



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

TAINÁ DA SILVA CARDOSO

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE MONOGENEA PARASITO
DE *Trachycephalus typhonius* (ANURA: HYLIDAE)**

BREVES - PA
2019

TAINÁ DA SILVA CARDOSO

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE MONOGENEA PARASITO
DE *Trachycephalus typhonius* (ANURA: HYLIDAE)**

Projeto de 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)

D111c DA SILVA CARDOSO, TAINA
Caracterização morfológica de *Monogenea* parasito de
Trahycephalus typhoni (Anura: Hylidae) / TAINA DA SILVA
CARDOSO. — 2019.
47 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. Monogeneticos. 2. Anfibios. 3. Polystoma. I. Título.

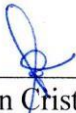
CDD 636.089696

TAINÁ DA SILVA CARDOSO

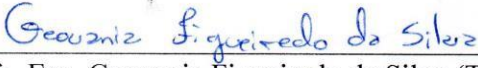
**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE MONOGENEA PARASITO
DE *Trachycephalus typhonius* (ANURA: HYLIDAE)**

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.

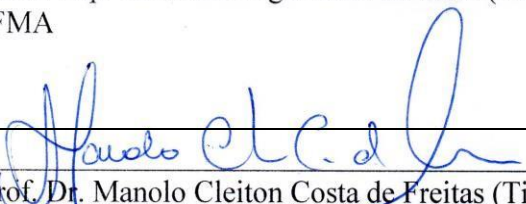
Comissão Examinadora:



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



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



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

BREVES - PA

2019

AGRADECIMENTOS

Primeiro agradeço a Deus, por ter permitido concluir mais uma etapa da minha vida, ter me dado sabedoria, paciência, força para que eu não desistisse de meus sonhos;

Ao meus pais, Ednilsa Vaz e Jacob Oliveira, pela vida, pela criação e incentivo durante toda a minha vida; em especial a minha mãe pela dedicação e força, que sempre entendeu a minha correria e incentivou que eu continuasse e concluísse mais essa etapa;

Às minhas irmãs, Juliana, Adriana e Ingrid, pelos momentos de descontração, amizade, acolhimento, conselhos e por fazerem parte da minha vida;

Aos meus familiares: Meus tios Edmilse e Jesiel, meus avós João, Maria e Tanha, meus primos Gabriel, Victor, Edielly, Jesielly, meus sobrinhos Natã, Victória, Guilherme e Ana Isabel (*em memória*), que sempre me apoiaram nas minhas decisões, me incentivaram, e que em algum momento dessa caminhada contribuíram para o meu crescimento;

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a. Lilian Cristina Macedo que além de orientadora se tornou uma mãe científica para mim, obrigada pelo apoio, incentivo, ajuda, conselhos e por ser essa excelente profissional que és. Obrigada por ter me ajudado a chegar até aqui, que venham novos ciclos para nós. Tem a minha eterna gratidão tanto na vida pessoal quanto na profissional, que nossa amizade dure para sempre e os trabalhos também continuem (risos);

Ao meu orientador do “Projeto de Curso de Nivelamento da Aprendizagem” onde fui bolsista, Prof^o Dr. Manolo Cleiton Freitas, receba minha gratidão pela ajuda, pelo excelente profissionalismo e pela compreensão quando troquei de área, grata pelo apoio e incentivo;

Ao meu amigo, companheiro e namorado Edinei Costa, por todo incentivo, paciência nestes anos corridos, pela amizade, pelos conselhos e por me ajudar quando preciso;

A minha grande amiga e colega de laboratório Geovania Figueiredo, agradeço pelo incentivo, pela amizade que construímos no laboratório, pelo abrigo quando precisei me deslocar até Belém, pelos conselhos, enfim, são muitas coisas que eu agradeço, mas em especial por ser uma pessoa maravilhosa. Que Deus continue te iluminando sempre.

A minha colega de laboratório Amanda Karen Souza que deu um norte quando eu estava perdida, me ajudou até o último minuto, agradeço por tudo o que fizeste por mim, você é uma excelente profissional e eu admiro muito.

Aos meus colegas de curso Tebias, Fabiane, Robert, Aline e Wallace, pelo companheirismo durante esses anos, pelos estresses, risadas e pelo apoio durante esses 4 anos.

Aos meus amigos de vida que adquiri nos últimos anos, Pâmela, Beatriz, Fernanda, Victória, Ianna e Bilena que me ajudaram sem perceber, me incentivaram durante essa

caminhada, me distraíram quando eu estava esgotada e estiveram comigo quando eu precisei.

Aos professores do Laboratório de Biologia Celular e Helminologia Dr^a. Reinalda Marisa Manfredi, Prof.^a Jeannie Nascimento dos Santos, pela autorização de realizar os trabalhos no laboratório, pelo incentivo e apoio, ao Prof^o Dr. Adriano Penha Furtado, Yuri Wilkins e Lucas Aristóteles pelas aulas de microscopia, apoio e incentivo.

Também aos meus colegas do laboratório de Belém, Missiene e Gabriel sou grata a cada um pelos momentos de distração e de apoio quando eu estava desesperada com o trabalho.

Ao meu colega Wallace Garcia pelos registros fotográficos do hospedeiro, e nos momentos de trabalho. Obrigada!

Aos professores e colaboradores da Faculdade de Ciências Naturais – UFPA/ BREVES, pelo apoio, dedicação, incentivo durante esses 4 anos.

Aos que não citei, mas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, minha eterna gratidão. Que Deus abençoe cada um.

“Inspiração vem dos outros. Motivação vem de dentro de nós” (Junior Montalvão)

RESUMO

Os monogenéticos são parasitos particulares de peixes, mas também parasitam anfíbios e reptéis, entretanto, existem poucos estudos e consequente conhecimento sobre a taxonomia desses parasitos principalmente em anfíbios. Este trabalho tem como objetivo identificar o espécime monogenético encontrado na bexiga urinária de anuros da espécie *Trachycephalus typhoni*, provenientes do município de Breves/Ilha do Marajó, Estado do Pará. Foram coletados e necropsiados 10 espécimes de *Trachycephalus typhoni*, os parasitos monogenéticos coletados foram separados, corados em Carmim acético e Tricômico de Gomori e clarificados em Salicilato de metila e Creosoto de Faia para montagem de lâmina permanente em bálsamo do Canadá. Foram também montadas lâminas em meio Grey&Wess e meio Hoyer para melhor visualização das estruturas no microscópio. Os monogenéticos coletados apresentam as seguintes características: Corpo com achatamento dorsoventral, presença de ventosas orais e haptorais e hamuli características da Classe Monogenea, além de apresentar testículo único e folicular, ovário compacto com ovos imaturos, canal uterino com 1-3 ovos maduros, bulbo copulatório com 8 espinhos, presença de três pares de ventosas haptorais e um par de hamuli, presença de duas vaginas ventrolateral. Com base nas características citadas em comparação com a chave taxonômica, os monogenéticos encontrados nesta pesquisa pertencem a família *Polystomatidae*, e ao gênero *Polystoma*, sendo o gênero mais comum encontrado em anfíbios. A infecção de monogenéticos em *Trachycephalus typhoni* apresentou prevalência de 60% considerada alta devido a especificidade desses parasitos, e intensidade média de 4,5, esses fatores estão relacionados com o ambiente em que o hospedeiro se reproduz uma vez que a infecção por monogenéticos ocorre com a exposição do girino a estes parasitos. O presente estudo contribui desta forma com ampliação da distribuição geográfica deste parasito, e novo registro de *Polystoma* no Brasil.

Palavras-chave: Monogenéticos; Anfíbios; *Polystoma*;

ABSTRACT

Monogenetics are particular parasites of fish, but also parasitize amphibians and reptiles, however, there are few studies and consequent knowledge about the taxonomy of these parasites mainly in amphibians. This paper aims to identify the monogenetic specimen found in the urinary bladder of anurans of the genus *Trachycephalus* Tschudi, 1838 from the municipality of Breves / Marajó Island. State of Pará, infer data on mean intensity prevalence, mean abundance and infer data on monogenetic records in South America. Ten specimens of *Trachycephalus typhoni* were collected and necropsied, the monogenetic parasites collected were separated, stained in Acetic Carmine and Trichomicrous of Gomori and clarified in Methyl Salicylate and Beech Creosote for permanent blade mounting in Canadian Balsam. Slides were also mounted on Gray & Wess medium and Hoyer medium for better visualization of microscope structures. The collected monogenetics have the following characteristics: Body with dorsoventral flattening, presence of oral and haptor suction cups and hamuli characteristic of the Monogenea Class, besides presenting single and follicular testis, compact ovary with immature eggs, uterine canal with 1-3 mature eggs, genital bulb with 8 spines, three pairs of haptor suction cups and one pair of hamuli, presence of vaginas, being two ventrolateral vaginas. Based on the characteristics cited in comparison with the taxonomic key, the monogenetics found in this research belong to the family Polystomatidae, and to the genus *Polystoma*, being the most common genus found in amphibians. Monogenetic infection in *Trachycephalus typhoni* had a prevalence of 60% considered high due to the specificity of these parasites. And mean intensity of 4.5, the environment in which the host reproduces may influence the intensity of infection due to exposure of tadpoles to these parasites. The present study contributes with the expansion of the geographic distribution of this parasite, and new registration of *Polystoma* in Brazil.

Keyword: Monogenetic parasites; Amphibian; Parasites *Polystoma*.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 -	<i>Trachycephalus typhoni</i> (Linnaeus, 1758) no município de Breves, Ilha do Marajó.....	13
Figura 2 -	Mapa do Pará. Município de Breves.....	16
Figura 3 -	<i>Trachycephalus typhoni</i> , (A) foto do dorso, (B) foto do ventre.....	17
Figura 4 -	Fórmulas para obtenção de descritores para análises estatísticas.....	18
Figura 5 -	Necropsia a fase de necropsia e análise do material.....	19
Figura 6 -	Morfologia básica de <i>Entobdella soleae</i> (Monogenea), onde são apontadas as principais estruturas anatômicas consideradas em monogenéticos.....	20
Figura 7 -	Parâmetros para medida do hamuli.....	20
Figura 8 -	Micrografia de <i>Polystoma</i> sp. parasito de <i>T. Typhoni</i>	22
Figura 9 -	Prancha produzida em microscópio com câmara clara acoplada.....	24
Figura 10 -	Fotomicrografia do testículo realizada através da técnica do DIC.....	25
Tabela 1 -	<i>Checklist</i> de helmintos do gênero <i>Polystoma</i> encontrados parasitando anfíbios anuros na América do Sul.....	27
Tabela 2 -	Análise comparativa da morfologia e morfometria das espécies do gênero <i>Polystoma</i> relatados parasitando anfíbios no Brasil.....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	INTRODUÇÃO GERAL.....	11
1.2	HOSPEDEIROS ANUROS.....	12
1.3	PARASITISMO POR Platyhelminthes.....	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3	METODOLOGIA	15
3.1	HABITAT E OBTENÇÃO DA ESPÉCIE HOSPEDEIRA.....	15
3.2	PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA DE LUZ.....	17
3.3	ANÁLISES DOS RESULTADOS.....	18
3.3.1	Análise estatística, morfométrica e morfológica.....	18
4	RESULTADOS	21
4.1	ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA POR MICROSCOPIA DE LUZ DE <i>Polystoma</i> sp. PARASITO DE <i>Trachycephalus typhonius</i>	23
4.2	<i>CHECKLIST</i> DE HELMINTOS DO GÊNERO <i>Polystoma</i> ENCONTRADOS PARASITANDO ANFÍBIOS ANUROS NA AMÉRICA DO SUL.....	26
5	DISCUSSÃO	28
6	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS	35
	ANEXO A – LICENÇA DO IBAMA	42
	ANEXO B – FICHA DE NECROPSIA	43

1 INTRODUÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

Parasitas são organismos importantes da biodiversidade não apenas por fazerem parte da biomassa, mas principalmente pelo importante papel que desempenham nos ecossistemas (MARCOGLIESE, 2004; TAVARES, *et al.* 2016). São organismos muito diversos e fazem parte integral da natureza e merecem ser considerados como tal, pois estes representam uma diversidade invisível dentro da biodiversidade, contribuindo assim para delinear a biodiversidade visível (TOLEDO, 2017). Apenas uma parcela dos parasitos existentes é conhecida, aquela que inclui os parasitos com importância médica e veterinária, a outra parcela que integra todos os ecossistemas, geralmente, é ignorada (POULIN; MORAND, 2004; SANTOS, 2014). Os parasitos são indicativos de muitos aspectos biológicos de seus hospedeiros, pois estes estão ligados a ecologia e evolução dos seus hospedeiros, desta forma desempenham papel importante nos ecossistemas (AGUIAR, 2013).

O conhecimento da diversidade de parasitos é considerado de grande importância para entender a relação parasito-hospedeiro e também da conservação e preservação de ecossistemas (TOLEDO, 2017). Na literatura são vários os trabalhos relatando novas espécies de helmintos ou novos hospedeiros para as espécies já descritas, entretanto, os trabalhos de revisão sobre os helmintos brasileiros ainda não são encontrados em todo o território brasileiro, com isso o conhecimento a respeito dos helmintos ainda se encontra fragmentado. (ROSSELINI, 2017). Algumas espécies de parasitos são dotadas da capacidade de reduzir as taxas de fecundidade e de sobrevivência dos hospedeiros, conforme aumenta o grau de infecção, com uma participação no processo de regulação de suas populações (SENA, 2016).

O Brasil é o país com maior riqueza de anfíbios, contando atualmente com 1.136 espécies, a maioria sendo da ordem anura representada por 1.093 espécies (SEGALLA, *et al.* 2019). Os anfíbios são popularmente conhecidos como sapos, rãs, pererecas, e cobras cegas, sendo taxonomicamente classificados em três grupos, Caudata que compreende as salamandras, Gymnophiona as populares cecílias ou cobras cegas e Anura, onde se incluem os sapos, rãs e pererecas (ZANK, *et al.*, 2014). Os anfíbios anuros ocupam grande variedade de micro habitats, refletindo os diversos modos reprodutivos, estilos de vida e parasitos que estes animais apresentam. Sendo assim, são excelentes modelos para estudar as relações parasito-hospedeiro devido ao seu modo de vida, uma vez que colonizam uma ampla diversidade de habitats (aquáticos, terrestres, semi-aquáticos, arbóreos e fossoriais) (AGUIAR, 2013).

Os parasitos possuem papel central no ecossistema, afetando a ecologia e evolução dos hospedeiros, o crescimento e regulação da população de hospedeiros e conseqüentemente, a biodiversidade (ANDREASSA, 2011). Embora representem uma grande diversidade de todos os organismos, as informações a respeito da fauna de helmintos associada a anuros não abrangem todas as espécies existentes. O que acaba se tornando um fator preocupante, pois os anfíbios são bioindicadores das alterações ambientais, quando se leva em consideração o ritmo atual de destruição dos ecossistemas aliado as altas taxas de extinção de espécies, um dos primeiros grupos a sentirem com essa degradação são os parasitos (WILSON, 2015). De maneira geral, os anuros são hospedeiros mais frequentes para diversas espécies de platelmintos, nematódeos e acantocéfalos devido sua ampla distribuição, e diversos estudos vêm sendo realizados com o intuito de documentar sua fauna parasitária em diversos países do globo (TOLEDO, *et al.* 2015).

1.2 HOSPEDEIROS ANUROS

Anuros arborícolas podem possuir uma fauna de helmintos menos rica, quando comparados aos terrestres. Embora essa afirmação tenha sido corroborada em alguns estudos (Goldberg & Bursey, 2008) outros encontraram riquezas semelhantes ou até maiores (Camião *et al.* 2016). Condições ambientais e características de habitat podem influenciar na composição e estrutura da helmintofauna associada a anuros, e por isso é importante estudar fatores ecológicos que determinam a prevalência e intensidade parasitária (Wilson, 2015). Partindo deste ponto, estudos comparativos com helmintos parasitos tanto em escalas locais como regionais, são importantes no entendimento dos mecanismos que determinam a estruturação dessas comunidades (Sobrinho, 2017)

Os anuros do gênero *Trachycephalus* Tschudi, 1838 pertencem a classe: Amphibia, ordem: Anura, família: Hylidae, subfamília; Hylinae. Atualmente *Trachycephalus* possui 17 espécies catalogadas, sendo que 13 espécies do gênero ocorrem no Brasil (Frost, 2018). De acordo com Segalla *et al.* (2019) no Brasil estão catalogadas as seguintes espécies: *Trachycephalus atlas* (Bokermann, 1966); *Trachycephalus cunauaru* (Gordo, *et al.*, 2013); *Trachycephalus coriaceus* (Peters, 1867); *Trachycephalus dibernardo* (Kwet & Solé, 2008); *Trachycephalus hadroceps* (Duellman & Hoogmoed, 1992); *Trachycephalus helioi* (Nunes *et al.*, 2013); *Trachycephalus imitatrix* (Miranda-Ribeiro, 1926); *Trachycephalus lepidus*

(Pombal *et al.*, 2003); *Trachycephalus mambaiensis* (Cintra *et al.*, 2009); *Trachycephalus mesophaeus* (Hensel, 1867); *Trachycephalus nigromaculatus* (Tschudi, 1838); *Trachycephalus resinifictrix* (Goeldi, 1907) e *Trachycephalus typhoni* (Linnaeus, 1758).

Figura 1- *Trachycephalus typhoni* (Linnaeus, 1758) no município de Breves – Ilha do Marajó.



Fotografia: Wallace Garcia

Trachycephalus typhoni é noturno tipicamente encontrado empoleirado em galhos de árvores e vegetação forrageando à noite. Abriga-se em bromélias, buracos de árvores, debaixo de casca de árvores vivas e mortas, ou em bainhas de banana durante a estação seca. Durante a estação chuvosa, que também é a época de reprodução, essas pererecas são encontradas perto de lagoas temporárias (SAVAGE, 2002). O hábito arborícola do *Trachycephalus typhoni* pode diminuir as chances de infecção por parasitos transmitidos diretamente do solo e da água, justificando a alta prevalência de helmintos transmitidos através da dieta, em que o hospedeiro intermediário é ingerido (DALAZEN, 2013).

1.3 PARASITISMO POR *Platyhelminthes*

O filo *Platyhelminthes* inclui espécies de vida livre e parasitos, são conhecidos como vermes achatados, com capacidade de explorar uma grande variedade de habitats, desde ecossistemas aquáticos, solos, até parasitos de animais vertebrados e invertebrados (ROCHA, *et al.* 2014). Este táxon está dividido em dois subfilos: Turbelária que são de vida livre, caracterizados por uma epiderme ciliada; e Neodermata onde parasitos que em determinada

fase do seu ciclo de desenvolvimento substituem a epiderme ciliada pela neoderme (RUPPERT, *et al.*, 2004). O subfilo Neodermata contém três classes de platelmintos parasitos, cada um com sua morfologia única e particular estilo de vida: Monogenea que são principalmente ectoparasitos (parasitos externos), Trematoda são vermes endoparasitos (interior do hospedeiro), ectoparasitos e hemoparasitos (parasitos de corrente sanguínea), apresentam em sua maioria forma de folha e Cestoda que são vermes endoparasitos em forma de fita (PARK, *et al.*, 2007).

A Classe Monogenea é constituída de platelmintos ectoparasitos, ou ocasionalmente endoparasitos, caracterizam-se, principalmente, pela presença de um aparelho de fixação localizado geralmente na parte posterior do corpo, o haptor, que possui ganchos e ventosas, possibilitando que o parasito se fixe fortemente ao hospedeiro, os quais tem formas estruturais muito diversificadas. (ROCHA, *et al.* 2014; EIRAS, *et al.* 2010). Uma região anterior adesiva (geralmente ausente ou pouco desenvolvida) do tegumento sincicial; ciclo de vida simples, (SMYTH, 1917). Um ovo dá origem a apenas um verme adulto e não existe reprodução clonal, o ovo desenvolve-se primeiro em um oncomiracídio com ganchos e ciliado. Os oncomiracídios se fixam no poro branquial dos girinos, quando o girino sofre metamorfose, o parasito deixa as brânquias e rasteja sobre a barriga do hospedeiro e entra na bexiga (RUPPERT, *et al.*, 2004).

São poucos os registros de monogeneas parasitando anuros no Brasil, espécies do gênero *Polystoma* são as mais comuns que parasitam anfíbios (SMYTH, 1994; SANTOS; AMATO, 2012). Buscando contribuir com o conhecimento existente sobre monogenea parasitando anuros no Brasil, este estudo fornece dados sobre as espécies de Monogenea que compõem a comunidade de parasitos de *Trachycephalus typhonius*.

A escolha da espécie *Trachycephalus typhonius* se deu, por serem abundantes no município de Breves, e por serem bioindicadores, assim como os demais anfíbios, da qualidade ambiental. Desta forma conhecer a relação parasito hospedeiro é de suma importância não somente para registro, mas, para que se possa entender a relação destes organismos com seu hospedeiro e com o meio ambiente em geral, além da oportunidade de descrição ou redescricao de novas espécies de parasitos, bem como novos registros geográficos de espécies já conhecidas associada aos anfíbios da Amazônia Brasileira.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar por taxonomia clássica helmintos da Classe Monogenea, parasitos de *Trachycephalus typhoni* do município de Breves (Ilha do Marajó – Pará)

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

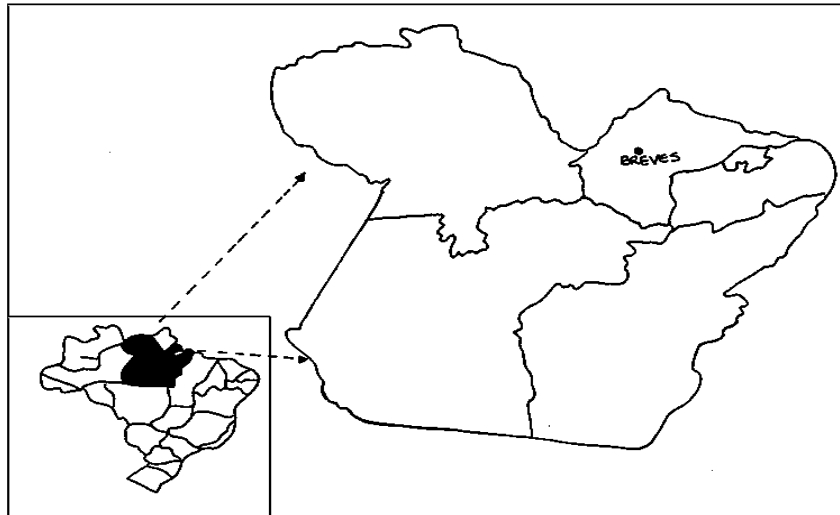
- I - Inferir dados sobre prevalência, intensidade de infecção e abundância média dos helmintos da Classe Monogenea.
- II – Identificar os helmintos da Classe Monogenea parasitos de *Trachycephalus typhoni*.
- III – Prover um *checklist* das espécies de anfíbios parasitadas por helmintos da Classe Monogenea na Amazônia brasileira.

3 METODOLOGIA

3.1 HABITAT E OBTENÇÃO DA ESPÉCIE HOSPEDEIRA

A área de estudo compreende o município de Breves (01° 40' 56" S; 50° 28' 49" W) localizado dentro do bioma amazônico, especificamente ao sudoeste do arquipélago do Marajó, Estado do Pará (Fig. 2). 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° (IBGE, 2010; Climate - Data.Org, 2018; INMET, 2018)

Figura 2- Mapa do Pará. Município de Breves, local onde foi realizado a pesquisa.



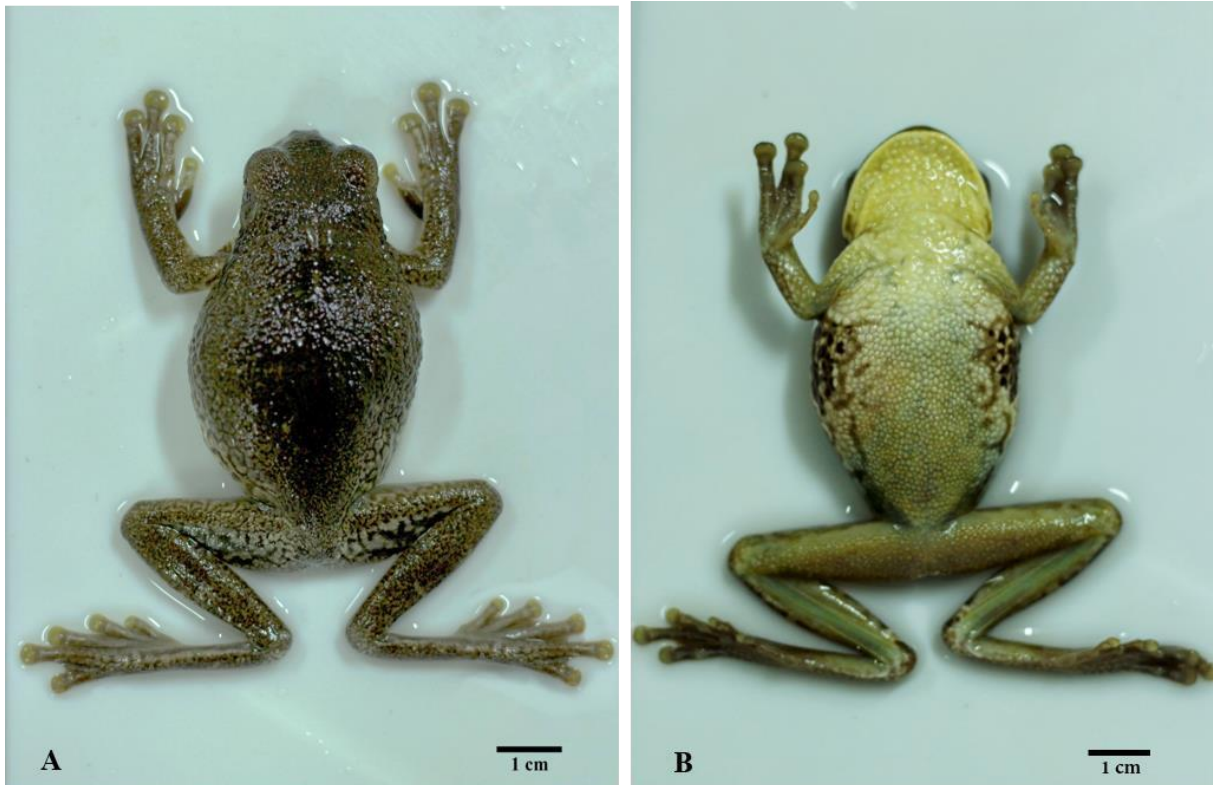
Fonte: IBGE, 2010

A coleta dos hospedeiros anfíbios foi realizada 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). A coleta e o manuseio, tanto dos hospedeiros, quanto dos parasitos helmintos seguiram as diretrizes do SISBio/ICMBio/IBAMA, licença nº 67799-1 (Anexo 1)

Os anfíbios foram coletados através de busca ativa durante o período de noturno na área urbana do município de Breves. Posteriormente, foram transportados vivos para o Laboratório de Ciências Naturais (LACIN) da Universidade Federal do Pará/Campus Marajó Breves, onde foram eutanasiados (Fig.3) seguindo o protocolo de Gardner *et al.* (2012) e então necropsiados para a busca de helmintos, sendo analisados todos os órgãos do trato gastrointestinal e anexos: pulmões, rins, bexiga urinária, fígado e cavidade celomática.

No LACIN, foram pesados, e com o auxílio de régua milimetrada, tomadas suas medidas corpóreas como; comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento do membro anterior direito (CMA) e o comprimento do membro posterior direito (CMP). Todos os dados de massa, medidas, sexo além de local de coleta e data foram anotados em ficha de necropsia (Anexo 2) para futuros estudos ecológicos com estes hospedeiros. A eutanásia foi feita com administração (tópica ou intramuscular) de cloridrato de lidocaína a 2%, para então ser realizada a necropsia e a investigação de helmintos parasitos. Após esses procedimentos, estes hospedeiros foram fixados em formaldeído a 10%, receberam etiqueta de identificação provisória e estão conservados em álcool 70% aguardando o encaminhamento e inclusão no acervo da Coleção Herpetológica “Oswaldo Rodrigues da Cunha” do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).

Figura 3 - Anuro *Trachycephalus tiphonius*, (A) foto do dorso, (B) foto do ventre.



Fotografia: Wallace Garcia

3.2 PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA DE LUZ

Os helmintos colhidos foram processados para Microscopia de Luz, seguindo protocolos de (AMATO, *et al.*, 1991). Todos os filis helmintos foram colhidos, entretanto, somente os monogênicos foram processados para este estudo, os demais helmintos seguem conservados para posteriores estudos. Devido possuírem uma coloração branco-leitoso que não evidencia as estruturas internas, para microscopia os helmintos do Filo Platyhelminthes foram corados e clarificados de acordo com as técnicas de (AMATO, *et al.*, 1991): Utilizando-se o Corante Carmim® e Tricômico de Gomori por tempo variável. Para os espécimes corados com Carmim a diferenciação de coloração foi realizada com o Etanol clorídrico, e para espécimes corados com Tricômico, foi colocado o espécime em álcool 100% e gotejado água destilada mediante acompanhamento ao microscópio de Luz. Após diferenciação, começou a série etanólica para desidratação e posterior clarificação em Salicilato de Metila® e Creosoto de Faia. Lâminas permanentes foram montadas em meio Grey&Wess e Hoyer, para clarificação e observação das estruturas esclerotizadas.

3.3 ANÁLISES DOS RESULTADOS

3.3.1 Análise estatística, morfométrica e morfológica

Todos os valores obtidos para análise morfométrica dos helmintos foram dispostos em tabelas do Microsoft Office Excel 2016®, para tratamento estatístico simples das variáveis das amostras, como obtenção médias e desvio padrão das estruturas anatômicas importantes para análise taxonômica. Foram calculadas também informações sobre prevalência, intensidade de infecção e abundância média de acordo com a metodologia de Bush *et al.* (1997) (Fig. 4) e Rózsa *et al.* (2000). Prevalência é o número de hospedeiros infectados com uma espécie de parasito dividido pelo número de hospedeiros examinados. Abundância média é o número total de uma espécie de parasito em particular encontrado em uma amostra, dividido pelo número de hospedeiros examinados, tanto os infectados como não infectados. Intensidade média é o número total de uma dada espécie de parasito dividido pelo número de hospedeiros infectados com este parasito.

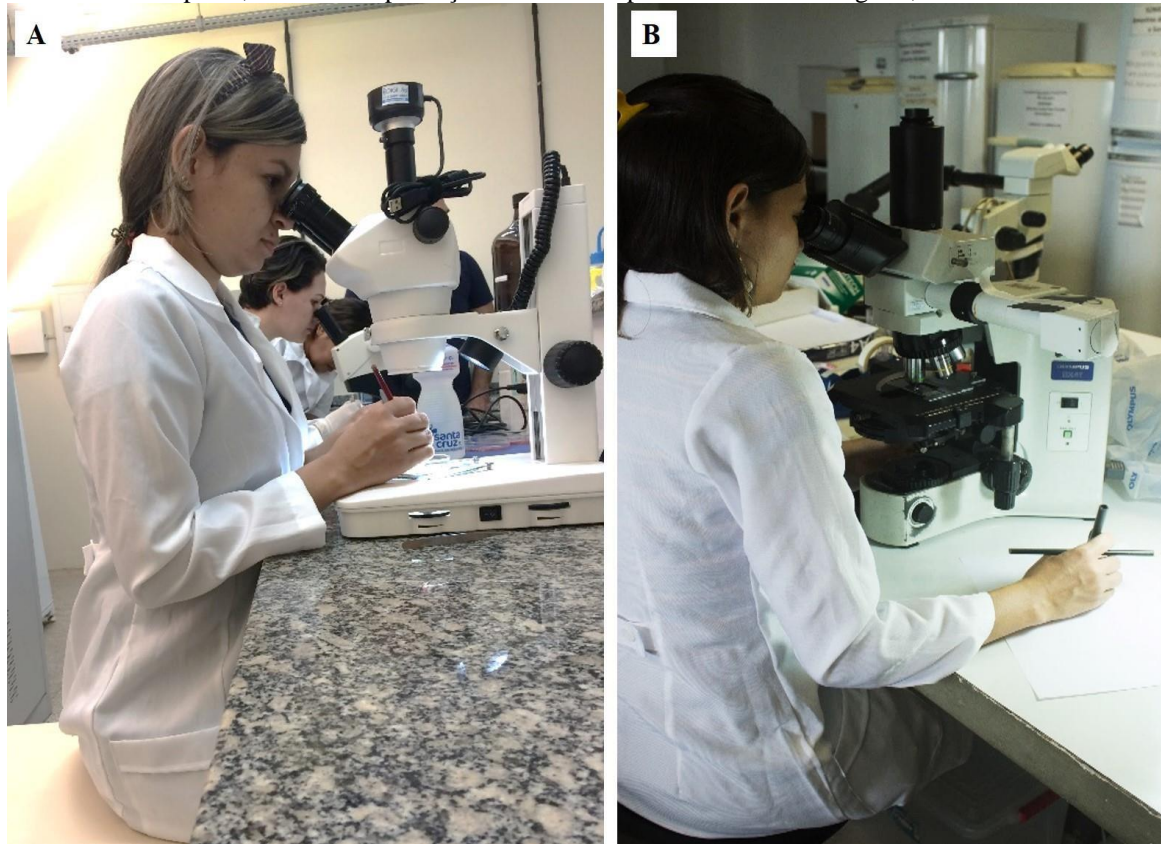
Figura 4 - Fórmulas para obtenção de descritores para análises estatísticas.

<p style="text-align: center;">PREVALÊNCIA (%) $\frac{\text{N}^\circ \text{ de hospedeiros infectados}}{\text{N}^\circ \text{ total de hospedeiros examinados}} \times 100$</p>	<p style="text-align: center;">AMPLITUDE Diferença entre o maior e o menor valor de parasitos da amostra.</p>
<p style="text-align: center;">INTENSIDADE MÉDIA $\frac{\text{N}^\circ \text{ total de uma espécie de parasito}}{\text{N}^\circ \text{ total de hospedeiros infectados pelo mesmo}}$</p>	<p style="text-align: center;">ABUNDÂNCIA MÉDIA $\frac{\text{N}^\circ \text{ total de uma espécie de parasito}}{\text{N}^\circ \text{ total de hospedeiros examinados}}$</p>

Fonte: Adaptação baseada em Bush *et al.* (1997)

As análises morfológicas e morfométricas foram realizadas no Laboratório de Biologia Celular e Helmintologia “Reinalda Marisa Lanfredi” (LBCH/UFPA-Campus Básico), através de desenhos taxonômicos em microscopia de luz utilizando-se o Microscópio Olympus BX41, com câmara clara acoplada (Fig. 5), fotomicrografias utilizando-se o Foto Microscópio Olympus DP72 e Contraste Diferencial de Interferência (DIC) que permitiu visualizar estruturas que não estavam bem visíveis. Para confecção de pranchas compostas com os desenhos produzidos, foi utilizado o software Corel Draw 2019®

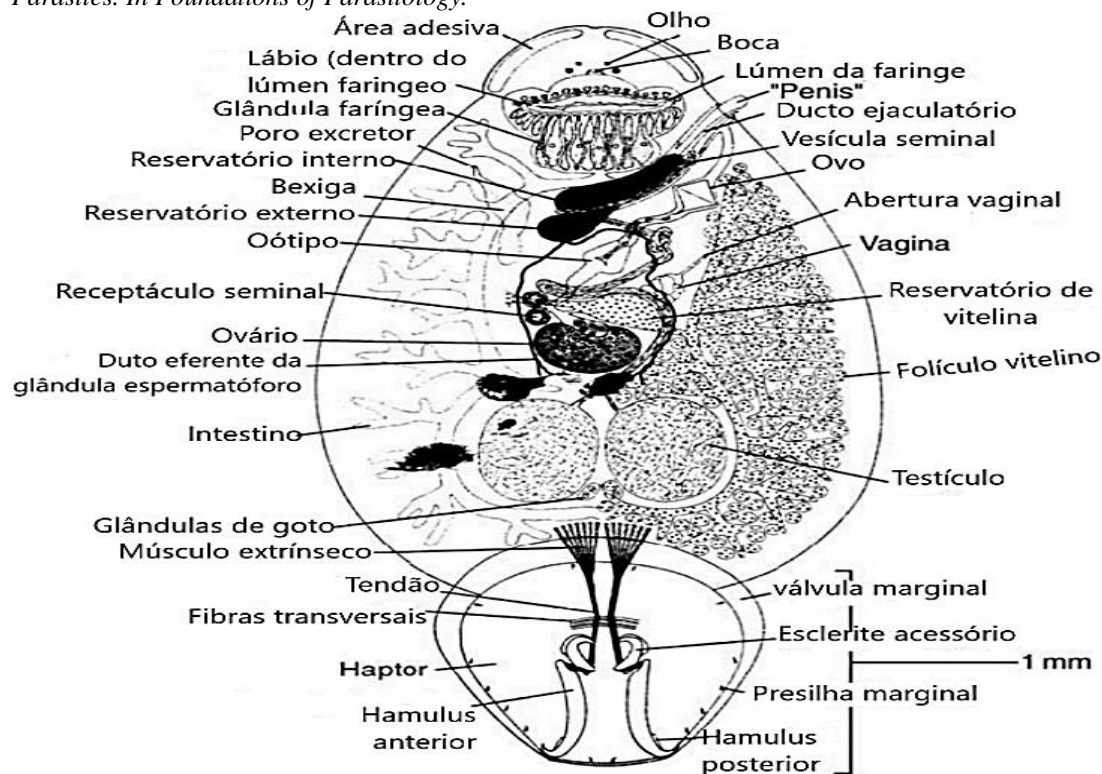
Figura 5 – Durante a fase de necropsia e análise do material. A - Microscópio Estereoscópio Trinocular DI-106 T LED 8X à 100X, utilizado nas necropsias no LACIN; B - Microscópio Olympus BX51 com câmara clara acoplada, utilizada na produção de desenhos para análises morfológicas, no LBCH.



Fonte: Wallace Garcia

Para identificação dos helmintos, foram analisadas estruturas anatômicas internas e externas (Fig. 6/pág.11) e utilizada a chave taxonômica de Yamaguti (1963), além de comparação com artigos descritivos das espécies correlatas. Os helmintos parasitos identificados, serão depositados em coleção científica, após a finalização do projeto “*Herpetofauna no município de Breves e helmintos parasitos associados*” (Portaria Nº. 27/2019 - CG/CUMB – UFPA) que ocorre em fevereiro/2020.

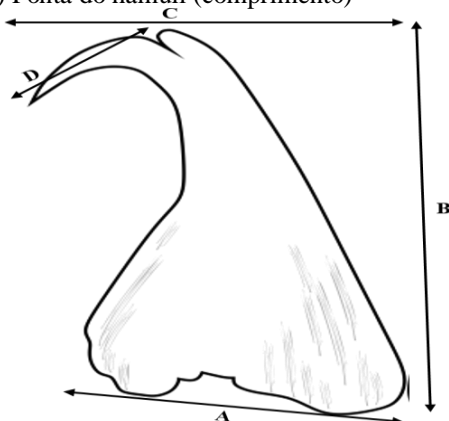
Figura 6 - Morfologia básica de *Entobdella soleae* (Monogenea), onde são apontadas as principais estruturas anatômicas consideradas em monogenéticos. Fonte: G. C. *Ecology and Physiology of Parasites. In Foundations of Parasitology.*



Fonte: Schmidt & Roberts, (2009)

As análises morfométricas estão dispostas da seguinte maneira: média \pm desvio padrão (maior e menor valor observado). Os valores apresentados estão em (mm) e (μ m) a partir do ponto que houver alteração será informado no texto. Para análise morfométrica do hamuli, foi utilizado os seguintes parâmetros para as medidas (Fig.7/pág.12), foram medidos o hamuli direito e esquerdo.

Figura 7 - Parâmetros para medida do hamuli. (A) Base do hamuli, (B) Comprimento total do hamuli, (C) Largura total do hamuli, (D) Ponta do hamuli (comprimento)



Fonte: Schmidt & Roberts, (2009)

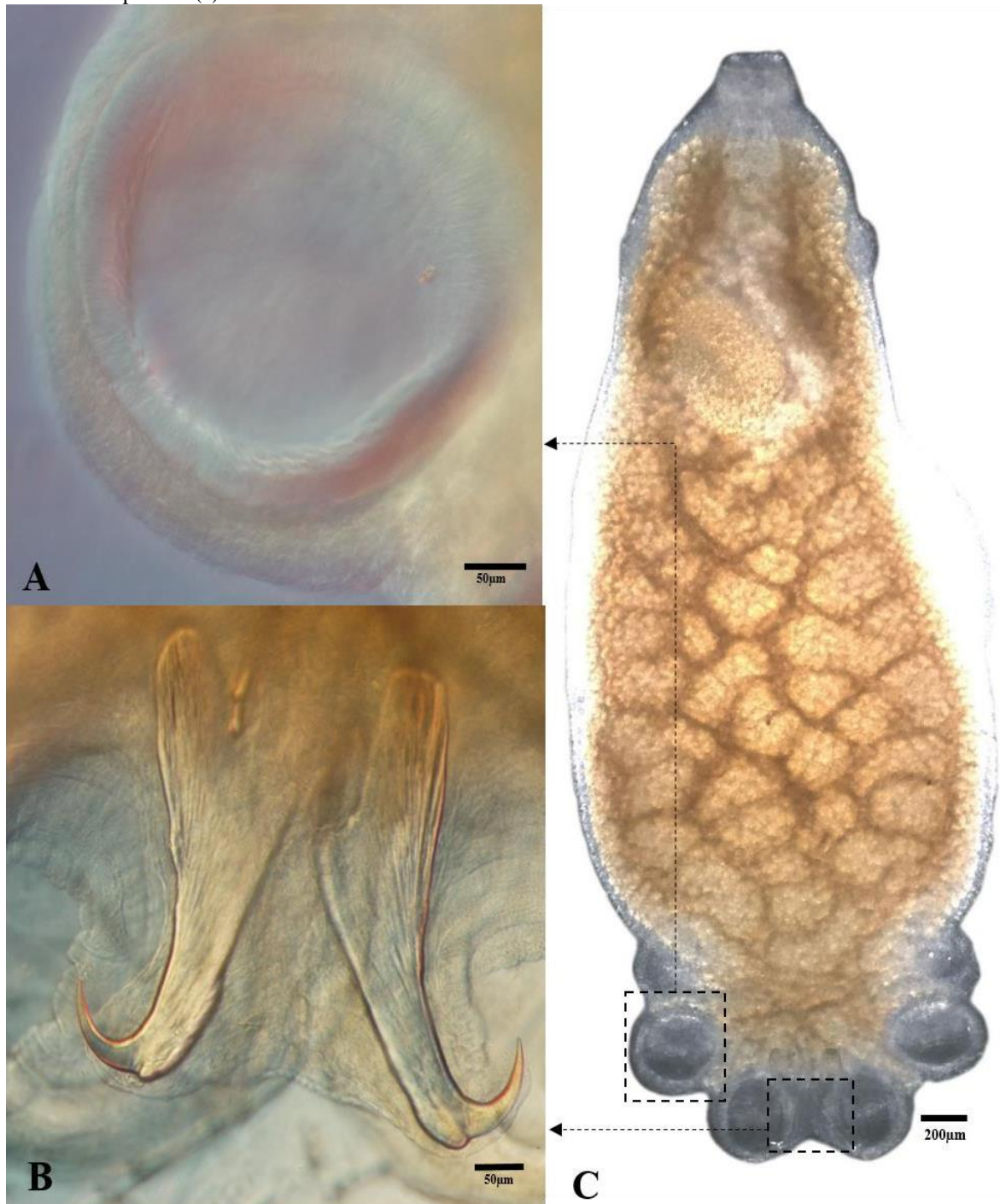
Ainda com o intuito de colaborar com futuros estudos de monogenéticos parasitos de anfíbios da América do Sul, foi proposta uma lista de espécies (= *Checklist*) de *Polystoma* spp. encontrados parasitando a bexiga urinária de anfíbios. A proposta foi feita com base em dados de literatura dos últimos 40 anos, considerando que existem poucos estudos feitos.

4 RESULTADOS

No período de janeiro a julho de 2019 foram necropsiados 10 anuros da espécie *Trachycephalus typhoni* coletados aleatoriamente, três machos com CRC médio de 71 mm e massa médio de 15.96 g e sete fêmeas com CRC médio de 66.57 mm e massa média e 11.98 g. *Trachycephalus typhoni*, analisada nesse estudo, apresentava-se parasitada por helmintos dos diferentes Filos como Nematoda; Acanthocephala e Platyhelminthes (Classes Cestodas e Monogenea). Entretanto para esse estudo somente a amostra de monogenéticos (Classe Monogenea) foram separadas e analisadas. Dos três hospedeiros machos somente um estava parasitado por helmintos monogenéticos e das sete fêmeas, cinco apresentavam esse parasitismo. Foram obtidos um total de 27 espécimes monogenéticos parasitando *T. typhoni*, com prevalência média de 60%, abundância média de 2,25, intensidade de um, quatro, cinco, cinco, seis, seis e intensidade média da infecção de 4,5. A amplitude de infecção variou entre 1 e 6 parasitos por espécime hospedeiro. O sítio de infecção compreendeu a bexiga urinária do hospedeiro anuro.

Os espécimes helmintos foram identificados como pertencentes a Classe monogenea por apresentarem características morfológicas como: ausência de segmentação, achatamento dorsoventral presença de ventosas orais e haptorais e presença de hamuli (Fig. 8).

Figura 8: Micrografia de *Polystoma* sp. parasito de *T. typhoni*. Lâmina montada em meio ressaltando a presença de ventosas haptorais (a), um par de hamuli (b) e a localização destas estruturas na posição ventral do espécime (c).



Fonte: GREY & WESS (AMATO,1991)

A identificação foi possibilitada pela utilização da chave taxonômica proposta por YAMAGUTI (1963). Desta forma caracteres como: presença de haptor sésil, com seis ventosas; ventosa oral na extremidade anterior; ceco intestinal com anastomose; olhos ausentes; testículo único; na extremidade ventral anterior presença de poro genital mediano, possibilitaram a identificação dentro da superfamília Polystomatoidea (PRICE, 1936). Foram observados ainda, haptor terminal, constricto fora do corpo apresentando três pares de ventosas com âncoras, boca terminal cercada por ventosa muscular, intestino bifurcado; presença de vitelária e testículo folicular, características da família Polystomatidae (Gamble, 1896). Para identificação em nível de gênero, e também seguindo a chave de Yamaguti (1963), foram observadas as seguintes estruturas: haptor com três pares de ventosas e um par de âncoras haptorais; testículo único folicular postovariano no campo inter cecal; um par de vagina ventrolateral. E ainda, ovário contendo inúmeros ovos, e útero com 1-3 ovos, característica pertencentes ao gênero *Polystoma* (Zeder, 1800). Desta forma, os helmintos monogenéticos encontrados parasitando *T. typhoni* foram identificados como pertencentes ao gênero *Polystoma*.

4.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA POR MICROSCOPIA DE LUZ DE *Polystoma* sp. PARASITO DE *Trachycephalus typhoni*

Sumário Taxonômico

Classe: Monogenea Superfamília Polystomatoidea

Família: Polystomatidae Gênero: *Polystoma*

Hospedeiro: *Trachycephalus typhoni*

Localidade: Campus Universitário Marajó, Universidade Federal do Pará, Breves/PA.

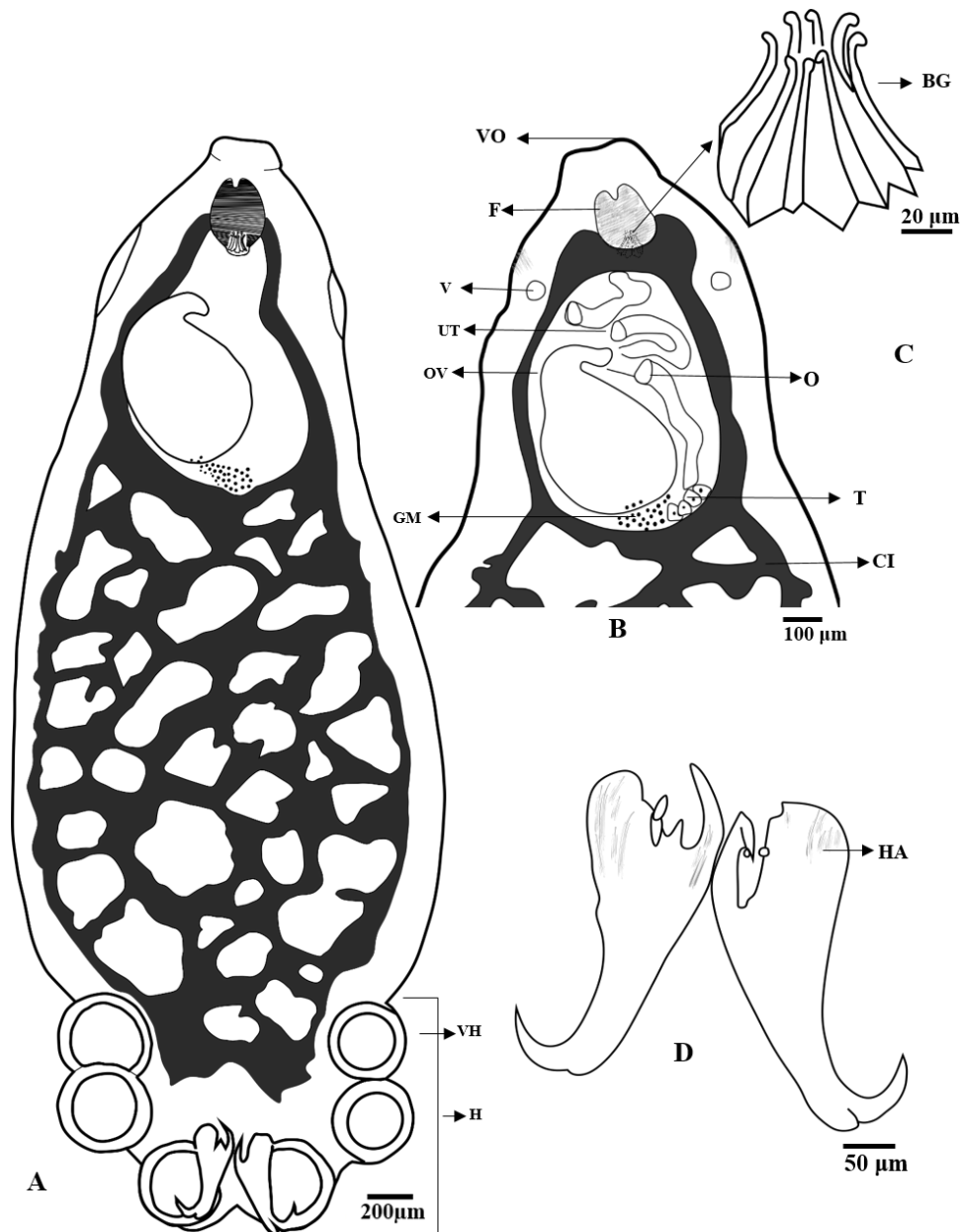
Prevalência: 60%

Amplitude de infecção: 1 – 6 espécimes.

Descrição Geral: *Polystoma* sp. encontrado na bexiga urinária de *Trachycephalus typhoni* possui três pares de ventosas haptorais (Fig. 9A), haptor apresentando um par de hamuli com ganchos bem curvados (Fig. 9D e 10F) boca terminal cercada por ventosa muscular (Fig. 10C), seguida de faringe também muscular (Fig.10C), intestino bifurcado, ceco intestinal com anastomoses pré haptorais, presença de vitelária folicular, todo o sistema digestivo aparece bem preto nas amostras devido a presença de grãos de hematina nas células,

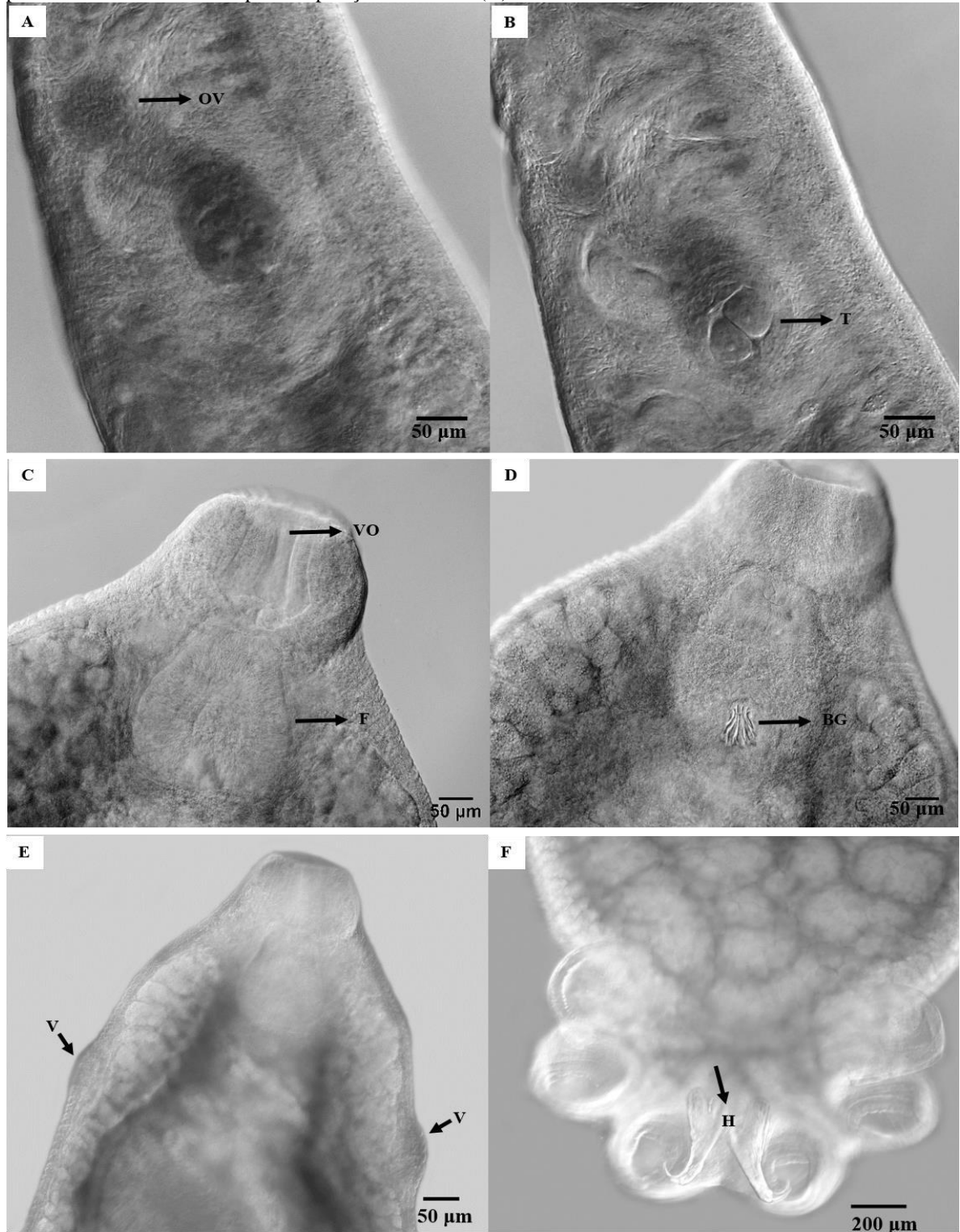
poro ventral na extremidade anterior, presença de um par de vagina ventrolateral (Fig. 9B e 10E), ovário com vários ovos imaturos, útero atingindo o bulbo genital com 3 ovos maduros, bulbo genital com 8 espinhos (Fig. 9C e 10D)), glândula de Mehlis desenvolvida, testículo postovariano único e folicular (Fig.10).

Figura 9- Prancha produzida em microscópio com câmara clara acoplada Olympus BX51 **A.** Visão geral, ventral do *Polystoma* sp. encontrado na bexiga urinária de *Trachycephalus typhonius*. VH: Ventosas haptoras, H: Haptor. **B.** Porção anterior. VO: ventosa oral, F: faringe, V: vagina, UT: útero tubular, OV: ovário, O: ovo, GM: glândula de Mehlis, T: testículo, CI: ceco intestinal. **C.** BC: bulbo genital, apresentando 8 espinhos **D:** HÁ: hamuli.



Fonte: (YAMAGUTI, 1963)

Figura 10. Fotomicrografia de Luz realizada através da técnica do DIC (do inglês, *Differential Interference Contrast*) de *Polystoma* sp. parasito de *T. typhoni*. No detalhe do corte histológico, em visão lateral: **A**: OV: ovário, **B**: T: Testículo. Em visão ventral: **C**: Região anterior evidenciando em VO: ventosa oral e em F: faringe. **D**: detalhe do BG: bulbo genital. **E**: Localização das duas vaginas laterais (seta), V: vagina. **F**: Região posterior evidenciando o haptor e a posição do hamuli (H).



Fonte: (YAMAGUTI, 1963)

Descrição dos espécimes juvenis: Foi observado que o ovário é pequeno e útero curto sem presença de ovos. Bulbo genital com 8 espinhos, glândula de Mehlis não observada. O testículo é único apresentando numerosos folículos.

Descrição morfométrica (N=11): Corpo apresentando comprimento total médio de $2.69 \text{ mm} \pm 1.06$ (1.44 – 4.65) e largura média de 1.00 ± 0.50 (0.56 – 1.78). Haptor com comprimento total médio de 0.56 ± 0.14 (0.36 – 0.78) e largura média do haptor 1.05 ± 0.34 (0.63 – 1.63). Média do diâmetro da ventosa oral $111 \mu\text{m} \pm 33.45$ (76 – 191). Comprimento médio da faringe $199 \mu\text{m} \pm 46.62$ (120 – 279) e largura média da faringe 152 ± 105.77 (121 – 224). Comprimento médio da ventosa anterior 315 ± 105.10 (176 – 513) e largura média da ventosa anterior 320 ± 110.26 (189 – 535). Comprimento médio da ventosa intermediária 299 ± 95.05 (181 – 459) e largura média da ventosa intermediária 300 ± 85.59 (193 – 459). Comprimento médio da ventosa posterior 310 ± 86.12 (205 – 473) e largura média posterior 280 ± 90.17 (195 – 473). Medida dos ovos (baseada em 3 exemplares), apresentando comprimento médio de 72 ± 13.94 (61 – 81) e largura média de 60 ± 12.11 (60 – 74). As medidas do hamuli, comprimento médio do esquerdo 394 ± 29.3 (368 – 431), largura média do esquerdo 236 ± 45.8 (115 – 268) média da base do esquerdo 143 ± 51.1 (100 – 131) média da ponta do esquerdo 151 ± 18.9 (100 – 152). Comprimento médio do direito 373 ± 32.8 (349 – 410), largura média do direito 231 ± 45.5 (205 – 284) média da base do direito 176 ± 56.5 (141 – 252), média da ponta do direito 126 ± 22.9 (100 – 142).

4.2 CHECKLIST DE HELMINTOS DO GÊNERO *Polystoma* ENCONTRADOS PARASITANDO ANFÍBIOS ANUROS NA AMÉRICA DO SUL

Foram encontrados em literatura um total de 13 trabalhos realizados dentre os anos de 1974 a 2017, com registros de helmintos do gênero *Polystoma* parasitando anfíbios anuros das mais variadas famílias. Todos os resultados encontram-se dispostos na tabela 1, a seguir:

Tabela 1 – Checklist de helmintos do gênero *Polystoma* encontrados parasitando anfíbios anuros na América do Sul. *(NM) – Não mencionado.

Família/ Espécie Hospedeira	Espécie de <i>Polystoma</i>	Prevalência	Localidade	Referência
BUFONIDAE				
<i>Bufo diptychi</i> (= <i>Rhinella dipticha</i>)	<i>Polystoma diptychi</i>	NM	Concepción, Paraguai	Vaucher, (1986)
<i>Osteocephalus leprieurii</i>	<i>Polystoma napoensis</i>	NM	Napo, Equador	Vaucher, (1987)
<i>Osteocephalus taurinus</i>			Napo, Equador	Vaucher, (1987)
<i>Melanophryniscus rubriventis</i>	<i>Polystoma andinum</i>	NM	Jujuy – Argentina	Combes&Laurent (1978)
HYLIDAE				
<i>Hylla pulchella</i> = <i>Hypsiboas pulchellus</i>	<i>Polystoma guevarai</i>	NM	Tucumán – Argentina	Combes&Laurent (1979)
<i>Phyllomedusa tarsius</i>	<i>Polystoma sp.</i>	NM	Napo – Equador	Dyer (1986)
<i>Trachycephalus nigromaculatus</i> ;	<i>Polystoma sp.</i>	NM	Rio de Janeiro – Brasil	Kohn <i>et al.</i> 1974
<i>Trachycephalus mesophaea</i> ;	<i>Polystoma sp.</i>			
<i>Trachycephalus tiphonius</i>	<i>Polystoma sp.</i>	-	Breves / Pará – Brasil	<i>Presente estudo</i>
<i>Phrynohias venulosa</i>	<i>Polystoma lopezromani</i>	NM	Canediyu – Argentina	Combes&Laurent, (1979)
LEPTODACTYLIDAE				
<i>Leptodactylus labyrinthicus</i>	<i>Polystoma napoensis</i>	6.8%	Mato Grosso – Brasil	Morais (2013)
<i>Leptodactylus chaquensis</i>	<i>Polystoma cuvieri</i>	1.7 %	Mato Grosso – Brasil	Morais (2013)
<i>Leptodactylus wagneri</i>	<i>Polystoma sp.</i>	NM	Napo – Equador	Dyer (1986)
<i>Physalaemus cuvieri</i>	<i>Polystoma cuvieri</i>	NM	Concepción, Paraguai	Vaucher, (1990)
<i>Physalaemus biligonigerus</i>				
<i>Physalaemus cuvieri</i>	<i>Polystoma cuvieri</i>	38.86%	Santa Catarina e Rio Grande do Sul – Brasil	Santos&Amato (2012)
<i>Physalaemus cuvieri</i>	<i>Polystoma cuvieri</i>	9,43 %	Santa Catarina; Paraná – Brasil	Portela (2017)
<i>Physalaemus cuvieri</i>	<i>Polystoma cuvieri</i>	14,3%	São Paulo – Brasil	Aguiar (2015)
<i>Pleuroderma borellii</i>	<i>Polystoma borellii</i>	10.78 %	Tucumán, Argentina	Combes&Laurent (1974)
TELMATOBIIIDAE				
<i>Telmatobius oxycephalus</i>	<i>Polystoma praecox</i>	NM	Jujuy – Argentina	Combes&Laurent (1978)
HEMIPHRACTIDAE				
<i>Gastrotheca riobambae</i>	<i>Polystoma touzeti</i>	NM	Imbabura, Napo – Equador	Vaucher, (1987)

5 DISCUSSÃO

Em literatura não é comum o parasitismo de monogenéticos em anfíbios anuros o que demonstra o interesse em se entender a dinâmica do parasitismo destes organismos quando encontrados nesses hospedeiros. No Brasil, existem, até o momento e excetuando o presente estudo, seis registros de monogenéticos do gênero *Polystoma* parasitando anuros (ver tabela 1), evidenciando a especificidade de hospedeiros destes parasitos.

Na América do Sul espécies do gênero *Polystoma* parasitos de anfíbios são: *Polystoma andinum* (Combes & Laurent, 1978), *P. borellii* (Combes & Laurent, 1974), *P. cuvieri* (Vaucher, 1990), *P. diptychi* (Vaucher, 1986), *P. guevarai* (Combes & Laurent, 1979), *P. lopezromani* (Combes & Laurent, 1979) *P. napoensis* (Vaucher, 1987), *P. praecox* (Combes & Laurent, 1978) e *P. touzeti* (Vaucher, 1987)

O gênero *Polystoma* é apontado como o mais comum, dentre os monogenéticos, encontrado parasitando a bexiga urinária de anfíbios anuros em geral e, de acordo com Rocha *et al.* (2014), esse sítio de infecção é característica bastante comum destes parasitos nesses hospedeiros. A aquisição do parasitismo, entretanto, ocorre segundo Ruppert & Barnes (2005), durante a fase larval do anfíbio, ou seja, no meio aquático. E esse tipo de parasitismo não tem a ver com a dieta do anfíbio, assim como é o caso da infecção de *T. typhoni* por helmintos dos demais Filos parasitos (DALAZEN, 2013).

O registro de parasitismo por helmintos, de maneira geral, em *T. typhoni* é conhecido na América do Sul para a Argentina (ZENKLUSEN, *et al.* 2009; DRAGHI, *et al.* 2015; COMBES; LAURENT, 1979) e Costa Rica (BURSEY, *et al.* 2010). No Brasil há apenas um estudo publicado por Dalazen, *et al.* (2013) no Estado do Mato Grosso do Sul. Entretanto, destes estudos somente em um foi relatado a ocorrência de monogenéticos em *T. typhoni*. (Combes & Laurent, 1979) onde foi descrito a espécie *Polystoma lopezromani*. Morfologicamente os helmintos do gênero *Polystoma* (Polystomatidae) são organismos monoicos que se caracterizam, dentre outros caracteres morfológicos, pela presença de vagina. Em *Polystoma* sp. de *T. typhoni* foi observado a presença de vaginas ventrolaterais bastante visíveis, o que é caractere diagnóstico do gênero (YAMAGUTI, 1963). Para identificação em nível mais específico foi feita, a comparação de *Polystoma* sp. de *T. typhoni*, com as espécies correlatas do gênero parasitos de anfíbios da América do Sul.

Polystoma sp. difere de *Polystoma borellii* (Combes & Laurent, 1974) devido que a glândula de Mehlis não está altamente desenvolvida, diferente de *Polystoma borellii* que apresenta glândulas de Mehlis, células serosas e células da mucosa altamente desenvolvidas. Além disso, em *Polystoma borellii* os ramos digestivos não são muito visíveis com uma ventosa oral subdesenvolvida, o que não ocorre em *Polystoma* sp. A morfometria de *Polystoma borellii* é relativamente superior de que em *Polystoma* sp.

Polystoma sp. assemelha-se a *Polystoma praecox* (Combes & Laurent, 1978), entretanto, mamilos vaginais são muitos simples e discretos em *Polystoma praecox*, em *Polystoma* sp., entretanto, essa característica é bastante marcada, além disso em *Polystoma* sp. não há presença de ganchos larvais em indivíduos imaturos, o que foi relatado *Polystoma praecox*, os ovos uterinos podem ser numerosos até 10. Presença de grânulos refratores nas proximidades da ponta do hamuli. Canal buco-esofágico presente. A maturidade sexual é muito precoce. Isso são características que não são presentes *Polystoma* sp. A morfometria de algumas estruturas de *Polystoma praecox* são maiores que em *Polystoma* sp.

Polystoma sp. não compartilha as mesmas características que *Polystoma andinum* (Combes & Laurent, 1978), pois, os mamilos vaginais em *Polystoma* sp. são bastante presentes diferente de *Polystoma andinum*, que são poucos marcados, características essas que o diferem que além de que em *Polystoma andinum* o ovário tem como base um colar de células grandes com citoplasma granular, e o testículo está no meio do corpo, diferente de *Polystoma* sp. A morfometria de *Polystoma andinum* não pode ser relacionada *Polystoma* sp. por possuir valores superiores.

Polystoma sp. difere de *Polystoma lopezromani* (Combes & Laurent, 1979) por apresentar ovos uterinos, com espécimes maduros e os mamilos vaginais bastante marcados, localizados na borda anterior do ovário, o que não ocorre em *Polystoma lopezromani*. Que não apresenta ovos uterinos e os mamilos vaginas são pouco visíveis, além disso na descrição da espécie *Polystoma lopezromani* não é mencionado como está disposto o testículo, e não é mencionado a presença de Glândula de Mehlis, em espécimes maduros de *Polystoma* sp. é possível visualizar uma glândula de Mehlis subdesenvolvida. A morfometria de *Polystoma lopezromani* é superior quando comparada a morfometria de *Polystoma* sp.

Polystoma sp, difere de *Polystoma guevarai* (Combes & Laurent, 1979) por não apresentar cecos anastomosados somente no axial e lateral, e sim apresentar ceco anastomosado por todo o corpo, em espécimes maduros foi observado somente a presença

de um ovo, o que em *Polystoma* sp. está presente 3 ovos, além disso as medidas corpóreas dos exemplares de *Polystoma guevarai* são muito superiores a *Polystoma* sp. Em *Polystoma guevarai*, algumas estruturas possuem morfometria superior a *Polystoma* sp.

Polystoma sp. não pode se classificar como *Polystoma diptychi* (Vaucher, 1986) por apresentar grânulos queratinizados evidentes perto dos hamuli, o que não é observado em *Polystoma diptychi*. Além disso o testículo em *Polystoma diptychi* encontra-se difuso no meio do corpo, características que também é diferente de *Polystoma* sp. Algumas estruturas em *Polystoma diptychi* possuem morfometria inferiores quando comparado a *Polystoma* sp.

Polystoma sp. difere de *Polystoma touzeti* (Vaucher, 1987) por apresentar trato digestivo com anastomose na porção media, característica essa que não é evidente em *Polystoma touzeti* além de este não apresentar grânulos queratinizados ao redor do hamuli, testículo ventral no meio do corpo, características essas que são diferentes em *Polystoma* sp. Pois, apresenta grânulo queratinizados ao redor do hámulo, e testículo postovariano. Além disso, algumas estruturas possuem morfometria inferiores quando comparado a *Polystoma* sp.

Para anfíbios brasileiros, são relatadas, até o momento, duas espécies de helmintos do gênero *Polystoma*, *P. Napoensis* e *P. Cuvieri* (ver Tabela 1). *Polystoma* sp. de *T. typhoni*, entretanto parece não compartilhar os caracteres morfológicos e morfométricos dos seus demais congêneres. *Polystoma napoensis* e *P. Cuvieri* parecem ser os mais próximos de *Polystoma* sp. Com base nisso, neste estudo foi feita a comparação morfológica e morfométrica com essas duas espécies. (Tabela 2).

Polystoma sp. encontrado em *T. typhoni*, assemelha-se a *P. cuvieri* e *P. napoensis* por apresentar: ventosa oral, intestino anastomosado penetrando no haptor, projetando seis ventosas haptorais arredondas, com pouca diferença de tamanho, poro genital a nível da faringe, bulbo copulatório com 8 espinhos, sistema genital feminino com ovário anterior de extremidade curva e útero tubular ascendente, com vários laços (Vaucher, 1987; 1990).

Algumas características morfológicas, entretanto, de *Polystoma* sp. são exclusivamente compartilhadas com *P. cuvieri* como: intestino, que além de anastomosado, apresenta numerosas digitações, o que não ocorre em *P. napoensis*. Contudo *Polystoma* sp. é diferente de *P. cuvieri*, por apresentar de um a três ovos no útero, já que em *P. cuvieri* são observados de um a sete ovos. Além do mais, em *Polystoma* sp. não foi visualizado o esôfago, o que indica que esta estrutura esteja ausente,

diferindo de *P. cuvieri*, onde se observa a presença de um esôfago curto. A faringe de *Polystoma* sp. não é coberta por folículos o que ocorre em *P. cuvieri*. O testículo de *Polystoma* sp. localiza-se postovariano, diferente em *P. cuvieri*, que pode ser encontrado no meio do corpo.

Polystoma sp. de *T. typhoni*, assemelha-se a *P. napoensis* por apresentar trato digestivo altamente desenvolvido, ovário anterior com um canto curvado, sistema genital típico do gênero, glândula de Mehlis bem desenvolvida, útero tubular, bulbo copulatório com espinhos, hamuli com grânulos queratinizados em torno. Entretanto, difere *P. napoensis* por apresentar útero contendo um a três ovos ao invés de um a dois. E o sistema digestivo de *Polystoma* sp. é bifurcado, o que não ocorre em *P. napoensis*.

Em relação ao sistema genital masculino tanto *Polystoma* sp. quanto *P. cuvieri* apresentam testículo folicular oculto por numerosos e densos folículos vitelinos e presença duas vaginas laterais, situadas no nível da extremidade anterior do ovário. Entretanto, não se pode comparar essa estrutura, morfologia de testículos, com *P. napoensis*, já que não foi encontrada informação sobre como se apresenta seu sistema genital masculino em literatura. O que talvez se deva ao fato de que essa estrutura seja de difícil observação (Vaucher, 1990), uma vez que o mesmo é coberto por densas vitelárias. Morfometricamente *Polystoma* sp. se assemelha a *P. cuvieri* e difere de *P. napoensis*. Contudo, devido as diferenças morfológicas, *Polystoma* sp. parece não corresponder a nenhuma dessas espécies.

Contudo *Polystoma* sp. de *T. typhoni*, parece também não corresponder a nenhuma das demais espécies relatadas parasitando anfíbios na América do Sul. Entretanto maiores análises, em nível mais específico, como por exemplo a biologia molecular, devem ser realizadas para se afirmar que esta seja uma nova espécie para *Polystoma*.

Sobre as análises de prevalência estas mostraram que 60% dos hospedeiros analisados nesse estudo se apresentavam parasitados, número que pode ser considerado superior quando comparado ao apresentado por alguns autores para outras espécies hospedeiras, conforme o que foi previamente apresentado na tabela 1, o que pode estar relacionado ao grau de especificidade do hospedeiro. Já os baixos resultados obtidos de abundância e da intensidade média de infecção podem estar relacionados a estratégia de reprodução de *T. typhoni*, já que a exposição a *Polystoma* ocorre durante a fase de girino.

Este estudo corresponde ao segundo registro de *Polystoma* em anuros *T. typhoni* (= *Phrynohyas venulosa*, Combes & Laurent, 1979) e o primeiro registro neste hospedeiro para o Brasil e para a Ilha do Marajó - PA.

Tabela 2 - Análise comparativa da morfologia e morfometria das espécies do gênero *Polystoma* relatados parasitando anfíbios no Brasil, e que mais se assemelham a espécie estudada no presente estudo.

Espécie Referência	<i>Polystoma sp.</i>	<i>Polystoma napoensis</i>		<i>Polystoma cuvieri</i>
	Presente estudo	Vaucher, (1987)	Vaucher, (1987)	Vaucher (1990)
Hospedeiro	<i>Trachycephalus tiphonius</i>	<i>Osteocephalus taurinis</i>	<i>Osteocephalus leprieurii</i>	<i>Physalaemus cuvieri</i>
Localidade	Breves – PA, BR	Napo - Equador	Napo – Equador	Concepción - Paraguai
Comprimento total (mm)	1.44 – 4.65 (2.69)	3.12 – 3.47	2.86	2.4 – 4.23 (3.6)
Largura (mm)	0.56 – 1.78 (1.00)	1.29 – 1.49	1.2 – 1.39	0.9 – 1.7 (1.4)
Comprimento do haptor (mm)	0.36 – 0.78 (0.56)	1.0 – 1.22	0.96 – 1.02	0.9 – 1.4 (1.3)
Largura do haptor (mm)	0.63 – 1.63 (1.05)	1.2 – 1.41	1.19 – 1.24	1.2 – 2.1 (1.8)
Diâmetro da ventosa oral (µm)	76 – 191 (111)	303 – 360 x 205 - 262	237 – 270 x 196 – 205	205 - 327 (270)
Comprimento da faringe (µm)	120 – 279 (199)	186 – 209	176	131 – 164 (214)
Largura da faringe (µm)	121 – 224 (152)	139 – 153	106 – 139	205 – 245 (183)
Comprimento da ventosa anterior (µm)	176 – 513 (315)	*	*	319 – 434 (393)
Largura da ventosa anterior (µm)	189 - 535 (320)	357 – 403 ø	327 – 372 ø	303 – 409 (375)
Comprimento da ventosa intermediária (µm)	181 – 459 (299)	*	*	295 – 417 (377)
Largura da ventosa intermediária (µm)	193 – 454 (300)	311 – 360 ø	291 – 335 ø	295 – 417 (377)
Comprimento da ventosa posterior (µm)	205 – 474 (310)	*	*	295 – 408 (370)
Largura da ventosa posterior (µm)	195 – 473 (280)	286 – 335 ø	274 – 327 ø	295 – 408 (370)
Comprimento dos ovos (µm)	62 – 81 (72)	82 – 102	82 – 98	165
Largura dos ovos µm	60 – 57 (60)	180 – 210	164	90 – 106
Hamuli (µm)		286 - 368	286 – 344	278 – 413 (360)

6 CONCLUSÃO

O presente estudo contribui com o a ampliação do conhecimento acerca dos helmintos *Polystoma* parasitos de anfíbios, além de relatar nova distribuição geográfica desse parasito monogenético em *T. typhoni*. Análises mais abrangentes, entretanto, devem ser conduzidas para a determinação em nível mais específico de *Polystoma* sp. parasito de *T. typhoni*.

Este estudo, ainda, constitui o sétimo registro de helmintos do gênero *Polystoma* parasitando anfíbios anuros no Brasil, e o segundo para a Amazônia Brasileira. Constitui também um material para consulta a futuros estudiosos já que aqui foi reunida através do *checklist* os últimos estudos sobre *Polystoma* em anuros da América do Sul.

Estudos como esse reforçam a importância de entender a natureza de parasitos helmintos em hospedeiros anuros, ou seja, de se conhecer as espécies da infracomunidade de hospedeiros com alta susceptibilidade as mudanças climáticas ambientais. Entende-se que se o hospedeiro desaparecer, as espécies de sua infracomunidade desaparecerão junto. E desta forma essa biodiversidade pouco evidente ficará desconhecida para sempre.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, Aline. **Helmintofauna associativa à anfíbios da Ilha Anchieta, litoral norte do estado de São Paulo, Brasil**. 2013. 82 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2013.

AGUIAR, A.; TOLEDO, G. M.; ANJOS, L. A.; SILVA, R. J. Helminth parasite communities of two *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 (Anura: Leiuperidae) populations under different conditions of habitat integrity in the Atlantic Rain Forest of Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 75. 4. 963 – 968. 2015.

AHO, J.M. Helminthes communities of amphibians and reptiles: comparative approaches to understanding patterns and process. **Parasite Communities: Patterns and Processes**. London: Chapman and Hall, p. 157-195. 1990

AMATO, J.F.R.; WALTER, A.B.; AMATO, S.B. **Protocolo para Laboratório. Coleta e Processamento de Parasitas do Pescado**. 1st ed. Imprensa Universitária, UFRRJ, Rio de Janeiro, Brasil, 1991. 81p.

ANDREASSA, Roberta Pinheiro. **Helmintofauna associada a uma guilda de anfíbios do pantanal Sul -Matogrossense**. 2011. 1 CD-ROM. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2011.

ANJOS, L. A. Herpetoparasitology in Brazil: what we know about endoparasites, how much we still do not know. **Neotropical Helminthology**, 5, 107 - 111. 2011.

BENTZ, S.; LEROY, S.; DUPREEZ, G.; MARIAUX, J.; VAUCHER, C.; VERNEAU, O. Origin and evolution of African Polystoma (Monogenea: Polystomatidae) 205 assessed by molecular methods. **International Journal for Parasitology**, 31: 697-705. 2001.

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**, 83 575 – 583. 1997.

BURSEY, C. R. & BROOKS, D. R. "Nematode Parasites of 41 Anuran Species from the Area de Conservación Guanacaste, Costa Rica," **Comparative Parasitology**, 77. 2, 221-231, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1654/4418.1>>. Acesso em: 12 ago. 2019

CABALLERO, C & CERECERO, E.C. A new species of Polystoma (Trematoda: Polystomatidae) parasite of the urinary bladder of *Hyla baudinii*. In the **Institute of Biology in Mexico** 12(2): 615–621. 1941.

CAMPIÃO, K. M.; SILVA, I. C. O.; DALAZEN, G. T.; PAIVA, F.; TAVARES, L. E. R. Helminth Parasites of 11 Anuran Species from the Pantanal Wetland, Brazil. **Comparative Parasitology**, 83, 1. 92-100. 2016

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**, 3843,1-93, 2014.

CAMPIÃO, K. M.; SILVA, R. J.; FERREIRA, V. L. Helminth parasites of *Leptodactylus podicipinus* (Anura: Leptodactylidae) from south-eastern Pantanal, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Parasitology**, 83, 345-349. 2009.

CINTRA, C. E. D.; SILVA, H. L. R.; SILVA JR, N. J.; GARCIA, O. C. A.; ZAHER, H. A new species of *Trachycephalus* (Amphibia, Anura, Hylidae) from the State of Goiás, Brazil. Magnolia Press. **Zootaxa**, 1975: 58–68. 2009.

CLIMATE-DATA.ORG. **Clima**: Breves. Disponível *online* em: <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/para/breves-43947>. [Acesso em: 08/01/2018].

COMBES, C. & LAURENT, R.F. *Polystoma borellii* n. sp. (Monogenea, Leptodactylidae) parasite de *Pleuroderma borellii* Peracca (Anura, Leptodactylidae) em Republique Argentine. **Acta Zoológica Lilloana**, 31, 57-64, 1974.

COMBES, C. & LAURENT, R.F. Deux nouveaux *Polystomatidae* (Monogenea) de Republique Argentine. **Acta Zoológica Lilloana**, 33, 85-91. 1978.

COMBES, C. & LAURENT, R.F. Les monogènes *Polystomatidae* de Republique Argentine: Description de deux nouvelles espèces et essai de synthèse. **Revista Ibérica de Parasitologia**, 79. 545-557. 1979.

DALAZEN, G.T. Helminthos parasitos de *Trachycephalus typhoni* (Hylidae) do Pantanal da Necholândia, Mato Grosso do Sul, Brasil. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE HERPETOLOGIA, 6., 2013. **Anais...** UFBA: Salvador, 2013.

DRAGHI, R.; LUNASCHI, L. I.; DRAGO, F. B. First report of helminth parasitizing *Trachycephalus typhoni* (Anura: Hylidae) from northeastern Argentina. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, 86 – 1. p. 255 – 261. 2015.

DIAS, O.T. **Composição e estrutura de comunidades de metazoários endoparasitas em *Leptodactylus chaquensis* Ceil, 1950 e *Leptodactylus fuscus* (Snheider 1799) (Anura; Leptodactylidae) no Pantanal Mato Grosso do Sul, Brasil.** 2010. 89 f. Dissertação

(Mestrado em Ecologia e Conservação). Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. 2010.

DYER W.G. Trematodes of some Ecuadorian amphibians. **Transactions of the Illinois Academy of Science**, 79: 137 – 140. 1986.

DUELLMAN, W. E. & HOOGMOED, M. S. Some hylid frogs from the Guiana Highlands, northeastern South America: New species, distributional records, and a generic reallocation. **Occasional Papers of the Museum of Natural History University of Kansas**, 147: 1-21. 1992.

EIRAS J.C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: CLICHETEC. 2010. 333p.

FROST, D. R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference**. Version 6.0 Disponível em: <<https://cites.org/sites/default/files/eng/com/ac/29/E-AC29-35-A3.pdf>> Acesso em 27/11/2018.

FROST, D.R. **Amphibian Species of the World: An Online Reference**. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, USA. Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>>. Acesso em: 04 nov. 2019.

GARDNER, S. L.; FISHER, R. N.; BARRY, S. J. **Collecting and preserving parasites during reptile biodiversity surveys**. 2012. Faculty Publications from the Harold W. Manter Laboratory of Parasitology. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/parasitologyfacpubs/738>>. Acesso em: 02/01/2019.

GOELDI, E. A Description of *Hyla resinificatrix* GOELDI, a new Amazonia treefrog peculiar for its breeding habits. **Proc. Zool. Soc. London**, 135 – 190. 1907.

GORDO, M.; TOLEDO, L. F.; SUÁREZ, P.; RIBEIRO, R. A. K.; ÁVILA, R. W.; MORAIS, D. H.; NUNES, I. A new species of milk frog of the genus *Trachycephalus* Tschudi (Anura, Hylidae) from the Amazonian rainforest. **Herpetologica**, 69: 466–479. 2013:

GOLDBERG, S. R.; BURSEY, C. R. Helminths from fifteen species of frogs (Anura, Hylidae) from Costa Rica. *Phyllomedusa*: **Journal of Herpetology**, 7, 1, 24-33. 2008

HENSEL, R.: Contribuições para o conhecimento dos vertebrados do Sul do Brasil. **Museu de História de natural**, Berlim, 33: 120–162. 1867

HOLMES, R.M.; BOCCHIGLIERI, A.; ARAÚJO, F. R.; SILVA, R. J. New records of endoparasites infecting *Hypsiboas albopunctatus* (Anura: Hylidae) in a savanna area in Brasília, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 621-623. 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Brasil/Pará/Breves**, 2010. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pa/breves/panorama?>>. Acesso em: 08/01/2019.

LINS, A. G. S. **Helmintofauna associada a *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) em regiões do Cerrado e Caatinga no Brasil**. 2016. 45 f. Dissertação (Mestrado e Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu – SP, 2016

LUQUE, J. F.; MARTINS, A. N.; TAVARES, L. E. R. Community structure of metazoan parasites of the yellow Cururu toad, *Bufo ictericus* (Anura, Bufonidae) from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Parasitologica**, 50 (3), 215-220. 2005.

MARCOGLIESE, D.J. Parasites: small players with crucial roles in the ecological theatre. **Ecohealth**, 1, 151–164. 2004.

MORAIS, D.H. **Aspectos ecológicos do parasitismo de anfíbios Leptodactylídeos (Anura) no Estado do Mato Grosso, Brasil**. 2013. 117f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu–SP. 2013

PARK, J.K.; KIM, K. H.; KANG, S.; KIM, S. A common origin of complex life cycles in parasitic flatworms: evidence from the complete mitochondrial genome of *Microcotyle sebastis* (Monogenea: Platyhelminthes). **BMC Evolutionary Biology**, 7: 11. 2007.

PETERS, W.C.H. Über Flederthiere *Pteropus Gouldii*, *Rhinolophus Deckenii*, *Vespertilio lobipes*, *Vesperugo Temminckii* und Amphibien *Hypsilurus Godeffroyi*, *Lygosoma scutatatum*, *Stenostoma narirostre*, *Onychocephalus unguirostris*, *Ahaetulla polylepis*, *Pseudechis scutellatus*, *Hoplobatrachus Reinhardtii*, *Hyla coriacea*. **Monatsberichte der Königlich Preussischen Akademie der Wissenschaften** zu Berlin, 1867: 703 [703–712].

PINHÃO, R.; WUNDERLICH, A. C.; ALVES DOS ANJOS, L.; DA SILVA, R. J. Helminths of toad *Rhinella icterica* (Bufonidae), from the municipality of Botucatu, São Paulo State, Brazil. **Neotropical entomology**, 3, 35-40

PRICE, E.W 1936 Trematódeos monogénéticos norte-americanos. **Boletim da Universidade George Washington**, 1936, 10–13. Resumos de teses de doutorado, 1934–1936

PORTELA, A. A. B. 2017. **Helmintofauna de anuros em campo nativo e área de cultivo do sul do Brasil**. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Santa Maria.

POULIN, R. & S. MORAND. 2004. **Parasite Biodiversity. Smithsonian Books, Washington Price PW (1980) Evolutionary Ecology of Parasites**. Princetown University

Press, Princetown, 237p

SANTOS, V.G.T. 2014. **Composição e estrutura da comunidade de helmintos de seis espécies de anuros no planalto das araucárias.** Tese de Doutorado. Campo Belo do Sul, Santa Catarina, Brasil. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, departamento de Zoologia.

SANTOS, V.G.T. & S.B. AMATO. 2012. *Polystoma cuvieri* (Monogenea, Polystomatidae) in *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leiuperidae) in southern Brazil. **Neotropical Helminthology** 6: 1-7.

SAVAGE, J. M. 2002. **The Amphibians and Reptiles of Costa Rica: a herpetofauna between two continents, between two seas.** University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA and London.

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. 2016. Brazilian amphibians: list of species. **Herpetologia Brasileira**, 5, 34-46. 2009.

SMYTH, J. D. **Introduction to animal parasitology:** with a chapter on immunoparasitology. 3rd. ed. 1917.

SMYTH, J.D. **Introduction to Animal Parasitology.** Cambridge University Press, 572. 1994.

SCHMIDT, G. & ROBERT'S, L. **Foundations of Parasitology.** Estados unidos, Editora: Mc Graw Hill. 8 edição, 2009

SENA, P. A. **Helmintofauna e dieta de Phyllomedusa nordestina Caramaschi, 2006 (Anura: Hylidae) em remanescentes florestais da região nordeste do Brasil.** 2016. Dissertação de mestrado – Universidade Federal Rural de Pernambuco – Recife. 2016.

SOBRINHO, P. M. M. **Composição e estrutura da comunidade de helmintos de anuros da família Hylidae e Phyllomedusidae em remanescente de Mata Atlântica.** 2017. 45 f Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2017

ROCHA, C. A. M.; PINHEIRO, R. H. S.; ALMEIDA, T. M. Platelminhos parasitos de peixes do gênero *Cichla* (Perciformes, Cichlidae) em bacias da América do Sul. **Acta Fisheries and Aquatic Resoucers**, 51-64. 2014.

ROSSELLINI, M. **Caracterização da Helmintofauna de *Helicops leopardinus* (Serpentes, Colubridae) do Pantanal Sul, Mato Grosso do Sul**. 2007. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP, 2007.

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Invertebrate Zoology: A Functional Evolutionary Approach**, Belmont, C.A. (USA): Thomson Brooks/Cole. 2004.

TAVARES, L. E. R.; CAMPIÃO, K. M.; COSTA-PEREIRA, R.; PAIVA, F. Helminhos endoparasitos de vertebrados silvestres em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia, Sér. Zool.** 107 (suppl), 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4766e20171106>>. Acesso em: 12 set. 2019.

TOLEDO, G. M. **Supracomunidade de helmintos associados a anfíbios: uso do hábitat, modo reprodutivo dos hospedeiros e distribuição espacial dos parasitas**. 2013. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

TOLEDO, Gislayne de Melo. **Estudo da biodiversidade dos helmintos parasitas de anuros procedentes de diferentes fitofisionomias no Peru**. 2017. 88 f. Tese (doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu, 2017.

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, 250-254. 2015.

VAUCHER, C. *Polystoma cuvieri* n. sp. (Monogenea: *Polystomatidae*), a parasite of the urinary bladder of the *Leptodactylidae* frog *Physalaemus cuvieri* in Paraguay. **The Journal of Parasitology**, 76. 501-504. 1990.

VAUCHER, C. Helminthes parasites du Paraguay XIII: *Polystoma diptychi* n. sp. (Monogenea: *Polystomatidae*), parasite de *Bufo diptychus* Cope (Amphibia: Bufonidae). **Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles**, 109: 5-10. 1986.

VAUCHER, C. Polystomes D'Équateur, avec description de deux nouvelles espèces. **Muséum D'Histoire Naturelle de Genève**, 110, 45-56. 1987.

VICENTE, J.J.; RODRIGUES, H. O.; GOMES, D. C.; PINTO, R. M. Nematoides do Brasil 2ª parte: nematoides de anfíbios. **Revista Brasileira de Zoologia**, 7, 549-626.

1990.

WILSON, Fabrício Marcel. **Sazonalidade climática e os efeitos na helmintofauna parasita de *Dendropsophus nanus* (Anura: Hylidae) da RPPN Foz do rio Aguapeí, município de Castilho, São Paulo**. 2015. 38 f. Dissertação (mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2015.

YAMAGUTI, S. **Systema Helminthum, IV. Monogenea and Aspidocotylea**. New York: Interscience Publication Inc., 1963

ZANK, C.; ANÉS, A.; COLOMBO, P. & BORGES-MARTINS, M. Anfíbios. In: **Habitantes da Estação Ambiental Braskem: 25 anos de pesquisa**, Chapter: Anfíbios, Braskem e Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, p.160-178. 2014.

ZENKLUSEN, M.C.C.; LAJMANOVICH, R. C.; PELTZER, P. M.; ATTADEMO, A. M.; BIANCUCCI, G. S. F.; BASSO, A. Primeros registros de endoparásitos en cinco especies de anfibios anuros del litoral argentino. **Cuadernos herpetologia**. San Salvador de Jujuy, 23, 1. 2009. Disponível em:
<http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S185257682009000100004&lng=es&nrm=iso>. Acesso: 13 de ago. 2019.

ANEXOS



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	031.625.602-70	Brasileira
5	Yran Rodrigo Dias Santos	Colaborador	040.737.042-06	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 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 – 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: (Processed for) 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: (Processed for) Fígado (Liver) [] Fezes (Feaces) [] Sangue (Blood) [] Ecto's [] Endo's []	Anotações (notes):
Espécie/Hospedeiro (Species/host):	