

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

ANÁLISE MOLECULAR E MORFOMETRIA DE *Cephalobaena tetrapoda* HEYMONS, 1922: IMPLICAÇÕES PARA A TAXONOMIA E FILOGENIA DOS PENTASTOMIDA

Hiasmim Chaves Brandão¹, Prof. Dr Waltécio de Oliveira Almeida²

Resumo: Pentastomida compreende um táxon de animais parasitas que infestam o trato respiratório de vertebrados; possuem uma mistura de características de anelídeos e artrópodes. Por esse motivo, as relações filogenéticas dos pentastomídeos têm sido controversas nas propostas de sua filogenia. Possui cerca de 144 espécies, sendo oito delas fósseis marinhos do Cambriano. Das 136 espécies atuais de pentastomídeos, apenas três pertencentes ao gênero Reighardia possuem ciclo de vida monoxênico e infectam as vias respiratórias de aves. As demais espécies possuem ciclo de vida heteroxênico infectando, quando em hospedeiros intermediários cavidades celomáticas de invertebrados, brânquias de peixes e músculos de mamíferos herbívoros, e quando em seus hospedeiros definitivos, o trato respiratório dos vertebrados (anfíbios, répteis e mamíferos carnívoros) (CHRISTOFFERSEN & DE ASSIS, 2013). Cephalobaenidae é uma família monotípica de Pentastomida. A única espécie válida descrita nesse grupo taxonômico é *Cephalobaena tetrapoda* Heymons, 1922. Por se tratar do grupo mais basal dos Pentastomida, sua morfologia ímpar é a que guarda mais aspectos simplesiomórficos, cujas diferenças das modificações sinapomórficas posteriores é marcante em toda a história evolutiva dos Pentastomida (ALMEIDA & CRISTOFFERSEN, 1999; CHRISTOFFERSEN & DE ASSIS, 2013). O projeto em andamento visa contribuir para o conhecimento da biologia e epidemiologia de parasitas de animais silvestres, podendo ser de grande ajuda para a preservação da biodiversidade desses animais. Além de favorecer a análise morfométrica dos espécimes de *Cephalobaena tetrapoda*, que por sua vez é pouco conhecida e investigada; podendo assim comparar e quantificar a plasticidade morfológica dos parasitos, demonstrando sua capacidade de alterar a sua fisiologia e morfologia de acordo com as condições ambientais e possibilitará a realização de comparação das sequências de DNA em espécimes de *C. tetrapoda* encontrados em diferentes hospedeiros e ambientes coletados (caatinga e mata húmida) a fim de determinar semelhanças e divergências. A realização da pesquisa será dividida em três partes, a coleta e análise

¹ Universidade Regional do Cariri, email: hiasmim.chaves@urca.br

² Universidade Regional do Cariri, email: waltecio.almeida@urca.br

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

molecular de espécie, onde, para a obtenção de material para análise molecular de espécimes de *C. tetrapoda*, repetiremos os pontos de coleta realizados por ALMEIDA et al. (2006a) (serpentes da espécie *L. lineatus* em vegetação de Cerrado da Floresta Nacional do Araripe, 07°16'S; 39°26'W e Mata Úmida de Altitude da Área de Proteção Ambiental, 07°13'S; 39°38'W, Crato-CE), ALMEIDA et al. (2008b) (serpentes das espécies *P. nattereri* e *O. aeneus* na vegetação de Caatinga da Estação Ecológica do Seridó, 6°78'S; 39°53'W, Serra Negra do Norte-RN), e OLIVEIRA et al. (2015) (serpente da espécie *B. erythromelas* na Caatinga do Sítio Pedra Preta, Farias Brito-CE). Para a coleta de serpentes serão utilizadas armadilhas de queda (“pit-fall traps”) seguindo modelo padrão descrito por AURICCHIO E SALOMÃO (2002). De forma complementar, serão realizadas coletas ativas vasculhando micro-ambientes propícios à ocorrência desses animais (troncos caídos, folhiço, buracos no solo). Todas serpentes capturadas serão sexadas, pesadas com uma balança de precisão (0.01g) e medidos quanto ao Comprimento Rostro-Cloacal (CRC) e comprimento Caudal (CC) com um paquímetro digital (0.01). Após isso, serão sacrificadas, com dose letal de Lidocaina a 2%. Em campo, com auxílio de lupas, será realizada a dissecação do trato respiratório, o qual será armazenado em etanol PA (absoluto). Os espécimes de serpentes então serão fixados e conservados em álcool 70% e tombados na Coleção Zoológica da Universidade Regional do Cariri e da Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Ceará. No laboratório, com auxílio de microscópios estereoscópios os tratos respiratórios serão analisados para a ocorrência de parasitas. Os espécimes de pentastomídeos coletados serão identificados com auxílio de Microscópio Axio Imager M2 Zeiss. De cada amostra serão selecionados três espécimes para extração e análise de DNA, os demais serão montados em lâminas permanentes com a utilização de meio Hoyer, devidamente etiquetados, tombados na Coleção Zoológica da Universidade Regional do Cariri (LZ URCA) e utilizados nas medições morfométricas. Os espécimes selecionados para análise de DNA, terão separados e utilizados apenas seus cefalotóraxs, para evitar contaminação com o sangue do hospedeiro possivelmente presente nos intestinos dos mesmos. Posteriormente o tecido dos cefalotóraxs serão colocados em eppendorfs, adicionados 410µL de buffer de extração, 80µL de SDS 10% e 1 µL de proteinase K. A amplificação do Citocromo Oxidase subunidade 1 (Cox 1) será realizada por meio do par de primer LCO1490 (5'-ggtcaacaaatcataaagatattgg-3')/ HCO2189 (5'-taaacttcagggtgaccaaataatca- 3'). As condições de amplificação incluirão um

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

início de desnaturação com temperatura de 95°C por 3 minutos, seguidos por 40 ciclos de 95°C por 60 segundos, a temperatura de anelamento fseá de 55°C por 60 segundos, 72°C por 105 segundos, e a extensão final de 72°C por 7 minutos, seguindo o procedimento descrito por KELEHEAR et al (2011). A segunda parte é a morfometria dos parasitas, onde, as medidas dos espécimes serão realizadas com o emprego de Microscópio Axio Imager M2 Zeiss equipado com analisador de imagens. O comprimento do corpo será medido, mas esse parâmetro é variável com coleta, fixação e montagem das lâminas. As principais características a serem obtidas são tamanhos corporais e as medidas dos ganchos fixadores AB (comprimento da lâmina) BC (comprimento total). Além dos espécimes coletados, serão utilizados todos os espécimes de *C. tetrapoda* tombados na Coleção Parasitológica do Laboratório de Zoologia da Universidade Regional do Cariri (LZ-URCA 0023, 0024, 0025, 0026, 0027, 0028, 0043-0044; 0157-0167, 0225-0230) e na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC 10316, 10335, 10337, 29190, 29391). E por fim, as análises estatísticas, em que a prevalência (número de hospedeiros infectados com um ou mais indivíduos de uma particular espécie de parasito dividido pelo número de hospedeiros examinados), intensidade média (número total de parasitos por hospedeiro dividido pelo número de indivíduos infectados da espécie de hospedeiro na amostra) e abundância média (número total de indivíduos de uma particular espécie de parasito em uma amostra de uma particular espécie de hospedeiro dividido pelo número total de hospedeiros examinados) serão calculados de acordo com BUSH et al. (1997, 2001). Distintos métodos estatísticos serão utilizados para a análise de dados conforme os objetivos e desenho amostral dos estudos relacionados a este projeto. Todos os testes serão realizados com o emprego do programa STATISTICA v. 6.0. Dessa forma, os resultados esperados é a obtenção de informações sobre a biologia dos pentastomídeos em serpentes do semi-árido; a formação de uma coleção de espécimes representativos dos Pentastomida no Brasil; a criação de um banco de dados eletrônico com todas as informações obtidas sobre os padrões de infecção. Os resultados podem também contribuir em futuros planos de conservação e manejo de répteis do semi-árido; para a devida manutenção sanitária de animais vertebrados em serpentários, biotérios e zoológicos; compreensão da história evolutiva e ecológica das interrelações parasito-hospedeiros. Portanto, o projeto em estudo contribui de diversas formas para a pesquisa científica, adquirindo informações promissoras sobre a biologia dos pentastomídeos do semi-árido, que por sua vez terá,

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

possivelmente, um papel importante na contribuição em futuros manejos de répteis do semi-árido, para a devida manutenção sanitária de animais vertebrados em serpentários, biotérios e zoológicos. Além da criação de bancos de dados e coleção de espécimes dos Pentastomida do Brasil, a partir dos dados e espécimes coletados ao desenvolver a pesquisa.

Palavras-chave: Pentastomida. Endoparasitas. Cephalobaenidae.

Referências

ALMEIDA, W.O.; CHRISTOFFERSEN, M.L. A cladistic approach to relationships in Pentastomida. **The Journal of Parasitology**, 1999, v. 85, p. 695-704.

ALMEIDA, W.O.; BRITO, S.V.; FERREIRA, F.S.; CHRISTOFFERSEN, M.L. First record of *Cephalobaena tetrapoda* (Pentastomida: Cephalobaenidae) as a parasite on *Liophis lineatus* (Ophidia: Colubridae) in northeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 2006a, v. 66, p. 559-564.

ALMEIDA, W.O.; FERREIRA, F.S.; BRITO, S.V.; CHRISTOFFERSEN, M.L. *Raillietiella gigliolii* (Pentastomida) infecting *Amphisbaena alba* (Squamata, Amphisbaenidae): a first record for northeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 2006b, v. 66, p. 1137-1139.

ALMEIDA, W.O.; VASCONCELLOS, A.; FREIRE, E.M.X.; LOPES, S.G. Prevalence and intensity of pentastomid infection in two species of snakes from Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 2007, v. 67, p. 759-763.

ALMEIDA, W.O.; CHRISTOFFERSEN, M.L.; AMORIM, D.S.; ELOY, E.C.C.. Morphological support for the phylogenetic positioning of the Pentastomida and related fossils. **Biotemas**, 2008a, v. 21, p. 81-90.

ALMEIDA, W.O.; FERREIRA, F.S.; GUARNIERI, M.C.; BRITO, S.V., *Porocephalus* species (Pentastomida) infecting *Boa constrictor* (Boidae) and *Lachesis muta* (Viperidae) in northeastern Brazil. **Biotemas**, 2008b, v. 21, p. 165-168.

ALMEIDA, W.O.; COSTA, T.B.G.; FREIRE, E.M.X.; VASCONCELLOS, A., Pentastomid infection in *Philodryas nattereri* Steindachner, 1870 and *Oxybelis*

**VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA
XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA DA URCA**

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

aeneus (Wagler, 1824) (Squamata: Colubridae) in a caatinga of Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 2008c, v. 68, p. 201-205.

ALMEIDA, W.O.; FREIRE, E.M.X.; LOPES, S.G., A new species of Pentastomida infecting *Tropidurus hispidus* (Squamata: Tropiduridae) from caatinga in Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 2008d, v. 68, p. 207-211

ALMEIDA, W.O.; SANTANA, G.G.; VIERIA, W.L.S.; WANDERLEY, I.; FREIRE, E.M.X.; VASCONCELLOS, A. Pentastomid, *Raillietiella mottae*, infecting lizards in an area of Caatinga, Northeast, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 2008e, v., 68, p. 427- 431.

ALMEIDA, W.O.; SANTANA, G.G.; VIERIA, W.L.S.; WANDERLEY, I. Infection rates of pentastomids on lizards in urban habitats from Brazilian Northeast. **Brazilian Journal of Biology**, 2008f, v., 68, p. 885-888.

ALMEIDA, W.O.; SILVA-SOUZA, A.T.; SALES, D.L. Parasitism of *Phalloceros harpagos* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) by *Sebekia oxycephala* (Pentastomida: Sebekidae) in the headwaters of the Cambé River, Paraná State, Brazil. **Brazilian**

AURICCHIO, P.; SALOMÃO, M.G. (ORGS.). **Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos**. Instituto Pau Brasil de História Natural, São Paulo, 2002, 348p.

REGO, A.A.; EIRAS, J. Identificação das larvas de *Sebekia* e *Leiperia* (Pentastomida). *Histopatologia em peixes de rios*. **Revista Brasileira de Biologia**, 1989, v. 49, p. 591-596.

MOTTA, C.S.; GOMES, D.C. Sobre um novo gênero e uma nova espécie de Cephalobaenidae (Linguatulida, Cephalobaeniformia). **Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**, 1968b, v. 12, p. 7-9.