



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
FACULDADE DE BIOMEDICINA

LARIZA OLIVEIRA DE SOUZA

**IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE TREMATÓDEOS PARASITOS DE
INTESTINO DEL GADO DE *PHILANDER OPOSSUM* (LINNAEUS, 1758) DA
AMAZÔNIA PARAENSE**

Belém-Pará

2017

LARIZA OLIVEIRA DE SOUZA

**IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE TREMATÓDEOS PARASITOS DE
INTESTINO DELGADO DE *PHILANDER OPOSSUM* (LINNAEUS, 1758) DA
AMAZÔNIA PARAENSE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Biomedicina da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Penha Furtado

Belém-Pará

2017

LARIZA OLIVEIRA DE SOUZA

**IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE TREMATÓDEOS PARASITOS DE
INTESTINO DELGADO DE *PHILANDER OPOSSUM* (LINNAEUS, 1758) DA
AMAZÔNIA PARAENSE.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Faculdade de Biomedicina da Universidade
Federal do Pará, como requisito parcial para
obtenção do grau de Bacharel em
Biomedicina.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Adriano Penha Furtado – ICB – UFPA(Orientador)

Prof. Dr. Francisco Tiago de Vasconcelos Melo – ICB - UFPA

Prof.^aDr.^a Helrik da Costa Cordeiro – ICB - UFPA

Prof.^aMsc.^a Vera Lucia Coimbra Moreira – LACEN- PA

Belém-Pará

2017

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

Dedico esta monografia a minha família: Joiciane Oliveira de Souza, Claudionor Câmara de Souza, Larissa Oliveira de Souza e em memória dos meus avôs Icilda Assunção de Oliveira e José Ribamar de Oliveira.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por me permitir a conclusão de mais uma importante etapa em minha vida;

Aos meus pais, Joiciane Oliveira de Souza e Claudionor Câmara de Souza, por todo o carinho e dedicação em minha educação. Sempre me incentivando a seguir em frente neste caminho;

À minha irmã Larissa Oliveira de Souza, por todos os anos em que me ajudou em trabalhos escolares e até mesmo em ensinamentos para a vida. Obrigada pelos momentos divertidos entre irmãs;

Aos meus avôs maternos, Icilda Assunção de Oliveira e José Ribamar de Oliveira (in memoriam), por todo o amor e tempo que estivemos juntos;

Aos meus avôs paternos, Gregória Câmara de Souza e Camilo Alves de Souza, pela preocupação em tempos difíceis e pelas melhores refeições em família;

A toda minha família que sempre me apoiou nas minhas decisões e na profissão que escolhi para minha vida;

Ao meu namorado William Tancini por todo companheirismo, incentivo e paciência neste ano corrido. E por me ajudar sempre que preciso;

Aos meus inestimáveis amigos, Izabelly Lucas, Jéssica Fernandes, Alisson Costa, Pedro Gabriel, Isis Liz e Natália Regina que conquistei ao longo dos anos e que sempre permanecem ao meu lado não importando onde esteja;

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Penha Furtado pelo, incentivo, pelos sermões e todo os ensinamentos que me ajudaram na conclusão deste trabalho. Por sempre estar disposto a tirar minhas dúvidas e me guiar ao caminho certo até aqui;

À Prof.^a Dr.^a Jeannie Nascimento dos Santos, pelos momentos de ajuda nas observações e técnicas do laboratório;

Ao Prof. Dr. Francisco Tiago Melo, por suas contribuições nas técnicas, imagens e processamento do material coletado;

À Prof.^a Dr.^a Elane Guerreiro Giese pelo auxílio, nas técnicas e nas microscopias eletrônicas de varredura para análise neste trabalho;

A meus amigos e segunda família do LBCH, Aliane Coelho, Felipe Reis, Yuri Willkens, Ana Nunes, Yago Larrat, Cecília Senna, Bianca Nandyara, Ana Paula, Soraya Machado, Emanuelle Argolo, Allan Rodrigues, Thais Reis, David Fernandez e Caroline Melo pelos conhecimentos que me passaram e sua dedicação é um exemplo para minha vida e profissão;

A Universidade Federal do Pará (UFPA) e o Instituto de Ciências Biológicas (ICB), pelo incentivo e pelos conhecimentos por eles oferecidos;

A Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pelo Laboratório de Histologia e Embriologia Animal, pelas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

E por fim, gostaria de agradecer a todos aqueles que por ventura não foram citados, agradeço imensamente.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 ASPECTOS GERAIS DOS MARSUPIAIS.....	2
1.2 TAXONOMIA E BIOLOGIA DA ESPÉCIE <i>Philander opossum</i> , Linnaeus 1758 (CUÍCA-DE- QUATRO-OLHOS).....	3
1.2.1 Posição Taxonômica da Espécie <i>P. opossum</i>	4
1.2.2 Parasitismo em <i>P. opossum</i>	5
1.3 BIOLOGIA DOS TREMATÓDEOS DIGENÉTICOS.....	5
1.3.1 Ciclo Evolutivo Dos Trematódeos Digenéticos	7
1.4 OBJETIVOS.....	10
1.4.1Objetivos específicos	10
2 ARTIGO	11
3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

RESUMO

A variedade de biomas brasileiros reflete na riqueza da flora e fauna, tornando-as as mais diversas do mundo. Com grande diversidade de mamíferos, dentre eles os roedores, morcegos e marsupiais. Os marsupiais especificamente participam em diferentes níveis tróficos em um ecossistema florestal. O *Philander opossum*, é um marsupial de médio porte pertencente à família Didelphidae, amplamente distribuído pelas florestas tropicais entre o México e a Argentina. Desta forma, sua grande variedade de características ecológicas, conjuntamente à dinâmica populacional de vida mais curto, torna este grupo de mamíferos de grande relevância para estudos ecoepidemiológicos, relacionados a impactos antrópicos em ecossistemas tropicais. O fato deste marsupial possuir uma extrema versatilidade alimentar, o torna mais suscetível a parasitoses intestinais, com mais de 15 helmintos da classe Trematoda listados parasitando este hospedeiro.

Palavras-chave: Marsupiais, Didelphidae, *Philander opossum*, parasitoses.

ABSTRACT

The variety of Brazilian biomes reflects on the richness of the flora and fauna, making them the most diverse in the world. With great diversity of mammals, among them rodents, bats and marsupials. The marsupials specifically participate in different trophic levels in a forest ecosystem. The *Philander opossum*, is a marsupial of medium size belonging to the family Didelphidae, widely distributed by the tropical forests between Mexico and Argentina. In this way, its wide variety of ecological characteristics, together with the population dynamics of shorter life, makes this group of mammals of great relevance for eco-epidemiological studies, related to anthropic impacts in tropical ecosystems. The fact that this marsupial has extreme food versatility makes it more susceptible to intestinal parasitoses, with more than 15 helminths of the class Trematoda listed parasitizing this host.

Key words: Marsupials, Didelphidae, *Philander opossum*, parasitoses.

1. INTRODUÇÃO

A variedade de biomas brasileiros reflete na riqueza da flora e da fauna, tornando-as as mais diversas do mundo. Segundo Reis et al. (2006), o Brasil pode ser apontado como campeão na diversidade de mamíferos dentre os países ocidentais, apresentando 652 espécies já descritas, deste total de espécies aproximadamente 70% ocorrem na Amazônia e provavelmente 59% são endêmicas desta região. Devido a estas informações, observa-se um expressivo desconhecimento quanto à diversidade morfológica e genética dos mamíferos da fauna brasileira (Silva et al., 2001).

Os marsupiais especificamente participam em diferentes níveis tróficos em um ecossistema florestal, como presas, predadores (Malcolm, 1997; Costa, 2002; Lambert et al., 2005) e reguladores de populações de invertebrados (Oliveira et al., 2007). A variedade de características ecológicas, conjuntamente à dinâmica populacional de vida, torna este grupo de mamíferos de grande relevância para estudos ecoepidemiológicos, relacionados a impactos antrópicos em ecossistemas tropicais (Pardini, 2004; Cunha & Vieira, 2002; Dalmagro & Vieira, 2005; Vieira, 2006; Lambert et al., 2006; Umetsu & Pardini, 2007).

A própria atividade humana sobre a biodiversidade é de grande interesse e importância para o homem, pois está relacionada aos aspectos ecológicos das parasitoses em animais silvestres. O crescimento desordenado da sociedade em áreas urbanas e ambientes silvestres podem provocar o contato da população humana com agentes parasitários, antes restritas apenas ao ciclo silvestre (Lafferty, 1997; Giraudoux et al., 2003). Essas alterações do ambiente e as mudanças no comportamento do homem favorecem a emergência e dispersão de parasitas de aspecto zoonótico (Macpherson, 2005). A ocorrência de animais silvestres, particularmente desses pequenos mamíferos, naturalmente infectados em áreas endêmicas por parasitoses, apresenta-se como um fator complicador no controle das zoonoses causadas por protozoários e helmintos, além de agentes infecciosos como vírus e bactérias (Mas-Coma et al., 2008, 2009; Morley & Lewis, 2008; Thatcher, 2006). Pois, muitas espécies desses pequenos mamíferos tornam-se reservatórios naturais de parasitos prejudiciais ao homem. Logo, sendo necessário o entendimento e o monitoramento das populações de roedores e marsupiais silvestres e de seus parasitos. Para a compreensão no estudo da dinâmica da interação parasito-hospedeiro, de grande interesse na saúde humana e animal.

1.1 ASPECTOS GERAIS DOS MARSUPIAIS

Aproximadamente há mais de 100 milhões de anos atrás, os mamíferos divergiram em dois grupos distintos, os mamíferos placentários que incluem os humanos e a maior parte dos mamíferos modernos, e os mamíferos marsupiais que incluem os coalas, cangurus, gambás e outros (Burnie & Wilson, 2001).

Os marsupiais fazem parte da Infraclasse Metatheria, que contém sete ordens: Didelphimorphia, Microbiotheria, Paucituberculata, Dasyurumorphia, Diprotodontia, Deramelemorphia e Notoryctemorphia (Gardner, 2005). Na América do Sul, são conhecidos apenas três dessas ordens: Ordem Paucituberculata com 1 família e 6 espécies, Ordem Microbiotheria com apenas uma espécie e a Ordem Didelphimorphia composta por marsupiais de pequeno porte (Fonseca et al., 1996), que apresenta o maior número de espécies dentre os marsupiais do continente americano (Groves, 1993; Gardner, 2005).

A Ordem Didelphimorphia, possui uma única família, a Didelphidae composta por 19 gêneros e aproximadamente 89 espécies, das quais apenas três não são encontradas na América do Sul (Gardner, 2007) e de acordo com Albuja & Patterson (1996), da Silva et al. (2001) e Gardner (2005) cerca de 12 desses gêneros são encontrados na Amazônia.

Dentre esses gêneros, pelo menos dez (*Didelphis*, *Hyladelphis*, *Philander*, *Marmosa* (incluindo *Marmosa* e *Micoureus*), *Gracilinanus*, *Cryptonanus*, *Marmosops*, *Caluromys*, *Caluromysiops* e *Glironia*) são composto por espécies que frequentemente usam áreas arbóreas. Dos cinco restantes, três (*Metachirus*, *Monodelphis* e *Thylamys*) usam exclusiva ou principalmente o solo e outros dois *Lutreolina* e *Chironectes* são associados de alguma forma a ambientes aquáticos.

Embora a bolsa marsupial seja o traço mais característico desta ordem, é o trato urogenital que distingue mais significativamente os marsupiais dos demais mamíferos, pois os dutos urinários passam no meio dos dutos genitais e não lateralmente como nos eutérios. As fêmeas marsupiais possuem duas vaginas laterais que se unem formando uma vagina mediana. No parto, há formação de um canal para a passagem do feto pelo tecido conjuntivo entre a vagina mediana e o *sinus* urogenital. Na maioria dos marsupiais esse canal é transitório e a cada novo parto, um novo será formado (Andrade et al., 2002). Após um curto período de gestação, as fêmeas de todas as espécies dão a luz a pequenos filhotes, que escalam a sua pelagem até chegarem a

suas mamas. Onde ficarão durante muitas semanas até completarem seu desenvolvimento (Grand 1983).

Conforme Andrade *et al.* (2002), as taxa metabólicas dos marsupiais são mais baixas quando comparada com a dos placentários e a temperatura corporal média é de 35 °C. Ao nascer, um feto marsupial não controla a temperatura corporal. Então como resposta a altas temperaturas, ocorre o aumento da salivação e lambeção dos membros anteriores, transpiração abundante em algumas espécies, polipnéia e aumento da ingestão de água. Por isso a maioria dos marsupiais limita suas atividades durante o dia.

1.2 TAXONOMIA E BIOLOGIA DA ESPÉCIE *PHILANDER OPOSSUM*, LINEAUS 1758 (CUÍCA-DE- QUATRO-OLHOS)

A família Didelphidae, mantém ampla distribuição nas Américas e representa o grupo mais antigo de marsupiais (Cretáceo superior), provavelmente nativa da América do Sul (Reig, 1961). A família dos didelfídeos inclui os únicos marsupiais da fauna brasileira: gambás (sarigüês, cassacos ou mucuras, varia de acordo com a região), cuícas (chichicas, guaiquicas ou jupatis) e cuícas d'água. Sendo da mesma família do gambá da América do Norte, que se finge de morto quando atacado.

Dentro dos muitos gêneros desta família, inclui-se o gênero *Philander*, com sete espécies conhecidas atualmente: *Philander andersoni* (Osgood, 1913), *Philander deltae* (Lew, *et al.*, 2006), *Philander frenatus* (Olfers, 1818), *Philander mcilhennyi* (Gardner & Patton, 1972), *Philander modolfii* (Lew, *et al.*, 2006), *Philander olrogi* (Flores, *et al.*, 2008) e *Philander opossum* (Linnaeus, 1758).

Philander opossum é uma espécie comum na Amazônia. Este marsupial é capaz de colonizar uma variedade de habitats, embora ele mostre uma preferência por áreas florestais próximas a rios ou pântanos, normalmente com serapilheira densa e áreas rochosas (Moura *et al* 2005). Segundo Pine (1973), *P. opossum* é considerado uma espécie comum em Belém, Pará, que possuem hábitos noturnos, arborícolas e terrestres, com habilidade de natação.

A cuíca de quatro olhos mede cerca de 30 cm de comprimento do corpo, cauda longa com pêlos somente na base, dorso cinza-escuro, partes inferiores de cor amarelo-clara e manchas da mesma cor acima dos olhos, como pode ser observado na Figura 1. Constrói seu ninho a partir de ramos de árvores que estejam distante do solo

entre 8 a 10 metros de altura. E sempre está em constante deslocamento, aproximadamente 30 m² em torno de seu ninho.



Figura 1: Exemplar de *Philander opossum* em ambiente natural. Onde se observa a pelagem característica com as manchas claras acima dos olhos. Por isso o nome popular cuíca de quatro olhos. Fonte: <http://www.mammalsociety.org/philander-opossum-638> > Acesso em jul. 2016.

1.2.1 Posição Taxonômica da Espécie *P. opossum*

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Subclasse: Marsupialia Illiger, 1811

Ordem: Didelphimorphia Gill, 1872

Família: Didelphidae Gray, 1821

Subfamília: Didelphinae Gray, 1821

Gênero: *Philander* Brisson, 1762

Espécie: *Philander opossum* Linnaeus, 1758

1.2.2 Parasitismo em *Philander*

O *P. opossum* por apresentar uma dentição não especializada, possui uma extrema versatilidade alimentar. Aceitam frutas, pequenos vertebrados, ovos, insetos, entre outros. As necessidades nutricionais exatas nunca foram estabelecidas para esse modelo animal (Jurgelski 1974).

Os estudos relacionados à helmintofauna de marsupiais americanos estão descritos tanto na América do Norte quanto na América do Sul, segundo os trabalhos de Potkay (1970); Blumenthal & Kirkland (1976); Correa-Gomes (1979) e Alden (1995). Os levantamentos mais recentes sobre parasitismo de helmintos no marsupial *P. opossum* está presente no trabalho de Vicente *et al.* (1997), que lista diversos helmintos parasitos de várias espécies de marsupiais da família *Didelphidae*. Contudo, especificamente para *P. opossum* poucos helmintos são registrados. Dentre estas os nematódeos descritos são: *Aspidodera railliete* (Travassos, 1913); *Aspidodera subulata* (Molin, 1952) Railliete & Henry 1912; *Cruzia tentaculada* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1917; *Viannaia conspicua* (Travassos, 1914) e *Spirura guianensis* (Ortlepp, 1938) Chitwood, 1938. Byles *et al.* (2013) cita como cestóide encontrado no gênero *Philander* a *Mathevotaenia bivittata* (Janicki, 1904). E acantocéfalos como *Porrorchis nikoli* (Maldonado & Reyes, 2002).

Na lista mais recente de trematódeos Neotropicais da América do sul (Fernandes *et al.*, 2015) foram relatados parasitando *Philander*, especificamente em *P. opossum*: *Amphimerus neotropicalis* (Caballero, *et al.*, 1939), *Amphimerus pseudofelineus* (Ward, 1901) Barker 1911, *Amphimerus ruparupa* (Kifune & Uyema, 1981), *Amphimerus vallecauncensis* (Thatcher, 1970), *Brachylaima ádvena* (Dujardin, 1845), *Bursotrema tetracotyloides* (Szidat, 1960), *Duboisella proloba* (Baer, 1938), *Paragonimus amazonicus* (Miyazaki *et al.*, 1973), *Paragonimus caliensis* (Little, 1968), *Plagiorchis didelphidis* (Parona, 1896), *Rhopalias baculifer* (Braun, 1901), *Rhopalias caballeroi* (Kifune & Uyema, 1982), *Rhopalias caucensis* (Rivillas *et al.*, 2004) *Rhopalias coronatus* (Rudolphi, 1819) Stiles & Hassal 1898, *Rhopalias horridus* (Diesing, 1850), *Rhopalias macracanthus* (Chandler, 1933) e *Skrjabinus allantoshi* (Foster, 1939).

1.3 BIOLOGIA DOS TREMATÓDEOS DIGENÉTICOS

A classe Trematoda habitualmente possui o formato achatado dorso ventralmente, muitas vezes recurvados, com face ventral côncava, de contorno oval ou

alongado. Tipicamente obtendo a forma de uma folha. Os trematódeos digenéticos possuem órgãos de fixação, representados pelas ventosas oral e ventosa ventral, o corpo é revestido por um tegumento, de natureza acelular de origem mesenquimal. Pode se apresentar lisa ou com espinhos, escamas ou cerdas, recobrendo todo ou parte do corpo. O sistema nervoso central é representado por dois gânglios cerebrais conectados por meio de comissuras, um pouco acima ou atrás da faringe. Vários nervos se ramificam dos gânglios em direção a ventosa oral para inervação da mesma. Além de três principais pares de nervos: dorsal, lateral e ventral, distribuídos por toda região posterior do corpo. Os nervos mais desenvolvidos são os nervos ventrais, as ramificações fornecem terminações motoras e sensoriais para músculos e tegumento. Na extremidade anterior, a ventosa oral é rica em terminações nervosas sensoriais. O sistema digestivo é simples, com abertura bucal localizada no fundo da face ventral, na maioria dos casos seguidos por pré faringe, faringe e esôfago que se bifurca e origina os cecos intestinais (Neves, 2005; Robert & Janovy Jr., 2009).

O sistema excretor é representado por dois tubos protonefridiais, um em cada lado, localizados na região posterior. Possui sua unidade excretora, a célula flama, que varia em número conforme a espécie. Não possuem sistema circulatório, entretanto, algumas espécies apresentam ductos mesenquimais (Neves, 2005). A maioria dos trematódeos são hermafroditas (monóicos), exceções são os esquistossomas (dióicos), e alguns são capazes de autofertilização (Robert & Janovy Jr., 2009).

O sistema reprodutor masculino apresenta dois testículos (mas podem ser numerosos), com vasos eferentes, os quais se conectam para formar o canal deferente. Este sofre uma dilatação dentro da bolsa do cirro (quando presente), formando a vesícula seminal e, em seguida, se diferencia em canal ejaculador, envolvido pelas glândulas prostáticas, e assim, formando o cirro, que se abre para o meio exterior pelo poro genital masculino. O sistema reprodutor feminino é constituído por um ovário, do qual parte um curto oviduto, durante o trajeto recebendo o viteloduto e o canal de Laurer, que se comunica com o exterior pelo oótipo. O oótipo é envolvido pelas glândulas de Mehli's, que depositam seus produtos por meio de pequenos ductos. O oviduto se expande em um tubo uterino, lugar em que os ovos ficam armazenados até seu amadurecimento. A porção final do útero, em que as células se diferenciam é chamada de metraterma e é coberta por células secretoras, que se abre no atrio genital pelo poro genital feminino. As glândulas vitelogênicas são frequentemente formadas por inúmeros folículos situados nas porções laterais do trematódeo (Neves, 2005).

As principais estruturas morfológicas de um Trematódeo digenético podem ser observadas na Figura 2

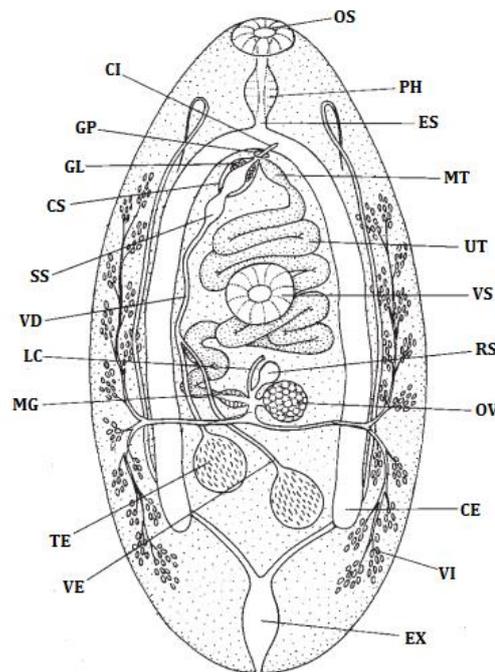


Figura 2: Morfologia geral de Trematódeo digenético adulto. OS: Ventosa oral; PH: faringe; ES: esôfago; CI: cirro; GP: poro genital; GL: glândulas prostáticas; CS: saco do cirro; MT: metraterma; UT: útero; VS: ventosa ventral; SS: vesícula seminal; VD: vaso deferente; LC: canal de Laurer; MG: glândula de Mehlis; RS: receptáculo seminal; OV: ovário; TE: testículo; VE: vaso eferente; CE: ceco; VI: vitelária; EX: vesícula excretora. Fonte: Adaptado de Robert & Janovy Jr., 2009.

1.3.1 Ciclo Evolutivo Dos Trematódeos Digenéticos

O ciclo de vida dos trematódeos digenéticos é heteroxeno, envolvendo um hospedeiro definitivo, geralmente um vertebrado, onde ocorre a reprodução sexuada e pelo menos, um hospedeiro intermediário, sendo ele frequentemente um molusco gastrópoda onde ocorre a reprodução assexuada, com a multiplicação das larvas (esporocisto, rédias e cercária) e as de estágios de vida livre (miracídios e cercárias). Para se compreender melhor o modo de transmissão neste tipo de ciclo é essencial saber a biologia de hospedeiros definitivos e intermediários. Portanto, a dinâmica de transmissão de digenéticos infecciosos, pode ser entendida levando em conta fatores

climáticos, que regulam as populações e os hospedeiros intermediários influenciando no desenvolvimento dos estágios de vida livre do parasita (Haseeb & Fried, 1997).

O ciclo inicia-se a partir da eliminação dos ovos do parasita pelo hospedeiro definitivo, contendo o primeiro estágio larval os miracídios. Sendo esse organismo pequeno, ciliado e de formato piriforme. Possui sistema excretor curto, papila apical retrátil e uma grande variedade de órgãos e terminações nervosas sensoriais. E por meio de um ambiente aquífero, este miracídio nada livremente em busca de um hospedeiro intermediário. Assim que penetram ativamente no gastrópoda através de sua papila apical, entram em contato com seus tecidos, sofrendo processo de metamorfose e tornam-se esporocistos. Organismos estes com presença de protonefrídios e camada sub tegumentar, absorvendo sempre de seu hospedeiro os nutrientes necessários. Assexuadamente os esporocistos, podem evoluir para a forma de rédia ou diretamente cercárias. As rédias saem por meio do poro terminal do esporocisto, e geralmente migram para o hepatopâncreas ou para as gônadas do molusco. Possuem forma alongada e um sistema digestivo rudimentar, mas funcional, constituído por uma boca, faringe muscular e intestino não ramificado, alimentam-se dos tecidos do hospedeiro, entretanto, pode preda esporocistos próprios ou de outras espécies (Robert & Janovy, 2009).

As cercárias possuem caudas que ajudam a nadar, uma boca próxima da extremidade anterior e envolvida pela ventosa oral. Elas abandonam o corpo do molusco quando as condições climáticas estão favoráveis. Desde Lutz (1919) sabe-se que esta migração pode ser nitidamente influenciada por estímulos externos, como luminosidade e temperatura. A emergência cercariana é regida por fatores exógenos, cujos elementos sincronizadores são a luz e a temperatura, bastando, porém, a ação isolada de um desses fatores para a manutenção do ritmo circadiano. Sendo a luz o fator mais marcante na manutenção do controle deste ritmo. A migração das cercárias faz-se pelos espaços intercelulares, cheios de hemolinfa, como também por meio do sistema venoso do caramujo. A passagem para o meio exterior ocorre pela formação de vesículas no epitélio do manto e pseudobrânquia (Neves, 2005).

O estágio infeccioso para o hospedeiro definitivo pode ser a metacercária quando há infecção via oral e por meio das cercárias quando há penetração no hospedeiro. E para o hospedeiro intermediário, os miracídios. Enquanto o hospedeiro intermediário desempenha um papel fundamental no ciclo de transmissão porque o parasita multiplica-se assexuadamente nele e aumenta exponencialmente número de

larvas, o hospedeiro definitivo é importante na propagação da infecção devido à sua maior capacidade de locomoção (Haseeb & Fried, 1997).

As principais etapas do ciclo de desenvolvimento dos Trematódeos digenéticos podem ser observadas na Figura 3.

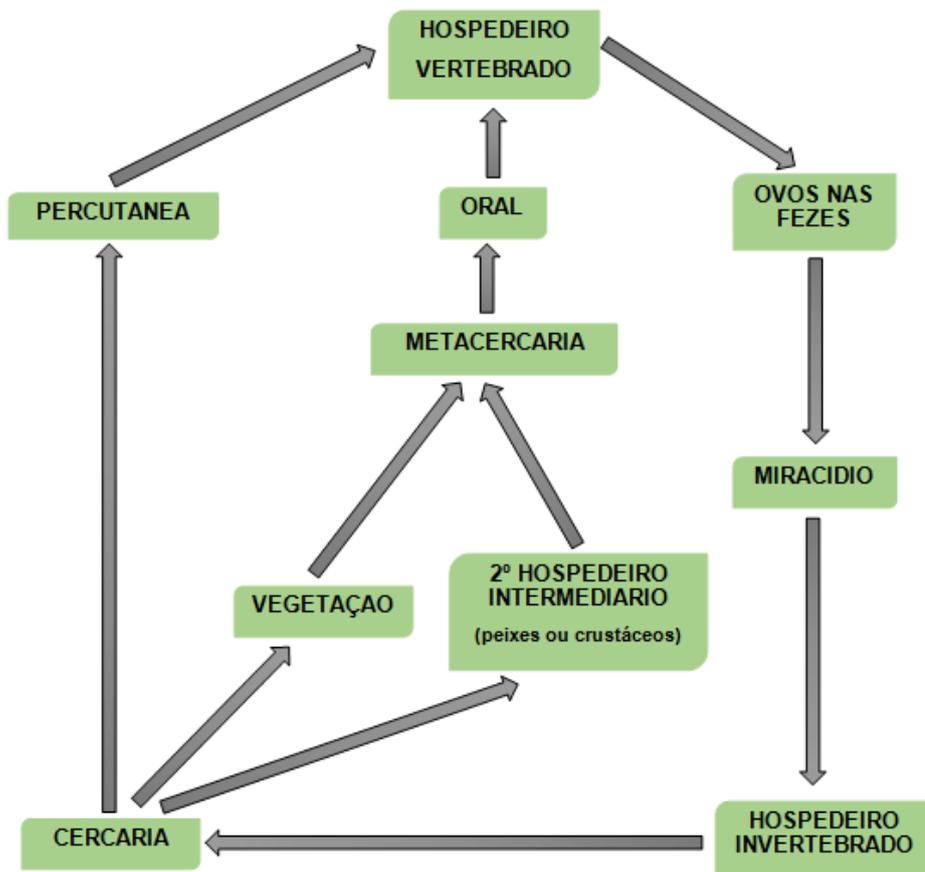


Figura 3: Esquema dos possíveis ciclos de vida observados nos Trematódeos digenéticos. Fonte: adaptado de Mehlhorn (2008).

1.4 OBJETIVOS

Estudar a diversidade de trematódeos parasitas de *Philander opossum*, provenientes dos municípios de Barcarena, Parauapebas e Chaves (Ilha de Mexiana), estado do Pará, Brasil.

1.4.1 Objetivos específicos

1. Descrever a morfologia dos trematódeos encontrados nos hospedeiros.
2. Identificar os trematódeos parasitas de *Philander opossum*.
3. Comparar as características populacionais dos trematódeos do gênero *Rhopalias* entre os municípios estudados.
4. Adicionar dados a morfologia e diversidade de helmintos parasitas de mamíferos da Amazônia brasileira.

2 ARTIGO

Título: Identificação taxonômica de trematódeos parasitos de intestino delgado de *Philander opossum* (Linnaeus, 1758) da Amazônia paraense

Autores: Lariza Oliveira de Souza; Adriano Penha Furtado

Intenção de Publicação

Revista: Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais

ISSN: 1981-8114

Identificação taxonômica de trematódeos parasitos de intestino delgado de *Philander opossum* (Linnaeus, 1758) da Amazônia paraense

Lariza Oliveira de Souza¹; Adriano Penha Furtado¹

1. Laboratório de Biologia Celular e Helminologia “Prof.^a Dr.^a. Reinalda Marisa Lanfredi”, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. Belém- PA- Brasil

RESUMO

Philander opossum é um marsupial de médio porte pertencente à família *Didelphidae*, amplamente distribuído pelas florestas tropicais entre o México e a Argentina. Trata-se de um animal onívoro e de hábitos diurnos. Este estudo teve como objetivo descrever os aspectos morfológicos de trematódeos parasitos do gênero *Rhopalias* encontrados no intestino delgado de *P. opossum* da Amazônia Oriental Brasileira. A coleta dos hospedeiros foi realizada no ano de 2014, nos municípios de Barcarena, Parauapebas e Chaves (Ilha de Mexiana). Cinco espécimes de *P. opossum* foram capturados e necropsiados para a procura de helmintos, todos estavam parasitados com nematódeos e/ou trematódeos (prevalência de aproximadamente 100%). Os trematódeos encontrados foram coletados, limpos, fixados e em seguida processados de acordo com as técnicas para microscopia de luz e eletrônica de varredura. Os trematódeos apresentaram corpo alongado, com duas probóscides invaginadas e armadas com espinhos, localizadas lateralmente à ventosa oral. No entanto, pode-se observar que estes trematódeos apresentam estruturas distintas quando comparadas entre si, e podem ser distinguidas em dois grupos. O conjunto destas estruturas nos permite sugerir que ambos os grupos de trematódeos descritos neste trabalho fazem parte do gênero *Rhopalias* (*Rhopaliidae*), pertencentes a duas espécies distintas: *Rhopalias coronatus* e *Rhopalias baculifer*.

Palavras-chave: Trematódeos, *Philander opossum*, *Rhopalia*, *Rhopaliidae*

ABSTRACT:

Philander opossum, a of medium size marsupial belonging to the family *Didelphidae*, widely distributed in tropical forests between Mexico and Argentina. It is an omnivorous animal with diurnal habits. This study aimed to describe the morphological characteristics of trematodes parasites of the genus *Rhopalias* in small intestine of *P. opossum* of the Brazilian Eastern Amazon. The helminthological survey was carried out in 2014, in the municipalities of Barcarena, Parauapebas and Chaves (Island of Mexiana). Five *P. opossum* specimens were captured and necropsied for helminths, all nematode and trematode parasites (prevalence of approximately 100%). The detected trematodes were collected, cleaned, fixed and completed as techniques for light microscopy and scanning electron microscopy. The trematodes presented an elongated body, with two proboscis invaginated and armed with spines, located laterally the oral suction cup. However, it can be observed that these trematodes have different structures when compared to each other, and can be distinguished in two groups. The group of these structures allows us to suggest that both groups of trematodes described in this work are part of the genus *Rhopalias* (*Rhopaliidae*), belonging to two distinct species: *Rhopalias coronatus* and *Rhopalias baculifer*.

Key words: Trematodes, *Philander opossum*, *Rhopalia*, *Rhopaliidae*

INTRODUÇÃO

O *Philander opossum* (Linnaeus, 1758) é uma das sete espécies pertencentes ao gênero *Philander*, dentro da família *Didelphidae*. Que se mantém com ampla distribuição nas Américas e representa o grupo mais antigo de marsupiais (Cretáceo superior). Sugerindo-se ser nativa do continente Sul Americano (Reig, 1961).

Por apresentar uma dentição não especializada o *P. opossum*, possui uma extrema versatilidade alimentar. Tornando-se um animal onívoro, aceita frutas, pequenos vertebrados, ovos e insetos (Jurgelski, 1974). A relação entre *P. opossum* e os parasitos gástricos pode ser vantajosa ou desvantajosa para o hospedeiro, conforme a intensidade parasitária no mesmo. A presença de trematódeos em grande quantidade pode, torná-lo uma situação de parasitismo nocivo e prejudicial tanto para o *P. opossum*, como até mesmo para o ser humano, pois assim como outros pequenos mamíferos, pode ter a função de reservatório de diversas zoonoses (Kawazoe et al., 1978).

De acordo com os levantamentos da lista mais recente de trematódeos Neotropicais da América do Sul, Fernandes et al., (2015) relatam 15 espécies de trematódeos parasitando *P. opossum*, são eles: *Amphimerus neotropicalis* (Caballero, et al.,1939), *Amphimerus pseudofelineus* (Ward, 1901) Barker 1911, *Amphimerus rugarupa* (Kifune & Uyema, 1981), *Amphimerus vallecauncensis* (Thatcher, 1970), *Brachylaima ádvena* (Dujardin, 1845), *Bursotrema tetracotyloides* (Szidat, 1960), *Duboisella proloba* (Baer, 1938), *Paragonimus amazonicus* (Miyazaki, et al.,1973), *Paragonimus caliensis* (Little, 1968), *Plagiorchis didelphidis* (Parona, 1896), *Rhopalias baculifer* (Braun, 1901), *Rhopalias caballeroi* (Kifune & Uyema, 1982), *Rhopalias caucensis* (Rivillas et al., 2004), *Rhopalias coronatus* (Rudolphi, 1819) Stiles & Hassal 1898, *Rhopalias horridus* (Diesing, 1850), *Rhopalias macracanthus* (Chandler, 1933) e *Skrjabinus allentoshi* (Foster, 1939).

Este trabalho tem por objetivo descrever a diversidade de trematódeos parasitas intestinais de *P. opossum*, provenientes de municípios do estado do Pará - Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

COLETA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Os marsupiais foram coletados no projeto “Agentes Infecciosos e Parasitários de Marsupiais: Uma Abordagem Taxonômica e Ecológica na Amazônia Paraense”, coordenado pela Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Mendes de Oliveira, nos municípios de Barcarena, Parauapebas e Chaves (Ilha de Mexiana) do estado do Pará. Foram estabelecidos transectos lineares com 20 estações de captura em cada. Nestas estações, foram colocadas armadilhas do tipo live-trap, modelos *Tomahawk* (40,64cm x 12,70cm x 12,70cm) e do tipo *Sherman* (7,62cm x 9,53cm x 30,48cm), apropriadas para a captura de pequenos mamíferos vivos de até 3 Kg. Cada coleta teve a duração de cinco dias e as iscas utilizadas foram uma mistura composta de bacon, aveia, banana e pasta de amendoim.

As armadilhas contendo os animais foram transportadas para uma base laboratorial de campo, aonde os animais foram necropsiados e taxidermisados para depósito e tombamento em Coleção Científica do Museu de Zoologia do ICB-UFPA. As amostras biológicas foram coletadas de acordo com normas de biossegurança, com toda a equipe estava paramentada com os equipamentos individuais de proteção de nível

3 (filtros motorizados, máscaras com pressão positiva, e demais acessórios), e segundo normas estabelecidas pelo Ministério da Saúde (FNS, 1998; Lemos & D'Andrea, 2004).

As amostras do tubo digestivo desses marsupiais foram preservadas em álcool 70% e em seguida doados para o Laboratório de Biologia Celular e Helminologia “Prof.^a Dr.^a Reinalda Marisa Lanfredi”, no Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará, para análises e pesquisas de helmintos.

PESQUISA DE HELMINTOS

Os tratos digestivos foram lavados em solução de tampão fosfato salino (PBS) a pH 7,4, separados por órgãos e analisados em estereomicroscópio.

Os trematódeos digenéticos encontrados foram separados e lavados em solução salina. Parte destes trematódeos foi processado segundo Amato *et al.* (1991) para observação e obtenção dos parâmetros morfométricos por microscopia de luz. A prevalência e intensidade foram calculadas segundo a fórmula: prevalência = número de indivíduos infectados / número de intestinos examinados e intensidade média parasitária = número de parasitos / número de indivíduos parasitados (Bush *et al.*, 1997).

Para a microscopia de luz, os helmintos foram corados com Carmim acético de Semichon ou Tricrômio de Gomori, diferenciados em solução álcool-ácido acético, desidratados em série etanólica e clarificados com Salicilato de Metila®. E posteriormente lâminas permanentes foram montadas em Entellan® ou Bálsamo do Canadá. Para análise morfológica e identificação dos caracteres taxonômicos, esses exemplares foram analisados em Microscópio Olympus BX 41 equipado com câmara clara, para realização de desenhos e medidas.

Para análise em Microscopia Eletrônica de Varredura, parte dos trematódeos foi pós-fixada em solução fixadora AFA (ácido acético, formalina e álcool etílico 70%), em seguida lavados em solução salina e pós-fixados em tetróxido de Ósmio (OsO₄) em concentração 1% por 3 horas transferidos para a câmara do equipamento de secagem ao ponto crítico do CO₂ (CPD - *critical point drying*). As helmintos foram montados em um suporte metálico (*stubs*) e metalizadas em ouro para a observação em Microscópio Eletrônico em Varredura TESCAN VEGA3, ajustado a uma potência de 10kV.

ANÁLISE TAXONÔMICA

As médias das medidas encontradas, assim como as análises dos desenhos e as imagens obtidas em Microscopia Eletrônica de Varredura foram comparadas com

descrições anteriores dispostas em chaves taxonômicas e artigos científicos. As medidas estão apresentadas em micrômetros, obedecendo a seguinte padrão: Amplitude (Média \pm Desvio Padrão).

RESULTADOS

Foram obtidos 5 tubos digestivos de *P. opossum* provenientes dos municípios de Barcarena (1) e Parauapebas (1), e três de Chaves (3) (Ilha de Mexiana), como representados na Figura 1. Em todas as amostras foram observados helmintos com características comuns aos trematódeos, de coloração branco-leitoso, com exemplares mais robustos e outros mais delgados. Utilizando-se os dados morfométricos destes exemplares, comparados com as informações dispostas nas chaves taxonômicas de Kostadinova (2005) e Haverkost & Garner (2008), foi possível realizar a identificação taxonômica dos mesmos.

SUPERFAMÍLIA ECHINOSTOMATOIDEA (Looss, 1899)

Os exemplares possuíam poro excretor próximo à extremidade posterior; testículos não alongados; vitelária folicular; ventosa ventral, ventosa oral e faringe. Ausência de saco hermafrodita e o tegumento armado; coroa de espinhos presentes ou ausentes na região oral. Além de possuírem a vesícula excretora em forma de Y. Adicionalmente, esses trematódeos apresentavam probóscides retráteis, armada por espinhos lateralmente a ventosa ventral, como representado na Figura 2.

FAMÍLIA RHOPALIASIDAE (Loss, 1899; Yamaguti, 1958)

Além das probóscides retráteis, os exemplares possuíam o corpo alongado, ovos operculados normalmente embrionados; vitelária estende-se para além dos testículos, para extremidade posterior; folículos vitelínicos abundante, em dois campos laterais.

GÊNERO *Rhopalias*

Os exemplares apresentaram ventosa oral subterminal, com pré-faringe, faringe musculosa e esôfago. Testículos de forma variável situados no terço médio do corpo *in tandem*; bolsa do cirro larga, claviforme, indo à região posterior da ventosa ventral e contendo um complexo prostático bem desenvolvido; ovário esférico e médio; útero intercecal, entre o ovário e o poro genital (Rudolphi, 1819) Stiles & Hassal (1898).

No entanto, pode-se observar que os trematódeos do intestino delgado de *P. opossum* apresentaram diferenças estruturais, o que sugere se tratar de duas espécies diferentes. Logo, foram separados em dois grupos distintos, para a melhor compreensão do estudo das espécies: Grupo I, que apresentaram as probóscides retráteis maiores estendendo-se a região da faringe; Grupo II, com as probóscides retráteis curtas.

Rhopalias coronatus (Figura 3 e 4, Tabela 1)

Denominado de Grupo I, sendo representado por helmintos menores e delgados, medindo de 3,990 a 5,470 mm de comprimento por 5,40 a 1,050 mm de largura. Presença de espinhos orais, que variam de 18 a 25, distribuídos em dois grupos: os maiores variam de 10 a 14 e medem de 0,018 a 0,113 mm e os menores variam de 8 a 11 medindo de 0,019 a 0,062 mm. Bainhas das probóscides grandes, alcançando o nível da ventosa ventral. Medem 0,88 a 0,95 mm de comprimento por 0,12 a 0,19 mm de largura. Probóscides retráteis com 8 a 10 espinhos em sua superfície, medindo 0,039 a 0,059 mm de comprimento. Ventosa oral subterminal com 0,12 a 0,182 µm de comprimento por 0,15 a 0,24 mm de largura. Faringe muscular de 0,17 a 0,26 mm de comprimento. Bolsa do cirro alongada, na região ovariana e medindo 1,23 a 2,48 mm de comprimento por 0,24 a 0,420 mm de largura. Vesícula seminal bilobada e estreita. Presença de cirro muscular. Testículos alongados e de contorno irregular e o ovário é arredondado. Glândula de Mehlis presente e útero pouco desenvolvido. Ovos operculados, medindo 0,086 a 0,093 mm de comprimento por 0,046 a 0,053 mm de largura. Folículos vitelínicos por toda região ovariana estendendo-se até a extremidade posterior do corpo. Este grupo apresenta semelhança com *R. coronatus*.

SUMÁRIO TAXONÔMICO

Hospedeiro: *Philander opossum* (cuíca de quatro olhos)

Local da infecção: Intestino delgado

Parasito: *R. coronatus*

Localidade: Municípios de Barcarena e Chaves (Ilha de Mexiana), estado do Pará, Brasil.

Coordenadas geográficas: Barcarena (1°31'8''N 48°37'1''W) e Chaves (Ilha de Mexiana) (0°1'29''N 49°35'39''W).

Prevalência: 100% em todos os intestinos delgado de *P. opossum* necropsiado.

Intensidade Parasitária de *R. coronatus*: 12,8

Rhopalias baculifer (Figura 5 e 6, Tabela 1)

Denominado de Grupo II, representado por helmintos robustos medindo entre 11,64 a 19,47 mm de comprimento total por 2,22 a 2,63 mm de largura. Bainha das probóscides curtas e terminam ao nível da faringe, medindo 0,46 a 0,55 μ m de comprimento por 0,16 mm de largura. Probóscides armadas com cerca de 10 espinhos cada uma, concentrados à extremidade. Cutícula recoberta de escamas de formatos variados ao longo do corpo, normalmente com as extremidades ovais ou triangulares, como pode ser observado na Figura 7. Ventosa oral com 0,44 a 0,59 mm de comprimento. Bolsa do cirro grande medindo 1,25 a 1,56 mm de comprimento por 0,27 a 0,37 mm de largura. Testículos de contornos irregulares e ovário arredondado ou até oval de dimensões variáveis com 0,167 a 0,2 mm de comprimento por 0,2 a 0,225 mm de largura. Glândula de Mehlis's presente e útero também pouco desenvolvido com 6 a 10 ovos. Ovos operculados com 0,107 a 0,115 mm de comprimento por 0,063 mm de largura. Vitelária estendendo-se por toda extremidade posterior do corpo. Este grupo apresenta semelhança com *R. baculifer*.

SUMÁRIO TAXONÔMICO

Hospedeiro: *Philander opossum* (cuíca de quatro olhos)

Local da infecção: Intestino delgado

Parasito: *R. baculifer*

Localidade: Municípios de Parauapebas e Chaves (Ilha de Mexiana), estado do Pará, Brasil.

Coordenadas geográficas: Parauapebas (6° 4' 15"N 49° 54' 15" W) e Chaves (Ilha de Mexiana) (0°1'29"N 49°35'39"W).

Prevalência: 100% em todos os intestinos delgado de *P. opossum* necropsiado.

Intensidade Parasitária de *R. baculifer*: 6,4.

DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE *Rhopalias* NOS MUNICÍPIOS ESTUDADOS

Os exemplares identificados como da espécie *R. coronatus* foram observados em amostras de intestino delgado de *P. opossum* de Chaves (Ilha de Mexiana) e Parauapebas. Enquanto que os trematódeos da espécie *R. Baculifer* foram observados em amostras provenientes de Chaves (Ilha de Mexiana) e Barcarena (Tabela 2).

A prevalência de intestinos parasitados de todos os municípios foi de 100% e a intensidade parasitária total de trematódeos do gênero *Rhopalias* equivale a 9,6. Além disso, as intensidades parasitárias em específico das espécies *R. coronatus* e *R. baculifer*, respectivamente, foi equivalente a 12,8 e 6,4.

DISCUSSÃO

Este trabalho apresenta a diversidade de trematódeos parasitos do intestino delgado de *P. opossum* no estado do Pará.

O estudo realizado por Gomes & Vicente (1972), propõe quatro espécies do Gênero *Rhopalias* no mundo: *R. coronatus* (Rudolphi, 1819), *R. horridus* (Diesing, 1850), *R. baculifer* (Braun, 1901) e *R. macracanthus* (Chandler, 1933), e este trabalho apresenta uma chave de determinação das espécies deste gênero. Seguindo esta descrição, alguns exemplares foram identificados como *R. coronatus*, devido a presença de coroa com espinhos dorsais à ventosa oral e probóscides longas. Enquanto os demais exemplares por não apresentarem coroa de espinhos dorsais à ventosa oral, bolsa do cirro longa alcançando a zona ovariana e espinhos da probóscide grandes e pouco numerosos e foram agrupados na espécie *R. macracanthus*.

No entanto, na recente revisão de espécies do gênero *Rhopalias*, proposto por Haverkost & Garner (2008), foram validadas seis espécies deste gênero (Quadro 1). Além das quatro apresentadas por Gomes & Vicente (1972) anteriormente, foram acrescentadas *R. caucencis* e *R. caballeroi*. Por meio de novos desenhos taxonômicos obtidos de espécimes depositados em Museus e em Coleções Helmintológicas e análise a comparação de novos parâmetros de medidas, estes autores apresentaram uma chave de identificação destas seis espécies.

Comparando os resultados obtidos neste trabalho com os dados apresentados por Haverkost & Garner (2008), podemos observar que a presença de grandes espinhos pouco numerosos na probóscide (menos que 15 espinhos) e bolsa da probóscide alcançando a margem posterior da faringe, é característico com a espécie de

R. coronatus, semelhante ao que foi descrito no trabalho de Gomes & Vicente (1972). No entanto, por possuir poucos espinhos nas probóscides (sendo elas curtas, não alcançando a região posterior da faringe); ausência de espinhos orais (ou de guarda), além de possuírem o comprimento superior a 6mm. Apesar da diferença na identificação dos espécimes do segundo grupo, os parâmetros métricos obtidos neste trabalho são compatíveis *R. baculifer* em ambas as chaves taxonômicas.

Uma importante questão levantada no trabalho de Haverkost & Garner (2008), é que o comprimento da faringe, da bolsa da probóscide e a presença e quantidade de espinhos na extremidade anterior (espinhos orais e os espinhos de guarda) são fundamentais, para a determinação de todas as espécies do gênero *Rhopalias*. Ponto chave este, que não foi destacado no trabalho de Gomes & Vicente (1972), que possibilitou a não compatibilidade entre algumas espécies. Estas afirmações reforçam a proposta de identificação de *R. baculifer*.

Ademais, a Microscopia Eletrônica de Varredura se mostrou uma importante ferramenta para a análise de estruturas de importância taxonômica do gênero *Rhopalias*, como a presença ou ausência de espinhos de guarda na região anterior desses trematódeos. Através desta técnica, foi possível confirmar a presença destas estruturas em *R. coronatus* e a ausência em *R. baculifer* identificados neste trabalho, sendo a primeira vez que espécies do gênero *Rhopalias* são observadas nesta técnica.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, podemos evidenciar que a quantidade de parasitos trematódeos referente à espécie *R. coronatus*, com prevalência de 66,6, foi superior a quantidade de parasitos da espécie *R. baculifer* com 33,3 (Tabela 2). Sendo a quantidade de *R. coronatus* o dobro da quantidade de *R. baculifer* encontrada nos hospedeiros coletados. Levam-se em consideração que nos município de Barcarena e Parauapebas foram capturados apenas um exemplar de *P. opossum* em cada e que pode-se sugerir a ausência de outros hospedeiros intermediários nas localidades .

No município de Chaves (Ilha de Mexiana), foi observada maior a presença ambas as espécies do gênero *Rhopalias*. Por ser uma das ilhas que fazem parte do Arquipélago do Marajó, caracteriza-se pela grande variabilidade de dimensão territorial e importante diversidade fitofisionômica, em conjunto a uma grande rede hidrográfica (rios, furos e igarapés) em seu interior. Aspectos ambientais favoráveis esses, aos qual o *P. opossum*, adapta-se facilmente, buscando preferencialmente proximidades a rios. Segundo Capobianco *et al.* (2001) esta região do Arquipélago do Marajó sofreu grande pressão antrópica de moderada magnitude, por conta das atividades agropastoril e

extrativistas. Porém, segundo relato pessoal da equipe de coleta, a Ilha de Mexiana trata-se de uma área conservada, o que poderia explicar a maior diversidade de parasitos observados nesta área, pois seria uma região de habitat natural, favorável tanto para seus hospedeiros intermediários e definitivos, quanto para os parasitas, diferentemente do que foi descrito para as áreas de Barcarena e Parauapebas.

CONCLUSÃO

Os trematódeos digenéticos coletados no intestino delgado de *P. opossum* proveniente dos municípios de Barcarena, Parauapebas e Chaves (Ilha de Mexiana), do estado do Pará, apresentam em morfometria com as espécies *R. coronatus* e *R. baculifer*. Ambas as espécies, foram encontradas apenas na localidade de Ilha de Mexiana, enquanto que em Barcarena somente exemplares da espécie *R. baculifer* e em Parauapebas somente exemplares da espécie *R. coronatus* foram encontrados. Este trabalho utiliza pela primeira vez a microscopia eletrônica de varredura, para análise de trematódeos do gênero *Rhopalias*, e adiciona importantes dados taxonômicos que podem servir de base para estudos futuros.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Mendes de Oliveira, pela coleta dos marsupiais. A Prof.^a Dr.^a Elane Guerreiro Giese do Laboratório de Histologia e Embriologia Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia, pelas fotomicrografias realizadas em Microscopia Eletrônica de Varredura.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAER, J. G. *Duboisella proloba* n. gen., n. sp., Trematode de la sarigue, Didelphis aurita I. **Liv. Jub. Prof. Lauro Travassos. XX**: 589 pp, 1938.
- BARKER F.D. The trematode genus *Opisthorchis* R. Blanchard, 1895. **Studies Zool Lab Univ Nebraska 103**:513-561, 1911.
- BRAUN, M. V. Zur Kenntniss der Trematoden der Säugethiere. **Zoologische Jahrbucher, Abteilung fur Systematik 14**:311–348, 1901.
- BUSH, A. O.; LAFFEHTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology, Washigton, D. C., v. 83**, n. 4, p. 557-583, 1997.

- CABALLERO Y.C.E. Estudios helmintológicos de la región oncocercosa de México y de la República de Guatemala. Trematoda. II. Presencia de *Paragonimus* en reservorios naturales y descripción de un nuevo género. **Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología** 117:137–165, 1946.
- CHANDLER, A. C. Notes on the helminth parasites of the opossum (*Didelphis virginiana*) in Southeast Texas, with descriptions of four new species. **Proceedings of the U.S. National Museum** 81:1–15, 1932.
- DIESING, C. M. **Systema helminthum, Vindobonae**, 588 pp, 1850.
- DUJARDIN, F. *Histoire Naturelle des Helminthes ou vers intestinaux*. Paris, xvi: 654 pp, 1845.
- FNS – Fundação Nacional de Saúde. Versão preliminar do projeto de controle de hantavírus – CNZAP/CENEPI/FUNASA.FNS/MS, 1998.
- GOMES, D.C.; J. J. VICENTE. Estudo do gênero *Rhopalias* Stiles & Hassall, 1898 (Trematoda, Rhopaliasidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 70:115–133, 1972.
- HAVERKOST, T.R.; GARDNER, S.L. “A Review of Species in the Genus *Rhopalias* (Rudolphi, 1819)”. Faculty Publications from the Harold W. **Manter laboratory of Parasitology**, paper 32, 2008.
- JURGELSKI, W. Jr. The opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as a biomedical model. 1. Research perspective, husbandry, and laboratory techniques. **Laboratory Animal Science** 24:376–03, 1974.
- KAWAZOE, U.; DIAS, L. C. S. AND PIZA, J. T.; Infecção natural de pequenos mamíferos por *Schistosoma mansoni*, na represa de Americana (São Paulo, Brasil). **Rev. Saúde Pública**, vol.12, n.2, pp.200-208, 1978.
- KIFUNE, T.; N. UYEMA. Report of the Fukuoka University Scientific Expedition to Peru, 1976. Part 3. Taxonomical studies on trematodes from marsupials and rodents with records of two crabs. **Medical Bulletin of Fukuoka University** 9:241–256, 1982.
- KOATADINOVA, A. Family *Rhopaliidae* Looss, 1899. In Jones, A, Gibson, DI & Bray, R. (eds.). **Keys to the Trematoda, Volume 2**. CBA International and The Natural History Museum, London, 2005.
- LEMOS, E.R.S.; D’ANDREA, P.S.; BONVICINO, C.R.; FAMADAS, K.M.; PADULA, P.; CAVALCANTI, A.A.; SCHATZMEYER, H. Evidence of hantavirus in wild rodents captured in an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 24(2): 71-73, 2004.

- LITTLE, M.D.: *Paragonimus caliensis* sp. and paragonimiasis in Colombia. **Parasitology**, **54**: 738-746, 1968.
- MIYAZAKI, I.; GRADOS, O.; UYEMA, N.: A new lung fluke found in Peru, *Paragonimus amazonicus* sp. n. (Trematoda: Troglotrematidae). **Journal Parasitology**, **22**: 48-54, 1973.
- PREMVATI, G.; BAIR, TD. Trematode parasites of the opossum, *Didelphis virginiana*, from Florida. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, **462**: 207-212, 1979.
- RIVILLAS, C.; CARO, E.; CARVAJAL, H.; VÉLEZ, I. Algunos trematodos digeneos (Rhopaliasidae, Opisthorchiidae) de *Philander opossum* (Marsupialia) de la costa pacífica colombiana, incluyendo *Rhopalias caucensis*. sp. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales XXVIII**:591–600, 2004.
- RUDOLPHI, C. A. Entozoorum synopsis cui accedunt mantissa duplex et indices loupuletissimi. **Sumptibus Augusti Rucker, Berlin, Germany**, 811 pp, 1819.
- STILES, C.W.; HASSALL, A. Notes on parasites, an inventory of the genera and subgenera of the trematode family *Fasciolidae*. **Archives de Parasitologie** **1**:81–99, 1898.
- SZIDAT, L. Nuevo tipo de larvas de Alariinae (Trematoda) del riñón de *Leptodactylus ocellatus* de la Argentina. **Neotropica** **6**:81–88, 1960.
- THATCHER, V.E. The genus *Amphimerus*, Barker, 1911. (Trematoda: *Opisthorchiidae*). In: Colombia with the description of a new species. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington** **37**:207–11, 1970.
- TRAVASSOS, L.; FREITAS, J.F.T.; KONH, A. **Trematódeos do Brasil. Mémoires do Instituto Oswaldo Cruz, Tomo 67**, 435p, 1969.
- TRAVASSOS, L.; FREITAS, J.F.T.; KONH, A. **Trematódeos do Brasil. Mémoires do Instituto Oswaldo Cruz, Tomo 70**, 115p, 1972.



Figura 1-Mapa do estado do Pará, onde se destaca os locais de coleta, representados pelos municípios de Barcarena, Parauapebas e Chaves (Ilha de Mexiana). Fonte: <http://www.baixarmapas.com.br/mapa-do-para/>

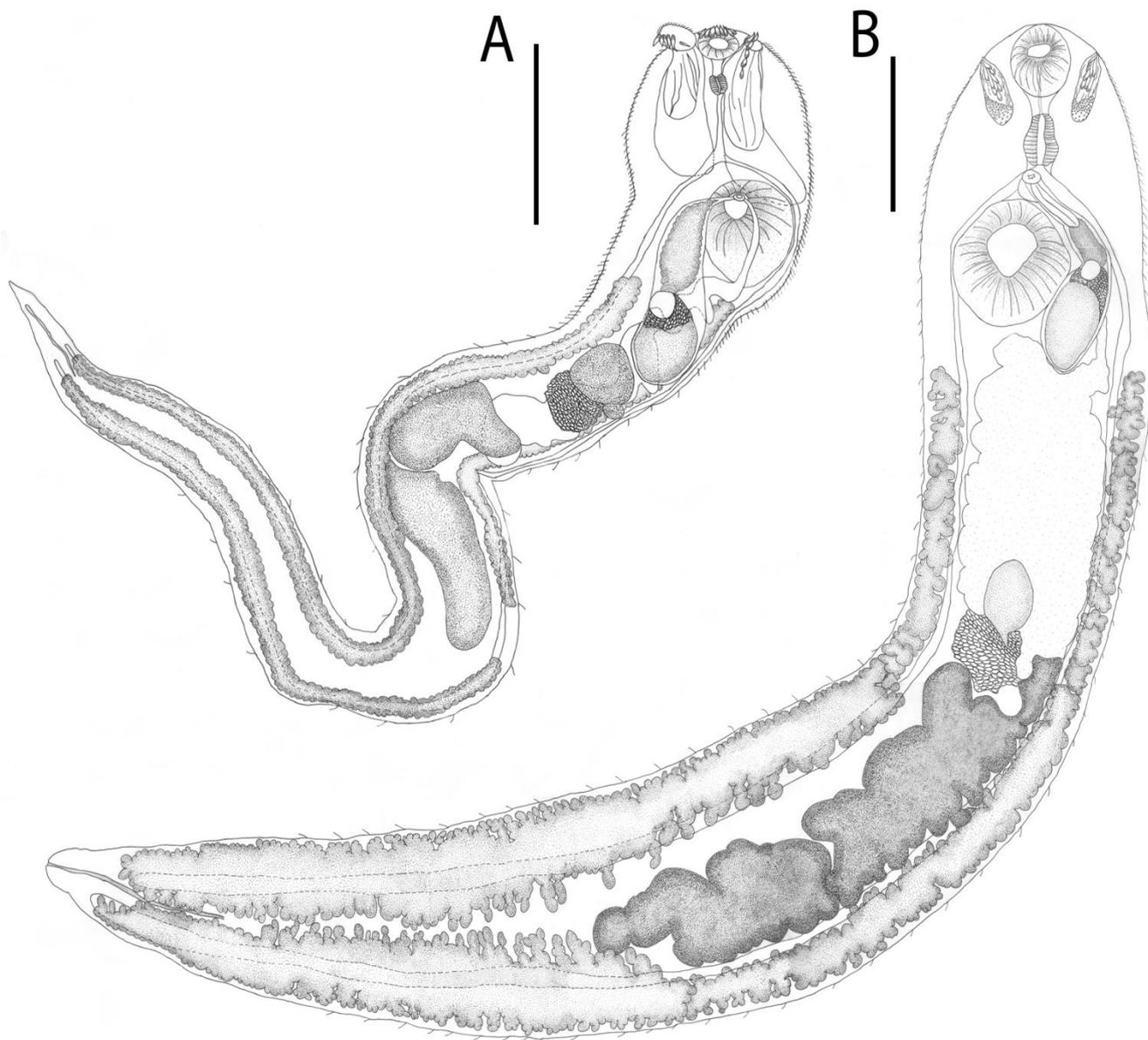


Figura 2 – Desenhos em microscopia de luz, do gênero *Rhopalias*, de *P. opossum* do Estado do Pará. **A)** Visão geral de *Rhopalias coronatus*. Barra = 10 μm **B)** Visão geral de *Rhopalias baculifer*. Barra = 10 μm .

Tabela 1 – Medidas do gênero *Rhopalias* descritos em marsupiais

Espécie	<i>R. coronatus</i> (Rudolphi,1819)	<i>R. horridus</i> (Diesing,1850)	<i>R. baculifer</i> (Braun,1901)	<i>R. macracanthus</i> (Chandler,1933)	<i>R. causensis</i> (Rivillas,2004)	<i>R. caballeroi</i> (Kifune e Uyema,1982)	Grupo I	Grupo II
Comprimento	2,160 - 9,360	2,434 - 2,492	7,128 - 12,600	969 -7, 093	1,999 - 2,471	813 - 3,489	11640 - 19470	3990 - 5470
Largura	219 - 1,584	422 - 556	840 - 1,162	360 - 1,508	576 - 799	313 - 1, 074	2220 - 2630	540 - 1050
Bainha da probóscide	375 - 1,188 x 63 - 238	305 - 318 x 63 - 99	210 - 319 x 63- 150	150 - 415 x 45 - 190	275 - 320 x 113 - 140	138 - 358 x 38 - 184	460 - 550 x 160	880 - 950 x 120 - 190
Nº de espinhos em cada probóscide	9	>30	10	10	8-10	-	10	8-9
Ventosa Oral	93 - 344 x 88 - 325	74 - 99 x 86 - 99	190 - 356 x 230 - 331	88 - 242 x 70-274	125 - 185 x 118 - 175	60 - 256 x 75 - 288	440 - 590	120 - 182
Ventosa Ventral	150 - 840 x 150 - 816	143 - 170 x 143 - 184	406 - 575 x 435 - 757	155 - 538 x 125 - 475	210 - 335 x 194 - 290	24 - 319 x 138 - 340	367 - 422 x 288 - 352	400 - 865 x 215 - 930
Bolsa do Cirro	563 - 2,219 x 119 - 500	573 - 762 x 134 - 161	813 - 1,290 x 200 - 344	375 - 2,300 x 75 - 375	575 - 775 x 170 - 219	170 - 938 x 53 - 225	1243 - 1560 x 270 - 370	1230 - 2480 x 240 - 420
Ovos	70 - 108 x 38 - 70	65 - 72 x 38 - 48	68 - 98 x 38 - 63	75 - 113 x 36 - 74	92 - 98 x 44 - 52	53 - 105 x 32 - 60	107 - 115 x 63	87 - 93 x 48 - 53

Fonte: Haverkost & Garner (2008) e dados da pesquisa. * Medidas dispostas em µm.

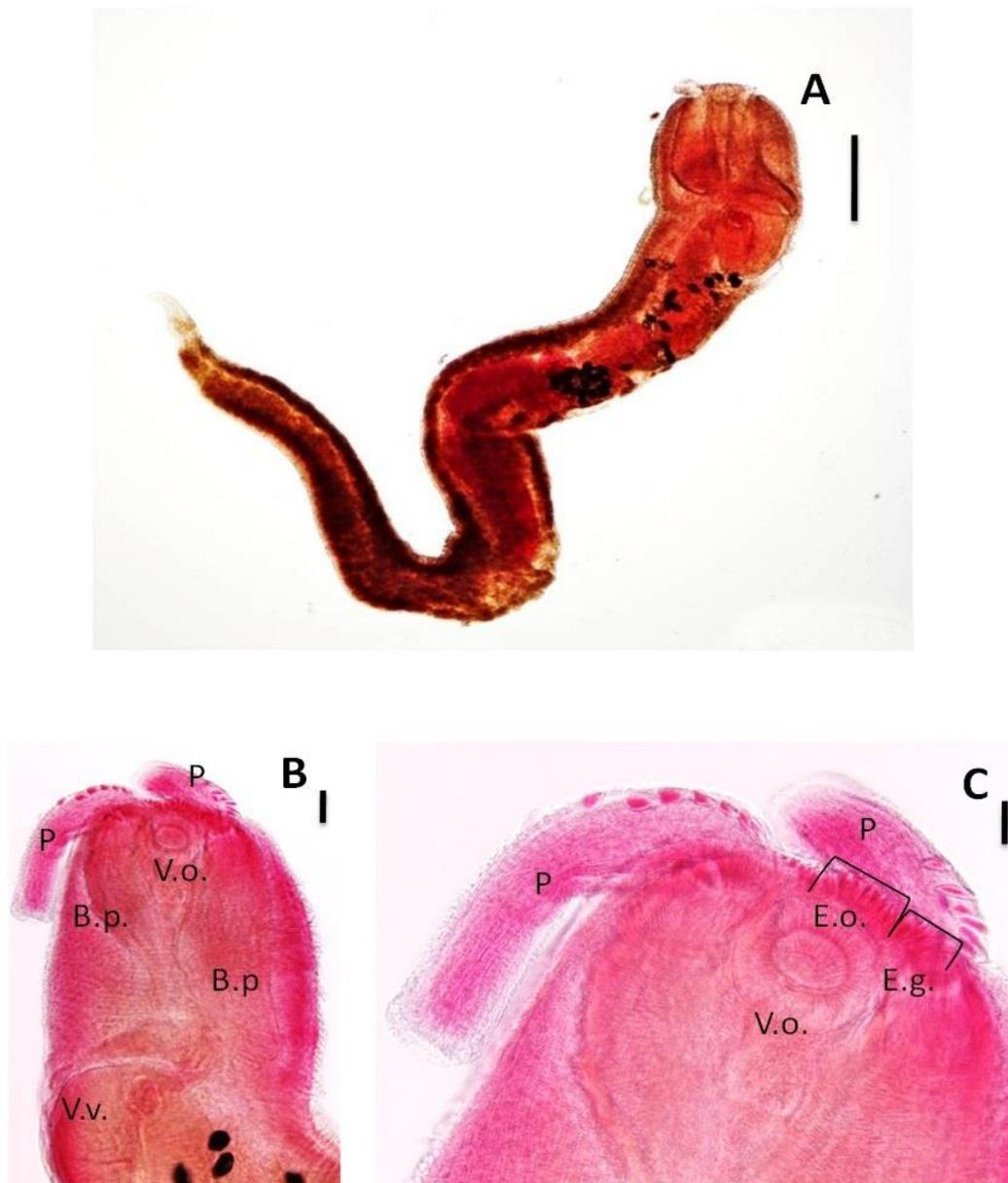


Figura 3 – Fotomicrografia de *R. coronatus*. A) Visão geral do trematódeo. Barra = 500 μm . B) Região anterior, evidenciando a ventosa oral (V.o.) e parte da ventosa ventral (V.v.), as bolsas das probóscides (B.p.) e as probóscides exteriorizadas (P), armadas de espinhos. Barra = 100 μm . C) Extremidade da região anterior, em que se verifica os espinhos orais (E.o.) e de guarda (E.g.), logo acima da ventosa oral e com maior detalhes as probóscides projetadas para o exterior do corpo do trematódeo. Barra = 50 μm .

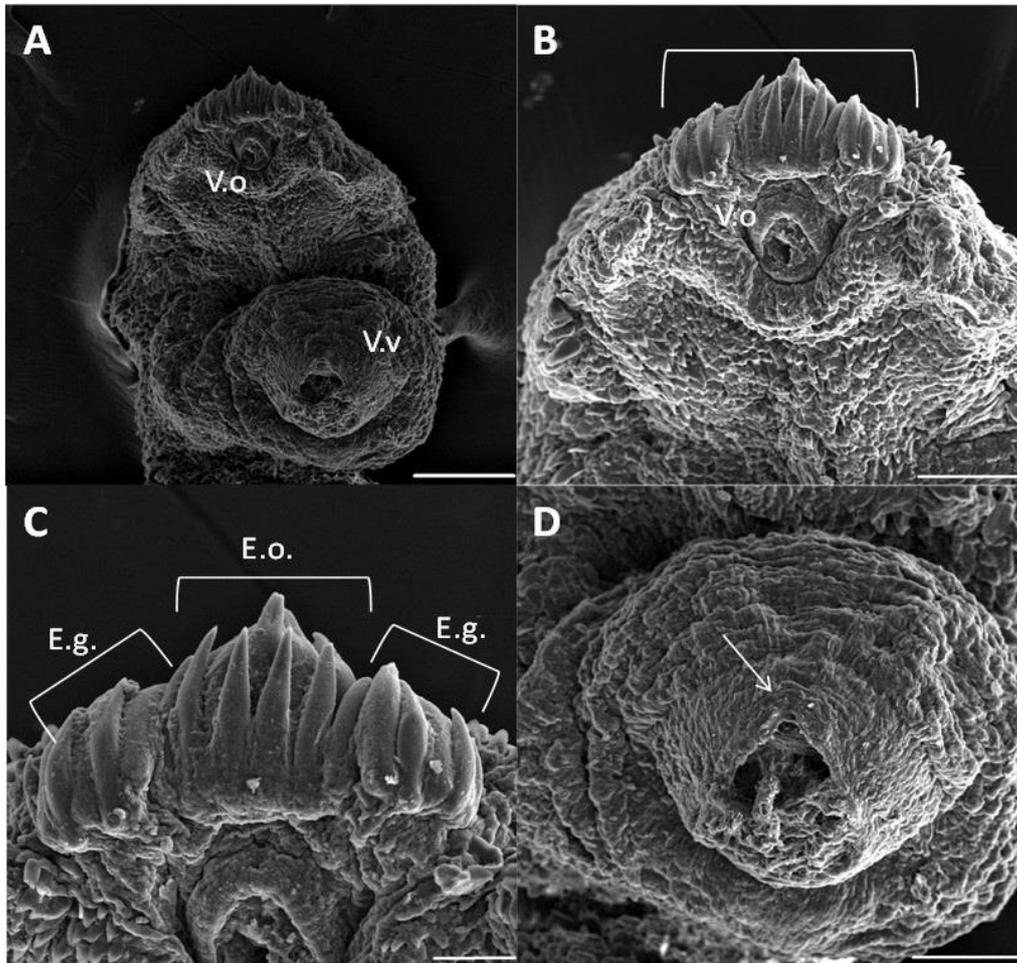


Figura 4 – Imagens em Microscopia Eletrônica de Varredura de trematódeo do Grupo I (*R. coronatus*). A) Extremidade anterior, onde se observa a ventosa oral (V.o) e a ventosa ventral (V.v) . Barra = 100 μ m. B) Detalhe da extremidade anterior, onde se observa a presença de espinhos dispostos logo acima a ventosa oral (V.o). Barra = 50 μ m. C) Detalhe da disposição dos espinhos, evidenciando os espinhos orais (E.o) e os espinhos de guarda (E.g). Barra = 20 μ m. D) Detalhe da ventosa ventral (V.v), evidenciando o poro genital (seta). Barra = 50 μ m.

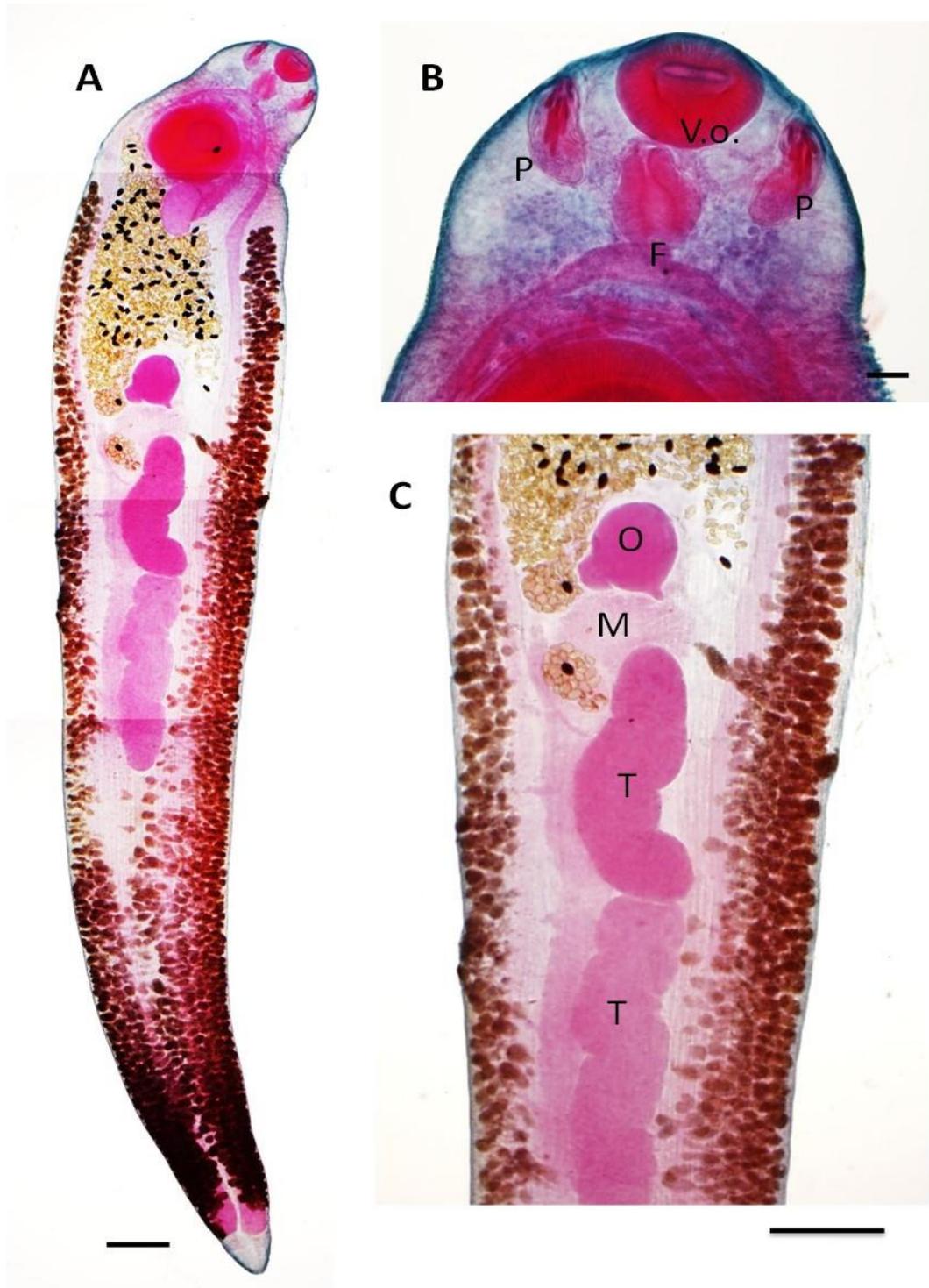


Figura 5 – Fotomicrografia de *R. baculifer*. A) Visão geral do trematódeo. Barra = 500 μm . B) Região anterior do trematódeo, onde se observa a presença das probóscides invaginadas (P), localizadas do lado da ventosa oral (V.o.) e a faringe (F). Barra = 100 μm . C) Região mediana, onde se observa o ovário (O), glândula de Mehli's (M) e testículos (T). Barra = 500 μm .

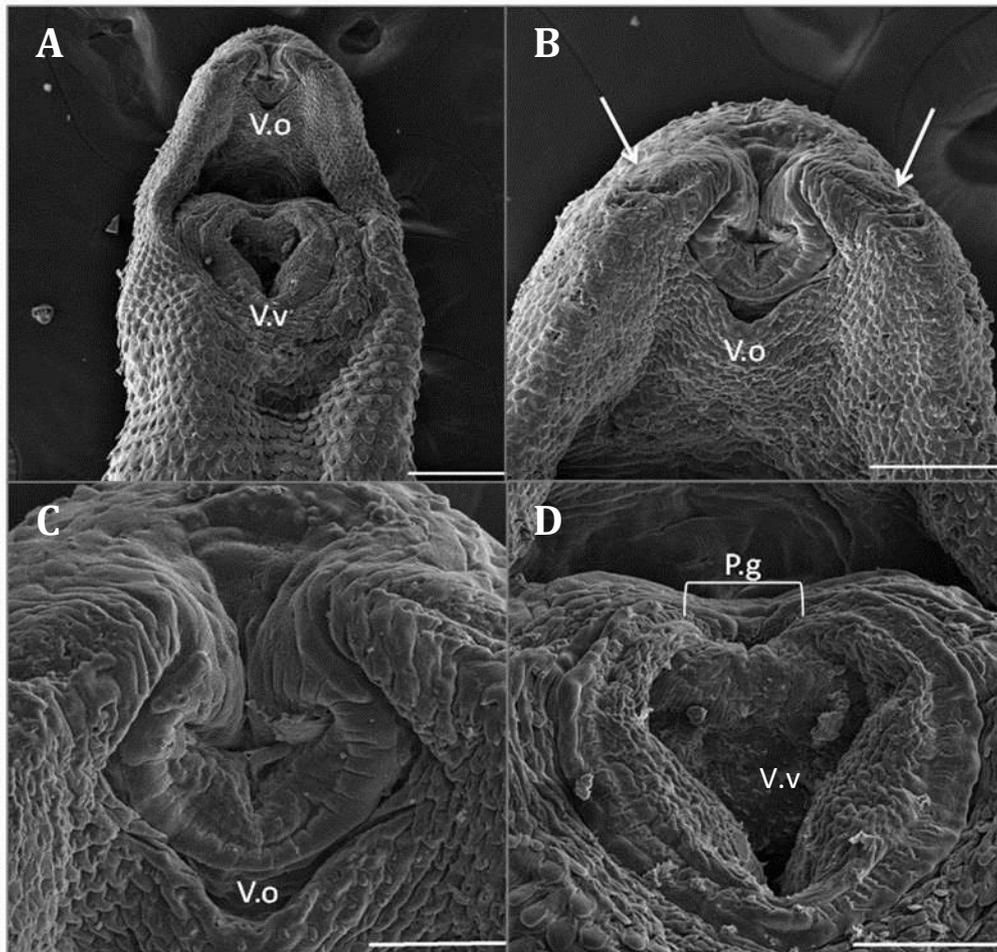


Figura 6 – Imagens em Microscopia Eletrônica de varredura de *R. baculifer*. **A)** Região anterior do trematódeo, onde se observa a ventosa oral, ventosa ventral e parte do revestimento recoberto por escamas menores na extremidade superior e aumento em tamanho ao longo do corpo do trematódeo. Barra = 200 μm . **B)** Região anterior de *R. baculifer*, evidenciado as aberturas das probóscides retráteis, localizadas bilateralmente a ventosa oral. Além disso, podemos verificar por toda a região anterior, ausência de espinhos orais ou de guarda. Barra = 100 μm . **C)** Detalhe da ventosa oral muscular, localizada próxima a extremidade superior. Barra = 50 μm . **D)** Detalhe do poro genital (P.g), localizado logo acima da ventosa ventral muscular. Barra = 100 μm .

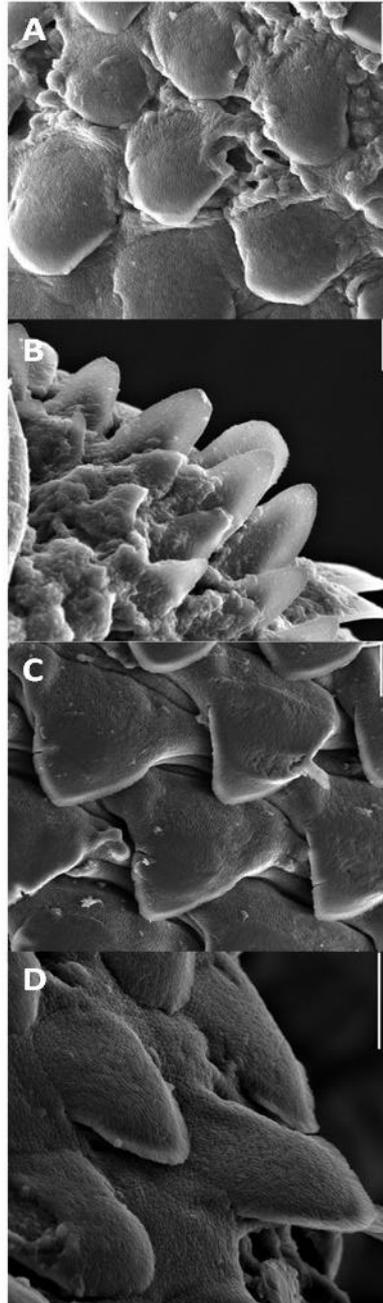


Figura 7 – Micrografia de varredura das escamas do trematódeo de *R. baculifer*.

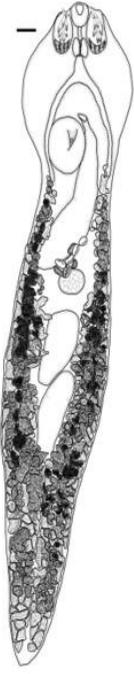
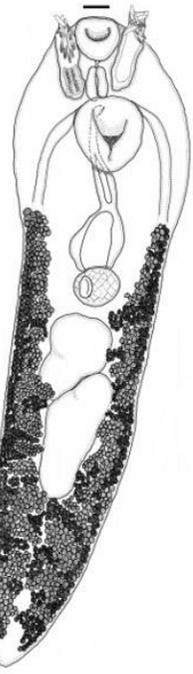
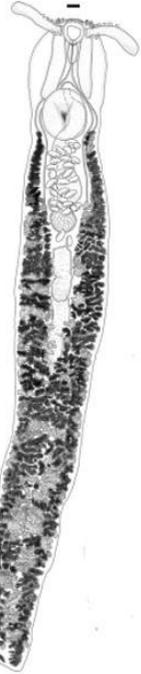
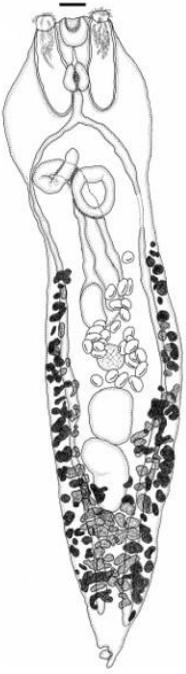
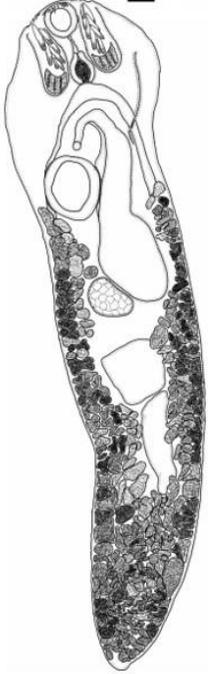
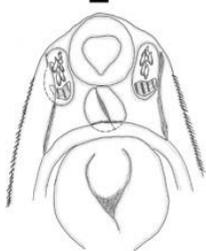
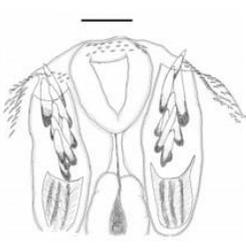
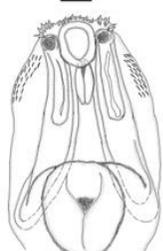
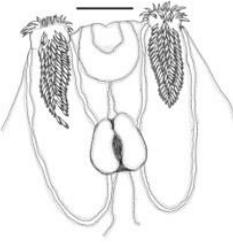
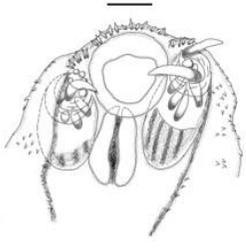
A) Observa-se escamas espessas, com a extremidade arredondada. Localizadas entre a ventosa oral e a ventosa ventral. Barra = 10 μm . **B)** Escamas eriçadas de aspecto mais fino, de formato oval. Localizadas na região lateral da ventosa oral. Barra = 10 μm .

C) Escamas espessas com a extremidade em formato triangular, onde sua espessura vai diminuindo. Apresenta um sutil aspecto de franja na extremidade. Localizadas na região dorsal anterior do trematódeo. Barra = 10 μm . **D)** Escamas espessas com a extremidade em formato triangular e apresentando uma visível camada de menor espessura, com aspecto de franja. Barra = 10 μm .

Tabela 2 – Valores de prevalência e intensidade parasitária de *R. coronatus* e *R. baculifer* de *P. opossum* nos municípios do estado do Pará, Brasil.

Espécies	Prevalência	Intensidade Parasitária	Nº total de parasitas de cada espécie
<i>Rhopalias coronatus</i> (Rudolphi, 1819)	66,6%	8	32
<i>Rhopalias baculifer</i> (Braun, 1901)	33,3%	4	16
TOTAL	100%	-	48

Quadro 1– Espécies do gênero *Rhopalias* descritos em marsupiais.

<i>R. baculifer</i> (Braun,1901)	<i>R. macracanthus</i> (Chandler,1933)	<i>R. caballeroi</i> (Kifune & Uyema,1982)	<i>R. coronatus</i> (Rudolphi,1819)	<i>R. horridus</i> (Diesing,1850)	<i>R. causencis</i> (Rivillas <i>et al.</i> ,2004)
					
					

Fonte: adaptado de Haverkost & Garner (2008)

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUJA, L.V.; PATTERSON, B.D. A new species of northern shrew-opossum (Paucituberculata: Caenolestidae) from the Cordillera del Condor, Ecuador. **Journal of Mammalogy**, **77**: 41-56, 1996.
- ALDEN K.J. Helminths of the opossum, *Didelphis virginiana*, in southern Illinois, with a compilation of all helminths reported from this host in North America. **Journal of the Helminthological Society of Washington** **62**: 197–208, 1995.
- ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S.; Animais de Laboratório: criação e experimentação. **Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ**, 388 p, 2002.
- BAER, J. G. *Duboisiiella proloba* n. gen., n. sp., Trematode de la sarigue, *Didelphis aurita* I. **Liv. Jub. Prof. Lauro Travassos. XX**: 589 pp, 1938.
- BARKER F.D. The trematode genus *Opisthorchis* R. Blanchard, 1895. **Studies Zool Lab Univ Nebraska** **103**:513-561, 1911.
- BENGIS, R.G.; LEIGHTON, F.A.; FISCHER, J.R.; ARTOIS,M.; MORNER, T.; TATE, C.M. The role of wildlife in emerging and re- emerging zoonoses. **Rev.Sci.Tech.****23**, 497-511, 2004.
- BLUMENTHAL, E. M.; KIRKILAND, G L. The biology of the opossum, *Didelphis virginiana* in south central Pennsylvania. **Proceedings of the Pennsylvania Academy of Science** **50**: 81-85, 1976.
- BRAUN, M. V. Zur Kenntniss der Trematoden der Säugethiere. **Zoologische Jahrbucher, Abteilung fur Systematik** **14**:311–348, 1901.
- BURNIE, D.; WILSON, D.E. Animal. **Dorling Kindersley Publisher**. London. 624pp, 2001.
- BYLES B.; CATZEFLIS, F.; SCHEIBEL, R.P.; JIMÉNEZ F.A. Gastrointestinal Helminths of Two Species of Mouse Opossums (*Marmosa demerarae* and *Marmosa murina*) from French Guiana. **Comparative Parasitology** **80**(2): 210–216, 2013.
- CHANDLER, A. C. Notes on the helminth parasites of the opossum (*Didelphis virginiana*) in Southeast Texas, with descriptions of four new species. **Proceedings of the U.S. National Museum****81**:1–15, 1932.

- CUNHA, A. A. & VIEIRA, M. V. Support diameter, incline, and vertical movements of four didelphid marsupials in the Atlantic forest of Brazil. **J. Zool.** **258**:419-426, 2002.
- DALMAGRO, A. & VIEIRA, E.M. 2005. Patterns of habitat utilization of small rodents in an area of Araucaria forest in Southern Brazil. **Austral Ecology**, **30**: 353-362.
- DIESING, C. M. **Systema helminthum, Vindobonae**, 588 p. 1850.
- DUJARDIN , F. Histoire Naturelle des Helminthes ou vers intestinaux. **Paris**, xvi: 654 pp, 1845.
- FERNANDES, B.M.M.; JUSTO, M.C.N.; CÁRDENAS, M.Q.; COHEN, S.C. **South American trematodes parasites of birds and mammals**. Ed. Oficina de livros. Rio de Janeiro, 223p, 2015.
- FLORES, D.A.; BARQUEZ, R.M.; DÍAZ, M.M. "A new species of *Philander* Brisson, 1762 (Didelphimorphia, Didelphidae)". **Mammalian Biology****73** (1): 14-24, 2008.
- FONSECA, G.A.B.; G. HERMANN; Y.L.R. LEITE; R.A. MITTERMEIER; A.B. RYLANDS & J.L. PATTON. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil. **Occasional Papers in Conservation Biology** **4**:1-38, 1996.
- GARDNER, A. L. Mammals of South America, Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats. **University Of Chicago Press, Chicago**, **1**: 669pp, 2007.
- GARDNER, A. L. Order Didelphimorphia. In: WILSON, D.E; REEDER, D.M. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference**. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. p 15-23, 2005.
- GIRAUDOUX, P.; CRAIG, P.S.; DELATTRE, P.; BAO, G.; BARTHOLOMO, T.B.; HARRAGA, S. Interactions between landscape changes and host communities can regulate *Echinococcus multilocularis* transmission. **Parasitology** **127**: 121-131. 2003.
- GOMES, D.C. Contribuição a conhecimento dos helmintos parasites de marsupiais no Brasil, da Coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz- Trematoda. **Atlas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro, RJ**, **20**: 33-23, 1979.
- GRAND, T. I. Body eight its relation to tissue composition, segmental distribution of mass, and motor function.3. The Didelphidae of Frech Guiana. **Australian Journal of Zoology** **31**, 229-312, 1983.

- GROVES, C.P. Order Dasyuromorphia, Peramelemorphia, Notoryctemorphia, Diprotodontia. In: WILSON, D.E; REEDER, D.M. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference**. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. p.29-62, 1993.
- HASEEB, M. A.; FRIED, B. Modes of transmissions of trematode infection and their control. En: **Trematode Biology**, B. FRIED; T. GRACZYK (Ed). Florida, USA, CRC Press, 466p, 1997.
- JURGELSKI, W. Jr. The opossum (*Didelphis virginiana Kerr*) as a biomedical model.1. Research perspective, husbandry, and laboratory techniques. **Laboratory Animal Science** **24**:376- 03, 1974.
- KIFUNE, T.; N. UYEMA. Report of the Fukuoka University Scientific Expedition to Peru, 1976. Part 3. Taxonomical studies on trematodes from marsupials and rodents with records of two crabs. **Medical Bulletin of Fukuoka University** **9**:241–256, 1982.
- LAFFERTY, K.D. Environmental Parasitology: What can Parasites tell us about Human Impacts on the Environment? **Parasitology Today** **13**: 251-255, 1997.
- LAMBERT, T. D.; MALCOLM, J. R.; ZIMMERMAN, B. Amazonian small mammal abundances in relation to habitat structure and resource abundance. **Journal of Mammalogy**, v. **87**, n. 4, p. 766-776, 2006.
- LAMBERT, T. D.; MALCOLM, J. R.; ZIMMERMAN, B. L. Variation in Small Mammal Species Richness by Trap Height and Trap Type in Southeastern Amazonia. **Journal of Mammalogy**, v. **86**, n. 5, p. 982-990, 2005.
- LEW, D.; PEREZ-HERNANDEZ, R.; VENTURA, J. "Two new species of *Philander* (Didelphomorphia, Didelphidae) from northern South America". **Journal of Mammalogy** **87** (2): 224-237, 2006.
- LINNAEUS, C. **System nature**. Tomus I, Ed. 10 reformata – pp. [1-4], 1-824. *Holmiae* (Salvius), 1758.
- LITTLE, M.D.: *Paragonimus caliensis* sp. and *paragonimiasis* in Colombia. **Parasitology**, **54**: 738-746, 1968.

- LOSS, A. .Weitere Beiträge zur Kenntnis der Trematoden fauna Aegyptens, zugleich Versuch einer natürlichen Gliederung des Genus *Distomum* Retzius. **Zoologische Jahrbücher** **12**: 521–784, 1899
- MACPHERSON C.N.L. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonose. **International Journal for Parasitology** **35**: 13-31, 2005.
- MALCOLM, J.R. Biomass and diversity of small mammals in Amazonian forest fragments. In: Tropical forest remnants – ecology, management, and conservation of fragmented communities (W.F. Laurance & R.O. Bierregaard, coords). **The University of Chicago Press, Chicago**, p.207-221, 1997.
- MALDONADO,S.G.; REYES, C.A. *Porrorchis nickoli* n. sp. (*Plagiorhynchidae*) from mammals in Southeastern México, first know occurrence of *porrorchis* in the western hemisphere. **Jornal Parasitologia**, **88**(1), PP 142-152, 2002.
- MAS-COMA, S.; VALERO, M.A.; BARGUES, M. D. Effects of climate change on animal and zoonotic helminthiasis. **Revue Scientifique et Technique** **27**(6): 443-457, 2008.
- MAS-COMA, S.; VALERO, M.A.; BARGUES, M.D.. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic *fasciolosis* and *schistosomiasis*. **Veterinary Parasitology**, 2009.
- MEHLHORN,H. **Encyclopedia of Parasitology**. Ed. Springer. New York, 2008, 234p.
- MIYAZAKI, I.; GRADOS, O.; UYEMA, N.: A new lung fluke found in Peru, *Paragonimus amazonicus* sp. n. (Trematoda: Troglotrematidae). **Journal Parasitology**, **22**: 48-54, 1973.
- MORLEY, N.J., LEWIS, J.W., The influence of climatic conditions on long-term changes in the helminth fauna of terrestrial molluscs and the implications for parasite transmission in southern England. **Journal of Helminthology** **82**: 325-335, 2008.
- MOURA, M.; CAPARELLI, A.; FREITAS, S.; VIEIRA,M. Scale-dependent habitat selection in three *Didelphis* marsupials using the spool-and-line technique in the Atlantic forest of Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, **21**:337-342, 2005.
- NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**, Ed. Atheneu, São Paulo, 2005, 498p.
- NOWAK, R.M. Walker's Mammals of the World. **The Jonhs Hopkins University Press 5^a ed.**; 1629pp, 1991.

- PALMAS, A. R. T.; VIEIRA, E. M. O gênero *Thylamys* no Brasil: História natural e distribuição geográfica. In: CÁCERES, N. C.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A.(Eds.). **Os Marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução**. 1ª Ed. Campo Grande: UFMS, p.271-286, 2006
- PARDINI, R. & F. UMETSU. Pequenos mamíferos da Reserva do Morro Grande – distribuição das espécies e da diversidade em uma área de Mata Atlântica. **Biota Neotropica**. 2006
- PARDINI, R. 2004. Effects of forest fragmentation on small mammals in an Atlantic Forest landscape. **Biodivers. Conserv.** **13**: 2567-2586.
- PINE, R.H. Mammals (exclusive of bats) of Belém, Pará, Brazil. **Acta Amazonica** **3**(2):47-79, 1973.
- POTKAY, S.; Diseases of the opossum (*Didelphis marsupialis*). **Laboratory Animal Care**, **20**, n.3, p501-511, 1970.
- REIS, N. R. P., A. L.; PEDRO, W. A. & LIMA, I. P. **Mamíferos do Brasil**, 437p, 2006.
- RIVILLAS, C.; CARO, E.; CARVAJAL, H.; VÉLEZ, I. Algunos trematodos digeneos (*Rhopaliasidae*, *Opistorchiidae*) de *Philander opossum* (Marsupialia) de la costa pacífica colombiana, incluyendo *Rhopalias caucensis* n. sp. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales XXVIII**:591–600, 2004.
- ROBERT, L.S. & JANOVY, J.J.R. **Foundations of Parasitology**. Ed. Mc Graw-Hill. New York, 2009, 720p.
- RUDOLPHI, C.A.; Entozoorum Synopsis cui accedunt mantissa duplex et índice locupletissimi. **Sumptibus Augusti Rücker, Berlin, Germany, 811pp**, 1819.
- SILVA, M. N. F.; RYLANDS, A.B.; PATTON, J.L. Biogeografia e conservação da mastofauna na Floresta Amazônica Brasileira. In: Capobianco, J.P.R.; VERISSIMO, A.; MOREIRA, A.; SAWYER, D.; SANTOS, I.; PINTO, L. P. (Eds). **Biodiversidade na Amazônia Brasileira: avaliação e ações prioritárias para a conservação, uso sustentável e repartição de benefícios**. Estação Liberdade: Instituto Socioambiental. São Paulo, 2001, 540pp.
- SZIDAT, L. Nuevo tipo de larvas de *Alariinae* (Trematoda) del riñón de *Leptodactylus ocellatus* de la Argentina. **Neotropica** **6**:81–88, 1960.

THATCHER,V.E. Os endoparasitos dos marsupiais brasileiros. In Cáceres, N.C.; MONTEIRO-FILHO E.L.A.(ORG). **Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução**. Campo Grande, MS, Editora UFMS.p.53-68, 2006.

THATCHER,V.E. The genus *Amphimerus*, Barker,1911. (Trematoda: *Opisthorchiidae*). In: Colombia with the description of a new species. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington** 37:207–11, 1970.

VICENTE J.J.; RODRIGUES, H.O.; GOMES, D.C.; PINTO, R.M. Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de mamíferos. **Ver Bras Zool**14 (Supl.1): 1-452, 1997.

VIEIRA, T. M. Aspectos da ecologia do cuxiú de Uta Hick, *Chiropotes utahickae* (HersHKovitz, 1985), com ênfase na exploração alimentar de espécies arbóreas da ilha de Germoplasma, Tucuruí-PA. **Dissertação de Mestrado. Belém, Universidade Federal do Pará**. 2005.

ANEXO I

**NORMAS DO
BOLETIM DO MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
CIÊNCIAS NATURAIS**

BOLETIM DO MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI. CIÊNCIAS NATURAIS

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Objetivos e política editorial

O Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais tem como missão publicar trabalhos originais em biologia (zoologia, botânica, biogeografia, ecologia, taxonomia, anatomia, biodiversidade, vegetação, conservação da natureza) e geologia. A revista aceita colaborações em português, espanhol e inglês (Inglaterra) para as seguintes seções:

Artigos Científicos – textos analíticos originais, resultantes de estudos e pesquisas com contribuição efetiva para o avanço do conhecimento. Até 50 laudas.

Notas de Pesquisa – relato preliminar sobre observações de campo, dificuldades e progressos de pesquisa em andamento, ou em fase inicial, enfatizando hipóteses, comentando fontes, resultados parciais, métodos e técnicas utilizados. Até 15 laudas.

Memória – seção que se destina à divulgação de acervos ou seus componentes que tenham relevância para a pesquisa científica; de documentos transcritos parcial ou integralmente, acompanhados de texto introdutório; e de ensaios biográficos, incluindo obituário ou memórias pessoais. Até 15 laudas.

Resenhas Bibliográficas – texto descritivo e/ou crítico de obras publicadas na forma impressa ou eletrônica. Até cinco laudas.

Teses e Dissertações – descrição sucinta, sem bibliografia, de dissertações de mestrado, teses de doutorado e livre-docência. Uma lauda.

Apresentação de originais

Os originais devem ser encaminhados ao Editor Científico por meio de mensagem eletrônica (boletim.naturais@museu-goeldi.br), contendo, obrigatoriamente, o título do trabalho, o nome completo, por extenso, do autor principal e dos demais autores, a indicação de autor para correspondência (com endereço completo, CEP, telefones, fax, e-mail) e uma declaração de que o autor principal se responsabiliza pela inclusão dos coautores.

A revista possui um Conselho Científico. Os trabalhos submetidos são primeiramente avaliados pelo Editor ou por um dos Editores Associados. O Editor reserva-se o direito de sugerir alterações nos trabalhos recebidos ou devolvê-los, caso não estejam de acordo com os critérios exigidos para publicação.

Uma vez aceitos, os artigos seguem para avaliação por pares (peer-review). Os artigos são analisados por dois especialistas, no mínimo, que não integram a Comissão Editorial. Caso haja discordância entre os pareceres, o trabalho é submetido a outro(s) especialista(s). Caso mudanças ou correções sejam recomendadas, o trabalho é devolvido ao(s) autor(es), que terá(ão) um prazo de trinta dias para elaborar nova versão. Os arquivos referentes a artigos não aprovados para publicação são deletados.

A publicação implica cessão integral dos direitos autorais do trabalho à revista. A declaração para a cessão de direitos autorais é enviada juntamente com a notificação de aceite do artigo. Deve ser impressa e devolvida assinada via correios. Todos os autores devem assinar uma declaração.

Aos Editores, ao Conselho Científico e aos consultores científicos ad hoc cabe a responsabilidade ética do sigilo e da colaboração voluntária para garantir a qualidade científica das publicações e da revista. Aos autores cabe a responsabilidade da veracidade das informações prestadas, do depósito dos materiais estudados em instituições legais, quando couber, e o cumprimento das leis locais que regem a coleta, o estudo e a publicação dos dados.

Preparação de originais

Os originais devem ser enviados com texto digitado em Word, com fonte Times New Roman, tamanho 12, entrelinha 1,5, em laudas sequencialmente numeradas. Na primeira folha (folha de rosto) devem constar: título (no idioma do texto e em inglês); nome(s) completo(s) do(s) autor(es); filiação institucional (por extenso); endereço(s) completo(s); e-mail de todos os autores. Na página dois, devem constar: título (no idioma do texto e em inglês), resumo, abstract, palavras-chave e keywords. Não incluir o(s) nome(s) do(s) autor(es). Tabelas devem ser digitadas em Word, sequencialmente numeradas, com claro enunciado. Ilustrações e gráficos devem ser apresentados em páginas separadas e numeradas, com as respectivas legendas, e em arquivos à parte em formato TIFF (preferencialmente) ou JPEG, com resolução mínima de 500 dpi, tamanho mínimo de 3.000 pixels de largura. O texto deve, obrigatoriamente, fazer referência a todas as tabelas, gráficos e ilustrações.

Chaves devem ser apresentadas no seguinte formato:

<i>1. Lagarto com 4 patas minúsculas</i>	<i>2</i>
<i> Lagarto com 4 patas bem desenvolvidas</i>	<i>3</i>
<i>2. Dígitos geralmente sem unhas, dorsais lisas</i>	<i>Bachia flavescens</i>
<i> Dígitos com unhas, dorsais quilhadas</i>	<i>Bachia panoplia</i>
<i>3. Mãos com apenas 4 dedos.....</i>	<i>4</i>
<i> Mãos com 5 dedos</i>	<i>5</i>
<i>4. Escamas dorsais lisas</i>	<i>Gymnophthalmus underwoodii</i>
<i> Escamas dorsais quilhadas</i>	<i>Amapasaurus tetradactylus</i>
<i>5. Cabeça com grandes placas</i>	<i>6</i>
<i> Cabeça com escamas pequenas</i>	<i>7</i>
<i>6. Placas posteriores da cabeça formam uma linha redonda</i>	<i>Alopoglossus angulatus</i>
<i> Placas posteriores da cabeça formam uma linha reta</i>	<i>Arthrosaura kockii</i>
<i>7. Etc.</i>	
<i> Etc.</i>	

Pede-se destacar termos ou expressões por meio de aspas simples. Apenas termos científicos latinizados ou em língua estrangeira devem constar em itálico. Observar cuidadosamente as regras de nomenclatura científica, assim como abreviaturas e convenções adotadas em disciplinas especializadas. Citações e referências a autores no decorrer do texto devem subordinar-se à seguinte forma: sobrenome do autor (apenas com inicial maiúscula) e ano (exemplo: Weaver, 1989). Em trabalhos com dois autores, os nomes devem ser separados por “&”. No caso de mais de dois autores, menciona-se somente o nome do primeiro autor seguido por “et al.”. Todas as obras citadas ao longo do texto devem estar corretamente referenciadas ao final do artigo.

Estrutura básica dos trabalhos

Título – *No idioma do texto e em inglês (quando este não for o idioma do texto). Deve ser escrito em caixa baixa, em negrito, centralizado na página.*

Resumo e Abstract – *Texto em um único parágrafo, ressaltando os objetivos, métodos e conclusões do trabalho, com, no máximo, duzentas palavras, no idioma do texto (Resumo) e em inglês (Abstract). A versão para o inglês é de responsabilidade do(s) autor(es).* **Palavras-chave e Keywords** – *Três a seis palavras que identifiquem os temas do trabalho, para fins de indexação em bases de dados.* **Introdução** – *Deve conter uma visão clara e concisa de conhecimentos atualizados sobre o tema do artigo, oferecendo citações pertinentes e declarando o objetivo do estudo.*

Material e métodos – *Exposição clara dos métodos e procedimentos de pesquisa e de análise de dados. Técnicas já publicadas devem ser apenas citadas e não descritas. Termos científicos, incluindo espécies animais e vegetais, devem ser indicados de maneira correta e completa (nome, autor e ano de descrição).*

Resultados e discussão – *Podem ser comparativos ou analíticos, ou enfatizar novos e importantes aspectos do estudo. Podem ser apresentados em um mesmo item ou em separado, em sequência lógica no texto, usando tabelas, gráficos e figuras, dependendo da estrutura do trabalho.*

Conclusão – *Deve ser clara, concisa e responder aos objetivos do estudo.*

Agradecimentos – *Devem ser sucintos: créditos de financiamento; vinculação do artigo a programas de pós-graduação e/ou projetos de pesquisa; agradecimentos pessoais e institucionais. Nomes de instituições devem ser por extenso, de pessoas pelas iniciais e sobrenome, explicando o motivo do agradecimento.*

Referências – *Devem ser listadas ao final do trabalho, em ordem alfabética, de acordo com o sobrenome do primeiro autor. No caso de mais de uma referência de um mesmo autor, usar ordem cronológica, do trabalho mais antigo ao mais recente. No caso de mais de uma publicação do mesmo autor com o mesmo ano, utilizar letras após o ano para diferenciá-las. Nomes de periódicos devem ser por extenso. Teses e dissertações acadêmicas devem preferencialmente estar publicadas. Estruturar as referências segundo os modelos a seguir:*

Livro: *WEAVER, C. E., 1989. Clays, muds and shales: 1-819. Elsevier, Amsterdam.*

Capítulo de livro: *ARANHA, L. G., H. P. LIMA, R. K. MAKINO & J. M. SOUZA, 1990. Origem e evolução das bacias de Bragança*

– *Viseu, S. Luís e Ilha Nova. In: E. J. MILANI & G. P. RAJA-GABAGLIA (Eds.): Origem e evolução das bacias sedimentares: 221-234. PETROBRÁS, Rio de Janeiro.*

Artigo de periódico: GANS, C., 1974. *New records of small amphisbaenians from northern South America. Journal of Herpetology 8(3): 273-276.*

Série/Coleção: CAMARGO, C. E. D., 1987. *Mandioca, o “pão caboclo”: de alimento a combustível: 1-66. Icone (Coleção Brasil Agrícola), São Paulo.*

Documento eletrônico: IBGE, 2004. *Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>>. Acesso em: 23 janeiro 2004.*

Provas

Os trabalhos, depois de formatados, são encaminhados em PDF para a revisão final dos autores, que devem devolvê-los com a maior brevidade possível. Os pedidos de alterações ou ajustes no texto devem ser feitos por escrito. Nessa etapa, não serão aceitas modificações no conteúdo do trabalho ou que impliquem alteração na paginação. Caso o autor não responda ao prazo, a versão formatada será considerada aprovada. Cada autor receberá, via Correios, dois exemplares do Boletim. Os artigos são divulgados integralmente no formato PDF no sítio da revista e no DOAJ, com acesso aberto.

Endereço para correspondência

Museu Paraense Emílio Goeldi

Editor do Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais

Av. Perimetral, 1901 - Terra Firme

CEP 66077-530

Belém - PA - Brasil

Telefone: 55-91-3075-6186

E-mail: boletim.naturais@museu-goeldi.br

Lembre-se:

- 1- Antes de enviar seu trabalho, verifique se foram cumpridas as normas acima. Disso depende o início do processo editorial.*
- 2- Após a aprovação, os trabalhos são publicados por ordem de chegada. O Editor Científico também pode determinar o momento mais oportuno.*
- 3- É de responsabilidade do(s) autor(es) o conteúdo científico do artigo, o cuidado com o idioma em que ele foi concebido, bem como a coerência da versão para o inglês do título, do resumo (abstract) e das palavras-chave (keywords). Quando o idioma não estiver corretamente utilizado, o trabalho pode ser recusado.*