

## Efeito da Temperatura e do Fotoperíodo sobre o Desenvolvimento do Aparelho Reprodutor de Rã-Touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802)<sup>1</sup>

Mario Roberto Chim Figueiredo<sup>2</sup>, Samuel Lopes Lima<sup>3</sup>, Claudio Angelo Agostinho<sup>4</sup>,  
Fernando da Costa Baêta<sup>5</sup>

**RESUMO** - Foram avaliados os efeitos da temperatura e do fotoperíodo sobre a maturação sexual de rãs-touro pesando 94,22 g ± 12,03, mantidas durante trinta dias em temperaturas de 20, 23, 26, 29, 32 e 35°C, com fotoperíodo de 12/12 horas de luz/horas de escuridão (h L/E). A temperatura afetou os pesos do corpo gorduroso e do fígado, os quais variaram de acordo com modelos quadráticos, estimando-se maiores pesos de corpo gorduroso a 27,27°C e de fígado a 26,81°C. Estimaram-se ovários mais pesados a 28,36°C e ovidutos mais pesados a 28,77°C. Temperatura afetou a maturação sexual das rãs, avaliada por índices numéricos. Num experimento mais longo, rãs com peso médio inicial de 95,31 ± 8,46 g foram submetidas à combinação das temperaturas de 26 e 29°C com os fotoperíodos de 8/16, 12/12 e 16/8 h L/E, até atingirem a maturidade gonadal. Temperatura interagiu com fotoperíodo em seus efeitos sobre o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos de rã-touro. Temperatura afetou a relação diâmetro do abdômen/distância entre os olhos, com maiores valores calculados para 26°C. Verificou-se que os maiores diâmetros dos ovócitos são obtidos a uma temperatura de 26°C, com fotoperíodo de 12,6/11,4 h L/E.

Palavras-chave: ambiente, desenvolvimento, fotoperíodo, maturação, rã-touro, reprodução, temperatura

## Effect of the Temperature and the Photoperiod on the Development of Bullfrog (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) Reproduction Apparel

**ABSTRACT** - The effects of the temperature and of the photoperiod on the bull frog sexual maturation of frogs weighing 94.22 g ± 12.03, maintained for thirty days under temperatures of 20, 23, 26, 29, 32 and 35°C, with photoperiod of 12/12 hours of light/hours of darkness (h L/D), were evaluated. Temperature affected the weights of the fat body and liver, that varied according to quadratic models, and higher weights of fat body at 27.27°C and of liver at 26.81°C were considered. The ovaries heavier than 28.36°C and oviducts heavier than 28.77°C were estimated. Temperature affected the sexual maturation of the frogs, evaluated by numeric indexes. In a longer experiment, frogs with initial weight of 95.31 g ± 8.46, were submitted to the combination of the temperatures of 26.0 and 29.0°C with photoperiods of 8/16, 12/12 and 16/8 h L/D, until they reach the gonadal maturity. Temperature interacted with photoperiod in its effects on the development of the reproductive organs of bullfrog. Temperature affected the diameter of the abdomen/ distance relation between the eyes, with higher values calculated for 26°C. It was considered that the highest oocytes diameters are obtained under a temperature of 26.0°C, with photoperiod of 12.6/11.4 h L/D.

Key Words: bullfrog, environment, development, maturation, photoperiod, reproduction, temperature

### Introdução

O controle da reprodução de rã-touro em cativeiro tem sido grande preocupação dos pesquisadores e criadores (AGOSTINHO et al., 1994; AGOSTINHO et al., 1998), pois, além de facilitar a realização de pesquisas de melhoramento genético da espécie em laboratórios especializados e de outro lado, permite aos criadores o controle absoluto do seu plantel, com desovas na época que mais conviesse ao seu projeto de produção.

De acordo com SALTHER e MECHAM (1974), em regiões tropicais e subtropicais, a temperatura raramente é um fator limitante e a reprodução da maioria das espécies de *Anura* ocorre em função das chuvas. Em regiões temperadas, as temperaturas mais frias do outono e do inverno afetam a secreção de gonadotropina pela hipófise na maioria das espécies estudadas e, além disso, alteram a sensibilidade do epitélio germinal aos hormônios gonadotrópicos. Padrões cíclicos estão correlacionados entre si e ajustados a mudanças sazonais, sendo a temperatura

<sup>1</sup> Parte da tese (Doutorado - Zootecnia) do primeiro autor junto à UFV - Bolsa CAPES e Apoio CNPq.

<sup>2</sup> Prof. Adj. Fundação Univ. Federal do Rio Grande, D.Oc., LAC, C.P. 474, 96201-900, Rio Grande, RS. E.mail: docchim@super.furg.br

<sup>3</sup> Prof. aposentado da Univ. Federal de Viçosa, DBA, Ranário Experimental, 36571-000, Viçosa, MG. E.mail: samuel@mail.ufv.br

<sup>4</sup> Prof. Ass. Dr. Dep. Prod. e Exploração Animal, FMVZ, UNESP. C.P. 560. 18618-000 - Botucatu, SP.

<sup>5</sup> Prof. Tit. Univ. Federal de Viçosa, Dep. Engenharia Agrícola, 36571-000, Viçosa, MG.

o fator mais importante, mas podem ser citadas ainda a alimentação, a luz, a chuva, entre outros. Existem muitas evidências indicando o papel dominante da temperatura na regulação dos ciclos reprodutivos em rãs e sapos. Contudo, para que a temperatura tenha efeito sobre a reprodução, há necessidade de que as rãs estejam a ela sensíveis, o que depende de um ritmo circadiano endógeno (BEATTIE, 1985). Os efeitos que a temperatura e a estação do ano (o que pode ou não ser dependente dos efeitos da temperatura) exercem sobre as atividades metabólicas e sexuais de *Amphibia* parecem estar relacionados a alterações endócrinas e a possível superposição dessas alterações com ritmos biológicos inerentes no organismo.

Monitorando o desenvolvimento reprodutivo de rã-touro no sistema Anfigranja, COSTA (1992) verificou aumento significativo na frequência de exemplares em maturação avançada no período de novembro a janeiro, coincidindo com o período de fotoperíodo longo e temperatura em ascensão.

A luz não tem seu papel bem definido para os anuros (SALTHER e MECHAM, 1974). Contudo, sabe-se que *Amphibia* mantidos em laboratórios ajustam seus estados fisiológicos às condições de luz oferecidas (EASLEY et al., 1979).

O fotoperíodo poderia ter papel regulador no ciclo reprodutivo de alguns anuros. HORSEMAN et al. (1978), investigando a influência do fotoperíodo sobre a maturação gonadal de fêmeas de rã-touro, em condições de laboratório, concluíram que um fotoperíodo de 12/12 (L/E) evitou a regressão dos ovários.

FONTANELLO et al. (1984) verificaram, em ranário comercial, que a temperatura ambiente e o fotoperíodo são os fatores abióticos que mais influenciam a reprodução de rã-touro, sendo a temperatura ótima para a reprodução em torno de 20°C. Observações semelhantes foram feitas por CULLEY JR. et al. (1978), em condições de laboratório, e por RYAN (1980) e WOLLBRIGHT (1983), em estudos feitos no campo.

IELA et al. (1980) verificaram que um ambiente controlado (luz e temperatura) pode alterar os níveis de andrógenos circulantes nos machos de rãs-verde (*Rana esculenta*), tratadas em diferentes fases do ciclo testicular, embora esses animais possuam potencialmente um tipo de espermatogênese contínua. Verificaram também que a atividade gonadotrópica da hipófise, a resposta dos testículos às gonadotropinas da hipófise e a resposta de órgãos periféricos alvos do andrógeno não são igualmente sensíveis à temperatu-

ra. Estudos histológicos já haviam comprovado que temperaturas elevadas estimulavam a secreção de gonadotropinas pela hipófise (IELA et al., 1980) e também a espermatogênese, enquanto o reverso acontecia em temperaturas muito baixas.

A ocorrência sazonal de chuvas influencia claramente a atividade reprodutiva em muitos anuros, mas o seu papel ainda não está muito claro. É sabido que os machos em muitas espécies tropicais regridem seus caracteres sexuais secundários, na estação da seca (Noble, 1931, citado por SALTHER e MECHAM, 1974), supondo-se que de alguma forma a chuva exerça apenas papel secundário na atividade reprodutiva.

As maiores taxas metabólicas coincidem com o período de reprodução (primavera), sendo as menores taxas metabólicas observadas no início do inverno. O trabalho de síntese bioquímica, como aquele empregado na produção dos ovócitos, por exemplo, pode estar relacionado a outras atividades que proporcionam nutrientes para a atividade reprodutiva. No caso da *Rana pipiens*, há um aumento de 200 a 700% no total de substâncias lipídicas do ovário durante a maturação da gônada (Boyd, 1938, citado por BROWN JR., 1964).

As diferenças sazonais observadas no metabolismo de *Amphibia* representam a transição entre a utilização de energia para a reprodução (nos adultos a energia é dirigida para um esforço reprodutivo, com a produção de ovócitos e esperma, além do comportamento das rãs em época de acasalamento) e a preparação de reservas suficientes para que as rãs possam suportar os invernos mais rigorosos (BRATTSTROM, 1979).

Ocorrem alterações nos níveis de glicogênio no fígado e nos músculos, glucose no sangue e lipídios no corpo de rãs nas diversas estações do ano, verificando-se considerável hiperglicemia no verão, ao mesmo tempo em que há rápido desenvolvimento do corpo gorduroso (Pasanen e Koskela, 1974, Koskela e Pasanen, 1975, Byrne e White, 1975, citados por BRATTSTROM, 1979).

Segundo BROWN JR. (1964), enquanto o corpo gorduroso não estiver com suficiente estocagem de gordura, nem houver glicogênio no fígado, os valores de açúcar no sangue estarão baixos (inferiores a 40 mg/100 mL). O maior desenvolvimento do corpo gorduroso ocorre no período não-reprodutivo. Entretanto, durante o inverno, o teor de lipídios decresce gradativamente, em consequência do seu uso como uma fonte de energia. Segue-se uma rápida e grande

depressão do corpo gorduroso, em razão da estação reprodutiva. Esta depressão, também observada por PASANEN e KOSKELA (1974), que encontraram os menores pesos do corpo-gorduroso de *Rana temporaria* na primavera, depois da desova, foi confirmada por COSTA (1992) em estudo do ciclo reprodutivo da rã-touro no sistema Anfigranja. Para rã-touro, a relação lipossomática (RLS) atingiu o seu valor máximo, tanto para machos quanto para fêmeas, quando se encontravam no estágio 3 (maturação intermediária) reduzindo-se no estágio 4 (maturação avançada) para valores semelhantes aos observados no estágio 1 (juvenil). A tendência de queda dos valores de RLS persistiu no período compreendido entre setembro e fevereiro (estação reprodutiva no hemisfério sul).

#### *Avaliação do amadurecimento sexual*

Várias têm sido as técnicas preconizadas para identificação dos estádios de desenvolvimento gonadal das rãs, seja com rãs vivas ou mortas. Na maioria das vezes, os caracteres sexuais secundários são suficientes para identificar os machos aptos para a reprodução, cujas gônadas estão maduras. Contudo, para as fêmeas vivas, há necessidade de se lançar mão de medidas correlacionadas com a reprodução para identificar seu estágio aproximado de maturação gonadal.

A evolução da relação entre o diâmetro do abdômen e a distância entre os olhos indica o desenvolvimento das gônadas e do corpo gorduroso das rãs, sinais de amadurecimento sexual (CULLEY JR. et al., 1982), confirmado por CULLEY JR. e FALCON (1995), com informações pessoais.

HORSEMAN et al. (1978) propuseram uma escala de maturação ovariana para rã-touro com base na contagem diferencial dos tipos ovocitários presentes nos ovários e estabeleceram os estádios de desenvolvimento ovariano I, II, III, IV e V ou 0 (reabsorção). Partindo de análises macroscópicas e microscópicas de gônadas de machos e fêmeas de rã-touro, COSTA (1992) propôs a identificação do ciclo de desenvolvimento ovariano através dos estádios de maturação gonadal 1 (juvenil), 2 (início de maturação), 3 (maturação intermediária), 4 (maturação avançada) e 5 (esgotado).

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar os efeitos da temperatura e do fotoperíodo sobre o desenvolvimento do aparelho reprodutor de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) criada em ambiente controlado artificialmente e determinar as faixas ou valores da temperatura e do fotoperíodo que tornam mais precoce a sua maturação sexual.

## Material e Métodos

Os experimentos foram realizados em sala climatizada do Ranário Experimental da Universidade Federal de Viçosa, utilizando seis estufas climatizadas (FIGUEIREDO, 1996), com duas gaiolas cada: gaiola 1 - a de cima e gaiola 2 - a de baixo (Figura 1).

A marcação das rãs foi feita com o corte de artelhos, de acordo com o método modificado de MARTOF (1953).

As rãs foram alimentadas *ad libitum*, utilizando-se ração extrusada comercial, para trutas em crescimento.

#### *Experimento 1*

Em cada gaiola foram colocadas 25 rãs para um período de 15 dias de adaptação às condições experimentais, mantidas a uma temperatura constante de 25°C. Após este período, 180 rãs foram selecionadas entre as mais uniformes, com peso médio inicial de 94,23g ± 12,03, e distribuídas aleatoriamente, 15 em

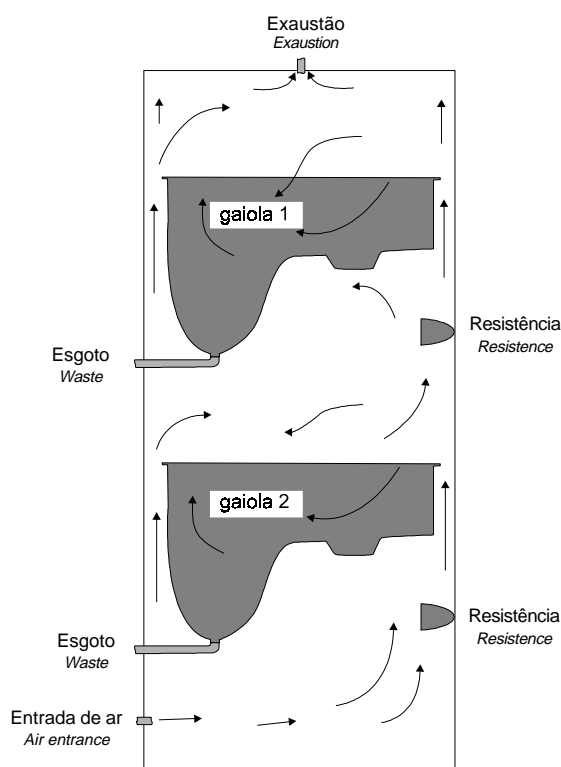


Figura 1 - Estufas climatizadas utilizadas para experimentos de ambiência com rãs-touro na fase de recria.

Figure 1 - Acclimatized stoves used for environmental experiments with bullfrogs in the growing phase.

cada gaiola. Entre os animais adaptados, foram tomadas, ao acaso, dez rãs (cinco machos e cinco fêmeas), destinadas ao sacrifício mediante insensibilização pelo rompimento da medula, para coleta de órgãos indicadores do seu estágio de desenvolvimento gonadal, constituindo-se o grupo de testemunhas.

Durante 30 dias, as temperaturas das estufas foram mantidas em 20, 23, 26, 29, 32 e 35°C, com variação de  $\pm 0,5^\circ\text{C}$  para cada tratamento, com fotoperíodo constante, de 12/12 horas de luz/horas de escuridão (h L/E), com 500 lux de intensidade durante o dia.

No final do experimento, todas as rãs foram pesadas e tiveram seus comprimentos medidos. Uma amostra de cinco machos e cinco fêmeas de cada gaiola foi destinada ao sacrifício para pesagem do fígado e do corpo gorduroso das dez rãs, do ovário e do oviduto das fêmeas e dos testículos dos machos. De acordo com o aspecto macroscópico das gônadas e do exterior das rãs, foram atribuídos valores de 0,0 a 2,0, como índice de maturação (0 = juvenil; 0,5 = imaturo; 1 = início de maturação; 1,5 = em maturação avançada; 2 = maduro).

### Experimento 2

Neste experimento, permitiu-se às rãs atingir a maturidade sexual em temperaturas de 26 e 29°C e fotoperíodos de 8/16, 12/12 e 16/8 h L/E, com intensidade de 500 lux, nas horas de luz. A temperatura foi controlada por termostatos e todas as luzes desligadas na mesma hora (19 horas), variando a hora em que eram acesas em cada uma das estufas, controladas por "timer". Na Tabela 1 é apresentada a distribuição dos tratamentos.

Foram selecionadas 300 rãs com peso médio de 95,31 g  $\pm$  8,46 e comprimento médio de 106,25 mm  $\pm$  4,25, as quais foram marcadas e colocadas em baias climatizadas, com fotoperíodo de 12/12 horas (luz e escuridão) e temperatura de 26°C  $\pm$  1°C, para recuperação do estresse da marcação e adaptação às instalações, por 15 dias.

Todas as rãs foram então pesadas e tiveram seus comprimentos medidos, descartando-se os extremos e selecionando-se 17 rãs, entre as mais uniformes, para cada gaiola (um total de duzentos e quatro rãs). Com o objetivo de compor uma amostra representativa do desenvolvimento gonadal inicial, duas rãs foram tomadas ao acaso de cada gaiola para o sacrifício, retirando-se e pesando-se o fígado, as gônadas (ovário e oviduto das fêmeas e testículo dos machos), o corpo gorduroso e a carcaça. Neste experimento, além do peso e do comprimento, foram medidos o diâmetro do

Tabela 1 - Controle da temperatura e dos fotoperíodos nas estufas climatizadas

Table 1 - Temperature and photoperiod control into acclimatized stoves

Estufa Stove	Temperatura Temperature	Fotoperíodo Photoperiod	Ligar a luz to tie the light	Desligar a luz to turn off the light
01	26°C	12/12	7 h	19 h
02	29°C	12/12	7 h	19 h
03	26°C	16/8	3 h	19 h
04	29°C	8/16	11 h	19 h
05	26°C	8/16	11 h	19 h
06	29°C	16/8	3 h	19 h

abdômen e a distância entre os olhos das fêmeas, conforme esquema mostrado na Figura 2.

Foi utilizado um delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados, num esquema fatorial de 3 x 2 x 2, com três fotoperíodos, duas temperaturas e duas gaiolas, com duas repetições para diâmetros dos ovócitos, pesos de ovário, oviduto e testículos e quatro repetições para pesos do fígado e dos corpos gordurosos.

Foram realizadas biometrias com intervalos de 10 a 11 dias.

Após o primeiro mês de tratamento, foram tomadas ao acaso quatro rãs de cada gaiola para sacrifício, pesando-se os órgãos citados acima, sendo anotado o estágio de maturação das fêmeas, de acordo com

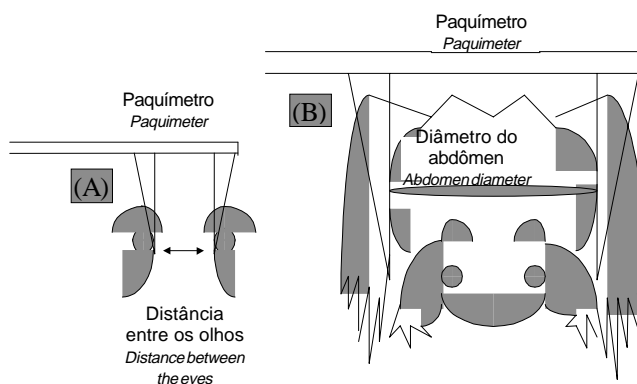


Figura 2 - Representação esquemática do método de leitura da distância entre os olhos (A) e do diâmetro do abdômen (B), considerando uma rã em decúbito ventral, pressionada sobre a mesa.

Figure 2 - Schematic representation of the method of reading of the distance among the eyes (A) and of the diameter of the abdomen (B), considering a frog in ventral decubitus, pressed on the table.

observação macroscópica. Restaram dez rãs por gaiola, já que se descartou uma rã além das quatro sacrificadas.

Outras duas rãs de cada gaiola foram sacrificadas após o segundo mês, para verificação do estágio de maturação. Nesta oportunidade, foi feito descarte pelos extremos, nas gaiolas em que não houve mortalidade, deixando-se seis rãs em cada gaiola.

Finalmente, 90 dias após o início do experimento, duas fêmeas de cada gaiola foram submetidas à extração cirúrgica de um fragmento do ovário e as rãs que restaram foram sacrificadas para avaliação macroscópica do estágio de desenvolvimento gonadal e para a morfometria da carcaça, das gônadas, do fígado e do corpo gorduroso.

#### *Laparotomia com biópsia de fragmento do ovário*

A biópsia de um fragmento do ovário das fêmeas selecionadas aleatoriamente tinha como finalidade possibilitar a medida dos diâmetros dos ovócitos sem o sacrifício das rãs.

As rãs que se encontravam em jejum foram deixadas por 15 min em água resfriada com gelo até reduzirem seus movimentos. Em seguida, tiveram as quatro patas amarradas com barbante de algodão e foram distendidas em decúbito dorsal sobre uma placa de gelo, numa bandeja de plástico. Para evitar queimaduras, uma lâmina de água foi colocada sobre o gelo antes de se fixar as rãs. Toda a área abdominal foi pincelada com algodão embebido em álcool iodado para uma assepsia do local da cirurgia.

Quando cessaram os reflexos da rã, utilizando-se um bisturi com lâmina 10, foi feita uma incisão latero-ventral com 1,5 a 2,0 cm de comprimento, na parte baixa do abdômen, cortando-se a pele e, em seguida, o peritônio. A abertura foi dilatada com o auxílio de duas pinças hemostáticas (uma de cada lado) e o corpo gorduroso, retirado da cavidade abdominal, com auxílio de pinças, até que se encontrasse o ovário. Pinçado, dele se extraía um fragmento com o auxílio de uma tesoura de ponta romba.

Concluída a operação, o corpo gorduroso foi devolvido à cavidade abdominal, suturando-se o peritônio com fio de catagute 00 agulhado, com ponto contínuo simples. A pele foi suturada com fio de náilon 02 e agulha curva triangular cinco, com pontos simples.

Logo após a cirurgia, foi aplicada uma dose de 0,1 mL (2000 UI) de Pentabiótico por via intramuscular, na coxa das rãs, com o objetivo de prevenir infecções pós-cirúrgicas.

Os fragmentos de ovário foram colocados em solução de Ringer, descrita por MENIN (1994), em

vidros de penicilina etiquetados de acordo com o número do animal doador, para posterior medida dos ovócitos.

As rãs operadas foram deixadas em recuperação numa baia climatizada com piso do modelo da Anfigranja, a 26°C, recebendo o tratamento de rotina desse sistema de criação.

Tomando-se os fragmentos de ovários em placas de Petri, utilizando-se uma lupa binocular equipada com uma ocular micrométrica devidamente calibrada, mediu-se o diâmetro de 15 ovócitos de cada fragmento, espalhados delicadamente com o auxílio de uma agulha histológica.

#### *Análise dos resultados*

Os resultados foram analisados pelo Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), preconizado por UFV (1983). Tratando-se de parâmetros quantitativos, foi feita a análise de variância e, em seguida, a análise de regressão dos dados.

### **Resultados e Discussão**

Os resultados obtidos no Experimento 1 estão apresentados na Tabela 2.

Houve efeitos significativamente diferentes das diversas temperaturas sobre os pesos dos corpos gordurosos ( $P \leq 0,01$ ) e do fígado ( $P \leq 0,05$ ). Da mesma forma, as relações lipossomáticas (RLS) e hepatossomáticas (RHS) foram significativamente afetadas pela temperatura ( $P \leq 0,01$ , para RLS e  $P \leq 0,05$ , para RHS). A temperatura tem influência decisiva sobre o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos ou relacionados à reprodução, conforme era previsto por SALTHER e MECHAM (1974), FONTANELLO et al. (1984), BEATTIE (1985), entre outros.

Houve efeito significativo da posição das gaiolas sobre o peso final dos órgãos extraídos das rãs, possivelmente porque houve aquecimento sempre maior nas gaiolas da série 1, as de cima, em relação às gaiolas da série 2, as de baixo, em virtude do movimento convectivo do ar quente.

A análise de regressão (Figura 3) mostrou que tanto os pesos do corpo gorduroso (y, acima), quanto os pesos do fígado (y, abaixo), variaram em função da temperatura (x), de acordo com um modelo quadrático. Estima-se que os maiores pesos de corpo gorduroso (6,03 g) serão obtidos com temperatura de 27,27°C enquanto os maiores pesos de fígado (6,07 g), a 26,81°C, confirmando a expectativa de aumento de peso do corpo gorduroso, em função da elevação da temperatura, prevista por BROWN JR. (1964),

Tabela 2 - Desenvolvimento dos órgãos reprodutivos ou relacionados com a reprodução, em rãs submetidas a diferentes temperaturas

Table 2 - Development of the reproductive organs or related with the reproduction of frogs under different temperatures

Temperatura Temperature	Peso do fígado (g) Liver weight (g)	Peso do corpo gorduroso (g) Fat body weight (g)	Relação hepatossomática (%) Hepatosomatic relation (%)	Relação lipossomática (%) Liposomatic relation (%)	Maturação (*) Maturation
25°C(**)	4,70 <sup>AB</sup>	3,83 <sup>BC</sup>	4,50 <sup>A</sup>	3,67 <sup>AB</sup>	0,000 <sup>D</sup>
23°C	5,39 <sup>AB</sup>	5,18 <sup>AB</sup>	4,27 <sup>AB</sup>	4,14 <sup>A</sup>	1,375 <sup>AB</sup>
26°C	6,06 <sup>A</sup>	5,87 <sup>A</sup>	4,27 <sup>AB</sup>	4,21 <sup>A</sup>	2,000 <sup>A</sup>
29°C	5,79 <sup>A</sup>	5,97 <sup>A</sup>	4,21 <sup>AB</sup>	4,41 <sup>A</sup>	1,625 <sup>BC</sup>
35°C	3,06 <sup>B</sup>	3,10 <sup>C</sup>	3,00 <sup>B</sup>	3,04 <sup>B</sup>	0,375 <sup>CD</sup>
D.P.(s)(***)	2,34	1,87	1,19	0,92	0,7470

(\*) 0 = juvenil; 0,5 = imaturo; 1 = início de maturação; 1,5 = em maturação avançada; 2 = maduro.  
0 = juvenile; 0,5 = immature; 1 = beginning of maturation; 1,5 = in advanced maturation; 2 = mature.

(\*\*) Testemunha (Control).

(\*\*\*) Desvio-padrão (Standard deviation).

Médias seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente ( $P > 0,05$ ), de acordo com o teste de Newman Keuls.  
Means within column followed by equal letters, do not significantly differ ( $P > .05$ ), according to Newman-Keuls test.

BRATTSTROM (1979), entre outros, indicando a preparação dos animais para a reprodução. Quanto aos pesos (y) do ovário (acima) e do oviduto (abaixo), a análise de regressão evidenciou que suas variações em função da temperatura (x) se ajustaram a modelos quadráticos (Figura 4). Foram estimados maiores pesos de ovário a 28,36°C (3,53 g) e maiores pesos de oviduto a 28,77°C (2,76 g). Naturalmente essas temperaturas determinadas experimentalmente são compatíveis com as temperaturas do período que

antecede o verão, época indicada por BROWN JR. (1964), BRATTSTROM (1979) e COSTA (1992), para a reprodução da espécie.

Aplicando-se índices numéricos para identificar visualmente o estágio de maturação gonadal das rãs, verificou-se efeito significativamente diferente ( $P \leq 0,01$ ) das diversas temperaturas sobre a maturação sexual, encontrando-se rãs mais maduras a 26°C (Figura 5).

No final do experimento 2, a relação entre o

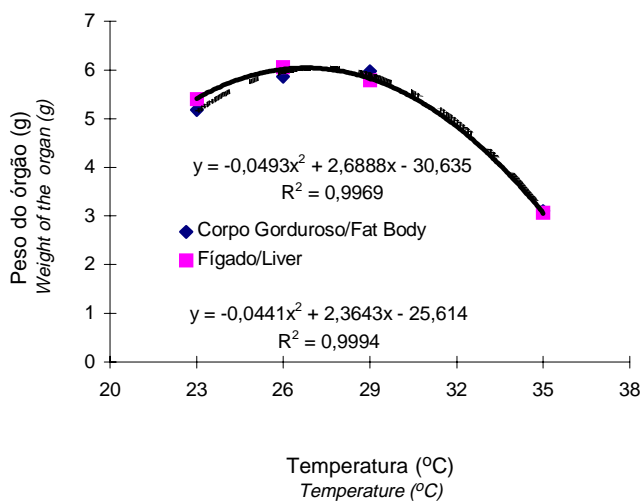


Figura 3 - Estimativa dos pesos do corpo gorduroso (equação de cima) e do fígado (abaixo) de rãs-touro submetida a diferentes temperaturas.

Figure 3 - Estimate of the weights of the fat body (equation above) and livers (equation below), of bullfrogs under different temperatures.

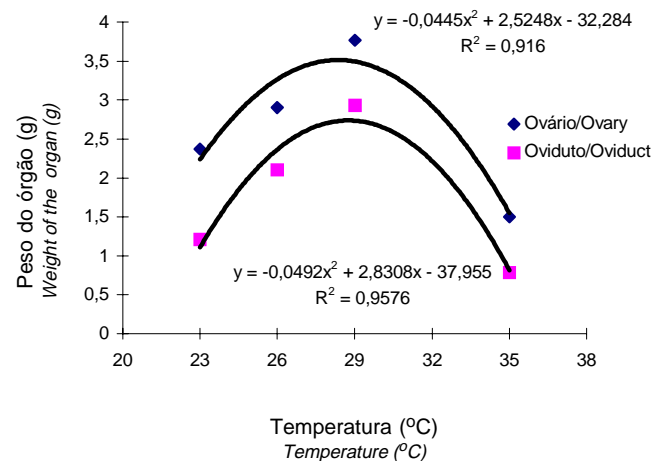


Figura 4 - Estimativa dos pesos dos ovários (acima) e dos ovidutos (abaixo) de rãs-touro submetida a diferentes temperaturas.

Figure 4 - Estimate of the weight of the ovaries (above) and oviducts (below), of bullfrogs under different temperatures.

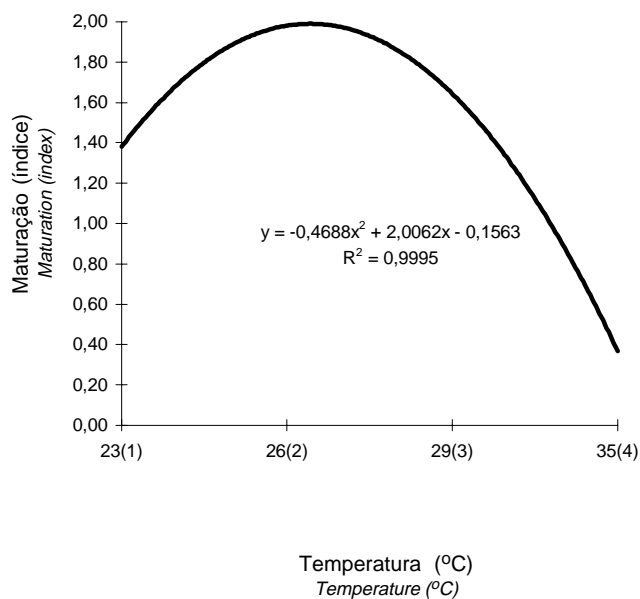


Figura 5 - Maturação das rãs em função da temperatura ambiente.

Figure 5 - Maturation of the frogs according to environmental temperature.

diâmetro do abdômen e a distância entre os olhos, a 29°C (média da relação = 2,95), foi inferior ao valor mínimo de 3,0, indicado por CULLEY JR. et al. (1982) como referência das fêmeas maduras. A 26°C, contudo, a média da relação de 3,04, ultrapassou aquele valor mínimo, significando que as fêmeas atingiram a maturidade gonadal. A análise de variância mostrou que houve efeito da temperatura ( $P \leq 0,01$ ) sobre essa relação, que, contudo, não foi afetada pelo fotoperíodo nem pela interação temperatura e fotoperíodo.

Os valores médios obtidos na última biometria dos órgãos relacionados com a reprodução ou indicadores de maturação gonadal estão apresentados na Tabela 3.

Os pesos dos órgãos extraídos dos animais sacrificados no final do experimento não apresentaram diferenças significativas em função das temperaturas (26 e 29°C) nem dos fotoperíodos. Também as relações lipossomática (RLS), hepatossomática (RHS) e gonadossomática (RGS) não sofreram efeitos significativamente diferentes das temperaturas nem dos fotoperíodos. Foi significativa a interação entre os efeitos de temperatura e fotoperíodo sobre os pesos de ovários e ovidutos, assim como sobre a RGS, verificando-se os maiores valores no trata-

mento com temperatura de 26°C e fotoperíodo de 16/8 h L/E.

A análise de variância das medidas dos diâmetros dos ovócitos evidenciou que os efeitos dos tratamentos (temperaturas de 26 e 29°C e fotoperíodos de 8/16, 12/12 e 16/8 h L/E) não diferiram significativamente entre si, mas houve efeito significativo ( $P \leq 0,05$ ) da interação temperatura e fotoperíodo. Para ambas as temperaturas de 26 e 29°C, os diâmetros dos ovócitos (y) ajustaram-se a modelos quadráticos em função do fotoperíodo (x) (Figura 6). Estima-se que, na temperatura de 26°C, o fotoperíodo de 12,6/11,4 h L/E estimula a produção de ovócitos de maior diâmetro (42,83 µm). Tanto a 26°C como a 29°C, os fotoperíodos curtos (8/16 h L/E) e longos (16/8 h L/E) não favorecem o desenvolvimento ovocitário.

Todas as fêmeas utilizadas para retirada dos fragmentos de ovário recuperaram-se totalmente das cirurgias e os pontos foram eliminados pela pele, sem a necessidade de serem retirados. Essas rãs permaneceram nas baias de recuperação até sua utilização para reprodução.

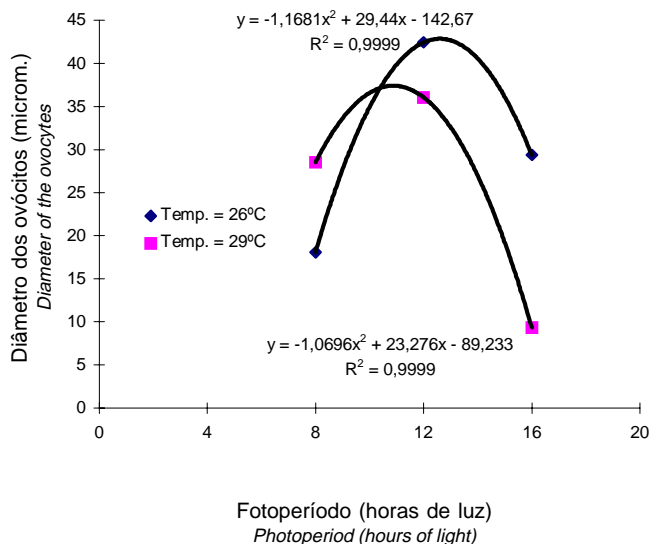


Figura 6 - Estimativa dos diâmetros dos ovócitos de rãs-touro, em função do fotoperíodo, para as temperaturas de 26 e 29°C.

Figure 6 - Estimate of the bullfrog oocytes diameter, according to photoperiod, for the temperatures of 26 and 29°C.

Tabela 3 - Resultado da biometria dos órgãos extraídos das rãs abatidas no final do experimento 2  
 Table 3 - Result of the biometry of organs extracted from frogs slaughtered at the end of experiment 2

Fotop. (*) <i>Photoperiod</i>	Temp. (°C) <i>Temperature</i>	Fígado (g) <i>Liver</i>	C. gord.(g) <i>Fatbody</i>	Ovário (g) <i>Ovary</i>	Oviduto (g) <i>Oviduct</i>	RGS (**)	RHS (***)	RLS (****)
8	26	6,66	7,75	3,38	1,52	1,87	4,96	5,81
8	29	5,12	6,73	1,71	0,63	1,34	4,13	5,38
12	26	4,58	5,53	0,99	0,14	0,22	4,08	4,91
12	29	7,02	8,29	1,33	0,59	0,43	4,74	5,51
16	26	7,55	10,60	5,56	3,67	2,33	4,21	5,90
16	29	5,83	6,72	1,19	0,41	0,77	4,80	5,50

(\*) Fotoperíodo = horas de luz em 24 horas (*Hours of light at 24 hours*).

(\*\*) RGS = Relação gonadossomática (%) (*Gonad-somatic relation*).

(\*\*\*) RH = Relação hepatossomática (%) (*Hepato-somatic relation*).

(\*\*\*\*) RL = Relação lipossomática (%) (*Lipo-somatic relation*).

## Conclusões

A temperatura e o fotoperíodo controlados artificialmente afetam o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos das fêmeas de rã-touro.

A maturação sexual de rã-touro pode ser controlada pela temperatura, obtendo-se os melhores desenvolvimentos gonadais entre 26 e 29°C.

Os maiores diâmetros dos ovócitos foram estimados a 26°C, com fotoperíodo de 12,6/11,4 h L/E, indicando ser esta a condição recomendada para se obter a maturação de rã-touro.

A retirada de fragmentos de ovários de rã-touro para avaliar o estágio de desenvolvimento gonadal é uma prática viável em laboratórios de pesquisa, podendo ser útil em estudos de reprodução e melhora-mento genético de rã-touro.

## Referências Bibliográficas

- AGOSTINHO, C.A., AYUB, C.L.S.C., VALLES, G. A. et al. 1994. Reprodução e Genética. In: LIMA, S. L., FIGUEIREDO, M.R.C., MOURA, O.M. (Eds.) *Diagnóstico da ranicultura: problemas, propostas de soluções e pesquisas prioritárias*. Viçosa, MG: ABETRA. p.48-56.
- AGOSTINHO, C.A., NICTHEROY, P.E.O., PINHEIRO, D.F. et al. Técnica de fertilização artificial em rã-touro (*Rana catesbeiana*). In: REUNIÃO ANUAL DE SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu, SP. *Anais...* Botucatu, SP: SBZ, 1998. p.152-153.
- BEATTIE, R.C. 1985. The date of spawning in populations of the common frog (*Rana temporaria*) from different altitudes in northern England. *J. Zool. Lond.*, A(205):137-154.
- BRATTSTROM, B.H. 1979. Amphibian temperature regulation studies in the field and laboratory. *Amer. Zool.*, 19(único):345-356.
- BROWN JR., G.W. 1964. The metabolism of amphibia. In: MOORE, J.A. (Ed.) *Physiology of the amphibia*. New York: Academic Press. p.1-98.
- COSTA, C.L.S. *Desenvolvimento do aparelho reprodutor e fatores associados ao ciclo reprodutivo da rã-touro (Rana catesbeiana), no sistema anfigranja*. Viçosa, MG: UFV, 1992. 98p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 1992.
- CULLEY JR., D.D., MEYERS, S.P., DOUCETTE JR., A.J. Current status of amphibian culture with emphasis on nutrition, diseases and reproduction of the bullfrog, *Rana catesbeiana*.

- In: ANNUAL MEETING OF THE WORLD MARICULTURE SOCIETY, 1978, Baton Rouge. *Proceedings...* Baton Rouge, 1978. p.653-669.
- CULLEY JR., D.D., OTHMAN, A.M., EASLEY, R.A. 1982. Predicting ovulation in the frog *Rana catesbeiana* by morphometry. *J. Herpet.*, (3):311-314.
- CULLEY JR., D.D., FALCON, G.M. Workshop on the reproductive control of the bullfrog (*Rana catesbeiana*). In: INTERNATIONAL MEETING ON FROG RESEARCH AND TECHNOLOGY, 1 e ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 8, 1995, Viçosa, MG. *Anais...* Viçosa, MG: ABETRA, UFV, 1995. p.245-246.
- EASLEY, K.A., CULLEY JR., D.D., HORSEMAN, N.D. et al. 1979. Environmental influences on hormonally induced spermiation of the bullfrog *Rana catesbeiana*. *J. Exp. Zool.*, 207(3):407-416.
- FIGUEIREDO, M. R. C. Influência dos fatores ambientais sobre o desempenho de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) em gaiolas. Viçosa, MG: UFV, 1996. 149p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1996.
- FONTANELLO, D., ARRUDA SOARES, H., MANDELLI JR., J. et al. 1984. Estação de reprodução da *Rana catesbeiana* Shaw, 1802, criadas em ranário comercial e a influência de fatores climáticos sobre o número de desovas. *B. Inst. Pesca*, 11(único):123-33.
- HORSEMAN, N.O., SMITH, C.A., CULLEY JR., D.D. 1978. Effects of age and photoperiod on ovary size and condition in bullfrog *Rana catesbeiana* (Amphibia, Anura, Ranidae). *J. Herpet.*, 12(3):187-190.
- IELA, L., PIERANTONI, R.E., RASTOGI, R.K. 1980. Effect of temperature and light on the production of androgens in the male *Rana esculenta*. *Experientia*, 36(único):256-257.
- MARTOF, B.S. 1953. Territoriality in the green frog, *Rana clamitans*. *Ecology*, 34(1):166-174.
- MENIN, E. 1994. *Fisiologia animal comparada*. Manual de Laboratório. Viçosa, MG: Imprensa Universitária. 189p.
- PASANEN, S., KOSKELA, P. 1974. Seasonal and age variation in the metabolism of the common frog, *Rana temporaria* L. in Northern Finland. *Comp. Biochem. Physiol.*, 47(A):635-654.
- RYAN, M.J. 1980. The reproductive behavior of the bullfrog (*Rana catesbeiana*). *Copeia*, (1):108-114.
- SALTHER, S.N., MECHAM, J.S. 1974. Reproductive and courtship patterns. In: LOFTS, B. (Ed.) *Physiology of the amphibia*, New York: Academic Press. p.310-521.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA-UFV. 1983. SAEG - Sistema para análises estatísticas e genéticas. Versão 3.1. Viçosa, MG. 57p. (Manual do usuário).
- WOLLBRIGHT, L.L. 1983. Sexual selection and size dimorphism in anuran amphibia. *Amer. Nat.*, (121):110-119.

Recebido em: 16/06/00

Aceito em: 25/01/01