



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO MARAJÓ – BREVES
FACULDADE DE CIÊNCIAS NATURAIS

ALINE FARIAS DA SILVA

***APLECTANA HYLAMBATIS* BAYLIS, 1927 (NEMATODA,
COSMOCERCIDAE) INFECTANDO *ELACHISTOCLEIS HELIANNEAE*
(ANURA: MICROHYLIDAE)**

BREVES - PA
2019

ALINE FARIAS DA SILVA

***APLECTANA HYLAMBATIS* BAYLIS, 1927 (NEMATODA,
COSMOCERCIDAE) INFECTANDO *ELACHISTOCLEIS HELIANNEAE*
(ANURA: MICROHYLIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Ciências Naturais da Universidade Federal
do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau
de Licenciado em Ciências Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Lilian Cristina Macedo

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

S586a Silva, Aline
Aplectana hylambatis Baylis, 1927 (Nematoda, Cosmocercidae)
Infectando Elachistocleis helianneae (Anura: Microhylidae) / Aline
Silva. — 2019.
38 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^ª. Dra. Lilian Cristina Macedo
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Faculdade de
Ciências Naturais, Campus Universitário de Breves, Universidade
Federal do Pará, Breves, 2019.

1. Helmintos; . 2. Parasitismo; . 3. Anuros.. I. Título.

CDD 636.089696

ALINE FARIAS DA SILVA


***APLECTANA HYLAMBATIS* BAYLIS, 1927 (NEMATODA,
COSMOCERCIDAE) INFECTANDO *ELACHISTOCLEIS HELIANNEAE*
(ANURA: MICROHYLIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Naturais da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Naturais, aprovado com o conceito: Excelente.


Comissão examinadora:



Prof. Dra. Lilian Cristina Macedo (Orientadora)
FACIN – CUMB, UFPA



Prof. Esp. Geovania Figueiredo da Silva (Titular)
IFMA



Prof. Dr. Manoel Cleiton Costa de Freitas (Titular)
FACIN – CUMB, UFPA

Breves – PA, 28 de outubro de 2019.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as maravilhas que tem feito em minha vida, por iluminar e abençoar meus caminhos e meu trabalho.

Aos meus pais, Manoel Oliveira e Joana Darc Farias, pelo incentivo, por todo suporte durante meus estudos. Aos meus irmãos, Sirley, Sidney, Amanda, Alice e Adriane pela força e pelo exemplo que são para mim. Amo vocês! Aos demais membros da família, Avós, tios, primos, cunhados e sobrinhos

Gratidão a minha orientadora professora Lilian Macedo, que fez de tudo para que esse trabalho se tornasse possível, pela confiança, por todos os ensinamentos transmitido sobre parasitologia e sobre vários outros assuntos, por todo acompanhamento, conselhos e sugestões valiosas, por ser exemplo de professora, mulher, mãe... de pessoa esforçada que luta pelo que acredita, não é à toa que serve de exemplo para muitas pessoas. Muito obrigada por tudo!

Ao meu companheiro, amigo, colega de curso e namorado, Wallace Garcia, por todas as fotos cedidas para o presente trabalho. Pela força, carinho, apoio, por ter enfrentado junto comigo todos os desafios que surgiram durante o curso. Te amo!!

À FACIN – UFPA campus Breves, a todos os professores ao qual tive contato durante a graduação, pelo comprometimento com a educação!

E a toda turma CN 2016, em especial aos meus amigos de curso que levarei para a vida, Wallace, Tainá, Tebias, Faby e Robert obrigada por me fazerem rir nos momentos de desespero. Estamos juntos, “ispikenos”.

Ao pessoal do ICB – Laboratório de Biologia Celular e Helminologia, em especial a profa. Dra. Jeannie Nascimento dos Santos por ter nos dado a oportunidade de realizar a pesquisa em um laboratório equipado. A Geovania da Silva, Lucas Aristóteles, Yuri Willkens, Ana Nunes, Heriberto Figueira e Gabriel Rebêlo por todos os conselhos, conhecimento, ajuda e dedicação que tiveram comigo durante o tempo que estive lá. Obrigada!

A todos os membros do projeto “Herpetofauna do município de Breves (Ilha do Marajó – Pará) e helmintos parasitos associados” (PORTARIA N.27/2019 - CG/CUMB - UFPA)”.

Aos meus familiares por todas as vezes que viram um sapo ou uma cobra e lembravam do meu trabalho, pela força, pela união e alegria contagiante de sempre. Em especial a tia Ray Miranda e tio Clauderson Miranda pelo acolhimento em Belém. Vocês são muito importantes na minha vida!

A todos os amigos e amigas que contribuíram de forma direta e indireta para que eu pudesse chegar até o final desse trabalho!

A todos meus colegas de trabalho por entenderem meu lado e ter permitido minha ausência no período que precisei para me dedicar ao TCC.

E por fim, e não menos importante, agradecer a todos os meus professores, (que foram muitos, por isso não vou colocar o nome para não ser injusta com ninguém) mas que me ajudaram a crescer desde o ensino infantil até a graduação.

RESUMO

O anfíbio anuro *Elachistocleis helianneae* Caramaschi, 2010, está amplamente distribuído dentre os estados brasileiros do Amazonas, Rondônia e Pará, neste último, onde se incluí o Município Marajoara de Breves. Os Anuros são considerados excelentes modelos de estudos sobre a ecologia parasitária e os parasitos constituem uma parte importante da diversidade considerada invisível da Biota. Diante disto, contribuir com o conhecimento de helmintos parasitando *E. helianneae*, foi o que motivou a proposta deste trabalho. Desta forma o objetivo foi registrar a ocorrência da espécie *Aplectana hylambatis* (Nematoda: Cosmocercidae) em *Elachistocleis helianneae* e contribuir para o conhecimento sobre o parasitismo em anuros Microhylidae da Amazônia brasileira. No período de janeiro a julho de 2019 foram necropsiados nove espécimes de *E. helianneae* para a busca de helmintos, o Filo Nematoda foi o mais prevalente (98,55%). A espécie mais abundante de nematódeo encontrado nos intestinos de *E. helianneae* foi o parasito *Aplectana hylambatis*, representante da família Cosmocercidae. A intensidade parasitaria de *A. hylambatis* variou de 23 a 178 espécimes por hospedeiros. *Aplectana hylambatis*, morfométricamente, se mostrou menor do que os registros desse parasito nos demais hospedeiros já conhecidos em literatura. Diante do exposto, este estudo vem contribuir com o relato de novo registro de hospedeiro e localidade para a espécie *A. hylambatis* e é uma contribuição para o conhecimento da fauna de helmintos de anuros da Ilha do Marajó, Pará.

Palavras-chave: Helmintos; Parasitismo; Anuros.

ABSTRACT

The anuran amphibian *Elachistocleis helianneae* Caramaschi, 2010, is widely distributed among the Brazilian states of Amazonas, Rondônia and Pará, in the latter, which includes the Marajoara Municipality of Breves. The Anurans are considered excellent models of studies on parasitic ecology. Already parasites constitute an important part of the diversity considered invisible of Biota. To date, no studies have been carried out with Microhylidae helminth parasites in Breves Municipality, which justifies the present work. Thus, the objective was to record the occurrence of the species *Aplectana hylambatis* (Nematoda: Cosmocercidae) in *Elachistocleis helianneae* and to contribute to the knowledge about parasitism in anurans Microhylidae from the Brazilian Amazon. From January to July 2019, nine specimens of *E. helianneae* were necropsied for helminths. The Nematoda Phylum was the most prevalent (98.55%). The most abundant species of nematode found in the intestines of *E. helianneae* was the parasite *Aplectana hylambatis*, representative of the family Cosmocercidae. The parasitic intensity of *A. hylambatis* ranged from 23 to 178 specimens per host. *Aplectana hylambatis*, morphometrically, was smaller than the records of this parasite in the other hosts already known in the literature. Given the above, this study contributes to the report of a new host and locality record for the species *A. hylambatis* and is a contribution to the knowledge of anuran helminth fauna in Marajó Island, Pará.

Keywords: Helminths; Parasitism; Anurans.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Elachistocleis helianneae encontrada em atividade durante o período noturno, no Campus Universitário Marajó/UFPA – Breves.....	11
Figura 2 -	Mapa de distribuição de espécies do gênero Aplectana parasitando anuros no Brasil.....	13
Figura 3 -	Elachistocleis helianneae (Caramaschi, 2010). A –Ventre. B – Dorso.....	15
Figura 4 -	Mapa do Brasil mostrando a localização do Município de Breves, Ilha do Marajó, Estado do Pará.....	16
Figura 5 -	Processamento de microscopia de Luz: A – Montagem de lâminas temporárias, B – Análise das características morfológicas do helminto (Fonte: arquivo pessoal).....	18
Figura 6 -	Desenho taxonômico de Aplectana adaechevarriae, onde são apresentadas as principais estruturas de interesse taxonômico para a identificação do gênero.....	20
Figura 7 -	Desenho taxonômico de Aplectana hylambatis.....	24
Figura 8 -	Fotomicrografia de A. hylambatis fêmea.....	25
Figura 9 -	Fotomicrografia de A. hylambatis macho.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Hospedeiro e número de campo, data de coleta, sítios de infecção e número de nematódeos coletados.....	21
Tabela 2 -	Comparação das principais características morfométricas de espécimes machos de Aplectana hylambatis parasitando hospedeiros da família Microhylidae em diferentes estudos.....	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	ELACHISTOCLEIS HELIANNAE CARAMASCHI, 2010.....	10
1.2	PARASITISMOS POR HELMINTOS EM ANUROS.....	11
1.2.1	O parasitismo por cosmocercídeos.....	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3	MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1	HABITAT E OBTENÇÃO DA ESPÉCIE HOSPEDEIRA.....	15
3.2	OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE PARASITOS HELMINTOS.....	16
3.3	PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA DE LUZ.....	17
3.4	ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	18
3.4.1	Análise estatística.....	18
3.4.2	Análise morfológica e morfométrica.....	18
3.4.3	Pranchas.....	19
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1	ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA POR MICROSCOPIA DE LUZ DE APLECTANA HYLAMBATIS PARASITO DE ELACHISTOCLEIS HELIANNAE.....	22
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
	REFERÊNCIAS	30
	ANEXO A – LICENÇA DE NÚMERO 67799-1	34
	ANEXO B – MODELO DE FICHA DE NECROPSIA	35

1 INTRODUÇÃO

1.1 *ELACHISTOCLEIS HELIANNAE* (CARAMASCHI, 2010)

Anuros do gênero *Elachistocleis* Parker, 1927 pertencem à família Microhylidae, qual se destaca dentre as outras famílias de anfíbios, pela sua grande diversidade morfológica com espécies de corpo achatado ou globoso com a cabeça pequena e afinada, até espécies com corpo reduzido e delgado (FORLANI, 2010) e ecológica com espécies exibindo níveis de fossorialidade, que vão desde algumas espécies vivendo na serrapilheria e outras fossoriais (CORDIOLI, 2013). Estão distribuídas ao longo da América Central e do Sul (FROST, 2017). Para o Brasil, são reconhecidas 12 espécies do gênero *Elachistocleis* sendo elas: *E. bicolor* (Valenciennes; Guérin-Ménéville, 1838); *E. bumbameuboi* Caramaschi, 2010; *E. carvalhoi* (Caramaschi, 2010); *E. cesarii* Miranda Ribeiro, 1920; *E. corumbaensis* Piva, (CARAMASCHI; ALBUQUERQUE, 2017); *E. helianneae* (CARAMASCHI, 2010); *E. erythrogaster* (KWET; DI-BERNARDO, 1998); *E. magna* (TOLEDO, 2010); *E. Matogrosso* (CARAMASCHI, 2010); *E. muiiraquitana* (NUNES-DE-ALMEIDA; TOLEDO, 2012); *E. piauiensis* (CARAMASCHI; JIM, 1983) e *E. surumu* (CARAMASCHI, 2010). (SEGALLA, *et al.*, 2016; SEGALLA, *et al.*, 2019).

A Amazônia brasileira possui uma fauna de anfíbios anuros diversificada (Ávila-Pires, *et al.*, 2007), no qual dentre elas está a espécie *Elachistocleis helianneae* (CARAMASCHI, 2010) (Figura 1) que apresenta dieta baseada, principalmente, em animais invertebrados de pequeno porte, como formigas e cupins. Apresenta padrão marcante de atividade sazonal, com maior abundância nas estações chuvosas, quando costuma emergir de seu esconderijo debaixo da terra, para garantir a reprodução (TOLEDO, *et al.*, 2003; PINTO, 2011; PIVA, *et al.*, 2017). Contudo, a Amazônia vem sofrendo uma série de impactos que podem acometer a espécie, pois o ritmo rápido do desmatamento, concentração de atividades agropecuárias, mineração e o potencial hidrelétrico da região podem ocasionar na alteração ou até mesmo na eliminação do habitat propício para a sobrevivência da espécie (LIMA, 2009).

Figura 1: *Elachistocleis helianneae* encontrada em atividade durante o período noturno, no Campus Universitário Marajó/UFPA – Breves.



Fonte: W. D. G. Neves.

Elachistocleis helianneae, assim como os demais anuros, constitui um excelente modelo para estudar as relações parasito-hospedeiro devido seu modo de vida, uma vez que está presente em uma ampla diversidade de habitats amazônicos (AHO, 1990; AGUIAR, 2013). Já os parasitos, presentes principalmente em anfíbios, fazem parte da biologia de seus hospedeiros, servindo como marcadores biológicos de seus hábitos alimentares, do ambiente onde vivem, e até mesmo de suas rotas de migração (AMATO; AMATO, 2010). Dessa forma, constituindo uma parte, mesmo que invisível, importante da biodiversidade em todos os ecossistemas, podendo também ser bons indicadores diretos do estado de qualidade ambiental dos ecossistemas (AGUIAR, 2013). Mesmo o Brasil abrigando grande riqueza de anuros, com 1,093 espécies (SEGALLA, *et al.*, 2019), estudos ainda são escassos em relação a fauna de helmintos parasitos, como também sobre a análise da estrutura das comunidades de parasitos deste grupo de hospedeiros (SANTOS, 2014).

1.2 PARASITISMOS POR HELMINTOS EM ANUROS

Como é evidenciado, dentre os anfíbios, os anuros são hospedeiros frequentes para diversas espécies de helmintos dos Filos Platyhelminthes, Nematoda e Acanthocephala, e vários estudos vêm sendo realizados com o intuito de documentar sua fauna parasitária em diversas localidades, assim como os estudos de Tavares (2017), Trombeta (2008), Sobrinho (2017), dentre outros (por exemplo, SANTOS, 2008; TOLEDO, *et al.*, 2015).

Os nematódeos aparentam ter uma distribuição muito mais ampla dentro do hospedeiro do que os demais grupos helmintos, sendo encontrados no trato gastrointestinal, cavidade celomática, bexiga urinária, rins, fígado, pulmões e músculos (HAMMAN, *et al.*, 2006; TOLEDO, *et al.*, 2015).

As primeiras descrições de nematódeos de anfíbios brasileiros datam da primeira metade do século XIX, provenientes de amostras coletadas e processadas por helmintologistas europeus (Trombeta, 2008), já os primeiros trabalhos sobre nematódeos de anfíbios iniciaram-se com Lauro Travassos em 1917. Outros especialistas brasileiros foram autores de importantes trabalhos que trataram de nematódeos de anfíbios, salientando-se as publicações de Teixeira de Freitas, divulgadas entre 1938 e 1961, que em muito contribuíram para o conhecimento desse grupo de nematódeos (VICENTE, *et al.*, 1991).

1.2.1 O parasitismo por cosmocercídeos

Nematódeos da família Cosmocercidae (Ordem Ascaridida) são parasitos de intestino de anfíbios e répteis (Anderson, 2000), sendo frequentemente representados por espécies dos gêneros *Cosmocerca* e *Aplectana* (Aguiar, 2013), parasitos com ampla distribuição geográfica (NAVARRO, *et al.*, 1988).

O gênero *Cosmocerca* Diesing, 1861 possui 31 espécies distribuídas em todo o globo, sendo que 11 delas pertencem a região neotropical (ÁVILA; SILVA, 2019). Destas as que já foram registradas em hospedeiros brasileiros, são: *Cosmocerca brasiliense* (Travassos, 1925); *Cosmocerca cruzi* (Rodrigues; Fabio, 1970); *Cosmocerca freitasi* (Silva, 1954); *Cosmocerca ornata* (Diesing, 1861); *Cosmocerca parva* (Travassos, 1925); *Cosmocerca podicipinus* (Baker; Vauche, 1984); *Cosmocerca rara* (Freitas; Vicente, 1966) e *Cosmocerca travossosi*, (Rodrigues e Fabio, 1970), (CAMPIÃO, *et al.*, 2014);

O gênero *Aplectana* (Railliet; Henry, 1916) compreende 52 espécies distribuídas por todo Mundo (BURSEY, *et al.*, 2011). Para o Brasil, foram registradas 12 espécies, parasitando anuros, das quais foram encontradas em anuros das famílias Bufonidae, Hylidae, Leptodactylidae e Microhylidae sendo elas: *A. crucifer* (Travassos, 1925) parasitando *Rhinella crucifer* (Wied-Neuwied, 1821), *A. crossodactyli* (Baker, 1980), Parasitando *Crossodactylus gaudichaudii* (Duméril & Bibron, 1841) *A. delirae* (Baker, 1980) parasitando *R. crucifer*, *R. ictérica* (Spix, 1824) e *R. schneideri* (Werner, 1894), *A. elenae* (Baker & Vaucher, 1986) parasitando *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815), *R. ictérica* e *Physalaemus cuvieri* (Fitzinger, 1826) *A. hylambatis* (Baylis, 1927) parasitando *Dermatonotus muelleri* (Boettger, 1885) e

Trachycephalus typhonius (Linnaeus, 1758), *A. lopesi* (Silva, 1954) parasitando *Scinax fuscovarius* (A. Lutz, 1925) e *Physalaemus signifer* (Girard, 1853), *A. meridionalis* (Lent & Freitas, 1948) parasitando *Rhinella fernandezae* (Gallardo, 1957), *A. membranosa* (Miranda, 1924), parasitando *Rhinella schneideri* (Werner, 1894), *Leptodactylus mystaceus* (Spix, 1824), *Leptodactylus ocellatus* (Linnaeus, 1758), *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824), *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799), *Rhinella schneideri* (Werner, 1894) e *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758), *A. micropenis* (Travassos, 1925) parasitando *Hylodes nasus* (Lichtenstein, 1823), *A. pintoii* (Travassos, 1925) parasitando *Ischnocnema guentheri* (Steindachner, 1864), *Aplectana sp.* parasitando *Ceratophrys cranwelli* (Barrio, 1980), *Boana albopunctata* (Spix, 1824), *Rhinella marina* e *Rhinella ictérica* e *A. vellardi* (Travassos, 1924) parasitando *Rhinella marina* (Silva, 1954); (Fabio, 1979); (Santos, 2008); (Trombeta, 2008); (Madelaire, 2012); (Santos, 2014); (Campião, 2014); (Aguiar, *et al.*, 2015); (Campião, *et al.*, 2016); (Tavares, *et al.*, 2017). Sendo elas distribuídas em diferentes estados (Figura 2).

Figura 2: Mapa de distribuição de espécies do gênero *Aplectana* parasitando anuros no Brasil



Fonte: TAVARES, *et al.*, 2017 .

As espécies que foram encontradas parasitando Microhylidae são: *A. membranosa* (Schneider, 1866) Miranda, 1924 e *A. hylambatis* (Baylis, 1927) Travassos, 1931 (Camião *et al.*, 2014). *Aplectana membranosa* é encontrada, geralmente, no intestino e reto de seus hospedeiros, sendo frequentemente relatadas em anuros das espécies pertencentes as famílias Leptodactylidae e Bufonidae (Alcantara *et al.*, 2018). E a espécie *A. hylambatis* (Baylis, 1927) Travassos, 1931, é generalista com ciclo de vida direto, sendo os anfíbios seus hospedeiros definitivos, e a transmissão ocorrendo através de ingestão de larvas infectantes ou penetração cutânea (ANDERSON, 2000).

Diante disto, contribuir com o conhecimento de helmintos parasitando *E. helianneae*, foi o que motivou a proposta deste trabalho. Além do mais, a escolha de se estudar a ocorrência de *A. hylambatis* em *E. helianneae*, se deu pela abundância deste parasito neste hospedeiro. E dessa forma buscou-se também contribuir para o conhecimento através do fornecimento de dados sobre uma das espécies componentes da parasitofauna de *E. helianneae*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Relatar a ocorrência da espécie *Aplectana hylambatis* (Nematoda: Cosmocercidae) em *Elachistocleis helianneae* (Anuro: Microhylidae), no município de Breves, Ilha do Marajó, Pará.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

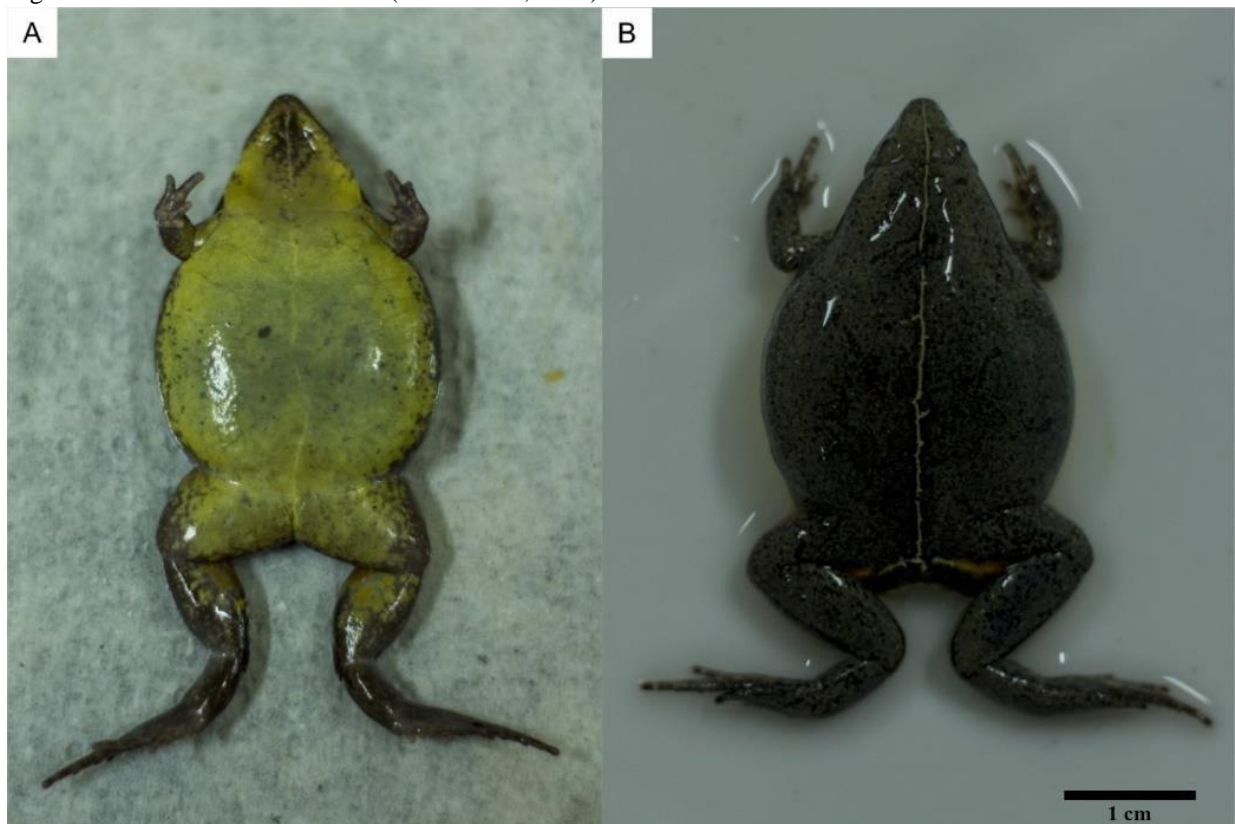
- Identificar por taxonomia clássica helmintos cosmocercídeos mais prevalentes em *E. helianneae*;
- Contribuir com a ampliação do conhecimento sobre a fauna de helmintos do Bioma Amazônico;
- Calcular descritores quantitativos do parasitismo de cosmocercídeos em *E. helianneae*;

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 HABITAT E OBTENÇÃO DA ESPÉCIE HOSPEDEIRA

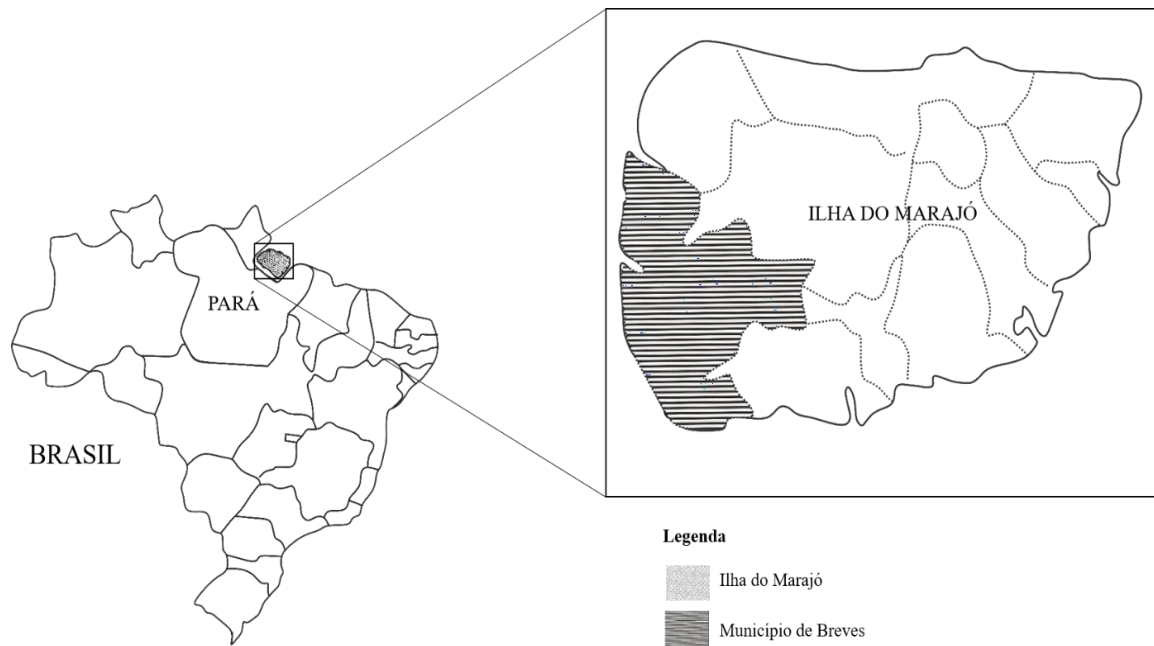
Os espécimes de *Elachistocleis helianneae*, hospedeiros utilizados neste estudo (Figura 3) foram coletados a partir do projeto intitulado “Herpetofauna do município de Breves (Ilha do Marajó – Pará) e helmintos parasitos associados” (PORTARIA N.27/2019 - CG/CUMB - UFPA). O município de Breves (01° 40’ 56” S; 50° 28’ 49” W) (Figura 3), pertencente ao bioma amazônico, fica localizado ao sudoeste do arquipélago do Marajó, Estado do Pará. Possui extensão territorial de 9.550, 474 km² e sede situada a margem esquerda do Rio Pararaú distante a cerca de 160 km de Belém, capital do Estado (IBGE, 2010). Tem população estimada em 92.860 pessoas, apresenta média pluviométrica anual de 2365 mm e clima tropical, com um período de seca geralmente entre julho e início de novembro, e temperatura média anual em torno de 32°C (IBGE, 2010; CLIMATE - DATA.ORG, 2018; INMET, 2018).

Figura 3: *Elachistocleis helianneae* (Caramaschi, 2010). A –Ventre. B – Dorso.



Fonte: W. D. G. Neves

Figura 4: Mapa do Brasil mostrando a localização do Município de Breves, Ilha do Marajó, Estado do Pará.



Fonte: IBGE, 2010.

3.2 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE PARASITOS HELMINTOS

Foram coletados nove espécimes de *E. heliannae*, sendo quatro machos e cinco fêmeas, durante o período de janeiro a julho de 2019. A coleta e o manuseio, tanto dos hospedeiros, quanto dos parasitos helmintos seguiram as diretrizes do SISBio/ICMBio/IBAMA e demais órgãos relacionados a controle de inventários de animais silvestres, conforme a licença de número 67799-1 (Anexo 1). Os hospedeiros coletados manualmente foram encaminhados para o Laboratório de Ciências Naturais (LACIN – Campus Marajó – Breves).

Os espécimes foram eutanasiados, com administração (tópica) de cloridrato de lidocaína a 2%, posteriormente foram tomados os dados de massa, medidas, sexo além de local de coleta e data que foram anotados em ficha própria (Anexo 2). Foram pesados com auxílio de uma balança de precisão, as medidas corpóreas como: comprimento rosto-cloacal (CRC), comprimento do membro anterior (CMA) e comprimento do membro posterior (CMP) foram obtidos com uma régua milimetrada e o sexo foi observado a partir da identificação das gônadas nas fêmeas e os machos com a região gular enegrecida. E em seguida foram, necropsiados para a investigação de helmintos parasitos.

Durante cada necropsia, os órgãos internos foram exteriorizados e individualizados em placas de Petri, com solução salina. Foram examinados os seguintes órgãos: estômago,

intestino, rins, pulmão, vesícula biliar e a cavidade abdominal.

Cada órgão foi examinado separadamente, com auxílio de uma lupa (Microscópio Esterioscópico Trinocular DI-106 T LED 8X à 100X). Os helmintos foram colhidos, transferidos para placas de petri contendo solução salina, lavados, fixados em álcool 70% aquecido à 78,4 °C e conservados em solução de álcool 70% até o momento do preparo das lâminas temporárias para identificação.

Após a necropsia, estes hospedeiros foram fixados em formaldeído a 10%, receberam etiqueta de identificação provisória e estão conservados em álcool 70% e aguardando a finalização do projeto “Herpetofauna do município de Breves (Ilha do Marajó – Pará) e helmintos parasitos associados” para a sua inclusão no acervo da Coleção Herpetológica “Oswaldo Rodrigues da Cunha” do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).

3.3 PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA DE LUZ

Para Microscopia de Luz considerando o grupo taxonômico dos nematódeos seguiu-se os protocolos de Amato, *et al.* (1991) e Gardner, *et al.* (2012). Os helmintos foram desidratados em série etanólica e diafanizados em lactofenol de Aman, e posteriormente montados, individualmente, em lâminas temporárias e etiquetados com suas devidas informações (Figura 4).

As análises morfológicas, morfométricas e fotomicrografias foram realizadas no Laboratório de Biologia celular e Helminologia “Reinalda Marisa Lanfredi”, através de sistema computadorizado para análise de imagens no microscópio, Olympus BX-53, por meio do programa *Cellsens standard*.

Figura 5: Processamento de microscopia de Luz: A – Montagem de lâminas temporárias, B – Análise das características morfológicas do helminto



Fonte: arquivo pessoal.

3.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

3.4.1 Análise estatística

Todos os valores obtidos para análise morfométrica dos helmintos estão dispostos em tabelas do Microsoft Office Excel 2007®, para tratamento estatístico simples das variáveis das amostras, como obtenção médias e desvio padrão das estruturas anatômicas importantes para análise taxonômica. Foram consideradas informações sobre prevalência, intensidade de infecção e abundância média de acordo com a metodologia de BUSH, *et al.* (1997) e RÓZSA, *et al.* (2000).

3.4.2 Análise morfológica e morfométrica

A diagnose morfométrica foi baseada em vinte espécimes, sendo dez machos e dez fêmeas de nematódeos e conforme a morfologia corresponde no estudo de Travassos, 1931.

As características morfológicas e morfométricas estudados nos espécimes, em geral, foram: comprimento total do corpo, largura eso-istmo, comprimento do esôfago, comprimento

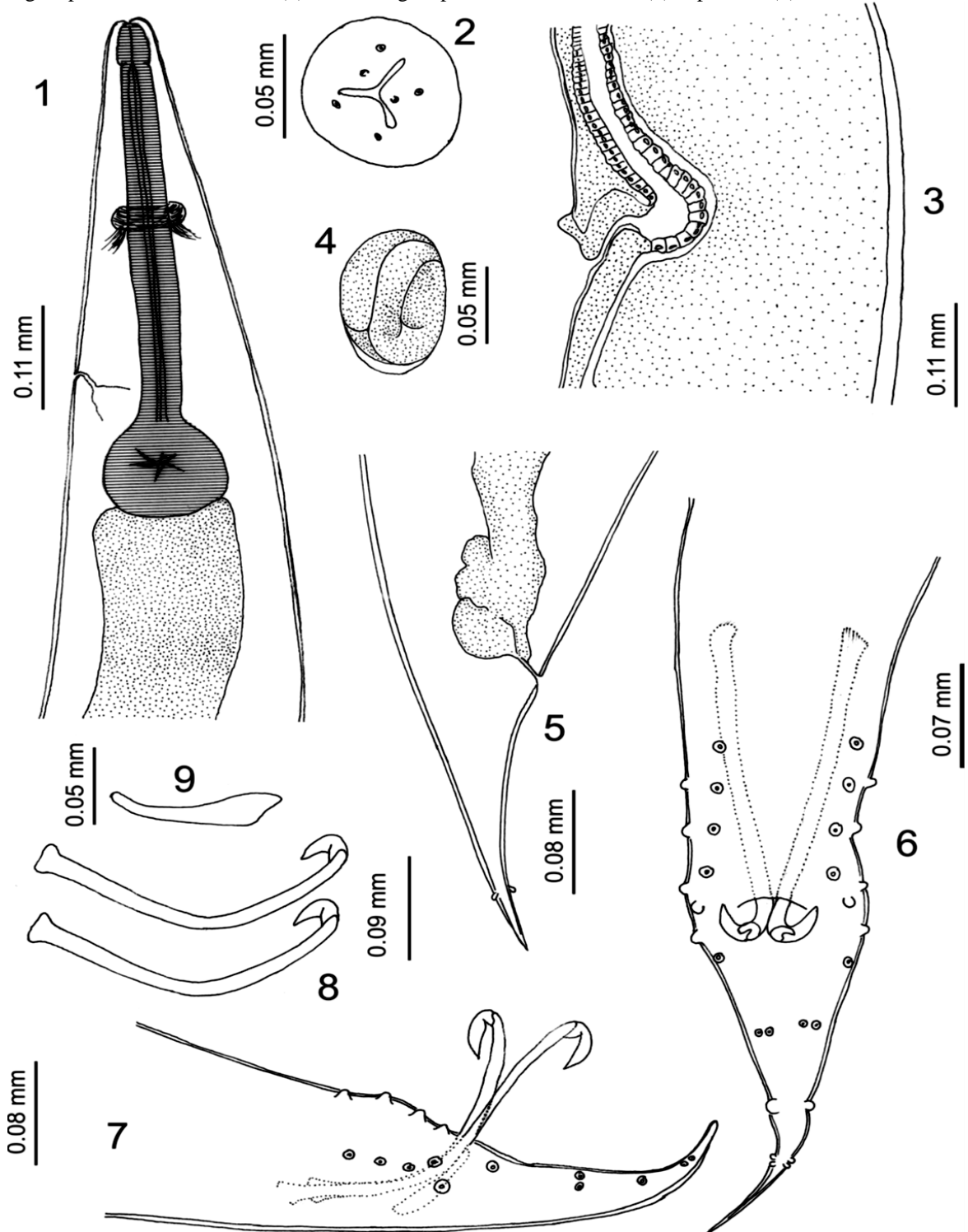
e largura do bulbo esofágico, distância do poro excretor da extremidade anterior, distância do anel nervoso da extremidade anterior e ainda, comprimento da cauda, comprimento da espícula e comprimento do gubernáculo, além disto, foi observado o arranjo das papilas pré-cloacais, ad-cloacais e pós-cloacais nos machos (Figura 5). E nas fêmeas, largura e comprimento da vulva, comprimento da cauda e comprimento e largura dos ovos (Figura 5). Todas as fêmeas estudadas eram maduras, porém dos dez espécimes analisados, a média e o desvio padrão do comprimento e largura dos ovos foi baseado em sete, pois três estavam com larvas.

As estruturas de caráter taxonômico analisadas neste estudo, estão apresentadas da seguinte forma: média \pm desvio padrão (maior e menor valor observado). Os valores apresentados encontram-se em micrometros (μm).

3.4.3 Pranchas

Para a confecção das pranchas compostas com imagens obtidas em fotomicroscópio e desenhos foram utilizados os programas Corel Draw X8, Adobe Photoshop CS6 e Power Point.

Figura 6: Desenho taxonômico de *Aplectana adaechevarriae*, onde são apresentadas as principais estruturas de interesse taxonômico para a identificação do gênero. (1) Fêmea, porção anterior, visão lateral. (2) Fêmea, visão apical. (3) Fêmea, vulva, visão lateral. (4) Ovos. (5) Fêmea, região posterior, visão lateral. (6) Macho, região posterior, visão ventral. (7) Macho, região posterior, visão lateral. (8) Espículos. (9) Gubernáculo.



Fonte: Ramallo *et al.* (2008).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos espécimes de hospedeiros amostrados os machos, mediam 30,5 mm de CRC e 2,04 g de massa e as fêmeas mediram 35,4 mm de CRC e 3,8 g de massa. Após as necropsias, constatou-se que todos os hospedeiros apresentaram infecção por endoparasitos dos seguintes Filos helmintos: Nematoda, Platyhelminthes (Trematoda) e Pentastomida, totalizando 345 helmintos colhidos dos grupos encontrados sendo a abundância de cada filo foi de 98,5% Nematoda, 0,3% Platyhelminthes e 1,2% Pentastomida.

Para este estudo apenas as amostras de nematódeos foram separados e analisados, uma vez que foi o grupo que dominou a fauna parasitaria de *E. helianneae*, representando 98,5% dos helmintos (número total de nematódeos coletados por hospedeiro, apresentado na tabela 1). A intensidade de infecção variou de 4 a 198 parasitos/hospedeiro. Os sítios de infecção mais comuns foram o trato intestinal, principalmente, intestino grosso e delgado. A abundância destes parasitos pode estar relacionada ao hábito terrestre do hospedeiro, uma vez que estes anuros entram na água por um curto período, apenas para a reprodução (SANTOS, 2008). Em terra estes hospedeiros são mais expostos a nematódeos com ciclo de vida monoxênico (por exemplo, cosmocercídeos), porque a maioria dos nematódeos infecta anuros por via cutânea ou através da ingestão de ovos contendo larvas infectantes que alcançam o trato gastrointestinal (ANDERSON, 2000).

Tabela 1: Hospedeiro e número de campo, data de coleta, sítios de infecção e número de nematódeos coletados. LCM = Lilian Cristina Macedo.

Hospedeiro Número de acesso	Data de Coleta	Sítio de infecção	Número de nematódeos coletados
<i>E. helianneae</i> ♀ LCM 013	Dezembro de 2018	Estomago	4
<i>E. helianneae</i> ♀ LCM 014	Dezembro de 2018	Intestino Grosso e intestino Delgado	41
<i>E. helianneae</i> ♀ LCM 015	Dezembro de 2018	Intestino Grosso	198
<i>E. helianneae</i> ♀ LCM 063	Junho de 2019	Intestino Grosso e intestino Delgado	3
<i>E. helianneae</i> ♂ LCM 078	Abril de 2019	Estomago e Intestino Grosso	4
<i>E. helianneae</i> ♂ LCM 079	Abril de 2019	Intestino Grosso e intestino Delgado	28
<i>E. helianneae</i> ♀ LCM 080	Abril de 2019	Estomago e Intestino Grosso	28
<i>E. helianneae</i> ♂ LCM 081	Julho de 2019	Intestino Grosso	5
<i>E. helianneae</i> ♂ LCM 082	Julho de 2019	Intestino Grosso	29

Fonte: Pesquisa de campo

A espécie mais abundante de nematódeo, com prevalência de 55,5% (n=5), encontrado nos intestinos de *E. helianneae*, foi identificado como pertencendo a espécie *Aplectana hylambatis*, Família Cosmocercidae, por apresentar, nos machos, papilas com números distintos e espículos longos, subiguais, com formato de gancho nas extremidades e nas fêmeas a vulva apresenta uma formação com a aparência de um folheto, com bordas recortadas e a maioria delas apresentam numerosos ovos com casca fina de acordo com a chave proposta por Travassos (1931). A amplitude de infecção desta espécie variou de 23 a 178 espécimes por hospedeiros. *Aplectana hylambatis* tem ampla distribuição geográfica e é comumente encontrada na helmintofauna de anfíbios (NAVARRO, *et al.*, 1988).

4.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA POR MICROSCOPIA DE LUZ DE *APLECTANA HYLAMBATIS* PARASITO DE *ELACHISTOCLEIS HELIANNEAE*

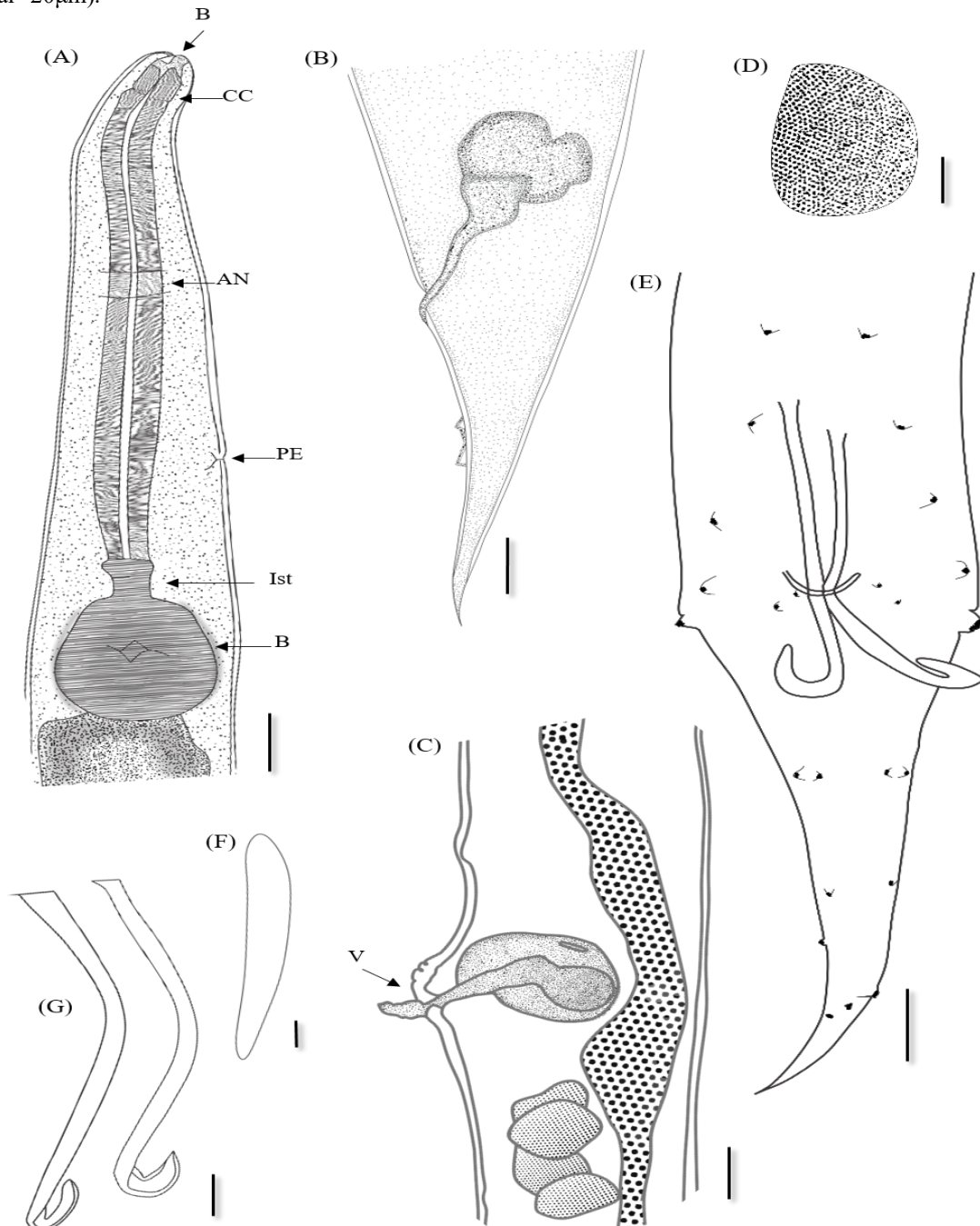
Características gerais: Nematódeos pequenos e delgados; com dimorfismo sexual evidente (fêmeas maiores que os machos, espículos e vulva). Estrias transversais portadoras de cutículas, uniformes ao longo do corpo. Boca com três lábios, um dorsal e dois ventrais com uma prega cuticular em cada um deles; quatro papilas cefálicas, duas no lábio dorsal e uma em cada lábio ventral; Esôfago dividido em porção faríngea anterior, corpo alongado, curto istmo estreito e bulbo esofágico com válvulas quitinosas notável (Figura 6A e Figura 7B). Poro excretor bastante visível, pré-bulbar (Figura 6A e Figura 7C); A vulva apresenta uma formação com a aparência de um folheto, com bordas recortadas (Figura 6C e Figura 7D); ovijector altamente desenvolvido; Ovos com casca fina (Figura 6D e Figura 7A). Anus e espinhos caudais nas fêmeas (Figura 6B e Figura 7E); Machos com papilas caudais distribuídas da seguinte forma: 3 – 4 pares de papilas pré-cloacais, 2 pares adcloacais e 5 pares de papilas pós-cloacais (Figura 6E e Figuras 8B, 8C e 8D). Espículos longos, subiguais, com formato de gancho (Figura 6G e Figuras 8C e 8D). Gubernáculo côncavo na região ventral e bordas laterais espessadas (Figura 6F e Figura 8B).

Espécimes machos (n=10): Corpo medindo $1,86 \pm 0,33$ (1,48 - 2,18) de comprimento, eso- istmo medindo $118,10 \pm 6,84$ (109,55 – 143,9) de largura, faringe $32,82 \pm 4,51$ (26,11 – 40,05) de comprimento, Corpus $306,64 \pm 19,00$ (274,73 - 336,75), istmo $28,85 \pm 6,01$ (23,16 – 36,59), bulbo $79,82 \pm 5,21$ (69,78 – 87,67) de comprimento e $81,86 \pm 6,81$ (71,99 – 96,76) de largura, esôfago $448,23 \pm 31,47$ (397,24 – 493,79) de comprimento, anel nervoso $190,08 \pm 10,48$ (173,57 – 206,93), poro excretor $308,84 \pm 35,61$ (270,74 –

350,86), cauda $178,33 \pm 8,42$ (167,36– 189,69) de comprimento, espiculo direito $237,68 \pm 12,25$ (207,16 – 247,99) de comprimento, espiculo esquerdo $241,75 \pm 11,65$ (222,66 – 260,77) de comprimento e gubernáculo medindo $84,32 \pm 12,26$ (69,05 – 107,07).

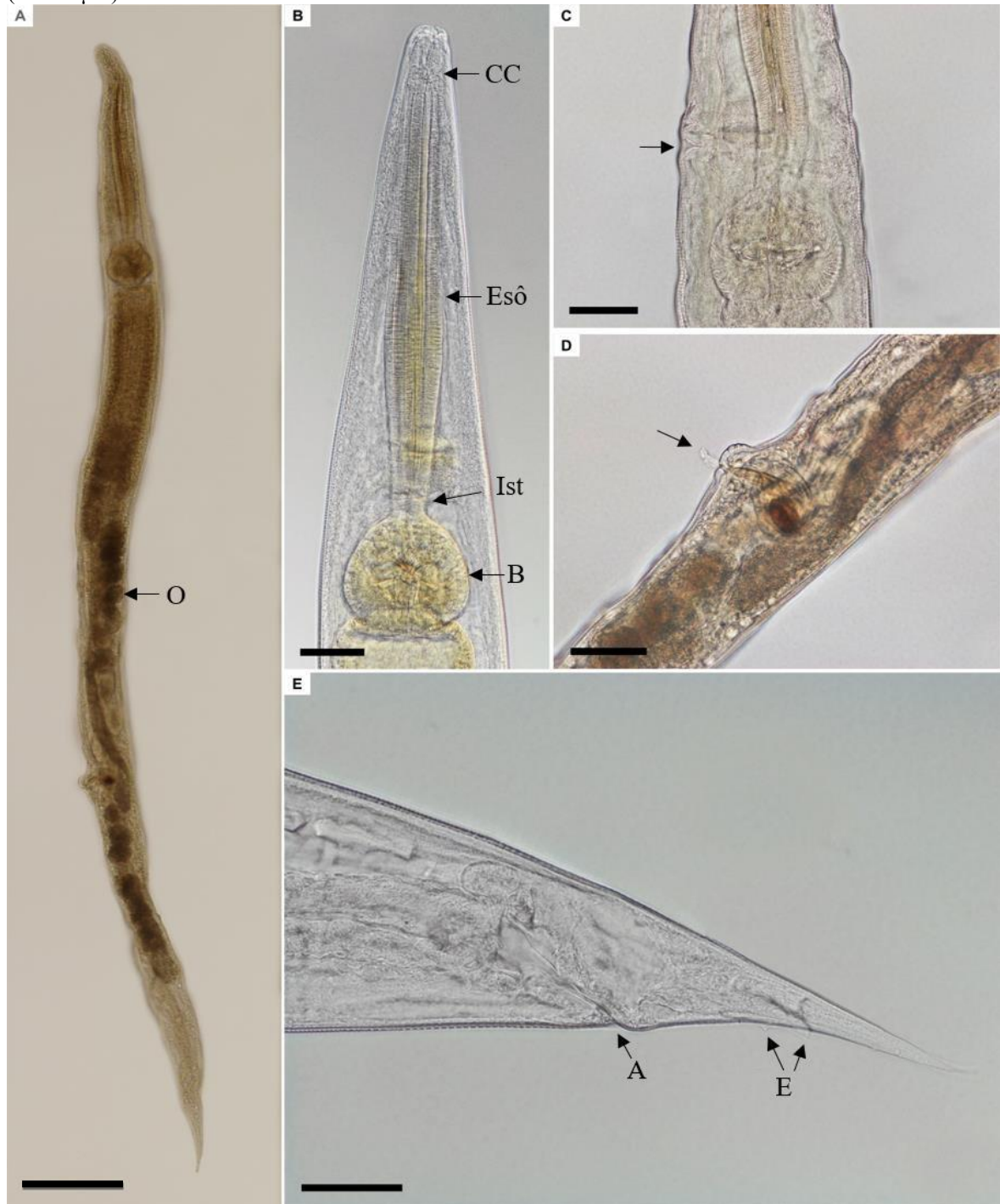
Espécimes fêmeas (n=10): corpo medindo $2,65 \pm 0,38$ (2,02 – 3,13) de comprimento, eso- istmo $166,08 \pm 15,53$ (146,4 – 199,04) de largura, faringe $37,25 \pm 3,12$ (33,1 – 41,29), corpus $372,93 \pm 36,96$ (317,68 – 467,78), istmo $30,80 \pm 4,91$ (22,92 – 39,94), bulbo $99,34 \pm 6,11$ (93,86 – 111,35) de comprimento e $113,79 \pm 8,01$ (103,59 – 129,35) de largura, esôfago $540,32 \pm 46,70$ (500 – 647,4) de comprimento, anel nervoso $212,09 \pm 17,98$ (185,48 – 250,12), poro excretor $369,36 \pm 55,85$ (301 – 458,62), cauda $175,30 \pm 16,68$ (156,58 – 209,11) de comprimento, vulva $634,64 \pm 366,36$ (639,06 – 1,006) de comprimento e $164,12 \pm 18,44$ (134,22 – 189,41) de largura, vagina vera $254,43 \pm 26,74$ (191,11 – 297,8) de comprimento, ovos $84,11 \pm 6,11$ (74,25 - 89,82) de comprimento e $52,84 \pm 3,98$ (45,56 – 56,25) de largura.

Figura 7: Desenho taxonômico de *Aplectana hylambatis*. (A) Fêmea, porção anterior: B – boca; CC – corpus; NA – anel nervoso; PE – poro excretor; Ist – Istmo; B – bulbo (Bar=50µm). (B) Fêmea, região posterior (Bar=20µm). (C) Fêmea, vulva, visão lateral; V – vulva (Bar=20µm) (D) Ovo (Bar=500µm). (E) Macho, região posterior, visão ventral. (Bar=20µm) (F) Gubernáculo (Bar=20µm) (G) Espículos (Bar=20µm).



Fonte: NAVARRO, et al., 1988.

Figura 8: Fotomicrografia de *A. hylambatis* fêmea. (A) Visão geral do corpo do nematódeo, O – Ovos (Bar=500 μ m). (B) Região anterior: CC – corpus; Esô – Esôfago muscular; B – bulbo (Bar=50 μ m). (C) Poro excretor (Bar=20 μ m). (D) detalhe da vulva (Bar=20 μ m). (E) Região posterior: A – anus; E – espinhos (Bar=20 μ m).



Fonte: NAVARRO, et al., 1988.

Figura 9: Fotomicrografia de *A. hylambatis* macho. (A) visão geral do corpo do nematódeo (Bar=100 μ m). (B) Região posterior: G – gubernáculo; P - papilas (Bar=20 μ m). (C) – Região posterior: P – papilas; E – Espículos detalhe da região posterior (Bar=20 μ m). (D) Região posterior: E – espículos, visão geral; P - papilas.



Fonte: NAVARRO, et al., 1988.

Há estudos que relatam que fêmeas de várias espécies de Cosmocercidae têm morfologia muito semelhante, portanto, é necessário, frequentemente, ter a presença de machos na amostra para distinguir as espécies (AGUIAR, *et al.* 2015). Devido a isso, a maioria das descrições dependem da presença de machos para corroborar a espécie, por apresentarem características próprias da espécie como: formato e tamanho dos espiculos, número de papilas e tamanho e formato do gubernáculo. E quando se trata da espécie *A. hylambatis*, esse fator torna a sua identificação mais complexa, pois González, *et al.* (2013), aponta que desde sua descrição (1927), as características morfológicas de *A. hylambatis* variaram entre estudos de diferentes autores, principalmente quanto ao número de papilas caudais dos machos (Tabela 2). O que demonstra que essa espécie de helminto precisa ser melhor estudada e definida para facilitar seu reconhecimento em futuros estudos.

Outro fator a ser considerado é que algumas características morfométricas julgadas importantes nos machos de *A. hylambatis* (Tabela 2) analisadas neste estudo, foram menores quando comparados a outros estudos feitos em diferentes hospedeiros de *Dermatonotus muelleri* também da família Microhylidae.

Tabela 2: Comparação das principais características morfométricas de espécimes machos de *Aplectana hylambatis* parasitando hospedeiros da família Microhylidae em diferentes estudos.

Hospedeiro	<i>Elachistocleis helianneae</i>	<i>Dermatonotus muelleri</i>	<i>Dermatonotus muelleri</i>	<i>Dermatonotus muelleri</i>
Referência	Presente estudo	Baker & Vaucher, 1986	Aguiar <i>et al.</i> , 2015	Gonzalez <i>et al.</i> 2018
Localidade	Brasil	Paraguai	Brasil	Argentina
CRC dos hospedeiros (mm)	30 - 35	40 - 50 [§]	40 - 50 [§]	40 - 50 [§]
Comprimento total (µm)	1,48 - 2,18	Nm*	2,3 - 4,5	2.20 - 2.86
Espículos (µm)	207,16 - 247,99	319 - 350	228 - 340	184 - 241.5
Gubernáculo (µm)	69,05 - 107,07	109 - 116	53 - 85	57.5 - 80.5
Papilas pré-cloacais	3 - 4 pares	5 pares	3 - 4 pares	3 pares
Papilas ad-cloacais	2 pares	5 pares	4 pares	2 pares
Papilas pós-cloacais	5 pares	6 pares	5 pares	8 pares

*Não mencionado; [§]CRC baseado em informação disponível.

Fonte: <https://amphibiaweb.org>.

Utilizando-se os dados apresentados na Tabela 2, nota-se que as estruturas de *A. hylambatis* como o comprimento total quando comparados com outros espécimes, de diferentes hospedeiros, variou de 1,48 – 4,5 µm, os espiculos de 184 – 350 µm enquanto o gubernáculo de 53 – 116 µm. As medidas de todas essas estruturas variaram o dobro, ou até mais, quando são relacionadas da menor para a maior medida. Talvez esse fato, variação morfométrica do

parasito, se deva a *E. helianneae* ser um hospedeiro menor do que *D. muelleri*, entretanto maiores estudos devem ser realizados para tal afirmação.

Quanto ao arranjo de papilas caudais, é perceptível que elas não seguem um padrão, mesmo quando comparadas com hospedeiros pertencentes da mesma Família, porém de diferentes localidades. No entanto, quando comparados os dois hospedeiros coletados no Brasil, os resultados mostram que os arranjos de papilas pré-cloacais e pós-cloacais apresentaram o mesmo arranjo, cada uma apresentando de 3-4 pares e 5 pares, respectivamente.

Para o Brasil, contudo, não existe, até o presente momento, estudo sobre a variação morfológica de *A. hylambatis* em diferentes hospedeiros anuros. Porém, para outros países, assim como aponta o estudo de González *et al.* (2018), realizado na Argentina já é mencionado que, em geral, a morfometria entre machos e fêmeas de *A. hylambatis* varia muito de região para região e entre diferentes hospedeiros o que pode refletir o fato de *A. hylambatis* de *E. helianneae* apresentar menor morfometria.

Quanto a alta prevalência, representando 55,5% (n=5), de *A. hylambatis* parasitando *E. helianneae* é sugerido que pode estar relacionada ao seu hábito de vida e a sua estratégia alimentar. Quanto ao hábito de vida, este o hospedeiro possui níveis de fossorialidade, vivendo em constante contato com a terra. Já quando a sua estratégia alimentar, este hospedeiro possui forrageamento ativo, ou seja, ele sai à procura do alimento revirando a terra, folhas e/ou gravetos. Levando-se em consideração esses aspectos, é percebido que o seu hábito de vida e sua estratégia alimentar aumentam significativamente a probabilidade de contato com a larvas infectantes (SANTOS; AMATO, 2010).

Aplectana hylambatis é uma espécie generalista que parasita uma grande variedade de hospedeiros neotropicais, em países como Peru, Paraguai, Uruguai e Argentina (Gonzales *et al.*, 2013) e no Brasil (AGUIAR, *et al.*, 2015; CAMPIÃO, 2016). Segundo Campião (2014), dos 26 hospedeiros relatados com ocorrência de *A. hylambatis*, apenas duas espécies pertencem à família Microhylidae, sendo elas: *Dermatonotus muelleri* (Boettger, 1885) e *Elachistocleis ovalis* (SCHNEIDER, 1799). Entretanto, no Brasil, somente *D. muelleri* foi encontrado hospedando *A. hylambatis*, no estado de São Paulo (AGUIAR, *et al.*, 2015). Desta forma *E. helianneae*, deste estudo, constitui o segundo hospedeiro do gênero *Elachistocleis* para *A. hylambatis*, e o primeiro registro de hospedeiros do gênero *Elachistocleis* hospedando *A. hylambatis* no Brasil e para o Bioma Amazônico.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo vem contribuir com o relato de novo registro de hospedeiro, *E. helianneae*, e nova localidade, Breves – PA, para a espécie do helminto parasito *A. hylambatis*, constituindo dessa forma, uma contribuição para o conhecimento da fauna de helmintos de anuros da Ilha do Marajó, Bioma Amazônico. Localidade pertencente ao bioma amazônico e possui uma grande importância por ser uma das cidades componentes da Ilha do Marajó, cuja constitui a maior Ilha fluvial do mundo, porém não se tem muito conhecimento sobre a biodiversidade de parasitos helmintos.

Aplectana hylambatis, morfométricamente, se mostrou menor do que os registros desse parasito nos demais hospedeiros já conhecidos. Entretanto, são necessários mais estudos no Brasil, para se entender essa variação morfométrica atribuída a espécie.

Além do exposto, entende-se que devido as constantes agressões ambientais, que vem ocorrendo no Brasil, no último ano, principalmente no Bioma Amazônico, estudos dessa natureza, ou seja, que registrem, ainda no século 21, a ampliação do conhecimento de novas espécies parasitas para hospedeiros Amazônicos é de suma importância, já que chamam a atenção para a preservação do hospedeiro e conseqüente preservação do parasito, que neste caso constitui uma fauna negligenciada.

REFERÊNCIAS

- AHO, J. M. Helminth communities of amphibians and reptiles: comparative approaches to understanding patterns and processes. In: ESCH, G.W., A. O. BUSCH, & J. M. AHO (Eds) **Parasite Communities: Patterns and Processes**, New York, Chapman & Hall. 1990.
- AMATO, J. F. R. & AMATO, S. B. Técnicas gerais para coleta e preparação de helmintos endoparasitos de aves, Rio Grande do sul. In: VON MATTER, S. et al. (Eds.). **Ornitologia e Conservação: Ciência Aplicada, Técnicas de Pesquisa e Levantamento**. Rio de Janeiro: Technical Books. 2010.
- AMATO, J. F. R.; WALTER, A. B.; AMATO, S. B. **Protocolo para Laboratório. Coleta e Processamento de Parasitas do Pescado**. 1st ed. Imprensa Universitaria, UFRRJ, Rio de Janeiro, Brazil, 1991. 81p.
- ANDERSON, R. C. **Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission**, 2ª ed. CAB International, Wallingford, Oxon, U.K. 2000. 650 pp.
- AGUIAR, A. **Helmintofauna associativa à anfíbios da Ilha Anchieta, litoral norte do estado de São Paulo, Brasil**. Dissertação de mestrado, São Paulo. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu. 2013.
- AGUIAR, A., D. H. MORAIS, L. A. F. SILVA, & R. J. SILVA. The first report of *Aplectana hylambatis* (Nematoda: Cosmocercidae) associated with *Dermatonotus muelleri* (Anura: Microhylidae) from Brazil. **Herpetological Review**, 46: 2015.
- ALCÂNTARA, E. P.; SILVA, C. F.; SILVA, L. A. F.; LINS A. G. S.; ÁVILA, R. W.; MORAIS, D. H. & SILVA R. J. Helminths of *Dermatonotus muelleri* (Anura: Microhylidae) from Northeastern Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 104, n. 5, 2018. p. 550-557.
- ÁVILA, R. W. & SILVA, R. J. A new species of *Cosmocerca* (Nematoda: Ascaridida: Cosmocercidae) from gymnophthalmid lizards of western Brazil. **Neotropical Helminthology**, 13(1): 2019.
- BAYLIS, H. A. On two new species of *Oxysomatium* (Nematoda). with some remarks on the genus. **Journal of Natural History**, v. 19, n. 110. 1927.
- BAKER, M. R. Revision of old world species of the genus *Aplectana* Railliet & Henry, 1916 (Nematoda, Cosmocercidae). **Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle**, Paris, 4e serie, v. 2, n. Sect. A, 4, 1980. p. 955-998.
- BUSH, A.O.; LAFFERTY, K.D.; LOTZ, J.M.; SHOSTAK, A.W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, 83: 1997.
- BURSEY, C. R.; GOLDBERG, S. R. & KRAUS, F. New species of *Aplectana* (Nematoda:

Cosmocercidae) in *Sphenomorphus pratti* from Papua New Guinea. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 4, 2011. p. 654-661.

CAMPIÃO, K. M.; MORAIS, D. H.; DIAS, O. T.; AGUIAR, A.; TOLEDO, G.; TAVARES, L. E. R. & SILVA, R. J. Checklist of helminth parasites of amphibians from South America. **Zootaxa**, 3843(1): 2014. 1-93.

CAMPIÃO, K. M.; SILVA, I. C.O.; DALAZEN, G. T.; PAIVA, F. & TAVARES, L. E. R. Helminth Parasites of 11 Anurans Species from the Pantanal Wetland, Brazil. **Comparative Parasitology**, 83 (1): 2106. 92 – 100.

CARAMASCHI, U. Notes on the taxonomic status of *Elachistocleis ovalis* (Schneideri 1799) and description on five new species of *Elachistocleis* Parker, 1927 (Amphibia, Anura, Microhylidae). **Boletim do Museu Nacional, Nova Série, Zoologia**, 527: 2010. 1-30.

CORDIOLI, L. A. **Morfologia e Dieta do Girino de *Stereocyclops parkeri* (Wettstein, 1934) em um Reduto da Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro (Amphibia, Anura, Microhylidae)**. 2013. Dissertação de mestrado. Rio de Janeiro. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2013.

CLIMATE-DATA.ORG. Clima: Breves. Disponível online em: <<https://pt.climatedata.org/america-do-sul/brasil/para/breves-43947>>. Acesso em: 27/11/2018.

FABIO, S. P. **Helmintos de populações simpátricas de algumas espécies de anfíbios anuros da Família Leptodactylidae**. 1979. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 1979.

FORLANI, M. C. **Morfologia do gênero *Chiasmocleis* Méhely, 1904 (Anura, Microhylidae, Gastrophryninae), e suas implicações filogenéticas**. 2010. 36 f. Dissertação de mestrado. São Paulo. Instituto de biociências da universidade de são Paulo. 2010.

FROST, D. R. **Amphibian Species of the World**. 2017. Disponível em: <<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>>. Acesso em: 04/01/2019.

GARDNER, S.L.; FISHER, R.N.; BARR, S.J. 2012. Collecting and preserving parasites during reptile biodiversity surveys. Faculty Publications from the **Harold W. Manter Laboratory of Parasitology**, paper no. 738, 10 p. Disponível online em: <<http://digitalcommons.unl.edu/parasitologyfacpubs/738>>. Acesso em: 02/01/2019.

GONZÁLEZ, C. E. QUIROGA, L. B. MORENO, D. SANABRIA, E.A. Primer registro de *Aplectana hylambatis* (Nematoda, Cosmocercidae) para anfíbios de la provincia de San Juan. Argentina. **Cuad. herpetol.**, 27 (2): 2013. 155-159.

GONZÁLEZ, C. E.; GÓMEZ, V. I. & HAMANN, M. I. Morphological variation of *Aplectana hylambatis* (Nematoda: Cosmocercidae) from diferente anuran hosts localities in

Argentina. **Academia Brasileira de Ciências**, 91 (3): 2018.

HAMANN, M. I., GONZÁLEZ, C. E. & KEHR, A. I. Helminth community structure of the oven frog *Leptodactylus latinasus* (Anura, Leptodactylidae) from Corrientes, Argentina. **Acta Parasitologica**, v. 51, n. 4, 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. **Brasil/Pará/Breves**. Disponível online em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pa/breves/panorama?>> Acesso em: 04/01/2019.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível online em: <<http://www.inmet.gov.br>>. Acesso em: 27/11/2018.

LIMA, A. A. **Composição, riqueza e abundância de espécies de anfíbios na região do médio rio Xingu**. 2009. Dissertação de mestrado. Belém – PA. Museu paraense Emilio Goeldi. 2009.

MADELAIRE, C. B. **Relação sazonal entre reprodução, imunidade e ocorrência de endoparasitas em anfíbios anuros da Caatinga**. 2012. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. 2012.

NAVARRO, P.; S. IZQUIERDO; P. PÉREZ-SOLER; M.J. HORNERO & J. LLECH. Contribución al conocimiento de la helmintofauna de los herpetos ibéricos. VIII. Nematoda: Ascaridida Skrjabin et Schutz, 1940 de *Rana* spp. **Revista Ibérica de Parasitología**, 48: 167-173. 1988.

PINTO, T. M. **Ecologia alimentar de uma taxocenose de anuros terrestres no Brasil Central**. 2011. Dissertação de mestrado. Brasília – DF. Universidade de Brasília. 2011.

PIVA, A.; CARAMASCHI, U. ALBUQUERQUE, N. R. 2107. A new species of *Elachistocleis* (Anura: Microhylidae) from the Brazilian Pantanal. **Phyllomedusa** **16(2)**:143–154.

RAMALLO, G.; BURSEY, C. R. & GOLDBERG, S. R. New Species of Aplectana (Ascaridida: Cosmocercidae) in the Toads, *Rhinella granulosa* and *Rhinella schneideri* (Anura: Bufonidae) From Northern Argentina. **Journal of Parasitology**, 94(6):1357-1360. 2008.

ROZSA, L.; REICZIGEL, J.; MAJOROS, D. G. Quantifying parasites in samples of hosts. **Journal of Parasitology**, 86:228-232. 2000.

SANTOS, V. G. T. **Helmintos parasitos de *Rhinella fernandezae* (Gallardo, 1957) (Anura, Bufonidae) do município de Imbé, Rio Grande do Sul, Brasil**. 2008. Dissertação de mestrado. Universidade federal do Rio Grande do sul. 2008

SANTOS, V. G. T. **Composição e estrutura da comunidade de helmintos de seis espécies de anuros do Planalto das Araucárias, Campo Belo do Sul, Santa Catarina, Brasil**. 2014. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2014

SEGALLA, M. V.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G. GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; GARCIA, P. C. A. BERNECK, B. V. M. & LANGONE, J. A. Brazilian Amphibians: List of Species. **Herpetologia Brasileira**, 5:34-46. 2016.

SEGALLA, M. V.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, G. A. G.; GARCIA, P. C. A.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; SANTANA, D. J.; TOLEDO, L. F. & LANGONE, J. A. Brazilian Amphibians: List of Species. **Herpetologia Brasileira**, 8:65-96. 2019.

SILVA, J. A. A. Nova espécie do gênero *Aplectana* (Railliet & Henry, 1916) (Nematoda, Cosmocercidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 52, 1954. p. 415-418.

SANTOS, V. G. T. & AMATO, S. B. Helminth fauna of *Rhinella fernandezae* (Anura: Bufonidae) from the Rio Grande do Sul Coastland, Brazil: analysis of the parasite community. **Journal of Parasitology**, 96:823–826. 2010.

SOBRINHO, P. M. M, **Composição e estrutura da comunidade de helmintos de anuros das famílias hylidae e phyllomedusidae em remanescente de mata atlântica**. 2017. Dissertação de mestrado. Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2017.

TAVARES, L. E. R.; CAMPIÃO, K. M.; COSTA-PEREIRA, R.; PAIVA, F. Helmintos endoparasitos de vertebrados silvestres em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, 107(supl.): e2017106, 2017.

TOLEDO, L. F.; ZINA, J.; HADDAD, C. F. B. Distribuição Espacial e Temporal de uma Comunidade de Anfíbios Anuros do Município de Rio Claro, São Paulo, Brasil. **Holos Environment**, v. 3, n. 2 – 136-149. 2003.

TOLEDO, G. M., MORAIS, D. H., SILVA, R. J., & ANJOS, L. A. Helminth communities of *Leptodactylus latrans* (Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic rainforest, south-eastern Brazil. **Journal of helminthology**, 89 (02): 250-254. 2015.

TRAVASSOS, L. Note préliminaire sur les Cosmocercidae d'Europe. **Séanc. Soc. Biol.**, 107: 175 – 176. 1931.

TROMBETA, A. M. **Estudo da helmintofauna de das famílias Ceratophryidae, Leptodactylidae e Leiuperidae do pantanal sul, mato grosso do sul**. 2008. Dissertação de mestrado. Botucatu – SP. Universidade Estadual Paulista. 2008.

VICENTE, J. J. RODRIGUES, H. O. GOMES, D.C. & PINTO, R. M. Nematóides do Brasil. Parte II: Nematóides de anfíbios. **Rev. Bras. Zool.**, 7(4): 549 - 626. 1991.

ANEXO A – LICENÇA DE NÚMERO 67799-1



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 67799-1	Data da Emissão: 07/02/2019 16:14:47	Data da Revalidação*: 07/02/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Lílian Cristina Macedo	CPF: 307.477.318-96
Nome da Instituição: Universidade Federal do Pará	CNPJ: 34.621.748/0001-23

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	COLETA E TRANSPORTE DE ESPÉCIMES DA FAUNA SILVESTRE IN SITU	04/2019	03/2020
2	COLETA E TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS IN SITU	04/2019	03/2020

Equipe



#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	HERIBERTO FIGUEIRA DA SILVA FILHO	Colaborador	686.822.712-49	Brasileira
2	WALLACE DOUGLAS GARCIA DAS NEVES	Colaborador	031.549.682-70	Brasileira
3	Tainá da Silva Cardoso	Colaborador	037.094.192-63	Brasileira
4	ALINE FARIAS DA SILVA	Colaborador	031.626.602-70	Brasileira
5	Yran Rodrigo Dias Santos	Colaborador	040.737.042-06	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa n.º 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0677990120190207

Página 1/4

ANEXO B – MODELO DE FICHA DE NECROPSIA

	SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS LABORATÓRIO DE BIOLOGIA CELULAR E HELMINTOLOGIA "Profa Dra Reinalda Marisa Lanfredi"	
---	--	---

Pág.:

REGISTRO DE COLETA DE AMOSTRAS E NECRÓPSIA (SAMPLE
 COLLECTION AND NECROPSY)

Espécie/Hospedeiro (Species/host): Sexo (Sex): () ♂ () ♀	
Peixe (Fish) [] Anfíbio (Amphibian) [] Réptil (Reptile) [] Pássaro (Bird) [] Mamífero (Mammal) [] Outro (Other) []	
Nº. Campo (Field number):	Data da coleta (collect data): ____/____/____ Data de Necropsia (Necropsy data): ____/____/____
Massa (Weight): _____ Idade (Age): Juvenil (Juvenile) [] Subadulto (Subadult) [] Adulto (Adult) []	
Comprimento (mm) (length): _____ CRC: _____ CC: _____ CMA: _____ CMP: _____	
Processado para: <i>(Processed for)</i> Fígado (Liver) [] Fezes (Feaces) [] Sangue (Blood) [] Ecto's [] Endo's []	Anotações (notes):
Espécie/Hospedeiro (Species/host): Sexo (Sex): () ♂ () ♀	
Peixe (Fish) [] Anfíbio (amphibian) [] Réptil (Reptile) [] Pássaro (Bird) [] Mamífero (Mammal) [] Outro (Other) []	
Nº. Campo (Field number):	Data da coleta (collect data): ____/____/____ Data de Necropsia (Necropsy data): ____/____/____
Massa (Weight): _____ Idade (Age): Juvenil (Juvenile) [] Subadulto (Subadult) [] Adulto (Adult) []	
Comprimento (mm) (length): _____ CRC: _____ CC: _____ CMA: _____ CMP: _____	
Processado para: <i>(Processed for)</i> Fígado (Liver) [] Fezes (Feaces) [] Sangue (Blood) [] Ecto's [] Endo's []	Anotações (notes):
Espécie/Hospedeiro (Species/host):	