem a planície pantaneira como uma das mais importantes áreas úmidas do planeta (Assine et al., 2005; Gonçalves et al., 2011; Mercante et al., 2011).

Atualmente o Pantanal é considerado Patrimônio Nacional pela Constituição Brasileira de 1988, local de relevante importância mundial pela Convenção de Áreas Úmidas – RAMSAR, bem como local de Reserva da Biosfera e Patrimônio Natural da Humanidade (declarada pela UNESCO) (Alho & Gonçalves, 2005; Harris et al., 2006; Alho, 2008). Quando se trata da herpetofauna observa-se maior abundância populacional em relação à diversidade de espécies encontradas (Alho, 2008). Dentre os anfíbios, destaca-se o grupo dos anuros, representado por 56 espécies na planície pantaneira e 93 nos planaltos entornos (Souza et. al. 2017).

Pseudis platensis (Gallardo, 1961) é um anfíbio semi-aquático e noturno da família Hylidae, distribuído pela Argentina, Paraguai, Bolívia e Brasil (AmphibiaWeb, 2025). A espécie é frequentemente encontrada em lagoas de áreas abertas, onde os machos vocalizam predominantemente à noite sobre vegetação flutuante, embora também possam vocalizar durante o dia após fortes chuvas (Pérez-Granados et al., 2020). Apresenta amplexo axilar, deposição de ovos verdes em vegetação submersa e girinos nectônicos que atingem tamanhos excepcionais, podendo medir até 20 cm e superar em comprimento os próprios progenitores (Fabrezi et al., 2009).

Trachycephalus typhonius (Linnaeus, 1758), também pertencente à família Hylidae, distribui-se na América Central e do Sul. É encontrada em florestas tropicais úmidas, savanas e áreas antropizadas, incluindo plantações e regiões urbanas (AmphibiaWeb, 2025). Trata-se de uma espécie noturna e arbórea, frequentemente encontrada em galhos ou vegetação densa, que utiliza secreções cutâneas pegajosas e irritantes como mecanismo de defesa contra predadores (Rodrigues et al., 2005; Rigolo et al., 2008).

Leptodactylus chaquensis (Cei, 1950), da família Leptodactylidae, distribui-se pela Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai, Uruguai e possivelmente Peru (AmphibiaWeb, 2025). Habita campos gramíneos, savanas úmidas, matagais e corpos de água doce, incluindo áreas degradadas e pastagens (Heyer & Giaretta, 2009). É uma espécie terrestre que constrói ninhos de espuma flutuantes em águas temporárias para a reprodução (Camurugi et al., 2017). Apresenta hábitos predadores generalistas, com estratégia intermediária entre forrageamento ativo e de espera, consumindo diversos invertebrados (Camurugi et al., 2017).

Diante da diversidade ecológica apresentada por *Pseudis platensis*, *Trachycephalus typhonius* e *Leptodactylus chaquensis*, observa-se que essas espécies ocupam nichos distintos no ambiente pantaneiro, com hábitos semi-aquáticos, arborícolas e terrestres, respectivamente. Essa variação de hábitos implica em diferentes desafios fisiológicos relacionados à osmorregulação, defesa cutânea, metabolismo, excreção e resposta imunológica. Nesse contexto, torna-se relevante a realização de estudos histológicos comparativos envolvendo tecidos como pele, sangue, fígado, rim e baço, a fim de compreender as adaptações morfofuncionais que sustentam a sobrevivência dessas espécies em um ecossistema sazonal e ambientalmente exigente como o Pantanal sul-mato-grossense. Tais análises podem fornecer subsídios para a biologia comparada, conservação de anfíbios neotropicais e identificação de biomarcadores ambientais, dando suporte para futuros trabalhos de sanidade de animais selvagens e de áreas urbanas, além de ecotoxicologia.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo comparativo envolvendo *Leptodactylus chaquensis*, *Pseudis platensis* e *Trachycephalus typhonius* revelou um amplo espectro de adaptações morfológicas, histológicas, histomorfométricas e ultraestruturais nos sistemas tegumentar, hepático, renal, esplênico e hematológico, refletindo a estreita relação entre forma e função em contextos ecológicos distintos. As variações estruturais do fígado, incluindo a disposição dos hepatócitos, acúmulo de glicogênio e densidade de melanomacrófagos, evidenciaram diferentes estratégias metabólicas e imunológicas relacionadas ao tipo de reprodução, comportamento e micro-habitat de cada espécie. Da mesma forma, a histomorfometria da pele apontou diferenças na espessura das camadas dérmicas, na presença de iridóforos, melanócitos e glândulas cutâneas, refletindo adaptações à respiração cutânea, defesa química e regulação térmica e hídrica.

As análises renais mostraram especializações funcionais associadas à osmorregulação, filtração e reabsorção, coerentes com o habitat (terrestre, aquático ou arbóreo) e o padrão de atividade das espécies. O baço, com variações no índice esplênico e na organização da polpa esplênica, demonstrou estratégias imunológicas diferenciadas, evidenciando o papel desse órgão na manutenção da homeostase em ambientes com distintos níveis de pressão patogênica. Por fim, os parâmetros hematológicos, incluindo a morfometria eritrocitária e o perfil leucocitário, revelaram ajustes fisiológicos importantes, com implicações na eficiência respiratória e na resposta imunológica.

Esses achados, tomados em conjunto, reforçam a alta plasticidade morfofisiológica dos anuros neotropicais e evidenciam como a integração entre anatomia, fisiologia e ecologia permite compreender com maior profundidade as estratégias adaptativas que sustentam a diversidade e a sobrevivência desses organismos frente aos desafios impostos por seus ambientes. O estudo contribui ainda para ampliar o conhecimento sobre a biologia comparada de anfíbios e fundamenta ações futuras de conservação, especialmente em cenários de mudanças climáticas e degradação de habitats naturais.

REFERÊNCIAS

1. AGIUS, C.; ROBERTS, R. J. Review: Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. *Journal of Fish Biology*, v. 26, p. 499–509, 2003.
2. AKAT, Esra. Histological and histochemical study on the mesonephric kidney of *Pelophylax bedriagae* (Anura: Ranidae). *Turkish Journal of Zoology*, v. 43, p. 224–228, 2019.
3. AKAT, Esra. Histological characteristics of the pancreas and spleen of *Pelophylax bedriagae* (Anura: Ranidae). *Biharean Biologist*, Oradea, Romênia, v. 12, n. 2, p. 102–105, dez. 2018.
4. ALHO, C. J. R. Biodiversity of the Pantanal: response to seasonal flooding regime and to environmental degradation. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 68, n. 4, p. 957–966, 2008.
5. ALHO, C. J. R.; GONÇALVES, H. C. Biodiversidade do Pantanal: ecologia & conservação. 1. ed. Campo Grande: Editora UNIDERP, 2005. 145 p. ISBN 858739294-8.
6. ALTMAND, P. D.; BRACE, K. C. Red cell life span in the turtle and toad. *American Journal of Physiology*, v. 203, p. 1188–1190, 1962.
7. ALVAREZ, Rafael. An ultrastructural study of the spleen of the ranid frog *Rana perezi*. *Journal of Morphology*, v. 204, n. 1, p. 25–32, 1990.
8. *AmphibiaWeb*. Berkeley, California: University of California, 2025. Disponível em: <https://amphibiaweb.org>. Acesso em: 5 jun. 2025.
9. ARIKAN, H.; ÇIÇEK, K. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish Herpetofauna. *Acta Herpetologica*, v. 5, n. 2, p. 179–198, 2011.
10. ARIKAN, H.; ÇIÇEK, K. Haematology of amphibians and reptiles: a review. *North-western Journal of Zoology*, v. 10, n. 1, p. 190–209, 2014.
11. ASSINE, M. L.; PADOVANI, C. R.; ZACHARIAS, A. A.; ANGULO, R. J.; SOUZA, M. C. Compartimentação geomorfológica, processos de avulsão fluvial e mudanças de curso do Rio Taquari, Pantanal Mato-Grossense. *Revista Brasileira de Geomorfologia*, v. 1, p. 97–108, 2005.
12. BAIN, Perry; HARR, Kendal E. Hematology of Amphibians. In: BROOKS, Marjory B.; HARR, Kendal E.; SEELIG, Davis M.; WARDROP, K. Jane; WEISS, Douglas J. (ed.). *Schalm's Veterinary Hematology*. 7. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2022. cap. 135, p. 1103–1113.

13. BARRINUEVO, J. B. Skin structure variation in water frogs of the genus *Telmatobius* (Anura: Telmatobiidae). *Salamandra*, v. 53, n. 2, p. 183–192, 2017.
14. BARROS, Manoel de. Memórias inventadas: a infância. São Paulo: Planeta, 2003. p. IX.
15. BARRUTIA, M. S. G.; VILLENA, A.; GOMARIZ, R. P.; RAZQUIN, B.; ZAPATA, A. Ultrastructural changes in the spleen of the natterjack, *Bufo calamita*, after antigenic stimulation. *Cell and Tissue Research*, v. 239, n. 2, p. 435–441, 1985.
16. BRITO-GITIRANA, L.; AZEVEDO, R. A. Morphology of *Bufo ictericus* integument (Amphibia, Bufonidae). *Micron*, v. 36, n. 5–6, p. 532–538, 2005.
17. BROLYES, Robert H.; JOHNSON, Guy M.; MAPLES, Phillip B.; KINDELL, Gary R. Two erythropoietic microenvironments and two larval red cell lines in *Rana catesbeiana*. *Developmental Biology*, v. 82, n. 1, p. 117–130, 1981.
18. CAMURUGI, L. A.; SCHMIDT, B. G.; MARTINS, I. P. Reproductive behavior and foam nest construction in *Leptodactylus chaquensis*. *Journal of Herpetology*, v. 51, n. 3, p. 345–353, 2017.
19. CATENAZZI, Alessandro. State of the world's amphibians. *Annual Review of Environment and Resources*, v. 40, p. 91–119, 2015.
20. ÇAKICI, Özlem. Histopathologic changes in liver and kidney tissues induced by carbaryl in *Bufo variabilis* (Anura: Bufonidae). *Experimental and Toxicologic Pathology*, v. 67, n. 3, p. 237–243, 2015. DOI: 10.1016/j.etp.2014.12.003.
21. CZOPEK, Juliusz. Quantitative studies on the morphology of respiratory surfaces in amphibians. *Acta Anatomica*, v. 62, n. 2, p. 296–323, 1965. DOI: 10.1159/000142756. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5867091/>.
22. CLAVER, D. V. M.; QUAGLIA, A. I. E. Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine*, v. 18, n. 2, p. 87–97, abr. 2009.
23. CRUMP, Martha L. Anuran reproductive modes: evolving perspectives. *Journal of Herpetology*, v. 49, n. 1, p. 1–16, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1670/14-097>.
24. DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. *Biology of amphibians*. New York: McGraw-Hill, 1999. 670 p.

25. DULAK, J. The architecture of the spleen of the yellow-bellied toad, *Bombina variegata*. *Journal of Zoology*, v. 221, n. 3, p. 489–498, 1990.
26. FABREZI, M.; QUINZIO, S. I.; GOLDBERG, J. Giant tadpole and delayed metamorphosis of *Pseudis platensis* Gallardo, 1961 (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology*, v. 43, n. 2, p. 228–243, jun. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1670/08-028R3.1>
27. FEDER, M. E.; BURGGREN, W. W. *Environmental physiology of the amphibians*. Chicago: University of Chicago Press, 1992.
28. FENOGLIO, C.; BONCOMPAGNI, E.; FASOLA, M.; GANDINI, C.; COMIZZOLI, S.; MILANESI, G.; et al. Effects of environmental pollution on the liver parenchymal cells and Kupffer melanomacrophagic cells of the frog *Rana esculenta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 60, p. 259–268, 2006.
29. FERREIRA, A. dos Santos Rosa; MEHANNA, M. Organização celular dos testículos em Hylidae e Leptodactylidae, no Pantanal (Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 31, n. 4, p. 447–452, 2002.
30. FRANCO-BELUSSI, Lilian; SANTOS, L. R. S.; ZIERI, R.; et al. Liver anatomy, histochemistry, and ultrastructure of *Eupemphix nattereri* (Anura: Leiuperidae) during the breeding season. *Zoological Science*, v. 29, n. 12, p. 844–848, 2012.
31. FRANCO BELUSSI, Lilian; PROVETE, Diogo B.; LEÃO, Taynara R. F.; SIQUEIRA, Mayara S.; VALVERDE, Bruno S. L.; MARTINS, Brenda O.; DE OLIVEIRA, Classius; FERNANDES, Carlos Eurico. Hematological parameters of a Neotropical wild frog population, with a phylogenetic perspective on blood cell composition in Anura. *Current Zoology*, v. 68, n. 3, p. 361–369, 2022. DOI: 10.1093/cz/zoab059.
32. FROST, Darrel R. *Amphibian species of the world: an online reference*. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, 2021. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Acesso em: 01 jun. 2025.
33. GEORGE, L. L.; ALVES, C. E. R.; CASTRO, R. R. L. *Histologia comparada*. 2. ed. São Paulo: Roca, 1998.

34. GLOMSKI, C. A.; TAMBURLIN, J.; HARD, R.; et al. The phylogenetic odyssey of the erythrocyte. IV. The amphibians. *Histology and Histopathology*, v. 12, p. 147–170, 1997.
35. GOIN, C. J. Amphibians, pioneers of terrestrial breeding habits. *Smithsonian Report*, v. 4404, p. 427–445, 1960.
36. GONÇALVES, H. C.; MERCANTE, M. A.; SANTOS, E. T. Hydrological cycle. *Brazilian Journal of Biology*, v. 71, n. 1, p. 241–253, 2011.
37. GROGAN, Laura F.; ROBERT, Jacques; BERGER, Lee; SKERRATT, Lee F.; SCHEELE, Benjamin C.; CASTLEY, J. Guy; NEWELL, David A.; MCCALLUM, Hamish I. Review of the amphibian immune response to chytridiomycosis, and future directions. *Frontiers in Immunology*, v. 9, p. 2536, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02536>.
38. HADDAD, C. F. B.; PRADO, C. P. A. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *BioScience*, v. 55, n. 3, p. 207–217, 2005.
39. HANSEN, J. D.; ZAPATA, A. G. Lymphocyte development in fish and amphibians. *Immunological Reviews*, v. 166, p. 199–220, 1998.
40. HARRIS, M. B.; AECÂNGELO, C.; PINTO, E. C. T.; CAMARGO, G.; SILVA, S. M. Estimativa da perda de cobertura vegetal original na Bacia do Alto Paraguai e Pantanal brasileiro: ameaças e perspectivas. *Natureza & Conservação*, v. 2, n. 2, p. 50–66, 2006.
41. HEYER, W. Ronald; GIARETTA, Ariovaldo A. Advertisement calls, notes on natural history, and distribution of *Leptodactylus chaquensis* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) in Brasil. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, v. 122, n. 3, p. 292–305, out. 2009. DOI: 10.2988/08-42.1
42. HILDEBRAND, M.; GOSLOW, G. Análise da estrutura dos vertebrados. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2006.
43. JUNK, W. J.; CUNHA, C. N. D. Pantanal: a large South American wetland at a crossroads. *Ecological Engineering*, v. 24, p. 391–401, 2005.
44. JUNK, W. J.; CUNHA, C. N.; WANTZEN, K. M.; PETERMANN, P.; STRÜSSMANN, C.; MARQUES, M. I.; ADIS, J. Biodiversity and its conservation in the Pantanal of Mato Grosso, Brazil. *Aquatic Sciences*, v. 68, p. 278–309, 2006.

45. JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica: texto e atlas*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 556 p. ISBN 85-277-2311-5.
46. LARSEN, B. K.; PERKINS Jr, E. J. Target organ toxicity in the kidney. In: SCHLENK, D.; BENNETT, R. O. (Ed.). *Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts*. v. 1, p. 90–150, 2001.
47. LEÃO, Taynara; SIQUEIRA, Mayara; MARCONDES, S.; FRANCO-BELUSSI, L.; DE OLIVEIRA, C.; FERNANDES, C. E. Comparative liver morphology associated with the hepatosomatic index in five Neotropical anuran species. *The Anatomical Record*, 2020.
48. LEWELYN, Victoria K.; BERGER, Lee; GLASS, Beverley D. Percutaneous absorption between frog species: variability in skin may influence delivery of therapeutics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 43, n. 1, p. 91–95, jan. 2020. DOI: 10.1111/jvp.12824. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31769075/>.
49. MERCANTE, M. A.; RODRIGUES, S. C.; ROSS, J. L. S. Geomorphology and habitat diversity in the Pantanal. *Brazilian Journal of Biology*, v. 71, p. 233–240, 2011.
50. NANO, R.; GRIFFINI, P.; BARNI, S. Morphohistochemical changes of the blood cells in the hibernating frog (*Rana esculenta* L.). *Comparative Haematology International*, v. 1, p. 220–223, 1991.
51. NILSSON, Stefan. *Autonomic nerve function in the vertebrates*. Dordrecht: Springer Science & Business Media, 2012. (Zoophysiology; v. 13).
52. PASSANTINO, L.; CIANCIOTTA, A.; PATRUNO, R.; et al. Do fish thrombocytes play an immunological role? Their cytoenzymatic profiles and function during an accidental piscine candidiasis in aquarium. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, v. 27, p. 345–356, 2005.
53. PÉREZ-GRANADOS, C.; SCHUCHMANN, K. L.; MARQUES, M. I. Advertisement call and diel pattern of *Pseudis platensis* (Anura, Hylidae, Pseudinae) in the Brazilian Pantanal and a bioacoustical comparison with *Pseudis paradoxa*. *Zootaxa*, v. 4751, n. 3, p. 301–310, 2020. DOI: 10.11646/zootaxa.4751.3.3
54. PFALLER, W.; GSTRAUNTHALER, G. Nephrotoxicity testing in vitro — what we know and what we need to know. *Environmental Health Perspectives*, v. 106, supl. 2, p. 559–567, 1998.

55. PITCHAPPAN, R. M. On the phylogeny of splenic structure and function. *Developmental & Comparative Immunology*, v. 4, p. 395–416, 1980.
56. POMBAL Jr., J. P.; HADDAD, C. F. B. Estratégias e modos reprodutivos em anuros. In: NASCIMENTO, L. B.; OLIVEIRA, P. M. E. (Org.). *Herpetologia no Brasil II*. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Herpetologia – SBH, 2007. p. 101–116.
57. POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. *A vida dos vertebrados*. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 2013. 699 p.
58. RIGOLO, J. R.; ALMEIDA, J. A.; ANANIAS, F. Histochemistry of skin glands of *Trachycephalus aff. venulosus* Laurenti, 1768 (Anura, Hylidae). *Micron*, v. 39, p. 56–60, 2008.
59. RISSOLI, R. Z.; ABDALLA, F. C.; COSTA, M. J.; RANTIN, F. T.; MCKENZIE, D. J.; KALININ, A. L. Effects of glyphosate and the glyphosate-based herbicides Roundup Original® and Roundup Transorb® on respiratory morphophysiology of bullfrog tadpoles. *Chemosphere*, v. 156, p. 37–44, 2016.
60. RODRIGUES, Domingos J.; UETANABARO, Masao; LOPES, Frederico S. Padrões reprodutivos de *Trachycephalus venulosus* (Laurenti, 1768) e *Scinax fuscovarius* (Lutz, 1925) do Cerrado, Brasil Central. *Journal of Natural History*, v. 39, n. 35, p. 3217–3226, 2005. DOI: 10.1080/00222930500312244
61. ROLLINS-SMITH, L. A.; RAMSEY, J. P.; PASK, J. D.; REINERT, L. K.; WOODHAMS, D. C. Amphibian immune defenses against chytridiomycosis: impacts of changing environments. *Integrative and Comparative Biology*, v. 51, n. 4, p. 552–562, 2011.
62. ROHMAN, Muhammad Arif; RAHMAWATI, Diah Ayu; WIDYASTUTI, Retno; WAHYUDI, Djoko. The amphibians diversity as bioindicator of aquatic ecosystem at Sumber Taman, Malang, East Java. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, v. 441, p. 012111, 2020. DOI: 10.1088/1755-1315/441/1/012111.
63. SCHOCH, R. Evolution of life cycles in early amphibians. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, v. 37, p. 135–162, 2009.
64. SCHOCH, R. R. *Amphibian evolution: the life of early land vertebrates*. Chichester: John Wiley & Sons, 2014.
65. SEGALLA, M. V.; BERNECK, B. V. M.; CANEDO, C.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G.; GARCIA, P. C. A.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; LOURENÇO, A. C. C.; MANGIA, S.; MOTT, T.; NASCIMENTO, L. B.;

- TOLEDO, L. F.; WERNECK, F. P.; LANGONE, J. A. Lista de anfíbios do Brasil. *Herpetologia Brasileira*, v. 10, p. 1–14, 2021. Disponível em: <https://zenodo.org/record/4716176>. Acesso em: 12 jul. 2025.
66. SEGALLA, M. V.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G.; GARCIA, P. C. A.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; BERNECK, B. V. M.; LANGONE, J. A. Brazilian amphibians – List of species. *Sociedade Brasileira de Herpetologia*, 2014. Disponível em: <http://www.sbherpetologia.org.br>. Acesso em: 30 ago. 2020.
67. SOUZA, F. L.; PRADO, C. P. A.; SUGAI, J. L. M. M.; FERREIRA, V. L.; AOKI, C.; LANDGREF-FILHO, P.; STRÜSSMANN, C.; ÁVILA, R. W.; RODRIGUES, D. J.; ALBUQUERQUE, N. R.; TERRA, J.; UETANABARO, M.; BÉDA, A. F.; PIATTI, L.; KAWASHITA-RIBEIRO, R. A.; DELATORRE, M.; FAGGIONI, G. P.; DEMCZUK, S. D. B.; DULEBA, S. Diversidade de anfíbios do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, v. 107, supl., e2017152, 2017.
68. STUART, S. N.; HOFFMANN, M.; CHANSON, J. S.; COX, N. A.; BERRIDGE, R. J.; RAMANI, P.; YOUNG, B. E. *Threatened amphibians of the world*. Barcelona: Lynx Edicions; Gland: IUCN; Arlington: Conservation International, 2008.
69. SULAIMAN, Aida Zulaikha Fityati; RASIT, Ahmad Hata; ZAINUDIN, Ramlah bt. Histological study of skin structure variation across different body regions of four lined tree frog in Sarawak (*Polypedates leucomystax*) (Amphibia: Anura: Rhacophoridae). *Journal of Sustainability Science and Management*, Kota Samarahan, v. 20, n. 2, p. 201–209, fev. 2025. DOI: 10.46754/jssm.2025.02.001.
70. TATTERSALL, G. J.; ULTSCH, G. R. Physiological ecology of aquatic overwintering in ranid frogs. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, v. 83, p. 119–140, 2008.
71. TOLEDO, Luís F.; MARTINS, Itamar A.; BRUSCHI, Daniel P.; PASSOS, Michel A.; ALEXANDRE, César; HADDAD, Célio F. B. The anuran calling repertoire in the light of social context. *Acta Ethologica*, v. 18, p. 87–99, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10211-014-0194-4>.
72. TURNER, R. J. Amphibians. In: ROWLEY, A.; RATCLIFFE, N. (ed.). *Vertebrate blood cells*. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. p. 129–209.

- 73.** URBINA-CARDONA, L. N. Conservation of Neotropical herpetofauna: research trends and challenges. *Tropical Conservation Science*, v. 1, p. 359–375, 2008.
- 74.** VAN VLEET, T. R.; SCHNELLMANN, R. G. Toxic nephropathy: environmental chemicals. *Seminars in Nephrology*, v. 23, n. 5, p. 500–508, 2003.
- 75.** VARGA, J. F. A.; BUI-MARINOS, M. P.; KATZENBACK, B. A. Frog skin innate immune defences: sensing and surviving pathogens. *Frontiers in Immunology*, v. 9, p. 3128, 2019. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03128.
- 76.** VITT, Laurie J.; CALDWELL, Janalee P. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. 4. ed. San Diego: Academic Press, 2014.
- 77.** WELLS, K. D. The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*, v. 25, p. 666–693, 1977.
- 78.** WELLS, K. D. *The ecology and behavior of amphibians*. Chicago: University of Chicago Press, 2007.
- 79.** ZAPATA, A. G.; TORROBA, M.; SACEDON, R.; VARAS, A.; VICENTE, A. Structure of the lymphoid organs of elasmobranchs. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, v. 275, n. 2–3, p. 125–143, 1996.