



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DAS ÁGUAS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ANÁLISES DE HEMOPARASITAS E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE
QUATRO ESPÉCIES DE TARTARUGAS
(TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE) DA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

MARIANA COSTA CAVALCANTE

**SANTARÉM – PARÁ
2023**

MARIANA COSTA CAVALCANTE

**ANÁLISES DE HEMOPARASITAS E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE
QUATRO ESPÉCIES DE TARTARUGAS
(TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE) DA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Oeste do Pará, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador Prof. Dr. Lincoln Lima Corrêa

**SANTARÉM – PARÁ
2023**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- C376a Cavalcante, Mariana Costa
Análises de hemoparasitas e parâmetros hematológicos de quatro espécies de tartarugas (Testudines: Podocnemididae) da Amazônia brasileira./ Mariana Costa Cavalcante. – Santarém, 2023.
26 p.: il.
Inclui bibliografias.
- Orientador: Lincoln Lima Corrêa.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas, Bacharelado em Ciências Biológicas.
1. Hemogregarines. 2. Tartarugas. 3. Rio Tapajós. 4. Parâmetros hematológicos.
I. Corrêa, Lincoln Lima, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 597.92

MARIANA COSTA CAVALCANTE

**ANÁLISES DE HEMOPARASITAS E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE
QUATRO ESPÉCIES DE TARTARUGAS
(TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE) DA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Oeste do Pará, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador Prof. Dr. Lincoln Lima Corrêa

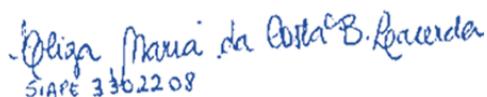
Conceito:

Data de aprovação: 06/ 06/2023



1 1334020214 UFOPA
SIAPE 13275707/2010.370616-D

Prof. Dr. Lincoln Lima Corrêa – Orientador
Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas - Universidade Federal do Oeste do Pará



SIAPE 3362208

Prof. Dra. Eliza Maria da Costa Brito Lacerda – Banca Examinadora (Membro Titular)
Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas - Universidade Federal do Oeste do Pará



Prof. Dr. Diego Maia Zacardi
Docente - UFOPA - ICTA
SIAPE 1544196

Prof. Dr. Diego Maia Zacardi – Banca Examinadora (Membro Titular)
Instituto de - Universidade Federal do Oeste do Pará



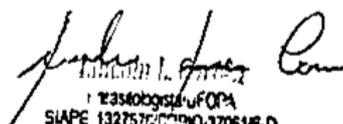
UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DAS ÁGUAS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

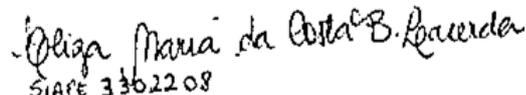
Aos seis dias do mês de Junho do ano de dois mil e vinte e três, às dez horas, realizou-se na sala NSA-B-105 do Bacharelado em Ciências Biológicas, a sessão pública de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso da discente Mariana Costa Cavalcante, intitulado Análises de hemoparasitas e parâmetros hematológicos de quatro espécies de tartarugas (Testudines: Podocnemididae) da Amazônia Brasileira, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas. Os trabalhos foram conduzidos pelo professor Dr. Lincoln Lima Corrêa, orientador da discente e presidente da Banca Examinadora, constituída, também, pelos membros convidados pelo Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas a Profª. Dra. Eliza Maria da Costa Brito Lacerda e o Prof. Dr. Diego Maia Zacardi como membros da Banca Examinadora de TCC. Após apresentação do Trabalho de Conclusão de Curso, a Banca Examinadora passou à arguição da discente. Encerrados os trabalhos de arguição, os examinadores reuniram-se para avaliação e deram o parecer final sobre a apresentação e defesa oral da discente, considerando-a Aprovada. Proclamados os resultados pelo presidente da Banca, foram encerrados os trabalhos e, para constar, eu Lincoln Lima Corrêa, na qualidade de professor orientador do Trabalho de Conclusão de Curso avaliado, lavrei a presente ata que assino juntamente com os demais membros da Banca Examinadora.

Santarém/PA, 06 de Junho de 2023.

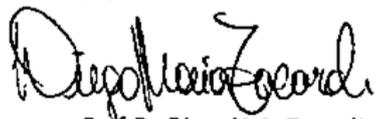
Presidente/orientador(a): Dr. Lincoln Lima Corrêa


Lincoln Lima Corrêa
1 723540695@UFOPA
SIAPE 132757077910.0706116-0

Membro: Dra. Eliza Maria da Costa Brito Lacerda


Eliza Maria da Costa Brito Lacerda
SIAPE 3362208

Membro: Dr. Diego Maia Zacardi


Prof. Dr. Diego Maia Zacardi
Docente - UFOPA - ICTA
SIAPE 1544196

Aos meus pais que sempre apoiaram minhas escolhas.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter permitido que eu tivesse saúde e determinação para não desanimar durante a realização deste trabalho e aos meus guias que sempre me disseram que tendo fé, teria muitas conquistas em minha vida.

A minha família, em especial a minha mãe (Josiane), pai (Ivanilson) e irmão (Mário) que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência. Sou muito grata por tudo que fizeram e fazem por mim. Principalmente pelo apoio, amor e incentivo que serviram de alicerce para as minhas realizações.

Ao professor Dr Lincoln, por ter sido meu orientador e ter desempenhado tal função com dedicação e amizade, e que conduziu o trabalho com paciência, sempre disponível a compartilhar o seu conhecimento em parasitologia.

Ao Darlison, por compartilhar os inúmeros momentos de ansiedade e estresse. Obrigada, por todos os conselhos, carinho, pela ajuda e pela paciência.

Sou grata ao Antônio Pinheiro por sempre me incentivar e acreditar que eu seria capaz de superar os obstáculos que a vida me apresentou.

A todas as professoras que foram inspirações nesse meio acadêmico, em especial a Wildes, Luciana e Graciene. Vocês são mulheres extremamente incríveis e agradeço por fazerem parte dessa jornada.

A todos os meus amigos, particularmente Luís, Evelyn, Claudiane, Ana, Ivone, Prof. Manoel e Tássio, meus sinceros agradecimentos. Vocês desempenharam um papel significativo no meu crescimento, e devem ser recompensados com minha eterna gratidão.

Sou grata ao professor Dr. Lúcio André e Dr. Edson Adriano pelo apoio técnico prestado durante todo o desenvolvimento do projeto.

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

“Não é na ciência que está a felicidade, mas na aquisição da ciência”.
(Edgar Allan Poe)

CAVALCANTE, Mariana Costa. Análises de hemoparasitas e parâmetros hematológicos de quatro espécies de tartarugas (Testudines: Podocnemididae) da Amazônia Brasileira. Santarém, Pará. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Oeste do Pará.

RESUMO

Em quelônios, os parasitos sanguíneos mais relatados são do filo Apicomplexa pertencente as famílias Dactylosomatidae, Hepatozoidae e Haemogregarinidae. Apesar dos recentes estudos envolvendo parasitos sanguíneos de quelônios aquáticos, as possíveis relações entre padrões hematológicos dos hospedeiros e intensidade de infecção por hemoparasitos são poucos estudadas. O presente estudo teve como objetivo, investigar as intensidades de infecção por hemogregarinas em tartarugas de água doce do gênero *Podocnemis* e suas possíveis relações com parâmetros hematológicos, assim como realizar estudo, morfométrico e de similaridade nos parasitos sanguíneos encontrados. As amostragens ocorreram na foz do rio Tapajós foram coletados alíquotas de sangue das espécimes por punção da veia dorsal pós-occipital, as alíquotas sanguíneas foram utilizadas para determinação dos parâmetros hematológicos e análise parasitária em extensões sanguíneas. Foram amostrados 37 espécimes de tartarugas, sendo vinte e uma *Podocnemis expansa*, três *P. sextuberculata*, nove *P. unifilis* e quatro *P. erythrocephala*. As análises parasitológicas revelaram inclusões nos eritrócitos por *Haemogregarina* spp., representando uma prevalência geral de animais parasitados de 64.8% com média de 94.789 parasitos/ml de sangue. O estudo identificou trofozoítos, pré-merontes, merontes, gamontes maduros e imaturos de *Haemogregarina* spp. em três espécies de quelônios aquáticos amazônicos sendo observado apenas um morfotipo com alta similaridade para *H. podocnemis*. Apesar dos recentes estudos com tartarugas de água doce, este estudo descreve informações inéditas quanto a intensidade de infecção por parasitos sanguíneos e parâmetros hematológicos de animais de vida livre, demonstrando a necessidade de estudos com animais infectados e não infectados de uma mesma população.

Palavras-chave: Hemogregarines, tartarugas, Rio Tapajós, Parâmetros hematológicos

ABSTRACT

In chelonians, the most reported blood parasites are from the phylum Apicomplexa belonging to the families Dactylosomatidae, Hepatozoidae and Haemogregarinidae. Despite recent studies involving blood parasites of aquatic chelonians, the possible relationships between hematological patterns of hosts and intensity of infection by hemoparasites are poorly studied. The present study aimed to investigate the intensities of infection by hemogregarines in freshwater turtles of the genus *Podocnemis* and their possible relationships with hematological parameters, as well as to carry out a morphometric and similarity study on the blood parasites found. Sampling took place at the mouth of the Tapajós River, blood aliquots were collected from the specimens by puncturing the dorsal post-occipital vein, and the blood aliquots were used to determine hematological parameters and parasitic analysis of blood samples. Thirty-seven specimens of turtles were sampled, twenty-one *Podocnemis expansa*, three *P. sextuberculata*, nine *P. unifilis* and four *P. erythrocephala*. Parasitological analyzes revealed inclusions in the erythrocytes of *Haemogregarina* spp., representing an overall prevalence of parasitized animals of 64.8% with an average of 94,789 parasites/ml of blood. The study identified trophozoites, pre-meronts, meronts, mature and immature gamonts of *Haemogregarina* spp. in three species of Amazonian aquatic turtles, a morphotype with high similarity to *H. podocnemis* was observed. Despite recent studies with freshwater turtles, this study describes unprecedented information regarding the intensity of infection by blood parasites and hematological parameters in free-living animals, demonstrating the need for studies with infected and non-infected animals from the same population.

Keywords: Hemogregarines, turtles, Tapajós River, Hematological parameters

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1- Mapa da América do Sul, destacando a Amazônia brasileira. Em Localização da área de amostragem. A - Comunidade do Itaparí, B – Região do Igarapé do Jari. C - Região da Enseada Grande. Mapa, confeccionado usando o softwer (Quantum GIS-1.5)12

Figura 2 - Espécies do gênero *Podocnemis* que foram analisadas na pesquisa de parasitas sanguíneos e nos parâmetros hematológicos. a – Espécime de *Podocnemis expansa*, b - Espécime de *Podocnemis unifilis*. c- Espécime de *Podocnemis sextuberculata*. d - Espécime de *Podocnemis erythrocephala*.....13

Figura 3 - Formas evolutivas de *Haemogregarina* spp. parasitando as espécies de quelônios amazônicos. As formas analisadas foram: a – Trofozoito, b – Pré-meronte, c – Meronte, d, e- Gamonte imaturo, f - Gamonte maduro.....15

Figura 4 - Dendrograma de similaridade morfométrica entre as espécies de *Haemogregarina* parasitas de quelônios de água doce no Brasil. Foi analisado pelo teste de Bray-Curtis. Em destaque *Haemogregarina* sp. analisadas com uma similaridade alta quando comparada com *Haemogregarina podocnemis*.....17

Tabela 1 - Tabela de contingência de similaridade morfométrica entre as espécies de Haemogregarinas parasitas de quelônios aquáticos no Brasil usando para análise o teste de Bray-curtis.....23

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos das quatro espécies de quelônios aquáticos da Amazônia brasileira. Valores apresentados em média, desvio padrão, máximo e mínimo.....23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 MATERIAIS E METODOS	17
2.1 Área de coleta	17
2.2 Captura e triagem dos hospedeiros	18
2.3 Coleta de sangue e preparo de lâminas.....	19
2.4 Análises hematológicas e pesquisa parasitológica.....	19
2.5 Índices parasitários e análise de dados	19
3 RESULTADOS	20
3.1 Descrição morfológica e estudo morfométrico	21
3.2 Parâmetros hematológicos.	23
4 DISCUSSÃO	24
5 REFERÊNCIAS	26

¹Análises de hemoparasitas e parâmetros hematológicos de quatro espécies de tartarugas (Testudines: Podocnemididae) da Amazonia Brasileira

Mariana Costa Cavalcante^{1,2}, Darlison Chagas-de-Souza², Tássio Alves Coelho², Lúcio André Viana², Edson Adriano³, Lincoln Lima Corrêa¹

¹Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA. Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas – ICTA.

Avenida Vera Paz, s/n- Salé CEP: 68040-255, Santarém, PA, Brasil.

² Universidade Federal do Amapá – UNIFAP. Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde. Laboratório de Estudos Morfofisiológicos e Parasitários. CEP: 68903-419, Macapá, AP, Brasil.

³Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Rua Professor Arthur Riedel, 275, Jardim Eldorado, CEP 09972-270 Diadema, São Paulo, Brasil.

*Autor correspondente: Lincoln Lima Corrêa.

Aprovação ética: O presente estudo foi autorizado pelo órgão de gestão do governo brasileiro, através do Sistema de Autorização e informação em Biodiversidade do Ministério do Meio Ambiente através da autorização SISBIO:67616. Tendo seus métodos aprovados pelo comitê de ética de uso animal da Universidade Federal de São Paulo através do certificado número:7344040422

RESUMO

Propósito Este estudo tem o objetivo de descrever as intencidades de infecções por hemogregarinas em tartarugas de água doce do gênero *Podocnemis*, de origem de uma região da Amazônia brasileira e suas possíveis relações com seus parâmetros hematológicos, assim como descrever uma análise morfométrica e de similaridade nos hemoparasitos encontrados.

Métodos As amostragens ocorreram em três pontos na foz do rio Tapajós, estado do Pará, Brasil, de cada espécime de tartaruga foi coletada uma alíquota de sangue por punção da veia dorsal pós-occipital, sendo as alíquotas utilizadas para determinação dos parâmetros hematológicos e pesquisa parasitaria em extensões sanguíneas.

¹ O artigo apresentado foi redigido conforme as diretrizes de submissão da revista *Acta Parasitologica*. As normas indicadas para a redação de artigos pela revista estão disponíveis no link: <https://www.springer.com/journal/11686/submission-guidelines>

Resultados Foram amostrados 37 espécimes de tartarugas, sendo vinte e uma *Podocnemis expansa*, três *P. sextuberculata*, nove *P. unifilis* e quatro *P. erythrocephala*. As análises parasitológicas revelaram inclusões nos eritrócitos de *Haemogregarina* spp., representando uma prevalência geral de animais parasitados de 64.8% com uma média de 94.789 parasitos/ml de sangue. Neste estudo, foi possível ser observado as formas evolutivas de *Haemogregarina* spp., de trofozoítos, pré-merontes, merontes, gamontes maduros e imaturos em três espécies de quelônios aquáticos amazônicos sendo observado um morfotipo do parasito com alta similaridade para *H. H. podocnemis*.

Conclusão Apesar das recentes pesquisas com tartarugas de água doce, este estudo traz informações inéditas quanto a intensidade de infecção por parasitos sanguíneos e parâmetros hematológicos de animais de vida livre, demonstrando a necessidade de estudos com animais infectados e não infectados de uma mesma população.

Palavras-chave: Hemogregarines, tartarugas, Rio Tapajós, Parâmetros hematológicos.

1 INTRODUÇÃO

A Ordem Testudines inclui animais terrestres, marinhos e de água doce sendo reconhecida como a mais antiga de todas entre os répteis atuais, com características conservadas há mais de 200 milhões de anos [1, 2]. Considerando as espécies validas, a família Podocnemididae é composta por 20 gêneros e 30 espécies, sendo representada por sete espécies de três gêneros distintos na América do sul e uma espécie em Madagascar. Para a região amazônica, seis espécies do gênero *Podocnemis* e uma espécie de *Peltocephalus* são encontradas [3-5].

No Brasil, o gênero *Podocnemis* é representado por *P. expansa* (Schweigger, 1812), *P. unifilis* (Troschel, 1848), *P. erythrocephala* (Spix, 1824) e *P. sextuberculata* (Cornalia, 1849).

A grande maioria dos répteis são acometidos por algum agente patogênico, podendo ser endoparasitos, como vírus, bactérias, protozoários e helmintos a ectoparasitos, como sanguessugas e ácaros [6]. Relatos de hemoparasitas em répteis são frequentemente relacionados a hemogregarinas e hemosporídeos descritos em lacertídeos, serpentes e testudines [7].

Em quelônios, os parasitos sanguíneos mais reportados são do filo Apicomplexa (Levini, 1970), pertencente as famílias Dactylosomatidae, Hepatozoidae e Haemogregarinidae

[8]. Protozoários do gênero haemogregarina (Apicomplexa: Coccidia: Eucoccidiorida: Adeleorina), são parasitos intracelulares, sendo que, as tartarugas de água doce, são mais suscetíveis a infecção devido à proximidade com seus hospedeiros definitivos (hirudeos), que é reconhecido como vetor de parasitos sanguíneos para vertebrados aquáticos [9, 10]. Infecções por representantes do gênero *Haemogregarina* já foi relatado em tartarugas de água doce, sendo o ciclo de infecção que envolve as sanguessugas com *H. balli* em *Chelydra serpentes* no continente norte americano [10-13].

Apesar de recentes estudos envolvendo parasitos sanguíneos de quelônios aquáticos, as possíveis relações entre padrões hematológicos dos hospedeiros e taxas de infecção por hemoparasitos são poucos estudadas, sendo incipiente estudos quando comparados aos resultados das relações parasito hospedeiro envolvendo animais de vida livre. Esse estudo, tem como objetivo descrever as taxas de infecção por hemogregarinas em tartarugas de água doce do gênero *Podocnemis*, de origem de uma região da Amazônia brasileira e suas relações com seus parâmetros hematológicos, assim como descrever uma análise morfométrica dos parasitos sanguíneos encontrado.

2 MATERIAIS E METODOS

2.1 Área de coleta

As amostragens ocorreram durante dez dias consecutivos na foz do rio Tapajós em janeiro de 2023, em um raio de 8km, compreendendo as comunidades de Itaparí localizada na margem direita do Rio Tapajós ($2^{\circ}26'19.65''S$ $54^{\circ}54'46.08''O$), Canal do Jarí ($2^{\circ}20'53.98''S$ $54^{\circ}53'34.24''O$), Localizada na margem esquerda do rio Tapajós na área da Foz do Rio Arapiuns e Enseada grande ($2^{\circ}22'31.91''S$ $54^{\circ}44'44.92''O$), na margem esquerda do rio Tapajós em sua foz, com presença de floresta de inundação que sofre influência direta do rio Amazonas (Fig. 1).

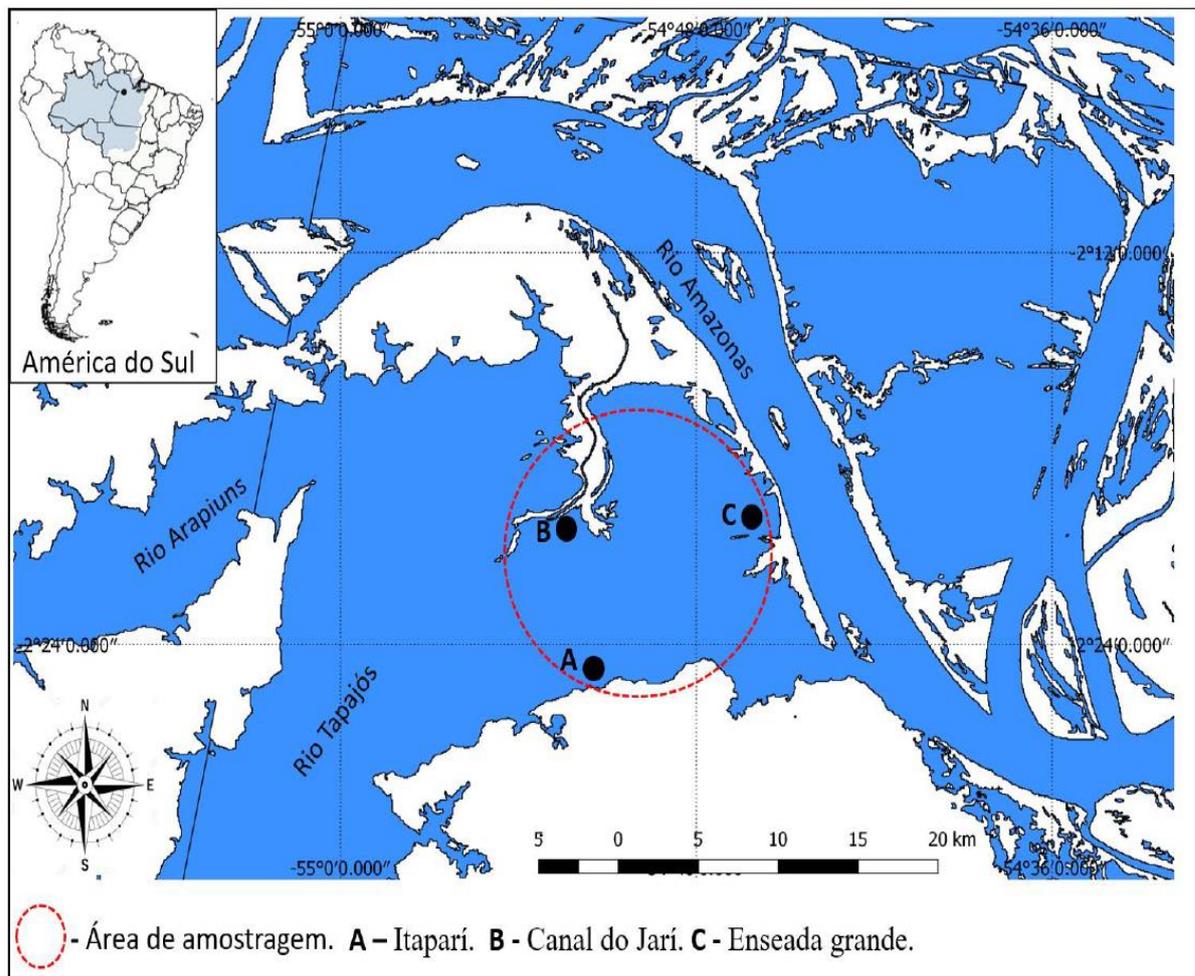


Figura 1 - Mapa da América do Sul, destacando a Amazônia brasileira. Em Localização da área de amostragem. A - Comunidade do Itaparí, B – Região do Igarapé do Jari. C - Região da Enseada Grande. Mapa, confeccionado usando o softwer (Quantum GIS-1.5).

2.2 Captura e triagem dos hospedeiros

As tartarugas das espécies *P. expansa*, *P. sextuberculata*, *P. unifilis* e *P. erythrocephala* (Fig. 2). Foram capturadas com o uso de redes de emalhe de fio de algodão com variadas larguras de malha, assim como o uso de armadilhas do tipo covo e conjuntos de anzóis com iscas naturais.

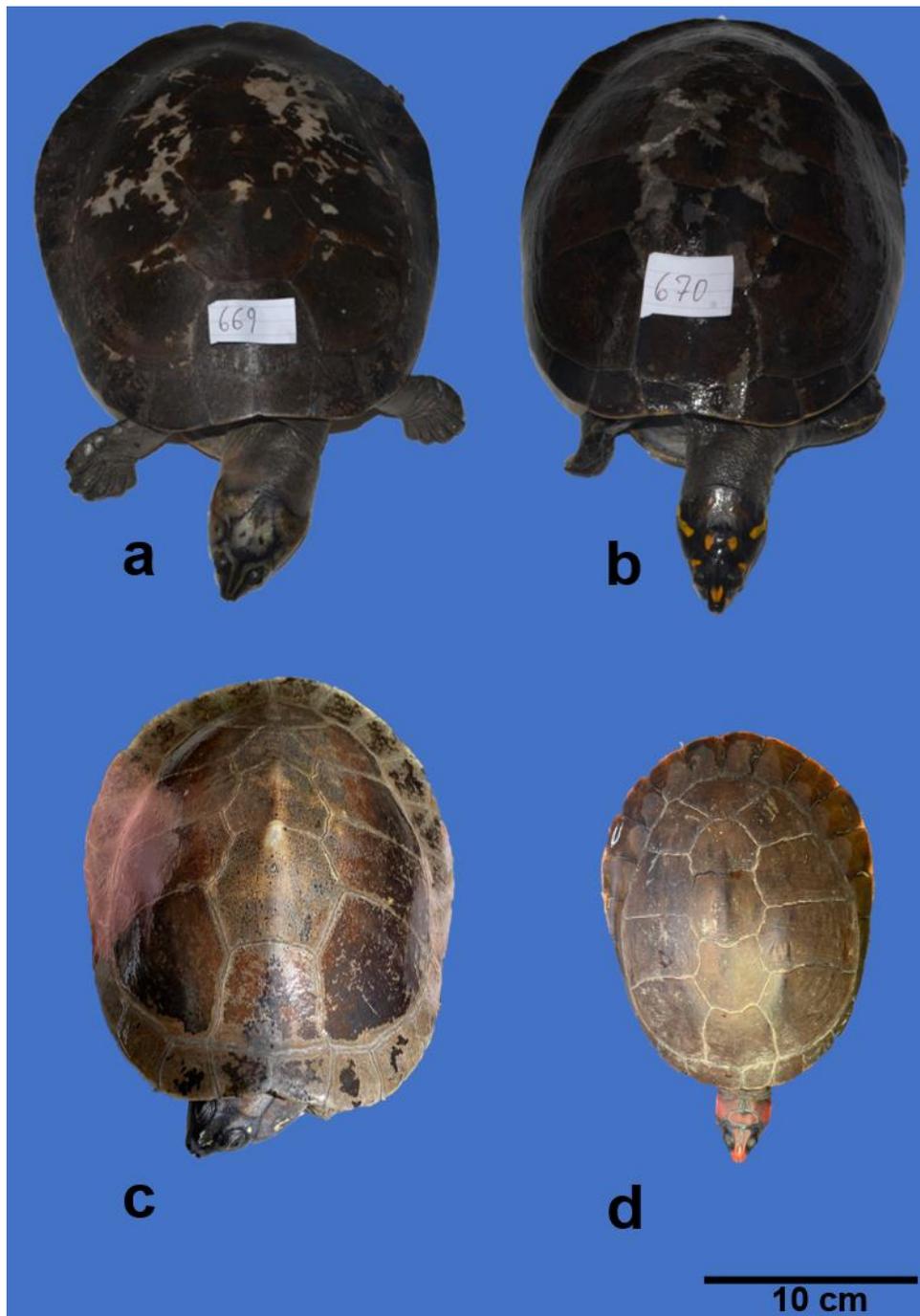


Figura 2 - Espécies do gênero *Podocnemis* que foram analisadas na pesquisa de parasitas sanguíneos e nos parâmetros hematológicos. a – Espécime de *Podocnemis expansa*, b - Espécime de *Podocnemis unifilis*. c- Espécime de *Podocnemis sextuberculata*. d - Espécime de *Podocnemis erythrocephala*

As equipes de coletas divididas em três embarcações de pequeno porte, capturavam os animais que eram encaminhados para o laboratório avançado de campo para os procedimentos de triagem e coleta de amostras biológicas. Durante a triagem, os animais passaram por exame físico para detecção de ectoparasitos, sendo mensuradas o comprimento e largura da carapaça assim como verificado o sexo de cada espécimes.

2.3 Coleta de sangue e preparo de lâminas

Foi realizada coleta de sangue dos espécimes por punção da veia dorsal pós-occipital em conformidade com [8], sendo coletado 1ml de sangue. Uma alíquota foi utilizada para confecção de extensões sanguíneas em duplicada e o volume restante, foi acondicionado em tubo com anticoagulante EDTA K³, sendo preservados em baixa temperatura para realização de análises dos parâmetros hematológicos.

2.4 Análises hematológicas e pesquisa parasitológica

A determinação dos índices hematológicos foi realizada em conformidade com [8], sendo avaliado os índices de Hemoglobina (Hb) por determinação colorimétrica de ponto final em amostras de sangue total, hematócrito (Ht), Eritrócitos totais (Er), Leucócitos totais (Lt), Volume Corpuscular Médio (VCM.), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM.) e Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM.).

As extensões sanguíneas foram coradas com *Quick Panoptic/LABORCLIN*[®], sendo examinadas com auxílio de microscópio óptico com ampliação de 400 e 1.000x no Laboratório de análises multifuncional da Universidade Federal do Oeste do Pará. As inclusões parasitárias foram fotografadas usando microscópio óptico Zeiss Axioplan com câmera AxioCam ERc 5s. Para determinar as características morfométricas dos parasitos foi utilizado o Software Zen Blue edition 3.7. As aferições morfométricas seguiram os métodos descritos por [12 - 14].

2.5 Índices parasitários e análise de dados

As análises estatísticas dos hemoparasitas seguiram os conceitos propostos por [15], sendo calculado os índices parasitários de prevalência (P), Intensidade (I), Intensidade média (IM) e Abundância média (AM).

Para estimar a intensidade da infecção foi utilizado o método direto, adaptado de [16], todos os hemoparasitas encontrados em 100 campos microscópicos com aumento de 1.000 x foram registrados e calculados da seguinte forma: Foram mensurados 100 campos microscópicos que corresponde a 0,2 microlitros (μl) de sangue. Intensidade da infecção = (N° : número de parasitas x 5) x 1.000 = (parasitas/mL). Utilizou-se o programa Past. 3.0 para calcular os testes de similaridade e índices de distância de Bray-Curtis, para avaliar possíveis análises de correlações morfométricas entre as formas parasitárias encontradas no presente estudo e as espécies de Hemogregarinas descritas parasitando quelônios aquáticos brasileiros em literaturas científicas [12,13-17].

Os valores dos parâmetros hematológicos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo avaliadas as variáveis entre os parâmetros hematológicos. O teste de correlação de Spearman foi utilizado para verificar possíveis efeitos respostas dos parâmetros hematológicos com a intensidade de infecção parasitaria [18, 19].

3 RESULTADOS

Foram analisados 37 espécimes de tartarugas, sendo *P. expansa* (4 machos e 18 fêmeas), *P. sextuberculata* (3 fêmeas), *P. unifilis* (3 machos e 6 fêmeas) e *P. erythrocephala* (2 machos e 2 fêmeas).

As análises parasitológicas apresentou inclusões nos eritrócitos compatíveis morfologicamente com *Haemogregarina* spp. sendo observado um único morfotipo, onde os dados, apresenta uma prevalência de espécimes parasitados de 64.80% com média de 94.78 parasitos/ml de sangue dos hospedeiros, foi observada variações de prevalência e intensidade de infecção entre as espécies, sendo *P. expansa* com uma prevalência de 80.90% e parasitemia de 89.11 parasitos/ml de sangue, para as espécies de *P. sextuberculata* e *P. unifilis* com 100% com intensidade de infecção, e 25.000 e 152.777 parasitos/ml de sangue respectivamente. Percebeu-se que os espécimes de *P. erythrocephala* não apresentaram infecção por hemoparasitas.

Foi observado apenas formas evolutivas de *Haemogregarina* spp. sendo possível identificar os trofozoítos, Pré-merontes, Merontes, Gamontes maduros e Gamontes imaturos (Fig. 3).

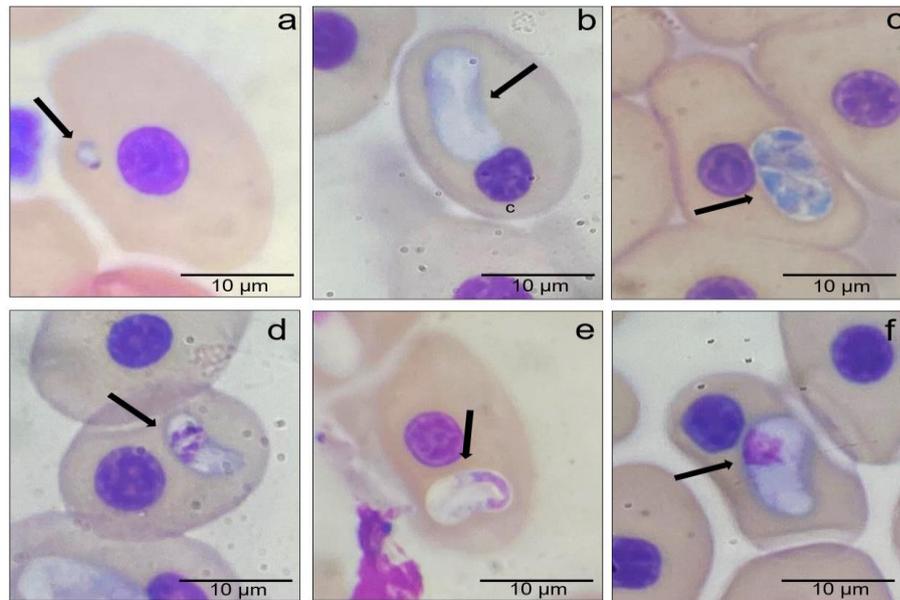


Figura 3 - Formas evolutivas de *Haemogregarina* spp. parasitando as espécies de quelônios amazônicos. As formas analisadas foram: a – Trofozoito, b – Pré-meronte, c – Meronte, d, e- Gamonte imaturo, f - Gamonte maduro.

3.1 Descrição morfológica e estudo morfométrico

Trofozoítos: são representados por pequenas inclusões eritrocíticas, com citoplasma hialino, sem presença de núcleo ou vacúolos definidos. Medem em média 3.69 (5.47-2.97) μm de comprimento por 2.56 (3.15-2.12) μm e uma área de 9.42 (12.9-7.05) μm^2 .

Pré-merontes: Corpo em formato capsular com presença de discretos vacúolos citoplasmáticos, cromatina predominantemente dispersa ao longo do citoplasma podendo apresentar leve concentração em um dos polos. Mede em média 9.8 (11.3-8.6) μm de comprimento por 5.4 (6.6-5.4) μm de largura, com área de 53.2 (63.6-34.0) μm^2 .

Merontes: Apresenta predominantemente um formato capsular com leve atenuação o que confere uma forma levemente reniforme ao parasito, pode apresentar de seis a sete pequenos concentrados de cromatina nuclear que confere um aspecto craquelado ao citoplasma. Mede 9.7 (10.7-8.13) μm largura, por 4.9 (5.8-3.6) μm de comprimento e área de 47.5 (62.4-38.7) μm^2 .

Gamontes maduros: Essa forma parasitária pode causar alteração morfológica na célula hospedeira resultando e lateralização nuclear do eritrócito. Apresenta uma cromatina nuclear densa e lateralizada no corpo parasitário medindo 4.5 μm (2.8-6.0) de comprimento por 3.2 μm (2.1-4.3) de largura ocupando uma área média de 14.3 μm^2 (8.2-25.2) no citoplasma, foi observado a presença de vacúolos parasitofagos, o parasita apresenta comprimento total médio de 10.3 μm (9.1-11.9) e largura média de 4.7 μm (3.2-5.8), com área de 48.5 μm^2 (33.8-60.8).

Gamontes imaturos: Esta forma parasitária, apresenta um corpo celular levemente curvado em forma reniforme com cromatina dispersa no corpo citoplasmático, apresenta leve coloração hialina azulada, com uma morfometria com comprimento médio de 9.2 (7.9-10.7) μm com largura média de 4.4 (3.4-7.2) μm e uma área média de 41.6 (30.1-73.5) μm^2 .

Os resultados de similaridade morfométrica, que levou em consideração as formas parasitárias de trofozoíto, prémeronte, meronte e gamonte imaturos demonstrou uma similaridade de 89.4% com *H. podocnemis* descrita por [13] (Tab. 1 e Fig. 4).

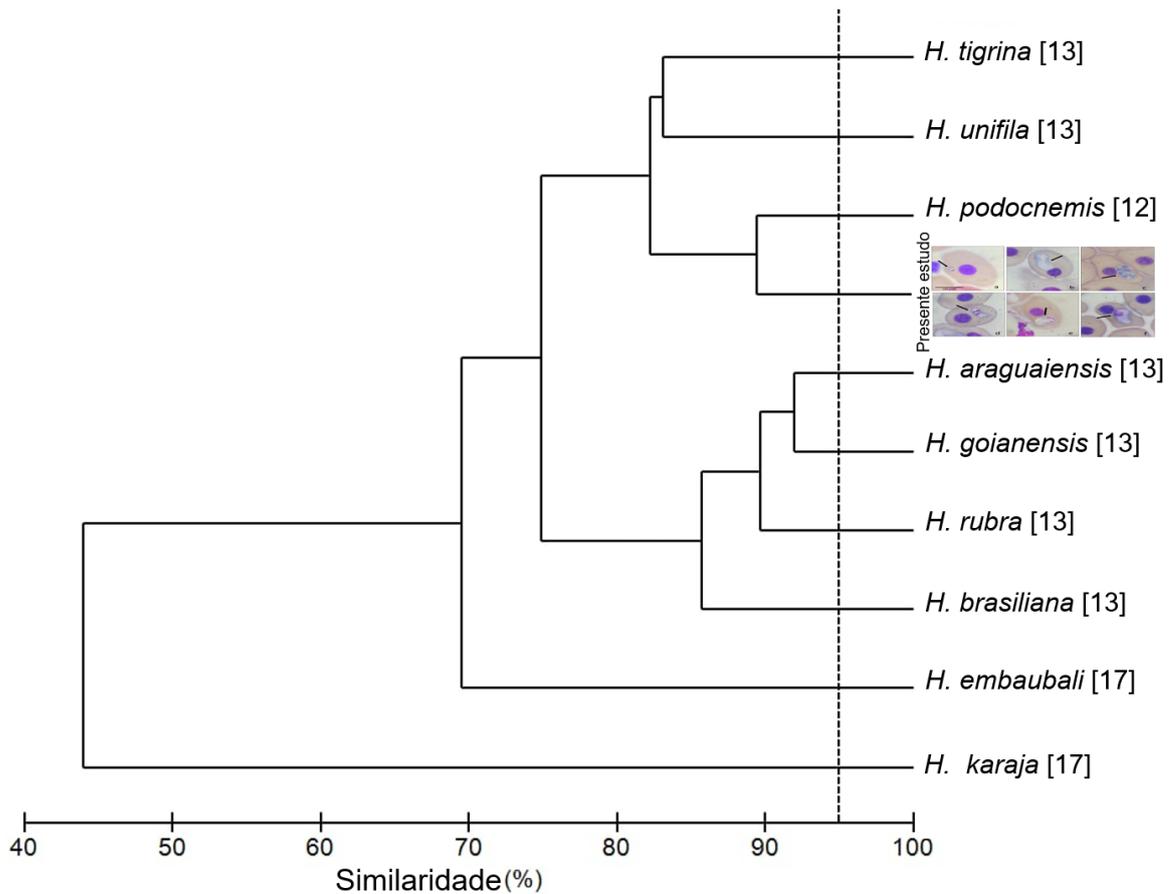


Figura 4. Dendrograma de similaridade morfométrica entre as espécies de *Haemogregarina* parasitas de quelônios de água doce no Brasil. Foi analisado pelo teste de Bray-Curtis. Em destaque *Haemogregarina* sp. analisadas com uma similaridade alta quando comparada com *Haemogregarina podocnemis*.

Tabela 1 - Tabela de contingência de similaridade morfométrica entre as espécies de Haemogregarinas parasitas de quelônios aquáticos no Brasil usando para análise o teste de Bray-curtis.

Haemogregarina sp. Presente estudo	<i>H. podocnemis</i> [12]	<i>H. karaja</i> [17]	<i>H. embaubali</i> [17]	<i>H. unifila</i> [13]	<i>H. rubra</i> [13]	<i>H. goianensis</i> [13]	<i>H. araguiensis</i> [13]	<i>H. tigrina</i> [13]	<i>H. brasiliana</i> [13]	
<i>Haemogregarina</i> sp. Presente estudo	1									
<i>H. podocnemis</i> [12]	89.42	1								
<i>H. karaja</i> [17]	59.41	52.31	1							
<i>H. embaubali</i> [17]	76.16	71.15	66.52	1						
<i>H. unifila</i> [13]	83.50	82.12	56.43	71.12	1					
<i>H. rubra</i> [13]	74.99	73.32	29.93	60.79	78.07	1				
<i>H. goianensis</i> [13]	73.54	74.85	21.82	62.68	71.79	89.64	1			
<i>H. araguiensis</i> [13]	76.58	78.32	31.05	67.68	73.67	89.66	91.94	1		
<i>H. tigrina</i> [13]	80.95	82.21	44.92	75.06	83.06	76.732	79.12	81.47	1	
<i>H. brasiliana</i> [13]	73.14	68.47	32.84	71.43	68.66	84.59	85.90	86.50	75.34	1

3.2 Parâmetros hematológicos.

A avaliação dos parâmetros hematológicos apresentou variações entre as espécies estudadas (Tab. 2) sendo que a espécie *P. erythrocephala* apresentou maiores concentrações de Ht e Hb quando comparadas com as outras espécies de quelônios.

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos das quatro espécies de quelônios aquáticos da Amazônia brasileira. Valores apresentados em média, desvio padrão, máximo e mínimo.

Parâmetros hematológico	<i>P. expansa</i>	<i>P. sextuberculata</i>	<i>P. unifilis</i>	<i>P. erythrocephala</i>
Ht (%)	29.400 (±12.230) (50.000-18.000)	21.000 (±1.200) (22.000-21.000)	37.700 (±13.300) (60.000-18.000)	42.000 (±4.200) (45.000-35.000)
Er (x 10 ⁶ µl ⁻¹)	0.425 (± 0.273) (0.426-0.120)	0.348 (±0.017) (0.365-0.330)	0.272 (±0.128) (0.550-0.150)	0.335 (±0.009) (0.340-0.320)
Hb (g/dl)	8.070 (± 1.910) (11.800-4.850)	8.040 (±0.480) (8.600-7.690)	7.500 (±0.830) (9.050-6.530)	11.110 (±0.600) (12.280-10.900)
VCM (fl)	1107.000 (±565.000) (2235.300-249.900)	663.800(±50.500) (700.100-606.100)	1716.000 (±926.200) (3333.300-327.300)	1254.000 (±98.500) (1323.500-1093.800)
HCM (pg)	256.100 (±128.500) (465.400-72.200)	237.900(±6.260) (245.100-233.300)	314.200 (±99.900) (443.700-150.900)	339.900 (±15.200) (361.200-327.010)
CHCM (gd)	23.800(±8.900) (37.200-13.900)	39.400 (±1.000) (40.500-38.500)	23.300(±12.100) (46.100-11.300)	27.700 (±3.100) (31.700-24.700)

Le (μ l)	4.950 (\pm 2.684) (11.000 -1.200)	7.113(\pm 457.000) (7.480-6.600)	3.740 (\pm 1.590) (6.380 -1.540)	4.730 (\pm 284.000) (5.060-4.400)
---------------	---	--	--	---

Os índices encontrados para *P. sextuberculata* e *P. erythrocephala* não foram submetidos aos testes de normalidade e correlação devido ao baixo n amostral. Os testes de normalidade de Shapiro-Wilk para os valores hematológicos de *P. expansa* revelaram uma distribuição que não foi normal, apenas para o parâmetro de Ht apresentou o valor de $p=6.272$. Os parâmetros de *P. unifilis* demonstraram uma normalidade nas análises. Os resultados dos testes de correlação de *Spearman*, demonstrou que a intensidade parasitaria por *Haemogregarina* spp. para as espécies *P. expansa* e *P. unifilis* não foi significativa após a logaritimização dos parâmetros.

4 DISCUSSÃO

Existe poucos estudos de hemoparasitas eritrocíticos do gênero *Haemogregariana*, neste estudo, além das primeiras descrições das intensidades desses hemoparasitas na área estudada, corrobora também com os estudos realizados em outros continentes, onde fica evidente a associação desse hemoparasita com quelônios aquáticos [20-22]. Considerando a diversidade deste hemoparasita e de seus hospedeiros para o ambiente amazônico, neste estudo, os resultados foram similares com as recentes descrições de [11-13,17] onde relataram que em quelônios aquáticos *P. expansa*, *P. unifilis* e *P. sextuberculata* foram hospedeiros deste gênero de hemoparasita para os estados brasileiros do Pará na drenagem do rio Xingu, Tapajós e Jamanxim, além do estado do Tocantins no rio Formoso e no rio Vermelho no estado do Goiás.

A alta prevalência de infecção para *P. unifilis* identificadas neste estudo, também é similar aos descritos por [11] que relatou uma prevalência de infecção de 97% e 100% respectivamente para espécimes provenientes dos rios Jamanxim e Tapajós.

Quanto a prevalência de infecção para *P. sextuberculata* descrito por [17], onde descreveu que foi de 100%, que foi semelhante ao resultado deste estudo. Para *P. expansa* as estimativas de prevalência do presente estudo divergem de [17] que identificou uma prevalência de 66%. As variações na ocorrência de infecção em animais de vida livre, podem estar associadas a condições ambientais assim como ocorrência de vetores competentes e existência de espécies hospedeiras em cada área estudada.

Quanto aos parâmetros hematológicos descritos no presente estudo para as espécies *P. expansa*, *P. unifilis* e *P. sextuberculata* estes, são similares aos descritos por [23] em estudos realizados no estado do Amazonas, em populações de ambiente natural. No entanto, os indivíduos descritos no presente estudo possuem uma alta prevalência de infecção por parasitas sanguíneos, o que demonstra a necessidade de análises mais aprimoradas dos padrões hematológicos, considerando indivíduos parasitados e não parasitados de uma mesma população.

As análises de correlação nesse estudo, envolvendo a intensidade parasitaria e os parâmetros hematológicos, não revelou uma interação entre os dois parâmetros analisados, sendo similar aos descritos por [24] em *Orlitia borneensis*.

Não foram observadas manifestações clínicas nos espécimes examinados no presente estudo quando comparados com o que foi descrito por [24], que realizaram estudos em tartarugas provenientes de cativeiro. A ausência de animais com sinais clínicos em uma amostragem de espécimes de vida livre, pode ser justificado pela ação da predação natural como as registradas por [25] envolvendo *Panthera onca* e *P. expansa* descrito por [26] envolvendo *Melanosuchus niger*, uma vez que, animais debilitados possuem mais susceptibilidade a esses eventos de predação quando comprados com os não parasitados.

As análises, morfométricas e de similaridade do presente estudo apresentam elevada semelhança aos resultados apresentados por [12] para *H. podocnemis* parasitando *P. unifilis* provenientes do rio Vermelho no estado de Goiás, Brasil.

Estudos com hemoparasitas em tartarugas de água doce, vêm demonstrando uma grande diversidade de espécies de haemogregarinas com diversificadas formas evolutivas, podendo ainda apresentar semelhanças inespecíficas inviabilizando a determinação taxonômica com base em características morfológicas, sendo necessária a aplicação de estudos taxonômicos integrados considerando a biologia dos hospedeiros assim como aspectos morfológicos e moleculares dos parasitos [12,13- 17, 27,28].

De acordo com o que foi descrito por [27] referente a construção de conhecimento quanto a diversidade destes parasitas e os resultados das interações parasito hospedeiro ainda são incipientes, sendo evidente a necessidade de elaborar novos estudos de distribuição geográfica e da diversidade destes parasitos. Com isso, a detecção e investigação de possíveis relações entre as infecções parasitarias e danos fisiológicos aos hospedeiros, se faz necessário para futuros estudos com essa mesma abordagem científica.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. Ernst CH, Barbour RW (1989) *Turtles of the world*. Washington: Smithsonian Institution Press, 313 p.
2. Pough FH, Janis CM, Heiser JB (2008) *A Vida dos Vertebrados*. 4 ed., São Paulo: Atheneu Editora. 839 p.
3. Williams EE, (1954) A key and description of the living species of the genus *Podocnemis* (sensu Boulenger), Testudines, Pelomedusidae. *B. Mus. Comp. Zool.* 11, 279–295.
4. Neill WT (1965) Notes on the five Amazonian species of *Podocnemis* (Testudinata: Pelomedusidae)
5. Rhodin AGJ, Mittermeier RA, Gardner AL, Medem F (1978) Karyotypic analysis of the *Podocnemis* turtles. *Copeia* 1978, 723–728. <https://doi.org/10.2307/1443710>
6. Ursula H, Rüdiger K, Frank M, Monika R (2014). Blood parasites in reptiles imported to Germany. *Parasitology research*, 113, 4587-4599. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-41495>.
7. Nasiri V, Mobedi I, Dalimi A, Mirakabadi A Z, Ghaffarifar F, Teymurzadeh S, Karimi G Abdoli, A, Paykari H (2014) A description of parasites from Iranian snakes. *Experimental Parasitology*, v.147, p.7-15. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.09.007>
8. Campbell TW, Trall MA (2015) *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Roca.
9. Ceylan O, Gül Ç, Çördük N, Hacıoğlu Doğru N, Tosunoğlu M (2022) Prevalence of *Haemogregarina stepanowi* and Assessment of Some Risk Factors in *Mauremys rivulata* (Valenciennes, 1833) Freshwater Turtles (Testudines: Geoemydidae). *Turkiye Parazitol Derg*;47(1):22-7. doi:10.4274/tpd.galenos.202.38257
10. Siddall ME, Desser SS (1992) Prevalence and intensity of *Haemogregarina balli* (Apicomplexa: Adeleina: Haemogregarinidae) in tree turtle species from Ontario, with observations on intraerythrocytic development. *Canadian Journal of Zoology* 70, 123–128
11. Soares P, de Brito ES, Paiva F, Pavan D, Viana LA (2014) *Haemogregarina* spp. In a wild population from *Podocnemis unifilis* Troschel, 1848 in the Brazilian Amazonia. *Parasitol Res.* 113(12):4499–4503. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4139-7>
12. Úngari LP, Santos ALQ, O’Dwyer LH, da Silva MRL, de Melo Fava NN, Paiva GCM, de Melo Costa Pinto R, Cury MC (2018) *Haemogregarina podocnemis* sp. nov.: description of a new species of *Haemogregarina* Danilewsky 1885 (Adeleina: Haemogregarinidae) in free-living and captive yellow-spotted river turtles

- Podocnemis unifilis* (Testudines: Podocnemididae) from Brazil. *Parasitol Res.* 117(5):1535–1548. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5817-7>
13. Úngari LP, Santos ALQ, da Silva RJ, O’Dwyer LH (2023) Hemogregarine Diversity Infecting Brazilian Turtles with a Description of Six New Species of Haemogregarina (Apicomplexa: Adeleorina: Haemogregarinidae). *Diversity* (Basel). 15(2). <https://doi.org/10.3390/d15020296>
 14. Telford SRJr (2009) Hemoparasite of the Reptilian: Color Atlas and Text; CRC Press: Boca Raton, FL, USA.
 15. Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW (1997) Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. *The Journal of Parasitology.* 83(4):575. <https://doi.org/10.2307/3284227>
 16. De Carli GA. (2001) Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico das parasitoses humanas. Atheneu. Rio de Janeiro
 17. Correa JKC, Picelli AM, da Silva MRL., Valadão RM, Hernández-Ruz EJ., Viana LA (2022) Phylogenetic analysis of chelonian hemogregarines reveals shared species among the Amazonian freshwater turtle *Podocnemis* spp. And provides a description of two new species of Haemogregarina. *Parasitology Research*, 121(2), 691-701. Doi: 10.1007/s00436-021-07405-3
 18. Rumsey D (2019) How to Interpret a Correlation Coefficient r-dummies. *Dummies*. Retrieved On, v. 13, n. 07, p. 2019.
 19. Zar JH (2010). Biostatistical analysis. PrenticeHall: New Jersey.
 20. Zechmeisterová K, Příbyl M, Nguyen HM, Nosková E, Široký P (2022) Haemogregarines of the Genera Haemogregarina, Hemolivia, and Hepatozoon Infecting Vietnamese Freshwater Turtles, with Additional Notes on Primer Specificity and Primer-template Mismatches Affecting Diagnostic Success. *Protist*, 173(4), 125884. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2022.125884>
 21. Gutierrez-Liberato GA, Lotta-Arévalo IA, González LP, Vargas-Ramírez M, Rodríguez-Fandiño O, Cepeda AS, Matta, NE (2021) The genetic and morphological diversity of Haemogregarina infecting turtles in Colombia: Are mitochondrial markers useful as barcodes for these parasites?. *Infection, Genetics and Evolution*, 95, 105040 <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105040>
 22. Dvořáková N, Kvičarová J, Hostovský M, Široký P (2015) Haemogregarines of freshwater turtles from Southeast Asia with a description of *Haemogregarina sacaliae* sp. n. and a redescription of *Haemogregarina pellegrini* Laveran and Pettit, 1910. *Parasitology*, 142(6), 816-826. <https://doi.org/10.1017/S0031182014001930>
 23. Tavares-Dias M, Silva MG, Oliveira AT, Oliveira-Junior AA, Marcon, JL (2012) Propriedades do sangue de três espécies de quelônios do gênero *Podocnemis* de vida livre da Reserva Biológica do Abufari, baixo rio Purus, estado do Amazonas, Brasil. *Patologia e sanidade de organismos aquáticos*, 1, 195-220.

24. Knotkova Z, Mazanek S, Hovorka M, Sloboda M, Knotek Z (2005) Haematology and plasma chemistry of Bornean River turtles suffering from shell necrosis and haemogregarine parasites. *Veterinary Medicine Czech*, 50, 421-426.
25. Salera Júnior G, Portelinha TCL, Malvasio A (2009) Predação de fêmeas adultas de *Podocnemis expansa* Schweigger (Testudines, Podocnemididae) por *Panthera onca* Linnaeus (Carnivora, Felidae), no Estado do Tocantins. *Biota Neotropica*, 9, 387-391. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032009000300033>
26. De La Ossa J, Vogt RC, Ferrara CR (2010) *Melanosuchus niger* (Crocodylia: Alligatoridae) as opportunistic turtle consumer in its natural environment. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 2(2), 244-252.
27. Parejo-Pulido D, Mora-Rubio C, Marzal A, Magallanes S (2023) Molecular characterization of haemosporidian and haemogregarine diversity in southwestern Iberian amphibians and reptiles. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2468577/v1>
28. El Hili Attia R., Achouri M. S., Verneau, O (2020) The genetic diversity of blood parasites within the freshwater turtles *Mauremys leprosa* and *Emys orbicularis* in Tunisia reveals coinfection with *Haemogregarina* spp. *Parasitology Research*, 119, 3315-3326.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS**

**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS
ACADÊMICOS**

1. Identificação do autor

Nome completo: Mariana Costa Cavalcante

CPF: 015.552.792-44 RG: 6740123 Telefone: (91) 98405-3083

E-mail: marianacostacavalcante1777@gmail.com

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página de
rostro?

(x) Sim () Não

2. Identificação da obra

() Monografia () TCC () Dissertação () Tese (x) Artigo científico () Outros:

Título da obra: ANÁLISES DE HEMOPARASITAS E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS
DE QUATRO ESPÉCIES DE TARTARUGAS (TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE) DA
AMAZONIA BRASILEIRA

Programa/Curso de pós-graduação: Bacharelado em Ciências Biológicas-BCB

Data da conclusão: 06/06/2023.

Agência de fomento (quando houver): CAPES-FAPESP

Orientador: Prof. Dr. Lincoln Lima Corrêa E-mail: lincorre@gmail.com

Co-orientador: Darlison Chagas de Souza

Examinadores: Profa. Dra. Eliza Maria da Costa Brito Lacerda/Prof. Dr. Diego Maia Zacardi

1. Informação de disponibilização do documento:

O documento está sujeito a patentes? (x) Sim () Não

Restrição para publicação: () Total (x) Parcial () Sem restrição

Justificativa de restrição total*:

2. Termo de autorização

Autorizo a Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) a incluir o documento de minha autoria, acima identificado, em acesso aberto, no Portal da instituição, no Repositório Institucional da Ufopa, bem como em outros sistemas de disseminação da informação e do conhecimento, permitindo a utilização, direta ou indireta, e a sua reprodução integral ou parcial, desde que citado o autor original, nos termos do artigo 29 da Lei nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, e da lei 12.527 de novembro de 2011, que trata da Lei de Acesso à Informação. Essa autorização é uma licença não exclusiva, concedida à Ufopa a título gratuito, por prazo indeterminado, válida para a obra em seu formato original.

Declaro possuir a titularidade dos direitos autorais sobre a obra e assumo total responsabilidade cível e penal quanto ao conteúdo, citações, referências e outros elementos que fazem parte da obra. Estou ciente de que todos os que de alguma forma colaboram com a elaboração das partes ou da obra como um todo tiveram seus nomes devidamente citados e/ou referenciados, e que não há nenhum impedimento, restrição ou limitação para a plena validade, vigência e eficácia da autorização concedida.

Santarém, 07 de Julho de 2023

Marcos Costa Cavalcanti
Assinatura do autor

2. Tramitação no curso

Secretaria / Coordenação de curso

Recebido em.

Responsável: _____
Siape/Carimbo