

Pigmentação testicular em *Physalaemus nattereri* (Steindachner) (Amphibia, Anura) com observações anatômicas sobre o sistema pigmentar extracutâneo

Classius de Oliveira & Rodrigo Zieri

Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista. 15054-000 São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.
E-mail: classius@ibilce.unesp.br

ABSTRACT. Testicular pigmentation in *Physalaemus nattereri* (Steindachner) (Amphibia, Anura) with anatomical observations on the extracutaneous pigmentary system. The testes in the anurans are paired ovoid organs constituted by seminiferous structures surrounded by the fibrous connective tissue, commonly unprovided of pigments. This study tried to analyze the morphological characteristics of rare and conspicuous pigment-containing cells and their relationship with other structures. The pigment cells are variously and indistinctly also termed Kupffer cells in the liver, pigment cells, extracutaneous pigment cells, pigmented macrophages, melanomacrophages, melanophage, melanophores and melanocytes in the liver, spleen and kidney and other visceral structures of exothermic vertebrates. Ten male samples of *Physalaemus nattereri* (Steindachner, 1863) (Leptodactylidae) were used. After macroscopic analyses, the testicular fragments were submitted to the histological routine, fixed with karnovisky, embedded Historesin and coloration with Haematoxylin/Eosin. A rare peculiarity was the presence of numerous pigment-containing cells (melanocytes) randomly distributed in the albuginea tunic and testicular interstitium, giving the testes a dark brown coloration. This unusual characteristic has been rarely described and in other lower vertebrates, the pigment cells can be found in different organs, constituting an extracutaneous pigmentary system of unknown function. Further, it was identified a conspicuous variation, as to presence and distribution pattern due to possible species-specific aspects. However, histologically there is no difference in the germ epithelium arrangement. Between the seminiferous locules, there is an inter-ocular tissue composed by Leydig interstitial cells, fibroblasts, efferent ductules, melanocytes and blood vessels. This inter-ocular tissue is relatively scarce, presenting melanocytes in all specimens analyzed intimate associated with blood vessels. They are irregular cells with numerous melanosomes and long cytoplasmic processes.

KEY WORDS. Leptodactylidae, melanin, melanocytes, pigment, testis.

RESUMO. O presente estudo foi realizado com o intuito de relatar a ocorrência e morfologia de células pigmentares viscerais constituintes do "sistema pigmentar extracutâneo" em *Physalaemus nattereri* (Steindachner, 1863) (Leptodactylidae). Foram utilizados dez exemplares machos para a análise macroscópica e obtenção de fragmentos testiculares incluídos em resina e corados com H/E. Os anuros, dentre outros animais exotérmicos, possuem células especiais, os melanócitos, que se caracteriza por intensa pigmentação e sintetiza melanina, além de melanomacrófagos, que se caracteriza por atividade fagocítica e muitas vezes apresentam intensa pigmentação. A nomenclatura destas células não é consensual e, por isso, várias denominações são apresentadas, principalmente nos seguintes órgãos: fígado (como sinônimo de células de Kupffer), rins, baço e menos freqüentemente em outras localizações, com os termos – células pigmentares, células pigmentares extracutâneas, macrófagos pigmentados, melanomacrófagos, melanófagos, melanóforos e melanócitos. Para os anuros os estudos são recentes e relatam células pigmentares em poucas espécies. Em *Physalaemus nattereri* e alguns anuros, os pigmentos melânicos são encontrados, além da cútis, em outros órgãos constituindo um sistema pigmentar extracutâneo, com diferentes ocorrências, tipos e quantidade em distintas espécies. Associados ao aparelho reprodutor de *P. nattereri*, os melanócitos foram observados nas gônadas, na albugínea e no interstício, especialmente associado com vasos sanguíneos. A notória presença de numerosas células com pigmento distribuídas no testículo confere uma coloração que varia do preto mesclado com branco ao preto intenso. Trata-se de uma rara peculiaridade e não há informações sobre seu significado funcional ou valor biológico.

PALAVRAS CHAVE. Leptodactylidae, melanina, melanócitos, pigmento, testículo.

Nos anfíbios anuros, os testículos são órgãos ovóides pares geralmente esbranquiçados ou branco-leitosos constituídos por estruturas seminíferas circundadas pelo estroma de sustentação com distintas células somáticas e, externamente, por tecido conjuntivo fibroso constituindo a túnica albugínea. Quanto à arquitetura histológica dos elementos seminíferos, de modo geral, para os anfíbios o epitélio germinativo pode se organizar em lóculos seminíferos nos Apoda (WAKE 1969) e Anura (DUELLMAN & TRUEB 1994) ou em ampolas seminíferas ou lóbulos testiculares nos Urodela.

Existem poucos trabalhos sobre os órgãos e estruturas do aparelho reprodutor masculino dos anuros, especialmente nos animais de regiões neotropicais como o Brasil. Neste táxon ocorrem estratégias reprodutivas muito diversificadas (DUELLMAN & TRUEB 1994), o que poderia estar relacionado com variações morfológicas ou funcionais ainda desconhecidas nestes órgãos.

Segundo alguns autores, além da cútis, células pigmentares contendo melanina são encontradas em diversas vísceras de répteis e anfíbios como no fígado, rins, baço, peritônio, ouvido, encéfalo, ao redor de nervos e vasos sanguíneos, com diferentes ocorrências, tipos e quantidade em diferentes espécies (AOKI *et al.* 1969, GEREMIA *et al.* 1984, GOPALAKRISHNAKONE 1986, CICERO *et al.* 1989, PEDERZOLI & TREVISAN 1990, TREVISAN *et al.* 1991, ZAGAL'SKAIA 1994, SICHEL *et al.* 1997, AKULENKO 1998, ZUASTI *et al.* 1998, CHRISTIANSEN *et al.* 1996, RUND *et al.* 1998, JOHNSON *et al.* 1999, OLIVEIRA *et al.* 2002, 2003). Estas células podem ser agrupadas constituindo um sistema melanogênico cuja função não está devidamente esclarecida (ZUASTI *et al.* 1998). Outro aspecto contraditório refere-se à nomenclatura destas células, que não é consensual e, por isso, várias denominações são apresentadas em alguns órgãos: fígado (como sinônimo das células de Kupffer), rins e baço. Menos frequentemente em outros locais e empregando os termos – células pigmentares, células pigmentares extracutâneas, células pigmentadas tipo macrófagos, macrófagos pigmentados, melanomacrófagos, melanóforos e melanócitos.

Para os anfíbios, os estudos dos melanócitos viscerais e melanomacrófagos são recentes e em poucas espécies: *Physalaemus fuscumaculatus* Steindachner, 1864 (AOKI *et al.* 1969); *Rana esculenta* Linnaeus, 1758 (CICERO *et al.* 1989); *Salamander atra aurorae* Trevisan, 1982 (PEDERZOLI & TREVISAN 1990); *Salamandra atra atra* Laurenti, 1768 (TREVISAN *et al.* 1991); *Rana ridibunda* Pallas, 1771 (AKULENKO 1998); *Xenopus laevis* Daudin, 1802 (ZUASTI *et al.* 1998) e *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 (OLIVEIRA *et al.* 2002, 2003).

Assim, neste estudo foi proposta a análise no anuro *Physalaemus nattereri* desta incomum característica nos testículos descrevendo aspectos anatômicos e histológicos das células pigmentares desse sistema pigmentar extracutâneo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dez exemplares machos de *Physalaemus nattereri* (Leptodactylidae). Os espécimes foram provenientes de Nova Itapirema, distrito de Nova Aliança (São Paulo, Bra-

sil), capturados em lagoas temporárias (21°04'40"S, 49°32'23"W) no início da estação chuvosa quando estavam em época de atividade reprodutiva. Os indivíduos foram anestesiados com éter, abertos através de incisão mediana desde a cloaca até a altura da cintura dos membros dianteiros, expondo os órgãos reprodutores para as análises macroscópicas e fotodocumentação em microscópio estereoscópico acoplado com sistema de captura de imagens. Após a redução do testículo a pequenos fragmentos, o material foi imediatamente fixado por 24 h em solução de karnovsky (paraformaldeído 4% e glutaraldeído 2% em tampão fosfato Sorensen 0.1M, pH 7.3). Em seguida, o material foi encaminhado à rotina histológica (RIBEIRO & LIMA 2000) para ser desidratado em álcool, diafanizado em xilol e incluído em resina. Cortes de 2 mm foram corados com Hematoxilina/Eosina e destinados à análise histológica. Para montagem total do peritônio visceral, um simples recorte da camada foi estendido sob a lâmina contendo solução fisiológica e fixador, analisado ao microscópio e assim descrito.

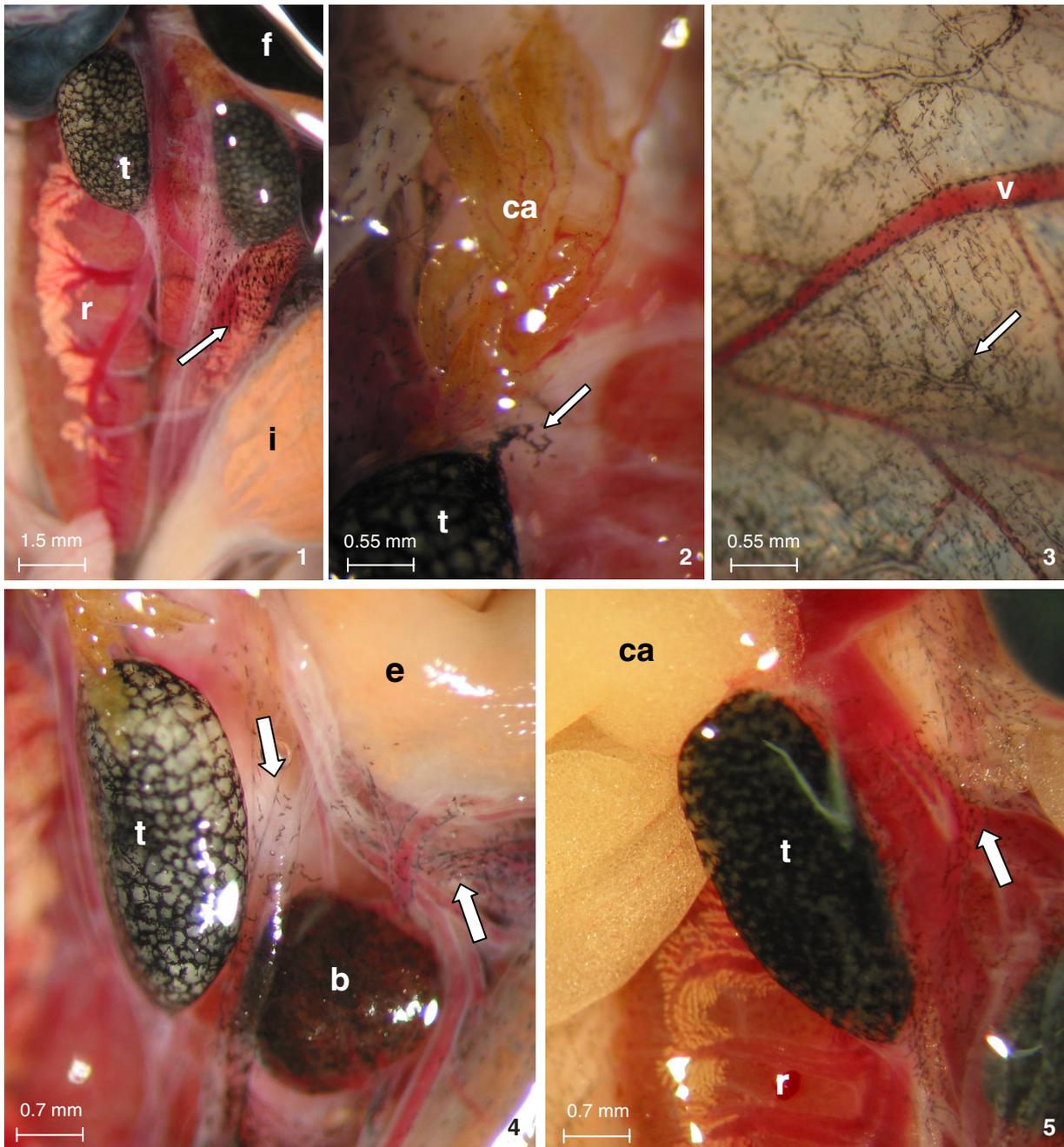
Cinco exemplares de cada uma das espécies *Hyla nana* (Boulenger, 1889), *H. sanborni* (Schmidt, 1944), *Scinax similis* (Cochran, 1952) e *S. fuscovarius* (Lutz, 1925) e *Physalaemus fuscumaculatus*, provenientes do mesmo local, também foram submetidos à dissecação anatômica para análise da presença e distribuição dos melanócitos viscerais. Deste material foi obtida uma caracterização preliminar que forneceu importantes dados apropriadamente explorados na discussão. A descrição dessas novas informações será aprofundada nos estudos em andamento e então complementada com o objetivo de propiciar a comparação detalhada entre cada espécie e estes gêneros *Hyla* (Laurent 1768), *Scinax* (Wagler, 1830) e *Physalaemus* (Fitzinger, 1826).

RESULTADOS

Referente ao aspecto macroscópico das gônadas e das estruturas anexas (os corpos adiposos abdominais) de *Physalaemus nattereri*, no que concerne à cor, forma e tamanho, observa-se conspícuas variações anatômicas. Os testículos, direito e esquerdo, apresentam pequenas assimetrias que são nítidas e se manifestam na localização, dispostos ventralmente aos rins em alturas diferentes, e no tamanho, geralmente uma das gônadas é maior que a outra (Fig. 1). Os corpos adiposos abdominais podem estar extraordinariamente reduzidos (Fig. 2) ou muito desenvolvidos (Fig. 5) refletindo uma alteração anatômica que varia de acordo com o estado funcional de acúmulo lipídico.

O que é notório e foi especialmente abordado nessa descrição é a marcante presença da pigmentação visceral, principalmente àquela associada aos órgãos do aparelho reprodutor, mas que também ocorre em várias outras vísceras e estruturas: face dorsal dos rins (Fig. 1), corpos adiposos abdominais e mesórquio (Fig. 2), peritônio e vasos sanguíneos parietais (Fig. 3), baço (Fig. 4), mesentério e vasos sanguíneos urogenitais (Figs 4 e 5), dentre outros locais.

Revestindo o testículo encontra-se uma fina cápsula de



Figuras 1-5. (1) Vista geral do aparelho reprodutor masculino de *Physalaemus nattereri* evidenciando testículos (t) com variações anatômicas intra-individuais, localizados na cavidade abdominotorácica próximos ao fígado (f), rim (r) e intestino (i), com mesórquio pigmentado (seta); (2) detalhe dos corpos adiposos abdominais pouco desenvolvidos (ca) localizados na extremidade cranial do testículo (t); (3) peritônio parietal com intensa quantidade de melanócitos (seta) intimamente associados aos vasos sanguíneos (v); (4-5) testículos de dois animais evidenciando diferenças interindividuais na pigmentação testicular (t) e nos corpos adiposos (ca), localizados próximos ao estômago (e) e ventralmente ao rim (r). Melanócitos presentes no peritônio (seta) e baço (b) com intensa pigmentação.

tecido conjuntivo, a túnica albugínea, e por transparência desta, observa-se a pigmentação testicular conferindo distintos

padrões de coloração quando diferentes indivíduos são analisados (comparação de dois exemplares nas figuras 4 e 5). Um

indivíduo apresenta o testículo com o parênquima de cor branco-leitosa nos lóculos seminíferos, estes por sua vez, são muito bem delimitados pelo tecido pigmentar que o circunda na área inter-locular, conferindo o padrão preto mesclado com branco (Fig. 4). Os corpos adiposos associados se apresentaram muito reduzidos, de cor amarela intensa, mas muito hialinos. Em outro indivíduo, as características anatômicas são essencialmente opostas, com os testículos intensamente pigmentados, aparentemente com maior quantidade de melanócitos, mas com os lóculos hialinos. Os corpos adiposos estão muito desenvolvidos e de cor amarela relativamente opaca (Fig. 5). Os vasos sanguíneos que transitam pela cápsula testicular, após curto trajeto, penetram o órgão e estabelecem a vascularização do tecido inter-locular e do parênquima, no qual estão respectivamente o interstício pigmentado e o epitélio germinativo.

Delimitados por tecido conjuntivo frouxo, os lóculos constituem unidades morfológicas, ou seja, os elementos seminíferos das gônadas. Histologicamente não foram observadas possíveis diferenças quanto ao arranjo do epitélio germinativo ao analisar diferentes indivíduos com distintos padrões de coloração testicular (Figs 6 e 7). Em *Physalaemus nattereri*, o tecido inter-locular é relativamente escasso e apresenta uma intensa pigmentação, que também ocorre na túnica albugínea, o que confere aos testículos colorações variando do preto intenso ao preto mesclado com branco.

Os pigmentos que estão presentes nessas células pigmentares possivelmente são de natureza melânica e a nomenclatura adotada, ao menos a que parece mais apropriada, é melanócito, sendo suas inclusões de melanina armazenadas em melanosomos. Esses melanócitos têm aspecto dendrítico e os pigmentos são observados nos prolongamentos, dispersos ou agregados, como se nota na célula do mesentério gonadal repleta de grânulos dispersos (Fig. 8).

Entre as unidades seminíferas, está o tecido interlocular formado por células intersticiais de Leydig, fibroblastos, alguns ductos eferentes e inúmeros melanócitos contendo pigmentos intimamente associadas aos vasos sanguíneos, estes últimos foram bem observados em microscopia de contraste de fase (Figs 9 e 10). A morfologia da célula, identificada pela montagem total do mesentério como pelo microscópio em contraste de fase, permite caracterizá-la como uma célula muito grande e irregular, apresentando longos prolongamentos citoplasmáticos repleto de grânulos de melanina formando os melanosomos que conferem a coloração dos testículos bem como a típica pigmentação de várias outras estruturas.

DISCUSSÃO

A pigmentação marrom escura do testículo de *Physalaemus nattereri* é uma peculiaridade que ocorre devido à presença de numerosas células pigmentadas, que podem ser denominadas de melanócitos. Esta incomum característica pigmentar foi descrita nas espécies: *Physalaemus fuscomaculatus* (AOKI *et al.* 1969), *Bombina bombina* Linnaeus, 1761 (GOLLMANN *et al.* 1993),

Xenopus laevis (ZUASTI *et al.* 1998) e *Physalaemus cuvieri* (OLIVEIRA *et al.* 2002, 2003). Em *X. laevis* as células pigmentadas também podem ser observadas em outros órgãos constituindo um sistema pigmentar (ZUASTI *et al.* 1998).

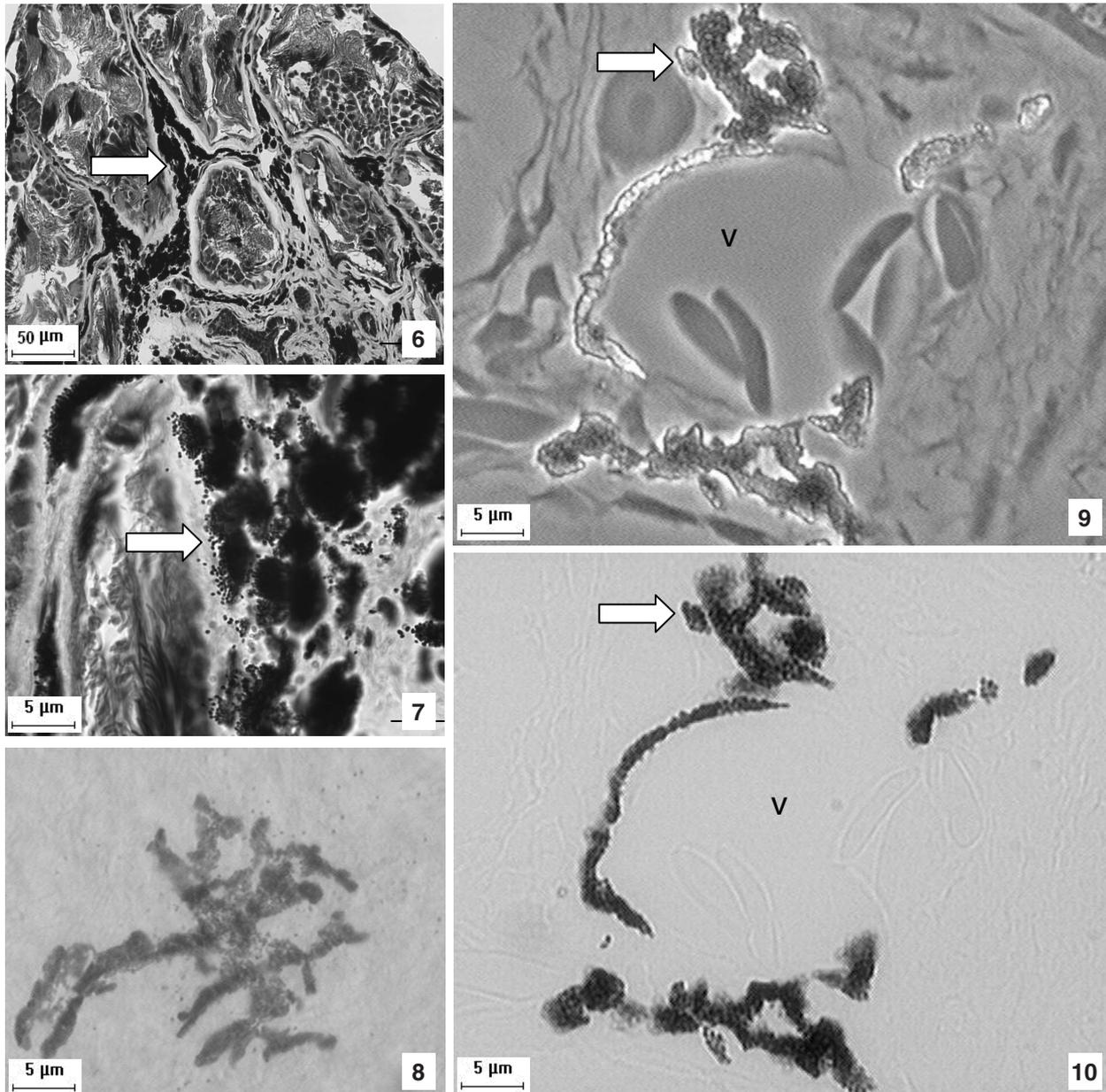
Histologicamente, os testículos são constituídos por uma rede de estruturas seminíferas convolutas circundadas externamente pela túnica albugínea. Entre os elementos seminíferos está presente o tecido intersticial com vasos, nervos, células de Leydig e outros elementos do tecido conjuntivo (LOFTS 1974, ROMER & PARSONS 1985, DUELLMAN & TRUEB 1994, HILDEBRAND 1995).

De modo geral não se constata a descrição de células pigmentares nesses órgãos, mas neste estudo constatou-se uma íntima relação dos melanócitos com o sistema vascular de diversos órgãos, incluindo as gônadas. Estas células são constituintes do próprio tecido conjuntivo do órgão (cápsula e interstício) ou de tecidos associados aos mesmos (túnicas adventícias ou membranas serosas).

De modo similar em algumas espécies pertencentes a outros grupos taxonômicos os melanócitos podem se associar ao aparelho reprodutor, sendo observados nas gônadas, em geral na cápsula (ELLIS *et al.* 1976), ao redor dos vasos sanguíneos, no interstício ou próximos às células germinativas femininas, especialmente ovócitos em degeneração (RAVAGLIA & MEGGESE 1995). Embora em alguns estudos se afirme que estas últimas são células características dos tecidos de peixes, vários pesquisadores já demonstram que estas também ocorrem, e abundantemente, em diversos órgãos e tecidos de muitos anfíbios e répteis.

A presença, o modo de ocorrência e a quantidade dos tipos celulares viscerais contendo pigmentos são muito variáveis e estão associados com diversos órgãos e estruturas manifestando evidentes variações anatômicas interespecíficas e interindividuais. De qualquer modo foi constatado que os melanócitos contendo pigmentos melânicos são encontrados, além da cutis, em outros órgãos constituindo o Sistema Pigmentar Extracutâneo, terminologia apropriada, pois abrange células e tecidos formados pela aglomeração de células pigmentares, sendo estas melanogênicas ou não. Os melanócitos são células grandes e irregulares, com citoplasma abundante e intensamente pigmentado devido ao acúmulo da melanina que estas próprias células sintetizam e constituem grânulos denominados melanosomos. Tipos celulares similares também são comumente descritos como “células pigmentadas tipo macrófagos” (MICALE & PERDICHIZZI 1990) ou “macrófagos pigmentados” (MANERA *et al.* 2000).

Nas espécies *Hyla nana* e *H. sanborni* há pouquíssimos melanócitos nas estruturas urogenitais (face dorsal dos rins, mesórquio, corpos adiposos e na cápsula testicular) e quando presentes, a quantidade destas células é muito baixa e de fácil enumeração embora ocorram em maior quantidade em outros sistemas orgânicos. Em *Scinax similis* e *S. fuscovarius* também estão presentes em vários órgãos e membranas da cavidade abdominotorácica de todos os sistemas, sendo a população celular também variável entre as estruturas. No aparelho urogenital, as células pigmentares estão presentes no mesórquio e



Figuras 6-10. (6-7) Secção histológica (H/E) do testículo de *Physalaemus nattereri* com células pigmentares repletas de grânulos, na área Interlocular (seta); (8) montagem total em peritônio: prolongamentos celulares repletos de pigmentos citoplasmáticos; (9-10) contraste de fase destacando as células (seta) intimamente associadas com vaso sanguíneo (v) na área interlocular.

na periferia da veia renal que transita na face dorsal dos rins, mas não foram encontradas nos testículos ou nos corpos adiposos. Em todos estes Hilídeos a presença dessas células é muito menor ao compará-los com a espécie do gênero *Physalaemus* em estudo (Leptodactilídeos). Nos exemplares de *P. nattereri* e *P. fuscomaculatus*, detectou-se grande número de melanócitos

na maioria das estruturas. Em *P. nattereri* a distribuição das células ocorre de forma homogênea, variando em quantidade entre os indivíduos. Em *P. fuscomaculatus* foi observado a ocorrência de pequenas áreas e até mesmo a metade anterior de algumas gônadas desprovidas de pigmentação. Apesar da variação na distribuição e quantidade dos melanócitos, há indícios

de que seria possível estabelecer um padrão do sistema pigmentar extracutâneo para ambas as espécies que também possibilitaria identificá-las com relativa segurança.

Em vários locais a célula apresenta aspecto dendrítico e é facilmente observada, *in situ* a olho desarmado, o que é possível devido à presença dos muitos prolongamentos citoplasmáticos repletos de pigmentos. Às vezes se apresentam com aspecto puntiforme quando não se observa esses prolongamentos devido ao deslocamento dos pigmentos, assim o centro da célula torna-se com coloração mais intensa. Isso confere aos melanócitos uma semelhança morfológica com os melanóforos da cútis, mas funcionalmente não há qualquer evidência.

Uma aparente relação que pode ser atribuída é quanto à quantidade de melanócitos que aumenta proporcionalmente naquelas espécies que também apresentam a cútis com mais cromatóforos, assim aumentam os melanócitos nas espécies analisadas pertencentes aos gêneros *Hyla*, *Scinax* e *Physalaemus*, nessa seqüência. Os melanócitos, ainda podem se reunir com outros tipos celulares formando acúmulos conspícuos, de coloração ainda mais variada por apresentarem outros pigmentos que os tornam iridescentes. Essas propriedades e características estruturais serão abordadas em estudos posteriores.

AGRADECIMENTOS

A FAPESP pelo auxílio à pesquisa, processo 02/08016-9. A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado para Rodrigo Zieri.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKULENKO, N.M. 1998. Topography and structure of the pigment cell aggregation in the liver of the frog (*Rana ridibunda*). *Vestnik Zoologii*, Moscow, 32 (3): 49-53.
- AOKI, A.; R. VITALE-CALPE & A. PISANO. 1969. The testicular interstitial tissue of the amphibian *Physalaemus fuscumaculatus*. *Zeitschrift fur Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, Berlin, 98: 9-16.
- CHRISTIANSEN, J.L.; J.M. GRZYBOWSKI & R.M. KODAMA. 1996. Melanomacrophage aggregations and their age relationships in the yellow mud turtle, *Kinosternon flavescens* (Kinosternidae). *Pigment Cell Research*, Copenhagen, 9 (4): 185-190.
- CICERO, R.; A. MALLARDI; I. MAIDA; A. GALLONE & G. PINTUCCI. 1989. Melanogenesis in the pigment cells of *Rana esculenta* L. liver: evidence for tyrosinase like activity in the melanosome protein fraction. *Pigment Cell Research*, Copenhagen, 2: 100-108.
- DUELLMAN, W.E. & L. TRUEB. 1994. *Biology of amphibians*. New York, McGraw-Hill, 670p.
- ELLIS, A.E.; A.L.S. MUNROE & R.J. ROBERTS. 1976. Defence mechanisms in fish. I. A study of the phagocytic system and the fate of intraperitoneally injected particulate material in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Journal of Fish Biology*, London, 8: 67-78.
- GEREMIA, E.; C. CORSARO; R. BONOMO; R. GIARDINELLI; P. PAPPALARDO; A. VANELLA & G. SICHEL. 1984. Eumelanins as free radicals trap and superoxide dismutase activities in Amphibia. *Comparative biochemistry and physiology b-biochemistry & molecular biology*, Oxford, 79 (1): 67-69.
- GOLLMANN, G.; L.J. BORKIN & P. ROTH. 1993. Genic and morphological variation in the fire-bellied toad, *Bombina bombina* (Anura, Discoglossidae). *Zoologische Jahrbuecher Abteilung Fuer Systematik Oekologie und Geographie Der Tiere*, Jena, 120: 129-136.
- GOPALAKRISHNAKONE, P. 1986. The structure of the pigment cells in the turtle *Trionyx sinensis*. *Archivum Histologicum Japonicum*, Niigata, 49: 421-435.
- HILDEBRAND, M. 1995. *Análise da estrutura dos vertebrados*. São Paulo, Atheneu, 700p.
- JOHNSON, J.C.; T. SCHWIESOW; A.K. EKWALL & J.L. CHRISTIANSEN. 1999. Reptilian melanomacrophages function under conditions of hypothermia: Observations on phagocytic behavior. *Pigment Cell Research*, Copenhagen, 12 (6): 376-382.
- LOFTS, B. 1974. Reproduction, p. 107-218. *In*: B. LOFTS (Ed). *Physiology of the amphibians*. New York, Academic Press, vol. 2, 592p.
- MANERA, M.; R. SERRA; G. ISANI & E. CARPENÉ. 2000. Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed copper, iron and zinc enriched diets. *Journal of Fish Biology*, London, 57: 457-465.
- MICALÉ, V. & F. PERDICHIZZI. 1990. A quantitative and histochemical study on melano-macrophage centres in the spleen of the teleost fish *Diplodus annularis* L. *Journal of Fish Biology*, London, 37 (2): 191-197.
- OLIVEIRA, C.; C. ZANETONI & R. ZIERI. 2002. Morphological observations on the testes of *Physalaemus cuvieri* (Amphibia, Anura). *Revista Chilena de Anatomia*, Temuco, 20 (3): 263-268.
- OLIVEIRA, C.; A.C. SANT'ANNA; P.M. OMENA; L.R.S. SANTOS & R. ZIERI. 2003. Morphological considerations on the seminiferous structures and testes of anuran amphibians: *Bufo crucifer*, *Physalaemus cuvieri* e *Scinax fuscovarius*. *Biociências*, Porto Alegre, 11 (1): 39-46.
- PEDERZOLI, A. & P. TREVISAN. 1990. Pigmentary system of the adult alpine Salamander *atra aurorae*. *Pigment Cell Research*, Copenhagen, 3: 80-89.
- RAVAGLIA, M.A. & M.C. MAGGESE. 1995. Melano-macrophage centres in the gonads of swamp eel, *Synbranchus marmoratus* Bloch 1795 (Pisces, Synbranchidae): histological and histochemical characterization. *Journal of Fish Diseases*, Oxford, 18: 117-125.
- RIBEIRO, M.G. & S.R. LIMA. 2000. *Iniciação às técnicas de preparação de material para estudo e pesquisa em morfologia*. Belo Horizonte, Segrac Editora, 89p.
- ROMER, A.S. & T.S. PARSONS. 1985. *Anatomia comparada dos vertebrados*. São Paulo, Atheneu, 559p.
- RUND, C.R.; J.L. CHRISTIANSEN & J.C. JOHNSON. 1998. In vitro culture of melanomacrophages from the spleen and liver of turtles:

- Comments on melanomacrophage morphology. **Pigment Cell Research**, Copenhagen, **11** (2): 114-119.
- SICHEL, G.; M. SCALIA; F. MONDIO & C. CORSARO. 1997. The amphibian Kupffer cells build and demolish melanosomes: an ultrastructural point of view. **Pigment Cell Research**, Copenhagen, **10**: 271-287.
- TREVISAN, P.; A. PEDERZOLI & G. BAROZZI. 1991. Pigmentary system of the adults alpine salamander *Salamandra atra atra*. **Pigment Cell Research**, Copenhagen, **4**: 151-157.
- WAKE, M.H. 1969. Evolutionary morphology of the caecilian urogenital system. I. The gonads and the fat bodies. **Journal of Morphology**, New York, **126**: 291-331.
- ZAGAL'SKAIA, E.O. 1994. The vascular melanocytes of the pia mater and mesentery of the small intestine in the frog: structure and functions. **Tsitologiya**, Moscow, **36** (B): 796-801.
- ZUASTI, A.; C. JIMÉNEZ-CERVANTES, J.C. GARCÍA-BORRÓN & C. FERRER. 1998. The melanogenic system of *Xenopus laevis*. **Archives of Histology and Cytology**, Niigata, **61**: 305-316.

Recebido em 17.VIII.2004; aceito em 25.V.2005.