NOTAS SÔBRE O DESENVOLVIMENTO NORMAL DE UM SAPO — Bufo ictéricus L. —

CARLOS NOBRE ROSA

Professor de História Natural no Colégio Estadual de Jaboticabal E. São Paulo-Brasi l

Em qualquer laboratório de Colégio será possível a realização de trabalhos vários de molde a despertar e incentivar nos alunos o gosto pela investigação. Com isto poderão ter, ao mesmo tempo, oportunidade de tentar um trabalho independente e serem levados a resolver seus próprios problemas e, consequentemente, adquirir o senso de responsabilidade.

A execução de alguns trabalhos desta natureza poderá ser confiada a um grupo de alunos, escolhidos entre os que demonstram maior interêsse pela matéria e que mais frequentam o laboratório. Temos observado que os estudantes gostam de executar tarefas em colaboração com o professor. Para isto, entretanto, é preciso que haja entre professores e alunos um perfeito espírito de cooperação de maneira a colocar o aluno junto do professor e permitir o desenvolvimento de uma confiança mútua.

O estudo do desenvolvimento dos sapos, por ex., desde a fase de ovo até a do desaparecimento da cauda ou mais, é um bom tema que poderá ser desenvolvido em laboratório que disponha do seguinte:—

- 1 Um aquário grande ou um tanque contendo fundo terroso e vegetais aquáticos, como elódeas ou água-pés. Estes vegetais podem ser colhidos nas lagôas ou açudes. Servirão para enriquecer a água do tanque com oxigênio e também para fornecer posteriormente alimentação aos girinos.
- 2 Alguns sapos dos dois sexos, adultos, escolhendo sempre os maiores. No caso dos sapos da espécie que serviram ao presente trabalho os machos, menores do que as fêmeas, têm colorido pardo-oliváceo, uniforme no dorso, e quando segurados com o abdomem para cima, coaxam, mostrando a bolsa gular que se torna mais visivel nessa ocasião. As fêmeas são maiores, graúdas, com grandes manchas pardo-escuras no dorso e quando viradas com o abdomem para cima não coaxam.
- 3 Uma coleção de frascos pequenos, ou tubos de ensáio ou vidros vasíos de penicilina. Nesses frascos será guardado o material á medida que fôr sendo colhido.
 - 4 Um litro do liquido de Bouin, para a fixação do material colhido.

A fórmula deste líquido é a seguinte:

Formol — 200 cc

Solução aquosa saturada de ácido pícrico — 750 cc

Acido acético — 50 cc

A solução saturada de ácido pícrico faz-se colocando em água distilada a substância até que esta fique depositada por não se dissolver mais.

- 5 Alcool, preferivelmente a 80%.
- 6 Microscópio, lupa binocular ou lupa de mão.
- 7 Uma cápsula de vidro com cera no fundo.
- 8 Fragmentos de arame, bem finos, como os que compõem os fios usados em eletricidade.

Dispondo desse material, o professor colocará os sapos no aquário e esperará que se verifique a postura. No momento da postura os óvulos serão fecundados e, em seguida, começará o desenvolvimento.

Logo após a postura deve ser iniciada a colheita dos ovos. No começo fazem-se colheitas aproximadamente de hora em hora, utilizando para isso um coadorzinho de pano com aro de arame. O material obtido será examinado ao microscópio e nessa ocasião podem ser feitos esquemas das fases observadas. Algumas fases que interessam mais podem ser separadas em cubas e recolocadas no tanque para observação continuada. Assim podem ser acompanhadas com pormenores as fases do desenvolvimento.

A observação dessas fases ao microscópio deve ser feita com o material mergulhado em água, podendo ser usada uma lâmina de gota pendente ou a capsula de vidro com cera no fundo ou ainda uma lâmina comum com um bloco de cera ou parafina côncavo no centro. Com o auxílio de fragmentos de arame bem fino, espetados na cera como alfinetes, os ovos podem ser mantidos fixos na posição mais favorável á observação.

Os ovos colhidos serão colocados nos frascos contendo o fixador (Bouin) devendo neles permanecer cêrca de 36 horas. Depois serão guardados em frascos contendo alcool a 80%. Cada colheita deve ficar em frasco numerado, com numeração correspondente á ordem da colheita e com a data e a hora marcadas. Nas últimas fases do desenvolvimento a coleta pode ser feita apenas duas vêzes por dia. Convem lembrar que a colheita deve fazer-se dia e noite, pois o desenvolvimento dos ovos é contínuo. Terminada a coleta será possível o estudo pormenorisado do desenvolvimento do sapo, observando e desenhando ao microscópio os estádios colecionados. Os desenhos do material fixado e conservado em alcool, devem ser feitos com as peças observadas mergulhadas também em alcool.

Para o presente trabalho foram utilizadas três séries de ovos de *Bufo ictericus* L. Não nos foi possível fazer com que o desenvolvimento se processasse em água com temperatura constante, como seria recomendavel, para um posterior estudo comparativo do desenvolvimento de ovos de outras espécies, sob a mesma temperatura. Para um trabalho dessa natureza seria necessário manter constante a temperatura da água do tanque e, em outras ocasiões, repetir a experiência com ovos de outras espécies de sapos, anotando então as diferenças do processo de desenvolvimento dentro das mesmas condições de tempo e de temperatura. Seria esse um bom trabalho de

pesquisa porque, em relação á embriologia dos nossos anfíbios, ainda há muito a ser feito.

Limitámo-nos, portanto, ao estudo das várias fases do desenvolvimento, considerando para a determinação dos estádios os mesmos característicos citados por Pollister e Moore (1937) e por Shumway (1940): Clivagem, gástrulação e formação da nêurula, para os primeiros estádios; na determinação dos estádios mais adiantados foram utilizados os seguintes caracteres morfológicos e fisiológicos: desenvolvimento da cauda, relação entre o comprimento da cauda e do corpo, desenvolvimento das brânquias externas, desenvolvimento do opérculo, resposta muscular, batimentos cardíacos, habilidade de nadar, circulação branquial, abertura da bôca, transparência da córnea, evolução dos órgãos de sucção, circulação capilar na nadadeira caudal, transparência da epiderme, corpo assimétrico quando observado dorsalmente e encolhimento do intestino. Os estádios posteriores ao 15.º da tabela anexa devem ser definidos por um conjunto de caracteres e não apenas por um como geralmente se usa para os estádios anteriores.

As mudanças da forma externa são mais ou menos simples até o estádio em que a cauda começa a desenvolver-se ou seja 15.º estádio. Depois a morfologia externa modifica-se mais acentuada e rapidamente, sendo então necessário definir cada estádio por um conjunto de caracteres.

A tabela e os desenhos anexos mostram as modificações verificadas durante o desenvolvimento dos ovos de *Bufo ictericus* L., com a indicação da idade em horas. Pelos primeiros estádios pode-se observar que a sulcação desses ovos é total e desigual.

Tabela dos estádios:

- 1) Ovo não fertilizado hora zero.
- Ovo logo após a fertilização. Fase do desenvolvimento da área cinzenta. Esse fenomeno é o primeiro sinal externo do processo evolutivo. hora 6.
- 3) Início do processo de clivagem.
- 4) Dois blastômeros hora 8.
- 5) Início da segunda clivagem.
- 6) Quatro blastômeros hora 9.
- 7) Oito blastômeros hora 12.
- 8) Dezesseis blastômeros hora 14.
- 9) Trinta e dois blastômeros.
- 10) Lábio dorsal do blastóporo formado hora 69,30'.
- 11) Meia gástrula.
- 12) Gástrula completa.
- 13) Dobras neurais hora 93.
- 14) Tubo neural completo hora 103.
- 15) Idem vista lateral. OS=ventosa
- 16) Começo da cauda hora 105.
- 17) Resposta muscular hora 125.
- 18) Idem vista lateral. O = olho; OS = orgão de sucção
- 19) Batimentos cardíacos visíveis hora 147.
- 20) Idem vista lateral.

- 21) Circulação brânquio-vascular. Observam-se o desenvolvimento das brânquias esternas e a circulação sanguínea no seu interior. hora 162.
- 22) Idem vista lateral.
- 23) Circulação capilar na cauda hora 213. Podemos verificar ao microscópio, por transparência da pele, a circulação do sangue nos capilares da membrana natatória da cauda.
- 24) Começo da dobra opercular hora 228 Neste estádio começa a formação das brânquias internas.
- 25) Opérculo do lado direito fechado hora 253.
- 26) Opérculos fechados e formação do espiráculo do lado esquerdo do corpo hora 264. O espiráculo é uma abertura tubuliforme que comunica a cavidade das brânquias internas com o exterior e permite que elas permaneçam úmidas.
- 27) Bufo ictericus L. 9 adulta

Durante o desenvolvimento a temperatura média da água foi de 22° C, tendo a máxima sido de 34° C e a mínima 13° C.

SUMMARY

On the normal development of the Toad — Bufo ictericus L.

The different stages of the toad (*Bufo ictericus* L.) development have been shortly described. From the fertilization to the appearance of the hind leg bud occur 264 hours. The mean temperature was 22°C.

BIBLIOGRAFIA

Pollister, A. W. & Moore, John A. — 1937. Tables for the normal development of Rana sylvatica. Anat. Rec., v. 68, pp. 489-496, Philadelphia. 2) — Shumway, Waldo — 1940 — Stages in the normal development of Rana pipiens. Anat. Rec., v. 78, n. 2, pp. 139-147, Philadelphia.

LEGENDA DAS FIGURAS

B = boca

BR = brânquias externas

ES = espiráculo

N = narina

O = olho

OF = opérculo fechado

OS = órgão de sucção

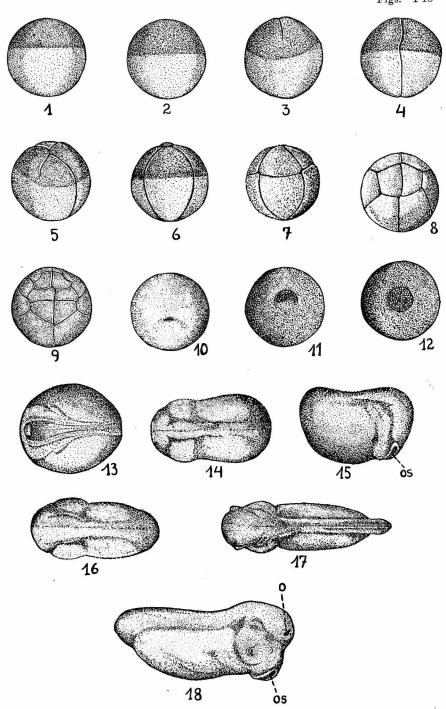
PP = início da pata posterior esquerda

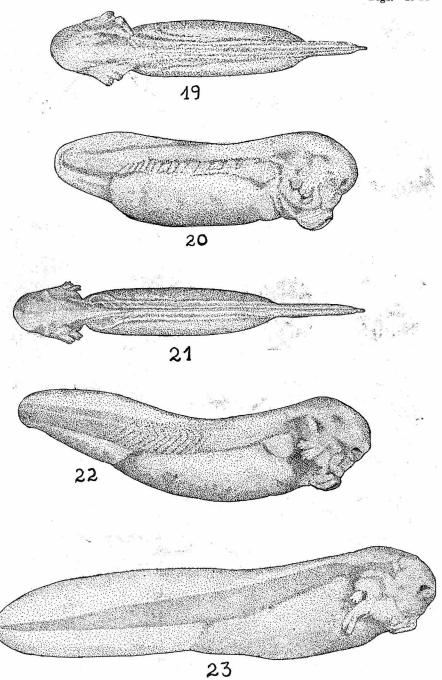
TA = tubo anal

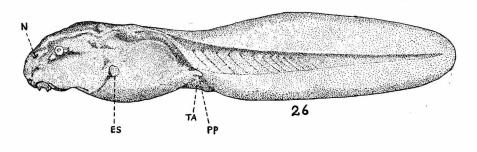
Na fig. 25 podem ser observadas as cinco fileiras de dentes córneos na boca.

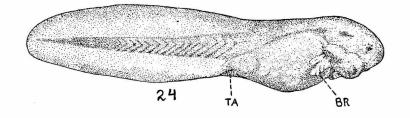
Agradeço ao Prof. Dr. Paulo Sawaya as sugestões, os conselhos e a revisão do manuscrito.

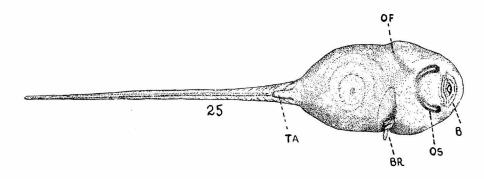
ESTAMPA I Figs. 1-18

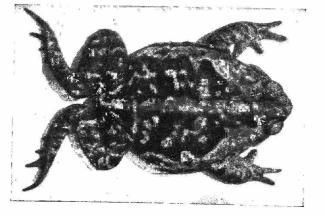












27