



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS - CSHNB
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**



RAIANE CONRADO ROCHA

**ANÁLISE DE FUNGOS EM TEGUMENTO DE *Leptodactylus macrosternum* (ANURA:
LEPTODACTYLIDAE) DO SEMIÁRIDO NORDESTINO**

**PICOS-PI
JANEIRO DE 2021**

RAIANE CONRADO ROCHA

**ANÁLISE DE FUNGOS EM TEGUMENTO DE *Leptodactylus macrosternum* (ANURA:
LEPTODACTYLIDAE) DO SEMIÁRIDO NORDESTINO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Mariluce Gonçalves Fonseca

PICOS-PI
JANEIRO DE 2021

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros
Biblioteca Setorial José Albano de Macêdo
Serviço de Processamento Técnico

R672a Rocha, Raiane Conrado
Análise de fungos em tegumento de *Leptodactylus macrosternum* (Anura: leptodactylidae) do Semiárido nordestino / Raiane Conrado Rocha – 2021.

Texto digitado
Indexado no catálogo *online* da biblioteca José Albano de Macêdo-
CSHNB
Aberto a pesquisadores, com as restrições da biblioteca

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Piauí, Licenciatura em Ciências Biológicas, Picos-PI, 2021.
“Orientadora: Profª. Dra. Mariluce Gonçalves Fonseca”.

1. Anura. 2. Fungos. 3. Piauí. I. Fonseca, Mariluce Gonçalves. II. Título.

CDD 579

RAIANE CONRADO ROCHA

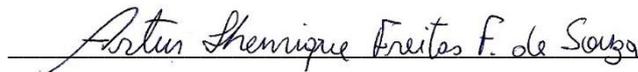
**ANÁLISE DE FUNGOS EM TEGUMENTO DE *Leptodactylus macrosternum* (ANURA:
LEPTODACTYLIDAE) DO SEMIÁRIDO NORDESTINO**

Aprovado em 25 de janeiro de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a. Dr.^a. Mariluce Gonçalves Fonseca - UFPI
(Orientadora)



Prof. Dr. Artur Henrique Freitas Florentino de Souza - UFPI
(Membro Avaliador)



Prof. Dr. Victor de Jesus Silva Meireles - UFPI
(Membro Avaliador)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos aqueles que
contribuíram de forma direta ou indireta
em minha formação acadêmica.

AGRADECIMENTOS

A Deus por minha vida, por ter me guiado e permitido que chegasse até aqui. Aos meus pais e irmã, Rosimeire Francisca Conrado, Valdir da Silva Rocha e Roberlândia Conrado Rocha, por todo apoio, incentivo, compreensão e ajuda durante toda esta jornada, é pra vocês e por vocês. A minha orientadora, Profa. Dra. Mariluce Gonçalves Fonseca por ter me acolhido e por todos os ensinamentos dados, foi uma honra. Ao meu namorado Auleriano de Brito Moura (léo), por acreditar na minha capacidade, por ter me ajudado a superar as dificuldades e apoiar todas minhas decisões, por ter priorizado minha formação, obrigada por tanto cuidado. As minhas parceiras de laboratório e grandes amigas, TÁCILA RAIANE PEREIRA DA SILVA, LINÁRIA FRANCIS DO NASCIMENTO PEREIRA, por cada aventura e trabalho realizado juntas, por tantos momentos difíceis que enfrentamos, tudo foi possível graças ao nosso trio. A todos meus amigos de curso que ao longo deste tempo, viraram uma ‘família’. Dentre eles, aquela que me recebeu e fez de um tudo por mim, acolheu, cuidou, brigou e me segurou durante vários momentos difíceis, compartilhamos vários momentos felizes, aprende muito com você, Sônia de Carvalho Sousa, irmã que a UFPI me deu pra toda vida. Aos meus familiares e amigos de infância por todo incentivo e apoio. Foram longos dias de caminhada que se alternavam em alegrias, tristezas, aflições, desesperos e medos, aos quais no final de cada período eram substituídos por um grande sentimento de realização. Valeu muito apenas, chegar hoje aqui e olhar para trás é ver tudo o que você achou que não seria capaz de fazer, feito. Todos desafios cumpridos, ter se reinventado quantas vezes foi preciso, o peito se enche de orgulho e gratidão por cada momento, por cada professor, por cada pessoa que encontrei no meu caminho acadêmico, tudo contribuiu para o meu aprendizado tanto profissional quanto pessoal.

RESUMO

A biodiversidade de anfíbios no Brasil é a maior do mundo com 1.093 espécies descritas, sendo a ordem Anura a mais diversificada. Os anfíbios possuem ciclo biológico constituído de uma fase aquática e outra terrestre, seu tegumento possui glândulas mucosas e de veneno, que lhes conferem proteção contra predadores e microrganismos. Deste modo sua pele desempenha uma série de funções vitais como respiração, transporte de água e solutos, regulação da temperatura corpórea e a defesa contra o ataque de microrganismos, alguns deles letais. Neste estudo investigamos de forma não invasiva, o tegumento da rã aquática *Leptodactylus macrosternum* Miranda-Ribeiro, 1926 a fim de identificar a ocorrência de fungos. As coletas realizadas através de encontro por busca ativa, ocorreram mensalmente nas estações seca e chuvosa entre janeiro de 2019 a fevereiro de 2020 em diferentes locais do *campus* da Universidade Federal do Piauí, Picos-PI. Um total de trinta espécimes foram encontrados. Para análise em campo, os espécimes foram submetidos a aplicação de *swabs* no tegumento e membros, fotografados e soltos no próprio local de coleta, posteriormente em laboratório cada *swab* foi submetido ao meio de cultura para fungos em placa de ágar Sabouraud e colocadas em estufa á 37°C por 72 horas. Após esse tempo as placas foram analisadas quanto ao crescimento de colônia. A identificação de fungos de cada placa foi realizada por meio da produção de lâminas a fresco e coradas com azul de toluidina, analisadas e fotografadas em microscópio óptico para análise de imagem. Por meio da técnica utilizada foi possível identificar pela morfologia os seguintes *taxa* de fungos nos espécimes de *L. macrosternum*: *Aspergillus spp*, *Levedura*, *Aspergillus niger*, *Penicilium sp*, *Rhizopus sp*. Por meio das análises, os fungos identificados em tegumento de *L. macrosternum* em ambas as estações seca e chuva, são considerados fungos não patogênicos e que fazem parte do habitat natural da espécie e do seu ambiente.

Palavras-chave: Anura; Fungos; Piauí.

ABSTRACT

The biodiversity of amphibians in Brazil is the largest in the world with 1,093 described species, with the Anura order being the most diversified. Amphibians have a biological cycle consisting of an aquatic and a terrestrial phase and their integument has mucous and venom glands, which give them protection against predators and microorganisms. In this manner, their skin performs a series of vital functions such as breathing, water and solute transport, regulation of body temperature, and defense against attack by microorganisms, some of them lethal. In this study we investigated, in a non-invasively way, the integument of the aquatic frog *Leptodactylus macrosternum* (Miranda-Ribeiro, 1926) in order to identify the occurrence of fungi. The collections carried out through a monthly active search encounter occurred during the dry and rainy seasons between January 2019 and February 2020, in different locations on the campus of the Federal University of Piauí, in Picos, Piauí. A total of thirty specimens were found. For field analysis, the specimens were subjected to swabs on the integument and limbs and then photographed and released at the collection site. Later, in the laboratory, each swab was subjected to the fungal culture media on a Sabouraud agar plate and placed in a greenhouse at 37 ° C for 72 hours. After that time, the plates were analyzed as for colony growth. The identification of fungi in each plate was carried out through the production of slides stained with toluidine blue. These slides were analyzed and photographed under an optical microscope for image analysis. By means of the technique used, it was possible to identify through morphology the following rates of fungi in specimens of *L. macrosternum*: *Aspergillus spp*, *Yeast*, *Aspergillus niger*, *Penicilium sp*, *Rhizopus sp*. From the analysis, the fungi identified in integuments of *L. macrosternum* during both dry and rainy seasons are considered non-pathogenic fungi and are part of the species' natural habitat and its environment.

Keywords: Anura; Fungi; Piauí.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral.....	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 Anfíbios.....	13
3.2 <i>Leptodactylus macrosternum</i> (Anura: Leptodactylidae).....	13
3.3 Importância ecológica dos anuros e o declínio de suas populações.....	14
3.4 Agentes patogênicos	14
4 METODOLOGIA.....	16
4.1 Local de coleta	16
4.2 Estudo de campo	17
4.3 Semeadura em meio de cultura	18
4.4 Análise em laboratório	18
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1 INTRODUÇÃO

Segundo FROST (2020), são reconhecidas atualmente cerca de 7.245 espécies de anfíbios anuros no mundo, dentre elas 1.093 ocorrentes no Brasil (SEGALLA *et al*, 2019). A biodiversidade de anfíbios no Brasil é a maior do mundo, sendo a ordem Anura a mais diversificada (SEGALLA *et al*, 2016).

Convém salientar que os anfíbios são conhecidos por possuírem ciclo biológico constituído de uma fase aquática larval (girino) e outra terrestre (adulta), e em seu tegumento são descritos dois tipos de glândulas: as mucosas e as de veneno ou granulosas, que lhes conferem proteção contra predadores e contra microrganismos presentes no seu habitat (WELL, 2007; POUGH, 2008).

São divididos em três ordens: Anura, Urodela e Gymnophiona, esses grupos são dotados morfologicamente de características muito diferentes entre si (WALLS, 2007). A ordem Urodela de acordo com SANTOS *et al* (2006), destaca-se, dentre suas características, a capacidade de regenerar córnea, retina, mandíbula, membros e secções do coração. Para VITT *et al* (2014), os espécimes da ordem Gymnophiona são caracterizadas por um corpo alongado, anelado e sem membros, olhos cobertos por pele ou por estrutura óssea, um par de tentáculos sensoriais e um crânio bem ossificado.

Os anuros são caracterizados pelo fato de o adulto não apresentar cauda e por possuir os membros posteriores desenvolvidos e adaptados ao salto. A emissão de sons gerados pelos machos é mais uma característica distintiva dos anuros HADDAD *et al* (2008). Elucida-se que desde meados da década de 1980 tem-se observado diminuições de anfíbios em proporção mundial, e várias são as causas contribuintes para esse decréscimo, tais como: novos predadores introduzidos no ecossistema, mudanças climáticas, doenças infecciosas e destruição de habitats (OLIVEIRA, 2014).

Parte significativa da respiração dos anuros é feita através da pele, que é permeável e tende estar constantemente úmida, características que fazem esses animais serem bastante vulneráveis à dessecação. Como meio de reduzir o risco de dessecação, estes repousam durante o dia, evitando o sol e as altas temperaturas, e saem após o pôr-do-sol. A pele dos anfíbios desempenha uma série de funções vitais como, o transporte de água e solutos, a regulação da temperatura corpórea e a defesa contra o ataque de microrganismos e predadores (LEITE *et al*, 2005).

Devido ao fato da pele dos anuros estarem em contato com ambientes desfavoráveis, como os rios contaminados e esgotos, tem contribuído como porta de entrada para vários ectoparasitas e alguns deles letais (CAREY, 1993; JOHNSON *et al*, 1999; WELL, 2007).

Tem-se verificado que os fungos, carrapatos, bactérias e helmintos tem adquirido resistência aos compostos bioativos do tegumento dos anuros; ou seja, apesar das substâncias liberadas pelas glândulas de veneno espalhadas por todo o seu tegumento, os patógenos estão conseguindo sobreviver e com isto, têm ocasionado sérios danos ao seu hospedeiro (COSTA *et al*, 2012).

Convém salientar que algumas doenças nos anfíbios possuem origem bacteriana, fúngica e viral. Dentre as de razão bacteriana estão as dermatosepticemia bacteriana, micobacteriose, flavobacteriose e clamidiose (RAMALHO, 2015). O distúrbio viral mais comum é a ranovirose, entre as doenças fúngicas, prevalentemente estão as quitridiomicose, zigomicose, cromomicose, ictiofoníase e saprolegnirose. No meio dessas enfermidades prejudiciais, a quitridiomicose é a de maior relevância para os anfíbios COSTA *et al* (2012), pois este fungo ataca o tecido queratinizado possuindo uma capacidade de letalidade bastante alta para indivíduos recém-metamórficos VIEIRA *et al* (2013). Alimenta-se de quitina, celulose e queratina, tanto nos anfíbios em fase adulta como também na fase larval (LONGCORE; PESSIER; NICHOLS, 1999).

Deste modo, o presente trabalho avaliou a ocorrência de fungos encontrados sobre o tegumento de *Leptodactylus macrosternum* (Anura: Leptodactylidae)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificar a presença de fungos no tegumento de *Leptodactylus macrosternum*.

2.2 Objetivos Específicos

- Averiguar a ocorrência de fungos em espécimes de *Leptodactylus macrosternum*.
- Identificar os taxa de fungos que podem estar presentes no tegumento e membros de *L. macrosternum*

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Anfíbios

O nome “anfíbio”, deriva do grego e significa "vida dupla", pode ser interpretado de duas maneiras: um animal que tem uma fase inicial de desenvolvimento na água e outra na terra ou como um animal que alterna sua vida dentro e fora da água (RAMALHO, 2015).

A classe Amphibia corresponde ao grupo que engloba os animais conhecidos como Gymnophiona (cobras-cegas), Urodela (salamandras), Anura (sapos, rãs e pererecas), sendo este último grupo o mais diversificado no Brasil e no mundo, um grupo de grande importância ecológica, tanto por sua grande diversidade quanto pelo fato de corresponderem a um grupo de interface entre a água e a terra (HADDAD et al, 2008).

Os anuros são extremamente suscetíveis às alterações ambientais. Sendo, potenciais indicadores da qualidade de inúmeros ambientes (MARCIO *et al*, 2007). As alterações do meio em que vivem, podem ocasionar mudanças ou degradação do ambiente afetando drasticamente seu ciclo de vida, gerando estresse e até enfermidades (FRANCINE *et al*, 2015).

Sabe-se que o Brasil é reconhecido por abrigar a maior heterogeneidade de anfíbios do mundo. No entanto nos últimos anos o aumento no declínio de suas espécies tem alertado toda a comunidade científica, pelo fato de que estes dados devem ser bem mais relevantes por terem *taxas* inclusos que possivelmente ainda não foram descritos, sendo extintos sem terem sido descobertos (ROBERTO *et al*, 2013).

Cerca de 30% das espécies de anuros sofrem ameaça de extinção, já tendo sido extintas 35 dessas espécies. (VERDADE *et al*, 2010).

3.2 *Leptodactylus macrosternum* (Anura Leptodactylidae)

A família Leptodactylidae da ordem Anura é representada por 99 espécies distribuídas em quatro gêneros (*Hydrolatetare*, *Leptodactylus*, *Paratelmatobius* e *Scythrophrys*), sendo *Leptodactylus* o mais numeroso, composto por 88 espécies (FROST,2016 *apud* CHAVES, 2016. p. 9).

Possui dorso acinzentado com pregas longitudinais proeminentes, hábito noturno e tem como habitat preferencial corpos de água lênticos como banhados, arroios, e canais onde vive em meio a gramíneas (FROST,2016 *apud* CHAVES, 2016. p. 9).

A espécie *Leptodactylus macrosternum*, Miranda-Ribeiro, 1926, é considerada uma espécie generalista e bem adaptada a áreas perturbadas, sendo amplamente distribuída no semiárido, e fácil de detectá-lo durante os períodos de chuva (CHAVES *et al*, 2017b).

3.3 Importância ecológica dos anuros e o declínio de suas populações

Os animais mais ameaçados de extinção do planeta são os anfíbios, possuindo como fatores mais importantes a perda de habitat (LAMBERTINI, 2014). Pelo fato de possuírem pele fina e permeável e, na maioria dos casos, fase larval em ambiente aquático, esses animais são muito sensíveis a alterações tanto do ambiente aquático como do solo e do ar (VERDADE *et al*, 2010).

Segundo Beebee *et al* (2005), a perda do habitat como a presença de ambientes contaminados, atuam gradativamente ocasionando a perda de anfíbios nestes locais. Contudo o maior desafio permanece na extrapolação de dados experimentais para efeitos a nível de população, e no desenvolvimento de metodologias que forneçam descrições imparciais da dinâmica da população de anfíbios.

A maioria das pesquisas relacionadas ao declínio de anfíbios tem se concentrado na detecção do fungo patogênico *Batrachochytrium dendrobatidis*. Este fungo é o principal patógeno detectado em todo o mundo. No entanto tem-se a ocorrência de outro fungo como causa de mortalidade em Anfíbios na América do Norte: a espécie- *Saprolegnia ferax* (SALCEDO *et al*, 2011).

Os anuros são considerados bioindicadores e biocontroladores, o que os tornam suscetíveis a alterações no ambiente, tanto físicas (umidade e temperatura, por exemplo) como químicas (poluição, por exemplo). A sensibilidade de algumas espécies permite dizer que o ambiente não vai bem quando deveriam estar presentes e não estão (VERDADE *et al*, 2010). Além disso, também são considerados bioindicadores de populações de insetos, inclusive de pragas agrícolas (OLIVEIRA *et al*, 2015) sendo de suma importância para o meio ambiente.

3.4 Agentes patogênicos

Vários parasitas já foram registrados em anuros como por exemplo: bactérias, fungos, protozoários, helmintos e artrópodes. Apesar do grande número de espécies de carrapatos

existentes, apenas seis foram registradas parasitando anuros do gênero *Rhinella* no Brasil, sendo *Amblyomma dissimile* e *A. rotundatum* as mais comuns (LUZ *et al.*, 2013).

Os ácaros também podem parasitar anfíbios, principalmente os da ordem Trombidiformes, pertencentes a 5 famílias (Cloacaridae, Pterygosomatidae, Harpirhynchidae, Trombiculidae e Leeuwenhoekidae), acarretando danos aos seus hospedeiros (ROLDAN, 2015).

Segundo Hawksworth, (2001) em 1990, a magnitude da diversidade de fungos foi estimada a 1,5 milhões de espécies na Terra, tendo apenas 5% identificados até o momento. A propagação dos fungos se dá por meio de diversos fatores naturais, como a ação do vento e da chuva.

O fungo quitrídio *Batrachochytrium dendrobatidis*, pode ser considerado responsável por alguns declínios da população de anfíbios, mas permanece incerto se eles são de causas primárias ou secundárias (BEEBEE *et al.*, 2005). BENICIO *et al.* (2019) foi o primeiro a registrar a ocorrência de *B. dendrobatidis* no município de Picos-Pi em duas espécimes diferentes de anfíbios.

4 METODOLOGIA

4.1 Local de Coleta

O material de estudo obtido, foi coletado na Universidade Federal do Piauí, *Campus* Senador Helvídio Nunes de Barros-CSHNB, em Picos-PI. Nas áreas próximas aos laboratórios, blocos e o RU-Restaurante Universitário. Região de clima semiárido, com latitude de 7. 08699, longitude 41.4699 (Figura 1, A e B).

Figuras 1 A, B: Locais onde as coletas foram realizadas.



Fonte: ufpi.com.br 2021



Fonte: ufpi.com.br 2021

4.2 Estudo de campo

As coletas foram divididas de acordo com as estações seca e chuvosa, realizadas a cada trinta dias entre janeiro de 2019 a fevereiro de 2020 durante o período noturno, utilizando a metodologia por busca ativa (Autorização n° 62270-1, ICMBio, Instituto Chico Mendes de Biodiversidade). (Figura 2).

Figura 2: Espécime de *Leptodactylus macrosternum*



Fonte: Autor, 2019.

Os espécimes coletados foram analisados inicialmente por exame externo para detectar a presença de possíveis lesões, posteriormente submetidos a metodologia para identificação de fungos, por meio da aplicação de *swab* estéreo (haste flexíveis com algodão nas pontas) no seu tegumento, sendo um *swab* para cada indivíduo (Figuras 3, A e B).

Os *swabs* nos espécimes foram aplicados em seu tegumento e membros individualmente para evitar contaminação, em cada indivíduo o *swab* foi aplicado 3 vezes, em cada uma das regiões: inguinal direita e esquerda, membranas interdigitais dos membros inferiores e superiores, direito e esquerdo. Locais onde tem colonização de alguns ectoparasitos de relevância (HYATT *et al*, 2007).

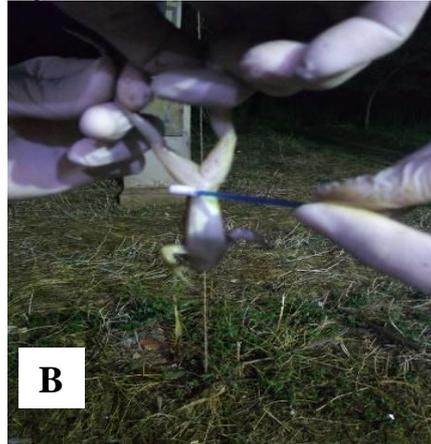
Os espécimes foram fotografados e liberados logo em seguida no local onde cada espécime foi coletado.

Figura 3 A: Exame externo, espécime de *Leptodactylus macrosternum*.



Fonte: Autor, 2019.

Figura 3 B: Aplicação do *swab* no tegumento de *L. macrosternum*.



Fonte: Autor, 2019.

4.3 Semeadura em meio de cultura

Após os procedimentos realizados em campo, os *swabs* foram encaminhados ao laboratório de Pesquisa III (Biodiversidade), para semeadura ao meio de cultura em placas de ágar sabouraud. O meio de cultura utilizou 65g de Sabourad Dextrose Ágar em um litro de água destilada, onde foi aquecida à 110°C, posteriormente adicionada em placas de Petri e incubadas por 24 horas em geladeira com temperatura 24°C a 25°C.

A aplicação ao meio de cultura foi realizada com o auxílio de luvas, máscaras, tocas, álcool 70% para limpeza da bancada, no intuito de evitar contaminação.

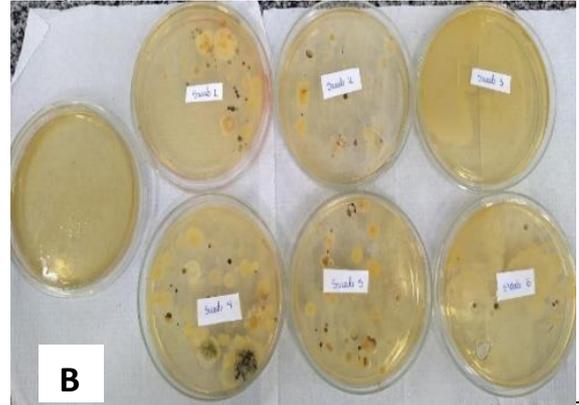
As placas semeadas foram colocadas em estufa no laboratório de microbiologia, á 37°C por um período de 72 horas. Após esse tempo as placas foram analisadas quanto ao crescimento de cultura, na qual houve a colonização em todas as placas exceto nas de controle (Figuras 4, A e B).

Figura 4 A: Placas de ágar na estufa após 24 horas. Estação seca.



Fonte: Autor, 2018.

Figura 4 B: Placas de ágar após 72 horas na estufa. Estação chuvosa.



Fonte: Aatoria, 2019.

4.3 Análise em laboratório

A identificação dos tipos de colônias de fungos em cada placa foi realizada por meio da produção de lâminas a fresco e lâminas coradas com azul de toluidina, na capela de fluxo laminar (ambiente estéril) do laboratório de microbiologia (Figura 5).

Logo em seguida, foram feitas fotografias em microscópio óptico de análise de imagem, do laboratório de oncologia, Pesquisa I (Figura 6) cujas imagens obtidas foram analisadas e identificadas até o nível de espécie, quando possível.

Figura 5: Preparação das lâminas na capela de fluxo laminar.



Fonte: Autor, 2019.

Figura 6: Identificação em microscopio óptico de análise de imagens.



Fonte: Autor, 2019.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo do trabalho, foram coletados e analisados 30 espécimes de *Leptodactylus macrosternum*, sendo 13 na estação seca e 18 na estação chuvosa. As análises das placas referentes a cada indivíduo encontrado nas estações seca continham a presença de uma a quatro tipos de colônias diferentes em cada placa (Tabela 1). Na estação chuvosa foram de uma a três tipos de colônias (Tabela 2).

Tabela 1: Relação do número de colônias e espécies de fungos por espécimes de *L. macrosternum*, nas estações seca e chuvosa.

Espécimes/Estação Seca	Número de Colônias	Espécies de Fungos
01	04	<i>Aspergillus spp</i> , <i>Levedura</i> , <i>Rhizopus sp</i> , <i>Aspergillus niger</i>
02	03	<i>Rhizopus sp</i> , <i>Levedura</i> , <i>Aspergillus spp</i>
03	02	<i>Levedura</i> , <i>Penicilium sp</i>
04	04	<i>Aspergillus spp</i> , <i>Levedura</i> , <i>Rhizopus sp</i> , <i>Aspergillus niger</i>
05	03	<i>Rhizopus sp</i> , <i>Aspergillus spp</i> , <i>Penicilium sp</i>
06	03	<i>Aspergillus spp</i> , <i>Levedura</i> , <i>Rhizopus sp</i>
07	01	<i>Aspergillus niger</i>
08	01	<i>Aspergillus niger</i>
09	01	<i>Levedura</i>
10	01	<i>Aspergillus niger</i>
11	02	<i>Levedura</i> , <i>Rhizopus sp</i>
12	02	<i>Aspergillus spp</i> , <i>Levedura</i>
Espécimes/ Estação Chuvosa		
01	03	<i>Levedura</i> , <i>Penicilium sp</i> , <i>Rhizopus sp</i>
02	02	<i>Penicilium sp</i> , <i>Rhizopus sp</i>
03	02	<i>Aspergillus spp</i> , <i>Levedura</i>
04	02	<i>Levedura</i> , <i>Penicilium sp</i>
05	02	<i>Levedura</i> , <i>Rhizopus sp</i>
06	01	<i>Rhizopus sp</i>
07	02	<i>Penicilium sp</i> , <i>Rhizopus sp</i>
08	03	<i>Aspergillus spp</i> , <i>Levedura</i>
09	01	<i>Levedura</i>
10	01	<i>Levedura</i>
11	03	<i>Aspergillus spp</i> , <i>Levedura</i> , <i>Rhizopus sp</i>
12	01	<i>Levedura</i>
13	03	<i>Penicilium sp</i> , <i>Rhizopus sp</i> , <i>Levedura</i>
14	02	<i>Penicilium sp</i> , <i>Rhizopus sp</i>

Continuação tabela 1: Relação do número de colônias e espécies de fungos por espécimes de *L. macrosternum*, nas estações seca e chuvosa.

15	01	<i>Rhizopus sp</i>
16	01	<i>Levedura</i>
17	02	<i>Penicilium sp, Levedura</i>
18	01	<i>Aspergillus niger</i>

Fonte: Autor, 2020

A maior variação quanto ao número de colônias de fungos ocorreu na estação seca onde se registrou até quatro tipos de colônias, indicando que os fungos predominam mais no clima seco. No entanto o maior número de espécimes de anuro coletado se dá na estação chuvosa por se tratar de uma espécie aquática.

Os anfíbios sofrem diversos fatores de ameaças de forma natural ou provocada, fazendo essas espécies declinar diante da perda de seu habitat e por meio de doenças emergentes (SILVA, 2018); várias destas doenças se propagam por meio de fungos, que prejudicam o seu desenvolvimento no meio ambiente podendo levar a morte.

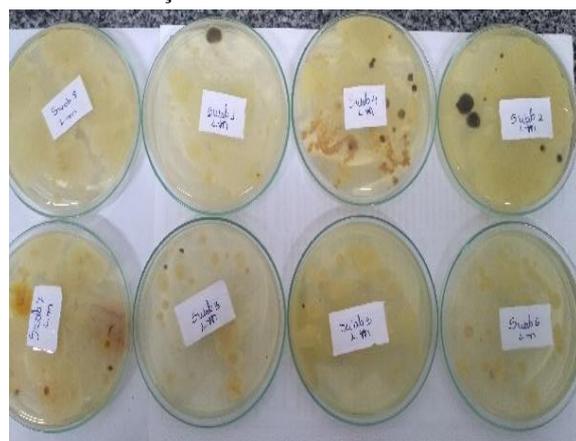
No presente estudo os espécimes analisados apresentaram pelo menos um tipo de fungo no tegumento, após os *swabs* serem semeados nas placas (Figura 6 A e B).

Figura 6 A: Placas com colônias de fungos depois de análise estação seca.



Fonte: Autor, 2019.

Figura 6 B: Placas com colônias de fungos depois de análise estação chuvosa.

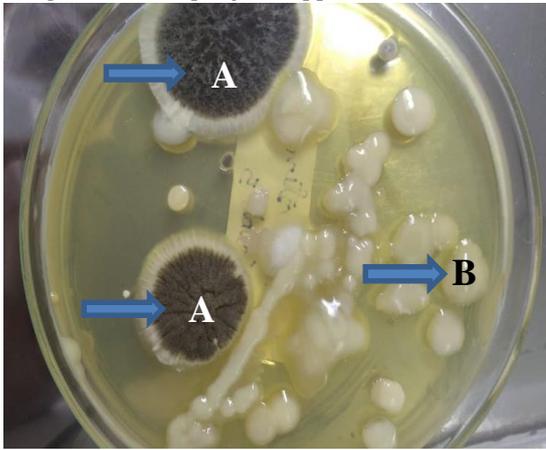


Fonte: autor, 2019.

Por meio da técnica de cultura para fungos, foram encontrados principalmente nas placas, representantes dos taxa *Aspergillus spp* (A), *Levedura* (B), *Aspergillus niger* (C),

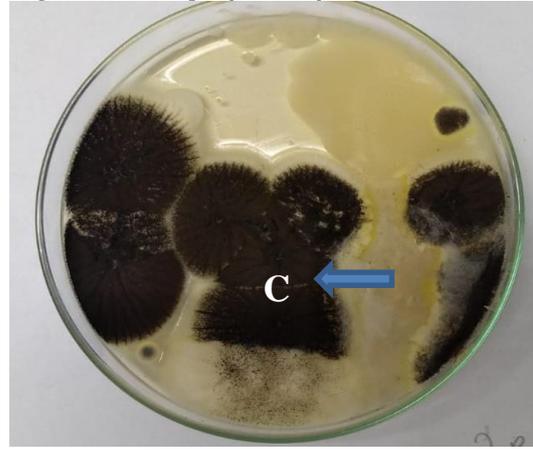
Penicilium sp (D), *Rhizopus sp* (E). (Figuras 7, 8, 9, 10, 11). Dos quais se mantiveram presentes sem alterações em ambas as estações seca e chuvosa.

Figura 7 - A *Aspergillus spp.* B- *Levedura.*



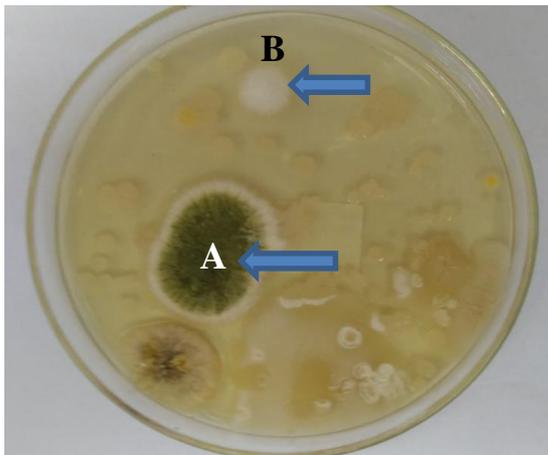
Fonte: autor, 2019.

Figura 8 - C *Aspergillus niger.*



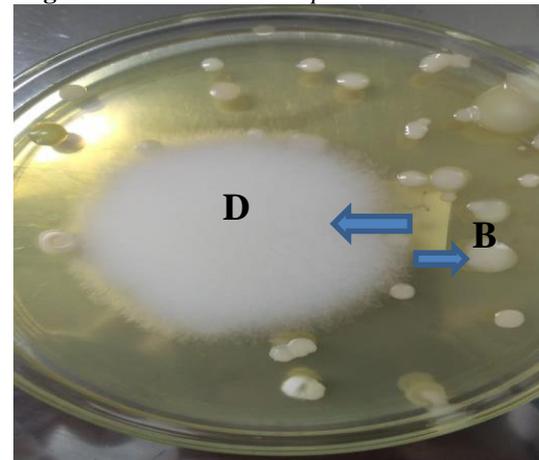
Fonte: autor, 2019.

Figura 9 - A *Aspergillus spp.* B - *Levedura.*



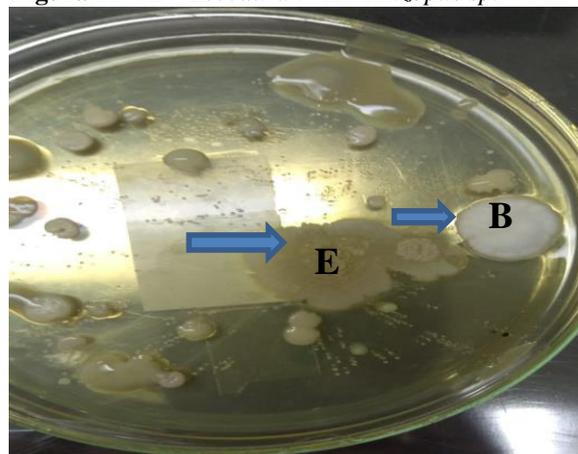
Fonte: autor, 2019.

Figura 10 - D *Penicilium sp.* B - *Levedura.*



Fonte: autor, 2019.

Figura 11 - B - *Levedura* . E - *Rhizopus sp.*



Fonte: autor, 2019.

Os fungos identificados no presente trabalho nas espécies de *L. macrosternum*, são considerados fungos não patogênicos para a espécie. De acordo com Vidal (2016) diversos anuros apresentam um arsenal químico poderoso em sua pele para utilizar como proteção contra bactérias e fungos. É de conhecimento científico que tais ectoparasitas venham ao longo do tempo adquirindo imunidade a ação de defesa dos anuros, que é usada pela liberação de veneno por meio de suas glândulas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo identificou a presença de fungos no tegumento de *Leptodactylus macrosternum* (MIRANDA-RIBEIRO,1926) ocorrentes no município de Picos-PI.

Os fungos analisados foram identificados sendo os taxa *Aspergillus niger*, *Aspergillus spp*, *Levedura*, *Penicilium sp*, *Rhizopus sp*.

Os fungos encontrados no tegumento de *L. macrosternum* são considerados fungos não patogênicos para a espécie de anuro e que fazem parte do seu habitat natural.

Nossos resultados permitem inferir que mais estudos devem ser realizados para se conhecer se existe uma função específica desses fungos encontrados com os anuros estudados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSIS, A. B. **Análise sobre a microbiota cutânea de anfíbios em fragmentos de Floresta Atlântica e sua eficácia contra agentes patogênicos.** 95 f. Dissertação. Universidade de São Paulo. São Paulo. 2011.
- BERGER, L.; SPEARE, R. *et al.* **Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America.** Pnas. 1998
- BEEBEE, T. J. C; GRIFFITHS, R. A. **A crise do declínio dos anfíbios: um divisor de águas para a biologia da conservação.** Conservação biológica. v. 125. ed. 3. 2005.
- BENÍCIO, R. A. *et al.* **Worrying News for Brazilian Caatinga: Prevalence of Batrachochytrium dendrobatidis in Amphibians.** Tropical Conservation Science v. 12. p. 1–6, 2019.
- CAREY, C. **Hypothesis concerning the causes of the disappearance of boreal toads from the mountains of Colorado.** Conservation biology, v. 7, p. 355-362, 1993.
- COSTA, T. R. N. *et al.* **Mudanças climáticas seus impactos sobre os anfíbios brasileiros.** Revista de Biologia, Brasil, v. 8, p. 33-37, jun. 2012.
- CHAVES, M. F.; TENÓRIO, F. C. M. A *et al.* **Correlations of condition factor and gonadosomatic, hepatosomatic and lipo-somatic relations of *Leptodactylus macrosternum* (ANURA: Leptodactylidae) in the Brazilian Semi-arid.** A. Acad. Bras. Ciênc. vol. 89. 2017.
- CHAVES, M. F.; MOURA, G. J. B. *et al.* **Influence of rainfall and temperature on the spermatogenesis of *Leptodactylus macrosternum* (Anura: Leptodactylidae).** Zoologia (Curitiba). v. 34. Curitiba. 2017.
- CHAVES, M. F. **Caracterização histológica e biologia reprodutiva de *Leptodactylus macrosternum* (Anura, Leptodactylidae), nordeste do Brasil.** Tese de doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. p. 85. 2016.
- FRANCINE, K. C.; JAIR, P. **Fungos aquáticos (Oomycota; Chytridiomycota) ocorrentes em anfíbios anuros na região de Santa Cruz do Sul e Venancio aires, RS, Brasil – dados preliminares.** Gramado – RS. p. 443. 2015.
- FROST, DR. **Espécies de anfíbios do mundo: uma referência online.** v. 6.0. American Museum of Natural History, Nova York, EUA. 2020.
- HADDAD, C. F. *et al.* **O aquecimento global e seus efeitos na distribuição e declínios dos anfíbios 11.** Dimensão Zoológica. Departamento de Zoologia, IB, UNESP. 2008.
- HAWKSWORTH, D.L. **The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited.** v. 105. 2001.

HYATT, A. D. *et al.* **Diagnostic assays and protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis***. Diseases of Aquatic Organisms, v. 73, n. 3 p. 175-192, 2007.

JOHNSON, P. T. *et al.* **The effect of trematode infection on amphibian limb development and survivorship**. Science, v. 284, p. 802-804, 1999.

LAMBERTINI, C. **Variação fenotípica de *Batrachochytrium dendrobatidis* como preditora de infecção em anuros da Mata Atlântica**. Dissertação (Mestrado), 2014.

LEITE, J. R. *et al.* **Phylloseptins: a novel class of anti-bacterial and anti-protozoan peptides from the *Phyllomedusa* genus**. Peptides, v. 26, n. 4, p.565-73, 2005.

LONGCORE, J. E.; PESSIER, A. P., NICHOLS, D. K. ***Batrachochytrium dendrobatidis* gen. Et sp. Nov., a chytrid pathogenic to amphibians**. Mycologia, v. 91, p. 219-227, 1999.

LUZ, H. R., FACCINI, J. L. H. **Parasitismo por carrapatos em anuros no Brasil**. 2013.

MARCIO, B. M. PATRICK, C. *et al.* **Anfíbios**. Seção III – Diagnostico – Anfíbios. p. 277. 2007.

OLIVEIRA, C.L. **Análise in vitro da atividade de secreções cutâneas de anfíbios do Cerrado brasileiro à proliferação do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis***. LONGCORE; PESSIER; NICHOLS. 70 f. Dissertação. Mestrado em Biologia Animal - Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

OLIVEIRA I.S.; FREIRE E.M.X. **Conhecimento ecológico local sobre anfíbios anuros por agricultores em sistemas agrícolas de região semiárida brasileira**. Revista Brasileira de Ciências Ambientais. 2015.

POUGH, F. H. *et al.* **A Vida dos Vertebrados**. 4ª ed – São Paulo: Atheneu, 2008.

RAMALHO, A.C.O. **Correlatos ecológicos da quitridiomiose em anuros do Cerrado**. 2015. 53 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

ROLDAN, J. A. M. **Estudos morfológicos e investigação da presença de bactérias e protozoários em ácaros (Trombidiformes), parasitos de répteis e anfíbios, no estado de São Paulo** (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo). 2015.

ROBERTO, I. J.; RIBEIRO. S. C.; LOEBMANN. D. **Anfíbios do estado do Piauí, Nordeste do Brasil: um ensaio preliminar**. Biota Neotrop. Vol. 13. no. 1. Campinas. 2013.

SALCEDO, L. D. P. *et al.* **Primer registro de *Saprolegnia* sp. en una población de anfíbios en Colombia**. Unidade de Investigações Agropecuárias (UNIDIA), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias. Colombia. 2011.

SANTOS, A. C.; ATHANAZIO, D. A. **Estratégias de regeneração em anfíbios urodelos**. Salvador. v.5, n.2, p. 160-170. 2006.

SEGALLA, M. V. *et al.* **Brazilian Amphibians: List of Species**. Herpetologia Brasileira, v. 5, n. 2, p. 34-36, 2016.

SEGALLA, M. V. CARAMASCHI, U. *et al.* **Anfíbios Brasileiros: Lista de Espécies**. Herpetol. Bras. 8 (1): 65-96. Ja. 2019.

SILVA, P. **Fungos associados à comunidade de anfíbios anuros no Parque Estadual de Dois Irmãos**, Recife-PE– Recife, 2018.

VERDADE, V. K.; DIXO, M.; CURCIO, F .F. **Os riscos de extinção de sapos, rãs e pererecas em decorrência das alterações ambientais**. Estudos Avançados, v. 24. n. 68, p. 161-172, 2010.

VIEIRA, C. A. *et al.* **Body of length of Hylodes cf. Ornatus and Lithibates catesbeianus tadpoles, depigmentation of mouthparts, and presence of Batrachochytrium dendrobatidis are related**. Brazilian Journal of Biology, v. 73, n. 1, p. 195-199, 2013.

VIDAL, D. S. M. **Síntese total de produtos naturais isolados de Edessa meditabunda (Hemiptera: Pentatomidae) e Eleutherodactylus iberia (Anura: Eleutherodactylidae)**. 2016.

VITT, L. J.; CALDWELL, J. P. **Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles**. Academic Press, 2013.

WELLS, K. D. **Pylogeny, classification, and, morphological evolution**. In: WELLS, K. D. The Ecology and behavior of amphibians. Chicago: The University of Chicago Press. P. 1- 81. 2007.



**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
“JOSÉ ALBANO DE MACEDO”**

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
() Dissertação
(x) Monografia
() Artigo

Eu, Raiane Conrado Rocha, autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de 02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar, gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação **ANÁLISE DE FUNGOS EM TEGUMENTO DE *Leptodactylus macrosternum* (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) DO SEMIÁRIDO NORDESTINO** de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 24 de março de 2021.

Raiane Conrado Rocha

Assinatura

Raiane Conrado Rocha

Assinatura