



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

TULÍBIA LAURINDO SILVA

**ESTUDO HISTOMORFOLÓGICO TEGUMENTAR E CONHECIMENTO
POPULAR DA RÃ PIMENTA (*LEPTODACTYLUS VASTUS* LUTZ, 1930) EM
UM REMANESCENTE DE MATA ATLÂNTICA, NORDESTE BRASIL**

RECIFE

2019

TULÍBIA LAURINDO SILVA

**ESTUDO HISTOMORFOLÓGICO TEGUMENTAR E CONHECIMENTO
POPULAR DA RÃ PIMENTA (*LEPTODACTYLUS VASTUS* LUTZ, 1930) EM
UM REMANESCENTE DE MATA ATLÂNTICA, NORDESTE BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Área de concentração: Morfotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Gonçalves Rodrigues

RECIFE

2019

Catálogo na fonte
Elaine C Barroso (CRB4/1728)

Silva, Tulíbia Laurindo

Estudo histomorfológico tegumentar e conhecimento popular da rã pimenta (*Leptodactylus vastus* Lutz, 1930) em um remanescente de Mata Atlântica, Nordeste Brasil / Tulíbia Laurindo Silva-2019.

74 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Gilberto Gonçalves Rodrigues

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia. Recife, 2019.

Inclui referências, apêndice e anexos

1. Anuros 2. Etnoherpetologia 3. Tegumento I. Rodrigues, Gilberto Gonçalves (orient.) II. Título

597.8

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019- 337

TULÍBIA LAURINDO SILVA

**ESTUDO HISTOMORFOLÓGICO TEGUMENTAR E CONHECIMENTO POPULAR
DA RÃ PIMENTA (LEPTODACTYLUS VASTUS LUTZ, 1930) EM UM
REMANESCENTE DE MATA ATLÂNTICA, NORDESTE BRASIL**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós- Graduação
em Morfotecnologia da
Universidade Federal de
Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do título
de Mestre em
Morfotecnologia.

Aprovada em: 21/02/2019

**COMISSÃO
EXAMINADORA**

Dr. Gilberto Gonçalves Rodrigues (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Sônia Pereira Leite (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Ednilza Maranhão dos Santos (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Gilberto Nicácio Batista (Examinador Suplente Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Sandrine Maria Arruda (Examinador Suplente Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico a Deus e a minha mãe, Marta.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, meu amigo fiel.

A minha Mãe Marta, meu porto seguro, minha fortaleza, meu amor. A minha família, meus irmãos, Tanúbia, Junior, Túlio e Filipe. Aos meus sobrinhos Fabrício e Heitor, ao meu padrasto Aurier e a Apollo. Ao meu namorado Bruno e sua família por estarem sempre ao meu lado. Obrigada!

Agradeço ao meu orientador Dr. Gilberto Rodrigues, obrigada Gil.

Aos meus amigos, que são uma verdadeira família. Gessica e Camila, por sempre estarem por perto. Aos meus amigos Arreaguanos, Brunna, Carlos, Gilberto (Gilzito), Gustavo, Ivo, Marília, Millena, Priscila, Rafael, Robson e Well, muito obrigada por cada campo, correção, conselho, orientação, pela amizade e lealdade, muito obrigada a todos. Agradeço a todos os meus amigos fora da vida acadêmica, Aylla, Gessica (comadre), Marina e Paloma, por acreditar e dizer que tudo vai dar certo. Agradeço ainda a minhas amigas, Helly, Juliana, Roberta e Ana Cláudia (Sula) obrigada minhas amigas. Agradeço em especial a Jeferson, meu guia nas matas da RVS Gurjaú e excelente “caçador” de jias, sem você tudo seria mais difícil, obrigada meu amigo!

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia principalmente aos professores e técnicos e aos meus colegas de turma. Agradeço em especial a Professora Dra. Sônia e Dra. Sandrine, por toda ajuda. Agradeço também aos laboratórios que auxiliaram no decorrer do meu estudo. Laboratório de Avaliação, Recuperação e Restauração de Ecossistemas Aquáticos, ARRE – Água UFPE, ao Laboratório de Histologia – UFPE e o Laboratório de Farmacologia de Produtos Bioativos – UFPE.

A toda equipe que faz parte da RVS Gurjaú, aos gestores Elaine e Fábio por todo auxílio nas idas a campo, acompanhando do meu trabalho e por todas as caronas. A todos que participaram das entrevistas, em especial seu Bernardino, muito obrigado.

Aos membros da banca presentes e pelo aceite e contribuição para realização deste trabalho. Agradeço a todos os convidados presentes.

A Pró – Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós – Graduação/PROPEAQ – UFPE, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelos nove meses de bolsa a T.L.S.

“Quando a maldade aqui passou
e a tristeza fez abrigo
luz lá do céu me visitou
e fez morada em mim
quando o medo se apossou
trazendo guerras sem sentido
a esperança que ficou
segue vibrando
e me fez lutar
para vencer
me levantar
e assim crescer...”

(Pablo Bispo, Iza, Marcelo Falcão)

RESUMO

A falta de conhecimento sobre a herpetofauna em geral, lendas e mitos que envolvem os anfíbios, pode levar a morte indiscriminada das espécies, causando danos no equilíbrio ambiental. No geral, as rãs são utilizadas como alimento pelas populações rurais e/ou locais. Estudo sobre o conhecimento ecológico de *Leptodactylus vastus* e sua estrutura tegumentar foi realizada no Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú, na região metropolitana do Recife, em 2017 e 2018. Entrevistas semiestruturadas, através do método bola de neve, foram realizadas sobre a rã pimenta *L. vastus*, assim como observações morfológicas do tegumento nas regiões dorsal, lateral e ventral, através de fragmentos do tegumento processados histologicamente. O estudo demonstrou que as comunidades adjacentes à Unidade de Conservação fazem uso dos machos de *L. vastus* como alimento, mostrando que conhecem aspectos da ecologia do organismo, alimentando-se com precaução ao modo de preparo, evitando contato direto com a pele da rã. As observações histológicas do tegumento dorsal e lateral possuem constituintes da derme e epiderme semelhantes. A epiderme é formada por uma camada de células que variam de três a sete e em sua superfície mais externa uma camada queratinizada. A derme é dividida em dois diferentes extratos, o esponjoso e o compacto. No extrato esponjoso é onde encontramos os melanócitos, responsáveis pela pigmentação característica da jia-pimenta, além de dois tipos diferentes de glândulas (granulosas e mucosas) que possuem ductos secretores, que levam as substâncias produzidas no interior destas para o meio externo do tegumento. O extrato compacto é formado pelo tecido conjuntivo denso. A região ventral mostrou diminuição de melanócitos e ausência de glândulas granulares. Externamente o tegumento dorsalateral de *L. vastus* é uma estrutura irregular com diversas protuberâncias, com coloração críptica, variando em tons marrons avermelhados, enquanto a região ventral apresenta coloração branco hyalino, com a presença ou ausência de manchas mais escuras, justificando a diminuição de melanócitos nesta região. Estudos adicionais são importantes para elucidar a importância biológica, funcionamento do processo de defesa e veneno desta espécie.

Palavras – chave: Anuros. Etnoherpetologia. Histologia. Tegumento.

ABSTRACT

Lack of knowledge about herpetofauna in general, legends and myths involving amphibians, should lead to indiscriminate killing of species, causing damage to the environmental balance. In general, frogs are used as food by rural and / or local populations. A study on the ecological knowledge of *Leptodactylus vastus* and its integument structure was performed at the Refúgio de Vida Silvestres Matas do Sistema Gurjaú, in the metropolitan region of Recife, in 2017 and 2018. Semi-structured interviews using the snowball method were performed on the frog *L. vastus* pepper, as well as morphological observations of the integument in the dorsal, lateral and ventral regions, through histologically processed fragments of the tegument. The study showed that the communities adjacent to the Conservation Unit make use of *L. vastus* males as food, showing that they know aspects of the ecology of the organism, feeding carefully with the way of preparation, avoiding direct contact with the frog's skin. The histological observations of the dorsal and lateral tegument have similar dermis and epidermis constituents. The epidermis is formed by a layer of cells ranging from three to seven and on its outer surface a keratinized layer. The dermis is divided into two different extracts, the spongy and the compact. In the spongy extract, we find the melanocytes responsible for the characteristic pigmentation of the frog rã-pimenta, as well as two different types of glands (granulosa and mucous membranes) that have secretory ducts that carry the substances produced inside these into the external environment of the tegument. The compact extract is formed by dense connective tissue. The ventral region showed decreased melanocytes and absence of granular glands. Externally the dorsolateral integument of *L. vastus* is an irregular structure with several protrusions, with cryptic coloration, varying in reddish-brown tones, while the ventral region presents hyaline-white coloration, with the presence or absence of darker spots, justifying the decrease of melanocytes in this region. Further studies are important to elucidate the biological importance, the functioning of the defense process and poison of this species.

Key words: Anurans. Ethnoherpetology. Histology. Tegument.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	OBJETIVOS.....	13
1.1.1	Objetivo geral.....	13
1.1.2	Objetivos específicos.....	13
2	REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	ANFÍBIOS ANUROS.....	14
2.2	RELAÇÃO HOMEM E ANUROS.....	15
2.3	LEPTODACTILÍDEOS.....	16
2.4	<i>LEPTODACTYLUS VASTUS</i>	18
2.5	TEGUMENTO DE ANUROS.....	19
3	MÉTODO.....	21
3.1	ÁREA DE ESTUDO.....	21
3.2	METODOLOGIAS.....	23
3.2.1	Referencial teórico.....	23
3.2.2	Etnoherpetologia.....	23
3.2.3	Histologia.....	24
4	RESULTADOS.....	26
4.1	ARTIGO 1 - CONHECIMENTO LOCAL E USO DA RÃ PIMENTA (<i>LEPTODACTYLUS VASTUS</i> LUTZ 1930) (ANPHIBIA; ANURA) POR MORADORES DA RVS GURJAÚ E COMUNIDADES ADJACENTES.....	26
4.1.1	Introdução.....	28
4.1.2	Metodologia.....	29
4.1.2.1	<i>Área de estudo</i>	29
4.1.2.2	<i>Sujeito da pesquisa</i>	30
4.1.2.3	<i>Entrevistas</i>	30
4.1.3	Resultados e discussão.....	31
4.1.4	Conclusões.....	37
4.2	ARTIGO 2 - ASPECTOS HISTOLÓGICOS E CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DO TEGUMENTO DE <i>LEPTODACTYLUS VASTUS</i> LUTZ, 1930 (ANURA; LEPTODACTYLIDAE).....	39
4.2.1	Introdução.....	41

4.2.2	Material e métodos.....	42
4.2.2.1	<i>Área de estudo.....</i>	42
4.2.2.2	<i>Métodos.....</i>	42
4.2.3	Resultado.....	44
4.2.3.1	<i>Macroscopia do tegumento de L. vastus.....</i>	44
4.2.3.2	<i>Estrutura tegumentar.....</i>	45
4.2.3.3	<i>Microscopia do tegumento de L. vastus.....</i>	46
4.2.4	Discussão.....	49
4.2.5	Conclusões.....	53
5	CONCLUSÃO.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55
	APÊNDICE A – Questionário semiestruturado.....	68
	ANEXO A – Autorização de pesquisa e coleta: SISBIO.....	69
	ANEXO B – Autorização de pesquisa e coleta: CEUA.....	73
	ANEXO C – Autorização de pesquisa e coleta: CPRH.....	74

1 INTRODUÇÃO

Os anuros são um dos grupos mais ameaçados do mundo (IUCN, 2016), tendo como característica comum e relevante sua morfologia externa e interna. O tegumento desempenha diversas funções que são necessárias pra a sobrevivência das espécies (DUELLMAN E TRUEB, 1994; POUGH *et al.*, 2008). Sua pele é primordial para seu desenvolvimento, como trocas gasosas, defesa, lubrificação da pele. A pele é permeável e responsável pela respiração cutânea, além de participar do sistema de defesa contra predadores (BARBOSA E RODRIGUES, 2017). A produção do muco atua na lubrificação da pele e de todo seu corpo. O tegumento dos anuros é formado por epiderme e derme. Neste tegumento úmido há a presença de glândulas mucosas e glândulas granulares, ou de veneno, que contribuem para a proteção do indivíduo contra predadores (DUELLMAN E TRUEB, 1994). Por possuírem tais características, estes animais são considerados bioindicadores, por serem sensíveis e diretamente afetados pelas alterações ambientais, mas também algumas espécies são alimentos para as populações locais e/ou tradicionais.

Dentro das etnociências, a etnoherpetologia estuda o relacionamento e os saberes das populações locais com a fauna de anfíbios e reptéis. Os anfíbios estão envolvidos por lendas e mitos o que impedem uma melhor relação com a população humana, é visto como animais que desperta nojo e medo aumentando a rejeição por este grupo de animais. Outro aspecto relacionado à anurofauna é o seu uso alimentício, como constatado por Laurindo-Silva e Rodrigues (2018) e Fragoso (2018) em que a utilização de espécies de herpetofauna para fins alimentícios são comuns em comunidade de agricultores nas áreas do entorno e dentro da Unidade de Conservação Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú (RVS Gurjaú). Não sabendo as populações que algumas espécies possuem veneno que podem prejudicar-los ao serem ingeridos.

A espécie *Leptodactylus vastus* Lutz, 1930, conhecida popularmente como rã pimenta ou jia de peito, pertence à família Leptodactylidae, sendo anuro endêmico do Brasil e ocupa todos os estados do nordeste (HEYER, 2005).

Pesquisas relacionadas à etnoherpetologia são necessárias para

compreendermos qual a relação que as populações possuem com a herpetofauna, seu conhecimento popular sobre a ecologia e uso destes animais, para que medidas de prevenção sejam estudadas para a preservação da espécie em questão com para a segurança dos populares ao ingerirem ou manipularem determinadas espécies, em especial o anuro *L. vastus*. Trabalhos com histologia do tegumento de *L. vastus* ainda são escassos, sendo necessários para compreendermos o funcionamento, característica e sua composição, importantes para vida desta espécie. Assim, pesquisas relacionadas ao tegumento de *L. vastus* e da etnoherpetologia, podem vir a auxiliar em pesquisar de novos fármacos, práticas medicinais, contribuindo para o conhecimento e conservação da espécie. O seguinte estudo buscou caracterizar o conhecimento ecológico local dos moradores do Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú – RVS Gurjaú e as comunidades do entorno. Foram abordados o conhecimento da ecologia da espécie e seu uso, em especial o alimentício.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

- Estudar o tegumento de *Leptodactylus vastus* em relação a sua morfologia e histologia e o uso alimentar das comunidades locais com esta espécie

1.1.2 Objetivos específicos

- Examinar a estrutura da formação da pele do animal;
- Constatar a presença de estruturas glandulares em seu tegumento;
- Descrever as estruturas observadas macroscopicamente e microscopicamente
- Caracterizar o conhecimento ecológico local do uso de *L. vastus* pela comunidade no interior e entorno do Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ANFÍBIOS ANUROS

Os anfíbios em sua maioria apresentam dois modos de vida bastante distintos, tendo uma primeira fase larval aquática (exclusiva de água doce) e a segunda terrestre (adultos), divergindo em aspectos ecológicos, morfológicos e fisiológicos. A mudança de uma fase para outra caracteriza o processo de metamorfose (DUELLMAN E TRUEB, 1994; HICKMAN *et al.* 2004; POUGH *et al.* 2008). Este grupo compreende três ordens: (1) Anura (sapos, rãs e pererecas), (2) Gymnophionas (cecílias ou cobras-cegas) e (3) Urodela ou Caudata (salamandras e tritões), sendo os anuros os mais representativos (DUELLMAN E TRUEB 1994; HADDAD 2005; POUG 2008; HADDAD *et al.* 2013; FROST 2014). Os anfíbios estão distribuídos por todos os continentes, tendo o Brasil como um dos maiores representantes da diversidade mundial de anfíbios (FROST, 2014).

Os anuros atuam como conectores de cadeias alimentares, controlando a população de outras espécies, servem de alimento para inúmeros organismos, como artrópodes, outros anuros, répteis, aves e mamíferos, assim auxiliam no controle (POUGH, 2008; HADDAD *et al.*, 2013).

A maioria dos anfíbios são generalistas e oportunistas (DUELLMAN E TRUEB, 1986; SILVA *et al.*, 2010), podem se alimentar de diversos invertebrados, outros anuros, répteis, aves e pequenos mamíferos. Podem capturar seus alimentos através de forrageamento ou por espreita. (MOREIRA E BARRETO, 1996; SILVA E ROSSA-FERES, 2007; CUNHA E DELARIVA, 2009; SILVA *et al.*, 2010, NETO *et al.*, 2015). Algumas espécies de anuros possuem dimorfismo sexual apresentando nas espécies do sexo masculino um tipo de espinho córneo em sua parte ventral, estes espinhos auxiliam na manutenção das fêmeas, através de ação mecânica no momento durante amplexo, podendo desaparecer quando após período de maturação (DUELLMAN; TRUEB, 1986).

A ordem Anura é composta pelos sapos, rãs e pererecas, possuem seus membros adaptados ao salto e deslocamento, além de serem desprovidos de cauda, dando origem ao nome anura (POUGH, 2008; HADDAD *et al.*, 2013).

Em relação à distribuição geográfica dos anuros, apresentam ampla distribuição mundial, exceto nas regiões polares. Mundialmente com 7027 espécies os anuros destacam-se por sua diversidade, no Brasil encontra-se 986 espécies que estão divididas em 19 diferentes famílias e distribuídas em 87 gêneros. Dentre as famílias de anuros, destaca-se a família Leptodactylidae com registros de 152 espécies e 12 gêneros (SEGALLA *et al.*, 2016).

2.2 RELAÇÃO HOMEM E ANUROS

As etnociências são os estudos que envolvem o conhecimento das populações, a etnobiologia, etnoecologia, etnobotânica e a etnozologia, estudam os saberes das populações humanas em relação aos processos naturais (DIEGUES E ARRUDA 2001). A etnozologia destaca-se por investigar a relação do homem com a fauna local, suas crenças, comportamentos, mitos, afetividade em relação às espécies animais (MARQUES 2002).

Dados que relacionam o conhecimento popular e o uso da fauna local, associando o conhecimento popular e científico, proporcionam alternativas para planejar alternativas de manejo de forma mais efetiva, mantendo o equilíbrio da biodiversidade.

Essas interações entre populações e animais são estabelecidas desde a origem da humanidade de maneiras multidimensionais e complexas, devido ao fato do homem pertencer naturalmente à fauna existente, sendo dessas relações o uso de animais como alimento (ALVES E ALBUQUERQUE 2017).

A etnoherpetologia, que está inserida na etnozologia, busca compreender a relação do homem com os animais pertencentes à herpetofauna, anfíbios e répteis, estes são comumente perseguidos por representarem perigo para as populações, esta falta de conhecimento pode causar a morte indiscriminada desses animais, assim como lendas e mitos que os cercam (ALVES E ROSA, 2007; PAZINATO, 2013). Devido aos mitos e lendas relacionados a estes animais, acabam por não receberem a simpatia dos populares, que os consideram animais “nojentos”, “feios” e “asquerosos”, estas características contribuem para rejeição das populações por este grupo da fauna, comumente encontrada no cotidiano de populações de agricultores. Mesmo com toda esta discriminação, alguns animais são utilizados por comunidades como alimento e na medicina popular (ALVES *et al.*, 2010;

PAZINATO, 2013). Estudos de diferentes áreas de conhecimento já foram realizados ao longo dos anos na RVS Gurjaú, dentre eles pode-se citar os trabalhos com a Ecologia e diversidade de anuros (Amphibia: Anuros) (BARBOSA E RODRIGUES, 2017), Inventário de serpentes e lagartos (LAURINDO-SILVA *et al.*, 2017), Chironomidae (Insecta: Diptera) (NASCIMENTO *et al.*, 2016, NASCIMENTO *et al.* 2019), Trichoptera (Insecta) (PEREIRA-SILVA, 2017), Comportamento e morfologia do espermatozoide de libélulas (Insecta: Odonata) (BARBOSA- NETO, 2015) e de pesquisas desenvolvidas com o uso da fauna por comunidades tradicionais (FRAGOSO, 2017; CAVALCANTI *et al.* 2019), dentre as pesquisas citadas, a RVS Gurjaú é um laboratório a céu aberto para estudantes de diversas instituições de ensino superior, técnico e secundarista, servindo como ferramenta de ensino e estudo, contribuindo para a formação didática, prática e científica de discentes e pesquisadores de diferentes níveis.

2.3 LEPTODACTILÍDEOS

A família Leptodactylidae ocorre no continente americano, sendo a segunda maior família anura do Brasil (SEGALLA *et al.*, 2014). Em relação ao seu comprimento existem espécies que vão de poucos centímetros até uns 25 cm de comprimento rostró-cloacal, chegando a pesar um pouco mais de 1 kg (MOURA *et al.* 2011). Algumas espécies do gênero constroem ninhos de espuma, importantes para garantir a proteção dos girinos contra predadores, assim como proteger os ovos contra a dessecação (HEYER, 1969). Esta família está distribuída por todos os ecossistemas do nordeste brasileiro.

Vários trabalhos com temas diversificados são abordados utilizando animais pertencentes à família Leptodactylidae, como Lopez (1988) que investigou o comportamento de vocalização da espécie *Leptodactylus albilabris* em que documentaram quantitativamente a intensidade e frequência da vocalização, Martins (1988) observou a biologia reprodutiva de *Leptodactylus fuscus*.

Rodrigues (2004) investigou a variação sazonal da dieta de *Leptodactylus podicipinus* onde conclui que esta espécie é oportunista e generalista. Em 2005, Silva apresentou detalhes sobre a reprodução de *Leptodactylus labyrinthicus* no sudoeste do Brasil.

Lenzi–Mattos (2005) descreveu a morfologia das macroglândulas inguinais da espécie *Physalaemus nattereri* e sua secreção, onde foi correlacionado ao comportamento deimático, no mesmo ano. Heyer (2005) esclareceu a variação taxonômica do grupo *Leptodactylus pentadactylus*, utilizando testes estatísticos e variação geográfica. Silva e Giaretta (2005) apresentaram características reprodutivas de *Leptodactylus labyrinthicus*. Em 2008, os mesmo autores, pesquisaram a história natural de *Leptodactylus labyrinthicus* com ênfase em reprodução, formação de ninhos e desenvolvimento de girinos.

Em 2007, Dourado pesquisou sobre a secreção cutânea de *Leptodactylus syphax*, onde foi isolado um peptídeo antimicrobiano, testados contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Em um trabalho realizado por De–Carvalho (2008) sobre a história natural de *Leptodactylus mystacinus* e *Leptodactylus fuscus*, foram abordados aspectos ecológicos das espécies como o uso de microhabitat, dieta, morfometria e padrões de atividades. King (2008) identificou três peptídeos com sequências não descritas e estruturalmente semelhantes às dos peptídeos antimicrobianos descritos em outra espécie de leptodactilídeo, apresentando baixo potencial antimicrobiano contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Limaverde (2009) isolou e testou os efeitos farmacológicos da leptoxina extraída de *Leptodactylus pentadactylus* e induzidas em ratos; o efeito da proteína causou colapso cardiorrespiratório, secreção traqueal abundante causando morte súbita. Santos e Silva (2010) registraram o primeiro caso de albinismo parcial na espécie *Leptodactylus troglodytes*. Garcia (2011) realizou a caracterização histomorfológica de espécies de *Leptodactylus* do grupo *fuscus* destacando a camada Eberth-Katschenko, mostrando que existem variações morfológicas nessas camadas entre as espécies.

Vera e Ponssa (2013) descreveram a esqueletogênese cranial e pós-craniana, e mudança na forma do crânio através do desenvolvimento metamórfico e pós-metamórfico de *Leptodactylus bufonius*. Jansen (2012) obteve dados moleculares, morfológicos e bioacústicos de uma espécie do grupo *Leptodactylus pentadactylus*, sugerindo uma revisão taxonômica de todo o grupo e realizar uma nova amostragem entre as áreas de distribuição descritas. Domenico (2014) descreveu o girino de *Paratelmato bius gaigeae*,

apresentando dados sobre a biologia reprodutiva e vocalização da espécie.

Grosso (2017) investigou as alterações heterocromáticas que ocorrem durante o desenvolvimento embrionário de *Leptodactylus fuscus* e *Leptodactylus latrans*, registrando a ocorrência de estruturas exclusivamente embrionárias e os estágios iniciais do desenvolvimento larval destas espécies. Graça (2017) identificou a fauna de endoparasitas em 18 espécies de anuros dos quais sete pertencem a família dos leptodactilídeos, desta foram encontradas as seguintes espécies de endoparasitas *Catadiscus marinholutzi* (Freitas and Lent, 1939), *Catadiscus propinquus* (Freitas e Dobbin Jr., 1956), *Gorgoderina* sp. (1902), *Rauschiella linguatula* (Rudolphi, 1819), *Rauschiella repandum* (Rudolphi, 1819), *Aplectana* sp., *Aplectana travassosi* (1967), *Cosmocerca podicipinus* (Baker and Vaucher, 1984), *Raillietnema* sp., *Schrankiana formosula* (Freitas, 1959), *Falcaustra máscula* (Freitas and Lent, 1941), *Oxyascaris oxyascaris* (Travassos, 1920), *Physaloptera* sp., *Brevimulticaecum* sp., e *Rhabdias* sp. Com o resultado obtido da identificação dos endoparasitas das dezoito espécies, foram registrados duas novas ocorrências no Brasil e 33 novos hospedeiros.

Teles (2018) encontrou espécies de nematoides pulmonares e cinco espécies de *Rhabdias* sp. em *Leptodactylus macrosternum*, a espécie foi relatada como novo hospedeiro de *Rhabdias* sp.

2.4 LEPTODACTYLUS VASTUS

Dentre as espécies da família Leptodactylidae, destaca-se *Leptodactylus vastus* Lutz, 1930 (rã pimenta ou jia de peito) sendo considerada a maior espécie do grupo no Brasil. Esta espécie é endêmica do Brasil, ocupando todos os estados do Nordeste e as extremidades do Pará e Tocantins, sendo encontrado na Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Brejos de Altitude (HEYER 2005, MOURA *et al.* 2011). Eles vivem em ambientes associados à serapilheira em florestas tropicais úmidas, próximos à água (DUELLMAN E TRUEB 1994; POUGH *et al.* 2008) ou em fragmentos florestais urbanos (BARBOSA E RODRIGUES 2017). Possui uma vocalização bem característica, comparada ao latido de cão (FREITAS E SILVA 2007).

Vieira (2007) descreveu a morfologia dos girinos de *L. vastus*, que apresentaram características semelhantes aos girinos de outras espécies do

mesmo gênero, no entanto com tamanho menor. Em um trabalho com o ninho de espuma da rã *L. vastus*, por Hissa (2008), foi possível isolar um forte surfactante. Em relação a trabalhos com o *L. vastus*, temos como exemplo o realizado por Ferreira (2009), que relatou a existência de *L. vastus* como fauna regular da caverna Toca da Raposa em Sergipe, onde até então não havia registro desta espécie em ambientes cavernícolas, se alimentando de morcegos de forma oportunista.

Santana (2012) relatou através de uma observação oportuna um indivíduo adulto *L. vastus* predando um adulto *Leptodactylus latrans*. Hissa (2012) isolou uma proteína surfactante natural, a Lv-ranaspumin, do ninho de espuma de *L. vastus*.

Cabral (2013) buscou determinar a composição química das gorduras corporais de *Leptodactylus macrosternum* e *Leptodactylus vastus*, avaliando a atividade antimicrobiana, assim como suas aplicações ecológicas, associando a utilização dos óleos na medicina popular tradicional. Revelando atividades antimicrobianas relevantes contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida krusei*.

Teles (2014) descreveu a presença de duas espécies de nemátodos em *L. vastus*, sendo a maioria encontrada no trato digestivo do animal. Leite Filho (2014) relatou a predação oportunista de morcegos em redes de neblina por *L. vastus*. Teles (2016) relata infecções no trato digestivo de *L. vastus*, causadas por nematóides.

Lima (2018) realizou um estudo para melhorar o conhecimento da diversidade de anuros no município de Floriano, Estado do Piauí, em que utilizou características bioacústicas para fornecer uma descrição detalhada das chamadas de anúncio e inferir sobreposição de nicho acústico entre essas espécies, através da análise de chamados de anúncios, dentre as espécies analisadas o *L. vastus* se destacou por apresentar mais de 90% de sobreposição acústica.

2.5 TEGUMENTO DE ANUROS

A primeira barreira entre os anfíbios e o ambiente é o tegumento, responsável por diversas funções fundamentais para sua existência, como por exemplo, a proteção mecânica, defesa contra patógenos e controle da permeabilidade de água para o interior do corpo do animal. Outra importante

função está relacionada ao processo de respiração, percepção sensorial, função química como a coloração e camuflagem (DUELLMAN E TRUEB 1994; POUGH *et al.* 2008).

Este tegumento, assim como o dos outros vertebrados, é composto por uma epiderme e derme, onde há presença de glândulas na pele, uma característica comum entre todos os anfíbios (DUELLMAN E TRUEB 1994; VITT E CALDWELL 2014). Essas glândulas são classificadas como: i) glândulas granulosas (conhecidas como glândulas de veneno), que são secretoras de compostos com atividades biológicas; ii) glândulas mucosas, estas geralmente, encontram-se em maior número, estando envolvidas no processo de lubrificação da pele, secretando mucinas, relacionadas com a osmorregulação e com a termorregulação dos anfíbios (NASCIMENTO 2007). Nos dois tipos glandulares, o conteúdo se mantém armazenado, sendo liberado através de estímulo externo.

Na literatura há poucos trabalhos referentes à histologia do tegumento de anuros, como por exemplo, o estudo do tegumento da região dorsal de da espécie *Cryptobatrachus* (Hemiphractidae) realizado por Pérez (1985), caracterizando com métodos histoquímicos dois tipos de glândulas mucosas encontradas na região dorsal que apresentaram diferenças histológicas e histoquímicas, sendo descritas pela primeira vez, estruturas especializadas (membranas mucosas) que possivelmente contribuem para as secreções que auxiliam na fixação do desenvolvimento dos ovos e embriões.

Pérez (1992) investigou as alterações histológicas e citológicas observadas no período de incubação de ovos no tegumento dorsal das fêmeas de *Cryptobatrachus boulengeri*. Naya (2004) para compreender a função e estrutura tumefação frontal de *Melanophryniscus tumifrons* analisou a histologia do tegumento da região da cabeça, seus resultados sugerem alterar o nome dessa estrutura para macroglia por possuírem características na região anterior da cabeça que estão associadas à tumeração frontal.

Felseburgh (2008) realizou um estudo com caracterização do tegumento de fêmeas de *Proceratophrys boiei* (Odontophrynidae), revelando que seu tegumento é formado por derme e epiderme, além da presença de outras estruturas. O estudo mostrou, que entre machos e fêmeas das espécies *P. boiei*, não foi encontrada diferenças morfológicas em seu tegumento, revelando a

ausência de dimorfismo sexual.

Moreno-Goméz (2014) realizou a descrição histológica das glândulas cutâneas da espécie *Phyllobates bicolor* utilizando três diferentes corantes (hematoxilina-eosina, PAS e Masson Trichrome) através de microscopia óptica convencional, foram identificadas duas diferentes glândulas, mucosas e serosas, além da presença de ducto intra-epitelial responsável por levar os produtos das glândulas para o meio externo.

Souza (2015) abordou as principais características das macroglândulas encontradas nas espécies de *Rhinella scheneideri* (Bufonidae), evidenciando a presença de suas estruturas tegumentares, epiderme com células queratinizadas, derme com dois estratos diferentes, esponjoso contendo vasos e glândulas, e o estrato compacto contendo fibras colágenas, não apresentou diferenças histológicas quando comparados a outras espécies da família Bufonidae. A dissertação está dividida da seguinte forma: o referencial teórico com a parte introdutória dos temas abordados. Materiais e Métodos, caracterizando a área de estudo e descrição das metodologias utilizadas em todo o trabalho. Resultados e discussões abordando o primeiro artigo, Conhecimento local e uso da rã pimenta (*Leptodactylus vastus* Lutz 1930) (Amphíbia; Anura) por moradores da RVS Gurjaú e comunidades adjacentes, o segundo artigo, Aspectos histológicos e características estruturais do tegumento de *Leptodactylus vastus* Lutz, 1930 (Anura; Leptodactylidae), as considerações finais, referências, apêndice e anexos.

3 MÉTODO

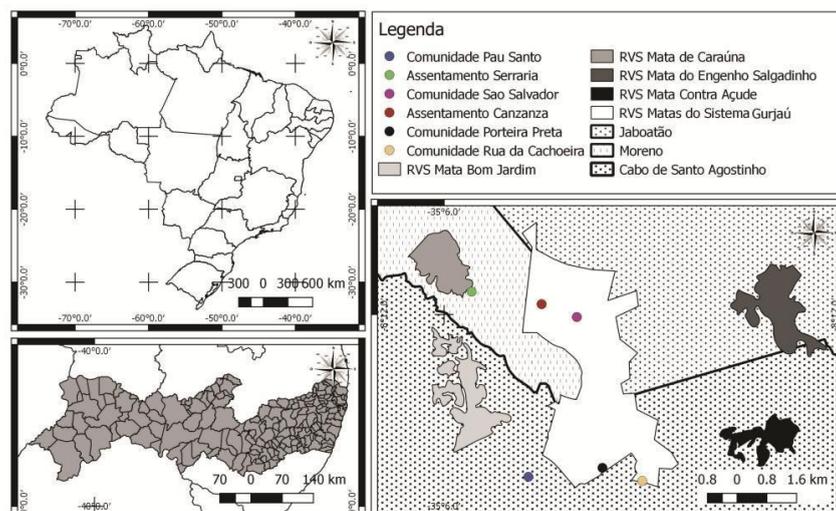
3.1 ÁREA DE ESTUDO

O Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú (RVS Gurjaú) é uma Unidade de Conservação de Proteção Integral foi criada pela Lei estadual nº 9.989 de 13 de janeiro de 1987, sendo recategorizada em 2011 (Lei nº 14.324/11) para Refúgio da Vida Silvestre (RVS Gurjaú). Está localizada entre os municípios de Jaboatão dos Guararapes, Cabo de Santo Agostinho e Moreno, pertencentes à Região Metropolitana do Recife (RMR) (8°2'30"S, 34°56'30"W). Com uma área de 1.340,72 há, composta por 17 fragmentos, é formada por uma floresta ombrófila, a vegetação é do tipo perenifólia

(TABARELLI *et al.*, 2005), apresenta estação chuvosa entre março a agosto e, estação seca entre setembro a dezembro (BARBOSA E RODRIGUES 2017). A RVS Gurjaú é banhada pelo Rio Gurjaú, um afluente do Rio Pirapama que abastecem a cidade do Cabo de Santo Agostinho e parte do Recife. Com o intuito de proteger seu manancial hídrico e os fragmentos florestais. Desde então, o laboratório de Avaliação, Recuperação e Restauração de Ecossistemas – ARRE Água, da Universidade Federal de Pernambuco, tem participado do Conselho Gestor das UC e realizado inúmeras atividades acadêmicas, de pesquisa e extensão.

Trabalhos de diferentes áreas de conhecimento já foram realizados ao longo dos anos na RVS Gurjaú, dentre eles pode-se citar o trabalhos com diversidade de anuros (Amphibia: Anuros) (BARBOSA E RODRIGUES, 2017), inventário de serpentes e lagartos (LAURINDO- SILVA *et. al.*, 2017), Chironomidae (Insecta: Diptera) (NASCIMENTO E RODRIGUES, 2017), Trichoptera (Insecta) (PEREIRA-SILVA, 2017), libélulas (Insecta: Odonata) (BARBOSA-NETO, 2015) e de pesquisas envolvidas com o uso da fauna por comunidades tradicionais (FRAGOSO, 2017), dentre as pesquisas citadas, a RVS Gurjaú é um laboratório a céu aberto para estudantes de diversas instituições de ensino superior, técnico e secundarista, servindo como ferramenta de ensino e estudo, contribuindo para a formação didática, prática e científica de discentes e pesquisadores de diferentes níveis.

Figura 1. Mapa da localização da Reserva de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú. Brasil; Pernambuco; Municípios: Jaboatão dos Guararapes, Moreno, Cabo de Santo Agostinho.



Fonte: Fragoso *et al.* 2018.

3.2 METODOLOGIAS

3.2.1 Referencial teórico

Para o referencial bibliográfico foi utilizado método qualitativo, através da pesquisa bibliográfica para o levantamento de informações sobre anfíbios-anuros de modo geral, utilizando as palavras-chaves: Leptodactídeos, *Leptodactylus vastus*, tegumento de anuros, relacionamento do homem com a fauna, etnobiologia, etnozootologia e etnoherpetologia, nos últimos dez anos.

3.2.2 Etnoherpetologia

Entrevistas - Primeiramente realizamos visitas de reconhecimento ao local e nas comunidades adjacentes à unidade de conservação, abordando representantes e pessoas da comunidade, assim como funcionários da COMPESA (Companhia Pernambucana de Saneamento) e da Unidade de Conservação da RVS Gurjaú. As comunidades visitadas e onde foram realizadas as pesquisas foram (i) Assentamento Serraria, que esta situada de Moreno entre o RVS Gurjaú e o RVS Caraúna, (ii) Comunidade Pau Santo, ao oeste dos refúgios, estando entre o RVS Gurjaú e o RVS Bom Jesus, (iii) Assentamento Canzanza, ao norte, entre o RVS Gurjaú e RVS Caraúna, as (iv) Comunidades São Salvador, (v) Rua da Cachoeira e (vi) Porteira Preta, que estão localizadas dentro da área da RVS Gurjaú, no município de Cabo de Santo Agostinho.

As entrevistas foram realizadas do tipo “livre” com questionários semiestruturados (HUNTINGTON, 2000) de modo individual com conversas informais (HUNTINGTON, 2000; ALBUQUERQUE E LUCENA, 2006), durante as reuniões do Conselho Gestor (CG) onde estavam presentes os membros do CG e os moradores de comunidades dentro e fora da unidade. As entrevistas abordaram temáticas relacionadas à ecologia do *L.vastus* e ao uso do animal.

Para o entrosamento com a comunidade foi realizada a técnica “bola de neve” (BERNARD, 1988), onde são utilizados informantes-chave de cada comunidade, estes, foram indicados pelos gestores da UC, fazendo visitas as comunidades chegando até os moradores. As entrevistas ocorreram de forma

livre, tendo como objetivo compreender o conhecimento dos populares em relação ao *L. vastus*.

As questões abordadas nortearam as características ecológicas e o uso da espécie pelos populares, em relação das características ecológicas a foi questionado se os moradores conhecem a jia, se sabem identificar a espécie, se possuem medo, se conhecem a sua vocalização, quais locais podem encontrá-las, em qual época elas mais aparecem, em qual horário são vistas, se os populares costumam manejar o animal, se eles conhecem o ninho de espuma dessa espécie e se sabem qual a alimentação da jia.

Em relação ao uso de *L. vastus* foi perguntado se o entrevistado já se alimentou da jia, se conhecem ou já ouviram falar qual o seu sabor, qual a forma de preparo para alimentação, desde a morte até o prato final e se conhecem algum outro uso deste animal.

Estas técnicas foram aplicadas com a finalidade de conhecer melhor a relação destas pessoas com a jia e sobre os seus conhecimentos, buscando assim subsídios para desenvolver os métodos de análises para este estudo.

3.2.3 Histologia

Os animais foram coletados através de busca ativa noturna, os indivíduos do sexo masculino foram identificados por dimorfismo sexual presente na espécie, os tamanho dos indivíduos variou entre 9cm a 34cm, usando a medição com comprimento total do corpo, o peso variou entre 50g a 400g, depois da triagem, foram acomodados e transportados para Laboratório da Avaliação, Recuperação e Restauração de Ecossistemas Aquáticos – ARRE Água da UFPE, onde permaneceram em cativeiro contendo seu ambiente natural, a fim de reduzir o estresse. A captura, transporte e experimentos utilizando os animais foi concedida através das licenças, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade ICMBio/SISBIO, nº 58495-1 (Anexo 1), da Agência Estadual de Meio Ambiente, CPRH, nº 006437/2017 (Anexo 3) e da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPE, CEUA, nº 23076.013219/2018-28 (Anexo 2). Após o período de aclimatização, deu-se início ao procedimento anestésico, para a retirada dos fragmentos do tegumento, foram anestesiados com lidocaína 2% e posteriormente coletados fragmentos que a espessura do corte transversal variou de 0,4 mm a 3,9 mm.

O tegumento foi dividido em dorso, lateral e ventre, cada um deles separados em diferentes partes: Dorso Direito Superior (DDS); Dorso Esquerdo Superior (DES); Dorso Direito Inferior (DDI); Dorso Esquerdo Inferior (DEI); Dorsolateral Direito Superior (LDS); Dorsolateral Esquerdo Superior (LES); Dorsolateral Direito Inferior (LDI); Dorsolateral Esquerdo Inferior (LEI); Ventre Superior (VS) e Ventre Inferior (VI), sendo fixadas em solução aquosa de formaldeído tamponada a 10% com pH 7,0 permanecendo nesta solução por 24 horas, em seguida o material foi processado e corados através da técnica de Hematoxilina e Eosina (HE). Foram obtidas 60 preparações, 10 para cada indivíduo, uma preparação para cada região selecionada, gerando o total de 360 fotomicrografias analisadas. Para análise morfológica os materiais foram observados em microscópio Primo Star (Zeiss) acoplado a uma câmera digital AxioCam ERc5s e analisados através do programa AxioVision. Os espécimes foram fixados em álcool 70% para posterior depósito na coleção Herpetológica da UFRPE.

4 RESULTADOS

4.1 ARTIGO 1: CONHECIMENTO LOCAL E USO DA RÃ PIMENTA (*LEPTODACTYLUS VASTUS* LUTZ 1930) (ANFÍBIA; ANURA) POR MORADORES DA RVS GURJAÚ E COMUNIDADES ADJACENTES*¹

Tulíbia Laurindo Silva ^{a,b}, Gilberto Gonçalves Rodrigues ^{a,b}

^a Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Centro de Biociências, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brasil.

^b Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brasil.

¹Artigo submetido à Revista Journal of Environmental Analysis and Progress

RESUMO

A etnoherpetologia investiga o conhecimento do homem sobre a fauna de anfíbios e répteis. Em relação aos anfíbios, poucas são as pesquisas que relaciona conhecimento das comunidades a estes animais. O estudo foi realizado com cinco comunidades, Canzanza, Assentamento Serraria, Porteira Petra, Pau Santo, Rua da Cachoeira e São Salvador, que ficam em torno e/ou dentro do Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú, que fica localizada na região metropolitana do Recife. Foram realizadas entrevistas com questionários semiestruturado de modo individual com conversas informais, os entrevistados foram indicados inicialmente pelos gestores da UC, nestes questionários abordamos temas relacionados à ecologia e ao uso do animal dando ênfase ao uso alimentício. Além disto, Testes de letalidade, utilizando o microcrustáceo *Artemia salina*, foram realizados a partir do extrato obtido por meio da maceração do tegumento para verificar a toxicidade do seu tegumento. Os entrevistados conhecem a ecologia da espécie, sabendo identificar hábitos relacionados, com citações de insetos, besouros e pintos que servem como alimentação para o animal, aspectos temporais, em que a maioria afirma que aparecem em lugares como locas de pedras, canos boeiros, estão sempre associados ao horário noturno e anunciados chuvas, e comportamentais, como medo, manejo, vocalização e ninho. Sobre seus usos, o alimentício foi o mais citado, revelando como é seu preparo e gosto. Em relação ao teste de letalidade, a DL₅₀ ocorreu em dosagens com 50µg do extrato e demonstrou que a exposição a partir de 10µg do extrato causou a redução da mobilidade dos náuplios, indicando toxicidade de seu tegumento. Cuidados na injeção e manuseio são necessários e podem servir de alerta para o não uso indiscriminado do animal, assim como a forma de manejo sustentável que é realizado pelas populações locais da RVS Gurjaú, que não consomem os indivíduos do sexo feminino.

Palavras-chave: Anuros, comunidades, conhecimento popular, uso e entrevistas.

4.1.1 Introdução

As Unidades de Conservação (UC) são espaços territoriais junto aos seus recursos ambientais, os quais possuem consideráveis características naturais, constituídos legalmente pelo poder público, e tem como objetivo a conservação e limites definidos, através de regimento administrativo, aplicando-se garantias adequadas de proteção (LEI Nº 9.985, 2000). A contribuição das Unidades de Conservação possibilita a proteção de espécies ameaçadas ou vulneráveis, assim como as endêmicas, contribuindo para conservação da biodiversidade da região (BRAZ E CAVALCANTI, 2001).

As etnociências são caracterizadas como um campo da pesquisa científica que investiga as diferentes percepções entre o homem e a natureza, tendo sido considerada como uma disciplina multidisciplinar (POSEY 1986; BEGOSSI 1993) e mais atualmente como transdisciplinar. Logo, a etnobiologia fornece alicerce teórico para unir as diferentes áreas de pesquisa com o conhecimento popular (COSTA-NETO, 1999). A etnobiologia pode se dividir em diferentes campos específicos de estudo, sendo a etnozootologia, o ramo que estuda o conhecimento tradicional do homem sobre os animais, coleta de informações referente ao uso dos animais, significados culturais, nomes populares e atividades realizadas junto à população nativa (POSEY 1986; RAZERA *et al.*, 2006). Um sub-ramo da etnozootologia é a etnoherpetologia, em que é investigado o processo de interação do homem com a fauna de anfíbios e répteis (BARBOSA *et al.*, 2007; OLIVEIRA E FREIRE, 2015).

Em relação aos anfíbios, ainda são poucos as pesquisas que investigam a relação das comunidades e estes animais. Para algumas populações orientais os anfíbios serviam como um tipo de amuleto em rituais religiosos, outras civilizações antigas associavam os anfíbios à água e por isso os veneravam como símbolo da fertilidade e renascimento (CERIACO, 2010; OLIVEIRA E FREIRE, 2015). De modo geral, a fauna é utilizada como alimentos pelas populações, mas também estão envolvidos em outras finalidades, tais como, medicamentos, animais de estimação, atividades culturais e fins mágico-religiosos (ALVES, 2009).

Dentre as espécies de anfíbios anuros, temos a espécie *Leptodactylus*

vastus Lutz, 1930 (rã-pimenta ou jia-de-peito), pertencente à família Leptodactylidae, é considerado a maior espécie de anfíbio anuro do Brasil, chegando a alcançar 25 cm de comprimento rostro-anal e pesar pouco mais de um quilo em alguns indivíduos (LAURINDO-SILVA E RODRIGUES, 2018). Esta espécie é endêmica do Brasil, ocupando todos os estados do Nordeste e as extremidades do Pará e Tocantins, sendo encontrada na Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Brejos de Altitude (MOURA *et al.*, 2011) e fragmentos urbanos (BARBOSA E RODRIGUES, 2017). Possui uma vocalização bem característica, comparada ao latido de cão e com alimentação bem diversificada, desde artrópodes e pequenos vertebrados, como também de outras rãs, serpentes e pequenos roedores (FREITAS E SILVA, 2007; SEGALLA *et al.*, 2018). Dentre as características citadas para *L. vastus* esta espécie é tida como preferência alimentar por comunidades de agricultores, a ingestão deste animal esta relacionada a atividades de lazer sendo, segundo populares, de sabor agradável e fácil preparação (FRAGOSO *et al.*, 2018; LAURINDO-SILVA E RODRIGUES, 2018).

Espécies de anuros possuem veneno em seu tegumento, órgãos e corrente sanguínea, existindo possibilidades de envenenamento ao serem ingeridas. Compreender a relação das comunidades com esta espécie, seu conhecimento ecológico e os usos que realizam com este animal é de grande importância para a preservação da espécie e para a saúde dos populares ao consumirem o animal.

Este trabalho teve como objetivo revelar o conhecimento popular das comunidades estudadas em relação às características ecológicas e uso da rã pimenta, *L. vastus* e verificar a toxicidade do extrato de seu tegumento.

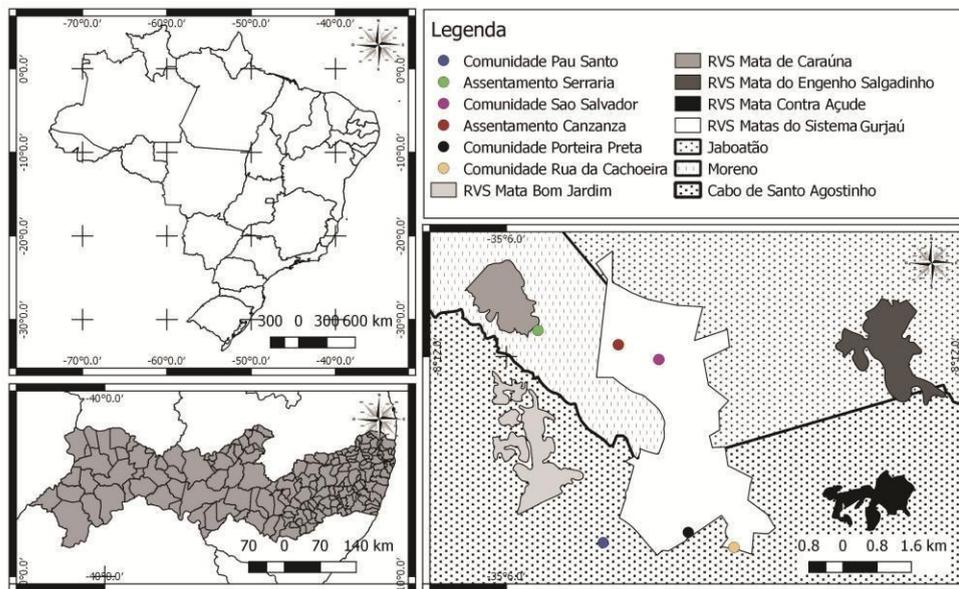
4.1.2 Metodologia

4.1.2.1 Área de estudo

O estudo será realizado no Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú (Lat. 08°10'00" e 08°15'00", Log. 35°02'30" e 35°05'00"), localizada na porção Sul da Região Metropolitana do Recife, na divisa dos municípios Cabo de Santo Agostinho, Jaboatão dos Guararapes e Moreno, no Estado de Pernambuco. A área total é de 1.362.02 ha, sendo constituída por vegetação de

floresta estacional perenifólia. A RVS Gurjaú está inserida na área pertencente a Companhia Pernambucana de Abastecimento de Água - COMPESA, onde fica instalada uma estação de tratamento de água, que abastece parte da Região Metropolitana do Recife (CPRH, 2012).

Figura 2. Mapa da localização da Reserva de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú. Brasil; Pernambuco; Municípios: Jaboatão dos Guararapes, Moreno, Cabo de Santo Agostinho.



Fonte: Fragoso *et al.* 2018

4.1.2.2 Sujeitos da pesquisa

As comunidades visitadas e onde foram realizadas as pesquisas foram (i) Assentamento Serraria, que está situada de Moreno entre o RVS Gurjaú e o RVS Caraúna, (ii) Comunidade Pau Santo, ao oeste dos refúgios, estando entre o RVS Gurjaú e o RVS Bom Jesus, (iii) Assentamento Canzanza, ao norte, entre o RVS Gurjaú e RVS Caraúna, as (iv) Comunidades São Salvador, (v) Rua da Cachoeira e (vi) Porteira Preta, que estão localizadas dentro da área da RVS Gurjaú, no município de Cabo de Santo Agostinho. Foram escolhidos moradores que vivem há mais de 10 anos na localidade e com idade superior a 30 anos.

4.1.2.3 Entrevistas

Primeiramente realizamos visitas de reconhecimento ao local e nas

comunidades adjacentes à unidade de conservação. As entrevistas foram realizadas com questionários semiestruturados (HUNTINGTON, 2000), de modo individual com conversas informais (HUNTINGTON, 2000; ALBUQUERQUE E LUCENA, 2004). Abordamos perguntas que envolvem a utilização dos animais para diferentes fins e o conhecimento ecológico que os moradores possuem do animal. Perfil das comunidades (materiais e métodos): São Salvador, Porteira Preta, Canzanza, Assentamento Serraria, Gurjaú.

Para facilitar o entrosamento com a comunidade (RAPPORT), foi realizada a técnica “bola de neve” (BERNARD, 1988) onde são utilizados informantes-chave de cada comunidade, estes, foram indicados pelos gestores da UC, fazendo visitas às comunidades chegando até os moradores.

As questões abordadas nortearam as características ecológicas e o uso da espécie pelos populares, em relação às características ecológicas foi questionado (i) se os moradores conhecem a jia, (ii) se sabiam identificar a espécie, (iii) se possuem medo e/ou aversão, (iii) se conhecem a sua vocalização, (iv) quais os locais que podem encontrá-las, (v) em qual época elas mais aparecem, (vi) em qual horário são vistas, (vii) se os populares costumam manejar o animal, (viii) se eles conhecem o ninho de espuma dessa espécie e/ou habitat, (ix) reconhecem os indivíduos machos e fêmeas (sexuação) e (x) se sabem do que a jia se alimenta.

Em relação ao uso de *L. vastus* foi perguntado se o entrevistado (a) já se alimentou da jia, (b) se conhecem ou já ouviram falar qual o seu sabor, (c) qual a forma de preparo para alimentação, desde a morte até o prato final e (d) se conhecem algum outro uso deste animal, além da alimentação.

Estas técnicas foram aplicadas com a finalidade de conhecer melhor a relação destas pessoas com a jia e sobre os seus conhecimentos, buscando assim subsídios para desenvolver os métodos de análises para este estudo.

4.1.3 Resultados e discussão

No total, foram realizadas 30 entrevistas em cinco comunidades no entorno e interior da RVS Gurjaú. Destas, 18 foram homens e 12 mulheres, com idade variando de 22 anos a 76 anos. Foram excluídos das análises três entrevistados do sexo masculino que possuem idade inferior a 30 anos e um

morador que vive no local a menos de 10 anos. No entanto, para os testes utilizamos 27 entrevistados, com 15 homens e 12 mulheres.

Tabela 1: Dados obtidos nas entrevistas, número de entrevistados do sexo masculino e sua porcentagem individual, número de entrevistados do sexo feminino e sua porcentagem individual, número total de entrevistados e sua porcentagem total.

Perguntas	Homens	Mulheres	Porcentagem (%)
			Homens e Mulheres
Conhecem a espécie?	15 (100%)	11 (92%)	26 (96%)
Existem diferenças entre os indivíduos, quais?	6 (40%)	0 (0%)	6 (22%)
Tem medo?	3 (20%)	6 (50%)	9 (33%)
Conhecem a vocalização (canto)?	13 (87%)	1 (8%)	14 (52%)
Onde podemos encontrar?	13 (87%)	6 (50%)	19 (70%)
Em que época mais aparece?	13 (87%)	6 (50%)	19 (70%)
Conhece o ninho, como é?	8 (53%)	3 (25%)	11 (41%)
Costuma manejar o animal?	2 (13%)	0 (0%)	2 (7%)
Conhecem a alimentação (dieta) do animal?	5 (33%)	1 (8%)	6 (22%)
Em qual horário costuma encontrar a jia?	13 (87%)	7 (58%)	20 (74%)
Conhece algum uso sem ser o alimentício?	2 (13%)	3 (25%)	5 (19%)
Já comeu jia?	6 (40%)	1 (8%)	7 (26%)
Qual o seu sabor?	8 (53%)	3 (25%)	11 (41%)
Como é o preparo para alimentação?	6 (40%)	3 (25%)	9 (33%)

Tabela 2: Respostas das perguntas. Primeira coluna: I) Diferença entre os indivíduos. II) Sobre o ninho de espuma. III) Modo de preparo. IV) Aspectos temporais. V) Características. Segunda coluna: Entrevistados, idade e comunidades. Terceira coluna: falas dos entrevistados. Quarta coluna: bibliografia que aborda as falas citadas justificando o conhecimento popular.

Perguntas	Entrevistados	Repostas	Referências
Diferença entre os indivíduos.	B. 79 anos Porteira Preta	“Existem dois tipos, a Pimenta (que não se come, e tem as costas vermelhas), e a Boi (que se come e tem pintinhas).”	Algumas espécies de anuros do sexo masculino possuem uma espécie de espinho córneo em sua parte ventral que auxiliam na manutenção das fêmeas, através de ação mecânica no momento amplexo durante (DUELLMAN; TRUEB, 1986).
	J. 47 anos São Salvador	“Existem dois tipos de jia, a boi e a pimenta, que deixa a mão ardendo. A diferença das duas e a cor e o peito que a boi tem”.	
	E. 55 anos São Salvador	“A pimenta é pintadinha, já a boi as pintas são mais apagadas”.	

	R. 46 anos Rua da Cachoeira	“Existem dois tipos de jias, a jia pimenta e a jia branca (jia boi ou jia de peito)”.	
	J. 51 anos Rua da Cachoeira	“Existem dois tipos de jias, a pimenta é a que tem veneno”.	
	A. 58 anos Pau Santo	“Existem dois tipos de jia, a jia boi (de peito) e a jia pimenta”.	
	C. 42 anos Pau Santo	“Tem jia pimenta que não serve para comer, ela tem pimenta na pele, só comem a jia de peito”.	
	B. 79 anos Porteira Preta	“é feito uma espuma branca”.	
	S. São Salvador	“A jia faz a espuma e por isso acha nojento”.	
	J.P. 76 anos São Salvador	“A espuma são os filhotes dela, fica bolinha branca com uma pontinha e rabinho”.	
	J. 47 anos São Salvador	“O ninho é feito de espuma”.	
	A. São Salvador	“Os filhotes dela são bem pequenos e ficam numa espuma, se chegar perto a mãe fica braba.”	Muitas rãs da família Leptodactylidae depositam seus ovos em ninhos de espuma que flutuam na superfície da água. Durante a desova, o macho produz a espuma batendo as patas traseiras na desova, semelhante a uma bateadeira que produz a clara em neve (BENEDITO, 2017).
Sobre o ninho de espuma.	N. 43 anos Porteira Preta	“Fazem o ninho cavando buracos e produzem uma espuma e aparecem mais no inverno.”	
	R. 46 Rua da Cachoeira	“Fazem um ninho de espuma, que sai dela mesmo, produzem muita espuma com filhotes pretinhos (girinos).”	
	M. 48 Rua da Cachoeira	“Elas fazem muito barulho na água e encontram seus filhotes (girinos) em um tipo de espuma.”	
	A. 41 Assentamento Serraria	“Elas ficam com uma espuma e se escondem nela”.	
	M. J. 41 Assentamento Serraria	“Para preparar retiram o couro fazendo cortes nas juntas facilitando a saída do couro que sai por inteiro.”	
	V. 62 Canzanza	“Seu preparo é feito com a retirada do couro e assa no óleo”.	
	B. 79	“Coloca a jia inteira no fogo pra tirar o couro, pois o couro é duro”.	
Modo de preparo.	J. P. 64 São Salvador	“Corta a barriga e tira o couro, o couro é solto”.	
	M. 52 São Salvador	“tira o coró e assa feito galinha”.	
	S. 73 Porteira Preta	“Seu preparo é feito com a retirada de seu couro e as vísceras”.	
	C. 42 Pau Santo	“Retira-se o couro e corta feito uma galinha”.	
	A. 41 Assentamento Serraria	“O couro da jia é prejudicial à saúde”.	

Aspectos temporais	M. J. 41 Assentamento Serraria	“Quando chove as jias saem de seus esconderijos e aparecem”.	Os anuros possuem aspectos biológicos relacionados ao ambiente aquático/úmido, sua pele é permeável e seu ciclo reprodutivo, apresenta uma fase aquática podendo depositar seus ovos em corpos d’água, em vegetações aquáticas e em solo encharcados. (HEYER et al., 1994; HADDAD & PRADO, 2005; WELLS, 2007; HADDAD et al., 2013).
	A. M. 68 Canzanza	“As jias aparecem mais no inverno e que o resto do tempo ficam escondidas”.	
	J. L. Canzanza	“Aparecem perto de casa no inverno”.	
	B. 79 Porteira Preta	“Aparece mais no inverno e só sai a noite para comer”.	
	S. São Salvador	“A jia aparece mais no tempo de chuva.”	
	J. P. 64 São Salvador	“Aparecem em arrumação de chuva, canta muito mais quanto está escurecendo”.	
	D. 47 São Salvador	“Elas apareces mais em tempo de chuva”.	
	E. 55 São Salvador	“Ela sai mais no inverno e a noite”.	
	A. São Salvador	“Ela não aparece pela manhã, só à noite”.	
	J. 51 Rua da Cachoeira	“Elas chamam a chuva, quando aparecem estão avisando que vem chuva”.	
Características.	L. Rua da Cachoeira	“Às vezes aparecem, mas no inverno é mais frequente”.	Os anfíbios compreendem três ordens; Anura, Gymnophionas e Urodela. A ordem anura é caracterizada pelos anfíbios com ausência de cauda semelhantes entre si englobando os sapos, as rãs e as pererecas, (DUELLMAN E TRUEB 1994; HADDAD 2005; POUG 2008; HADDAD et al. 2013; FROST 2014).
	M. Canzanza	“A jia é um tipo de sapo”.	
	J. 47 São Salvador	“A jia é tipo um sapo”.	
	A São Salvador	“Ela é tipo um sapo”.	
	N. 43 Porteira Preta	“É tudo sapo, então não se come sapo”.	
	M. 65 São Salvador	“Tudo isso é sapo, todos são sapos”	

De acordo com os resultados a maioria dos entrevistados (96%) afirma conhecer a rã pimenta, diferenciando dos outros anuros, devido as suas características (Tabela 1). Estas foram citadas, coloração avermelhada, pintas escuras em seu corpo e tamanho (Tabela 2). Ao falar de coloração, os entrevistados reafirmam a descrição desta espécie feita por Lutz (1930).

Alguns dos entrevistados (Tabela 1) afirmaram ter medo desta espécie alegando ser um animal feio e/ou nojento, outros afirmaram que por ser parentes de sapos, não são boas, estas características negativas giram em torno destes animais há algum tempo (Tabela 2), por estarem envolvidos em atos de bruxaria, mitos e lendas, como mencionado por Ceríaco (2010) e Pazinato (2013).

Sobre a vocalização de *L. vastus*, os entrevistados afirmaram conhecer sua vocalização, chegando a imitar o som do canto (Tabela 1). Os entrevistados com resposta positiva à cerca da vocalização, dizem que ao ouvir conseguem encontra-las e que só esta espécie vocaliza da forma indicada. Os anuros possuem canto característico para cada espécie existente, vocalização serve para atrair as fêmeas, identificando os machos da mesma espécie, proteger sítios de vocalização, canto territorial (WELLS, 1977; ARAK, 1983; DUELLMAN E TRUEB 1986).

Sobre os locais que podemos encontrar o indivíduo, os entrevistados souberam indicar os locais onde habitam (Tabela 1), citando, locais de pedras, bueiros, canos, beira de rio, barreiras, lugares molhados, brejos, buracos, beira de estradas, brechas e poças d'água. O *L. vastus* é comumente encontrado em fragmentos florestais urbanos (BARBOSA E RODRIGUES, 2017), estando sujeito a se aproximar de comunidades que ofereçam alimento e se adaptando ao que o local favorece em termos de habitat.

Ao falar na época em que mais aparece, a maioria dos entrevistados dizem que estes animais são comumente encontrados no período do inverno e/ou referiam-se ao frio e chuvas (Tabela 1 e 2). Os anuros apresentam características biológicas e fisiológicas com uma forte associação a ambientes úmidos (DUELLMAN E TRUEB, 1986; POUGH *et al.*, 2008), criando agregações próximo aos corpos d'água. Além destas características, essa associação dos anuros ao meio aquático, meio que aumenta no inverno com a presença das chuvas, estes animais possuem aspectos biológicos relacionados ao ambiente aquático/úmido, como por exemplo, sua pele permeável e seu ciclo reprodutivo, já que apresenta uma fase larval aquática, outras características possuem ligação a este ambiente, seus modos reprodutivos, anuros podem depositar seus ovos em corpos d'água, em vegetações aquáticas e em solo encharcados (HEYER *et al.*, 1994; HADDAD E PRADO, 2005; WELLS,

2007; HADDAD *et al.*, 2013).

Outra característica ecológica, citada em relação ao *L. vastus*, foi à presença de ninhos de espuma (Tabela 1), os populares relataram que dentro daquela “espuma”, existem vários “pontinhos pretos ou rosas” que são os filhos da rã, outro diz que os animais fica se “debatendo” na água até formar aquela espuma, outros mais curiosos, chegaram a manusear estes ninhos e afirmaram ter a consistência de “clara de ovo batida” (Tabela 2). Em relação a este ninho, segundo Benedito (2017) é uma características específica da família dos leptodactídeos.

Os entrevistados dizem não precisar manusear o animal, e que o mesmo não entra nas suas casas; outros dizem que por demonstrarem ser escorregadios não se atrevem a tocar, apenas dois dos entrevistados (7%) dizem manusear os animais (Tabela 1). Anuros apresentam em seu tegumento glândulas mucosas, que participam das trocas gasosas, atuam como agentes contra patógenos e participam da lubrificação da pele contra desidratação auxiliando no fluxo laminar da água (HICKIMAM, 2004), esta característica de pele molhada faz com que os animais se tornam escorregadios.

Foram citados também como forma de alimento do *L. vastus*. Está espécie possui um apetite considerado voraz, se alimentando desde pequenos artrópodes, até pequenos mamíferos, sua dieta ainda incluem outros anuros, serpentes e morcegos (SILVA E ROSSA-FERES, 2007; POUGH, 2008; FERREIRA, 2009; SILVA *et al.*, 2010, HADDAD *et al.*, 2013; NETO *et al.*, 2015) e pequenos mamíferos.

Ao serem questionados sobre as diferenças entre as espécies, em relação à identificação do sexo das espécies (Tabela 1), os moradores não sabiam identificar os machos das fêmeas, eles relataram que existem dois tipos de jias, tratando-as como duas espécies distintas, a rã pimenta, a qual eles não usam como alimento por “deixarem a mão ardendo”, “a pimenta é venenosa” ou a “mais vermelhinha” segundo relatos, e a outra espécie seria a jia de peito ou jia branca como a chamam, esta é a que os moradores costumam se alimentar, eles identificam a espécie propícia par alimento através de um par de “peitos” (por isso o nome jia-de-peito), localizados em sua parte ventral (Tabela 2). Estas observações dos moradores em que separam rã-pimenta e jia-de-peito tratam-se do dimorfismo sexual, que ocorre com a espécie *L. vastu*, onde as

espécies do sexo masculino possuem uma espécie de espinho córneo em sua parte ventral, estes espinhos auxiliam na manutenção das fêmeas, através de ação mecânica, o momento de amplexo (DUELLMAN E TRUEB, 1986).

Em um estudo realizado por Fragoso *et al.* (2018), em que abordava o uso de animais na RVS Gurjaú, a jia esteve entre as dez espécies mais citadas em uso alimentício. No que se referem os dados de uso do animal, pouco (26%) dos entrevistados já se alimentaram de *L. vastus* (Tabela 1). Os que já se alimentaram, afirma que “tem gosto de galinha”, “é o mesmo que galinha” e “é mais saboroso que galinha” (Tabela 2), assim como o teju que também tem gosto de galinha, que segundo Ribeiro (2009) é um alimento muito apreciado pelo sabor, semelhante ao do frango.

Sobre a preparação da espécie até a alimentação, os entrevistados contaram que cortam o animal nas partes das juntas do animal, retiram o couro, as vísceras e a cabeça, temperam com sal e/ou limão, fritam no óleo ou cozinham com leite de coco. Alguns dos moradores entrevistados citaram detalhes sobre esse preparo que os chamam atenção, “quando coloca sal na jia ela fica toda se tremendo”, sendo este detalhe repetindo-se durante as entrevistas, outros detalhes, “o couro da jia é soltou do corpo”, “assa feito galinha”, “muito gosto ao molho de coco” (Tabela 2).

Além do uso alimentício, foram citados outros usos para o *L. vastus*, de que a banha do animal é utilizada para o tratamento de inflamação da garganta e também para abrir o apetite de crianças. Até o momento, a gordura corporal de *L. vastus* foi analisada por Cabral (2013) e seus resultados indicaram atividades antimicrobianas relevantes contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida krusei*, mas nenhum efeito antimicrobiano foi observado quando estes óleos foram combinados com antibióticos ou drogas antifúngicas. O potencial de uso farmacológico e/ou medicinal ainda é insipiente para a espécie.

4.1.4 Conclusões

Este trabalho teve como objetivo revelar o conhecimento popular das comunidades estudadas em relação às características ecológicas e uso da rã pimenta, *L. vastus*. Através das entrevistas realizadas com as comunidades; Canzanza, Assentamento Serraria, Porteira Preta,

Pau Santo, São Salvado e Rua da Cachoeira, que a maioria dos moradores conhecem a espécie e sabem suas características ecológicas, conhecem o ninho de espuma, sua coocalização, lugares, horários e época do ano em que aparece, sua alimentação. Já em relação ao uso da espécie, as comunidades consideram o uso alimentício, relatando como é o preparo e o gosto, além do uso alimentício, foi relatada a utilização de forma medicinal para cicatrização e para melhora no apetite infantil. Com estas informações foi possível revelar o conhecimento e uso *L. vastus*. Comparando com a literatura, a falta de conhecimento sobre esta espécie pode afetar em sua existência e que a ingestão deste animal pode causar envenenamento prejudicando a saúde das populações humanas. Trabalhos de conscientização sobre o uso alimentício desta espécie e desmitificação destes animais, são necessários para evitar danos aos populares e preservação da espécie. O uso alimentar somente dos machos, chamados jia-de-peito e o não o uso das fêmeas (rã-pimenta) é uma estratégia de conservação sustentável feita pelas populações locais da RVS Gurjaú.

4.2 ARTIGO 2: ASPECTOS HISTOLÓGICOS E CARACTERÍSTICAS
ESTRUTURAIS DO TEGUMENTO DE *LEPTODACTYLUS VASTUS* LUTZ,
1930 (ANURA; LEPTODACTYLIDAE)*¹

Tulíbia Laurindo Silva ^{a,b}, Gilberto Gonçalves Rodrigues ^{a,b}

^a Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Centro de Biociências, 50670-901, Recife,
Pernambuco, Brasil.

^b Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brasil.

* Artigo a ser submetido à revista Micron

RESUMO

As observações histológicas são importantes para identificar os aspectos morfológicos e histofisiológicos das células, tecidos e órgãos. O objetivo principal deste estudo foi observar os aspectos histológicos das regiões dorsais e laterais (direita, esquerda, superior e inferior) e a região ventral (superior e inferior) do tegumento de *Leptodactylus vastus*. Neste estudo, foram utilizando seis indivíduos machos e seus fragmentos foram coletados e processados histologicamente. As observações foram feitas através de fotomicrografias enfatizando os constituintes do tegumento das diferentes regiões de *L. vastus*. As observações histológicas do tegumento dorsal e lateral não apresentaram diferenças entre si, já a região ventral mostrou diminuição na quantidade de melanócitos e ausência de glândulas granulares. Foi possível identificar que a estrutura básica do seu tegumento é composta de epiderme com camadas de células que variam entre três a sete fileiras e uma camada queratinizada. A região da derme é dividida em estrato compacto e estrato esponjoso; este último estrato é onde encontramos os melanócitos, as glândulas mucosas, glândulas granulosas. Estas últimas apresentam ducto secretor que leva a secreção produzida para o meio externo. Externamente, o tegumento dorsal de *L. vastus*, é uma estrutura irregular composta de várias protuberâncias distribuídas ao longo do corpo, com coloração crípta variando em tons marrons avermelhados em sua região dorsal e lateral; a região ventral apresenta coloração branca hyalino, justificando a diminuição de melanócitos nesta região. Estudos adicionais descrevendo a composição da secreção, produzida nas glândulas granulosa de *L. vastus*, são necessários para elucidar sua importância biológica, funcionamento do processo de defesa, uso farmacológico e medicinal do veneno produzido por esta espécie.

Palavras-chave: anuros, anatomia, histologia, fisiologia, sapo.

4.2.1 Introdução

Os anuros por possuírem pele permeável e serem animais ectodérmicos, tornam-se animais mais susceptíveis a alterações ambientais (HADDAD E ABE, 2000; SOUZA *et al.*, 2015), o que os tornam vulneráveis ao meio ambiente e predadores (MENDES *et al.*, 2016). Os anfíbios são considerados como animais bioindicadores devido a sua sensibilidade em relação às alterações ambientais (POUGH *et al.*, 2008). O tegumento dos anfíbios anuros apresentam especificações de acordo com o modo de vida de cada espécie (TOLEDO E JARED, 1995) e desempenham diferentes funções como defesa química, percepção sensorial, controle hídrico, respiração e proteção mecânica (DUELLMAN E TRUEB, 1994; DELFINO *et al.*, 1999; AZEVEDO *et al.*, 2007).

Este tegumento no geral é constituído de derme, epiderme e diversas glândulas distribuídas ao longo do corpo, ou ainda, acumulam-se em determinadas regiões propositalmente estratégicas, posicionadas contra a ação de predadores (DALY, 1995; WANG *et al.*, 2009). As glândulas ao liberarem sua secreção, atuam no papel de defesa contra predadores, auxiliam nas trocas gasosas, contra a desidratação e no processo de lubrificação da pele; elas podem ser classificadas como glândulas mucosas, as que secretam muco (mucinas), e as glândulas granulosas, que secretam substâncias nocivas ou tóxicas (TOLEDO E JARED, 1995; VITT E CALDWELL 2014). Até o momento, a presença de glândulas tóxicas no tegumento dos anuros está associada exclusivamente a defesa (TOLEDO E HADDAD, 2009), como por exemplo, microorganismos patogênicos, parasitas, predação.

O anfíbio anuro, *Leptodactylus vastus* Lutz, 1930, conhecida popularmente como rã-pimenta ou jia de peito, pertence à família dos Leptodactilídeos possui hábitos noturnos e alimentação bem diversificada (DUELLMAN E TRUEB, 1994). *L. vastus* possui comprimento de até 25 cm e pesar mais de 1 Kg, o que o torna a maior espécie de anuro brasileiro (LAURINDO-SILVA E RODRIGUES, 2018). Esta espécie é endêmica do Brasil, encontrada no nordeste do país (LIMAVERDE *et al.*, 2009) e é considerada uma família exclusiva das Américas (FROST *et al.*, 2018), pode ser encontrado em diferentes biomas como caatinga, cerrado, mata atlântica

(FREITAS E SILVA 2007; SEGALLA *et al.* 2018) além de fragmentos urbanos (BARBOSA E RODRIGUES, 2017).

Por senso-comum, este animal é conhecido pelas populações como iscas em pescarias e como alimento para o homem (LAURINDO-SILVA E RODRIGUES, 2018). O veneno possui bioativos, que ao entrar contato com outros vertebrados, pela mucosa ou de forma intravenosa, pode causar efeitos tóxicos como danos gastrointestinais e alterações na pressão arterial (TOLEDO E JARED, 1995; LENZI-MATTOS *et al.*, 2005; MAILHO-FONTANA *et al.*, 2014).

No presente estudo analisaram-se os aspectos histológicos e a estrutura do tegumento de *L. vastus*. Tendo em vista a escassez de trabalhos específicos sobre sua histologia buscou-se caracterizar a estrutura histológica de seu tegumento de forma macroscópica e microscópica, com ênfase em suas glândulas para compreendermos o funcionamento de seu mecanismo de defesa.

4.2.2 Material e métodos

4.2.2.1 Área de estudo

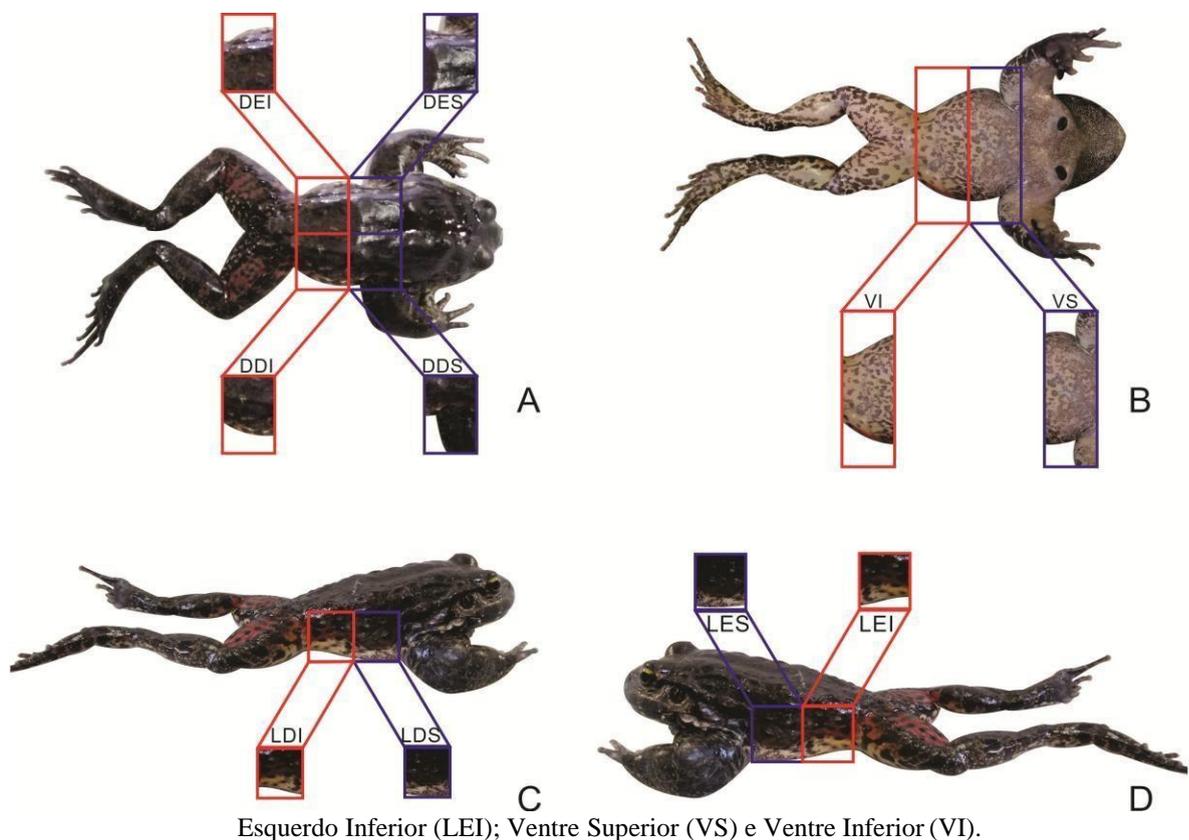
Seis machos adultos de *L. vastus* (Fig. 2) foram coletados no Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú (08°14'20" de latitude sul e 35°59'00"W), esta Unidade de Conservação (UC) é protegida pelo CPRH. É formada por uma floresta ombrófila densa, com vegetação do tipo perenifólia, coberta por densas de terras baixas e está localizada sobre a formação Barreiras (TABARELLI *et al.*, 2005).

4.2.2.2 Métodos

Os animais foram coletados através de busca ativa noturna, os indivíduos do sexo masculino foram identificados por dimorfismo sexual presente na espécie. O tamanho dos indivíduos variou entre 9cm a 34cm, usando a medição com comprimento total do corpo, o peso variou entre 50g a 400g. Depois da triagem, foram acomodados e transportados para Laboratório da Avaliação, Recuperação e Restauração de Ecossistemas Aquáticos – ARRE - Água da UFPE, onde permaneceram em cativeiro contendo seu ambiente natural, a fim de reduzir o estresse. A captura, transporte e experimentos

utilizando os animais foi concedida através das licenças, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade ICMBio/SISBIO, nº 58495-1 (Anexos 1), da Agência Estadual de Meio Ambiente, CPRH, nº 006437/2017 (Anexos 2) e da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPE, CEUA, nº23076.013219/2018-28 (Anexos 3).

Figura 1 - Áreas de retirada dos fragmentos do tegumento de *L. vastus* para as preparações histológicas; Dorso Direito Superior (DDS); Dorso Esquerdo Superior (DES); Dorso Direito Inferior (DDI); Dorso Esquerdo Inferior (DEI); Dorsolateral Direito Superior (LDS); Dorsolateral Esquerdo Superior (LES); Dorsolateral Direito Inferior (LDI); Dorsolateral



Fonte: Autores

Após o período de aclimatização, deu-se início ao procedimento anestésico, para a retirada dos fragmentos do tegumento (Fig. 1). Foram anestesiados com lidocaína 2% e posteriormente coletados fragmentos. A espessura do corte transversal dos fragmentos variaram de 0,4 mm a 3,9 mm. O tegumento foi dividido em dorso, lateral e ventre, cada um deles separados em diferentes partes: Dorso Direito Superior (DDS); Dorso Esquerdo Superior (DES); Dorso Direito Inferior (DDI); Dorso Esquerdo Inferior (DEI);

Dorsolateral Direito Superior (LDS); Dorsolateral Esquerdo Superior (LES); Dorsolateral Direito Inferior (LDI); Dorsolateral Esquerdo Inferior (LEI); Ventre Superior (VS) e Ventre Inferior (VI) (Fig. 1), sendo fixadas em solução aquosa de formaldeído tamponada a 10% com pH 7,0 permanecendo nesta solução por 24 horas. Em seguida o material foi processado e corado através da técnica de Hematoxilina e Eosina (HE). Foram obtidas 60 preparações, 10 para cada indivíduo, uma preparação para cada região selecionada, gerando o total de 360 fotomicrografias analisadas. Para análise morfológica os materiais foram observados em microscópio Primo Star (Zeiss) acoplado a uma câmera digital AxioCam ERc5s e analisados através do programa AxioVision. Os espécimes foram fixados em álcool 70% para posterior depósito na coleção Herpetológica da UFRPE.

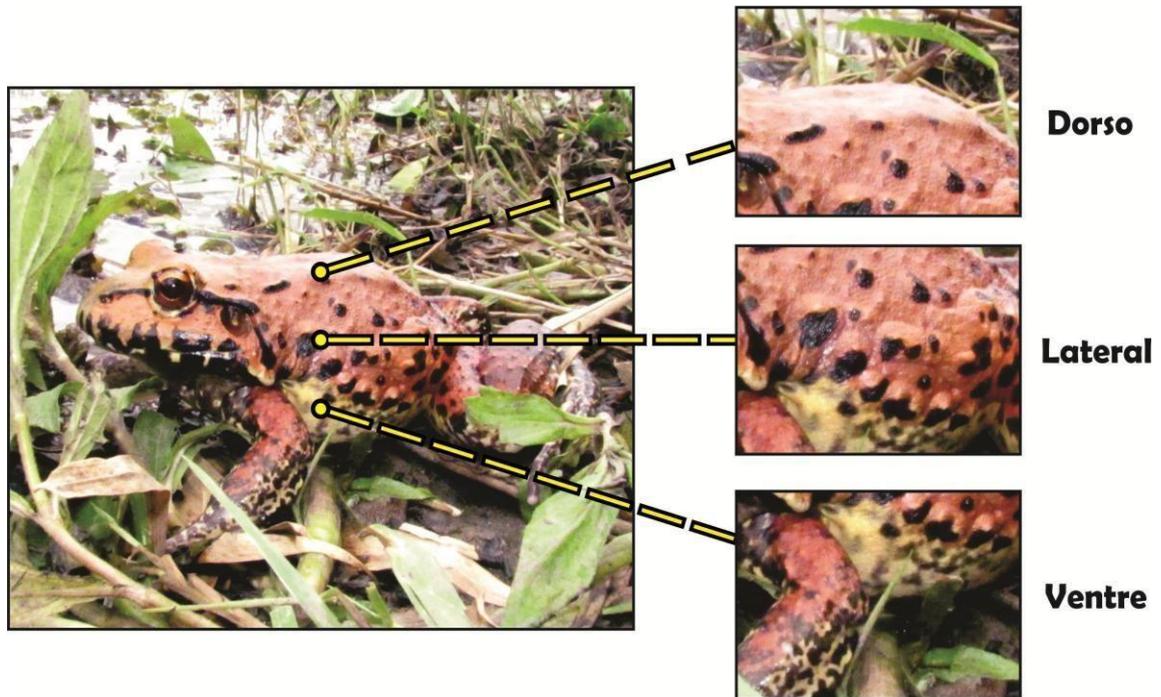
4.2.3 Resultados

*4.2.3.1 Macroscopia do tegumento de *L. vastus**

Observou-se macroscopicamente que *L. vastus* possui pele de coloração avermelhada na região pélvica entre as coxas e parte dorsolateral do corpo (Fig 1 – A,C,D). A pigmentação de uma forma geral é diferenciada entre a região ventral e dorsal, sendo a região ventral branca hyalino (Fig. 1 – B). O dorso possui coloração escura na medição rostro-cloacal (Fig. 1 – A), que vai clareando dorsoventralmente (Fig. 1 – C e D). Pode-se observar que o tegumento dorsal de *L. vastus* é uma estrutura irregular constituída por várias protuberâncias dispersas ao longo do seu corpo (Fig. 2), apresentando derme bem vascularizada.

Figura 2 - *Leptodactylus vastus*, em seu ambiente natural no Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú

- RVS Gurjaú. Observações macroscópicas das regiões Dorsal, Lateral e Ventral do animal, destacando a coloração e distribuição das protuberâncias de seu tegumento.



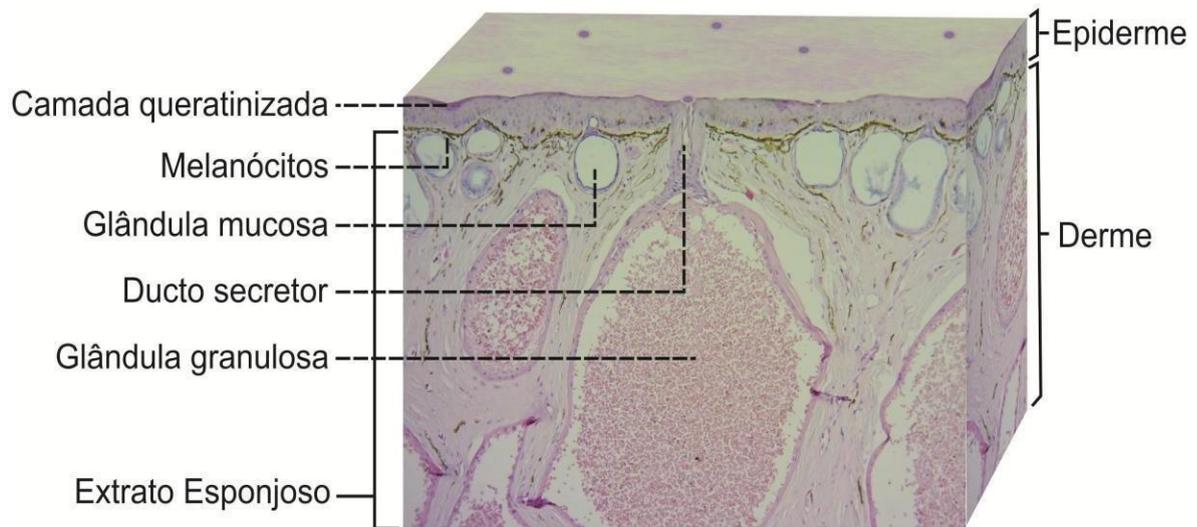
Fonte: Autores

4.2.3.2 Estrutura tegumentar

Observações histológicas são importantes ferramentas para identificar aspectos morfológicos, histofisiológico das células, tecidos e órgãos. No total, foram analisadas 360 fotomicrografias referentes às áreas da região dorsal (n 144), lateral (n 144) e ventral (n 72) de seis indivíduos machos de *L. vastus*. Através das análises microscópicas, observou-se que o tegumento de *L. vastus* é composto por epiderme (E) e derme (D). A epiderme é constituída por camadas de células que variam entre três a sete, e uma camada queratinizada (Q) em sua superfície externa (Fig. 3). A derme é composta por tecido conjuntivo frouxo, sendo ela dividida em dois diferentes estratos, o estrato esponjoso (SS) e o estrato compacto (SC), no estrato esponjoso encontram-se os melanócitos (M), glândulas granulosas (GG) e glândulas mucosas (G). Nestas glândulas foi observada a presença de ductos secretores (DS), que atravessam a região da epiderme até o meio externo.

Figura. 3 - Fotomicrografia e estrutura do tegumento de *L. vastus*. Imagem editada (PEREIRA – SILVA, 2019)

(E) Epiderme, (D) Derme, (M) Melanócitos, (G) Glândula mucosa, (SS) Estrato Esponjoso, (DS) Ducto Secretor, (RI) Região Intercalar, (GG) Glândula Granulosa.



Fonte: Autores. Adaptação de fotomicrografia por Pereira-Silva 2019.

4.2.3.3 Microscopia do tegumento de *L. vastus*

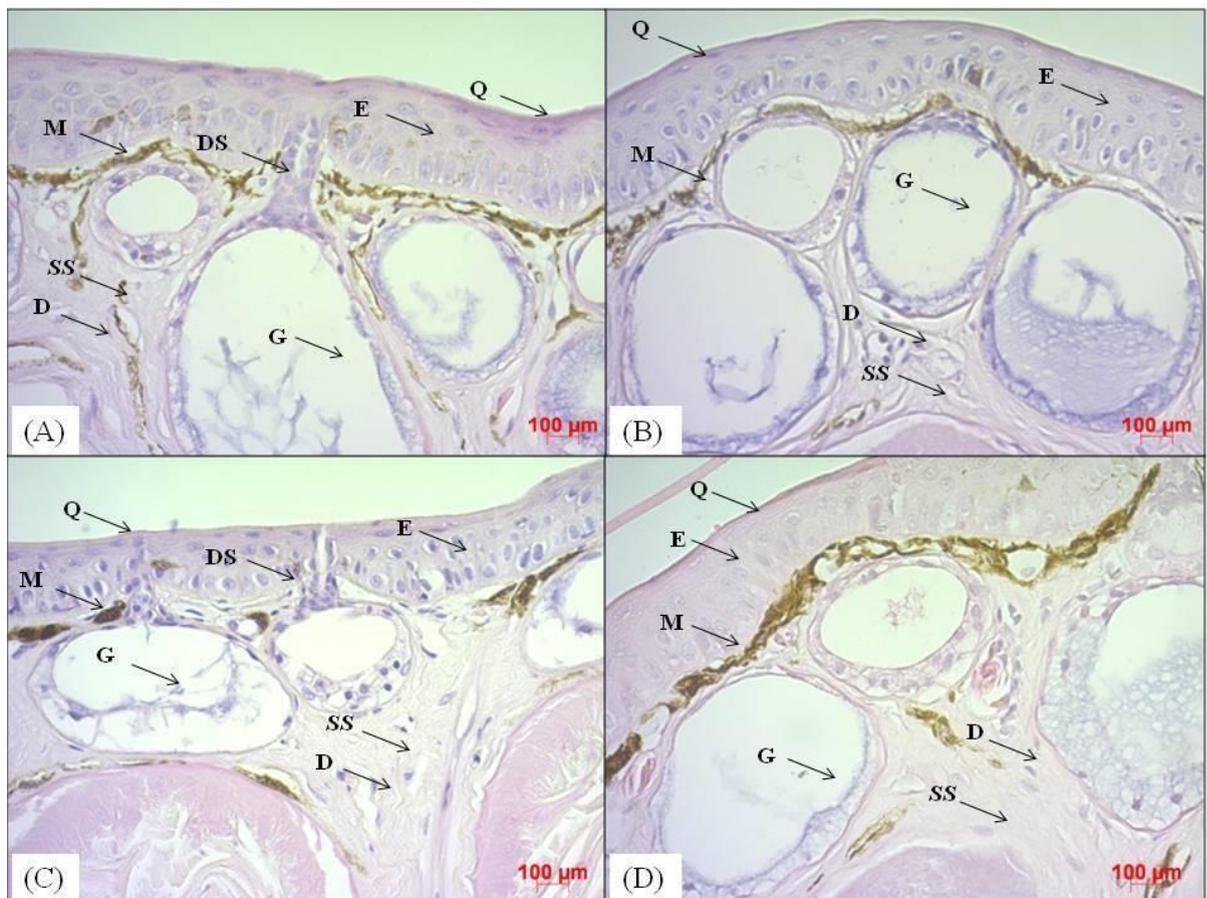
Nos diferentes fragmentos de tegumento analisados nas preparações histológicas, as estruturas encontradas na região dorsal (Fig. 4) foram epiderme, com camadas de células que variam entre três e sete camadas e uma camada queratinizada, a derme da região dorsal apresenta melanócitos (M) logo abaixo da epiderme, glândulas granulares, glândulas mucosas, ductos secretores, estrato esponjoso e estrato compacto.

Na região lateral (Fig. 5), o tegumento apresenta epiderme constituída de três a sete camadas de células e uma camada queratinizada em sua superfície, a derme esta dividida em estrato esponjoso (SS) e estrato compacto (SC), presença de melanócitos, glândulas granulosas, glândulas mucosas e ductos secretores.

Na região ventral (Fig. 6) encontramos uma camada queratinizada na região externa da epiderme com a parte interna composta por camadas de células que variam entre três a sete camadas. Na derme (Fig. 6) observou-se apenas a presença de glândulas mucosas, ductos secretores com a quantidade

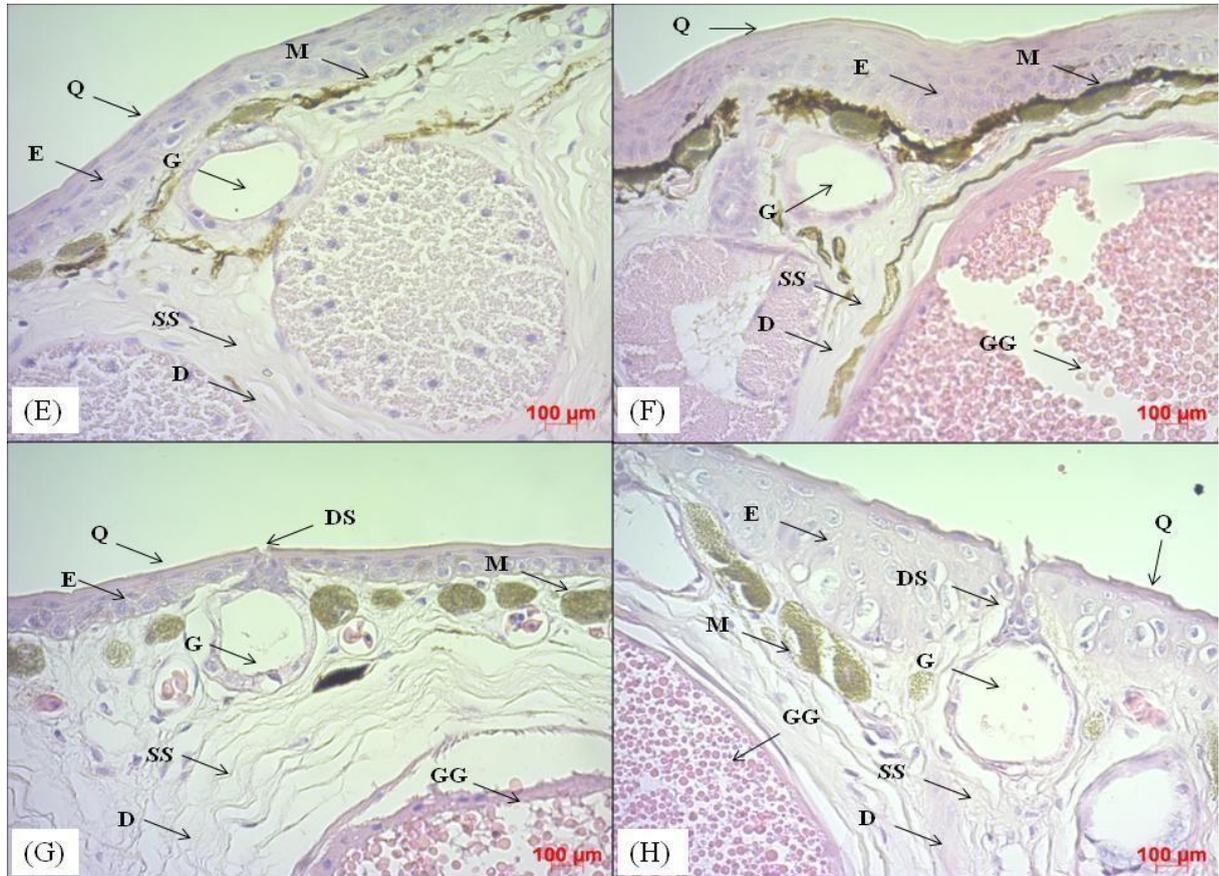
de melanócitos reduzida.

Figura 4 - Fotomicrografia do tegumento dorsal de *L. vastus* (Indivíduo 4). (A) Dorso Esquerdo Superior – DES, (B) Dorso Direito Superior – DDS, (C) Dorso Esquerdo Inferior – DEI, (D) Dorso Direito Inferior – DDI. (E) Epiderme, (DS) Ducto Secretor, (Q) Queranócitos, (M) Melanócitos, (G) Glândula mucosa, (GG) Glândula Granulosa, (D) Derme, (SS) Estrato Esponjoso. Corado em HE.



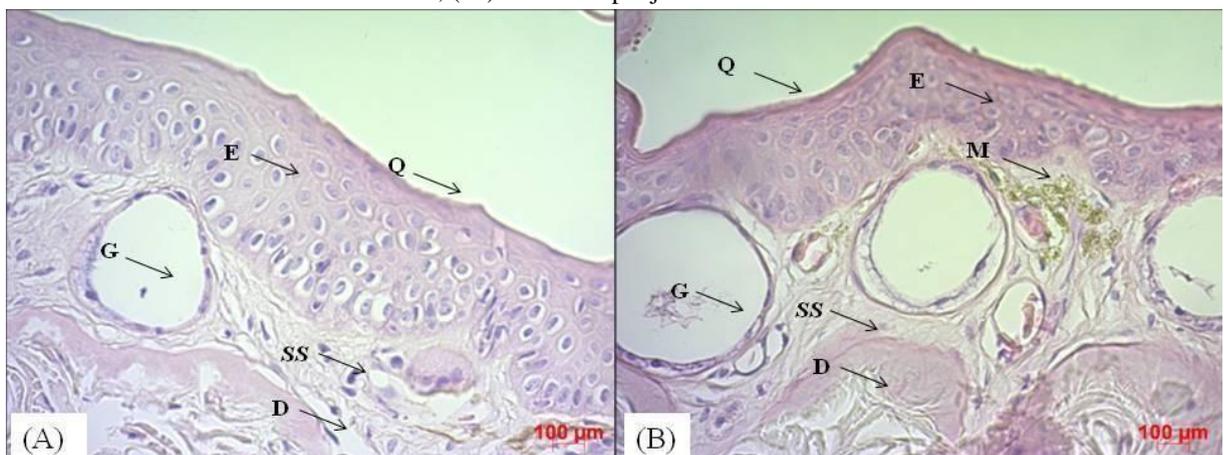
Fonte: Autores

Figura 5 - Fotomicrografia do tegumento lateral de *L. vastus* (Indivíduo 4). (A) Lado Esquerdo Superior – LES, (B) Lado Direito Superior – LDS, (C) Lado Esquerdo Inferior – LEI, (D) Lado Direito Inferior – LDI. (E) Epiderme, (DS) Ducto Secretor, (Q) Queranócitos, (M) Melanócitos, (G) Glândula mucosa, (GG) Glândula Granulosa, (D) Derme, (SS) Estrato Esponjoso. Corado em HE.



Fonte: Autores

Figura 6. Fotomicrografia do tegumento ventral de *L. vastus* (Indivíduo 4). (A) Ventre Superior – VS, (B) Ventre Inferior – VI. (E) Epiderme, (DS) Ducto Secretor, (Q) Queranócitos, (M) Melanócitos, (G) Glândula mucosa, (GG) Glândula Granulosa, (D) Derme, (SS) Estrato Esponjoso. Corado em HE.



Fonte: Autores

4.2.4 Discussão

Externamente o tegumento de *L. vastus* possui coloração críptica, em que o padrão de coloração imita a coloração do substrato em que habitam. De uma forma geral, possui coloração nos tons marrom e avermelhado na região pélvica, área interna das patas traseiras e ao longo da lateral corporal apresenta um tom avermelhado mais presente, assim como observado por Lutz (1926). Segundo populares, esta coloração refere-se ao nome dado ao animal “jia pimenta”.

A distribuição das protuberâncias ao longo da parte externa do corpo do animal não segue uma ordem, sendo distribuídas por toda parte dorsal e lateral do animal, em seu estudo Toledo e Jared (1995) relata que a distribuição das glândulas dos anuros esta relacionada ao seu hábito, com sua proteção e estratégia de defesa passiva, em geral, os leptodactídeos possuem hábitos aquáticos e suas glândulas estão distribuídas ao longo de seu corpo de forma aleatória, esta distribuição esta associada ao seu modo de agir, por apresentarem modo de vida aquático, a distribuição das glândulas previne ataques predatórios que possam surgir em diferentes direções. Em leptodactídeos, a distribuição e organização das glândulas estão concentradas nas áreas lombares e inguinais de seu corpo (LENZI-MATTOS *et al.*, 2005). Em relação à textura da pele dos indivíduos, apresenta protuberâncias distribuídas ao longo de todo corpo, esta distribuição e os tamanhos dessas protuberâncias e glândulas, classifica o *L. vastus* com a textura de tegumento do tipo tuberculata.

Estruturalmente, o tegumento de *L. vastus* é composto por epiderme e derme, sendo a epiderme composta por algumas fileiras de células que formam uma camada queratinizada (FELSEMBURGH E GITIRANA, 2008) através do processo de divisão mitótica e autodestruição em que há liberação de diferentes produtos proteicos desenvolvendo um processo denominado queratinização.

Nas observações microscópicas, observou-se que o tegumento de *L. vastus* apresenta entre três e sete camadas celulares na região da epiderme. Esse numero de camadas celulares são encontrados em outras espécies da família dos Dendrobatidae (MORENO-GOMEZ *et al.*, 2014), Bufonidae (JARED *et*

al., 2009) e Leptodactylidae (LENZI-MATTOS *et al.*, 2005).

A epiderme que cobre o corpo forma uma camada queratinizada (Fig. 3) encontrada ao longo da parte mais externa do tegumento dos indivíduos e apresenta a função de proteção externa contra atritos, já que esta espécie é encontrada em bueiros, locas de pedras e lugares de difícil locomoção, além de atuar contra a desidratação do animal e auxiliar na respiração cutânea sem prejudicar a troca de gases.

A derme é dividida em dois estratos diferentes, o estrato esponjoso e estrato compacto. No estrato esponjoso, que fica localizado logo abaixo da epiderme, é possível observar a presença de cromatóforos, que são células pigmentares, glândulas mucosas, glândulas granulosas, vasos sanguíneos e nervos.

No estrato compacto, localizado na região mais interna do tegumento de *L. vastus*, detectamos uma maior presença de tecido conjuntivo denso, este estrato é comum na maioria dos anuros estudados, fazendo parte das características gerais do tegumento de anuros (TOLEDO E JAREDE 1993; TOLEDO E JAREDE 1995; LENZI-MATTOS *et al.*, 2005; FELSEMBURGH E GITIRANA, 2008; JARED *et al.*, 2009; MORENO-GOMEZ *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2015).

As células denominadas melanócitos são estruturas pigmentares reguladas por fatores endócrinos e ambientais, em que a coloração do indivíduo auxilia em sua ecologia e hábitat, sendo o animal possuidor de hábitos noturnos, a pigmentação auxilia no processo de camuflagem, que é essencial para execução de suas necessidades e proteção contra predadores. Além da função ecológica, os melanócitos estão relacionados à proteção do tegumento do animal contra raios UV (DUELLMAN E TRUEB, 1994), já que possuem hábitos aquáticos, a proteção contra exposição dos raios solares é essencial para sua sobrevivência.

Trabalhos envolvendo histologia do tegumento de anuros indicaram a presença de estruturas pigmentares em sua composição, os melanócitos, pesquisas demonstraram que os melanócitos foram encontrados nas mesmas regiões observadas para *L. vastus*, pesquisas como a de Toledo e Jared (1993) relatam que as células pigmentares dos anuros, de modo geral, estão localizadas na região da derme, este resultado serve como pesquisa base para o

desenvolvimento de outros trabalhos na área como o de Moreno-Gomez (2014) que encontrou cromatóforos na região da derme esponjosa da espécie *Phyllobates bicolor*, Bibron, 1840 e as espécies *Leptodactylus fuscus*, Schneider, 1799, *Leptodactylus gracilis*, Lynch, 1986 e *Leptodactylus elenae*, Heyer, 1978, também apresentaram melanócitos localizados na região dorsal (GARCIA *et al.*, 2011).

As glândulas mucosas são formadas por uma camada simples de células secretoras, denominadas acinares, responsáveis por secretar uma substância escorregadia que atua na proteção contra infecções bacterianas, protegendo a pele contra o ressecamento externo e auxiliando no fluxo laminar da água. Este muco possui uma variedade de mucinas e um alto teor de carboidratos entre outros componentes (TOLEDO E JARED, 1995). Em *L. vastus* as glândulas mucosas foram encontradas em maior quantidade e de menor tamanho quando comparadas as glândulas granulosas, de acordo com Jared (1995), as glândulas que secretam muco, tendem a serem menores que a granulosas e são formadas por um aglomerado de células em que o seu produto é secretado por um ducto comum. A caracterização das glândulas encontradas em *L. vastus* também foi encontrada em outros estudos com anuros, como relatado em Sousa (2015), Moreno-Gomez (2014), Garcia (2011) e em Jared (2009) com as mesmas características.

As glândulas granulosas são maiores e encontradas em menor quantidade ao longo do corpo do animal, estas glândulas possuem uma camada secretora em que seu produto, veneno, desempenha a função que esta associada à estratégia de defesa, estudos relacionados com composição do veneno de anuros vem aumentando ao longo do tempo, como o realizado por Mendes (2016) com a espécie *Corythomantis greeningi* Boulenger, 1896, com peptídeos encontrados em sua secreção. Cavalcante (2016) demonstra a composição bioquímica e principais constituintes da secreção cutânea de *Dermatonotus muelleri* Boettger, 1885. Mailho-Fontana (2018) realizando um estudo com algumas espécies do grupo *Rhinella marina* Linnaeus, 1758, abordou temas relacionados com os componentes da secreção. Em *L. vastus* sua secreção ainda não foi estudada, existe pesquisas que investigam novos surfactantes no ninho de espuma dessa espécie (HISSA, *et al.*, 2008), sabe-se que em leptodactídeos, sua secreção apresenta uma substância peptídica

chamada endecapítideo, que possui ação hipotensora considerável para predadores, como em cães e coelhos (TOLEDO E JAREDE 1995).

A morfologia das glândulas granulosas, de uma forma geral nos anuros, é composta por uma massa citoplasmática multinucleada, caracterizando sua natureza sincicial². A secreção é acumulada no interior das glândulas, não apresentando lúmen e sendo liberada através de um ducto epidérmico da glândula (DELFINO, 1991).

Esta secreção contida no interior das glândulas, quando liberadas, exerce um efeito tóxico quando em contato com mucosas ou corrente sanguíneas em algumas espécies de animais. Além do veneno contido nas glândulas, algumas espécies de anfíbios apresentam pequenas concentrações de veneno em seu sangue e em órgãos internos (TOLEDO E JARED, 2009; LENZI-MATTOS *et al.*, 2005). Estas informações reforçam a importância de estudos histológicos e atividades biológicas em espécies de anuros.

As glândulas cutâneas dos anuros são multicelulares e divididas em três partes distintas: o ducto, chamado por Moreno-Gomez (2014) por ducto intra-epidérmico, é formada por queranócitos e permite que a secreção produzida no interior da glândula atravesse a região da epiderme, até a parte externa do corpo do animal. A região intercalada atua como área de transição entre o ducto e a glândula alveolar, fica localizada entre a epiderme e a derme. Na glândula alveolar encontra-se o epitélio secretor e a secreção produzida fica armazenada em seu lúmen (Fig. 3).

De acordo com os resultados, analisando as diferentes áreas observadas do tegumento de *L. vastus*, não houve diferença entre as regiões do dorso e da lateral do animal, as estruturas encontradas foram compatíveis entre as de igual localização, sendo as regiões do dorso (DDS, DES, DDI e DEI) e a região dorsolateral (LDS, LES, LDI, LEI) semelhante entre si. Já a região ventral (superior – VS e inferior – VI), apresentou diferenças quando comparada a região dorsal e região ventral e entre a região dorsolateral e região ventral, na ventral houve diminuição na presença ou ausência de melanócitos, uma menor quantidade de glândulas mucosas e ausência de glândulas granulosas.

No trabalho de Lenzi–Mattos (2005) também foi constatado o mesmo resultado em outra espécie do grupo Leptodactylidae, em que na região ventral da espécie, não foi encontrado melanócitos, justificando a cor branca em seu

ventre. Garcia (2011) estudando *Leptodactylus latinasus* Jiménez de la Espada, 1875, observou que o tegumento ventral também não apresentou melanócitos. Em 2005, Lenzi-Mattos afirmou que na espécie de Leptodactilídeo *Physalaemus nattereri* Steindachner, 1863, a quantidade de cromatóforos encontrados na região dorsal do animal é maior do que os encontrados na região ventral. Garcia (2011) relatou a presença de melanócitos no tegumento dorsal de *Leptodactylus fuscus* Schneider, 1799, estas características para outras espécies de leptodactilídeos corrobora com a descrição observada em *L. vastus* neste estudo o que enfatiza característica específica para o tegumento do grupo Leptodactylidae sugerindo uma descrição específica para família.

4.2.5 Conclusões

Através das observações histológicas da estrutura tegumentar do *L. vastus* constata-se que seu tegumento é formado por epiderme, que apresenta uma camada queratinizada e camadas de células, que variam de três a sete. Na derme encontramos dois diferentes estratos, o esponjoso com a presença de melanócitos, glândulas mucosas, glândulas granulosas, que apresentam ductos que conduzem as secreções produzidas por estas (muco e veneno, respectivamente).

Ao comparar a região dorsal e ventral houve semelhança entre si quanto suas estruturas. Verificaram-se semelhanças entre a região dorsal e lateral quanto a todos os constituintes do tegumento. A região ventral apresentou ausência de glândulas granulares e diminuição/ausência de melanócitos, o que demonstra que estes melanócitos atuam na coloração externa com tons marrom avermelhado na região do seu dorso e lateral, enquanto a região ventral apresenta coloração branca hyalino. As protuberâncias observadas na região dorsal e lateral no tegumento de *L. vastus* são associadas à presença de aglomerados de glândulas mucosas, que atua na lubrificação da pele, evitando a dissecação, perda d'água e auxiliando nas trocas gasosas e na defesa contra raios UVs e defesa de patógenos.

5 CONCLUSÃO

O uso da espécie *Leptodactylus vastus* para alimentação é comum entre as comunidades que cercam a RVS Gurjaú destacando a importância de conscientizar as comunidades a cerca de um possível envenenamento, mesmo que na preparação do alimento seja retirada a pele e cozido em altas temperaturas, sabe-se que o veneno desta espécie pode ser encontrado em seus órgãos internos e em sua corrente sanguínea. Constatou-se que a maioria dos moradores sabe identificar a espécie de *L. vastus* e suas características ecológicas, auxiliando na prevenção de possíveis envenenamentos ao ingeri-los ou até mesmo ao manejarem o animal.

As observações histológicas do tegumento de *Leptodactylus vastus* demonstraram estruturas características do demais anuros que após análise das diferentes regiões estudadas. Observamos que a região dorsolateral é semelhante entre si, diferenciando-se da região ventral. Verificamos que os melanócitos foram reduzidos ou ausentes, justificando a coloração esbranquiçada desta região. Observou-se que nesta região não foi encontrada glândulas granulosas, responsáveis pela produção do veneno. As glândulas mucosas não foram tão frequentes como na região dorsolateral. Ao observar macroscopicamente, o tegumento de *L. vastus*, apresenta coloração marrom avermelhada em sua região dorsal e lateral, consideramos sua coloração como crípticas, que auxilia em sua estratégia de defesa, agindo como camuflagem.

Estudos adicionais são necessários para esclarecer o potencial tóxico do veneno produzido pela rã-pimenta, assim como atividades biológicas para o entendimento de sua estratégia de defesa prevenindo possíveis acidentes nas populações e verificar sua potencialidade como uso médico e farmacológico.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE. (CPRH). **Diagnóstico sócio-ambiental do RVS Matas do Sistema Gurjaú.** Disponível em: <http://www.cprh.pe.gov.br/unidades_conservacao/Protecao_Integral/Resec_Gurjau/Estudos/40036%3B55041%3B22370102%3B0%3B0.asp>. Acesso: março de 2018.
- ALBUQUERQUE, U. P., LUCENA, R. F. P., MONTEIRO J., FLORENTINO, A. T. N., ALMEIDA, C. F. C. B. R. Evaluating two quantitative ethnobotanical techniques. **Ethnobotany Research E Applications**, 4:51-60, 2006.
- ALVES, R. R. N. E ROSA, I. L. Zootherapy goes to town: The use of animal-based remedies in urban áreas of NE and N Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 113: 541-555, 2007.
- ALVES, R.R.N., LÉO NETO, N.A., SANTANA, G.G., VIEIRA, W.L.S. E ALMEIDA, W.O. Reptiles used for medicinal and magic religious purposes in Brazil. **Appl. Herpet.** 6:257-274, 2009.
- ALVES, R. R. N., MENDONÇA, L. E. T., CONFESSOR, M. V. A., VIEIRA, W. L. S., VIEIRA, K. S., ALVES, F. N. Caça no semi-árido paraibano: Uma Abordagem etnozoológica. In ALVES, R. R. N., SOUTO, W. M. S., MOURÃO, J. S. A **Etnozologia no Brasil: importância, status atual e perspectivas.** Recife: UPEEA, 2010.
- ALVES, R. R. N. E ALBUQUERQUE, U. P. **Ethnozoology: Animals in Our Lives.** 1: 1, 2017.
- ARAK, A. Male-male competition and mate choice in anuran amphibians. **Mate choice**, Cambridge University Press, 181-210, 1983.
- AZEVEDO, A.A., SANTANA, A.S.J., BRITO-GIRITANA, L. Dermal collagen organization in *Bufo ictericus* and in *Rana catesbeiana* integument (Anuran, Amphibian) under the evaluation of laser confocal microscopy. **Micron**, 37: 223-228, 2007.

BARBOSA, A.R., NISHIDA, A.K., COSTA, E.S. E CAZÉ, A.L.R. Abordagem etnoherpetológica de São José da Mata – Paraíba – Brasil. **Rev. Biol. Ciênc. Terra** 7(2):117- 123, 2007.

BARBOSA, G. G.; ROGRIGUES, G. G. Anuros em áreas com diferentes graus de ações antrópicas no refúgio de vida silvestre matas do sistema Gurjaú, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, 10: (3) 767-783, 2017.

BEGOSSI, Alpina. Ecologia humana: um enfoque das relações homem-ambiente. **Interciência**, 18 (3): 121-132, 1993.

BENEDITO, E. Biologia e Ecologia dos Vertebrados / Evanilde Benedito (organizadora). - 1. Ed, Rio de Janeiro: **Roca**, 259, 2017.

BERNARD, H. R. *ET AL.* Research methods in cultural anthropology. **Newbury Park**, CA: Sage, 1988.

BRA Z, V. S.; CAVALCANTI , R. B. A representatividade de áreas protegidas do Distrito federal na conservação da avifauna do Cerrado. **Ararajuba**, Londrina, v.9, p.61-69, 2001.

CABRAL, M. E. S., DIAS, D. Q., SALES, D. L., OLIVEIRA, O. P., DIEGO ALVES TELES, D. A., ARAUJO FILHO, J. A., SOUSA, J. G. G., COUTINHO, H. D. M., COSTA, J. G. M., KERNTOPF, M. R., ALVES, R. R. N. E ALMEIDA, W. O. Evaluations of the Antimicrobial Activities and Chemical Compositions of Body Fat from the Amphibians *Leptodactylus macrosternum* Miranda-Ribeiro (1926) and *Leptodactylus vastus* Adolf Lutz (1930) in Northeastern Brazil. **Hindawi Publishing Corporation**, Article ID 913671, 2013: 7, 2013.

CAVALCANTE, I. D., ANTONIAZZI, M.M., JARED, C., PIRES JR., O. R., SCIANI, J.M. PIMENTA, D.C. Venomics analyses of the skin secretion of *Dermatonotus muelleri*: Preliminary proteomic and metabolomic profiling. **Toxicon**, 130: 127 – 135, 2017.

CERÍACO, L.M.P. Human attitudes towards herpetofauna how preferences, fear and beliefs can influence the conservation of reptiles and amphibian. **Tese de Mestrado**. Universidade de Évora, Évora, 164, 2010.

CLEMENT, D. The historical foundations of ethnobiology (1860-1899)' Canadian Ethnology Service Canadian Museum of Civilization Hull, Quebec Canada 18X 4H2
Journal of Ethnobiology 18(2):161-187 Winter 1998.

COSTA-NETO, E. M. Traditional use and sale of animals as medicines in Feira de Santana City, Bahia, Brazil. **Indigenous Knowledge and Development Monitor**, 7: (2) 6-9, 1999.

CUNHA, E. R.; DELARIVA, R. L. Introdução da rã-touro, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802): uma revisão. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 4, n. 2, p.34-46, jul./dez. 2009.

DALY, J. W. The chemistry of poisons in amphibian skin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, p. 9-13, jan. 1995.

DANIEL OLIVEIRA SANTANA, D. O., ROCHA, S. M., SILVA, I. R. S. AND FARIA, R. G. Predation of *Leptodactylus latrans* (Anura, Leptodactylidae) and *Hypsiboas albomarginatus* (Anura, Hylidae) by *Leptodactylus vastus* (Anura, Leptodactylidae) in north-eastern Brazil. **Herpetology Notes**, 5: 449-450, 2012.

DE-CARVALHO, C.B., FREITAS, B.E., FARIA, R.G., BATISTA, R.C., BATISTA, C.C., COELHO, W.A. E BOCCHIGLIERI, A. História natural de *Leptodactylus mystacinus* e *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) no Cerrado do Brasil Central. **Biota Neotrop.** 8:106-115, 2008.

DELFINO, G. Ultrastructural aspects of venom secretion in anuran cutaneous glands. In: TU, A. T.; DEKKER, M. (Ed.). **Reptile venoms and toxins**. Handbook of natural toxins. New York: Marcel, 1991.

DELFINO, G., BRIZZI, R., ALVAREZ, B.B., GENTILI, M. Granular cutaneous glands in the frog *Physalemus biligonigerus* (Anura, Leptodactylidae): comparison between ordinary serous and „inguinal“ glands. **Tissue and Cell**, 31: 576-586, 1999.

DIEGUES A. C., ARRUDA, R. S. V. Os saberes tradicionais e a biodiversidade no Brasil. Brasília. **Ministério do Meio Ambiente**, São Paulo: USP. 111, 2001.

DOMENICO, E. A., CÉLIO F. B. HADDAD, C. F. B. AND ZAHER, H. Natural

History of *Paratelmatobius gaigeae* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae): Description of the Tadpole and Advertisement Call. **Journal of Herpetology**, 48 (3): 430–433, 2014.

DOURADO, F.S., LEITE, R. S.A., SILVA, L.P., MELO, J.A.T., BLOCH JR. E C. SCHWARTZA, E.F. Antimicrobial peptide from the skin secretion of the frog *Leptodactylus sypfax*. **Toxicon**, 50: 572–580, 2007.

DUELLMAN, W.E. E TRUEB, L. *Biology of amphibians*. McGrawHill, New York, 1986.

DUELLMAN, W.E. AND TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. New York, McGraw-Hill Book, 670,1994.

ETEROVICK, P. C.; CARNAVAL, A. C. O. Q.; BORGES-NOJOSA, D. M.; SILVANO, D. L. E SEGALLA, M. V. Amphibian declines in Brazil: An Overview. *Biotropica*, v. 37, n. 2, p. 166-179, fev. 2005. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1744-7429.2005.00024.x/abstract?userIsAuthenticated=false&deniedAccessCustomisedMessage=>>. Acesso em: 7 de fevereiro de 2019.

FELSEMBURGH, F.A. E GITIRANA, L.B. Avaliação Morfológica do Tegumento de Fêmeas de *Proceratophrys boiei*. **Espaço E Geografia**, 11(1): 59-72, 2008.

FELSEMBURGH, F.A. GITIRANA, L.B. Avaliação morfológica do tegumento de fêmeas de *Proceratophrys Boiei*. **Espaço E Geografia**, 11 (1): 59 – 72, 2008.

FERREIRA, A.S., DANTAS, M.A.T. E DONATO, C.R. Ocorrência de *Leptodactylus vastus* Lutz, 1930 (Amphibia-Anura: Leptodactylidae) na Caverna Toca da Raposa, Simão Dias, Sergipe. Montes Claros – MG. Anais do XXX Congresso Brasileiro de Espeleologia. **Sociedade Brasileira de Espeleologia**, 2009.

FRAGOSO, M. L. B.; BARBOSA-NETO, M. V.; CIDREIRA-NETO, I. R. G.; RODRIGUES, G. G. Use of Animals for Communities of Small Farmers in the Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú Northeast of Brazil. *REVISTA BRASILEIRA DE GEOGRAFIA FÍSICA*, v. 11, p. 477-489, 2018.

FREITAS, M.A. E SILVA, T.F.S. Guia ilustrado: a herpetofauna das caatingas a áreas de altitude do Nordeste brasileiro. **Pelotas: USEB**, 384, 2007.

FROST, D. R. Espécie anfíbia do mundo: uma referência on-line. Versão 6.0. Base de dados eletrônica acessível em Museu Americano de História Natural, Nova Iorque, EUA. <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. (acessado em 02/03/2018), 2018.

GARCIA, G.F., CRUZ, P.I. E MANGIONE, S. Caracterización histomorfológica de la piel de especies de *Leptodactylus* del grupo *fuscus* (Anura:Leptodactylidae), destacando la capa de Eberth-Katschenko. **Acta zoológica lilloana**, 55 (1): 33–43, 2011.

GRAÇA, R. J., ODA, F. H., LIMA, F. S., VINICIUS GUERRA, V., GAMBALED, P. G. AND TAKEMOTO, R. M. **Journal of natural history**, 51: (13–14) 705–729, 2017.

GRANT T, SEGALLA M, CARAMASCHI U, GARCIA PCA, PPLANGONE. Anura in **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil**. PNUD. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/135>>. Acesso em: 06 Fev. 2019

GROSSO, J. R., BALDO, D. AND VERA, F. Heterochronic changes during embryonic development of neotropical foam nesting frogs (genus *Leptodactylus*) *Candiotia*. **Zoologischer Anzeiger**, 266: 35–49, 2017.

HADDAD, C. F. B. e ABE, A. S. Avaliação e ação prioritárias para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos. Brasília: **MMA/SBF**, 40, 2000.

HADDAD, C.F.B. E PRADO, C.P.A. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. **BioScience**, 55 (3):207-217, 2005.

HADDAD, C.F.B., TOLEDO, L.F. E PRADO, C.P.A. Anfíbios da Mata Atlântica: guia dos anfíbios anuros da Mata Atlântica. São Paulo – SP. **Editora Neotropica**. 243, 2008.

- HADDAD, C.F.B., TOLEDO, L.F., PRADO, C.P.A, LOEBMAN, D., GASPARINI, J. L. E SAZIMA, I. Anfíbios da Mata Atlântica: guia dos anfíbios anuros da Mata Atlântica. Editora **Anolis Books**. 542, 2013.
- HEYER, W. R. The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Evolution**, 23(3): 421-428, 1969.
- HEYER, W.R., DONNELLY, M.A., MCDIARMID, R.W., HAYEK, L.C. E FOSTER, M.S. Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians. **Smithsonian Institution Press**, Washington 1994.
- HEYER, W. R. Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia: Leptodactylidae) from Middle America, northern South America, and Amazonia. **Arquivos de zoologia**, Museu De Zoologia Da Universidade De São Paulo, São Paulo, 37 (3): 269-348, 2005.
- HICKMAN, JR. CP, ROBERTS LS, LARSON A., **Princípios Integrados de Zoologia**. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- HISSA, D.C., VASCONCELOS, I.M., CARVALHO A.F.U., NOGUEIRA, V.L.R., CASCON, P., ANTUNES, A.S.L., MACEDO, G.R. E MELO, V.M.M. Novel surfactant proteins are involved in the structure and stability of foam nests from the frog *Leptodactylus vastus*. **The Journal of Experimental Biology**, 211: 2707-2711, 2008.
- HISSA, D. C., BEZERRA, G. A., OBRIST, B., BIRNER-GRÜNBEBERGER, R., MELO, V. M. M. AND GRUBERB, K. Crystallization and preliminary X-ray diffraction of the surfactant protein Lv-ranaspumin from the frog *Leptodactylus vastus*. **crystallization communications**, 68: 321–323, 2012.
- HUNTINGTON, H. P. Using Traditional Ecological Knowledge in Scienc: **Methods and applications**. Ecol. Appl., 10: 1270-1275. 2000.
- JANSEN, M. E SCHULZE, A. Molecular, morphology and bioacoustic data suggest Bolivian distribution of a large species of the *Leptodactylus pentadactylus* group (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Zootaxa* 3307: 35–47, 2012.

- JARED, C., ANTONIAZZI, M. M. AMARILDO JORDÃO, E.C., SILVA, J. R. M. C., GREVEN, H., M. RODRIGUES, T. Parotoid macroglands in toad (*Rhinella jimi*): Their structure and functioning in passive defence. **Toxicon** 54: 197–207, 2009.
- KING, J. D., LEPRINCE, J., VAUDRY, H., COQUET, L., JOUENNE, T., CONLON, J.M. Purification and characterization of antimicrobial peptides from the Caribbean frog, *Leptodactylus validus* (Anura: Leptodactylidae). **Peptides**, 29: 1287 – 1292, 2008.
- LAURINDO - SILVA, T. BARBOSA, G.G., OLIVEIRA, C.N. E RODRIGUES, G.G. Répteis do Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú, Pernambuco – Brasil. **Revista Nordestina de Zoologia**, 11(1): 43-47, 2017.
- LAURINDO – SILVA, T. E RODRIGUES, G.G., Jia de peito e Rã pimenta (Amphibia: Anura: *Leptodactylus vastus* Lutz, 1930) no Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú, 1: 11 – 12. In: **Pesquisas científicas e práticas de educação ambiental no Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjaú**. Recife, Ed. Liceu, 1: 33, 2018.
- LEITE FILHO, E., FEIJÓ, A. AND ROCHA, P. A. Opportunistic predation on bats trapped in mist nets by *Leptodactylus vastus* (Anura: Leptodactylidae). **Biotemas**, 27 (3): 205-208, 2014.
- LENZI-MATTOS, R., ANTONIAZZI, M. M. HADDAD, C. F. B. TAMBOURGI, D. V. RODRIGUES M. T. AND C. JARED, C. The inguinal macroglands of the frog *Physalaemus nattereri* (Leptodactylidae): structure, toxic secretion and relationship with deimatic behaviour. **The Zoological Society of London Printed in the United Kingdom**, 266: 385–394, 2005.
- LIMA, M. S. C. S., PEDERASSI, J., PINESCHIC, R. B. E BARBOSA, D. B. S. Acoustic niche partitioning in an anuran community from the municipality of Floriano, Piauí, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 1 – 11, 2018.
- LIMAVERDE, P. T., NASCIMENTO, N. R. F., EVANGELISTA, J. S. A. M., TOMÉ, A. R., FONTELES, M. C., SANTOS, C. F., CARDI, B. A. E CARVALHO, K. M. Isolation and pharmacological effects of leptoxin, a novel proteic toxin from *Leptodactylus pentadactylus* skin secretion. **Toxicon**, 54: 531–538, 2009.

LOPEZ, P. T., NARINS, P. M., LEWIST, E. R. AND MOORE, S. W. Acoustically induced call modification in the white-tipped frog, *Leptodactylus albilabris*. **Anim. Behav.** 36, 1295- 1308, 1988.

LUTZ, A. M. D., Segunda memória sobre espécies brasileiras do gênero *Leptodactylus*, incluindo outras aliadas. **Memórias do instituto Oswaldo Cruz**, 23 (1): 1 – 25, 1926.

LUTZ, A. M. D. Observações sobre Batrachior brasileiros. **Memórias do instituto Oswaldo Cruz**, 15 (2): 1 – 28, 1930.

MAILHO-FONTANA, P. L., ANTONIAZZI, M. M., SCIANI, J. M., PIMENTA, D. C., BARBARO, K. C. AND JARED, C. Morphological and biochemical characterization of the cutaneous poison glands in toads (*Rhinella marina* group) from different environments. **Frontiers in Zoology**, 1 – 15, 2018.

MARQUES, J. G. W. O olhar (des) multiplicado. O papel do interdisciplinar e do qualitativo na pesquisa etnobiológica e etnoecológica. In **Métodos de coleta e análise de dados em etnobiologia**, etnoecologia e disciplinas correlatas AMOROZO, M.C.M. MING, L.C. E SILVA, S.M.P. (ed.). UNESP, Rio Claro, 31-46, 2002.

MARTINS, M. Biologia reprodutiva de *Leptodactylus fuscus* em Boa vista, roraima (Amphibia: Anura). **Rev. Brasil. Biol.**, 48(4): 969-977, 1998.

MENDES, V. A., BARBARO, K. C., SCIANI, J. M., VASSÃO, R. C., PIMENTA, D.C., JARED, C. E ANTONIAZZI, M. M. The cutaneous secretion of the casque-headed tree frog *Corythomantis greeningi*: Biochemical characterization and some biological effects. **Toxicon**, 122: 133 – 141, 2016.

MOREIRA, G. E BARRETO, Larissa. Alimentação e variação sazonal na frequência de captura de anuros em duas localidades do Brasil Central. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 13, n. 2, p. 313 - 320, 1996.

MORENO-GÓMEZ, C., DUQUE, FIERRO, T. L., ARANGO, J., PECKHAM, X. AND ASECIO-SANTOFIMIO, H. Histological Description of the Skin Glands of *Phyllobates bicolor* (Anura: Dendrobatidae) Using Three Staining

Techniques. **Int. J. Morphol.**, 32 (3): 882-888, 2014.

MOURA G. J. B.; FREIRE E. M. X.; SANTOS E. M.; MORAIS, Z. M. B; LINS, E. A. M.; ANDRADE, E. V. E. A. E FERREIRA, J. D. C. Distribuição geográfica e caracterização ecológica dos répteis do estado de Pernambuco. 229 – 290 p. In: **Herpetologia no estado de Pernambuco**. Moura, G. J. B.; Santos, E. M; Oliveira, M. A. B E Cabral, M. C. C. (Org). MMA, v. 1, p. 440, 2011.

NASCIMENTO, A. C. C. C. Avaliação biológica da secreção cutânea da rã *Leptodactylus ocellatus*: peptídeos citolíticos e proteases. **Tese de Doutorado**. Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, Departamento de Biologia Celular, Brasília, 61, 2007.

NASCIMENTO, C. H. V., SANTOS, I. G. A., FÁBIO LAURINDO DA SILVA, F. L., RODRIGUES, G. G. Checklist de Chironomidae (insecta, diptera) em áreas de conservação de Pernambuco, Brasil. **Revista Nordestina de Zoologia**, v. 10, n. 2, p 39-44, 2016.

NASCIMENTO, C. H. V., PEREIRA-SILVA, R., SANTOS, I. G. A., RODRIGUES, G. G. E. SILVA, F. L. Chironomidae (Insecta: Diptera) from four protected areas in the state of Pernambuco, Brazil. **International Journal of Freshwater Entomology**, v. 40, N. 2, p. 146– 172, 2019.

NAYA, D. E., LANGONE, J.A. E SÁ, R. O. Características histológicas de la tumefacción frontal de *Melanophryniscus* (Amphibia: Anura: Bufonidae). **Revista Chilena de Histótiá Natural**, 77: 593 - 598, 2004.

NETO, A. G. S.; BARBOSA, L. P.; SANTOS, D. P. E SANTOS-SILVA, C.R. Predação de *Hypsiboas faber* (Anura: Hylidae) por *Leptodactylus vastus* em uma lagoa temporária na mata atlântica de Capela, Sergipe. **Natureza On Line**, v. 13, n. 3, p. 126-127, 2015. Disponível em: <[http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/SantosNetoetalAG_126127 .pdf](http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/SantosNetoetalAG_126127.pdf)>. Acesso: 14 de janeiro de 2019.

OLIVEIRA, I. S. E FREIRE, E. M. X. Conhecimento Ecológico Local sobre anfíbios anuros por agricultores em sistemas agrícolas de região Semiárida brasileira. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, 3: 16, 2015.

PAZINATO, D.M.M. Estudo etnoherpetológico: Conhecimentos populares sobre anfíbios e répteis no município de Caçapava do Sul, Rio Grande do Sul. **Tese de especialização**. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 66, 2013.

PEREIRA-SILVA, R. E RODRIGUES, G.G. Grupos funcionais tróficos da tricopterofauna em riachos de pequena ordem na Reserva Biológica de Saltinho (Pernambuco). **Revista Nordestina de Zoologia**, 11(1): 48-53, 2017.

PEREZ, G.R. E RUIZ, P.M.G. Ultraestructura e Histoquímica de dos tipos de glândulas mucosas de la piel de *Cryptobatrachus* (Amphibia, Anura). **Caldasia**, 14 (67): 251 – 264, 1985.

PEREZ, G. R., RUIZ-CARRANZA, P. M., RAMIREZ-PINILLA, M. P. Especializaciones del tegumento de incubación de la hembra de *Cryptobatrachus boulengeri* (Amphibia: Anura: Hylidae). **Caldasia**, 17 (1): 87-94, 1992.

PINTO, L. C. L.; **Etnozoologia e conservação da biodiversidade em comunidades rurais da Serra do Ouro Branco, Minas Gerais**. 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Biomas Tropicais) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

POSEY, D.A. Etnobiologia: teoria e prática. In Suma etnológica Brasileira (D. Ribeiro, ed.). **FINEP/Vozes**, Rio de Janeiro, 15-25, 1986.

POUGH, H. F., JANIS, C.M. E HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**, 4. ed., São Paulo: Atheneu Editora. 596, 2008.

RAZERA, J.C.C; BOCCARDO, L.; PEREIRA, J.P.R. Percepções sobre a fauna em estudantes indígenas de uma tribo tupinambá no Brasil: um caso de etnozoologia. **Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias**. Vol. 5 N°3, 2006.

RIBEIRO, L.; RIBEIRO, T. Ranicultura. Disponível em: <http://www.rioempresarial.com.br/frigora/ranicultura.htm>. Acesso em: 22 ago. 2009.

RODRIGUES, D. J., UETANABARO, M. AND PRADO. C. P. A. Seasonal and ontogenetic variation in diet composition of *Leptodactylus podicipinus* (Anura, Leptodactylidae) in the southern Pantanal, Brazil. **Rev. Esp. Herp.** 18:19-28, 2004.

- SANTANA, D. O., ROCHA, S. M., SILVA, I. R. S. E FARIA, R. G. Predation of *Leptodactylus latrans* (Anura, Leptodactylidae) and *Hypsiboas albomarginatus* (Anura, Hylidae) by *Leptodactylus vastus* (Anura, Leptodactylidae) in north-eastern Brazil. **Herpetology Notes**, volume 5: 449-450, 2012.
- SANTOS, E. M. E SILVA, T. C. B. Albinismo parcial em *Leptodactylus troglodytes* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Bol. Mus. Biol. Mello Leitão**, 28: 159-163, 2010.
- SEGALLA, M. V., CARAMASCHI, U., CRUZ, C. A. G., GARCIA, P. C. A., GRANT, T., HADDAD, C. F. B. E LANGONE, J. **Brazilian amphibians: list of species**. *Sociedade Brasileira de Herpetologia*. 3(2): 34 – 46, 2016. Disponível em: < <http://www.sbherpetologia.org.br> >. Acesso em: 30 de jan. 2019.
- SILVA, W. R., GIARETTA, A.A. E KÁTIA G. FACURE. On the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Anura: Leptodactylidae). **Journal of Natural History**, 39 (7): 555–566, 2005.
- SILVA, F. R. D. E ROSSA-FERES, D. D. C. Uso de fragmentos florestais por anuros (Amphibia) de área aberta na região noroeste do Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, 2007.
- SILVA, W.R.* AND GIARETTA, A.A. Further notes on the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Anura, Leptodactylidae). **Braz. J. Biol.**, 68(2): 403-407, 2008.
- SILVA, L.A.M.; SANTOS, E. M. E AMORIM, F. O. Predação oportunística de *Molossus molossus* (Pallas, 1766) (Chiroptera: Molossidae) por *Rhinella jimi* (Stevaux, 2002) (Anura: Bufonidae) na Caatinga, Pernambuco, Brasil. **Biotemas**, Florianópolis, v. 23, n. 2, p. 215–218, jun. 2010.
- SISTEMA NACIONAL DE UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA NATUREZA **Constituição Federal**, Lei nº 9.985, ART. 225, § 1º, incisos I, II, III e VII da, 2000.
- SOUSA, J.C., SILVA, R.L.S., SOUSA, R.A., LIMA, M.S.C.S. E FERREIRA,

- G.J.B.C. Histologia da glândula parótide de anuros da espécie *Rhinella schneideri* (Amphibia: Bufonidae). **Biotemas**, 28 (2): 111-118, 2015.
- TABARELLI, M. E RODA, S. A. Uma oportunidade para o Centro de Endemismo Pernambuco. **Natureza E Conservação**, 3 2): 22-28, 2005.
- TELES, D. A., CABRAL, M. E. S., ARAUJO-FILHO, J. A., DIAS, D. Q., ÁVILA, R. W. AND ALMEIDA, W. O. Helminths of *Leptodactylus vastus* (Anura: Leptodactylidae) in an area of Caatinga, Brazil. **Herpetology Notes**, 7: 355-356, 2014.
- TELES, D. A. TEIXEIRA, A. A. M., ARAUJO FILHO, J. A. RODRIGUES, J. K., *Leptodactylus Vastus* (Northeastern Pepper Frog). Endoparasites. **Herpetological Review**, 47(4), 2016.
- TELES, D. A., PINTO, C. L. M., TEIXEIRA, A. A. M., ARAUJO FILHO, J. A. First report of *Rhabdias* sp. infecting *Leptodactylus macrosternum* from the Caatinga domain, Neotropical region. **Cuad. herpetol.** 32(2): 117-118, 2018.
- TOLEDO, R. C. AND JARED, C. The calcified dermal layer in anurans. **Pergamon**, Camp. Biochem. Physiol, 104: (3) 443 – 448, 1993.
- TOLEDO, R. C. AND JARED, C. Cutaneous granular glands and amphibian venoms. **Pergamon**, Camp. Biochem. Physiol, 3A (1): 1 – 29, 1995.
- TOLEDO, L. F. E HADDAD, C. F. B. Defensive vocalizations of neotropical anurans. **South American Journal of Herpetology**, 4: 25-42, 2009.
- VERA, M. C. AND PONSSA, A. L. Skeletogenesis in anurans: cranial and postcranial development in metamorphic and postmetamorphic stages of *Leptodactylus bufonius* (Anura: Leptodactylidae). **Acta Zoologica** (Stockholm) 0: 1–19, 2013.
- VIEIRA, W.L.S., SANTANA, G.G. E VIEIRA, K.S. Description of the tadpole of *Leptodactylus vastus* (Anura: Leptodactylidae). **Zootaxa**, 1529: 61–68, 2007.
- VITT, L. J. E CALDWELL, J.P. Herpetology: An introductory biology of Amphibians and Reptiles. San Diego: **Academic Press**, 757, 2014.

WANG, L., SMYTH, A., JOHNSEN, A. H., ZHOU, M., CHEN, T., WALKER, B. E. & SHAW, C. Famide-related peptides (FaRPs): A new family of peptides from amphibian defensive skin secretions. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 383: 314–319, 2009.

WELLS, K. D. The ecology and behavior of amphibians. Chicago: **Chicago University Press**. 2007.

APÊNDICE A – Questionário semiestruturado

QUESTIONÁRIO

Dados pessoais

Nome:

Profissão:

Idade:

Comunidade:

Tempo na comunidade:

Perguntas referentes ao conhecimento ecológico:

- a) Você conhece a rã pimenta e/ou jia
- b) Existe alguma diferença entre os indivíduos, quais?
- c) Você tem medo?
- d) Conhece o canto/coachar/canto?
- e) Onde podemos encontrar elas?
- f) Em que época mais aparece?
- g) Conhecem seu ninho?
- h) Você maneja/pega/transporta o animal?
- i) O que elas costumam comer (dieta)?
- j) Qual o horário mais comumente encontrar esta animal?

Dados referentes ao uso animal:

- a) Você conhece algum uso deste animal sem ser o alimentício?
- b) Você já comeu a rã pimenta/jia?
- c) Qual o sabor?
- d) Como é o preparo para alimentação?

ANEXO A – Autorização de pesquisa e coleta: SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 58495-1	Data da Emissão: 28/04/2017 09:43	Data para Revalidação*: 28/05/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: TULÍBIA LAURINDO SILVA	CPF: 065.508.594-76
Título do Projeto: Estudo da histomorfometria e da citotoxicidade do tecido glandular da rã pimenta (<i>Leptodactylus vastus</i> Lutz, 1930) em um remanescente de mata atlântica, do nordeste Brasil.	
Nome da Instituição : UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.488/0001-08

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta e transporte de espécimes de <i>Leptodactylus vastus</i>	05/2017	04/2019

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	Esta Autorização ICMBio/SISBio não isenta a proponente, Mestranda TULÍBIA LAURINDO SILVA, da obtenção do necessário posicionamento do Comitê de Ética da Universidade Federal do Pernambuco.
---	--

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Gilberto Gonçalves Rodrigues	Coordenador	435.252.610-04	9891668 SDS-PE	Brasileira
2	Jefferson Rodrigues Pedrosa	Membro da equipe	092.877.164-47	8652807 SDS-PE	Brasileira
3	Camila Nascimento de Oliveira	Pesquisadora	080.186.094-62	6779367 sds-PE	Brasileira
4	Rafael Pereira da Silva	Pesquisador	094.533.104-50	81699300 sds-PE	Brasileira
5	Millena Vieira Barbosa Neto	Pesquisadora	101.643.974-18	8780921 sds-PE	Brasileira
6	Gessica Gomes Barbosa	Pesquisadora	095.792.694-40	8063538 SDS-PE	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 16854277



Página 1/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 58495-1	Data da Emissão: 28/04/2017 09:43	Data para Revalidação*: 28/05/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: TULÍBIA LAURINDO SILVA	CPF: 065.508.594-76
Título do Projeto: Estudo da histomorfometria e da citotoxicidade do tecido glandular da raiz pimenta (<i>Leptodactylus vastus</i> Lutz, 1930) em um remanescente de mata atlântica, do nordeste Brasil.	
Nome da Instituição : UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.488/0001-08

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	CABO DE SANTO AGOSTINHO	PE	Refúgio de Vida Silvestre Matas do Sistema Gurjáú	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	<i>Leptodactylus vastus</i>
2	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	<i>Leptodactylus vastus</i> (*Qtde: 20)
3	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	<i>Leptodactylus vastus</i>

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Anfíbios)	Ectoparasita, Outras amostras biológicas(Tecido)
2	Método de captura/coleta (Anfíbios)	Captura manual

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	colecção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 16854277



Página 2/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 58495-1	Data da Emissão: 28/04/2017 09:43	Data para Revalidação*: 28/05/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: TULÍBIA LAURINDO SILVA	CPF: 065.508.594-76
Título do Projeto: Estudo da histomorfometria e da citotoxicidade do tecido glandular da raiz pimenta (<i>Leptodactylus vastus</i> Lutz, 1930) em um remanescente de mata atlântica, do nordeste Brasil.	
Nome da Instituição : UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.488/0001-08

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 16854277



Página 3/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 58495-1	Data da Emissão: 28/04/2017 09:43	Data para Revalidação*: 28/05/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: TULÍBIA LAURINDO SILVA	CPF: 065.508.594-76
Título do Projeto: Estudo da histomorfometria e da citotoxicidade do tecido glandular da raiz pimenta (<i>Leptodactylus vastus</i> Lutz, 1930) em um remanescente de mata atlântica, do nordeste Brasil.	
Nome da Instituição : UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.488/0001-08

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 16854277



Página 4/4

ANEXO B – Autorização de pesquisa e coleta: CEUA



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Cavalcanti
 50630-420 / Recife - PE - Brasil
 Fones: (81) 3388-12
 ceua@ufpe.br

Recife, 20 de setembro de 2018

Ofício nº 83/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para **Prof. Gilberto Gonçalves Rodrigues**

Departamento de Zootecnia

Centro de Biociências

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.013219/2018-28

Certificamos que a proposta intitulada "**Estudo da Histologia e da toxicidade do tegumento da Rã pimentada (*Leptodactylus vastus* Lutz, 1930) em um Remanescente de mata atlântica, do Nordeste do Brasil**", registrada com o nº **23076.013219/2018-28**, sob a responsabilidade de **Prof. Gilberto Gonçalves Rodrigues** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 29/08/2018.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	04/07/2018 a 30/03/2019
Espécie/linhagem/raça	Anfíbios da linhagem Anura e da espécie <i>Leptodactylus</i>
Nº de animais	08
Peso/Idade	Não se aplica
Sexo	Machos e fêmea
Origem	Refúgio de vidas Silvestre Matas do sistema Guejaú; localizada na região sul da região Metropolitana do Recife, na divisa dos Municípios de Cabo de Santo Agostinho, Jaboatão do Guararapes e Moreno, no Estado de Pernambuco

Atenciosamente,


 Prof. Sebastião R. F. Silva
 Vice-Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 2345891

ANEXO C – Autorização de pesquisa e coleta: CPRH

CPRH Agência
Estadual de
Meio Ambiente

Carta UGUC Nº 24/2017
Recife, 08 de agosto de 2017.

A Sua Senhoria
TULÍBIA LAURINDO SILVA
Pesquisadora
Universidade Federal de Pernambuco

Prezada Pesquisadora,

Cumprimentando-a cordialmente, reportamos-nos ao Processo CPRH nº **006437/2017** referente ao requerimento para realização de pesquisa científica no Refúgio de Vida Silvestre- Matas do Sistema Gurjaú, intitulada: " Estudo da histomorfometria e da citotoxicidade do tecido glandular da rã pimenta (*Leptodactylus vastus* Lutz, 1930)."

Após análise da proposta, informamos que o citado projeto foi aprovado, dessa forma a Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH) **AUTORIZA** o desenvolvimento das atividades previstas no cronograma geral.

Informamos que as atividades de campo deverão ser informadas com antecedência mínima de 05 (cinco) dias úteis, ao Setor de Administração de Unidades de Conservação-SAUC (3182-8854), para que seja possível sua integração com a programação do Setor supramencionado.

Cabe salientar, que ao chegar a Unidade de Conservação, o Pesquisador deverá se dirigir ao gestor da unidade- das 08:00hs às 12:00 e das 13:00 as 17:00- para registros de instruções sobre o local da pesquisa e utilização da infraestrutura, além da apresentação dessa Autorização.

Atenciosamente,

GLEYDSON CASTELO BRANCO GALENO

Gerente da Unidade de Gestão de Unidades de Conservação

Agência Estadual de Meio Ambiente
Gerente de Unidades de Conservação das
Unidades de Conservação
CPRH
Recife 52060-460