

ramifica-se em vários sub-ramos, que terminam na pele da região dorsal da mão.

Já o ramo BLU, passa sob o músculo ancôneo e segue na face dorsal do membro, realizando a mesma ramificação quando atinge a região dos carpos, lançando da mesma forma, dois pares de nervos, agora na face dorsal de cada dígito. Ao longo de seu trajeto, tanto o BLU como o BLR inervam músculos e pele. Cada uma das quatro papilas presentes nas extremidades dos dígitos recebe um fino feixe de nervo, que as envolve lateralmente (Figs. 5B e 8A).

Em *Barycholos ternetzi*, *Bufo schneideri* (Fig. 6) e *Pseudis tocantins* (Fig. 7A) o diâmetro do NE 3 é visivelmente maior que os dos demais nervos que compõem o plexo braquial, sendo o nervo que mais contribui para a formação deste. O NE 2 divide-se em dois ramos, sendo um o Hipoglosso (NC XII) e o outro o NE 2 propriamente dito, que integra o plexo braquial (Fig. 6). O NE 4 também se divide em dois ramos, onde um pequeno feixe une-se ao NE 3 e outro dirige-se aos flancos, inervando alguns músculos axiais como o músculo transverso.

Em *Xenopus laevis* (Fig. 7B) e *Pipa carvalhoi* (Fig. 3A) os nervos espinhais 3 e 4 são de calibre bastante semelhante, sendo o NE 4 muito mais calibroso que o mesmo nervo nas espécies anteriormente descritas. Outra característica do NE 4 em Pipidae é que este compõe o plexo braquial de forma integral, sem subdividir-se em ramos (Figs. 3A e 7B).

2) EXTREMIDADE DOS DÍGITOS

As papilas digitais de *Pipa carvalhoi* são compostas de tecido cartilaginoso, que envolve a extremidade das falanges distais e dá o formato das quatro papilas (Fig. 8B). As extremidades dos dígitos também foram observadas em microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura e transmissão.

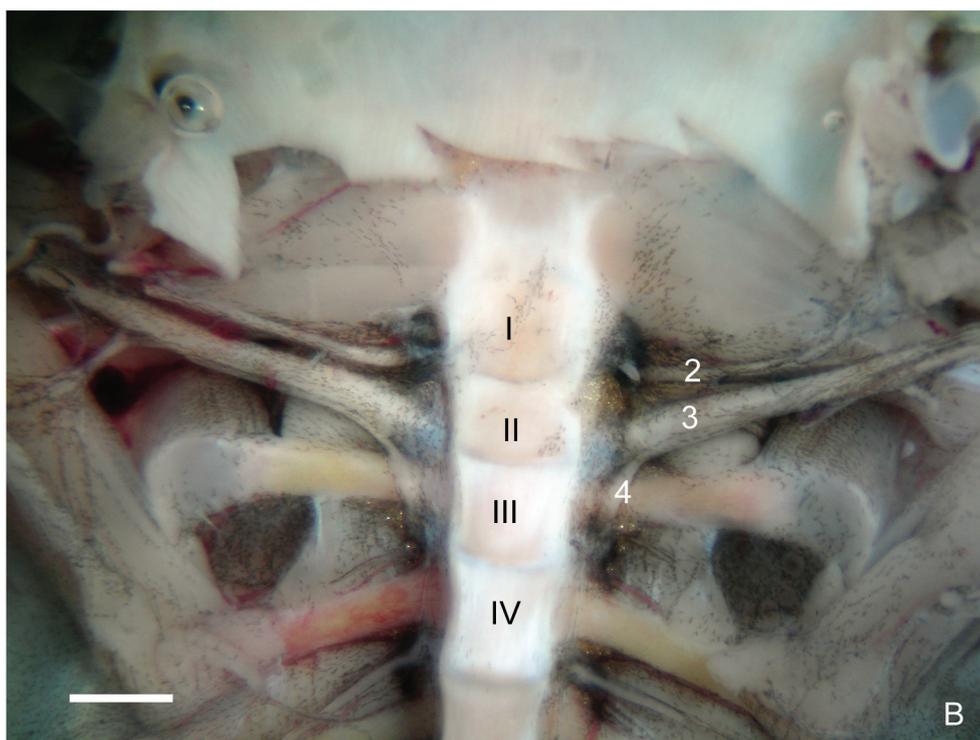
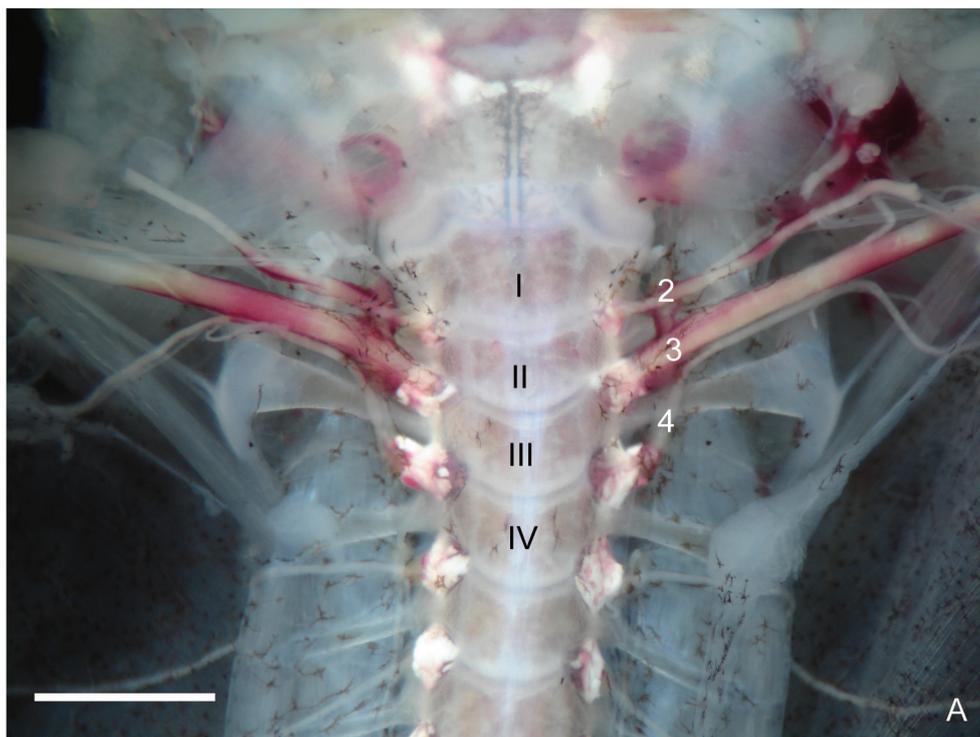


Figura 6: Vista ventral dos nervos espinhais formando o plexo braquial. A: *Barycholos ternetzi*. B: *Bufo schneideri*. De I-IV vértebras pré-sacrais. De 2 a 4 os nervos espinhais correspondentes. Barras equivalentes a 2mm.

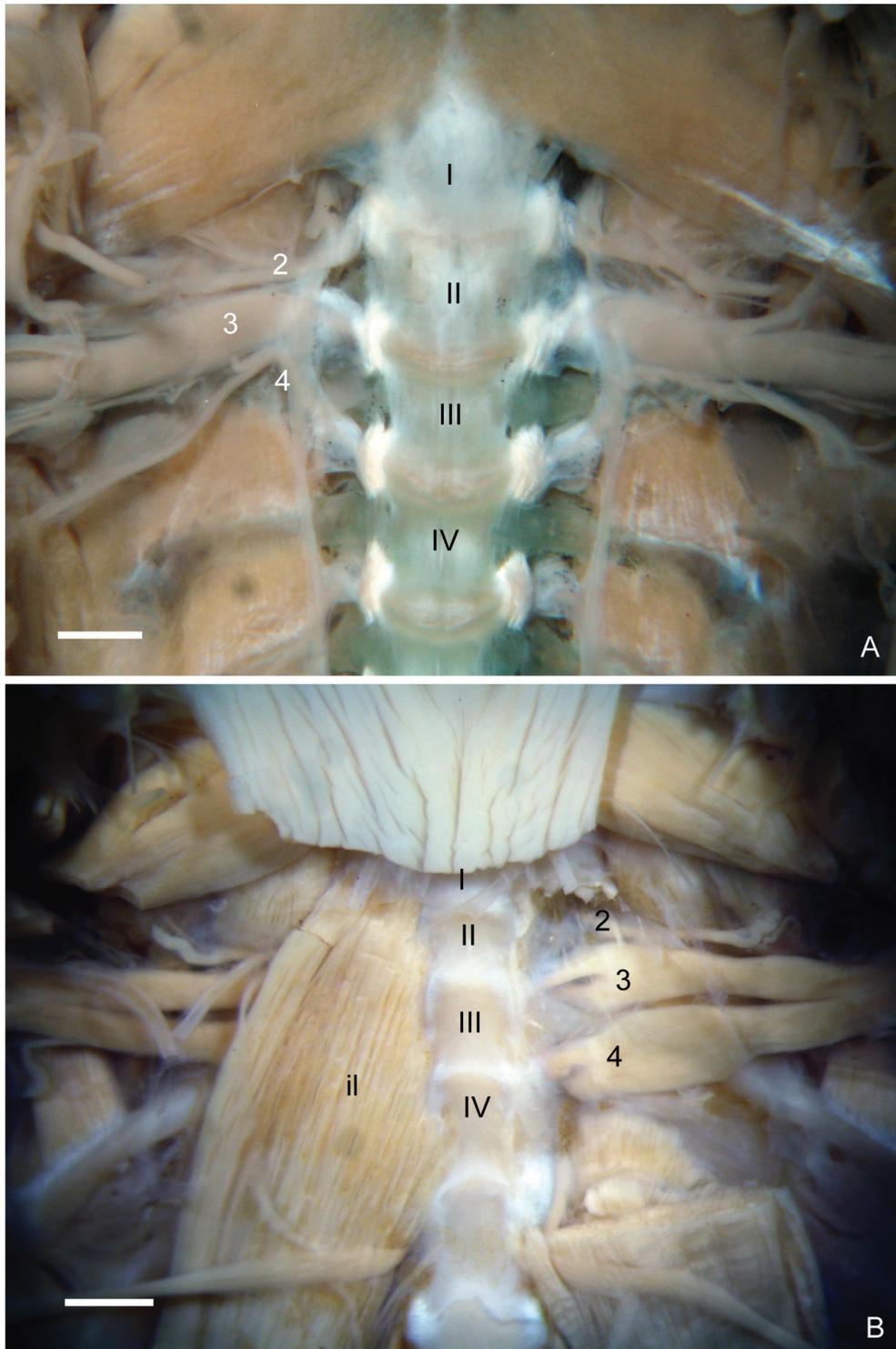


Figura 7: Vista ventral dos nervos espinhais formando o plexo braquial. A: *Pseudis tocantins*. B: *Xenopus laevis*. De I - IV: vértebras pré-sacrais. De 2 a 4: os nervos espinhais equivalentes. Barra de A equivalente a 1,25mm. Barra de B equivalente a 2mm. il = Músculo Ileolombar.

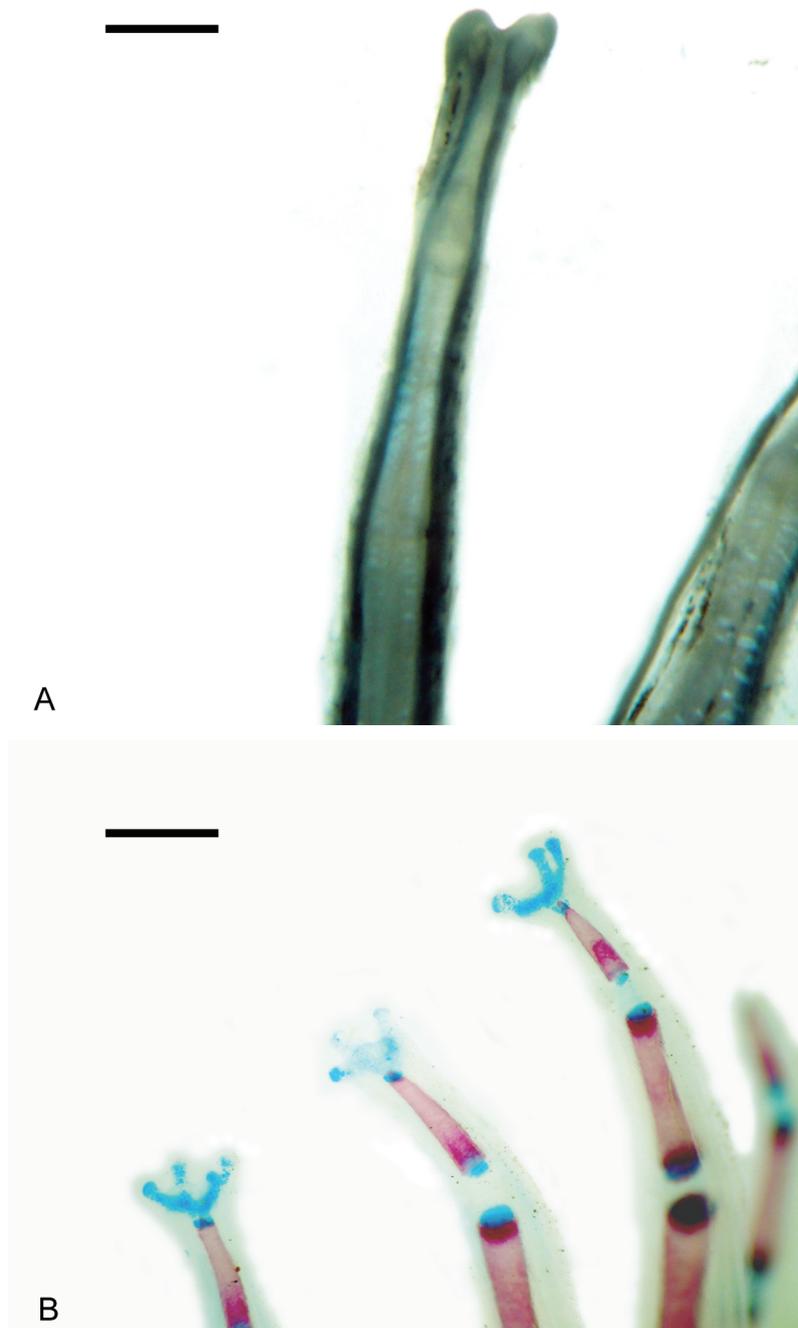


Figura 8: Extremidades digitais de *Pipa carvalhoi*. A: Terminações nervosas nas papilas digitais. Nervos corados com Sudan Black. B: Dígitos de espécime diafanizado. Barras equivalentes a 0,75mm.

2.1) Microscopia de Luz

Nos cortes transversais mais basais é observado um epitélio estratificado contendo de cinco a sete camadas de células. Há uma camada mais externa queratinizada, que se desprende do restante do epitélio. Abaixo da lâmina basal, existe um tecido conjuntivo frouxo, corado em verde, que envolve todos os demais tecidos presentes. Em meio a este tecido conjuntivo encontram-se diversos vasos capilares, além de glândulas mucosas acinosas simples, que apresentam um ducto que conduz a secreção para o meio externo (Fig. 9).

No centro, se observa a presença de tecido cartilaginoso, correspondente à extremidade da falange distal. Ao redor desta falange, também em meio ao tecido conjuntivo, são observados quatro feixes de nervos, que são guarnecidos por vasos sanguíneos. Em meio aos feixes nervosos, são evidentes núcleos escuros, que correspondem às células de Schwann (Fig. 9). Nos cortes longitudinais, é possível verificar que a quantidade de camadas de células do epitélio diminui gradativamente, quanto mais próximos estes estão das porções terminais (Figs. 10C e 11A).

À medida que os cortes transversais se aproximam da porção mais distal dos dígitos, os tecidos vão ganhando novas características. A epiderme, além de sofrer redução no número de camadas celulares, apresenta modificações na estrutura de suas células, que assumem uma forma mais achatada, o que torna a epiderme mais delgada e menos áspera (Figs. 10 e 11). Na superfície das papilas, o epitélio é liso e suas células são achatadas (Figs. 10 e 11). Na porção mais distal da falange ocorre uma diferenciação do tecido cartilaginoso, que perde a matriz de fibrocartilagem. Esta região apresenta células grandes e conspícuas, com núcleos igualmente grandes, e o tecido possui pouco interstício. Este é o tecido que molda as extremidades digitais, e dá a forma peculiar à extremidade dos dígitos (Figs. 9C, 10C e 11C).

Os feixes nervosos, por sua vez, deixam de apresentar o aspecto cilíndrico observado nas regiões mais mediais. Estes acompanham a curvatura de cada lobo e se ramificam em feixes paralelos, situados lateralmente em relação ao tecido cartilaginoso das papilas. Estes feixes diminuem de calibre gradativamente até perderem suas bainhas

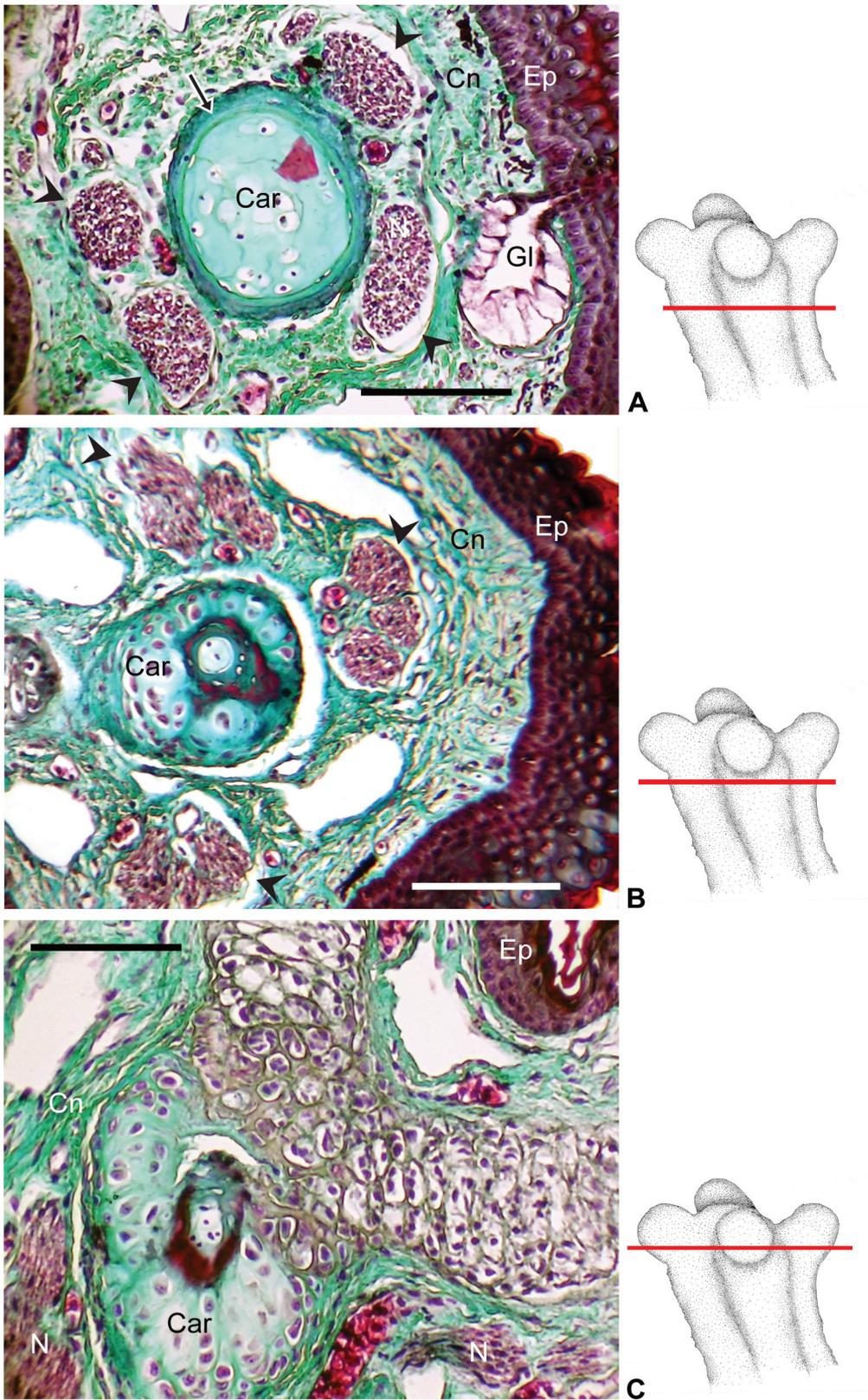


Figura 9: Secções transversais da falange distal, mostrando os feixes de nervos paralelos à falange. As imagens de A a C seguem o sentido proximal distal. A: feixes nervosos (pontas de setas) paralelos à falange, que apresenta ossificação endocondral (seta). Barras equivalem a aproximadamente 75 μ m. Car: cartilagem; Cn: tecido conjuntivo; Ep: epitélio; N: nervo; Gl: glândula.

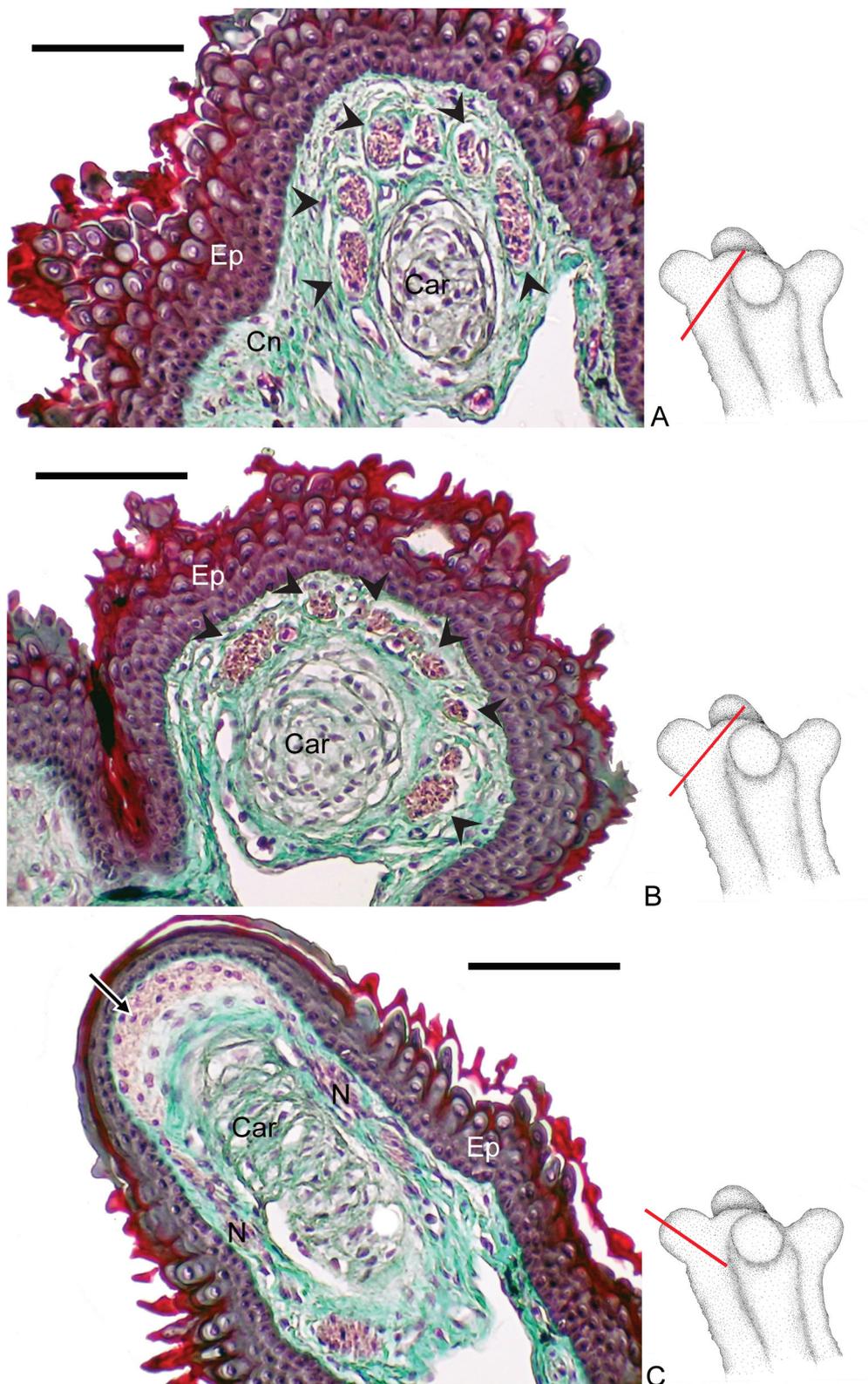


Figura 10: A e B: Secções transversais semi-sequenciais das papilas digitais. As pontas de seta indicam feixes nervosos. C: Secção longitudinal da papila digital. A seta indica um tecido de origem nervosa, abaixo da lâmina basal. Barras equivalentes a 75µm. Car: cartilagem; Cn: tecido conjuntivo; Ep: epitélio; N: nervos.

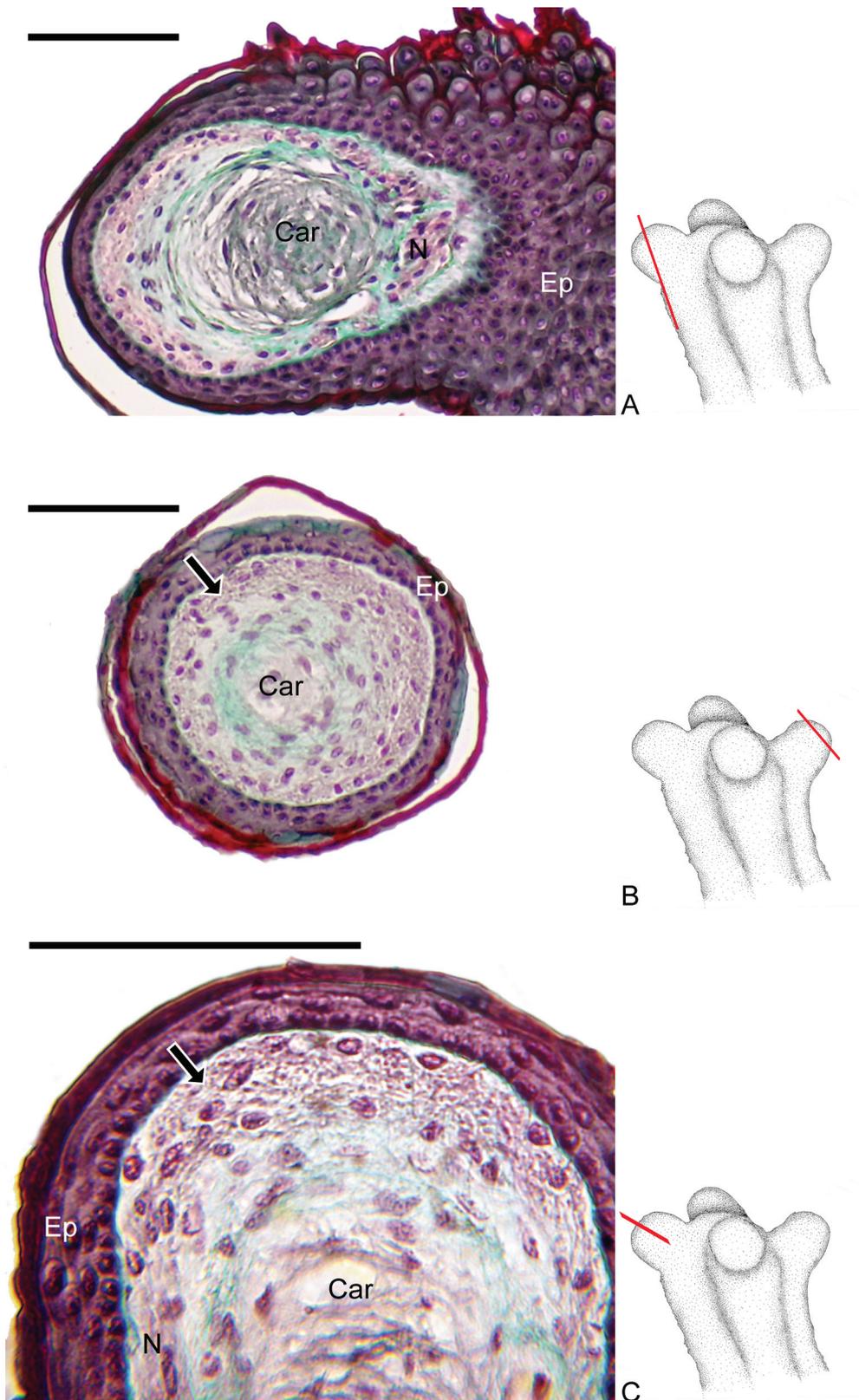


Figura 11: Secções transversais (A e B) e longitudinal (C) da papila digital. B e C: as setas indicam o tecido de origem nervosa. Barras equivalentes a 75μm. Car: cartilagem; Ep: epitélio; N: nervo.

de mielina, já sob a redoma das extremidades digitais (Fig. 10). Ao penetrarem nos lobos, a coloração avermelhada dos feixes nervosos torna-se menos contrastante com o tecido conjuntivo circundante. No topo dos lobos, observa-se um conjunto de células situadas entre a cartilagem e o epitélio que, aparentemente, resulta da continuidade da porção terminal dos nervos que chegam a esta região (Figs 10C e 11).

2.2) Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície dos Dígito (MEV)

A observação ao microscópio eletrônico de varredura mostrou um epitélio áspero, que vai se tornando liso à medida que se aproxima dos hemisférios das extremidades dos dígitos. Na superfície dos hemisférios, o epitélio é totalmente liso, formando uma redoma, facilmente diferenciada do restante do dígito. Não há estruturas mais finas, como projeções do epitélio, orifícios no topo das papilas nem tampouco microvilosidades nas células da superfície (Fig. 12).

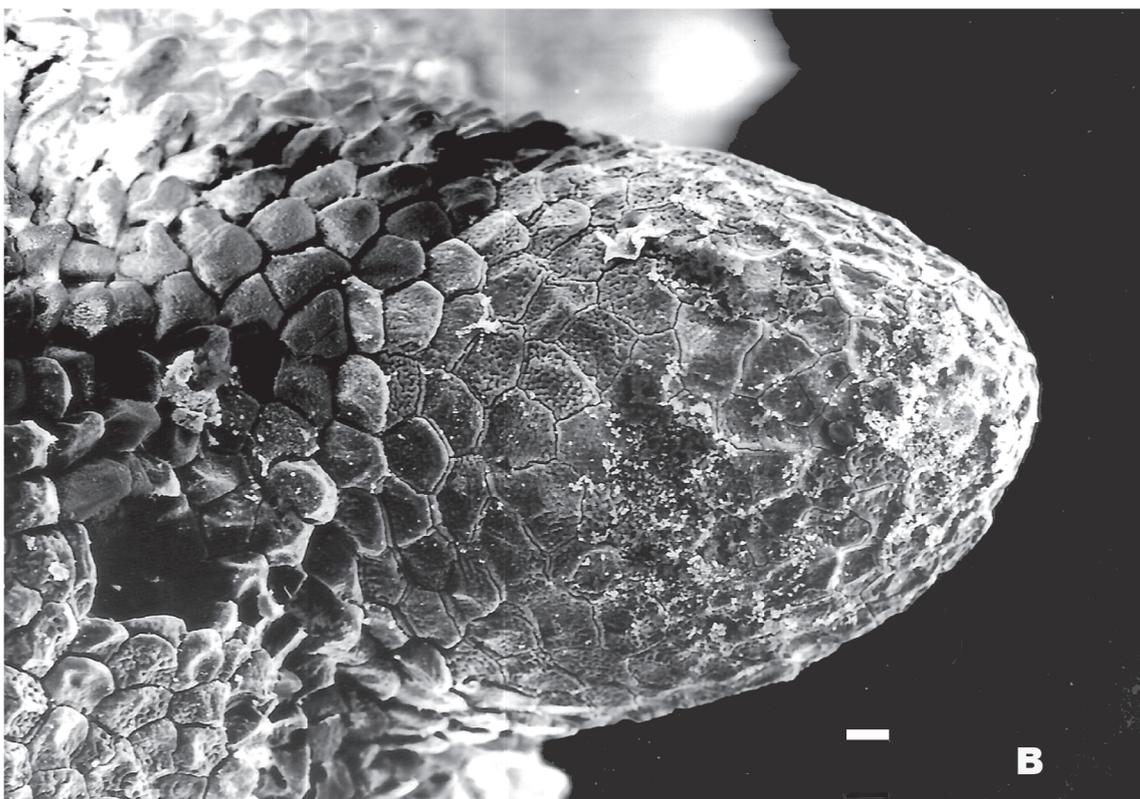
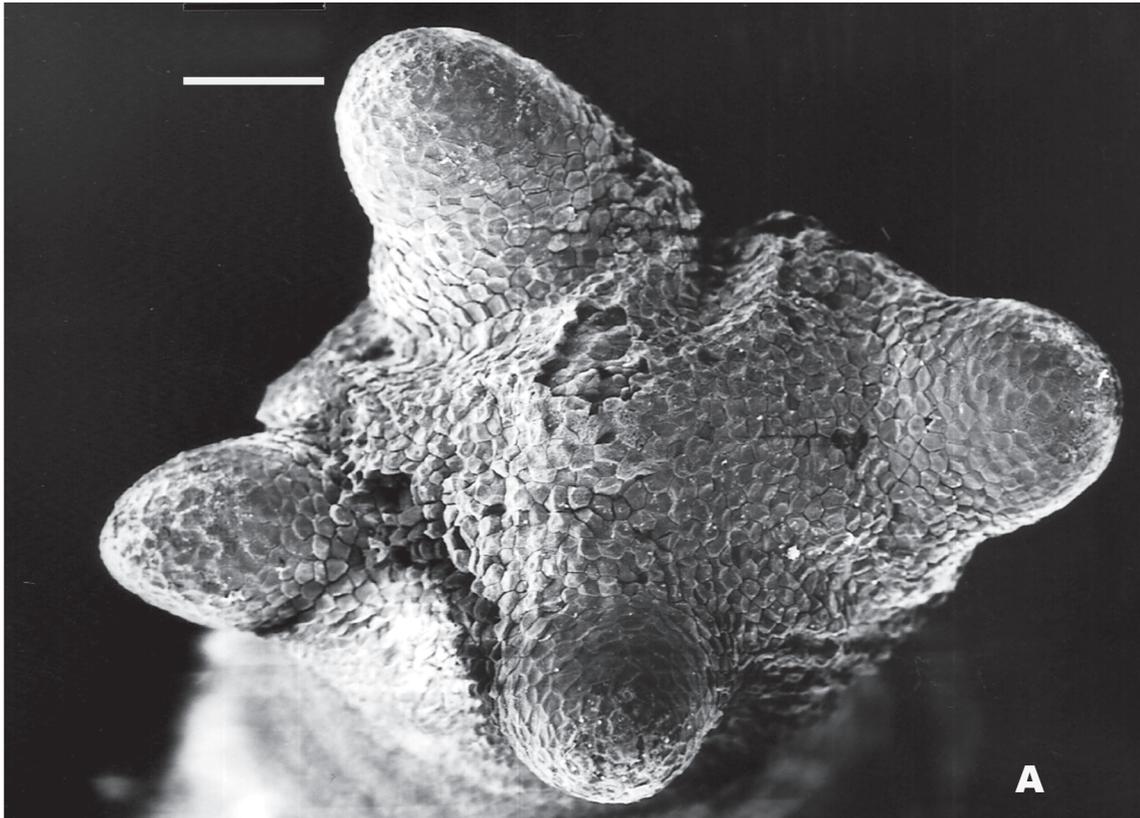


Figura 12: Microscopia Eletrônica de Varredura da extremidade digital. A: Vista frontal. Barra equivalente a 100 μ m. B: Vista lateral de uma das papilas. Barra equivalente a 10 μ m.

2.3) Ultra-estrutura em Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As análises em microscopia eletrônica de transmissão mostraram fibras de colágeno presentes na região medular das papilas digitais, reforçando as análises anatômicas e histológicas desta estrutura. Tais fibras apresentam-se agrupadas em feixes de aproximadamente 1 μ m de diâmetro, que se orientam em várias direções (Fig. 13B). As medições foram feitas em todas as fibras observadas com a escala presente na imagem digital do microscópio, levando em conta o menor diâmetro.

Feixes de nervos contendo de um a seis axônios chegam à região das papilas digitais com diâmetro de 1 a 3 μ m. Suas bainhas de mielina têm aproximadamente 0,3 μ m de espessura (Fig. 13C e D). Junto aos nervos, são observadas frequentemente células de Schwann, que os acompanham até a sua porção terminal (Fig. 13D). À medida que se aproximam da porção terminal da papila, os feixes nervosos se subdividem, passando a ter somente um ou dois axônios por feixe. Além disso, eles sofrem uma diminuição de diâmetro e perdem o revestimento de mielina (Fig. 13E e F).

Sob o epitélio do topo da papila, as terminações nervosas encontram-se desmielinizadas e seus diâmetros variam de 0,5 a 2 μ m (Fig. 14C a F). Esta encontra-se encontra restrita à região entre a medula cartilaginosa e a membrana basal do epitélio, sem penetrar em nenhum dos tecidos adjacentes. O tecido epitelial encontra-se totalmente distinto do tecido nervoso, sendo separados pela membrana basal epitelial e por uma fina faixa de interstício, que se mantém constante ao longo de toda a interface entre estes tecidos. Não há indícios de invasão do epitélio por parte das células nervosas, nem tampouco a presença de células diferenciadas, como as células de Merkel, na camada basal do epitélio. Da mesma forma, a separação entre os feixes nervosos e o tecido cartilaginoso se dá de forma abrupta, e estes tecidos não se mesclam (Fig. 14B). As fibras nervosas aparecem como estruturas livres, sem nenhum tipo de encapsulamento ou enovelamento. Nesta região, as fibras apresentam uma concentração de vesículas internas de aproximadamente 50 ou 60nm de diâmetro (Fig. 14).

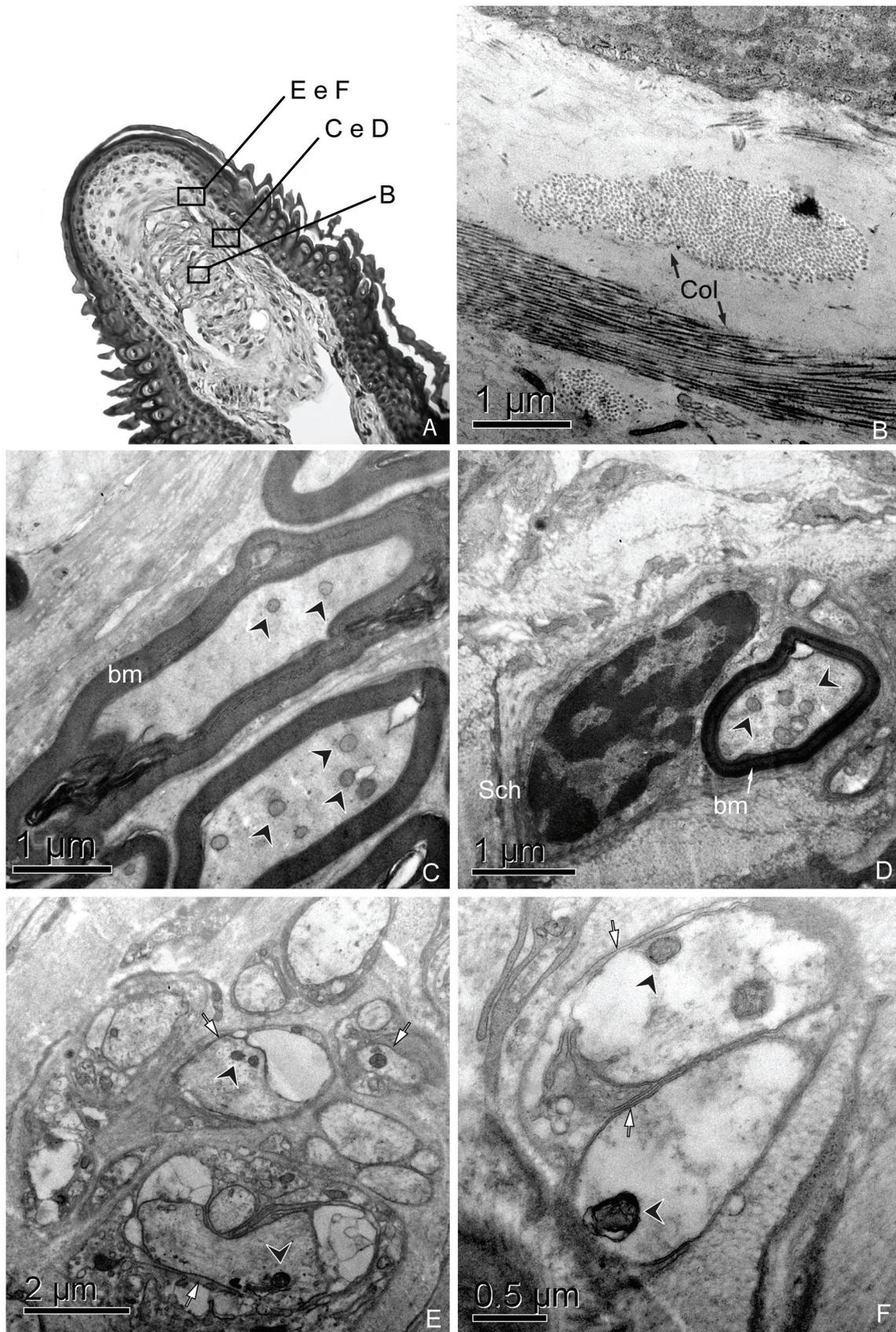


Figura 13: Secções de uma papila digital de *Pipa carvalhoi* indicadas em A. B: zona medular da papila, com fibras de colágeno (col). C e D: fibras nervosas da região basal, mostrando os axônios agrupados (pontas de seta) dentro de feixes mielinizados. bm: bainha de mielina. Sch: Célula de Schwann. E e F: fibras nervosas distais com pouca ou nenhuma bainha de mielina (setas).

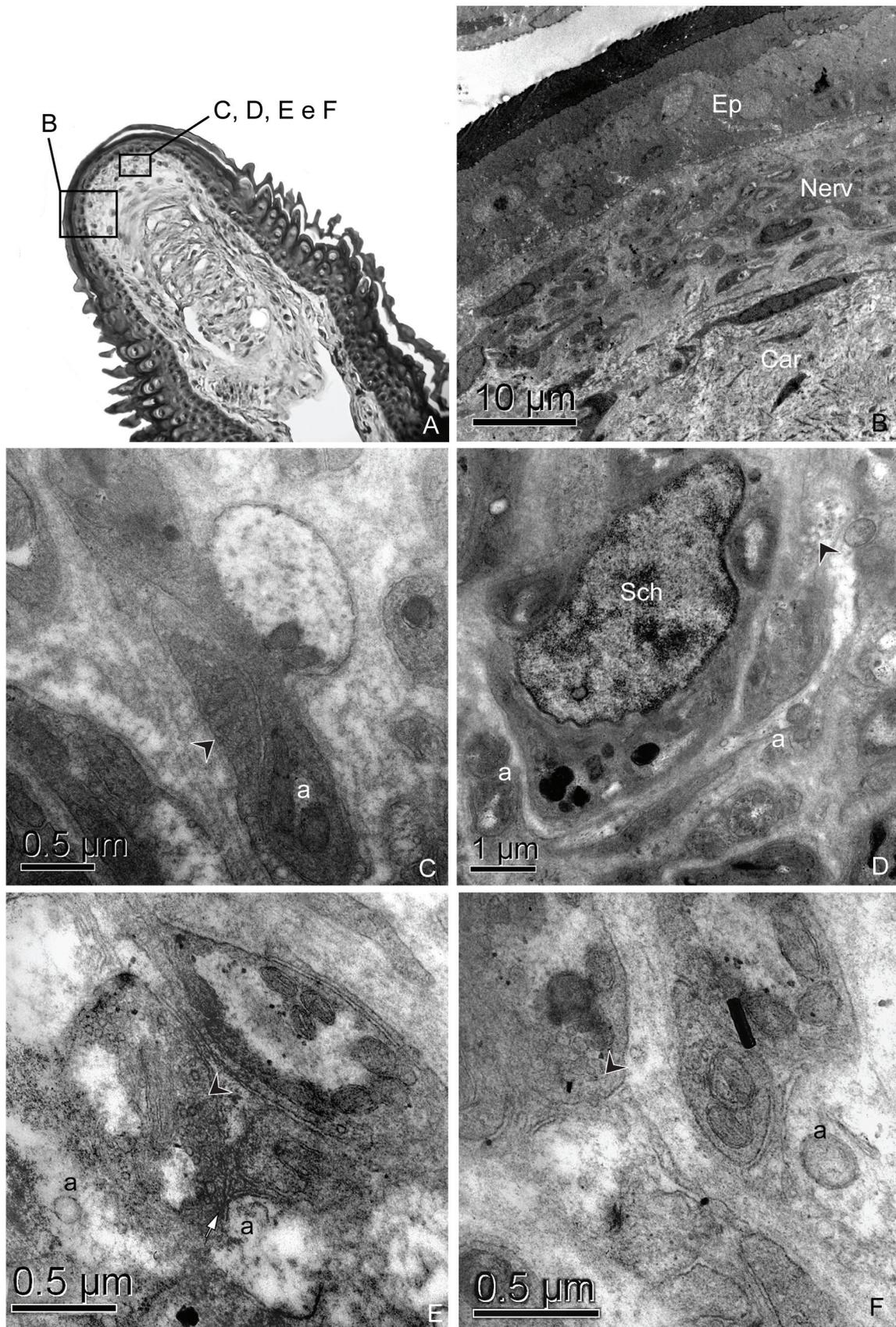


Figura 14: Secções de MET da porção terminal de uma papila digital de *Pipa carvalhoi*, como indicado em A. B: Vista geral da papila, mostrando o epitélio (Ep), as fibras nervosas (Nerv) e a medula de cartilagem (Car). C, D, E e F: fibras nervosas terminais com vesículas (pontas de seta) Sch: Célula de Schwann. a: axônio.

3) ENSAIOS FISIOLÓGICOS

A Figura 15 mostra um registro típico de potencial de ação de nervo braquial desembainhado de *Pipa carvalhoi*, obtido por estimulação elétrica supra-maximal.

A Tabela 2 relaciona os estímulos aplicados e as respectivas respostas obtidas.

Tabela 2: estímulos aplicados nas papilas digitais de *P. carvalhoi* e respostas obtidas

| Estímulo | Resposta |
|------------------------------|----------|
| Controle | + |
| Secreção de pele de macho | - |
| Secreção de pele de fêmea | - |
| Solução HCl 1% | - |
| Solução HCl 2% | - |
| Solução saturada de L-Serina | - |
| Objeto aquecido | - |
| Solução saturada de NaCl | - |
| Tátil (toque) | - |
| Dor (pressão intensa) | - |
| Luminoso | - |
| Sonoro (1 Hz - 250 KHz) | - |

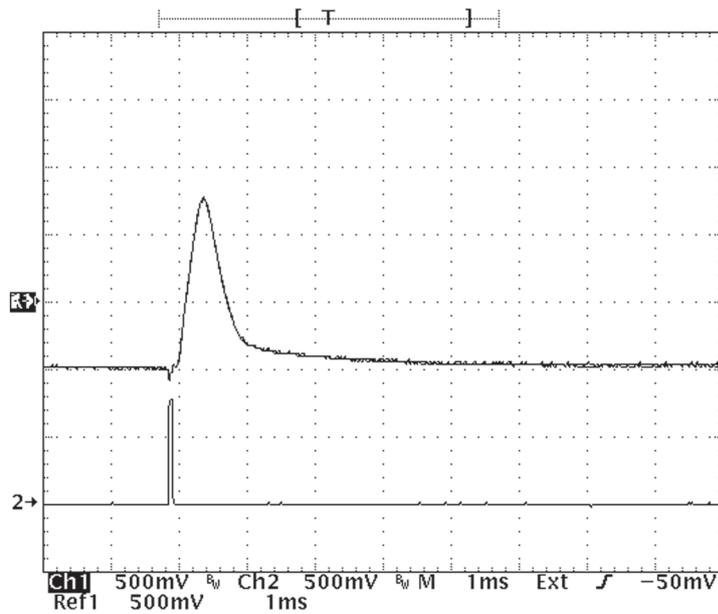


Figura 15: Potencial de ação do nervo braquial de *Pipa carvalhoi*, em resposta a estimulação elétrica supramaximal.

Não foram registradas respostas elétricas a nenhum dos diferentes estímulos aplicados, o que foi verificado pela ausência de resposta da preparação à bateria de estímulos.

Vale ressaltar que, para cada ensaio, a integridade da preparação foi previamente avaliada por meio de estimulação elétrica. A preparação apresentou ser extremamente resistente, apresentando respostas aos estímulos elétricos por até quatro horas de ensaio.

DISCUSSÃO

O primeiro estudo minucioso sobre a anatomia geral do sistema nervoso periférico de anuros conhecido foi realizado por Gaupp (1899), onde os Sistemas Nervosos Central e Periférico de *Rana esculenta* são explorados em seus detalhes. Ocorrem divergências nas terminologias dos nervos espinhais empregadas por Gaupp (1899), Duellman e Trueb (1986) e McDiarmid (1999). Gaupp afirma que o plexo braquial é formado pelos nervos espinhais 2, 3 e 4, sendo que o NE 2 tem sua origem em conjunto com o NC XII (hipoglosso). Já a nomenclatura utilizada por Duellman e Trueb (1986) afirma que o plexo braquial é formado pelos NE 2 e 3, e que possuem um ramo que os conecta. Por sua vez, McDiarmid afirma que o NC XII (hipoglosso) corresponde ao NE 1, e os nervos espinhais 2 e 3 compõem o plexo braquial. Estas últimas descrições são bastante simplificadas, ambíguas e suas ilustrações, quando presentes, não correspondem claramente ao que é visto nos espécimes analisados no presente estudo. Isto propiciou a escolha de Gaupp (1899) como a referência para a terminologia dos nervos, que também foi utilizado por trabalhos recentes (Schlosser & Roth, 1997a; Schlosser & Roth, 1997b).

As estruturas das extremidades dos dígitos de *Pipa* também apresentam controvérsias em relação à sua nomenclatura. Trueb e Cannatella (1986) chamam estas estruturas de lobos, enquanto que Ehrl *et al.* (1986 e 1987) se referem às “ramificações” ou aos “hemisférios”. Miranda-Ribeiro (1926) relata pela primeira vez a presença destas estruturas, designadas como “papilas”, em *Pipa pipa*, termo que foi empregado no presente trabalho pelo fato de ser a nomenclatura mais antiga encontrada.

Em Pipidae, o NE 4 une-se integralmente ao NE 3, sendo estes nervos de calibre semelhante. Nos demais anuros, o NE 4 somente envia um ramo que se une ao NE 3. Além disso, o NE 4 não apresentou nenhuma diferença visível e significativa no diâmetro, em relação ao NE 3. O padrão encontrado nos demais anuros mostra um NE 4 de diâmetro relativo bastante inferior.

Gaupp (1899) mostra quatro variações de como os nervos 3 e 4 interagem na formação do plexo braquial. Em todas elas, o NE 4 ramifica-se e somente um dos ramos resultantes une-se ao NE 3. Em *P. carvalhoi* e *X. laevis*, o NE 4 se liga totalmente ao nervo 3. O ramo dorsal anterior da escápula (DEA) separa-se do plexo, seguindo paralelamente ao nervo vago (NC VIII) até alcançar músculos em pele dos flancos. O NE 4 apresenta ramos cutâneos e um ramo que inerva os músculos oblíquos, assim como o ramo DEA, indicando uma provável homologia entre estes nervos.

Nos pipídeos, a disposição do plexo braquial e o calibre dos nervos que o compõem sugerem uma demanda periférica de nervos, podendo ser sensorial ou motora.

Como função motora, os anuros utilizam seus membros anteriores para a cópula, combates, apoiarem-se ou agarrarem-se ao substrato e também para a manipulação de presas. Gray *et al.* (1997) observaram diferentes padrões de manipulação de presas dentre os diversos grupos de anuros, onde os membros anteriores possuem papel importante no transporte da presa para dentro da cavidade oral. Além disso, *Pseudis bolbodactyla*, prendem-se ao substrato utilizando os membros anteriores (Brandão *et al.*, 2003). O movimento de “colherada” é considerado um comportamento primitivo, que aparece em diversos táxons de anuros, porém é o único tipo de movimento realizado por pipídeos, enquanto que demais comportamentos considerados derivados aparecem nos demais táxons.

Com isso, podemos afirmar que o provimento de nervos aos membros anteriores e músculos axiais em *Pipa* partindo do plexo braquial, tomando como base o calibre dos nervos que o compõem, principalmente o NE 4, aparentemente não possui relação com a complexidade motora dos membros anteriores. *Pipa carvalhoi*, inclusive, não realiza movimentos ativos com seus artelhos, como extensão ou flexão dos dígitos, pois a articulação entre as falanges é aparentemente frouxa, o que foi observado no presente trabalho. A ausência de atividade motora nos dígitos, aliada à maior participação destes nervos em inervações sensoriais cutâneas, pode indicar prioridade sensorial das fibras provenientes do NE 4.

O presente estudo mostrou que as papilas digitais são formadas por um tecido cartilaginoso que se ramifica em quatro unidades sustentadoras das papilas, estrutura que já fora observado por Trueb e Massemin (2000) em sua descrição osteológica da espécie *Pipa aspera*. No entanto, Trueb *et al.* (2000) ao descreverem a osteologia de *P. pipa*, ignoram a presença deste componente cartilaginoso da falange terminal, apesar de se saberem que *P. pipa* possui as papilas digitais com estruturas mais complexas que as demais espécies do gênero (Trueb & Cannatella, 1986). Outros anuros também possuem modificações em seus dígitos, como Hylidae, que apresentam discos digitais compostos por cartilagem, e Dendrobatidae, que possuem a falange distal em forma de “T”. Porém, a porção terminal cartilaginosa aparentemente é exclusiva do gênero *Pipa*.

Ehrl *et al.* (1986) mostram especializações topográficas na superfície da pele dos dígitos de *Pipa pipa*, onde a região dorsal dos dedos é coberta por espículas no sentido antero-posterior e a pele sobre os hemisférios terminais é lisa. Tais espículas conferem maior aderência à pele, o que facilita a captura de presas com a utilização dos membros anteriores. Segundo Gray *et al.* (1997), os pipídeos realizam o movimento denominado *scooping* (“colherada”) o que, em conjunto com as espículas da pele, otimizam a captura e a manipulação de sua presa. Ehrl *et al.* (1987) voltam a afirmar a importância das espículas e também afirmam que o tamanho e a forma dos lobos terminais são bastante similares nos diferentes estágios do desenvolvimento ontogenético e em diferentes espécies, indicando uma relação com sua provável função sensorial.

A estrutura da extremidade dos dígitos de *Pipa carvalhoi* já havia sido descrita anteriormente por Trueb & Cannatella (1986). Nesse trabalho, voltado para a sistemática do gênero *Pipa*, é mostrada a diversidade interespecífica das formas das extremidades digitais dentro do gênero. *Pipa carvalhoi*, *P. aspera*, *P. arrabali* e *P. snethlageae* são caracterizadas por extremidades digitais simétricas e divididas em quatro lobos, ao passo que as demais espécies apresentam padrões assimétricos na distribuição dos lobos, inclusive *P. pipa*, cujas papilas subdividem-se em quatro lobos cada. Neste gênero há

espécies com ambos os padrões de simetria das papilas digitais. No entanto, apesar de sua importância taxonômica, não é possível estabelecer uma relação de ancestralidade desta característica em *Pipa*, baseado na filogenia, visto que a polarização desta característica é contraditória (Trueb & Cannatella, 1986).

Anuros adultos supostamente não possuem células quimiossensoriais especializadas na pele. Os lobos digitais de *P. carvalhoi*, não apresentam em sua superfície nenhuma estrutura sensorial, como neuromastos, e seu epitélio é queratinizado, não apresentando microvilosidades ou células nervosas expostas, como nos epitélios sensoriais supracitados. Não existe contato direto nem estruturas transdutoras entre o meio externo e células nervosas situadas logo abaixo da lâmina basal. Isto sugere que tais estruturas não desempenham funções químio ou mecanorreceptoras com os mesmos padrões de resposta apresentados pelos órgãos gustativos, olfativos e octavolateral, assemelhando-se mais com receptores táteis ou mesmo receptores cutâneos difusos.

Koyama *et al.* (2001) encontraram células quimiorreceptoras marcadas com o corante de fluorescência carbocianina na superfície da pele com inervação proveniente da espinha, o que foi considerado uma novidade, pois tais tipos celulares eram somente encontrados em camadas mais profundas da pele, mas são mediadas por células em contato direto com o meio externo. Mesmo assim, estas células são acessíveis a estímulos químicos, pois na pele de sapos há vias que permitem o fluxo de íons até as camadas mais profundas da pele, onde estas células estão localizadas. No entanto, tais células não foram confirmadas como quimiossensoriais, pois até então não foram encontradas conexões sinápticas.

Nossos resultados mostraram que as papilas digitais de *P. carvalhoi*, apesar de possuírem uma superfície epitelial lisa e queratinizada, são projeções que apresentam um padrão de inervação bastante distinto. A extremidade digital com quatro semi-esferas é moldada pela cartilagem presente na ponta da falange distal e possuem fibras mielinizadas paralelas, que perdem a bainha ao atingirem a porção distal do lobo. Esta conformação

mantém as terminações nervosas concentradas em grupos projetados em diferentes direções, o que aumenta a área de superfície sensível receptora.

Murahashi *et al.* (1958) observaram as propriedades fisiológicas de diversas unidades sensoriais da pele de sapos, classificaram-nas levando-se em conta algumas características inerentes às fibras: o estímulo ao qual a fibra produzia uma resposta, seu diâmetro, presença ou ausência de mielina, campo receptor e velocidade de condução do estímulo. Heatwole (1998) reúne informações sobre os nervos sensoriais que inervam a pele dos anuros, separando os receptores cutâneos em seis grupos distintos. As fibras das terminações nervosas encontradas no presente estudo se enquadram na descrição do receptor Tipo C, descrito por Heatwole (1998): fibras mielinizadas com axônios de diâmetro de aproximadamente 2 μ m, com terminações livres, alojadas em camadas inferiores da derme. São fibras de condução lenta (3,5 - 5m/s), que respondem a estímulos mecânicos e térmicos.

Iggo e Muir (1969) descrevem a morfologia e ultra-estrutura de receptores táteis da pele glabra de gatos. As células receptoras são localizadas em elevações da pele, e são assentadas sobre densas fibras de colágenos da derme, que facilitam a captação de estímulos de toque e pressão. As fibras nervosas que chegam nestas cúpulas sensoriais são mielinizadas, mas perdem a bainha de mielina assim que se aproximam em cerca de 10 μ m da membrana basal, onde se encontram as terminações celulares sensoriais. Tal descrição muito se assemelha com a disposição dos tecidos presentes nas papilas digitais de *P. carvalhoi*, onde as terminações nervosas localizam-se sob o epitélio e estão apoiados sobre regiões de tecidos conjuntivos mais densos.

A presença e distribuição de fibras nervosas localizadas na derme de *Bufo bufo* e *Rana temporaria* é demonstrada por Whitear (1955). É relatada a presença de fibras amielínicas, que se ramificam repetidamente, formando uma rede de terminações varicosas concentradas principalmente no estrato esponjoso sob a epiderme, sem apresentarem encapsulamentos. Tais fibras são diferentes das que apresentam terminações livres na epiderme, e sua função pode estar relacionada com a nocicepção. No presente trabalho, as fibras são mielinizadas, mas apresentam terminações livres aglomeradas na derme.

As vesículas presentes na região terminal das fibras nervosas sugerem, a princípio, que estas estão relacionadas com transmissão sináptica. Whitear (1974a) discute a presença de vesículas nas fibras nervosas da pele de *Rana temporaria*. Nervos sensoriais apresentam uma população de vesículas bastante diversificada, cuja presença sugere uma função trófica, que requer um mecanismo eferente ou vibra nervosa eferente. No entanto, a distribuição dos diferentes tipos de vesículas encontrados estão mais relacionados com a sua posição na pele do que com a transmissão sináptica.

Whitear (1974b) descreve a composição histológica da pele de *R. temporaria*, com ênfase nas terminações livres que penetram o epitélio e células epiteliais especiais que podem estar relacionadas com a percepção, como as células de Merkel e as células em garrafa (*flask cells*). Em *P. carvalhoi* não foi constatada a presença de tais estruturas celulares no epitélio das papilas, cujas células eram uniformes e homogêneas, além de não haver penetração de terminações nervosas neste epitélio. Tais tipos celulares estão associados à inervação difusa na pele de anfíbios, que apresenta vários tipos de fibras e padrões de inervação, que não são observados nas papilas digitais.

As fibras motoras, por sua vez, distinguem-se das fibras sensoriais. Na região de contato com o músculo, as fibras apresentam diâmetro bastante reduzido (inferior a $2\mu\text{m}$) e formam uma região terminal bulbosa apoiada sobre a superfície do músculo, denominada placa motora. Estas estruturas ovais possuem de 6 a $7\mu\text{m}$ de comprimento e de 2 a $3\mu\text{m}$ de largura (Page, 1965).

Um tato acurado na ponta dos dígitos, da forma como é sugerido em *Pipa*, determina que o animal tenha acesso a informações sensoriais que não são percebidas pelos olhos ou outro órgão de natureza sensorial específica, como os órgãos de linha lateral ou epitélio olfatório. As características das fibras mielinizadas e dos terminais livres sugerem que as papilas digitais respondem a estímulos térmicos e vibratórios, de acordo com os tipos de fibras apresentados por Heatwole (1998). Com isso, pode-se afirmar que a concentração de tais fibras em uma região específica, está relacionada com a percepção do substrato, pois seus membros anteriores quando em repouso, posicionam-se em contato

com o este. Lá o animal passa maior parte do seu tempo estáticos (Weygolt, 1975), subindo periodicamente à superfície para renovar o ar de seus pulmões (Buchacher, 1996).

Esperava-se, em consonância com os dados morfológicos obtidos no presente trabalho, que a preparação respondesse a estímulos mecânicos que fossem aplicados nas extremidades dos dígitos, gerando potenciais de ação propagados pelo nervo braquial. No entanto, a preparação não respondeu aos estímulos mecânicos (tato, vibração, som, pressão) bem como a outras modalidades de estímulos (térmicas e químicas).

A transdução sensorial consiste na absorção da energia de um estímulo seguida da gênese de um potencial bioelétrico, denominado potencial gerador, ao passo que a codificação é o processo no qual o potencial gerador é transformado em potenciais de ação (Lent, 2004). As células receptoras são específicas para um ou mais naturezas de estímulos, o que reflete em sua especificidade de transdução. A intensidade e a duração de um estímulo são traduzidas no potencial receptor, que é codificado em potenciais de ação de acordo com a frequência dos pulsos gerados. No presente estudo, os nervos braquiais mantiveram-se intactos, visto que os estímulos elétricos neles aplicados induziram o disparo de potenciais de ação. Apesar disso, nenhum estímulo aplicado nas papilas foi capaz de fazer o mesmo. Na metodologia empregada, o estímulo elétrico usado como controle é aplicado no nervo e não na região receptora de interesse. Como foi verificado que a transmissão do potencial não foi afetada, especula-se que tenha havido uma falha na transdução do potencial. Para que um potencial gerador dê origem a um potencial de ação é necessário que a intensidade do estímulo seja suficiente para atingir um limiar de disparo característico de cada tipo de célula sensorial. Como os estímulos, no presente trabalho, foram aplicados em diversas modalidades e intensidades, acredita-se que a ausência de respostas não se deveu à escolha inadequada de estímulos. Assim, pode-se concluir que outros fatores pertinentes à preparação foram responsáveis pela ausência de potenciais de ação no nervo.

Ensaio eletrofisiológicos normalmente empregam técnicas nas quais o eletródio de captação dos potenciais de ação originados dos estímulos aplicados é posicionado

diretamente na estrutura sensorial a ser analisada (Borroni & Ateima, 1988; Akaike *et al.*, 1975; Evans & Hara, 1985) ou nas fibras nervosas que nela chegam (Kroese *et al.*, 1978; Russel, 1971; Maruhashi *et al.* 1952; Catton, 1958). Talvez a adoção de métodos de registro mais apurados seja necessária para a complementação do estudo em questão.

CONCLUSÕES

Os plexos braquiais de *Pipa carvalhoi* e *Xenopus laevis* possuem configurações diferentes dos demais anuros. Nestes animais, o quarto nervo espinhal possui calibre semelhante ao terceiro nervo espinhal e une-se integralmente ao NE 3, enquanto que nos demais anuros o quarto nervo espinhal é mais delgado e liga-se parcialmente ao NE 3. A ausência de movimentos complexos no repertório de comportamentos relacionados à alimentação e à manipulação de presas em pípeidos, juntamente com uma distribuição diferenciada dos nervos derivados no plexo braquial, que inervam órgãos de linha lateral e extremidades digitais leva a crer que a grande disponibilidade de fibras nervosas apresentadas nestes organismos está fortemente relacionada aos seus sistemas sensoriais cutâneos, que podem estar relacionados também à complexidade reprodutiva destes animais.

A conformação do padrão de inervação presente nas papilas digitais de *P. carvalhoi* é, em parte, semelhante aos padrões de inervação difusos, encontrado na pele de anfíbios. No entanto, só ocorre um tipo de fibra, que não invade o epitélio e não possui estruturas capsulares. Isto indicaria que tais estruturas podem estar relacionadas com a termorrecepção e com o tato, de acordo com os dados em literatura. Tais modalidades sensoriais seriam de grande valor para estes animais em seus habitats, visto que estes são animais exclusivamente aquáticos, que constantemente mantêm seus membros anteriores em contato com o substrato. Esta foi a primeira tentativa de descrição morfológica e eletrofisiológica das papilas digitais de *Pipa* com o objetivo de se demonstrar as características sensoriais destas estruturas, que até então, eram somente especuladas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKAIKE, N.; NOMA, A. & SATO, M. 1976. Electrical responses of frog taste cells to chemical stimuli. *Journal of Physiology* 254: 87-107.
- ALTMAN, J.S. & DAWES, E.A. 1983. A cobalt study of medullary sensory projections from lateral line nerves, associated cutaneous nerves, and the VIIIth nerve in adult *Xenopus*. *The Journal of Comparative Neurology* 213: 310-326.
- BARLOW, L.A. 1998. The biology of amphibian taste. In Heatwhole H., editor. *Amphibian Biology* vol. 3 – Sensory Perception. Australia: Surrey e Beatty Sons. p. 743-782.
- BORRONI, P.F. & ATEMA, J. 1988. Adaptation in chemoreceptor cells - I. Self-adapting backgrounds determine threshold and cause parallel shift of response function. *Journal of Comparative Physiology A* 164: 67-74.
- BRANDÃO, R.A., GARDA, A.A., BRAZ, V. & FONSECA, B. 2003. Observations on the ecology of *Pseudis bolbodactyla* (Anura, Pseudidae) in central Brazil. *Phyllomedusa* 2(1): 3-8.
- BUCHACHER, C.O. 1993. Field studies on the small Surinam toad *Pipa arrabali* near Manaus, Brazil. *Amphibia-Reptilia* 14: 59-69.
- CANNATELLA, D.C. & TRUEB, L. 1988. Evolution of pipoid frogs: intergeneric relationships of the aquatic frog family Pipidae (Anura). *Zoological Journal of the Linnean Society London* 94:1-38.
- CANNATELLA, D.C. & de SÁ, R.O. 1993. *Xenopus laevis* as a model organism. *Systematic Biology* 42(4): 476-507.
- CATTON, W.T. 1958. Some properties of frog skin mechanoreceptors. *Journal of Physiology* 141: 305-322.
- CLAAS, B.; MÜNZN, H. & GÖRNER P. 1993. Reaction to surface waves by *Xenopus laevis* Daudin. Are sensory systems other than the lateral line involved? *Journal of Comparative Physiology A* 172: 759-765.
- DAWLEY, E. M. 1998. Olfaction In Heatwhole H., editor. *Amphibian Biology* vol. 3

- Sensory Perception. Australia: Surrey e Beatty Sons. p.712-742.
- DODD, J. & CASTELUCCI, V.F. 1991. Smell and taste: the chemical senses. Chapter 34. In Kandell, E. R., Schwartz, J. H., Jessel, T.M. 1991. *Principles of Neural Science*. New York. Elsevier. p. 513-529.
- DUELLMAN, W.E. & TRUEB, L. 1986: *Biology of Amphibians*. New York: McGraw-Hill. 670p.
- DÜRING, M. & ANDRES, K.H. 1976. The ultrastructure of the taste and touch receptors of the frog's taste organ. *Cell and Tissue Research* 165: 185-198.
- EHRL, A.; SCHUTTE, F.; HERBIG, A. & ROCEK, Z. [Ed.] 1986. Scanning electron micrography of the digital tip of *Pipa pipa* (Anura: Pipidae). *Studies in Herpetology. Proceedings of the European Herpetological Meeting (3rd Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica) Prague 1985*. Charles University, Prague. 1986: I-XXX, 1-754. Chapter pagination: 259-262.
- EHRL, A.; SCHUTTE, F.; HERBIG, A., van GELDER, J.J.; STRIJBOSCH, H. & BERGERS, P.J.M. [Eds] 1987. Morphology and development of fingertips in frogs of the genus *Pipa* (Anura: Pipidae). *Proceedings of the 4th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica*. Societas Europaea Herpetologica, Faculty of Sciences, Nijmegen. 1987:1-473. Chapter pagination: 123-126.
- EVANS, R.E. & HARA, T.J. 1985. The characteristics of the Electro-olfactogram (EOG): its loss and recovery following olfactory nerve section in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Brain Research* 330: 65-75.
- FRITZ, B. & NEARY, T. 1998. The octavolateralis system of mechanosensory and electrosensory organs. In Heatwhole H., editor. *Amphibian Biology vol. 3 – Sensory Perception*. Australia: Surrey e Beatty Sons. p.878-922.
- FROST, D. R. 2006. *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 4 (17 August 2006). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- FROST, D.; GRANT, T.; FAIVOVICH J.; BAIN, R.; HAAS, A.; HADDAD, C. B.;

- DE SÁ, R. O.; CHANNING, A.; WILKINSON, M.; DONNELLAN, S. C.; RAXWORTHY, C. J.; CAMPBELL, J. A.; BLOTTO, B. L.; MOLER, P.; DREWES, R. C.; NUSSBAUM, R. A.; LYNCH, J. D.; GREEN, D. M.; & WHEELER, W. C. 2006. The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 297: 1-370.
- GAUPP, E. 1899. *Anatomie des Frosches – Lehre vom Nerve und Gefäßsystem*. Deutschland. Von Friederich Vieweg und Sohn. 234p.
- GRAY, L.A.; O'REILLY, J.C. & NISHIKAWA. K.C; 1997. Evolution of forelimb movement patterns for prey manipulation in anurans. *The Journal of Experimental Zoology* 277: 417-424.
- GOSNER, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- GRUNNET, M.L., 1978. Gomori's trichrome stain – Its use with myelin sheaths. *Archives of Neurology* 35: 692.
- HARVEY, R. & BATTY, R.S. 1998. Cutaneous taste buds in cod. *Journal of Fish Biology* 53: 138-149.
- HEATWOLE, H. 1998. Diffuse cutaneous and muscular sensory systems: mechanoreception, thermoreception, nociception, chemoreception and kinesthetic sense. In Heatwhole H., editor. *Amphibian Biology vol. 3 – Sensory Perception*. Australia: Surrey e Beatty Sons. p. 936-953.
- HELLMANN, B. & FRITZSCH B. 1996. Neuroanatomical and histochemical evidence for the presence of common lateral line and inner ear efferents and of efferents to the basilar papilla in a frog, *Xenopus laevis*. *Brain, Behavior and Evolution* 47: 185-194.
- HOUCK, L.D. 1998. Integrative studies of amphibians: from molecules to mating. *American Zoologist* 38(1): 108-117.
- IGGO, A. & MUIR, A.R. 1969. The structure and function of a slowly adapting touch corpuscle in hairy skin. *Journal of Physiology* 200: 763-796.
- JHAVERI, S. & FRANK, E. 1983. Central Projections of the Brachial Nerve in Bullfrogs: Muscle and Cutaneous Afferents Project to Different Regions of the Spinal Cord. The

- Journal of Comparative Neurology 221: 304-312.
- KOYAMA, H.; NAGAI, T.; TAKEUCHI, H. & HILLYARD, S.D. 2001. The spinal nerves innervate putative chemosensory cells in the ventral skin of desert toads, *Bufo alvarius*. Cell and Tissue Research 304 (2): 185-192.
- KELLING, S.T.; HALPERN, B.P.; & EISNER, T. 1990. Gustatory sensitivity of an anuran to cantharidin. Experientia 46: 763-764.
- KROESE, A.B.A.; van der ZALM, J.M. & van den BERCKEN, J. 1978. Frequency response of the lateral-line organ of *Xenopus laevis*. European Journal of Physiology (Pflügers Archiv) 375: 167-175.
- LENT, R. 2004. Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência. São Paulo. Ed. Atheneu. 698p.
- MARUHASHI, J.; MIZUGUCHI, K. & TASAKI, I. 1952. Action currents in single afferent nerve fibers elicited by stimulation of the skin of the toad and the cat. Journal of Physiology 117: 129-151.
- McDIARMID, R.W. & ALTIG, R. 1999. Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae. Illinois. University of Chicago Press. 444 p.
- MIRANDA-RIBEIRO, A. 1926. Notas para servirem ao estudo dos Gymnobatrachios (Anura) brasileiros. Archivos do Museu Nacional vol. 27.
- MOHR, C. & GÖRNER, P. 1996. Innervation patterns of the lateral line stitches of the clawed frog *Xenopus laevis*, and their reorganization during metamorphosis. Brain, Behaviour and Evolution 48: 55-69.
- NOGUEIRA, M.I. 1987. Cadeia nervosa ventral de *Periplaneta americana* L. Abordagem eletrofisiológica e estrutural do rompimento da barreira hematoencefálica por hexana-acetona e efeitos do DDT. Tese de doutorado Departamento de Fisiologia Geral, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo – USP – SP.
- NISHIKAWA, K.C. 1987. Staining amphibian peripheral nerves with sudan black B: progressive vs regressive methods. Copeia 1987(2): 489-491.
- PAGE, S.G. 1965. A comparison of the fine structure of frog slow and twitch muscle fibers. The Journal of Cell Biology 26: 477-497.

- PEARL, C.A.; CERVANTES, M.; CHAN, M.; HO, U; SHOJI, R. & THOMAS, E.O. 2000. Evidence for a mate-attracting chemosignal in the dwarf African clawed frog *Hymenochirus*. *Hormones and Behaviour* 38: 67-74.
- PUGENER, L.A.; MAGLIA, A.M. & TRUEB, L. 2003. Revisiting the contribution of larval characters to an analysis of phylogenetic relationships of basal anurans. *Zoological Journal of the Linnean Society* 139: 129-155.
- RAJCHARD, J. 2005. Sex pheromones in amphibians: a review. *Veterinary Medicine – Czech* 50(9): 385-389.
- RABB, G.B. & RABB, M.S. 1963. Additional observations on breeding behavior of the Surinam toad, *Pipa pipa*. *Copeia* 4: 636-642.
- RUPPERT, E. & BARNES, R. 1996. *Zoologia dos Invertebrados*. São Paulo. Ed Roca. 1029p.
- RUSSELL, I.J. 1971. The role of the lateral-line efferent system in *Xenopus laevis*. *Journal of Experimental Biology* 54: 621-641.
- SCHLOSSER, G. & ROTH, G. 1997a. Evolution of nerve development in frogs I. The development of the peripheral nervous system in *Discoglossus pictus* (Discoglossidae). *Brain, Behavior and Evolution* 50(2): 61-93.
- SCHLOSSER, G. & ROTH, G. 1997b. Evolution of nerve development in frogs II. Modified development of the peripheral nervous system in the direct-developing frog *Eleutherodactylus coqui* (Leptodactylidae). *Brain, Behavior and Evolution* 50(2): 94-128.
- SOKOL, O.M. 1977. The free swimming *Pipa* larvae, with a review of pipid larvae and pipid phylogeny (Anura:Pipidae). *Journal of Morphology* 154: 357-426.
- TAYLOR, W.R. & VAN DYKE, G.C. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium* 9(1): 58-72.
- TOYOSHIMA, K. & SHIMAMURA, A. 1982. Comparative study of ultrastructure of the lateral-line organs and the palatal taste organs in the African clawed toad, *Xenopus laevis*. *The Anatomical Record* 204: 371-381.
- TRUEB, L. 1984. Description of a new species of *Pipa* (Anura: Pipidae) from Panama.

- Herpetologica 40(3): 225-234.
- TRUEB, L. & CANNATELLA, D.C. 1986. Systematics, Morphology and phylogeny of genus *Pipa* (Anura: Pipidae). Herpetologica 42(4): 412-449.
- TRUEB, L. & MASSEMIN, D. 2000. The osteology and relationships of *Pipa aspera* (Amphibia: Anura: Pipidae), with notes on its natural history in French Guiana. Amphibia-Reptilia 22: 33-54.
- TRUEB, L.; PÚGENER, L.A. & MAGLIA, A.M. 2000. Ontogeny of the bizarre: an osteological description of *Pipa pipa* (Anura: Pipidae), with an account of skeletal development on the species. Journal of Morphology 243: 75-104.
- WABNITZ, P.A.; BOWIE, J.H.; TYLER, M.J.; WALLACE, J.C. & SMITH, B.P. 2000. Differences in the skin peptides of the male and female Australian tree frog *Litoria splendida*. European Journal of Biochemistry 267: 269-275.
- WAKE, M.H. & SCHWENK, K. 1986. A preliminary report on the morphology and distribution of taste buds in gymnophiones, with comparison to other amphibians. Journal of Herpetology 20(2): 254-256.
- WEYGOLDT, P. 1976. Observations on the biology and ethology of *Pipa (Hemipipa) carvalhoi* Miranda-Ribeiro 1937 (Anura, Pipidae). Z. Tierpsychologie 40 (1): 80-99.
- WHITEAR, M. 1955. Dermal nerve-endings in *Rana* and *Bufo*. Quarterly Journal of Microscopical Science 96(3): 343-349.
- WHITEAR, M. 1974a. The vesicle population in frog skin nerves. Journal of Neurocytology 3: 49-58.
- WHITEAR, M. 1974b. The nerves in frog skin. Journal of Zoology 172: 503-529.
- ZUG, G.R. 1993: Herpetology. California: Academic Press. 527p.
- ZUG, G.R.; VITT, L.J. & CALDWELL, J.P. 2001. Herpetology – An Introduction Biology of Amphibians and Reptiles. California. Academic Press. 630p. 2nd ed.