UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS- CAMPUS DE BOTUCATU

Parasitas de larvas e adultos de três espécies de anuros associados a poças temporárias e permanentes na Reserva Florestal Ducke, Amazônia Central.

Franciele Cristina de Souza

Botucatu

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS- CAMPUS DE BOTUCATU

Parasitas de larvas e adultos de três espécies de anuros associados a poças temporárias e permanentes na Reserva Florestal Ducke, Amazônia Central

Franciele Cristina de Souza

Orientador: Dr. Luciano Alves dos Anjos

Coorientador: Dr. José Celso de Oliveira Malta

Colaboradora: Msc. Camila Saraiva dos Anjos

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências – UNESP – Campus de Botucatu, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, Área de concentração: Zoologia.

Botucatu

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Souza, Franciele Cristina.
Parasitas de larvas e adultos de três espécies de anuros associados a poças temporárias e permanentes na Reserva Florestal Ducke, Amazônia Central / Franciele Cristina Souza. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Luciano Alves dos Anjos
Coorientador: José Celso de Oliveira Malta
Capes: 21302022

1. Helminto. 2. Anuro. 3. Girino - Parasito. 4. Sapo. 5. Amazônia.

Palavras-chave: Amazônia; Anura; Girinos; Hypsiboas; Parasitas.

Dedico aos meus pais, meus irmãos, e meus sobrinhos,

A Camila dos Anjos,

Por toda força, amor, e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Ana e Genival, por terem me criado e me ensinado os caminhos certos da vida, os valores, a educação e por todo o amor e carinho, meus irmãos Daniele, Gabriel, Luis, Laura, meus sobrinhos Ana Beatriz e Mateus, minhas primas Jô e Marcia, meus tios e tias de Manaus, por todo amor, risadas e momentos felizes juntos, vocês são uma parte muito grande e importante do meu ser, são minha fortaleza, amo muito vocês!

A minha amiga e parceira de trabalho Camila dos Anjos, que foi a grande responsável pela conclusão dessa etapa, me encorajou a sair de Manaus em busca do que eu realmente queria, quando todos me achavam maluca. Esta é sem dúvida a pessoa com quem mais aprendi, e aprendo muito todos os dias. Gratidão pela confiança, pela dedicação, pelos puxões de orelha, por segurar minha mão e me ensinar os caminhos da pesquisa e me mostrar o que realmente quero para a vida acadêmica, por não desistir quando eu estava fraca, por me reerguer todas as vezes que eu achava muito difícil estar longe de casa, e principalmente por todo o amor que me enviou durante esses dois anos. Gratidão!!

Ao meu Orientador Dr. Luciano dos Anjos, pela oportunidade, por acreditar em mim, por aceitar me orientar, pelos ensinamentos, e por abrir as portas de uma importante fase da minha carreira acadêmica.

Ao meu Co-orientador Dr. José Celso, pela confiança desde a graduação, pelos ensinamentos, por toda calma, paciência e por sua imensa humildade, sempre disposto a me ajudar, por financiar as coletas, por sempre disponibilizar todo o material e infraestrutura necessária a realização do projeto, minha eterna gratidão!!

A coordenação do Museu da Amazônia-MUSA, por facilitar as coletas na reserva.

A toda equipe do DISCER-INPA, e principalmente ao Rubenildo por autorizar as minhas coletas e sempre estar disposto a me ajudar na logística até a reserva.

Aos amigos dos laboratórios LPP e LECOP: Sr. Edilson, Fernando, Natália, Hellen, Gérman, Adria, Felipe, Eloáh, Vanessa, Murilo, Ottilie, Melody, e Jumma, por toda ajuda e troca de conhecimento no laboratório.

Aos meus queridos amigos Renan Leão, Daniele Perez, Michele, Edazina, Tia Edna, e Tia Báh, Mary, Dri, Elenice, Maria, Valter, Paula e Pedro, por deixarem minha vida mais viva, cheia de luz e amor.

Aos amigos que me ajudaram em coletas de campo, Renato, Beatriz, Dioney, e Rodrigo.

Aos Professores Marcelo Menin e Igor Kaefer pela troca de informação.

Ao Dr. JansenZuanon por sempre parar para escutar minhas ideias malucas e me encorajar a colocá-las em prática, me mostrando que o mundo da pesquisa é muito fantástico e prazeroso.

Ao Dr. Dráusio pelos ensinamentos no laboratório e pelos ensinamentos, sempre muito prestativo e atencioso.

A Isabel Muller, do laboratório de Parasitologia de Animais Silvestres-LAPAS por ter feito toda parte molecular do trabalho.

Ao Professor Alan de Melo e o Professor Hudson Alves do Laboratório de Biologia de Trematoda, da Universidade Federal de Minas Gerais, pela ajuda na identificação de parte do material.

Ao Martin, que surgiu ao final e deixou tudo mais bonito, por me aconselhar, e por todo carinho, amor e confiança.

Aos professores da pós-graduação Raoul Henry, Gilson Volpato,Virgínia, Célio Haddad, e Isabel Muller, pelos ensinamentos e por serem excelentes professores, muito obrigada!

A Fundação de Amparo á Pesquisa do Amazonas- FAPEAM, pela bolsa concedida.

“A alegria evita mil males e prolonga a vida’’.

William Shakespeare

SUMÁRIO

Título **Página**

Resumo..... 01
Abstract.....02
Introdução.....03
- Os hospedeiros.....05

Objetivos.....10
Material e métodos.....10
- Área de estudo.....10
- Amostragem.....11
- Necropsia dos hospedeiros.....16
- Coleta, preparação e fixação das espécies parasitas.....16

Análise dos dados.....19
Resultados.....21
- Dados morfométricos dos anuros.....21
- Parasitas dos girinos.....22
- Parasitas dos anuros adultos.....25
- Dados e classificação taxonômica dos grupos parasitas encontrados.....29

Discussão.....47
Considerações finais.....52
Referências Bibliográficas.....53
Anexo.....66

Resumo

O presente estudo analisou a fauna parasitária de três espécies de anuros desde a fase larval até a adulta, *Hypsiboas cinerascens*, *Hypsiboas geographicus* e *Rhinella marina* da Reserva Florestal Ducke, Amazônia Central. A fauna de parasitas de anuros da região é pouco conhecida, sendo a fase larval a menos estudada. Os dados analisados durante os dois anos de coleta demonstraram que espécies parasitas diferem nas duas fases de vida dos anfíbios anuros. Foram analisados um total de 224 girinos, e 38 indivíduos adultos, em três áreas de amostragem diferentes: poças temporárias, poça permanente, e uma lagoa da reserva. Um total de 827 parasitas foi encontradonosgirinos, e 3.534 nos adultos. Nas fases larvais foram encontrados nematoidespertencentes à espécie *Gyrinicola chabaudi*, metacercárias de trematódeos de Diplostomídeos e protozoários do gênero *Nyctotherus*. Nos adultos, a riqueza parasitária foi maior: nestes foram encontrados nematoides, trematódeos, acantocéfalos, carrapatos e larvas de Diptera. As fases larvais das espécies de anuros aqui estudados, representam novos registros de hospedeiros para o nematoide *Gyrinicola chabaudi*, ampliando o conhecimento de sua distribuição geográfica. Com os dados obtidos, podemos compreender que a riqueza entre as duas fases de desenvolvimento dos anuros são bem distintas. Durante o processo de metamorfose até a fase adulta o animal transporta grupos de parasitas, conectando-os entre o ambiente aquático e o ambiente terrestre. Este trabalho é o primeiro, até o momento, que descreve este tipo de interação na região, contribuindo assim com o aumento de registro de novas informações sobre estudos parasitológicos na Amazônia.

Abstract

The present study analyzed the parasitic fauna of three species of anurans from the larval to adult phase, *Hypsiboas cinerascens*, *Hypsiboas geographicus*, and *Rhinella marina* of the Ducke Forest Reserve, Central Amazonia. The anurans parasitic' fauna of the region is little known, being the larval stage less studied. The data analyzed during two years of collection showed that parasite species differ in two life stages of anuran amphibians.A total of 224 tadpoles, and 38 adult individuals, were analyzed in three different sampling areas, temporary pools, permanent pond, and one reserve pond. A total of 827 parasites were found in tadpoles, and 3,534 in adults. In the larval stages nematodes belonging to the species *Gyrinicola chabaudi*, metacercariae of trematodes of the family Diplostomidae, and protozoa of the genus *Nyctotherus* sp. In adults, parasite diversity was higher: in these were found nematodes, trematodes, acantocephalus, ticks, and larvae of Diptera. Larval phases of the anuran species studied here represent new host register for the *Gyrinicola chabaudi* nematode, increasing the knowledge of its geographical distribution.With obtained data we can understand that diversity and richness between the two stages of anuran development are very different. During the process of metamorphosis to adulthood the animal carries groups of parasites, connecting them between the aquatic environment and terrestrial environment. This work is the first, to date, which describes this type of interaction in the region, thus contributing to the increase in the registration of new information on parasitological studies in the Amazon.

Introdução

A região amazônica abriga uma alta diversidade biológica e variedade de ecossistemas, onde podemos encontrar as florestas de terra firme. Estas são caracterizadas por não serem inundadas pela cheia dos rios e por abrigarem cursos d'água, conhecidos localmente por igarapés (Wilbur, 1997). Estes apresentam o leito bem delimitado, pequena largura, profundidade variável, águas límpidas e uma flutuação temporária do nível da água, que proporciona a formação de poças temporárias nos baixios (Mendonça et al 2005). As relações que ocorrem no ambiente, como por exemplo, raízes de árvores marginais e caídas, morfologia do corpo d´água, composição e tipo de substrato, podem reter água e formar áreas de poças (Mendonça et al 2005; Hercoset al, 2009). Cada poça apresenta tamanho, profundidade e duração variável, tendo sua forma, e ordenação determinadas pelo clima e topografia da região (Wilbur, 1997, Belyea e Lancaster, 2002; Pazin, 2004).

Nas poças podemos encontrar diferentes espécies de anfíbios, peixes e invertebrados, que as usufruem durante seu ciclo de vida, para desenvolvimento, alimentação e/ou reprodução. Parte importante na biologia dos organismos que exploram estes locais, como os anfíbios anuros, demonstram que a seleção do habitat tem favorecido à rápida colonização e taxa de crescimento. Estes apresentam mecanismos flexíveis para terminar a fase aquática do seu ciclo de vida, equilibrando as oportunidades de crescimento com os riscos de mortalidade (Wilbur, 1997). Contudo, as poças também abrigam outro tipo de fauna: a parasitária. Acredita-se que estes parasitas utilizam e exploram o ambiente a procura de seu hospedeiro, com a finalidade de completar o seu ciclo biológico.

Ambientes que passam por constantes alterações podem causar mudanças na riqueza, composição da helmintofauna, bem como no modo de transmissão dos parasitos (Gibb e Hochuli, 2002, Laurance et al, 2002, McKenzie, 2007). Os igarapés de terra firme da Amazônia Central, não são sujeitos ao pulso de inundação, mas passam por eventos imprevisíveis de inundações locais, frequentes e de curta duração (Junk et al, 1989). Essas mudanças afetam a biota local, podendo ter um potencial efeito sobre a comunidade parasitária. Dessa forma, torna-se importante estudar as espécies parasitas presente nos grupos que utilizam o leito principal e poças adjacentes dos igarapés amazônicos, com o intuito de aumentar o conhecimento acerca destes organismos.

Dentre todos os grupos de vertebrados, os peixes são os mais estudados na parasitologia, seguido pelas aves, e mamíferos. Os anfíbios começaram a ser estudados cerca de um século atrás, principalmente os pertencentes à ordem Anura (González, 2009). A maior parte dos estudos sobre a fauna parasitária de anfíbios foi realizada no hemisfério norte e têm sido revisadas por Yamaguti (1961), Smyth e Smyth (1980), Aho (1990), Baker (1987) e Anderson (2000). Nas décadas iniciais do século XIX, naturalistas europeus conduziram os primeiros estudos investigando parasitas de anfíbios neotropicais (Travassos et al, 1969; Vicente et al, 1991). No Brasil, em 1917, o pesquisador Lauro Travassos foi o pioneiro nessa área, iniciando o primeiro estudo sobre os parasitas desses animais. A revisão mais recente de espécies parasitas de anfíbios da América do Sul foi feita por Campião et al (2014).

Hoff e colaboradores (1984) demonstram que, como todos os outros grupos, estes animais estão sujeitos a uma grande variedade de microrganismos parasitas sejam eles virais, bacterianos ou fúngicos. No entanto, outros organismos também são registrados parasitando anuros. Crustáceos como o *Argulus* (Branchiura), encontrados na cauda das larvas de *Lithobates heckscheri* (Wolfe et al., 2001), e em girinos no igarapé Barro Branco na Reserva Florestal Ducke, Manaus (Fonseca*et* al, 2009). Carrapatos pertencentes ao gênero *Amblyomma* Koch, 1844 são encontrados na pele de adultos terrestres (Smith et al., 2008). Os protozoários do gênero *Opalina* Purkinje & Valentin, 1835, *Entamoeba* Casagrandi & Barbagallo, 1895 e *Nyctotherus* Leidy, 1877 parasitam o sistema digestório de larvas e adultos, auxiliando na fermentação e digestão dos alimentos digeridos (Duellman e Trueb, 1986; Duszynski et al., 2007; Souza, 2013).

Dipteraé um grupo frequentemente citado como parasitas de anuros e de suas desovas. Menin e Giaretta (2003) registraram larvas de *Beckeriella niger* Williston, 1897 (Diptera: Ephydridae), parasitando os ninhos de espuma de *Physalaemus* cf. *fuscomaculatus* (Steindachner, 1864). Outra forma de associação registrada entre dipteros e anuros é a miíase, esta ocorre quando suas larvas invadem o tecido de um hospedeiro vertebrado ainda vivo, levando-os muitas vezes a morte (Zumpt, 1965; Tinsley, 1995; Spinelli et al., 2002).

O fato dos anfíbios apresentarem duas fases bem distintas durante seu desenvolvimento: uma fase de larva aquática e uma fase de jovem/adulto terrestre; além de mudanças morfológicas e comportamentais, o intercâmbio de parasitos entre os dois habitats ocupados é favorecido (Poulin e Morand, 1999; Goater e Goater, 2001). Como exemplo pode ser citado trabalhos como os de Hamann e Kehr (1998; 1999) e Hamann et

al., (2006). Estes demonstram um elevado número de espécies de trematódeos digenéticos em estágio larval (metacercárias) nos girinos, comprovando o papel destes como hospedeiros intermediários no ciclo de vida deste grupo de helminto.

Grande parte dos registros de parasitas em anuros sãoresultadosde pesquisas realizadas na fase adulta. Para os estágios larvais existem poucos registros no Brasil: *Gyrinicola chabaudi* Yamaguti, 1938 parasitando *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815), no estado de São Paulo, *Gyrinicola* sp.Yamaguti, 1938 parasitando *Hypsiboas geographicus* Spix, 1824 e *Osteocephalus taurinus* Steindachener 1862, na Reserva Florestal Ducke (RFD), Amazônia Central (Souza, 2013). Protozoários do gênero Trichodina, foram registrados parasitando girinos de *Rhinella* no Brasil, em 1975, Kattar encontrou *Trichodina steini* parasitando os girinos de *Rhinella icterica*. A espécie *Trichodina heterodentata*, foi registrada parasitando girinos de *Rhinella pombali* no estado de Minas gerais (Dias et al., 2009), e em girinos de *Lithobates castebeianus* no Setor de Ranicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, no estado de São Paulo (Alves et al., 2016).

Na RFD a anurofauna tem sido extensivamente estudada, com descobertas de novas espécies, além de outros estudos ecológicos (Lima et al., 2006). Há três anos, Souza e colaboradores iniciaram os estudos com os parasitos das larvas de *Hypsiboas geographicus* e *Osteocephalus taurinus,* onde até então, não havia registros. Das 50 espécies de anfíbios anuros conhecidas para a reserva, 21 depositam seus ovos diretamente na água (Lima et al., 2012). Dentre essas, escolhemos três espécies abundantes, o que permite uma facilidade para a localização, além de ocorrerem durante o ano inteiro nas áreas da reserva. Por esta razão, *Hypsiboas cinerascens, Hypsiboas geographicus* e *Rhinella marina*, foram utilizadas como modelo para esse estudo.

Os hospedeiros

Família: Hylidae Rafinesque, 1815

Hypsiboas cinerascens (Spix, 1824)

Hypsiboas cinerascens (Spix, 1824) (Figura 1A, B). Os machos apresentam comprimento de 31-35 mm e as fêmeas de 33-37 mm. Na fase adulta possuem o dorso verde-transparente, com pequenas manchas amarelas e diminutas manchas vermelhas. A

região anterior do ventre apresenta coloração azulada enquanto a posterior é verde amarelada (Lima et al., 2012). Suas larvas possuem o corpo transparente oliva castanho com cromatóforos brancos escalonados. A cauda é transparente com cromatóforos brancos escalonados (Hero, 1990). A espécie se reproduz o ano inteiro, com picos na estação chuvosa, entre os meses de novembro e maio (Lima et al., 2008). As fêmeas depositam cerca de 400 ovos em pequenas poças e após a eclosão, as larvas vivem escondidas e dispersas na liteira destas onde permanecem até o completo desenvolvimento. A espécie ocorre próximo a poças na floresta (Lima et al., 2012), podendo também ser encontrada em florestas de terra firme, e fragmentos florestais (Tsuji-Nishikido e Menin, 2011) na Amazônia Central. Sua distribuição geográfica abrange alguns países da América do Sul como o Brasil, Guiana Inglesa, Guiana Francesa, Colômbia, Venezuela, Equador e Bolívia (Frost, 2013).

A única espécie de parasita descrita para esta espécie é o nematoide *Brevimulticaecum* sp. (Bursey et al.,2001).

***Hypsiboas geographicus* (Spix, 1824)**

Hypsiboas geographicus (Spix, 1824) (Figura 2. C, D). Os machos desta espécie apresentam comprimento entre 42-60 mm, enquanto as fêmeas podem alcançar até 63 mm. A coloração do dorso é marrom alaranjada ou marrom, na partesuperior das pernas existem listras claras e escuras, e a coloração do ventre varia de amarelo-claro a alaranjada na parte posterior e branca na parte anterior. A íris é dourado-alaranjada e existe uma membrana de cor azul acima do olho (Lima et al., 2012). A reprodução ocorre durante todo o ano, onde eclodem larvas que possuem o corpo e cauda preta. As fêmeas depositam aproximadamente 2.500 pequenos ovos pretos na água de poças próximas a igarapés, ou remansos (Lima et al., 2012). Após eclosão as larvas permanecem na coluna d'água, formando grandes massas negras, os cardumes (Hero, 1990, Lima et al., 2008). A espécie é frequentemente encontrada no interior e na borda da floresta da reserva, próxima de igarapés e poças com renovação de água. Está distribuída em áreas tropicais dos países da América do Sul a leste dos Andes (Lima et al., 2012).

Para esta espécie foram registrados os seguintes parasitas: *Cosmocerca brasiliense* (Dyer e Altig, 1976), *Oswaldocruzia albareti* (Ben Slimane e Durette-Desset

1996), *Ophiotaenia chabaudi* (Ben Slimane e Durette-Desset, 1996), *O. ecuadorensis* (Dyer,1986), *O.olseni* (Dyer e Altig, 1977), *Gyrinicola* sp. (Souza, 2013).

Família Bufonidae Gray, 1825

Rhinella marina Linnaeus, 1758

Rhinella marina (Figura 3. E, F). Os machos medem entre 97-116 mm e as fêmeas entre 180-250 mm. O dorso é coberto por tubérculos, e a sua coloração tem um fundo com diferentes tonalidades de marrom com manchas negras. Glândulas paratoides bem desenvolvidas estão situadas atrás dos olhos (Lima et al., 2012). A superfície ventral é creme com diminutos pontos marrons com ou sem manchas acinzentadas (Lima et al., 2008). As larvas possuem na parte superior o corpo preto com cromatóforos brancos escalonados, e a parte inferior é preta com manchas cinza, sendo metade superior da cauda preta, e o músculo inferior da cauda transparente (Hero, 1990). Reproduzem-se o ano todo, depositando entre 4.000 e 10.000 ovos, na superfície d'água em extensos cordões gelatinosos (Lima et al., 2012). A espécie está distribuída desde o limite sul da Amazônia até o sul do Texas (Lima et al., 2012).

Para esta espécie foram registrados os seguintes parasitas: *Rhabdias paraensis* (Santos et al., 2011), *R.alabialis, (*Kuzmin et al., 2007), *R. pseudosphaerocephala* Kuzmin et al., (2007), *R. fuelleborni* Vicente et al., (1991), *R. sphaenocephala* (Kloss, 1974); (Vicente et al, 1991), *Rhabdias* sp. (Rodrigues et al., 1990); (Vicente et al, 1991), *Capillaria* sp. (Gonçalves et al., 2002), *Oxyascarissimilis* (Travassos, 1925; Freitas, 1958), *Paraoascaris travassosi* (Rodrigues e Rodrigues, 1971; Rodrigues et al.,1982), *Oxyascaris* sp. (Travassos e Freitas, 1964), *Oswaldocruzia albareti* (Ben Slimane e Durette-Desset, 1996), *O. belenensis* (Santos et al., 2008), *O. lopesi* (Gonçalves et al., 2002), *O. proencai* (Gonçalves et al., 2002; Baker, 1987), *O. subauricularis* (Walton, 1935; Yamaguti, 1961; Durette-Desset, 1983), *Oswaldocruzia* sp. (Vicente et al., 1991; Gonçalves et al., 2002), *Aplectana membranosa* (Vicente et al., 1991; Gonçalves et al., 2002), *A. vellardi* (Vicente et al., 1991), *Aplectana*. sp. (Travassos e Freitas, 1964), Cosmocercidae gen. sp. (Rodrigues et al., 1982), *Falcaustra mascula* (Fabio, 1982; Rodrigues et al, *1*982), *Falcaustra*. sp. (Travassos, 1932; Vicente et al., 1991), *Foleyella vellardi* (Walton, 1935), Physalopterinae (Rodrigues et al, 1982), *Physaloptera* sp. (Travassos e Freitas, 1964; Gonçalves et al, 2002), *Ochoterenella complicata* (Esslinger, 1989), *O. convoluta* (Vicente et al., 1991),

O. digiticauda (Yamaguti, 1961); Rodrigues et al., 1982; Vicente et al., 1991), *O. vellardi* (Vicente et al.,1991), *Icosiella neglecta* (Baker, 1987; Guerrero, 1971), *Catadiscus cohni* (Travassos et al., 1969), *Creptotrerna lynch* (Brooks, 1976), *Glypthelmins linguatula* (Travassos et al., 1969), *G. palmipedis* (Yamaguti, 1958; Travassos et al., 1969; Rodrigues et al.,1990), *G. robustus* (Brooks, 1976), *G. vesicalis* (Yamaguti, 1958), *Choledocystus elegans* (Travassos et al.,1969), *Haematoloechus fuelleborni* (Travassos et al., 1969), *Gorgoderina cryptorchis* (Travassos et al., 1969), *G. diaster* (Brooks, 1976), *G. parvicata* (Travassos et al., 1969), *Mesocoeliumin cognitum* (Yamaguti, 1958), *M. monas* (Travassos et al., 1969; Rodrigues et al.,1990), *M. travassoi* (Yamaguti, 1958), *Plagiorchis hepaticus* (Yamaguti, 1958), *Cylindrotaenia americana* (Brooks, 1976), *Ophiotaenia bonariensis* (Brooks, 1976), *Taenia filariformis* (Yamaguti, 1959) *species inquirendae, Lanfrediella amphicirrus* (Melo et al., 2011).

FIGURA 1. Larvas e adultos das espécies de anuros estudadas na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM. A-B larva e adulto de *Hypsiboas cinerascens*. C-D larva e adulto de *Hypsiboas geographicus*. E-F larva e adulto de *Rhinella marina*.

Objetivos:

- ✓ Descrever, caracterizar e comparar descritivamente a comunidade de parasitas e seus parâmetros parasitários para os anfíbios anuros na fase larval e adultos das espécies *Hypsiboas cinerascens*, *Hypsiboa geographicus*, e *Rhinella marina* da Reserva Florestal Ducke, Amazônia Central.

- ✓ Caracterizar e comparar descritivamente a composição de parasitas e seus parâmetros parasitológicos, das larvas de *Hypsiboas cinerascens*, *Hypsiboas geographicus*, e *Rhinella marina* nos corpos d'água temporários, e permanentes na Reserva Florestal Ducke, Amazônia Central.

Material e métodos

Área de estudo

A RFD (Figura 2) foi criada em 1963 por meio da Lei Estadual nº 41, de 16 de fevereiro de 1963. Esta lei legalizou o ato de cessão da área da reserva do governo do estado do Amazonas ao Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA. A reserva está localizada no quilômetro 26 da estrada Manaus-Itacoatiara (AM-010) (02º55'-03º1'S e 59º53'-59º59'W) e possui uma área aproximada de 100 km², sendo classificada como tropical úmida de terra-firme, com dossel bastante fechado e sub-bosque com pouca luminosidade (Guillaumet e Kahn, 1982). Nos últimos anos a reserva vem sofrendo com a ação antrópica. Entretanto, devido ao seu tamanho e por abrigar diversas espécies da fauna e flora amazônica é uma das áreas mais bem estudadas da Amazônia brasileira (Baccaro et al., 2008).

O clima da reserva é classificado como tropical úmido, assim como em toda a região Amazônica. A umidade relativa varia de 75-86% e a precipitação anual de 1.750 a 2.500 mm. A estação chuvosa ocorre de novembro a maio e a estação seca ocorre de junho a outubro, sendo setembro normalmente o mês mais seco. A temperatura média anual é de 26ºC e existe pouca variação térmica durante o ano (Baccaro et al., 2008).

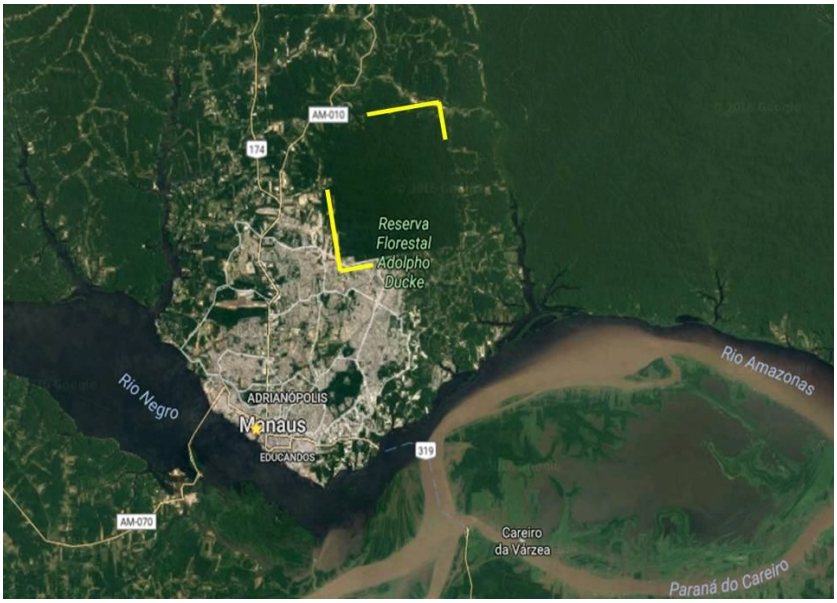


FIGURA 2. Imagem de satélite da localização geográfica da Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM. 2016. Fonte: Google maps.

Amostragem

Foram realizadas três coletas entre os meses de agosto de 2015 e agosto de 2016. Nas poças temporárias e no igarapé Barro Branco: foram feitas três coletas, larvas e adultos das duas espécies de hilídeos: *H. geographicus* e *H. cinerascens.* Estas foram realizadas nos mesesde agosto de 2015, fevereiro de 2016, e agosto de 2016. Em fevereiro de 2016 foram coletadas as larvas e adultos de *R. marina*, na lagoa artificial do Jardim Botânico da reserva. As coletas se deram de acordo com a disponibilidade de espécimes no período.

Para a coleta das larvas foi utilizado o método de pesca ativa realizada durante período diurno. Neste método, três pessoas utilizando puçá e rede com malhagem de 3 mm, exploraram toda a área alagada por 20 minutos. Os adultos foram coletados manualmente durante o período de atividade, no período noturno, próximos as mesmas poças, na vegetação marginal. Foi determinado um tempo máximo de 5 horas por dia de busca ativa ao longo do trecho escolhido, ou até que a espécie não estivesse mais em atividade de vocalização.

As larvas de *Hypsiboas cinerascens* foram coletadas em três poças temporárias formadas pelas chuvas da estação (Figuras 3 e 4). Muitas vezes estas chuvas ocasionam o transbordamento do igarapé, e a retenção de água em alguns pontos ao longo do leito, de uma maneira aleatória. Para a descrição do local e melhor entendimento da

distribuição das larvas entre as áreas, foi medida a distância da poça até o corpo d'água principal, a profundidade média obtida de três pontos equidistantes, a maior largura, bem como a sua área. Estas foram caracterizadas como pequenas, pouco profundas, com presença de areia e argila em sua composição.

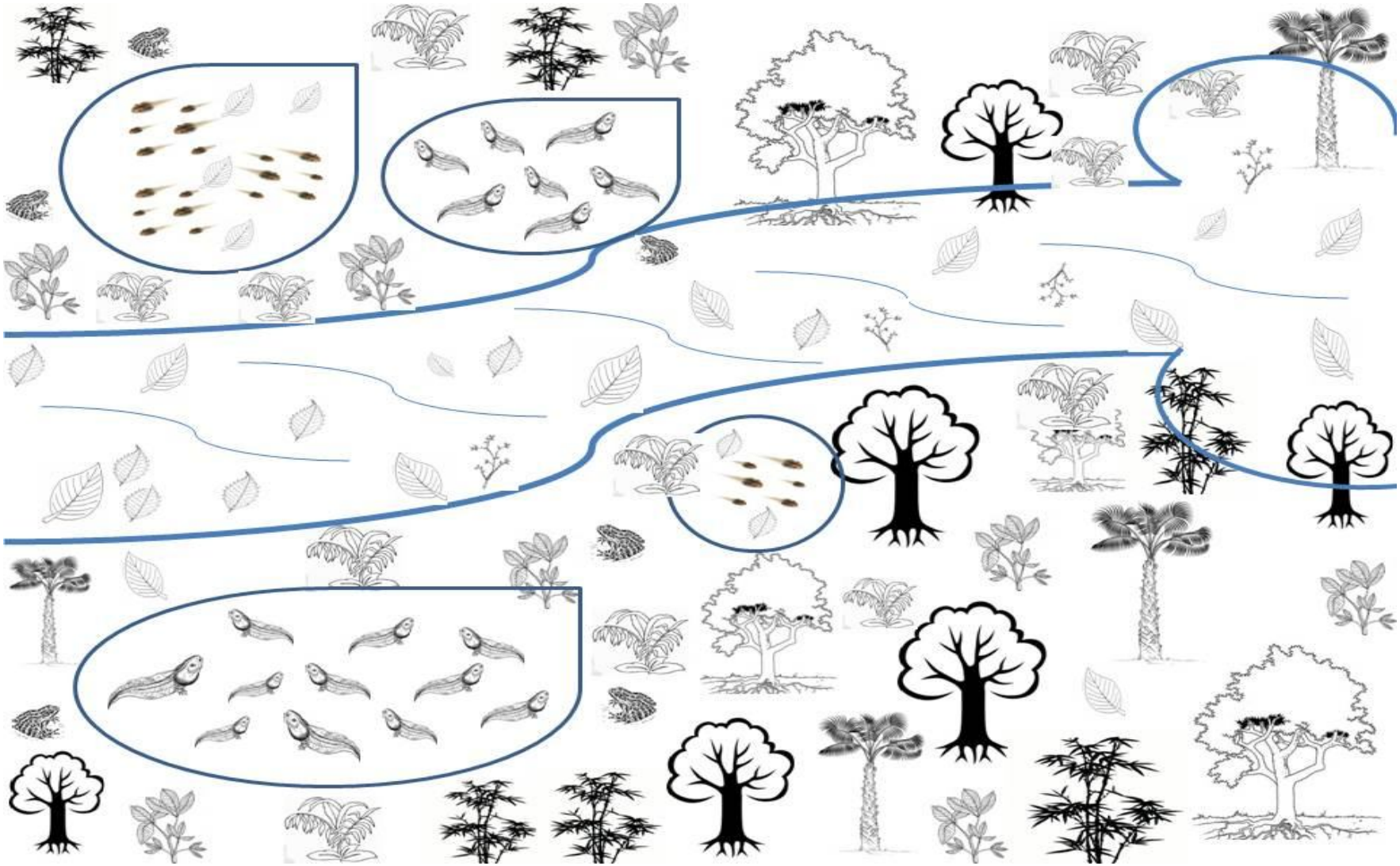


FIGURA 3. Esquema de distribuição das poças temporárias, em relação ao corpo d´água principal, o igarapé Barro Branco, Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

FIGURA 4. Poça temporária amostrada, próxima ao igarapé Brarro Branco, na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

FIGURA 5. Poça permanente (‘’Poção’’) amostrada na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

O igarapé Barro Branco está localizado à aproximadamente 100 m da sede da RFD, no lado oeste do platô onde suas águas drenam para o rio Negro. Neste estudo, consideramos o "poção" (Figura 5) que é encontrado no canal do igarapé, uma poça permanente, pois apresenta tamanho e profundidade com pouca variação durante todo o ano. Esta se caracteriza por ser estreita, pouco profunda, com vegetação e predominância de areia e folhiço no substrato do leito. É conhecido que espécies como *H. geographicus* e *Leptodactylus riveroi* Heyer & Pyburn, 1983 a utilizam para reprodução (Lima et al., 2012). Neste ponto foram coletados as larvas e adultos de *H. geographicus.*

O terceiro ponto de amostragem foi a lagoa artificial (Figura 6) do Jardim Botânico do Museu da Amazônia-MUSA, que fica localizada do lado oposto da reserva, no Bairro Cidade de Deus, zona norte de Manaus. A lagoa foi construída para que os visitantes tivessem uma pequena amostra de como funciona um ambiente aquático amazônico. A lagoa conta com algumas espécies de plantas aquáticas da flora local, como a *Victoria amazonica e Pistiastratiotes* L (Araceae), conhecida popularmente como alface d' água. O local se tornou um importante sítio de reprodução, sendo utilizado o ano todo por algumas espécies de anuros da reserva, principalmente *R. marina*, onde é possível encontrar com facilidade suas larvas. Estas foram coletadas por pesca ativa na margem da lagoa com a utilização de puçá. Para a captura dos exemplares adultos dessa espécie foi realizado o método de procura visual ás margens do lago, e próximo a base localizada na AM 010, durante o período de atividade das mesmas.

Em seguida, os anuros, adultos e larvas, foram aclimatados em sacos plásticos de 20 litros, e transportados vivos para o Laboratório de Parasitologia de Peixes (LPP), no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia- INPA, onde permaneceram com água do local e oxigenação até o momento da necropsia. Todas as coletas foram autorizadas sob licença SISBIO/ICMBio n° 49501-2 e n°53377-1.

FIGURA 6. Lago do Jardim Botânico na Reserva Florestal Ducke. Manaus-AM.

Necropsia dos hospedeiros

Os dados de cada hospedeiro, como estágio de desenvolvimento das larvas, proposto por Gosner, 1960 (em anexo no final do trabalho), tamanho e peso foram analisados. Em laboratório, as larvas foram eutanasiadas por dose letal do anestésico eugenol, e os adultos eutanasiados por dose letal do anestésico benzocaína, de acordo com a Resolução Nº 714/2002 que dispõe sobre procedimentos e métodos de anestesia e eutanásia em animais.

Foi realizada a análise externa e interna das larvas e adultos sob esteromicroscópio. Nas larvas foram analisadas as brânquias, o intestino, a musculatura da cauda e membros locomotores. Nos adultos foram analisados os rins, pulmões, fígado, vesícula biliar, bexiga urinária, estômago, intestino, cavidade celomática e musculatura dos membros anteriores e posteriores.

Coleta, preparação e fixação das espécies parasitas

Os espécimesencontrados foram cuidadosamente coletados com estiletes, contados e acondicionados em frascos de acordo com a metodologia específica para cada grupo. Posteriormente transferidos para o líquido fixador, álcool 70%, e etiquetados. Os dados morfométricos e fotomicrografias dos parasitas foram obtidos em sistema computadorizado para análise de imagens LAZ V4 (Leica Application Suite),

adaptado aos microscópios DM 2500-Leica com o sistema de contraste interferencial de fase.

Para determinação taxonômica das espécies parasitas foram utilizados critérios propostos por Travassos et al., (1969), Vicente et al., (1991), Vicente et al., (1993), além de artigos de descrição de espécies e chaves de classificação mais recentes (Gibbons, 2010, Anderson et al., 2009).

Ciliophora

Os espécimes de Ciliophora encontrados foram coletados e fixadas em formol 5%. Para identificação, os exemplares foram montados em glicerina entre lâmina e lamínula.

Trematoda

As espécies de trematódeos foram fixadas com ou sem compressão em A.F.A. (95 partes de etanol 70 %, 3 partes de formalina comercial (37-40%) e 2 partes de ácido acético glacial). O tempo de compressão variou de 30 minutos a 8 horas (Eiras et al., 2006). Depois de terminada a fixação, os digenéticos foram retirados com auxílio de finos pincéis e conservados em A.F.A. (Thatcher, 1993).

Exemplares de trematódeos digenéticos, no estado larval (metacercária), foram enviados aos especialistasdo Laboratório de Biologia de Trematoda, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, para identificação. Amostras das metacercárias (n=10) foram coradas pelo carmim aceto-alúmem, desidratadas em série crescente de etanol, clarificadas em creosoto de Faia e montadas entre lâmina e lamínula em bálsamo do Canadá. O estudo morfológico foi realizado em microscópio de luz e o registro fotográfico em câmera digital Leica ICC50 HD acoplada a microscópio de mesma marca. As imagens capturadas foram posteriormente analisadas em software Leica Application Suite (LAZ EZ), versão 2.0. A identificação morfológica do tipo de metacercária foi baseada em Niewiadomska (2002).

Acanthocephala

Os espécimes de Acanthocephala encontradas foram colocados em uma placa de Petri contendo água destilada ou soro fisiológico, sendo mantidas na geladeira por 24 horas, para distensão da probóscide facilitando uma posterior identificação.

Nematoda

Os espécimes de nematoides foram coletados com pincéis finos e estiletes. Em seguida foram transferidos para uma placa de Petri com solução salina a 0,65%, para efetuar a limpeza dos espécimes. Uma vez limpos, foram fixados em álcool 70% aquecido a aproximadamente 65-70ºC, para que morressem estendidos, mantendo assim suas estruturas de importância taxonômicas nitidamente visíveis. Em seguida foram transferidos para frascos contendo etanol 70%, onde foram conservados (Amato et al., 1991).

Os exemplares nematoides encontrados nos pulmões de *R. marina*, foram submetidos a análise molecular no Laboratório de Parasitologia de Animais Silvestresdo Instituto de Biociências de Botucatu-UNESP para confirmação da identificação.

Estesforam fixados em álcool absoluto (Merck®), parte dos exemplares foram separados para análise morfológica (voucher) e parte para extração de DNA genômico. O DNA genômico foi extraído através do Kit comercial DNeasy® Blood&Tissue (Qiagen) de acordo com o protocolo do fabricante, com volume final de 30µl. Os fragmentos de DNA foram amplificados usando a maior subunidade do gene ribossomal, 28S (parcial) contendo as regiões de divergência dominante D2/D3, a região do gene ribossomal ITS (completo) (Dareet al, 2008) e o gene mitocondrial COI com a região Barcoding (Folmeret al,1994).

As reações de amplificação consistiram em 25 µl final com 3 µl do DNA extraído, 0,5 ou 1,0 µl de cada iniciador (primer) e o kit de amplificação Ready-to-Go PCR beads (PureTaq™Ready-to-Go™PCRbeads, GE Healthcare) na qual a solução consistiu em estabilizantes, BSA, dATP, dCTP, dGTP, dTTP, ~2.5 unidades da enzima puReTaq DNA polymerase e tampão de reação. Com o bead reconstituído a um volume final de 25 µl, a concentração de cada dNTP é de 200 µM em 10 mM de Tris-HCL (pH 9,0 em temperatura ambiente) 50 mM de KCL e 1,5 mM de MgCl2.

Os produtos de PCR (2 µl) foram aplicados em gel de agarose (1%) usando o gel Red e Loading Buffer para confirmar os tamanhos dos amplicons e a quantidade dos fragmentos. Os produtos foram purificados usando o kit QIA quick PCR Purification

(Qiagen) e o sequenciamento automatizado foi realizado diretamente em produtos de PCR dos espécimes com o kit Big Dye v.3.1 Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Sequências foram aplicadas em corridas no analisador da Applied Biosystems ABI 3500 DNA.

As identidades das sequências foram verificadas através do BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) e sequências contíguas foram montadas e editadas usando o programa Sequencher v. 5.2.4 (Gene Codes, Ann Arbor, MI). Sequências serão enviadas para o Banco de Dados GenBank após o aceite do manuscrito.

Acari

Os carrapatos encontrados foram coletados com finas pinças para que suas estruturas de importância taxonômica não fossem danificadas. Logo apósforam transferidos para uma placa de Petri com solução salina a 0,65%, para efetuar a limpeza dos espécimes, e fixados em álcool 70% para posterior identificação.

Diptera

As larvas de dípteros foram coletadas com finas pinças. Logo após foram fixados em álcool 70% aquecido a aproximadamente 65-70ºC.

Análise dos dados

As análises dos parâmetros parasitários como prevalência, intensidade média de infecção, abundância média e riqueza, foram calculados de acordo com Bush et al., (1997).

Prevalência: relação entre o número de hospedeiros parasitados, dividido pelo número de hospedeiros examinados, multiplicado por 100.

P = (HI/HE)x100

P = prevalência

HI = número de hospedeiros parasitados

HE = número de hospedeiros examinados

Intensidade média: número médio de parasitos encontrados nos hospedeiros parasitados (somente os parasitados).

IMP: Σxi/HI

IMP = intensidade média de parasitismo
Xi = número de todos os parasitos em cada hospedeiro
Σxi = soma de todos os parasitos nos hospedeiros
HI = número de hospedeiros parasitados

Índice de abundância média: número médio de parasitos encontrados para o total de hospedeiros examinados (parasitados e não parasitados).

IA= Σxi/HE

IA = índice de abundância
Xi = número de parasitos em cada hospedeiro
Σxi = soma dos parasitos em todos os hospedeiros
HE = número de hospedeiros examinados

Os Ciliados encontrados não entraram nos cálculos de índices parasitários, mas foram contabilizados como riqueza parasitária.

RESULTADOS

1.0 Dados morfométricos dos anuros

Foram analisados um total de 224 larvas. *H. cinerascens* N=88, *H. geographicus* N=74, e *R. marina* N=62, em três áreas de amostragem diferentes: poças temporárias, poça permanente (poção) e uma lagoa da reserva, além de 38 espécimes adultos das três espécies.

As poças temporárias estavam localizadas a 35 cm, 40 cm, 3,4 metros, respectivamente, do leito principal, o igarapé Barro Branco, apresentando uma profundidade média de 18,3 cm. Estas foram caracterizadas como pequenas, pouco profundas, com presença de argila e areia. Nestas poças encontramos as larvas de *H. cinerascens*, N=88, enterradas no substrato das poças. As larvas analisadas desta espécie apresentaram tamanho de 1,7±0,52 cm, massa 0,07±0,06 g, e estágio de desenvolvimento Gosner entre 14-40. Os adultos, N= 11, foram coletados na vegetação acima das poças, estes apresentaram tamanho 2,4±1,22 cm, e massa de 1,31±1,11 g.

As larvas de *H. geographicus*, N=74, foram coletadas em grandes cardumes na superfície do poção, a qual apresentou 11,2 metros de largura, com profundidade média de 1,9 metros. Neste local havia presença de folhiço, areia e argila em seu substrato. Estas larvas apresentaram tamanho de 2,4±0,92 cm, massa 0,2±0,15 g com estágio de desenvolvimento Gosner 15-37. Os adultos de *H. geographicus*, N=09, foram coletados na vegetação próximo ao igarapé Barro Branco, apresentando tamanho e massa 4,6±0,33 cm e 4,1±0,4 g, respectivamente.

Nas margens da lagoa do Jardim Botânico, coletamos as larvas de *R. marina*, N=62. A profundidade deste corpo d' água foi de aproximadamente 1 metro, e comprimento de 25 metros, por 13 de largura. Podendo ser caracterizada com substrato argiloso, e presença de plantas aquáticas na superfície. O tamanho das larvas foi de 1,6±0,44 cm, peso 0,17±0,24 g, apresentando estágio de desenvolvimento Gosner entre 25-43. Em áreas abertas da reserva, próximo a base principal localizada no quilômetro 26, e as margens da lagoa do Jardim Botânico, foram coletados os espécimes adultos de *R. marina*, N=18, os quais apresentaram tamanho de 8,9±1,4 cm e massa 63,1±37,3 g.

2.0 Parasitas dos girinos

O grupo de helminto mais abundante foi trematódeos na fase larval (metacercárias), com 754 exemplares, *H. cinerascens* N=523 e *H. geographicus* N=231, provenientes da coleta das poças temporárias e da poça permanente (poção), seguido do grupo dos nematoides. Os trematódeos foram encontrados apenas nas duas espécies de hilídeosparasitandoa cavidade celomática dos girinos. Os trematódeos digenéticos encontrados em *H. cinerascens* foram identificados como pertencentes à família Diplostomidae, tipo Diplostomulun.

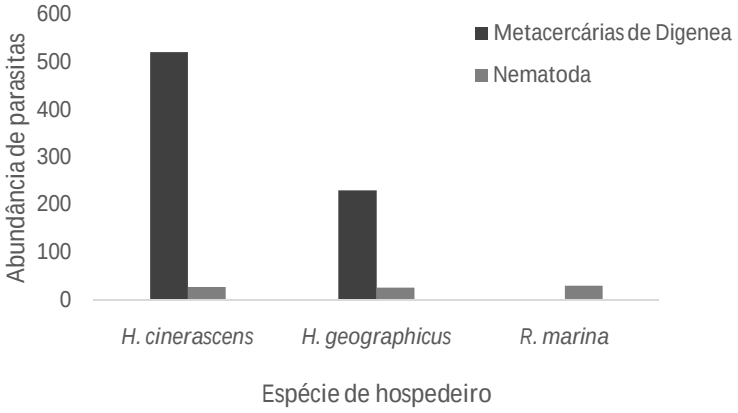


FIGURA 7. Abundância de parasitas encontrados nas larvas de *Hypsiboas cinerascens*, *Hypsiboas geographicus* e *Rhinella marina* na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

Dos três diferentes ambientes estudados, as poças temporárias foram as que apresentaram maior riqueza e abundância de parasitas, seguido da poça permanente e da lagoa. Esta última foi o local onde houve uma baixa riqueza de parasitas, sendo infectados apenas por nematoides (Figura 8).

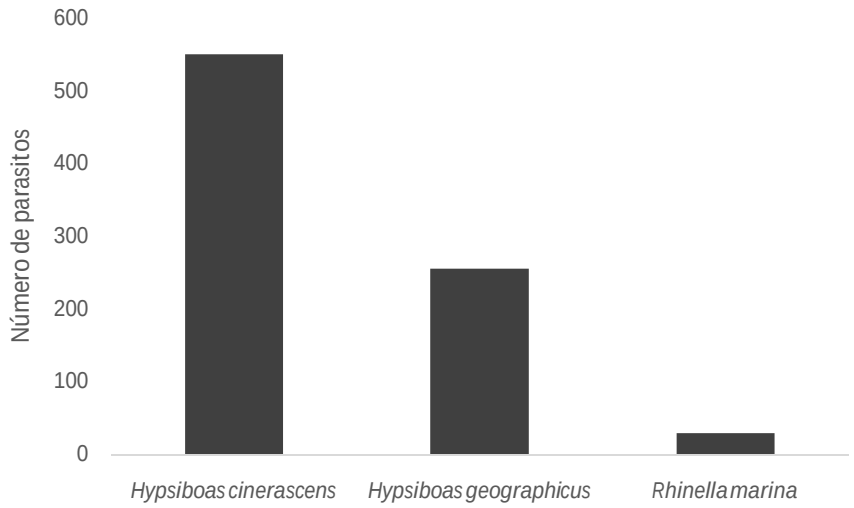


FIGURA 8. Abundância de parasitas encontrados nas diferentes espécies estudadas. Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

Um total de 73 nematoides foram encontrados no intestino dos girinos das três espécies, *H. cinerascens* N=19, *H. geographicus* N=25, e *R. marina* N= 29. Todos os espécimes foram encontrados na região do intestino, morfologicamente distinta, local este onde ocorre a atividade de fermentação dos organismos simbiontes, como já verificado por Souza (2013). Os nematoidesforam identificados como pertencentes a espécie *Gyrinicola chabaudi*, família Pharyngodonidae, ocorrendo também a presença de uma grande quantidade de protozoários ciliados pertencentes ao gênero *Nycthoterus*.

Tabela 1 –Parâmetros parasitários dos parasitas encontrados em girinos das seguintes espécies de anuros*Hypsiboas cinerascens*, *Hypsiboas geographicus* e *Rhinella marina* coletados na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.C-Cavidade celomática; I-Intestino

Espécies de girinos	N	Parasitas	N	Prevalência	Intensidade média	Abundância	Sítio de infecção
Hypsiboas cinerascens	88	*Gyrinicola chabaudi*	19	20,4%	1,05±0,23	0,21±0,44	I
		Diplostomulum	523	51,1%	11,6±18,4	5,94±14,3	C
		Nycthoterus					I
Hypsiboas geographicus	74	*Gyrinicola chabaudi*	25	24,3%	1,44±0,85	0,35±0,74	I
		Metacercárias	231	51,3%	6,07 ±3,64	3,12±4,11	C
		Nycthoterus					I
Rhinella marina	62	*Gyrinicola chabaudi*	29	37%	1,26±0,54	0,46±0,69	I
		Nycthoterus					I

3.0. Parasitas dos anuros adultos

3.1 *Hypsiboas cinerascens*

Hypsiboas cinerascens foi a espécie que representou menor prevalência de nematoides, com dois espécimes encontrados parasitando o intestino delgado e 272 digenéticos na forma larval (metacercárias) na cavidade celomática de juvenis da espécie. Os nematoides encontrados em *H. cinerascens* foram identificados como pertencentes à família Cosmocercidae, espécie *Cosmocerca brasiliense* Travassos, 1925.

3.2 *Hypsiboas geographicus*

Em *H. geographicus* foram encontrados um total de 36 nematoides. Estes foram identificados como: Cosmocercidae (N=04), *Cosmocerca* sp. (N=04), *Aplectana* sp. (N=07), *Cosmocerca brasiliense* (N=3), *Physaloptera* sp. (N=01), *Ochotorenella* sp. (N= 01), *Oswaldocruzia* sp. (N=16).

3.3 *Rhinella marina*

Rhinella marina foi a espécie com maior riqueza parasitária. Nesta encontramos espécimes pertencentes aostáxons Nematoda, Trematoda, Acanthocephala, Acari e Diptera. O filo Nematoda foi o mais abundante, com 3.224 exemplares encontrados na cavidade celomática, mesentério, pulmão, esôfago, estômago, fígado, intestinos delgado e grosso. Estes foram identificados como pertencentes a: Família Cosmocercidae (N=1.879), *Cosmocerca* sp. (N=368), *Aplectana* sp. (N=315), *Oswaldocruzia* sp. (N=361), *Rhabdias pseudosphaerocephala* (N=257), Physalopteridae (N=44).

Os nematoides encontrados nos pulmões foram identificados através de biologia molecular no Campus de Botucatu, e Microscopia Eletrônica de Varredura, no campus de Ilha solteira, como *Rhabdias pseudosphaerocephala*, as sequências geradasdos três genes através da biologia molecular estão em anexo. Um lote com seis espécimes foi tombado na Coleção de Invertebrados do INPA, sob números de lote: INPA 76.

.

O segundo grupo de endoparasita mais abundante foi Trematoda, N=206, em fase larval, metacercária, e adultos, estes foram coletados parasitando o fígado, intestino delgado e grosso.

Um total de 12 exemplares de Acanthocephala foram encontrados, sete estavamencistados em órgãos como fígado (N=01), estômago (N= 03), e nos músculos das patas traseiras (N=03). Cinco espécimes estavam na forma livre parasitando o intestino grosso.

Rhinella marina apresentou uma alta infestação por carrapatos, um total de 286, foram coletados nos espécimes analisados, destes, 257 eram ninfas não podendo ser identificadas. Vinte e três exemplares foram identificados como pertencentes à espécie *Amblyomma dissimile*, quatro pertencentes a *A. rotundatum* e dois indivíduos não puderam ter sua identificação confirmada devido a estruturas de importância taxonômica estarem danificadas; permanecendo apenas até gênero:*Amblyomma* sp. Onze espécimes foram tombados na Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA-ACA 002108; INPA-ACA 002109; INPA-ACA 002110; INPA-ACA 002111 e INPA-ACA 002112).

Larvas de Diptera (N= 5) foram encontradas parasitando o pulmão de apenas um indivíduo de *R. marina*. Este registro representa a primeira ocorrência neste órgão, tanto para o hospedeiro quanto para a região. As larvas apresentaram o tamanho entre 9,3-9,9mm. A identificação taxonômica a um nível menor não foi possível pois é necessária a criação das larvas, a fim de se obter indivíduos adultos com caracteres morfológicos desenvolvidos necessários a identificação. Os espécimes dípteros encontrados permanecem sob estudo.

Os dados dos hospedeiros aqui apresentados como: prevalência (%), abundância médiae intensidade média estão expressas nas Tabelas 2 e 3. Os espécimes com identificação em nível de espécie ainda não identificados serão tombados na Coleção de Invertebrados do INPA e na Coleção Helmintológica do Instituto de Biociências de Botucatu, assim que tiverem suas identificações confirmadas.

Tabela 2 –Parâmetros parasitários dos parasitas encontrados em anuros adultos das espécies de anuros: *Hypsiboas cinerascens, Hypsiboas geographicus e Rhinella marina*, coletados na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM..EPI: Epiderme; ESO- Esôfago; F- Fígado; MES- Mesentério; C- Cavidade celomática; EST- Estômago; P- Pulmão; I.D- Intestino delgado; I.G- Intestino grosso; M- Músculo.

Espécies de anuros	N	Parasitas	N	Prevalência	Intensidade média	Abundância	Sítio de infecção
		Nematoda					
Hypsiboas cinerascens	11	*Cosmocerca brasiliense*	2	22,2%	2±1,41	0,44±0,92	I.D
		Nematoda					
Hypsiboas geographicus	9	Cosmocercidae	15	55,5%	3±2,12	1,6±2,7	I.D,IG
		Cosmocerca brasiliense	3	11,1%	3	33,3±0,90	I.D
		Larva de Physalopteridae	1	11,1%	1	0,11±0,30	EST
		*Ochotorenella*sp.	1	11,1%	1	0,11±0,30	C
		Oswaldocruzia sp.	16	33,3%	5,3 ±6,65	1,77±3,88	EST, I,D, I.G,
Rhinella marina	18	**Acantocephala**					
		*Centrorhynchus*sp.	12	38,8%	1,71±0,89	0,66±1,05	F, EST, M,
		Digenea					
		Pseudosonsinotrema sp.	59	33,3%	9,8±6,11	3,2±5,8	F, I.D, I.G
		Metacercárias	157	5,5%	157	8,7±37,0	F, I.G
		Nematoda					
		Cosmocercidae	2.567	72,2%	183,3 ±224,3	142,3±214,6	MES, EST, I.D,IG

Rhabdias pseudopharocephala	257	11,1%	128,5±145,7	14,2±59,8	P
Physaloptera	44	22,2%	11 ±18,6	2,44±9,15	MES, EST
Oswaldocruzia sp.	361	66,6%	30,0±63,4	20,0 ±53,0	ESO,EST, I,D, I.G,
Diptera					
Diptera gen. sp.	5	5,5%	5	0,27±1,17	P
Acari					
Amblyomma sp.	2	5,5%	2±0,70	0,11±0,47	EPI
Amblyomma dissimile	23	22,2%	5,75±1,94	1,27±2,32	EPI
Amblyomma rotundatum	4	11,1%	2±1,41	0,22±0,73	EPI
Ninfas	257	88,8%	16,0±19,4	14,27±18,9	EPI

Dados e classificação taxonômica dos grupos parasitas encontrados:

A. Filo: Ciliophora Doflein, 1901

Família: Nyctotheridae Amaro, 1972

Gênero: *Nyctotherus* Leidy, 1877

Espécie: *Nyctotherus* sp.

Estágio: Adulto

Sítio de infecção: Intestino

Hospedeiros: Larvas de *Hypsiboas geographicus, H. cinerascens* e *Rhinella marina.*

Descrição: corpo oval, comprimido, citóstomo no meio do corpo, citofaringe longa com membrana ondulante. Macronúcleo grande, triangular e anterior. Vacúolo contrátil terminal.

Referências: Hoffman, 1999.

FIGURA 9. Protozoário ciliado do gênero *Nyctotherus* encontrados nas larvas das três espécies de anuros estudadas na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM. Em destaque: **A**- Cf- Citofaringe; - Cíl-Cílios.

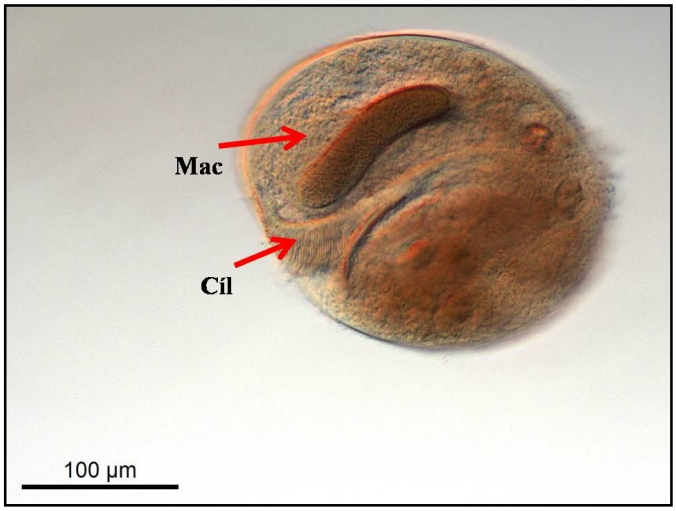


FIGURA 10. Protozoário ciliados do gênero *Nyctotherus* encontrados nas larvas de*Hypsiboas geographicus*, *Hypsiboas cinerascens* e *Rhinella marina* coletados na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM. Em destaque: Cíl-Cílios; Mac- Macronúcleo.

B. Filo: Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

Classe: Trematoda Rudolphi, 1808

Superfamília: Diplostomidae Poirier, 1886 (=Strigeoidea Railliet, 1919)

Família: Diplostomidae Poirier, 1886

Tipo: Diplostomulum

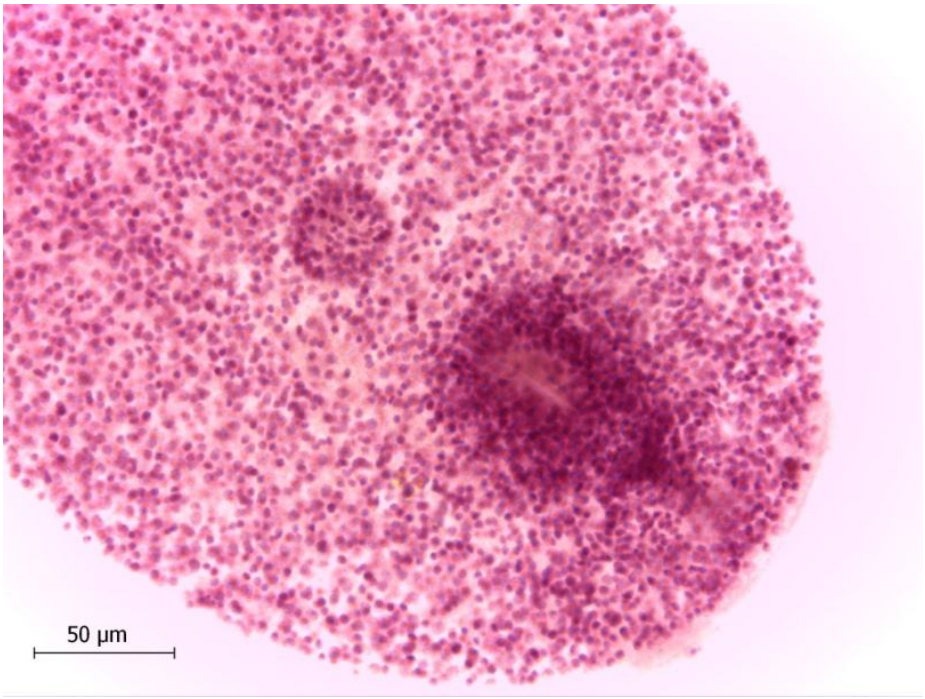
Estágio: Larva

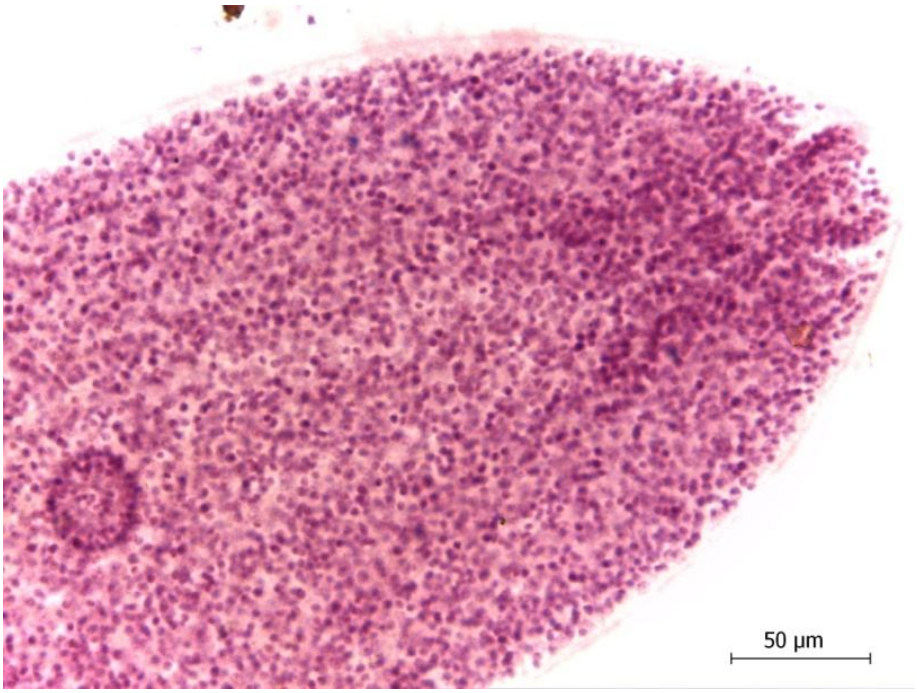
Sítio de infecção: Cavidade celomática

Hospedeiros: Larvas de *Hypsiboas cinerascens*

Descrição: No tipo Diplostomulun, observa-se um sistema escretor mais simples, com três canais longitudinais: dois laterais com ramificações direcionadas posteriormente e uma mediana, conectando-se anteriormente (anterior ao acetábulo) com um sistema de ramificações na parte posterior da larva, onde se encontram bolsas dilatadas redondas ou corpos esxcretores ovais.

Referências: Hamann e Kehr (1998), Kehr e Hamann (2003), Schaefer et al (2006), Kehr e González et al (2009) e Santos e Amato (2009; 2010a), Campião et al (2014).





FIGURAS 11 e 12. Metacercárias de *Diplostomulun* (Trematoda: Digenea), encontradas na cavidade celomática das larvas de *Hypsiboas cinerascens*. Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

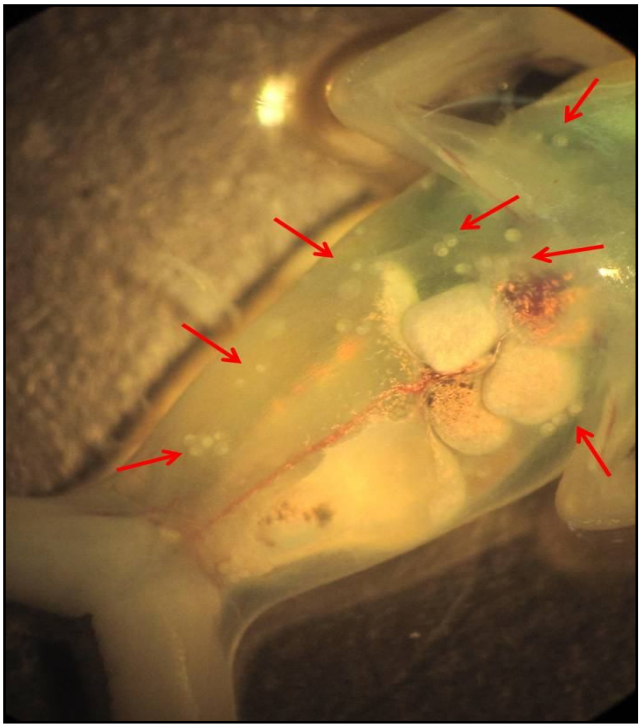


FIGURA 13. Metacercárias de Digenea (Trematoda) encistadas na cavidade celomática de *Hypsiboas cinerascens*. Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

Superfamília: Microphalloidea Ward, 1901

Família: Pleurogenidae Loos, 1899

Gênero: *Pseudosonsinotrema* Dollfus, 1951

Espécie: *Pseudosonsinotrema* sp.

Estágio: Adulto

Sítio de infecção: Intestino delgado

Hospedeiros: *Rhinella marina*

Descrição: "Metraterm" bem desenvolvido, esôfago curto, forma da bexiga excretória em Y com o tronco longo ou mais longo do que os ramos, a bexiga é tipicamente em forma de V ou Y, com tronco e ramos longos.

Referências: Sullivan, 1971.

C. Filo: Nematoda Rudolphi, 1808

Superfamília: Oxyuroidea Cobbold, 1864

Família: Pharyngodonidae Travassos, 1919

Gênero: *Gyrinicola* Yamaguti, 1938

Espécie: *Gyrinicola chabaudi* Araujo & Artigas, 1982

Estágio: Adulto

Sítio de infecção: Intestino

Hospedeiros: Larvas de *Hypsiboas geographicus, H. cinerascens* e *Rhinella marina*

Descrição: Corpo cilíndrico, sem asas laterais. Boca com seis lábios, dos quais o lateral possui um anfídio bastante proeminente e os outros uma papila cada. Vestíbulo e faringe ausentes. Esôfago dividido em porção anterior cilíndrica e bulbo posterior contendo aparelho valvular. Poro excretor a alguma distância após o bulboesofageano. Machos com cauda afilada; asa caudal ausente; região cloacal proeminentemente projetada com poucas papilas anais; espículos desiguais; gubernáculo ausente. Fêmeas com cauda cônica alongada em um processo afilado; vulva próxima à metade do corpo.

Referências: Vicente et al., 1991

FIGURA 14. Porção anterior de *Gyrinicola chabaudi* (Nematoda) parasita de *Hypsiboas geographicus*. Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

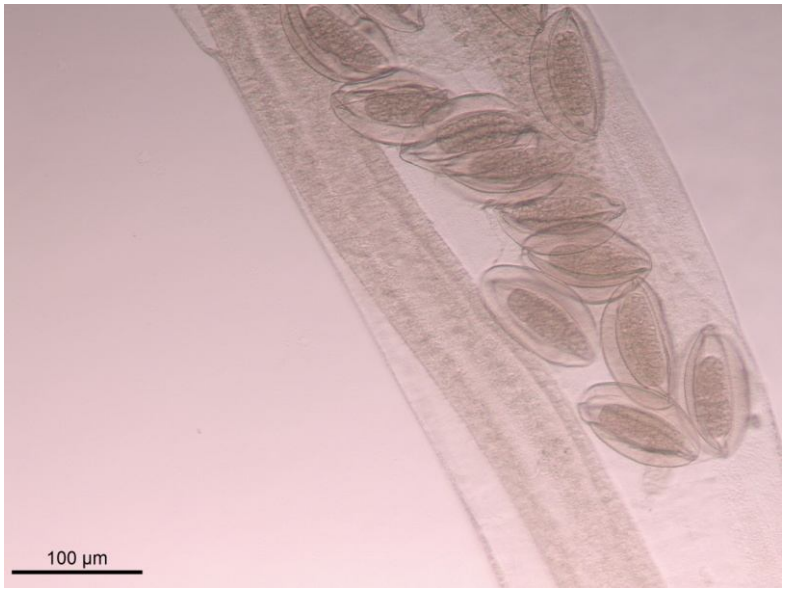


FIGURA 15. Ovos operculados de *Gyrinicola chabaudi* (nematoda) parasita de *Hypsiboas geographicus* coletado na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

FIGURA 16. Vista geral de uma larva de *Gyrinicola chabaudi* (Nematoda) parasita de *Hypsiboas geographicus* coletado na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

Superfamilia: Cosmocercoidea Travassos, 1925

Família: Cosmocercidae Travassos, 1925

Estágio: Adulto

Sítio de infecção: Intestino delgado e intestino grosso

Hospedeiros: *Hypsiboas geographicus* e *Rhinella marina*

Descrição: Geralmente apresentam dimorfismo sexual acentuado. Machos sem ventosa pré-anal, com espículos subiguais, longos ou rudimentares, gubernáculo presente, rudimentar ou ausente. Fêmeas didelfas, prodelfas ou anfidelfas, ovíparas ou vivíparas. Parasitas de anfíbios, raramente de répteis.

Referência: Vicente et al., 1991.

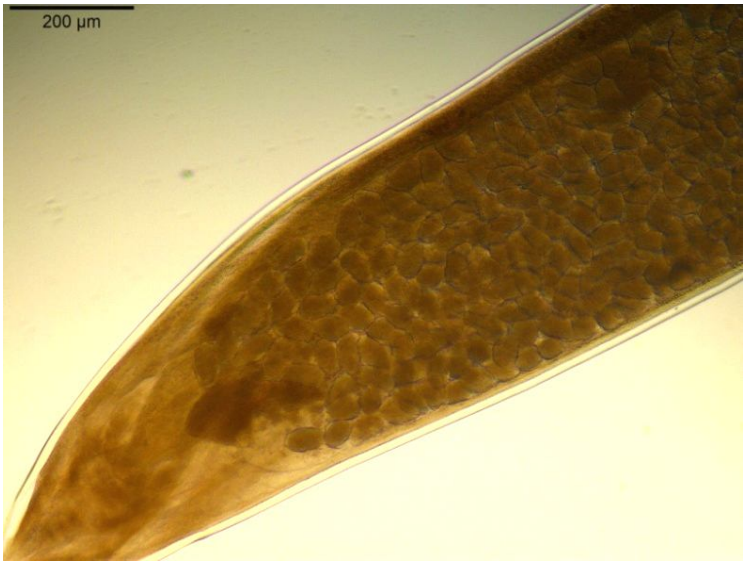


FIGURA 17. Porção posterior de uma fêmea de Cosmocercidae (Nematoda) parasita de *Rhinella marina* coletado na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

Gênero: *Cosmocerca* Diesing, 1861

Espécie: *Cosmocerca brasiliense* Travassos, 1925

Estágio: Adulto

Sítio de infecção: Intestino delgado

Hospedeiros: *Hypsiboas cinerascens*

Descrição: Vermes delgados e pequenos; macho mais curto e cerca da metade do diâmetro da fêmea. Cutícula transversal estriada com numerosas papilas pequenas arranjadas em linhas. Final cefálico com três pequenos lábios, cada rolamento com duas

papilas perto do ângulo lateral. Anfídios não observados. Faringe curta e muscular. Esôfago cilíndrico, terminação do bulbo em forma de frasco.

Referências: Dyer & Altig, 1976, Vicente et al.,1991.

FIGURA 18. Porção posterior de um macho de *Cosmocerca brasiliense* (Nematoda) parasita de *Hypsiboas cinerascens* coletado na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

Superfamília: Trichostrongyloidea (Skrjabin e Schulz, 1937) Durette-Desset e Chabaud, 1993

Família: Molineoidae (Skrjabin e Schulz, 1937) Durette-Desset e Chabaud, 1977

Gênero: *Oswaldocruzia* Travassos, 1917

Espécie: *Oswaldocruzia* sp.

Estágio: Adulto

Sítio de infecção: Estômago, intestino delgado e intestino grosso

Hospedeiros: *Hypsiboas geographicus* e *Rhinella marina*

Descrição: Cabeça com dilatação cuticular vesiculosa, dividida em duas partes: uma anterior mais larga e outra posterior mais estreita. Cutícula com fina estriação transversal e linhas longitudinais. Boca guarnecida com lábios indistintos e lúnitando diminuta cavidade não quitinizada. Asas cervicais presentes ou ausentes: Papilas

cervicais delgadas abaixo do meio do esôfago. Fêmeas com vulva na metade posterior do corpo, não saliente. Aparelho genital anfidelfo. Extremidade posterior terminando por um espinho cuticular. Ovos em mórula no útero. Machos com bolsa· copuladora grande e com lobo dorsal triangular. Papilas pré-bursais não observadas. Raios bursais com a seguinte fórmula: ventrais contíguos iguais, atingindo a margem; lateral anterior equidistante dos vizinhos, não atingindo a margem; lateral médio e lateral posterior contíguo, atingindo a margem, todos mais ou menos da mesma espessura; dorsal externo nascendo por tronco comum ao dorsal, mais delgado que os outros; dorsal ramificado na extremidade, de modo característico, formando capitel constituído por um par de ramos laterais curvos em S e pela extremidade dicotomizada, uma ou duas vezes. Espículos de forma complexa, constituídos por 4 a 5 processos distais reunidos por uma membrana hialina. Gubernáculo ausente.

Referências: Vicente et al., 1991.

FIGURA 19. Porção posterior de um macho de *Oswaldocruzia* (Nematoda) parasita de *Rhinella marina* coletado na Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

Superfamília: *Filarioidea* Weinland, 1858
Família: *Onchocercidae* (Leiper, 1911)

Gênero: *Ochotorenella* Caballero, 1944
Espécie: *Ochotorenella* sp.
Estágio: Adulto
Sítio de infecção: Cavidade celomática
Hospedeiros: *Hypsiboas geographicus*
Descrição: Boca com quatro papilas externas e oito internas, dispostas irregularmente. Metade anterior do corpo mais larga que a posterior. Extremidade posterior digitiforme; ápice arredondado. Cutícula estriada transversal e longitudinalmente, com tubérculos em fileiras transversais. Cápsula bucal ausente. Esôfago dividido em porção anterior muscular pequena, e porção glandular posterior grande. Reto e ânus atrofiado. Anel nervoso situado na extremidade posterior da porção anterior do esôfago; poro excretor situado ao nível do terço posterior da porção glandular do esôfago. Machos sem asa caudal; dois pares de papilas caudais pré-anais e três pares pós-anais, o último par próximo à ponta da cauda. Espículos desiguais, dissimilares; gubernáculo ausente. Fêmeas com vulva na região da porção glandular do estômago. Anfidelfas. Microfilárias sem bainha, no sangue do hospedeiro.
Referências: Vicente et al., 1991.

Superfamília: Physalopteroidea Leiper, 1908
Família: Physalopteridae Leiper, 1908

Gênero: *Physaloptera* Rudolphi, 1819
Espécie: *Physaloptera* sp.
Estágio: Larva e adulto
Sítio de infecção: mesentério, estômago, e intestino delgado
Hospedeiros: *Hypsiboas geographicus e Rhinella marina*
Descrição: Boca com dois grandes lábios laterais, simples, triangulares, cada um apicalmente ou internamente provido de um número variável de dentes e externamente com papilas. Cutícula geralmente refletida sobre os lábios, formando um grande colar

cefálico. Papilas cervicais posteriores ao anel nervoso. Cavidade bucal pequena ou ausente; esôfago consistindo de uma parte anterior muscular e uma posterior glandular. Machos com asas caudais largas, unindo-se ventralmente em frente ao ânus; três a sete pares de grandes papilas pedunculadas na região cloacal e um número variável de papilas sésseis, das quais algumas ao redor da abertura cloacal e as outras distribuídas aos pares na cauda. Espículos iguais ou desiguais, similares ou dissimilares. Fêmeas com vulva anterior ou posterior ao meio do corpo. Úteros em número de 2, 4 ou mais, paralelos. Ovíparas; ovos ovais, de casca espessa, embrionados quando da postura.
Referências: Vicente et al., 1991

Superfamília: Rhabditoidea Travassos, 1920
Família: Rhabdiasidae Raillet, 1915

Gênero: *Rhabdias* Stiles & Hassall, 1905
Espécie: *Rhabdias pseudosphaerocephala* Kuzmin, Tkach, & Brooks, 2007.
Estágio: Adulto
Sítio de infecção: Pulmão
Hospedeiro: *Rhinella marina*
Descrição: Extremidade anterior arredondada, extremidade posterior afilada. Cutícula do corpo inchada, especialmente na extremidade da cabeça, e coberto com dobras transversais irregulares. Abertura oral redonda, cercado com 4 lábios submediana, borda saliente da abertura oral. Dois pseudolabios laterais arredondados, comparativamente pequenos. Cada lábio submediana, e pseudolábio com rolamento pequeno e papila no topo. Cápsula bucal, de paredes espessas em forma de funil. Esôfago em forma de club, dilatação anterior muscular presente. Anel nervoso circundando posterior ao esôfago da extremidade anterior doesôfago. Poro excretor posterior ao anelnervoso. Forma do intestino é reto mesmo que em espécies anteriores, bem como a estrutura do sistema genital. Vulva quase equatorial. Cauda relativamente curta, cônica.
Referências: Kuzmin et al., 2007.

FIGURA 20. *Rhabdias pseudosphaerocephala* (Nematoda) parasitando o pulmão de *Rhinella marina.* Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

FIGURA 21. Porção anterior de *Rhabdias pseudosphaerocephala*, parasita de *Rhinella marina* com detalhe da cutícula inflada. Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

FIGURA 22. Porção posterior, cauda cônica de *Rhabdias pseudosphaerocephala*, parasita de *Rhinella marina*. Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

FIGURA 23. Ovos com larvas em desenvolvimento de *Rhabdias pseudosphaerocephala*, parasita de *Rhinella marina.* Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

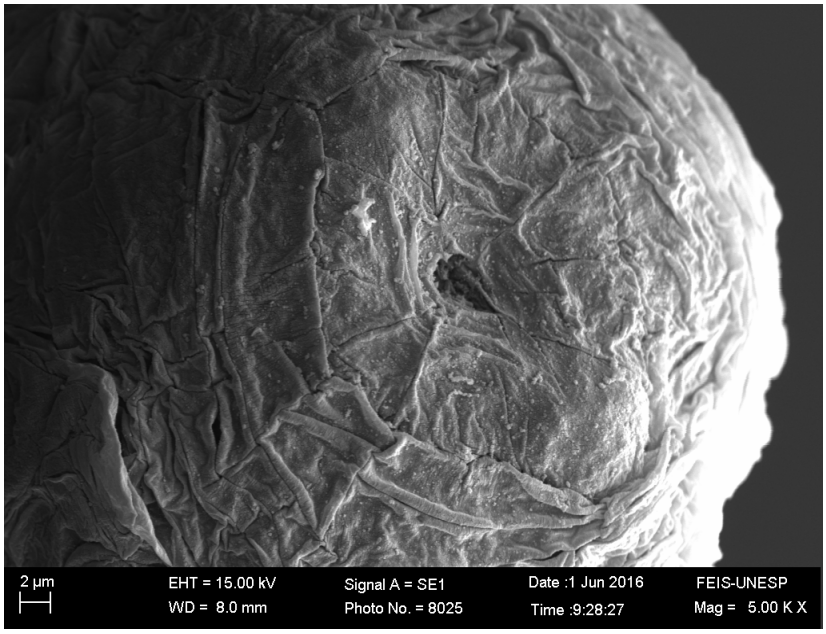


FIGURA 24. Microscopia eletrônica de varredura da porção anterior de *Rhabdias pseudosphaerocephala*, parasita de *Rhinella marina*. Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

D. Filo: AcanthocephalaKohlreuther, 1771

Família: Centrorhynchidae Van Cleave, 1916

Gênero: *Centrorhynchus* Luhe, 1911

Espécie: *Centrorhynchus* sp.

Estágio: Cistacanto e adultos

Sítio de infecção: Fígado, estômago, mesentério e músculo

Hospedeiro: *Rhinella marina*

Descrição: troco liso ecilíndrico. Probóscide cilíndrica com a constrição em inserção com o receptáculo da probóscide, com 28 a 30 linhas longitudinais de 20 a 23 ganchos, 8 a 11 ganchos rodeados e 10 a 13 espinhos sem raiz. Ganchos apicais entre 40 e 60 longos, ganchos rodeados 35 a 50 longos. Receptáculo com probóscide com parede dupla.

Referência: Campião et al., 2014, Santos & Amato, 2010.

E. Filo: Arthropoda von Siebold, 1848

Sub Ordem: Acari

Família: Ixodidae Koch, 1844

Gênero: *Amblyomma* Koch, 1844

Espécie: *Amblyomma dissimile Koch, 1844*

Estágio: Adultos e ninfas

Sítio de infecção: Epiderme

Hospedeiro: *Rhinella marina*

Descrição: Macho: escudo castanho-escuro, com manchas esbranquiçadas ou acobreadas, dando a região anterior aspecto de um pseudo-escudo fêmea; sulco marginal ausente; fórmula dentária 3/3; coxa I com dois espinhos curtos, separados, o externo mais longo, não ultrapassando a metade da altura da coxa; coxas II-III com dois espinhos, sendo o interno menor; coxa IV com dois espinhos, o externo moderadamente longo e afilado igual ou menor que a metade do comprimento do artículo e o interno curto. **Fêmea:** escudo ornamentado com manchas longitudinais acobreadas nos campos laterais e entre os sulcos cervicais, com doze pontuações muito grandes e profundas, principalmente atrás dos olhos, entremeadas por outras menores que também estão presentes na região mediana central; a mancha acobreada central é bem evidente e se estende até o bordo posterior; fórmula dentária 3/3; coxa I com dois espinhos curtos, fortes e separados, o externo ligeiramente maior que o interno; coxas II-IV com dois espinhos, sendo que o interno das coxas III e IV é reduzido a um tubérculo.

Referências: Luz et al., 2015; Onofrio, 2007.

Espécie: *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844

Estágio: Adultos e ninfas

Sítio de infecção: Epiderme

Hospedeiro: *Rhinella marina*

Descrição: Fêmea: escudo ornamentado com manchas suaves nas laterais e na região central, sendo mais esbranquiçadas no bordo posterior, com poucas pontuações grandes, concentradas principalmente nas porções laterais anteriores, e outras pequenas, mais

numerosas; áreas porosas médias transversalmente alongadas e separadas; córnuas ausentes; fórmula dentária 3/3; coxa I com dois espinhos subiguais, curtos e arredondados; coxas II-IV com dois espinhos, também arredondados.

Referências: Luz et al, 2015**,** Onofrio, 2007.

FIGURA 25. Fêmea do gênero *Amblyomma* encontrada parasitando a epiderme de *Rhinella marina*. Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

FIGURA 26. Macho do gênero *Amblyomma* encontrado parasitando a epiderme de *Rhinella marina.* Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

FIGURA 27. Ninfa do gênero *Amblyomma* encontrada parasitando a epiderme de *Rhinella marina.* Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

Ordem: Diptera Linnaeus, 1758

Espécie: Não determinada

Estágio: Larvas

Sítio de infecção: Pulmão

Hospedeiro: *Rhinella marina*

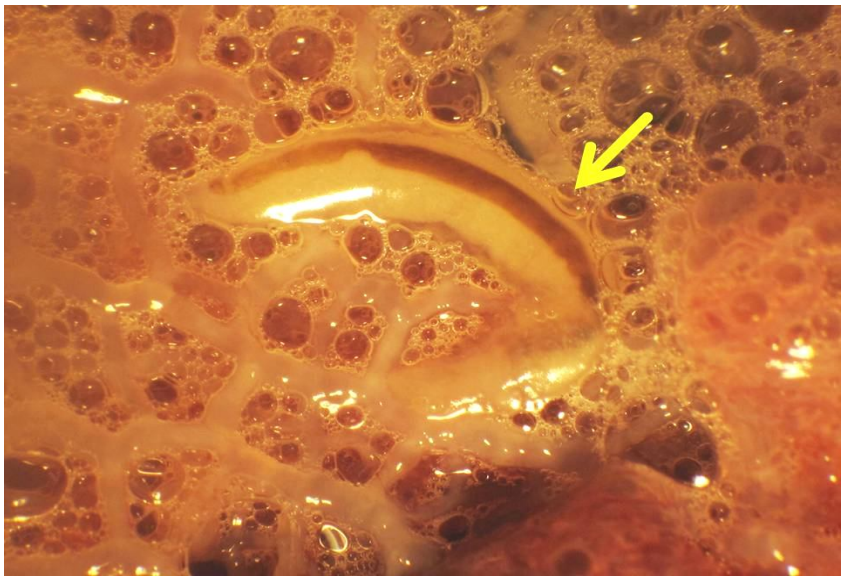


FIGURA 28. Em destaque larva de Diptera parasitando o pulmão de *Rhinella marina.* Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

FIGURA 29. Larva de Diptera fixada após coleta do pulmão de *Rhinella marina*. Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM.

Discussão

Anuros desempenham um papel importante nasteias alimentares. Eles atuam como predadores ou como presas, e conectam ambientes aquáticos e terrestres (Whiles, et al, 2006).

Para Plasota (1969), diferenças do biótopo e tipo de nicho dos anuros é importante na composição alimentar, consequentemente variando sua composição parasitária. A distribuição das larvas nos ambientes estudados demonstrou diferença entre os grupos parasitas encontrados. Nesta fase, *Hypsiboas cinerascens* e *H. geographicus* apresentaram uma maior riqueza e abundância de parasitas do que *Rhinella marina*. Isso pode ser explicado pelo fato das duas espécies de hilídeos habitarem poças, ambientes complexos que abrigam uma alta riqueza de grupos taxonômicos (peixes, répteis, invertebrados). Junto com todos os organismos ali presentes, está a sua composição parasitária (Anjos et al., 2013). Por outro lado, a menor riqueza aquática observada na lagoa pode ser reflexodo ambiente artificial e antropizado, sendo assim, a riqueza pode ser um pouco mais limitada.

Aalta prevalência de infecção por trematódeos digenéticos nos girinos de *H. cinerascens* pode estar relacionada ao tipo de habitat ocupado pela espécie, as poças temporárias. Estes locaispossuem uma quantidade menor de água, com presença de matéria orgânica, o que propicia uma riqueza maior de invertebrados como moluscos gastrópodes, que são hospedeiros obrigatórios dentro do grupo (Thatcher, 1996).Dentre os organismos disponíveis no ambiente, os girinos, por possuírem uma fina pele de fácil penetração são os hospedeiros mais vulneráveis visto que passam grande parte do seu desenvolvimento nas poças, por esta razão podem estar atuando como hospedeiros intermediários desses parasitas no local

Entretanto, não se pode ignorar o fatode que dentro de uma espécie de hospedeiro, a susceptibilidade a uma espécie particular de cercarias pode depender de um número de fatores, incluindo o genótipo do hospedeiro, habitat, ou história de infecção (Krist et al., 2000; Mouritsen, 2001; Dybdahl e Krist, 2004). As larvas de digenéticos são muitas vezes generalistas durante sua infecção (Combes et al., 1994), nadando ativamente através da coluna d'água, onde detectam hospedeiros por sinais físicos e químicos (Cohen et al., 1980; Campbell, 1997). Estando os girinos de *H. cinerascens* e *H. geographicus* presentes em um ambiente propício para a disseminação destes parasitos,

há chance destes estarem atuando como hospedeiros intermediários para as cercarias e posteriormente para as metacercárias como visto aqui nos jovens de *H. cinerascens*.

A não ocorrência das formas larvais de trematódeos digenéticos nos adultos de *H. cinerascens* e nos jovens e adultos de *H. geographicus*, contrastada com a alta prevalência de metacercárias (36,36%) nas larvas de *H. cinerascens*. Isso pode ser explicado pelo fato de queos adultos dessas duas espécies de hilídeos não terem hábitos aquáticos, permanecendo a maior parte da vida em árvores e vegetações próximas a corpos d´água (Lima et al, 2012). A partir desta premissa, acredita-seque estes animais estão menos suscetíveis as infecções por parasitas que necessitam de água ou solo para infectar um novo hospedeiro: como por exemploos moluscos, primeiros hospedeiros intermediários de trematódeos digenéticos (Thachter, 1996).

Por outro lado, *Rhinella marina* é uma espécie de hábito terrestre permanecendo em contato direto com muitos grupos de parasitos. Esta estava infectada por larvas e adultos de digenéticos, sendo os adultos, pertencentes ao gênero *Pseudosonsinotrema*. Becharal e Vélez (2010) também registraram espécimes deste gênero parasitando o intestino de *R. marina*, na Colômbia, mas tratava-se de *P. chabaudi* Caballero e Caballero, 1969. Logo, não podemos afirmar que os indivíduos encontrados no presente estudo são da mesma espécie já registrada.

Os nematoides *Gyrinicolla chabaudi*, estiveram presentes apenas nafase larval dos anuros, não sendo encontrados, para os espécimes estudados, em indivíduos adultos. Duellman e Trueb (1944) detalharam que durante a metamorfose ocorrem mudanças morfológicas (desenvolvimento das partes bucais) e comportamentais nos girinos. De acordo com os autores, na fase inicial de desenvolvimento, no estágio 23, e na fase em que a boca está completamente formada, no estágio 25, o animal começa a se alimentar. Neste momento, sob o ponto de vista parasitológico, o animal já pode ingerir ovos e larvas de parasitas, aumentando a chance de infectar-se. No decorrer do desenvolvimento larval, estes anfíbios anuros abrigam parasitas que se desenvolvem em um curto espaço de tempo. O sistema digestivo dos anfíbios é morfologicamente simples e na fase larval, este é muito fino e enrolado, reduzindo assim o número potencial de nichos disponíveis para a exploração e condições favoráveis de evolução dos parasitas (Aho, 1990). Tais fatos podem justificar a presença do nematódeo *G. chabaudi* apenas nas larvas dos anuros.

Pryor (2005) sugere que nematoides pertencentes ao gênero *Gyrinicola* são simbiontes intestinais fermentativos, e os descreve como mutualistas em larvas de

Lithobates catesbeianus. O nível de atividade, a digestão e o metabolismo dos anfíbios são regulados pela temperatura ambiental, devido sua ectotermia (Barton, 1999). Nematoides intestinais que habitam as regiões fermentativas do intestino de outros herbívoros ectotérmicos também podem ter um efeito benéfico sobre a digestão e nutrição nesses hospedeiros (Pryor, 2005). Neste estudo, apenas na região fermentativa do intestino foram encontrados parasitas nematoides, juntamente com protozoários do gênero *Nyctotherus* sp. que atuam no sistema digestivo das larvas. Estes possuem a capacidade de digerir e converter celulose em energia, facilitando sua metabolização no hospedeiro (Noblet e Yabsley, 2001). Tais informações evidenciam que *G. chabaudi* potencialmente atua como um simbionte fermentativo nos girinos, como propôs Pryor (2005).

Para completar seu ciclo biológico, *Gyrinicola* têm que se desenvolver rapidamente, pois a partir do estágio 25-26, as fêmeas já possuem ovos, estes são liberados no ambiente para que um novo ciclo tenha início. O desenvolvimento de *Gyrinicola* deve ser acelerado pela ação dos hormônios responsáveis pelo crescimento das larvas, proporcionando ao helminto também uma maior absorção de nutrientes (Fabio, 1999). A partir do estágio 40 não foram mais encontrados parasitas, indicando que os espécimes não conseguem sobreviver no hospedeiro, este fato está relacionado ao crescimento do animal (metamorfose) e diferenciação dos tecidos, onde ocorrem severas mudanças tanto na morfologia como na alimentação, e tipo de hábitat. No estágio 41, o clímax da metamorfose, começa a degeneração do bico córneo da larva para o desenvolvimento das maxilas do adulto e o girino é incapaz de se alimentar (Duellman & Trueb, 1994). Logo as larvas estão sem parasitos com a impossibilidade de se alimentar, não estando mais propícios a novas infecções pelo nematódeo *Gyrinicola*, sendo inviável a persistência deste helminto até a fase adulta.

O gênero *Gyrinicola* depende exclusivamente das larvas de anfíbios para completarem seu ciclo de vida (Pryor, 2005). Todos são parasitas exclusivos do intestino de girinos, não sendo encontrada até o momento na fase adulta (Pryor e Greiner, 2004).

A presença dos nematoides *Cosmocerca* sp., *Aplectana* sp., e *C. brasiliensis* encontrados nas três espécies de anuros na fase adulta, provenientes do ambiente arborícola e terrestre pode ser explicada pelo fato destes parasitos apresentarem ciclo de vida do tipo monoxênico, não necessitandode hospedeiro intermediário. Neste caso, haveria uma maior facilidade para a infecção e desenvolvimento, pois estes penetram

ativamente pela pele do hospedeiro, ou ovos e larvas podem ser ingeridos pelos hospedeiros (Anderson, 2000). Tais fatos explicam a maior prevalência de Cosmocercídeos em *R. marina*, 66,6%, pois a espécie possui um hábito de forrageamento terrestre (Lima et al, 2012), e por incluir em sua dieta um número maior de invertebrados terrestres, consequentemente estando mais exposta a infecção por nematoides.

Assim como nos Cosmocercídeos, a infecção por *Rhabdias* é semelhante. Neste estudo, das três espécies apenas *R. marina*, estava infectada por nematoides nos pulmões (*Rhabdias pseudosphaerocephala*). Os rhabdiasídeos alternam entre um ciclo de vida livre e outro parasitário, sendo as fêmeas partenogenéticas estando as formas parasitárias infectantes nos pulmões de seus hospedeiros (Anderson, 2000). *Oswaldocruzia* sp., também foi encontrada apenas em espécimes de *R. marina*. Este gênero, abriga cerca de 88 espécies e na região Neotropical há registro de 39 que parasitam sapos, lagartos, salamandras e raramente serpentes (Guerrero, 2013). As espécies mais recentes foram descritas em *R. marina* no Peru, *O. manuensis,* e *O. urubambaensis* por (Guerrero, 2013). Os espécimes coletados neste estudo continuarão sendo analisados a fim de se obter uma melhor identificação taxonômica.

Ochoterenella sp., que ocorreu em apenas um indivíduo de *H. geographicus,*foi um gênero descrito originalmente por Caballero, em 1944, que posteriormente descreveu a espécie *O. digiticauda*, coletados em indivíduos de *R. marina* no México, encontrados parasitando a cavidade celomática da espécie. Devido a baixa prevalência de espécimes de *Ochoterenella* encontradas nas amostras, por se tratar de um hospedeiro diferente e pela ausência de dados morfométricos, não podemos afirmar que o indivíduo encontrado se trata de *O. digiticauda*. Entretanto, é necessário um estudo aprofundado confirmação deste dado, já que *R. marina,* o hospedeiro tipo, ocorre no local onde o gênero foi coletado.

Acanthocephala foi o segundo grupo com menor prevalência, corroboraa estudos que relatamsuamenorfrequência em anfíbios, comoo de Smales (2007). Os espécimes encontrados foram identificados como *Centrorhynchus* sp., o gênero apresenta espécies cujos adultos são parasitas de aves e mamíferos, seus hospedeiros intermediários podem ser coleópteros ou ortópteros, tendo como hospedeiros paratênico anfíbios anuros (Torres e Puga, 1996), isso explica a grande quantidade de espécimes encistados em tecidos dos anuros coletados. Segundo Baer (1961) pode existir um hospedeiro de espera facultativo, que é um réptil, podendo desenvolver as formas de *Acanthor* e

Acanthella, até atingirem o intestino do hospedeiro definitivo onde se desenvolverão na forma adulta.

Dentre os artrópodes parasitas de vertebrados, os carrapatos são um grupo comumente encontrados na família Bufonidae. Até o momento seis espécies foram registradas parasitando anuros do gênero *Rhinella* no Brasil: *Amblyomma dissimile* e *A. rotundatum*, e *A. fuscum, A. goeldii¸ A. humerali e A. cajennense* (Barros-Battestti et al., 2006). Neste estudo, o parasitismo em *R. marina*, apresentou alta prevalência (77,7%) estando, os indivíduos mais infestados pelo grupo, magros e com os órgãos internos diferenciados dos indivíduos menos parasitados. Os carrapatos podem causar lesões nos sapos durante o período de atividade no hospedeiro, diminuindo a imunidade do animal, podendo levá-lo a óbito (Antonucci et al., 2012; Aragão, 1936). Um estudo com infestações experimentais de *A. rotundatum* em *R.marina*, revelaram que a ocorrência de morte dos hospedeiros é comum (Aragão, 1936; Oba e Schumaker, 1983), o que corrobora com a teoria de Lampo e Bayllss (1996) que sugerem que carrapatos podem regular a densidade de *R. marina* na natureza.

Porém, o objetivo deste trabalho não foi avaliar a sanidade dos animais coletados, desta maneira não podemos afirmar que estes mostraram debilidade e alterações fisiológicas devido ao parasitismo por *Amblyomma.*

Outro grupo de invertebrados frequentemente encontrado em anuros, são os dipteras. A invasão das larvas desta ordem em tecidos de vertebrados é bem documentada principalmente em mamíferos e aves, com a mais frequente forma sendo a miíase dérmica (Hall e Farkas, 2000). Anfíbios em todo o mundo são parasitados por larvas de inúmeras espécies de Diptera, no entanto esta é uma área pouco estudada na biologia do grupo (Hagman et al., 2005). Durante a análise feita nos anuros foram encontradas cinco larvas de Diptera parasitando o pulmão de apenas um indivíduo de *R. marina*. Como não foi encontrada nenhuma lesão na pele, acredita-se que estas larvas infectaram o hospedeiro pelas narinas até atingirem os pulmões. Durante o levantamento bibliográfico não foi encontrado registros de larvas de Diptera parasitando pulmão de *R. marina* na região Amazônica.

Considerações finais

Os dados analisados durante os dois anos de coleta demonstraram que espécies parasitas diferem nas duas fases de vida de *H. cinerascens*, *H. geographicus* e *R. marina* desde a fase larval até a fase adulta, nos três ambientes amostrados.Com isso, podemos compreender que a riqueza entre as duas fases de desenvolvimento dos anuros são bem distintas. Durante o processo de metamorfose até a fase adulta o animal transporta grupos de parasitas, conectando-os entre o ambiente terrestre e aquático diferindo nas duas fases de vida do grupo.

Este trabalho é o primeiro até o momento que descreve este tipo de interação na região, contribuindo assim, com novos registros e novas informações sobre estudos parasitológicos na Amazônia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHO, J.M. 1990. **Helminthes communities of amphibians and reptiles: comparative approaches to understanding patterns and process**. In: Parasite communities: patterns and process. ESCH, BUSH &AHO (Org). Chapman and Hall, London and New York, p.157-190.

AMATO, J. F. R., BOEGER, W.A., AMATO, S. B. 1991. **Protocolos para laboratório- Coleta e processamento de parasitos de pescado.** Imprensa Universitária: Rio de Janeiro.

ANDERSON, R. C. 2000. **Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission.** New York, CABI Publishing, p. 650.

ANDERSON, R., CHABAUD, A. WILLMOTT, S. 2009. Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates: Archival Volume, Wallingford, CABI.

ANJOS, C.S. **Os parasitos de peixes de igarapés da Reserva Florestal Ducke, Manaus, Amazonas.** Dissertação (Mestrado). Instituto nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2010.

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

ANTONUCCI, AM, FABRÍCIO HO, LUCIANA S, NATALIA FS, MÁRCIA C M.2012. Parasitismo de Amblyomma rotundatum (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) em *Rhinella schneideri* (Werner, 1894) (Anura: Bufonidae) no estado do Paraná, Brasil. **Natureza Online**, v. 9, p. 103-5.

ARAGÃO, H.B. 1936. Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, p. 759-843.

BACCARO, F. B.; OLIVEIRA, M.L.; BRAGA-NETO, R.; MAGNUSSON, W.E. 2008. Reserva Ducke. A biodiversidade amazônica através de uma grade. Manaus. Áttema Design Editorial.

BAKER, M.R. 1987. Synopsis of the Nematoda parasitic in amphibians and reptiles. **Memorial University of New foundland, Occasional Papers in Biology,** v. 11, p. 1 –325.

BARROS-BATTESTI, D.M, ARZUA, M, BECHARA, G.H. 2006. **Carrapatos de importância médico- veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD/Butantan.

BARTON, 1999. Ecology of helminth communities in tropical Australian amphibians. **International JournalforParasitology**, v. 29, p.921-926.

BECHARA, M.,Vélez, I. 2010. Algunos digéneos de *Rhinella marina* (Anura: Bufonidae) en Colombia Some. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 81, p. 39-42.

BELYEA, L. R., LANCASTER, J. 2002. Inferring landscape dynamic of bog pools from scaling relationships and spatial patterns. **Journal of ecology**, v. 10, p.223-234.

BEN SLIMANE, B, M. C. DURETTE-DESSET. 1996. Four new species of *Oswaldocruzia* (Nematoda: Trichostrongylina, Molineiodea) parasiting amphibians and lizards from Ecuador. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.** 91, p.317–328.

BROOKS, D.R. 1976. Five species of Platyhelminths from *Bufo marinus*L. (Anura: Bufonidae) in Colombia with descriptions of *Creptotremalynchi* sp. n. (Digenea: Allocreadiidae) and *Glypthelmins robustus* sp. n. (Digenea: Macroderoididae). Journal of Parasitology, v. 62, p. 429–433.

BURSEY, C. R.; GOLDBERG, S. R.; PARMELEE, J. R. 2001. Gastrointestinal helminths of 51 species of anurans from Reserva Cuzco Amazónico, Peru. **Comparative parasitology**, v. 68, p.21-35.

BUSH, A.O., LAFFERTY, K.D., LOTZ, J.M.; SHOSTAK, A.W. 1997. Parasitology meets ecology in its own terms: Margolis et al revisited. Journal of Parasitology v.83, p. 575-583.

CAMPIÃO, K. M.,MORAIS, D. H., DIAS, O. T. , AGUIAR, A., TOLEDO, G., L. E. TAVARES, R., and SILVA, R. J.2014. Checklist of Helminth parasites of Amphibians from South America. **Zootaxa**, v. 3843, p. 1-93.

CAMPOBASSO, C. P.; G. DI VELLA & F. Introna. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. **Forensic Science International**, v. 120, p.18–27

CHANDRA, P., GUPTA, N. 2007. Habitat Preference and Seasonal Fluctuations in the Helminthofauna of Amphibian Hosts of Rohilkhand Zone, India. **Asian Journal of Experimental Sciences**, v. 21, p. 69-78.

CHOUDHURY, A. & DICK, T.A. 2000: Richness and diversity of helminth communities in tropical freshwater fishes: empirical evidence. **Journal Biogeography,** v. 27, p. 935–956.

COMBES, C., A. FOURNIER, H. MONE., A. THERON. 1994. Behaviors in trematode cercariae that enhance parasite transmission: patterns and processes. **Parasitology**, v. 109, p.S3-S13.

DARE, O.K, NADLER, S. A, FORBES, M.R. 2008. Nematode lungworms of two species of anuran amphibians: evidence for co-adaptation. **Institute Journal Parasitological**, v. 38, p. 1729-1736

DIAS-GRIGÓRIO, M.K.R. 2013. **Diversidade parasitária e relação parasita-hospedeiro em *Colossomama cropomum* e seu híbrido Tambatinga cultivados**

em Macapá, Estado do Amapá. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Amapá, Macapá, 99 pp.

DUELLMAN, W.E., TRUEB, L. 1994. **Biology of Amphibians.** Ed. Johns Hopkins, New York.

DURETTE-DESSET, M.C.1983. **Keys to the genera of the superfamily TrichostrongyIoidea.** *In*:Anderson, R.C., Chabaud, A.G. & Willmott, S. (Eds.), CIHKeys to the Nematode Parasites of Vertebrates. Commonweth Agricultural Bureaux, Farnham Royal Bucks, England, v. 10, 86 pp.

DUSZYNSKI, D.W., M.G. BOLEK y S.J. UPTON. 2007. Coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) of amphibians of the world. **Zootaxa**, p.67-77.

DYBDAHL, M.F., KRIST, A. 2004. Genotypic vs. condition effects on parasite-driven rare advantage. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 17 p. 967-73 ·

DYER, W. G. 1986. Cestodes of some Ecuadorian amphibians and reptiles. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 53 p. 182–183.

DYER, W.G. & ALTIG, R. 1976.Redescription of *Cosmocerca brasiliensis* Travassos 1925. (Nematoda: Cosmocercidae) from Ecuadorian Frogs. **The Journal of Parasitology**, v. 62, p. 262-264.

DYER, W.G., ALTIG, R. 1977. Helminths of some ecuadorian anurans. **Herpetologica**, v. 33, p. 293–296.

FABIO, S.P. 1982. Helmintos de populações simpátricas de algumas espécies de anfíbios anuros da família Leptodactylidae. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, v. 5, p. 69–83.

FÁBIO, S.P. 1999. **Helmintofauna de adultos e larvas de *Hyla geographica* Spix, 1824 (Amphibia, Anura, Hylidae)**. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Instituto de Biociências de Botucatu. 1999.

FOLMER, O, BLACK, M, HOEH, W, LUTZ R, VRIJENHOEK R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology of Biotechnology**, v. 3, p. 294–299.

FROST, D. R. 2013. Amphibian Species of the World: an Online Reference. American **Museum of Natural History**, New York, USA.

GASCON, C. 1992. Aquatic predators and tadpoles prey in central Amazonia: Field data and experimental manipulations. **Ecology**, v. 73, p.971–980.

GIBB, H., HOCHULI, D.F. 2002. Habitat fragmentation in an urban environment: large and small fragments support different arthropod assemblages. **Biological Conservation**, v. 106, p.91-100.

GIBBONS, L. 2010. **Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates**. Supplementary Volume. CABI International, Wallingford, U.K., p. 416.

GOATER, T. M., GOATER, C. P. 2001: **Ecological monitoring and assessment network: Protocols form measuring biodiversity: Parasites of amphibians and reptiles**.Disponívelem:http://www.emanrese.ca/eman/ecotools/protocols/terrestrial/herpparasites/intro.htm.

GONÇALVES, A.Q., Vicente, J.J. & Pinto, R.M. 2002. Nematodes of amazonian vertebrates deposited in the helminthological collection of the Oswaldo Cruz Institute with new records. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, p.453–465.

HAMANN, M. I., Kehr, A. I., GONZÁLEZ, C. E. 2006. Species affinity and infracommunity ordination of helminths of *Leptodactylus chaquensis* (Anura: Leptodactylidae) in two contrasting environments from northeastern Argentina. **Journal of Parasitology**, v. 92, p.1171-1179.

HAMANN, M.I. 2003. Seasonal maturation of Catadiscus propinquus (Digenea: Diplodiscidae) in *Lysapsus limellus* (Anura: Pseudidae) from an argentinean subtropical permanent pond. **Physis**, v. 9, p.136-137.

HAMANN, M.I. y A.I. KEHR.1999b. Relaciones ecológicas entre metacercarias de Lophosicya diplostomumsp. (Trematoda, Diplostomidae) y Lysapsus limellus Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) en una población local del nordeste argentino. **Facena**, v. 15, p. 39-46.

HAMANN, M.I., A.I. KEHR. 1999a. Populational dynamics and ecological relationships between *Glypthelmins vitellinophilum* Dobbin, 1958 (Trematoda, Macroderoididae) and the host *Lysapsus limellus* Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) in a semipermanent pond of Argentina. **Physis,** v. 57, p.17-24

HAMANN, M.I., KEHR, A.I. 1998. Variación espacio temporal en infrapoblaciones de helmintos y su relación con las fluctuaciones poblacionales de *Hyla nana* (Anura, Hylidae). **Cuadernos de Herpetología,** v.12, p. 23–33.

HERO, J. M. 1990. An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brasil. **Amazoniana,** v. 11, p.201-262.

HOFF, G. L., F.L. FRYE y E. R. JACOBSON. 1984. **Diseases of ampbhibians and reptiles.** Plenum Press. New York, 784 pp.

HOFFMAN, G.L. 1999. **Parasites of North American Freshwater Fishes**. Second Edition, p. 40.

JUNK W.J., BAYLEY J.B., SPARKS, R.E. 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. pp. 110-127. In: DODGE, D. P. (Ed.). In: Dodge, D.P. (ed). **Proceedings of the International Large River Symposium**. Otawa: Canadian Special Publications on Fisheries and Aquaculture Science p. 106.

JUNK, W. J. 1983. As águas da Região Amazônica. In: **Amazônia: desenvolvimento, integração e ecologia**. Salati, E.; Junk, J. W.; Schubart,H. O. R.; Oliveira, A. E. (eds.) Editora Brasiliense, SP. p. 14 – 44.

KEHR, A.I., MANLY, B.F.J. & HAMANN, M.I. 2000. Coexistence of helminth species in *Lysapsus limellus* (Anura, Pseudidae) from an Argentinian subtropical area: influence of biotic and abiotic factors. **Oecologia**, v. 125, p. 549–558.

KRIST, A.C, JOKELA, J. WIEHN,J, LIVELY, C. M.. 2000. Effects of Host Condition on Susceptibility to Infection, Parasite Developmental Rate, and Parasite Transmission in a Snail-Trematode Interaction. **Journal Evolution Biology**, v. 17, p.33-40.

KUZMIN, Y.; TKACH, V. V.; BROOKS, D. R. 2007 Two new species of Rhabdias (Nematoda: Rhabdiasidae) from the Marine toad, *Bufo marinus* (L.) (Lissamphibia: Anura: Bufonidae), in Central America. **Journal of Parasitology**, v.93, p.159-165.

LAMPO,M., P. BAYLISS. 1996. The impact of ticks on *Bufo marinus* from native habitats. **Parasitology**, v. 113, p. 199–206.

LAURANCE, W.F.; LOVEJOY, T.E.; VASCONCELOS, H.L.; BRUNA, E.M.; DIDHAM, R.K.; STOUFFER, P.C.; GASCON, C.; BIERREGAARD, R.O.; LAURANCE, S.G. & SAMPAIO, E. 2002. Ecosystem decay of Amazonian forest fragments: A 22-year investigation. **Conservation Biology**, v. 16, p. 605-618

LIMA,A.P., MAGNUSSON, W.E., MENIN, M., ERDTMANN, K.L., RODRIGUES, D.J., KELLER, C., HÖDL, W. 2012. **Guiade sapos da Reserva Adolpho Ducke**, 2ª edição. Editora INPA, Manaus, Brasil.

LUZ H.R., FACCINI J.L.H. & SILVA H.R.2015. Patterns of parasitism by *Amblyomma rotundatum* (Ixodidae) on *Rhinella schneideri* (Bufonidae) in islands of São Francisco River, Minas Gerais, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35. p. 579-582.

MCCALLUM, H., DOBSON, A. 1995. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. **Trends Ecology Evolution**. v. 10, p.190-194.

MCKENZIE, V.J. 2007. Human land use and patterns of parasitism in tropical amphibian hosts. **Biology Conservation**., v. 137, p. 102-116.

MELO, F.T., GIESE, E.G., FURTADO, A.P., SOARES, M.J., GONÇALVES, E.C., VALLINOTO, A.C.R., SANTOS, J.N. 2011.Lanfrediellaamphicirrus n. gen. n. sp. Nematotaeniidae (Cestoda: Cyclophylidea), a tapeworm parasite of *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758) (Amphibia: Bufonidade). **Memórias do lnstituto Oswaldo Cruz,**v. 106, p. 670–677.

MENDONÇA, F.P.; MAGNUSSON,W.E.; ZUANON, J. 2005. Relationships between habitat characteristics and fish assemblages in small streams of Central Amazon. **Copeia**, p.750-763.

MENIN, M & GIARETTA, A.A. 2003. Predation on foam nests of leptodactyline frogs (Anura: Leptodactylidae) by larvae of *Beckeriella niger* (Diptera: Ephydridae). **Journal of zoology**, v. 263, p.239-243.

MOURITSEN KN 2001. Hitch-hiking parasite: a dark horse may be the real rider. **Internacional Journal Parasitology,** v. 31, p.1417-1420.

NEWMAN, R. A. 1992. Adaptive plasticity in amphibian metamorphosis. **BioScience,** v.42, p.671-678.

NOBLET, G.P., YASBLET, M. J. 2001. The Good and the Bad: Symbiotic Organisms From Selected Hosts. Department of Biological Sciences Clemson University.

OBA, M.S.P., T. T. S. SCHUMAKER. 1983. Estudo da biologia de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844), em infestaçoes experimentais de *Bufo marinus* (Linnaeus, 1758) sob condições variadas de umidade relativa e de temperatura do ar. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 48, p.195–204.

ONOFRIO, V.C. 2007. Revisão do Gênero *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) no Brasil. Tese. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2007.

PAZIN, V.F.V. 2004. **Assembléias de peixes em poças temporárias marginais a riachos de terra-firme, Amazônia Central**. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Manaus,Amazonas.

PLASOTA, K. 1969. The effect of some ecological factors on the parasitofauna of frogs. **Acta Parasitologica Polonica**, v. 16, p.47-60.

POULIN, R. 2007. Are there general laws in parasite ecology. **Parasitology**, v. 134, p.763-776.

POULIN, R., MORAND, S. 1999. Geographical distance and the similarity among parasite communities of conspecific host populations. **Parasitology**, v. 119, p. 369-374.

POULIN, R.; MORAND, S. 2004. **Parasite Biodiversity**. Washington, Smithsonian Books, viii, 216p.

PRYOR G.S, GREINER E.C. 2004. Expanded geographical range, new host accounts, and observations of the nematode *Gyrinicola batrachiensis* (Oxyuroidea: Pharyngodonidae) in tadpoles. **Journal Parasitology**, v. 90, p.189–191.

PRYOR, G. S., K. A. BJORNDAL. 2005. Effects of the nematode *Gyrinicola batrachiensis* on development, gut morphology, and fermentation in bullfrog tadpoles (Rana catesbeiana): A novel mutualism. **Journal of Experimental Zoology,** v. 303A, p.707–712.

RODRIGUES, H.O., RODRIGUES, S.A. 1971. Sobre um novo gênero e nova espécie da subfamília Oxyascaridinae Freitas, 1958 (Nematoda, Subuluroidea). **Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**, v. 15, p.15–17.

RODRIGUES, H.O., RODRIGUES, S.S., CRISTOFARO, R. 1982. Contribuição ao conhecimento da fauna helmintológica de Barra do Piraí, estado do Rio de Janeiro. **Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**, v. 23, p. 5–8.

SANTOS, J.N., GIESE, E.G., MALDONADO Jr, A. & LANFREDI, R.M. 2008. A new speciesof *Oswaldocruzia* (Molineidae: Nematoda) in *Chaunusmarinus* (Amphibian: Bufonidae) (Linneaus, 1758) fromBrazil. **Journal of Parasitology**, v. 94, p. 264–268.

SANTOS, J.N., Melo, F.T.V., NASCIMENTO, L.C.S., NASCIMENTO, D.E.B., GIESE, E.G. & FURTADO, A.P. (2011) *Rhabdias paraensis* sp. nov.: a parasite of the lungs of *Rhinella marina* (Amphibia: Bufonidae) fromBrazilianAmazonia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 433–440

SANTOS, V. G. T.; AMATO, S. B. Helminth fauna of Rhinella fernandezae (Anura: Bufonidae) from the Rio Grande do Sul coastland, Brazil: analysis of the parasite community. 2010. Journal of Parasitology, v. 96, p. 823-826.

SCHAEFER, E.F. & A.I. KEHR. 2006. *Bufo bergi* (NCN). Reproduction. **Herpetological Review**, p.37-334.

SERRA-FREIRE, N. M. 2002. **Planejamento e análise de pesquisas parasitológicas**. Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil. 199 pp.

SMALES, L.R. (2007) Acanthocephala in amphibians (Anura) and reptiles (Squamata) from Brazil and Paraguay with description of a new species. **Journal of Parasitology**, v. 93, p. 392–398.

FREITAS, J.F.T. 1958. Breve nota sobre alguns nematódeos de répteis e anfíbios. Atas da Sociedade de Biolologia do Rio de Janeiro, p. 35-38.

SOUZA, F.C. 2013. **Parasitofauna de duas espécies de girinos *Osteocephalus taurinus* Steindachener, 1862 e *Hypsiboas geographicus*, (Spix 1824) associadas**

a poças temporárias e ao igarapé Barro Branco da Reserva Florestal Ducke, Amazônia Central. Monografia. Centro universitário do Norte, 2013.

SOUZA-PINTO, F. C. FRANÇA, I,F.and MELLO-PATIU, C,A. 2015. Brief description of myiasis cases in three amphibian species from Atlantic Forest located in the central region of the State of Minas Gerais, Brazil. **Herpetology notes**, v. 8, p. 287-290.

SPINELLI, G.R.; E.F. SCHAEFER y A.I. KEHR. 2002. First record of Biting Midges (Diptera: Ceratopogonidae) Attacking Frogs in the Neotropical Region. **Proceedings of the Entomological Society of Washington,**v. 104, p.527-528.

SULLIVAN, J. J. 1971. *Pseudosonsinotrema echinophallus* sp. n. (Digenea: Pleurogenidae), a new Trematode from *Rana pipiens*Schreber in Costa Rica. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 38, p.34-37.

THATCHER, V.E. 1993. **Trematódeos Neotropicais**. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas, Brasil. 553 pp.

TINSLEY, R.C. 1995. Parasitic diseasse in amphibians: control by the regulation of worm burdens. **Parasitology**, v. 111, p.153-178.

TODD, B.D. 2007. Parasites lost? An overlooked hypothesis for the evolution of alternative reproductive strategies in Amphibians. **The American Naturalist**, v. 170, p.793-799.

TORRES, P. & S. Puga. 1996. Occurence of cystacanths of Centrorhynchus sp. (Acantocephala: Centrorhynchidae) in toads of the genus Eupsophus in Chile. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, p. 717-719.

TRAVASSOS, L. & FREITAS, J.F.T. 1964. Pesquisas helmintológicas realizadas em Maicujú Estado do Pará. **Publicações Avulsas do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v. 1, p. 3–16.

TRAVASSOS, L., 1925. Contribuições para o conhecimento da fauna helmintológica dos batráchios do Brasil. Nematódeos intestinais. **Scientia Medica**, v. 3, p. 673-687.

TRAVASSOS, L. 1932. Nota sobre Strongyloides. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 4, p.39–40.

TRAVASSOS, L.; FREITAS, J.F.T., KOHN, A. 1969. Trematódeos do Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 67, p. 1-886.

TSUJI-NISHIKIDO, B.M.; MENIN, M. 2011. Distribution of Frogs in Riparian Areas of an Urban Forest Fragment in Central Amazonia. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 63-70.

VICENTE, J. J., RODRIGUES, H. O. GOMES, D.C., PINTO, R. M. 1991. Nematoides do Brasil. Parte II: Nematoides de anfíbios. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 7, p. 549-626.

WALTON, A.C. 1935. The nematoda as parasites of Amphibia II. **Journal of Parasitology**, v. 21, p.27-50.

WHILES, M. R., K. R. LIPS, C. M. PRINGLE, S. S. KILHAM, R. J. BIXBY, R. BRENES, S.CONNEELLY, J. C. COLON-GAUD, M. HUNTE-BROWN, A. D. HURYN, C. MONTGOMERY, & S. PETERSON. 2006. The effects of amphibian population declines on the structure of Neotropical stream ecosystems. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 4, p.27-34.

WILBUR, H.M. 1997. Experimental ecology of food webs: complex systems in temporary ponds. **Ecology**, v. 78, p.2279-2302.

YAMAGUTI, S. 1958. Systema Helminthum - **The digenetic trematodes of vertebrates**. Part I and II. Interscience Publishers, London, 1575 pp.

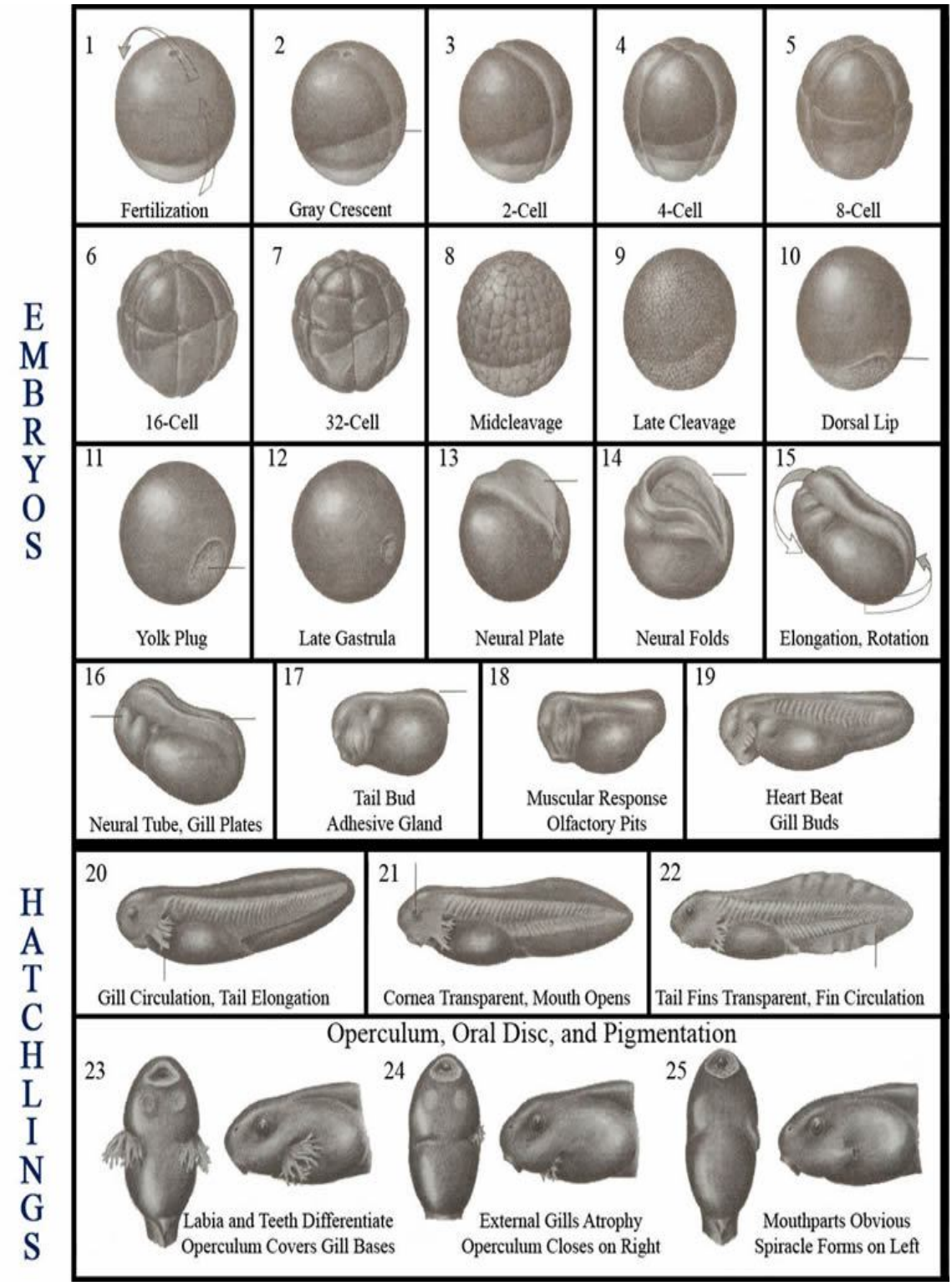
YAMAGUTI, S. 1959.**SystemaHelminthum-Cestodes**. Interscience Publishers, London, 860 pp.

KATTAR, M.R. 1975. Sobre *Trichodina steini* Claparède & Lachmann (Protozoa, Urceolariidae) encontrada em girino de *Bufo ictericus* do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia, v.** 35, p. 253-258.

YAMAGUTI, S. 1961. Systema Heminthum. **The nematodes of vertebrate**. Interscience New York. 679 pp.

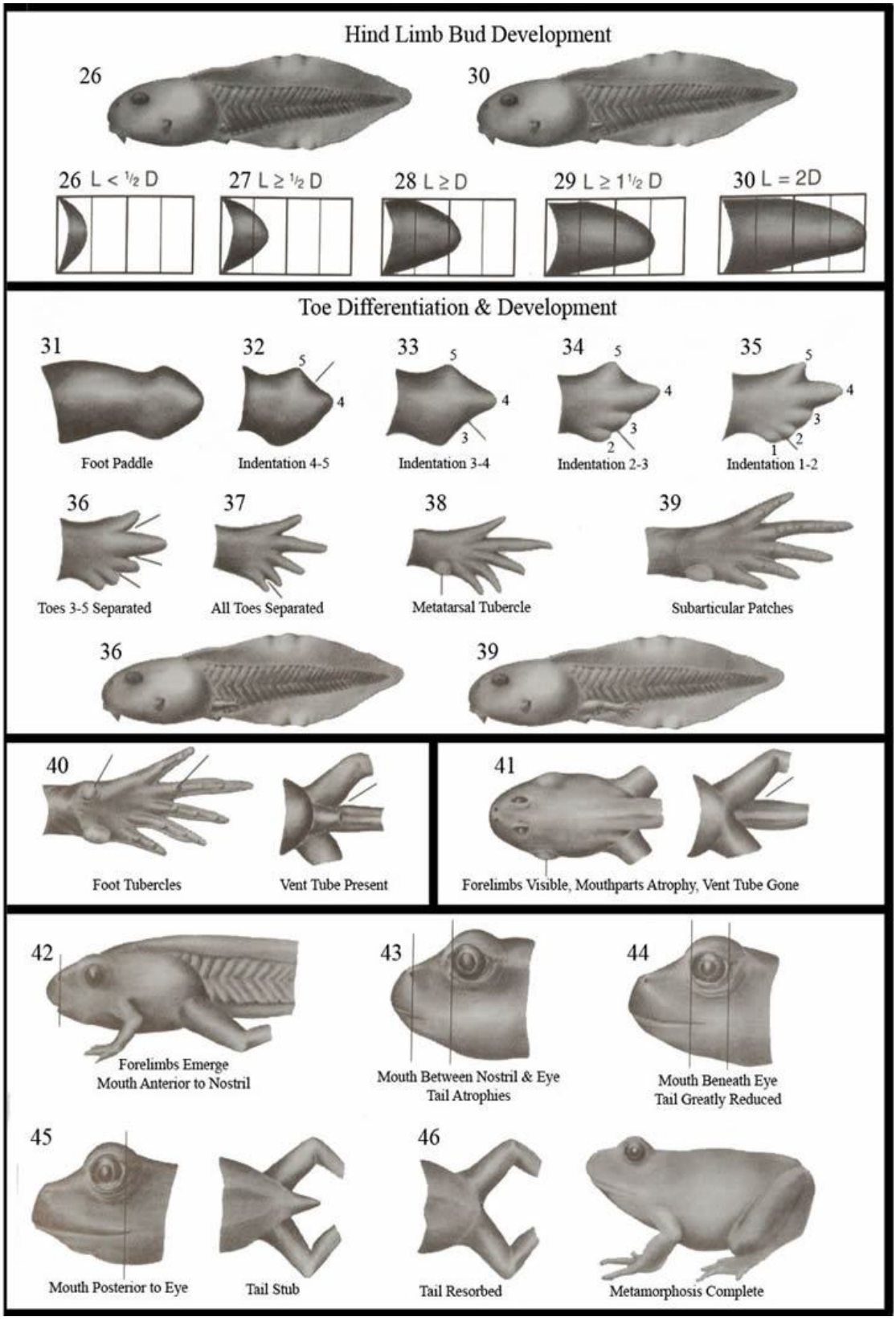
ZUMPT, F. 1965. **Myiasis in man and animals in the Old World**. London, Butterworths.

ANEXO 1


EMBRYOS
HATCHLINGS
1
Fertilization
2
Gray Crescent
3
2-Cell
4
4-Cell
5
8-Cell
6
16-Cell
7
32-Cell
8
Midcleavage
9
Late Cleavage
10
Dorsal Lip
11
Yolk Plug
12
Late Gastrula
13
Neural Plate
14
Neural Folds
15
Elongation, Rotation
16
Neural Tube, Gill Plates
17
Tail Bud
Adhesive Gland
18
Muscular Response
Olfactory Pits
19
Heart Beat
Gill Buds
20
Gill Circulation, Tail Elongation
21
Cornea Transparent, Mouth Opens
22
Tail Fins Transparent, Fin Circulation
Operculum, Oral Disc, and Pigmentation
23
Labia and Teeth Differentiate
Operculum Covers Gill Bases
24
External Gills Atrophy
Operculum Closes on Right
25
Mouthparts Obvious
Spiracle Forms on Left

LARVAE

METAMORPHS



ANEXO 2

Rhabdias pseusphaerocephala **Gene: ITS (parcial)**

TAGGCTTATTGGCTTTTTATTTGGTGATCAACCCCCTGCCTTTAAAACGGTTATAATTGGCGT
CTATACGTACTGCTAACGCTCGCGGACCGTCGACGTGTATTGATCAGTATGCATAGCATTCA
CCAATCTCGTATGTATACTTCGTTGTATATGTGTGAGTGTTGATGGGTGTTAGACTTAATGAA
TATCCGCTCCGGATTTCGCCAATATCATATTTATTGTATCCAAAAACAAAGACTCATTACTAC
TCCTAGTGGTGGATCACTCGGCTCGCAGGTCGATGAAGAACGCAGCTAGCTGCGATAGTTGG
TGCGAATTGCAAACACATTGAGCACTAAACTTTCGAACGCATATTGCGCCGTCGGTTTTTCC
GTCGGCAGGTCTGTCTGAGGGTTACAAACAAGTACTTGCAAGGTAACGCTAGCATGTTGCGT
TATTTTGTTTATCGAGAAGCTCGGTGTGCATGTGTGATATGTGCTAGTGTGTCACACATGTAT
CGTCCTTCTCTGGTTTGTCATTCTCATTGATATATAATCATCTGAATCACAAACACGTGCAAG
TGGTGTTGGCTGGTGTTGGTTGATGATATAATATCATTTTGCAATTGCAACCTCAGATCAGTC
CTGA

Rhabdias pseudosphaerocephala **Gene: 28S (parcial)**

GTTGACGAATTGCCGCGATATTCAGCTGTTTTGCGTGAGCAAAGTGGTGTACTTATCGTCTGT
GTGCGCTGAGAGTCTTGATTGAACATTCTAAACCGTCGTATTTTGTTGCCCGTCGTCTCACGA
TGATGGTGTCTTGTGCGTGCGGGTTGGGATGTTTCGATTAAGTATTTTCGGTGTGAAAGTCGA
CCACCTATCCGACCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTCTAGCGTATGTGCGAGTCATTGG
GTGGTAAACCTATTGGCGTAACGAAAGTAAAGGTCGTTTCTTGCGGCTGATATGGGATCCGT
ACGGTTTCGATCGTGCGGCGCACCATAGCCCTGTCTCGAAGGCTTGCCTTGAGATGGAGGTA
GAGCGCATGCGCTAGGACCCGAAAGATGGTGAACTATACGTGAGCAGGATGAAGCCGGAGG
AAACTCTGGTGGAAGTCCGTAACGGTTCTGACGTGCAAATCGATCGTCTGACTTGCGTATAG
GG

Rhabdias pseudosphaerocephala **Gene: COI**

TGCCCCAGCTAAGACAGGGAAAGATAACACCAATAAAAAAACAGTAACAAACACAGTCCA
AACAAACAAACTTATATTCTCCAAACTAATAGAACTACTACGTAAATTTTTTGTAGTACACA
TAAAATTAATACCTCCTAAAATCGAACTAATACCTGCACAATGTAAACTAAAAATAGCTAAA
TCTACACTTCTACCTGGATGACCTAAAGTTCTCAAAGGAGGATAAACTGTTCATCTAGTACC
ACAACCAGTATCTACAAAACTCGAAACCAAAATTAAAAAAATAGCCGTAGGCAACAATCAA
AAACTCATATTATTTAAACGGGGAAAACTCATATCAGGGGCACCTAATATTAAAGGCAGTAT
TCAATTACCAAAACCTCCAATTATAGTAGGCATAACCATAAAAAAAATTATCAAAATAGCAT
GAGCTGTAATAACAAAATTATACAGCTGACCGTTACCCA