

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024

Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"



Raillietiella mottae ALMEIDA et al., 2008 (PENTASTOMIDA) PARASITA DE LAGARTOS: ANÁLISE MOLECULAR, MORFOMETRIA E VARIAÇÃO ENTRE HOSPEDEIROS

Romário Matheus Conceição de Oliveira¹, João Eudes Lemos de Barros², Carlos Vinicius Barros Oliveira³, Rosiane Gonçalves Da Silva⁴, Joyce da Cunha Xavier⁵, Stefania Macena de Oliveira⁶, Leonardo Moreira Louzada⁷, Diêgo Alves Teles⁸, Waltécio de Oliveira Almeida⁹

Parasitas são reguladores naturais das populações de seus hospedeiros, modificam comportamentos, dietas e até padrões morfológicos. Pentastomida compreende um táxon de animais parasitas que infectam o trato respiratório de vertebrados. São conhecidas cerca de 131 espécies classificadas em sete famílias recentes e quatro grupos de fósseis do Cambriano Médio. A maioria dos trabalhos realizados foi com répteis, mas espécies de anfíbios, aves e mamíferos também são seus hospedeiros definitivos. Predominantemente, os pentastomídeos possuem ciclos de vida heteroxênicos com insetos, anfíbios, répteis, mamíferos e peixes utilizados como hospedeiros intermediários. Todas as espécies de pentastomídeos estudadas são generalistas, utilizam vários hospedeiros definitivos. Três espécies de pentastomídeos parasitam todos as espécies de lagartos estudadas *Raillietiella freitasi*, *R. frenatus* Ali, e *R. mottae*. Os caracteres chaves para descrição e identificação das espécies passaram ser a morfologia e medidas de estruturas quitinosas (ganchos, cadre bucal e espículas copulatórias). A separação de dois grupos de railietielídeos foi posta como Grupo I com ganchos de ponta aguda e Grupo II com ganchos posteriores de ponta romba. Sobre a biologia dos pentastomídeos, a hipótese comum é que 90% das espécies descritas possui especificidade por um hospedeiro. Os ciclos de vida sugeridos incluem a maioria das espécies de pentastomídeos como heteroxênicos e apenas cinco espécies monoxênicas. Os trabalhos realizados modificaram todo esse cenário: os caracteres usados na taxonomia são plásticos, variam de acordo com hospedeiro utilizado, ganchos variam todas as medidas e a forma de ponta aguda para romba; pentastomídeos devem ser

¹ Universidade Regional do Cariri, email: romario.matheus@urca.br

² Universidade Federal do Ceará, email: joao.eudeslemos@alu.ufc.br

³ Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ-PE, email: Viniciusbluesky@gmail.com

⁴ Universidade Regional do Cariri, email: rosianegoncalvesbio@gmail.com

⁵ Universidade Regional do Cariri, email: joyce.felixcx@gmail.com

⁶ Universidade Regional do Cariri, email: stefania.macena@urca.br

⁷ Universidade Regional do Cariri, email: leonardo.moreira@urca.br

⁸ Universidade Regional do Cariri, email: diegoateles@gmail.com

⁹ Universidade Regional do Cariri, email: waltecio.almeida@urca.br

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024

Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"



generalistas, com poucas exceções de especificidade por uma espécie de hospedeiro. Os dados moleculares confirmaram que uma única espécie, *R. frenatus*, possui plasticidade fenotípica, antes utilizada para justificar a existência de duas espécies, *R. frenatus* e *R. indica* Geddoelst. Ao estudar a infecção de lagartos na Caatinga, obtivemos resultados semelhantes. Os pentastomídeos (*R. mottae*) quando parasitas de lagartos geconídeos são comparativamente maiores e possuem ganchos com ponta romba, enquanto os encontrados em tropidurídeos são menores e possuem ganchos com ponta aguda. A análise molecular de diferentes espécimes coletadas nos lagartos, confirmou tratar-se de uma única espécie, *R. mottae*. Essa variação morfológica e unidade molecular não foi testada para outros ambientes além da caatinga. Estudos realizados demonstraram que *R. mottae* também parasita os lagartos *Hemidactylus mabouia* em ambientes urbanos, *Micrablepharus maximiliani* na restinga, *Mabuya arajara* Rebouças-Spikes, em mata úmida de altitude e *Ameiva ameiva* em ambiente de cerrado da Chapada do Araripe. A comparação da morfometria e identidade molecular de todas essas ocorrências são necessárias para compreendermos a biologia e ecologia de *R. mottae*. Além do mais, esses dados deverão nos ajudar a entender aspectos da epidemiologia dessa intrigante espécie de Pentastomida, o que poderá ser um modelo para estudos com novas espécies de parasitas de animais silvestres. Objetivava-se contribuir para o conhecimento da biologia e epidemiologia de parasitas de animais silvestres, realizar a análise morfométrica dos espécimes de *R. mottae* dos hospedeiros *A. ameiva*, *H. mabouia*, *Mabuya arajara* e *Micrablepharus maximiliani* para comparar e quantificar a plasticidade morfológica dos parasitas, realizar análises moleculares em espécimes de *R. mottae* encontrados em diferentes hospedeiros e ambientes coletados (caatinga, mata húmida de altitude, cerrado, restinga, Mata Atlântica e ambientes urbanos) a fim de determinar semelhanças e divergências, investigar se as diferenças morfométricas de *R. mottae* possuem alguma influência no grau de infecção detectados e investigar se peso, sexo e maturidade sexual dos hospedeiros podem influenciar na plasticidade morfológica dos pentastomídeos. Para obtenção de material para análise molecular de espécimes de *R. mottae*, repetiremos os pontos de coleta (lagartos *H. mabouia* em ambiente urbano de João Pessoa – PB, 7°09'S 34°47'W), (lagartos *H. mabouia* em ambientes urbanos de Barbalha – CE, 07°20'S 39°18'W), (lagartos *Micrablepharus maximiliani* em restinga no município de Mataraca – PB, 6°29'S 34°56'W), (lagartos *Mabuya arajara* em mata úmida de altitude na Chapada do Araripe – CE, 07°15'S 39°28'W), (lagartos *H. mabouia* em ambientes urbanos do município de Crato – CE, 07°14'S 39°24'W) e (lagartos

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024

Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"



A. ameiva em vegetação de cerrado no platô da Chapada do Araripe – CE, 7°21'S 39°26'W). Para a coleta de lagartos em ambientes naturais serão utilizadas armadilhas de queda ("pit-fall traps"). De forma complementar, serão realizadas coletas ativas vasculhando micro-ambientes propícios à ocorrência desses animais (troncos caídos, folhicho, buracos no solo). Na coleta de lagartos em ambientes urbanos, serão utilizados laços, ou manualmente. Todos lagartos capturados serão sexados, pesados 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 sacrificados, 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 lagartos então serão fixados e conservados em álcool 70% e tombados na Coleção Herpetológica da Universidade Regional do Cariri. 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 cefalotórax, para evitar contaminação com o sangue do hospedeiro possivelmente presente no intestinos dos mesmos. Posteriormente o tecido dos cefalotórax 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' - ggcaacaaatcataaagatattgg-3')/ HCO2189 (5' - taaacttcagggtgaccaaataatca-3'). As condições de amplificação incluirão um 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 será 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). Além dos espécimes coletados, serão utilizados todos os espécimes de *R. mottae* tombados na Coleção Parasitológica do Laboratório de Zoologia da URCA: LZ-URCA. As medidas serão realizadas com o emprego de Microscópio Axio Imager M2 Zeiss equipado com analisador de imagens (Carl Zeiss Microscopy GmbH Königsallee 9-21). O comprimento do corpo será medido, mas esse parâmetro é variável com coleta, fixação e montagem das lâminas. As principais

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024

Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"



características a serem obtidas são as das estruturas esclerotizadas, (1) largura do cadre bucal; (2) medidas AB (comprimento da âmina) BC (comprimento total) (Fig. 3); (3) comprimento das espículas copulatórias (EC). Estatísticas. 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. 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. Resultados esperado são, obter informações sobre a biologia dos pentastomídeos em lagartos do semi-árido, formação de uma coleção de espécimes representativos da biorregião da Chapada do Araripe e criação de um banco de dados eletrônico com todas as informações obtidas sobre os padrões de infecção. Os resultados a serem obtidos são importantes para a compreensão da epidemiologia de pentastomídeos parasitas de lagartos. As análises de DNA demonstraram que uma, ou mais espécie críptica (população divergências moleculares) estão envolvidas no parasitismo pulmonar dos lagartos. Esses resultados são muito importantes para reconhecermos o estresse e doenças que os lagartos estão sujeitos naturalmente; se as taxas de infecção são agravadas com a ação do ser humano (na comparação entre hospedeiros de ambientes naturais versus áreas urbanas); em futuros planos de conservação e manejo de répteis do semi-árido nordestino; para a devida manutenção sanitária de animais vertebrados em serpentários, biotérios e zoológicos; compreensão da história evolutiva e ecológica das interações parasita-hospedeiros.

Palavras-chave:

Pentastomida. Raillietiella. Parasita. Lagarto.

Agradecimentos:

cnpq, prpgp, urca