

Universidade Federal de São Carlos
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Carolina Santa Isabel Nascimento

**ANÁLISE PALEOECOLÓGICA E PALEOPARASITOLÓGICA EM
COPRÓLITOS DE VERTEBRADOS DO QUATERNÁRIO DO SÍTIO
PALEONTOLÓGICO E ARQUEOLÓGICO LAGOA URI DE CIMA (REGIÃO DE
SALGUEIRO, PERNAMBUCO, BRASIL)**

São Carlos
2017

Universidade Federal de São Carlos
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva

Carolina Santa Isabel Nascimento

**ANÁLISE PALEOECOLÓGICA E PALEOPARASITOLÓGICA EM COPRÓLITOS DE
VERTEBRADOS DO QUATERNÁRIO DO SÍTIO PALEONTOLÓGICO E ARQUEOLÓGICO
LAGOA URI DE CIMA (REGIÃO DE SALGUEIRO, PERNAMBUCO, BRASIL)**

Dissertação apresentada como requisito à
obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Adorna
Fernandes

Co-orientador: Prof. Dr. Clovis Wesley Oliveira de Souza

São Carlos, 2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Carolina Santa Isabel Nascimento, realizada em 07/03/2017:

Prof. Dr. Marcelo Adorna Fernandes
UFSCar

Prof. Dr. Marcelo Nivert Schindwein
UFSCar

Profa. Dra. Ana Carolina de Souza Chagas
EMBRAPA

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Adorna Fernandes, por estar sempre nos incentivando, por toda a paciência e ajuda no trabalho;

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Clovis de Souza, pelo incentivo, por todos os ensinamentos e auxílio no desenvolvimento da parte experimental e na identificação dos parasitos;

Ao Dr. Adauto Araújo (*in memoriam*) e à Dra. Marcia Chame, do Laboratório de Paleoparasitologia da ENSP/FIOCRUZ, pela doação das amostras;

Aos membros da banca, Dra. Ana Carolina e Dr. Marcelo Nivert, por aceitarem avaliar o trabalho;

À Profa. Dra. Ana Lombardi, do Laboratório de Biotecnologia de Algas, por ceder o espaço para a análise das lâminas;

Ao Prof. Dr. Marcelo Belo, do DGE, por permitir a utilização do microscópio, e à Renata, pela ajuda com as imagens;

À Thaís Garcia e ao Prof. Armando Augusto, pela ajuda com a identificação das algas;

Ao Prof. Sergio Spanó, por toda a atenção e pela dica na identificação dos oocistos durante a qualificação;

À Luciana Fernandes, pelo auxílio e dicas na preparação das pranchas;

A Jorge Moura, pela ajuda com os mapas;

Ao Dr. Luiz Fernando Ferreira, da Fiocruz, pela inspiração nessa jornada instigante e fascinante que é a Paleoparasitologia;

À Gleisse Nunes, por toda a ajuda com a preparação das amostras para doação pela Fiocruz para o LPP, por toda a paciência e por estar sempre tão disponível para me ajudar com as minhas inúmeras perguntas sobre as amostras, sobre o campus da Fiocruz e sobre o apaixonante Rio de Janeiro. Muito obrigada, Gleisse!

À Morgana (responsável pelo meu primeiro contato com o querido Prof. Aduino) e Bruna, sempre me incentivando e auxiliando; à Juliana, Luciana, Mônica, Shênia e Victor, do Laboratório de Paleoparasitologia da ENSP/FIOCRUZ, todos tão atenciosos;

À minha família, pelo carinho, incentivo, apoio e tanto amor, em todas as fases da minha vida. Especialmente à minha mãe, vó Edna (*in memoriam*. A saudade é enorme, vizinha...), tia Jardel e prima Sheyla.

Ao meu amigo, companheiro e namorado, Vassia, pela ajuda com as análises, pela paciência nos momentos críticos, pela alegria em todos os momentos juntos;

Aos meus queridos amigos do LPP e do DEBE;

Aos meus amigos de Salvador, São Carlos e Sorocaba;

Aos meus queridos ex-alunos do Instituto São Judas, pelo apoio e carinho quando decidi seguir pelo Mestrado;

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, com esse trabalho ou para que um dia eu chegasse a ele;

À CAPES, pela bolsa de Pós-Graduação e pelo apoio financeiro do projeto de pesquisa.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
2.1. Área de estudo.....	17
2.2. Coleta e reidratação do material – ENSP/FIOCRUZ.....	24
2.3. Preparação, observação e análise das amostras – DEBE/UFSCar.....	25
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
3.1. Resultados por amostra.....	28
3.2. Amostras com resultados positivos na análise paleoparasitológica.....	44
3.2.1. Amostra A2726.....	44
3.2.2. Amostra A2712.....	47
3.3. Demais itens biológicos recuperados e seus respectivos significados ecológicos	56
3.3.1. Espongofauna.....	56
3.3.2. Necrobioma (fungos e ácaros).....	57
3.4. Considerações Tafonômicas.....	58
3.5. Fauna extinta e mudanças de hospedeiros e reservatórios.....	60
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	63
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

Lista de figuras

Figura 1: Mapa indicando a localização geográfica do Sítio Lagoa Uri de Cima, no Nordeste do Brasil.....	18
Figura 2A e B: Visão geral do sítio paleontológico e arqueológico Lagoa Uri de Cima, Pernambuco (Brasil).....	19
Figura 3: Visão geral do trabalho de prospecção do Sítio Arqueológico/Paleontológico Lagoa Uri de Cima, Salgueiro – PE.....	20
Figura 4: Níveis e trincheiras na prospecção do Sítio.....	21
Figura 5: Estratigrafia da Lagoa Uri de Cima.....	22
Figura 6: Seção estratigráfica-tipo da Lagoa Uri de Cima.....	23
Figura 7: Diversidade de remanescentes espiculares recuperados em A2653.....	29
Figura 8: Diatomácea cêntrica, fotografada com observação por microscopia de contraste de fase; Fragmentos de diatomáceas indeterminadas; Diversidade de remanescentes espiculares; Alguns dos possíveis fragmentos de estruturas fúngicas encontrados em A2654.	30
Figura 9: Fungo encontrado em A2657, possivelmente <i>Drechslera</i> -tipo.....	31
Figura 10: Fragmentos de algas; Remanescentes vegetais. Campo ilustrando material de origem vegetal em A2661.....	31
Figura 11: Conjuntos de remanescentes espiculares recuperados na amostra A2661.....	32
Figura 12: Vestígios vegetais, remanescentes de dieta; Algas indeterminadas; Esporo de <i>Drechslera</i> -tipo.....	32
Figura 13: Fragmentos de algas; D e E. Espículas de esponjas encontrados em A2670.....	33
Figura 14: Exemplos de estruturas fúngicas recuperadas em A2675.....	34
Figura 15: Algas indeterminadas; Corpos silicosos; Grande quantidade de remanescentes espiculares; Exemplos de espículas de esponjas; Fungo indeterminado; Fitólitos em A2678.	34
Figura 16: Material bastante fragmentado em A2679.....	35
Figura 17: Itens recuperados em A2681a.....	36

Figura 18: A e B. Possíveis fragmentos de alga; C. Remanescente vegetal, possivelmente fitólito, encontrados em pequena quantidade em A2683b.....	36
Figura 19: Seta vermelha indicando possíveis fragmentos de carvão encontrados em A2703	37
Figura 20: Amostra A2713. A. Campo ilustrando material encontrado na amostra, incluindo material vegetal, remanescente de dieta, corpos silicosos e algas; Possível fitólito; Grânulo de amido com modificações sugestivas de exposição a altas temperaturas. Esporo de fungo, possível <i>Dreschlera</i> -tipo.....	38
Figura 21: Espícula de esponja; Remanescentes de dieta de origem vegetal; Possível fragmento de fungo.....	38
Figura 22: A. Possível amido de <i>Manihot esculenta</i> (mandioca); Fitólito indeterminado; Campo com presença de fitólito e diversos corpos silicosos em A2719.....	39
Figura 23: Setas indicando algumas das espículas encontradas em um mesmo campo (aumento de 100X); Espícula de esponja; Fragmento de diatomácea cêntrica. Todos encontrados em A2728.....	40
Figura 24: Setas indicando diferentes tipos de algas em um campo de observação (aumento de 100x), ilustrando a diversidade de algas presente na amostra A2730. Diversidade também encontrada para remanescentes espiculares.....	40
Figura 25: Estruturas com espécies indeterminadas em A2737. Diatomácea penada; Espícula de esponja; Possível estrutura fúngica; Esporo de fungo.....	41
Figura 26: Seta vermelha indicando possível amido; e seta azul indicando possível espícula de esponja, em A2740.....	42
Figura 27: Exemplos de espículas de esponjas encontradas na amostra A2741; Vestígio de cadeia de diatomácea cêntrica; Amidos apresentando estruturas modificadas, sugestivas de alteração por ação de fogo; Campo ilustrando diversidade de algas, de material vegetal e de espículas de esponjas; Estruturas fúngicas.....	43
Figura 28: Estruturas relacionadas a três diferentes tipos de fungos. Ovos de Cestoda, sugestivos de <i>Diphyllobothrium</i> sp., encontrados em A2726.....	45

Figura 29: Amostra A2726: coprólito com morfologia sugestiva de animal com dieta carnívora.	47
Figura 30: Diversidade de fungos encontrada em A2712, incluindo esporos, fragmentos de hifas e conídios	48
Figura 31: Larva de nematoide observada por meio de microscopia óptica. A: campo claro (200x); B: contraste de fase, evidenciando o conteúdo interno degradado; C: detalhes da extremidade posterior e ânus da larva.....	49
Figura 32: Variações morfológicas dos oocistos de <i>Eimeira</i> sp.....	51
Figura 33. A. Oocistos esporulados e não-esporulados de <i>Eimeria spinosa</i>	52
Figura 34: Visão geral do Programa Gephi v.0.9.1.....	53
Figura 35: Resultado obtido na análise por semelhança dos oocistos, utilizando o Programa Gephi.....	54
Figura 36: Esquema representando a formação dos nodos pelo Programa.....	54
Figura 37: Grafo gerado pelo Programa Gephi v. 0.9.1, utilizando as medidas de largura e comprimento (nodos) e micrópila aparente, formato e tipos de filamentos (arestas).....	55

Lista de tabelas

Tabela 1: Amostras analisadas e sua datação (método de Luminescência Opticamente Estimulada), origem zoológica, número de lâminas analisadas, presença de necrobioma e resultados da análise paleoparasitológica.....	27
Tabela 2. Fósseis recuperados da mastofauna extinta do sítio Lagoa Uri de Cima, município de Salgueiro, Pernambuco, Brasil.....	61

RESUMO

Paleoparasitologia é o estudo de parasitos recuperados em remanescentes de animais humanos e não-humanos. Um dos seus principais objetos de estudo são os coprólitos, de onde podem ser recuperadas diversas estruturas parasitárias. Neste trabalho são discutidas as observações feitas por meio de microscopia óptica de 24 coprólitos de diferentes origens zoológicas, doados pelo Laboratório de Paleoparasitologia da Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP)/Fiocruz em uma parceria feita com o Laboratório de Paleoecologia e Paleoicnologia (LPP), da Universidade Federal de São Carlos. As amostras são provenientes do sítio paleontológico e arqueológico Lagoa Uri de Cima, localizado na região de Salgueiro, Estado de Pernambuco (Brasil), uma região do semiárido no nordeste brasileiro. Apesar de ter sido encontrado um necrobioma formado por fungos e ácaros em 45,83% e 8,33% das amostras, respectivamente, ainda assim foi possível recuperar itens como remanescentes de dieta e estruturas parasitárias, além de espículas de esponjas, diatomáceas e outros itens biológicos. Na análise paleoparasitológica, principal objetivo do trabalho, duas das amostras foram positivas para parasitos gastrintestinais. A amostra A2726 (8.800±1320 anos AP) apresentou ovos de Cestoda, semelhantes a *Diphyllobothrium* sp., e A2712 (4.600±900 anos AP) apresentou uma larva de Nematoda e 260 oocistos de *Eimeria* sp., possivelmente uma nova espécie desse gênero. A presença de apenas uma espécie, mas com mais de um morfotipo, foi sugerida por uma análise por grafos, inédita para esse fim, visualizada com o Programa Gephi v. 0.9.1. Os resultados positivos para parasitologia ajudaram a confirmar a origem zoológica dos coprólitos, além de indicar que as populações animais do Pleistoceno Final/Holoceno que viviam no entorno da paleolagoa Uri de Cima eram acometidas por parasitoses. A relação do necrobioma com a matéria orgânica presente no material fecal, os diversos fatores tafonômicos que podem alterar as características iniciais do material e as possíveis alterações nas relações parasitárias em situações de perda de hospedeiros e reservatórios por conta de extinções também são discutidas no presente trabalho.

PALAVRAS-CHAVE: Necrobioma, Tafonomia, *Eimeria*, Paleofauna, Nordeste do Brasil, Espongofauna

ABSTRACT

Paleoparasitology is the study of recovered parasites from human and non-human animal remains. One of the main focuses of the Paleoparasitology are coprolites, from which various parasitic structures can be recovered. In this work 24 coprolites from different zoological origins were observed by optical microscopy. They were donated by the Laboratório de Paleoparasitologia of the Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP)/Fiocruz in a partnership with the Laboratório de Paleoecologia e Paleoicnologia (LPP), Universidade Federal de São Carlos. The samples come from the paleontological and archaeological site Lagoa Uri de Cima, located in the region of Salgueiro, State of Pernambuco (Brazil), in semi-arid region in the Brazilian Northeast. Although necrobiota formed by fungi was found in 45.83% of the samples and by mites in 8.33% of them, it was still possible to recover items such as diet remnants and parasitic structures, as well as sponge spicules, diatom and other biological items. In the paleoparasitological analysis, main objective of the work, two of the samples were positive for gastrointestinal parasites. The sample A2726 (8,800 ± 1320 years BP) presented Cestoda eggs, similar to *Diphyllobothrium* sp., and A2712 (4,600 ± 900 years BP) presented one Nematoda larvae and 260 *Eimeria* sp. oocysts, possibly a new species of this genus. The presence of only one species, but with more than one morphotype, was suggested by a graphical analysis, unprecedented for this purpose, visualized with the software Gephi v. 0.9.1. The positive results for parasitology support the zoological origin of the coprolites and indicating that the animal populations of the Pleistocene/Holocene that lived in the surroundings of the Uri de Cima were affected by parasitoses. The relationship between necrobiota and organic matter present in the fecal matters, the taphonomic agents that may alter the initial characteristics of the material and the possible implications in the parasite relations in situations of loss of hosts and reservoirs due to extinctions are also discussed here.

KEYWORDS: Necrobiome, Taphonomy, *Eimeria*, Paleofauna, Northeastern of Brazil, Freshwater sponges

1. INTRODUÇÃO

A Paleopatologia foi definida por Ruffer (1913) como o estudo das doenças registradas em vestígios de animais humanos e não-humanos em tempos antigos. Uma das primeiras publicações em paleopatologia data de 1774, com Johann Friedrich Esper descrevendo a fratura na pelve de um mamífero do Pleistoceno, ao que se seguiram diversos estudos de animais extintos (Souza, 2011). Mais tarde, no século XIX, patologistas médicos, como Rudolph Virchow, Marc Armand Ruffer, J. N. Czermack, L. A. Gossie e K. W. Mayer, entre outros, passaram a utilizar as possibilidades de diagnóstico para estudar achados arqueológicos, utilizando técnicas como radiologia e histologia na análise desses materiais (Aufderheid e Rodríguez-Martín, 1998; Ferreira et al., 2008; Souza, 2011).

No início do século XX, Sir Marc Armand Ruffer cunha o nome de “paleopatologia” para os seus estudos histo-patológicos em múmias do Egito Antigo (Ruffer, 1921; Duarte et al., 2006). É ele também quem lança técnicas de reidratação de tecidos possibilitando a recuperação de material e o estudo de parasitos em tecido mumificado, como em seu estudo pioneiro de ovos de *Schistosoma haematobium* nos rins de múmias egípcias. Na América do Sul, destacam-se as publicações de Zambaco-Pachá sobre a antiguidade da sífilis (um estudo epidemiológico de 1897) e da lepra (publicado em 1914); e do arqueólogo Julio C. Tello, que publicou um livro em 1909 sobre a antiguidade da sífilis e sua provável existência na região do Peru em períodos pré-colombianos (Aufderheid e Rodríguez – Martín, 1998).

No Brasil, a paleopatologia também começa no século XIX. De acordo com Souza (2011), nesse período destaca-se a escassez de profissionais envolvidos, e, no caso dos estudos dos remanescentes de corpos humanos, durante mais de um século eles foram direcionados quase que exclusivamente pela antropologia física, com mais interesse na descrição de crânios e outros remanescentes ósseos. Essa mesma autora afirma que foi por conta de tais aspectos que no Brasil essa ciência se desenvolveu de maneira mais lenta e gradual do que em outros países. Entretanto, atualmente apresenta uma grande importância no cenário mundial, contribuindo com diversos estudos na área (Souza, 2011). Ainda assim, Ferigolo (2007) afirma que há pouco interesse por parte da maioria dos paleontólogos e outros profissionais que não dão a devida atenção à paleopatologia de vertebrados, ignorando como essa ciência contribui para a compreensão do papel do grupo em estudo,

das relações ecológicas entre os táxons e destes com o meio. Segundo esse mesmo autor, a Epidemiologia seria a área mais importante não da Medicina, mas sim da Ecologia, sendo a Paleopatologia então uma área da Paleoecologia. As doenças são ecológico-dependentes, e em relação aos mamíferos (e demais grupos de vertebrados), os micro e macroparasitas seriam um dos principais reguladores de populações, tanto atuais quanto do passado (Ferigolo, 2007).

Aufderheid e Rodríguez-Martín (1998) chamam atenção para o fato de que no início do desenvolvimento da paleopatologia não havia uma preocupação com os aspectos da paleoepidemiologia, e a relação das patologias com os hábitos culturais das populações hospedeiras humanas. Eles afirmam que foi a partir da década de 1940 que os paleopatologistas começaram a abordar novos conceitos e adicionar outros pontos de vista, entendendo a paleopatologia como uma importante ferramenta para compreender o passado das populações, relacionando-a, por exemplo, à paleoepidemiologia e à paleodemografia.

Na década de 1970, influenciados pelas ideias de Lawrence Angel, de uma abordagem mais voltada à paleoepidemiologia, pesquisadores brasileiros passaram a agregar perspectivas populacionais à paleopatologia, levando em consideração tanto características temporais e geográficas como também culturais e as relações biológicas (Souza, 2011) intra e interespecíficas. A linha da patoecologia, por exemplo, busca relacionar os achados de parasitos com a ecologia e as características culturais das populações antigas (Ferreira et al., 2008).

Dentre outras diversas interpretações possíveis dentro da Paleopatologia, estão ainda as evidências acerca dos diversos processos evolutivos, sobre relações filogenéticas, sobre a história das doenças (incluindo origem e evolução das infecções) e sua utilização como ferramenta para evitar erros em sistemática, diferenciando o que são características de novos grupos e o que são anomalias, alterações senis (como artrose e discopatias) ou degenerativas (causadas por traumas, sobrecarga ou infecções) (Ferigolo, 2007). Como exemplo dessa última aplicação, esse mesmo autor cita os estudos com o *Megatheriidae* “*Essonodontherium*”, que foi proposto pelo fato de um espécime encontrado apresentar um dente a menos do que é predito na fórmula dentária de preguiças. Entretanto, em estudos posteriores utilizando métodos radiológicos, foi possível perceber um fusionamento de dois dentes, demonstrando ser, na verdade, uma anomalia do espécime estudado.

Em populações humanas, nos sítios arqueológicos por vezes há registros que fornecem mais evidências sobre hábitos culturais que podem ter influenciado na relação e evolução dos processos saúde-doença nessas populações. Como exemplo estão os registros pictóricos, indicando caça de outros animais e indicação de consumo de determinados alimentos; além de objetos artísticos que indicam estados patológicos, como os *huacos*, estatuetas antropomórficas peruanas, pré-colombianas, que representam lesões de leishmaniose tegumentar. Isso além das fontes diretas de informações, como observações de corpos mumificados, ossos, esqueletos e dentes, ajudando nas inferências sobre traumas, anemias, tumores e doenças parasitárias e causadas por microrganismos, como tuberculose, hanseníase e treponematoses (Duarte et al., 2006).

Uma ramificação da paleopatologia é a paleoparasitologia, o estudo de parasitos recuperados de remanescentes de animais em sítios arqueológicos e paleontológicos (Ferreira e Araújo, 2005; Morrow et al., 2016). A associação entre paleontólogos, arqueólogos e pesquisadores de parasitologia levou ao desenvolvimento dessa ciência, que trabalha em boa parte com a análise de coprólitos, que são fezes mineralizadas ou preservadas por dessecação (Gonçalves et al., 2002). Reinhard et al. (1986) afirmam que coprólitos podem fornecer evidências excelentes de parasitismo por helmintos, podendo por vezes apresentar boa preservação inclusive da sua morfologia (uma das informações usadas em um conjunto de características para identificação dos parasitos). E em casos de dessecação, inclusive larvas também podem acabar sendo preservadas (Reinhard et al., 1986). Tais estudos em Paleoparasitologia, a partir da década de 1960, ganharam força por conta do desenvolvimento de técnicas de reidratação mais eficientes que permitem manter melhor a integridade dos ovos, larvas e outras estruturas dos parasitos, permitindo recuperar uma maior quantidade de evidências da ocorrência desses organismos, aliando tais técnicas de reidratação de material antigo, constantemente aprimoradas, a técnicas de análises parasitológicas atuais e comumente utilizadas nos laboratórios clínicos (Reinhard et al., 1986).

No Brasil, as primeiras pesquisas na área tinham como objetivo investigar a crença de que as doenças parasitárias em populações humanas não eram significativas antes da colonização europeia do Novo Mundo (Reinhard et al., 1986; Ferreira et al., 2008). Segundo essa teoria, a maioria das doenças que atualmente são de grande importância médica nas

Américas, como sífilis, lepra e as parasitoses intestinais teriam vindo junto com os colonizadores europeus no século XV. Em 1979, foi apresentado o primeiro resultado de ancilostomídeos e *Trichuris trichiura* em material datado de época pré-colombiana (Gonçalves et al., 2002; Duarte et al., 2006). A partir de então, diversos trabalhos têm indicado rotas de infecções parasitárias, indicando quais já se encontravam no continente americano e quais foram trazidas pela referida colonização europeia.

Considerando os constantes ajustes e melhorias nas metodologias utilizadas pela paleopatologia e pela paleoparasitologia, e as diferentes abordagens possíveis na interpretação dos resultados obtidos em suas análises, fica claro o seu caráter multidisciplinar (Reinhard et. al., 1986; Ferigolo, 2007). Para melhores interpretações, devem ser somadas abordagens biológicas (como biologia dos parasitos, ecologia, palinologia, genética de populações, paleontologia) com a geologia e a epidemiologia, por exemplo (Duarte et al., 2006).

No caso da Paleoparasitologia, apesar das dificuldades às vezes enfrentada na definição da sua origem zoológica (Öpik, 1953; Duarte et al., 2006; Souto, 2007), ou seja, qual grupo animal produziu a amostra, os coprólitos podem fornecer variadas informações, permitindo inferências sobre origem e dispersão de parasitoses, diversidade de parasitos em populações de hospedeiros, características do paleoambiente, paleovegetação, paleoclima e patoecologia (Reinhard et. al., 1986; Araújo et al., 1998; Gonçalves et al., 2002; Scheel-Ybert et al., 2003; Duarte et al., 2006; Ferreira et al., 2008; Fugassa et al., 2010; Souza, 2011).

Além disso, as formas evolutivas dos parasitos encontrados auxiliam nos estudos sobre as relações dos agentes parasitários e seus hospedeiros, os processos evolutivos envolvidos, relações filogenéticas e a história das doenças – incluindo origem e evolução das infecções (Duarte et al., 2006; Hugot et al., 2014). Por exemplo, Dentzien-Dias et al. (2013) relataram o achado de 93 ovos de possível cestódeo em coprólito de elasmobrânquio do Permiano Médio, aproximadamente 270 milhões de anos antes do presente (AP), da Formação do Rio Rasto, na Bacia do Paraná (Brasil). Esse é até então o mais antigo registro de ovos de helmintos em vertebrados, demonstrando que essa relação ocorre desde, pelo menos, o Paleozoico. Em 2014, Hugot et al. publicaram o registro mais antigo de nematódeos (Nemata: Oxyurida) em Cynodontia (cerca de 240 milhões de anos AP) do

Triássico Superior do Rio Grande do Sul (Brasil), demonstrando que esse grupo de parasitos já estava presente possivelmente em um ancestral mamaliforme.

O principal objetivo do presente trabalho foi analisar coprólitos de animais humanos e não-humanos provenientes do Sítio Lagoa Uri de Cima, buscando remanescentes alimentares e parasitos gastrintestinais. Como objetivos específicos buscou-se identificar a origem zoológica das 24 amostras por meio de observações microscópicas (parasitos e inclusões alimentares) e desenvolver comparações com estudos parasitológicos atuais, identificando relações parasitárias relatadas no presente e no passado das populações humanas e não-humanas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo

A paleolagoa denominada Lagoa Uri de Cima está localizada na região de Salgueiro, Estado de Pernambuco (Brasil) (Fig. 1), nas coordenadas 39°10'35"W e 8°04'42"S. Apresenta 199 m de comprimento, 92 m de largura e um hectare de área escavável, sendo um sítio paleontológico e arqueológico a céu aberto (Fig. 2A e B),

O sítio está inserido em uma região onde predominam inselbergs e maciços graníticos, com encostas bastante acentuadas e intercaladas por solos arenosos em áreas pediplanadas e afloramentos rochosos em forma de lajedos. Já no depocentro da lagoa, a rocha-mãe encontra-se bastante intemperizada, formando isalterita de coloração esverdeada e textura argilosa. Canais temporários drenam as áreas mais baixas, sob caráter confinado e correndo sobre leito rochoso. A área do entorno da paleolagoa está inserida nos domínios da bacia hidrográfica do Rio Terra Nova, que apresenta regime intermitente (Mützenbergl et al., 2013).

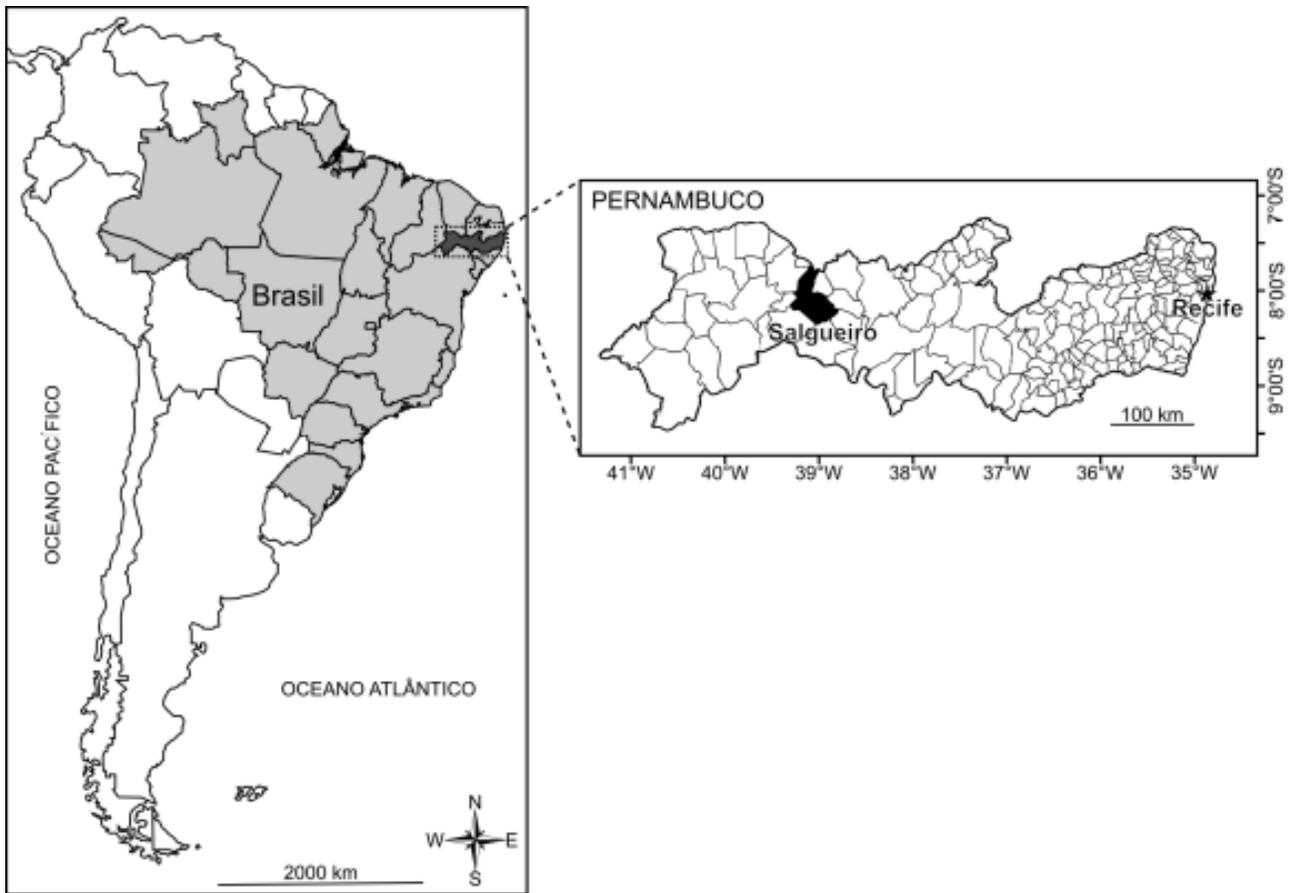


Figura 1: Mapa indicando a localização geográfica do Sítio Lagoa Uri de Cima, no Nordeste do Brasil.



Figura 2A e B: Visão geral do sítio paleontológico e arqueológico Lagoa Uri de Cima, Pernambuco (Brasil). Modificadas de Mützenber et al., 2013.

Entre os anos de 2010 e 2012 foi realizado um trabalho de prospecção mediante um projeto do Instituto de Arqueologia, Paleontologia e Ambiente do Semiárido (INCT/CNPq – INAPAS) em caráter de acompanhamento do Projeto de Integração do Rio São Francisco

com as Bacias Hidrográficas do Nordeste Setentrional – Ministério da Integração Nacional. Para tal, foram reunidos pesquisadores de diversos estados do país, trabalhando de forma multidisciplinar no planejamento operacional, no trabalho de campo (Fig. 3) e, posteriormente, em seus respectivos institutos de pesquisa (Pessis et al., 2013). Foram utilizadas como unidades básicas trincheiras de 4m x 2m, que depois originaram trincheiras maiores (Fig. 4 e 5), seccionando a paleolagoa de forma a gerar um perfil estratigráfico completo, tanto transversal como longitudinal (Pessis et al., 2013).



Figura 3: Visão geral do trabalho de prospecção do Sítio Arqueológico/Paleontológico Lagoa Uri de Cima, Salgueiro – PE. Fonte: Pessis et al., 2013.

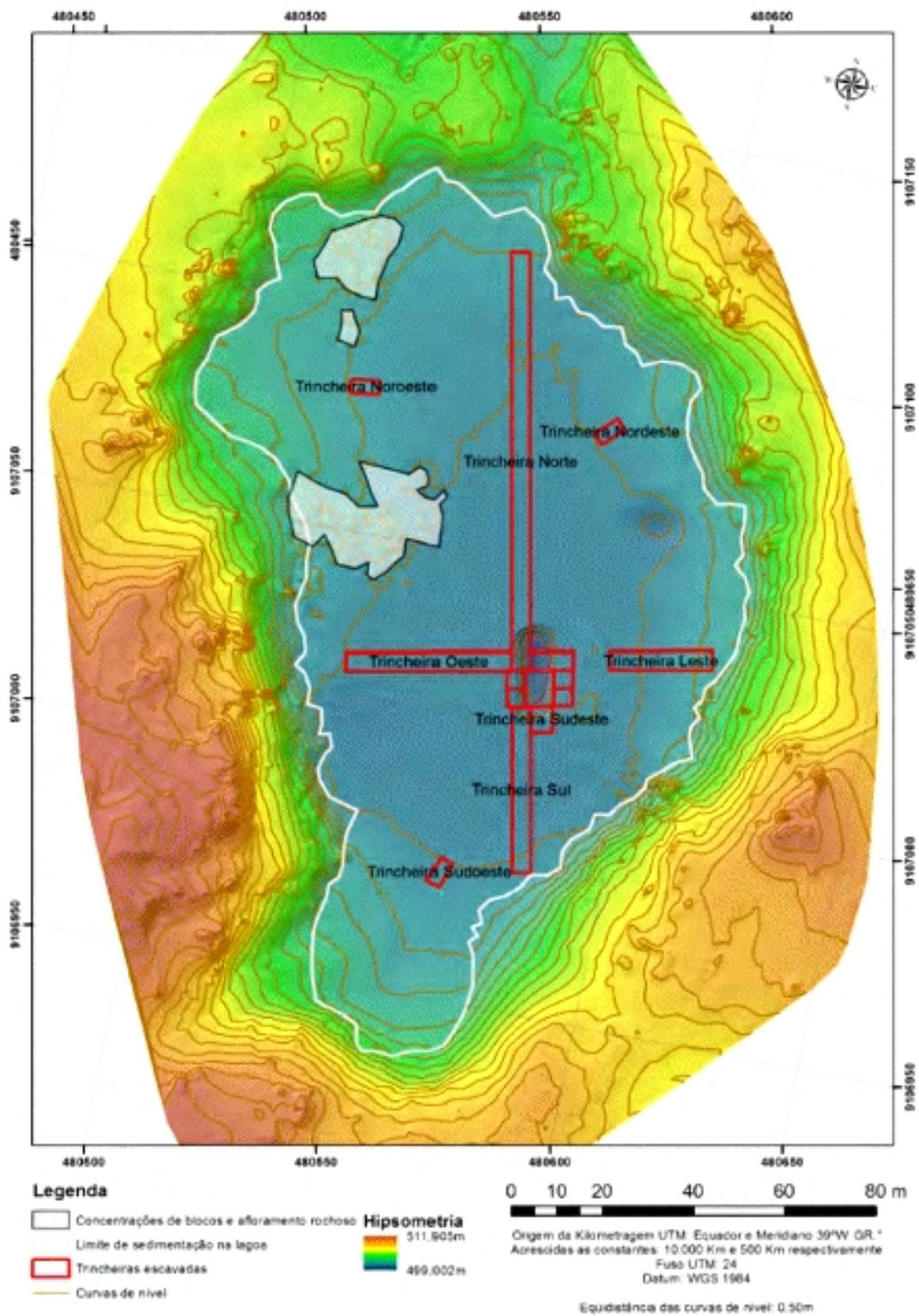


Figura 4: Níveis e trincheiras na prospecção do Sítio. Fonte: Pessis et al., 2013.

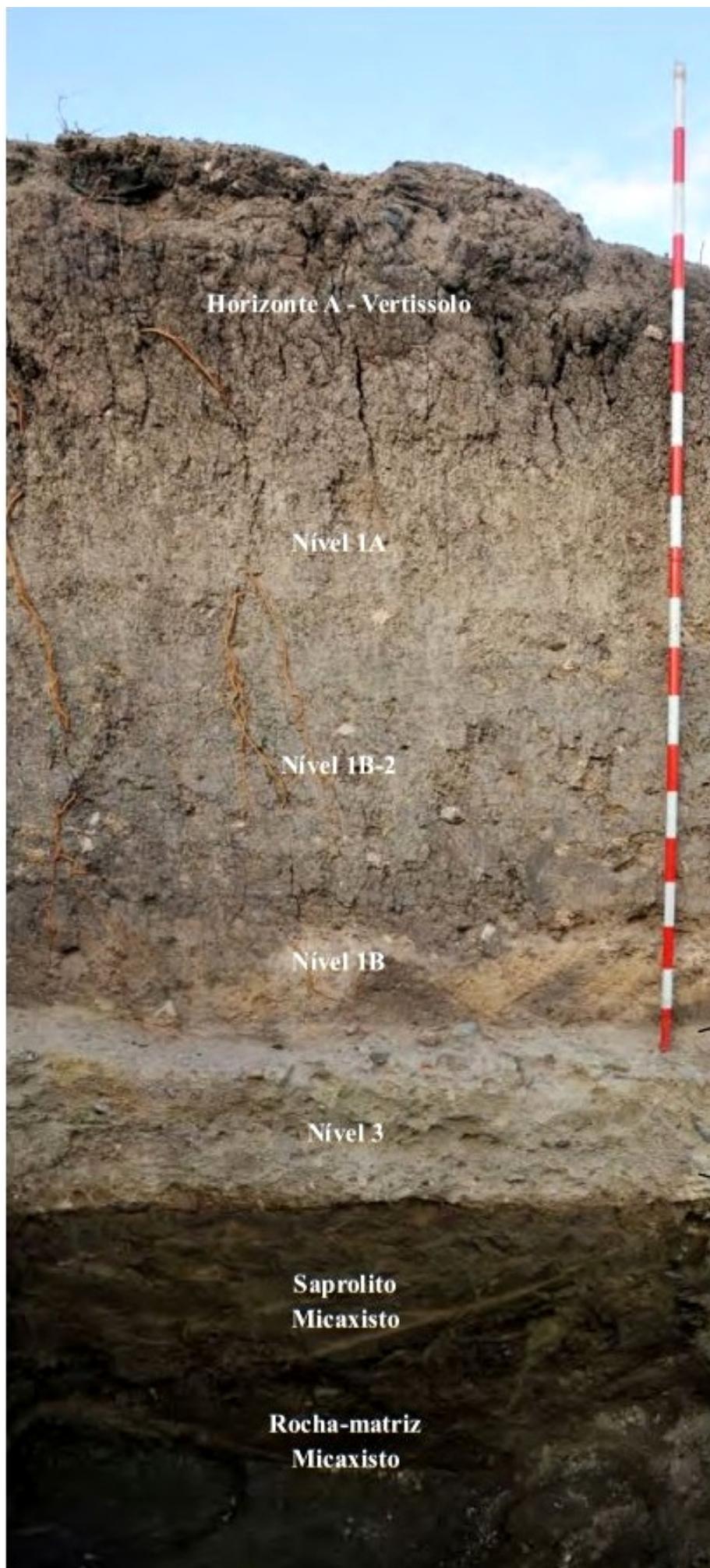


Figura 5: Estratigrafia da Lagoa Uri de Cima. Foram coletadas amostras em todos os níveis entre 3 e 1-A. Fonte da imagem: Felice et al., 2013.

Seção estratigráfica tipo - Lagoa Uri de Cima



Horizonte A - Vertissolo.

Sedimento areno-argiloso com fenoclastos de seixos polimíticos e presença de infiltração carbonática. Pedoturbação na formação de um Horizonte A de um vertissolo.

Fluxo de lama.

Nível 1A

Sedimento areno-argiloso com fenoclastos de seixos polimíticos e presença de infiltração carbonática.

Fluxo de lama.

Nível 1B

Cascalheira média de fábrica aberta com presença de seixos angulosos, suportada por matriz areno-argilosa.

Fluxo de detritos.

Maior concentração de vestígios arqueológicos.

Nível 1B-2

Sedimento argiloso (esmectitas) com indícios de bioturbação.

Deposição lacustre bioturbada.

Vestígios arqueológicos e ossos de paleofauna.

Nível 2

Sedimento de textura arenosa e grânulos de quartzo.

Fluxo canalizado.

Ossos de paleofauna.

Nível 3

Cascalheira média suportada por clastos e cimentada por concreção carbonática.

Fluxo canalizado.

Ossos de paleofauna.

Figura 6: Seção estratigráfica-tipo da Lagoa Uri de Cima. As amostras do presente trabalho foram coletadas do Nível 3 ao Nível 1-A da Lagoa. Fonte da imagem: Mützenberg et al., 2013.

2.2. Coleta e reidratação do material – ENSP/FIOCRUZ

Diversos materiais foram coletados no sítio, incluindo excrementos fossilizados. Nestes casos, os coprólitos eram acondicionados em recipientes individuais e estéreis, seguindo protocolo padronizado para evitar contaminação, e transportados para o Laboratório de Paleoparasitologia da Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Fiocruz, no Estado do Rio de Janeiro (Sianto et al., 2013).

Nesse Laboratório, as amostras foram medidas, escaneadas e/ou fotografadas e registradas na coleção. Seguiu-se uma análise inicial, de triagem, para reconhecimento do que eram de fato coprólitos e os que eram, na verdade, estruturas não-biogênicas, formadas por concreções. As amostras confirmadas como coprólitos foram individualmente reidratadas. Para tal, cada uma teve uma porção de cinco gramas do seu conteúdo mais interior retirados, evitando as regiões mais externas, que poderiam apresentar contaminações de quando as fezes frescas foram depositadas no sedimento. Os cinco gramas foram reidratados em solução aquosa de fosfato trissódico (Na_3PO_4) a 0,5% por um período de 72 horas (Callen e Cameron, 1960), mantendo temperatura de 8°C, para evitar proliferação de microrganismos, como fungos e bactérias. No caso das amostras mineralizadas, houve um tratamento adicional (modificado de Reinhard et. al., 1986). Para auxiliar na sua desagregação e reidratação, foi adicionado ácido clorídrico em uma quantidade de cerca de 5% do seu volume total, fornecendo tempos de pausa de 30 minutos, e utilizando agitador magnético por 2 minutos para auxiliar na desagregação. Quando a maior parte do conteúdo estava desagregada, mostrando ser possível uma posterior preparação em lâminas para observação microscópica, a amostra foi vertida em cálice cônico contendo telas metálicas com malha de 300 μm .

Os itens retidos nas telas foram separados para análise em futuros estudos. O restante da amostra permaneceu no cálice, sedimentando, por no máximo duas horas, para evitar maior tempo de exposição ao ácido clorídrico. Após esse período, o conteúdo foi pipetado, transferido para um tubo cônico de centrifuga de 50 mL e centrifugado por cinco minutos a 2500 rpm, para concentração dos vestígios microscópicos. O líquido sobrenadante formado foi descartado, e foi utilizada água destilada para mais três lavagens como essa. Ao final da última lavagem, foi acrescentada solução de formol acético 40% para preservação da amostra.

2.3. Preparação, observação e análise das amostras – DEBE/UFSCar

Em uma parceria firmada no ano de 2016, a ENSP/Fiocruz doou para o Laboratório de Paleoecologia e Paleoicnologia (DEBE-UFSCar) 0,5mL de 24 amostras confirmadas como coprólitos, que receberam o tratamento anteriormente descrito. Na Universidade Federal de São Carlos, no Laboratório de Microbiologia (Departamento de Morfologia e Patologia), os tubos contendo as amostras foram levados ao agitador automático por 5 segundos, tempo em que houve homogeneização do material. Em seguida, foram pipetados 10 µL de cada amostra e transferidos para lâminas de vidro de 26 x 76 mm, cada uma recebendo 10 µL de uma solução de glicerol 60%. As soluções foram homogeneizadas na própria lâmina, que em seguida foram cobertas com lamínula de 22 x 22 mm. Para cada amostra preparada, metade das lâminas recebia a solução de glicerol 60% misturada com lugol, enquanto a outra metade recebia apenas a solução de glicerol, não sendo, portanto, corada. Para cada uma das 24 amostras, foi preparado um número entre 2 e 30 lâminas para observação. As lâminas foram levadas ao Laboratório de Biotecnologia de Algas (Lalgas/UFSCar), observadas em microscópio óptico Nikon Eclipse e fotografadas com uma câmera Nikon DS – Fi2, utilizando o *software* NIS – Elements F, v. 4.0. Os itens observados foram medidos utilizando o *software* Image J. Os coccídios medidos foram comparados utilizando análise de semelhança por grafos, com resultados visualizados com o *software* Gephi v. 0.9.1 (Bastian et al., 2009).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As lâminas observadas apresentaram estruturas vegetais, tais como pólenes, amido e fitólitos. Também foram encontradas espículas de esponjas em 14 amostras (58,33%) e estruturas fúngicas em 11 amostras (45,83%). Em uma das amostras (A2681a) também foi encontrado um ácaro (Arachnida, Acari). Duas amostras (8,33%) apresentaram parasitos gastrintestinais (protozoários e helmintos). Em alguns coprólitos também foram recuperados diatomáceas e outros itens de origem biológica.

Quanto à identificação da origem zoológica, ainda no Laboratório de Paleoparasitologia, na ENSP/Fiocruz, antes da doação para a UFSCar, as 24 amostras passaram por uma triagem inicial, com observação das suas características morfométricas. Utilizando o trabalho de Chame (2003), tais características foram comparadas às de fezes de

grupos animais atuais, sendo utilizadas como uma tentativa prévia de identificação de grupos taxonômicos animais aos quais os coprólitos corresponderiam. Na UFSCar, no presente trabalho, no Laboratório de Paleoecologia e Paleoicnologia, os itens biológicos recuperados forneceram mais informações utilizadas para confirmação das origens zoológicas dos coprólitos.

Os resultados obtidos estão sintetizados na tabela 1, e descritos abaixo, para cada amostra.

Tabela 1: Amostras analisadas e sua datação (método de Luminescência Opticamente Estimulada), origem zoológica, número de lâminas analisadas, presença de necrobioma e resultados da análise paleoparasitológica.

Amostra	Datação (LOE) (em anos AP)	Origem zoológica	Nº de lâminas analisadas	Fungos	Ácaros	Parasitas gastrintestinais
A2653	8.800±1320	Possivelmente humano	06	+	-	-
A2654	18.600±1470	Não identificada	06	+	-	-
A2657	Não informada	Possivelmente carnívoro	06	+	-	-
A2661	8.800±1320	Possivelmente herbívoro	06	-	-	-
A2667	18.600±1470	Possivelmente carnívoro	06	+	-	-
A2670	18.600±1470	Não identificada	06	-	-	-
A2675	8.800±1320	Não identificada	02	+	-	-
A2678	34.600±690	Possivelmente herbívoro	10	+	-	-
A2679	18.600±1470	Felidae	02	-	-	-
A2681a	8.800±1320	Felidae	02	-	+	-
A2681b	8.800±1320	Felidae	02	-	-	-
A2683a	Não informada	Felidae	02	-	-	-
A2683b	Não informada	Felidae	02	-	-	-
A2703	8.800±1320	Possivelmente carnívoro	02	-	-	-
A2712	4.600±900	Possivelmente herbívoro	26	+	+	+
A2713	8.800±1320	Não identificada	02	+	-	-

Amostra	Datação (LOE) (em anos AP)	Origem zoológica	Nº de lâminas analisadas	Fungos	Ácaros	Parasitas gastrintestinais
A2717	8.800±1320	Possivelmente humano	02	-	-	-
A2719	8.800±1320	Possivelmente humano	02	-	-	-
A2726	8.800±1320	Possivelmente carnívoro	20	+	-	+
A2728	8.800±1320	Não identificada	02	-	-	-
A2730	8.800±1320	Não identificada	02	-	-	-
A2737	8.800±1320 (?)	Não identificada	02	+	-	-
A2740	8.800±1320	Não identificada	02	-	-	-
A2741	8.800±1320	Não identificada	06	+	-	-

Legenda: " –" indica resultado negativo; "+" indica resultado positivo; "(?)" indica informação incompleta quando da coleta da amostra.

3.1. RESULTADOS POR AMOSTRA

Amostra A2653

Datação (LOE): 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Possivelmente humano

Foram recuperados remanescentes espiculares (Fig. 7), além de visualizado material vegetal fragmentado, aparentemente sem possibilidade de identificação.

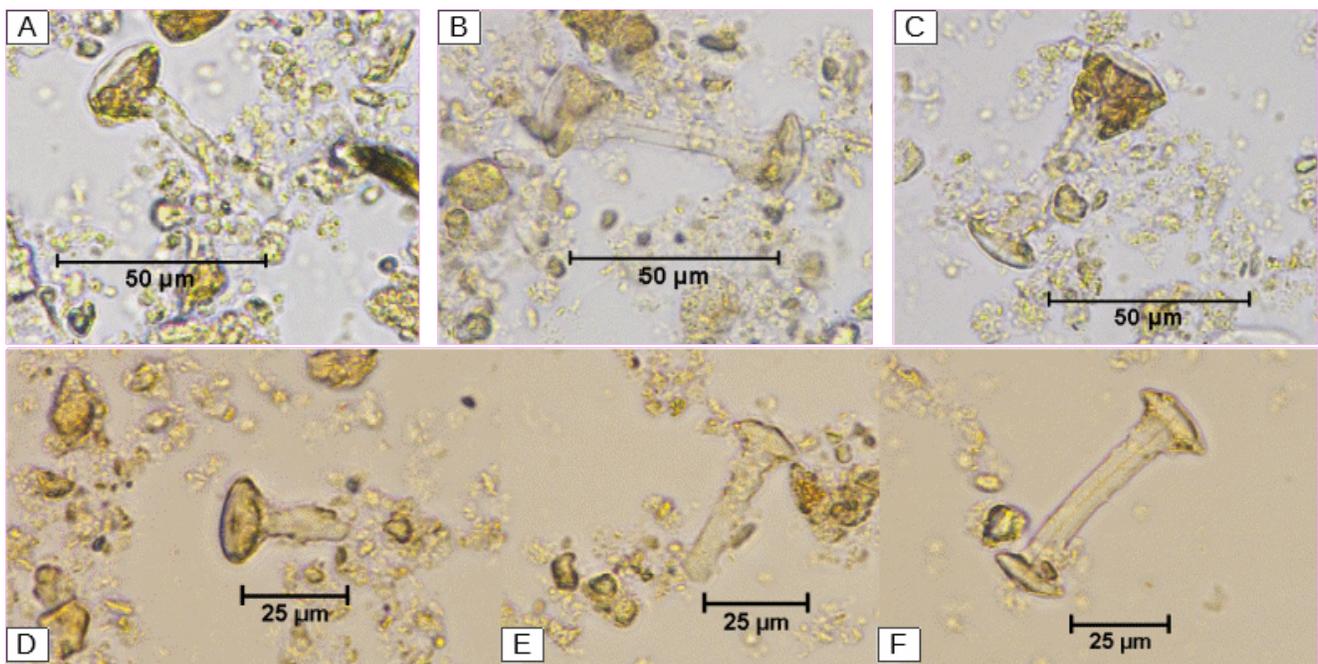


Figura 7. A-F: Diversidade de remanescentes espiculares recuperados em A2653.

Amostra A2654

Datação LOE: 18.600 ± 1470 anos AP

Origem zoológica: Não identificada

Em A2654 foram recuperadas diversas diatomáceas, espículas de esponjas e estruturas fúngicas (Fig. 8).

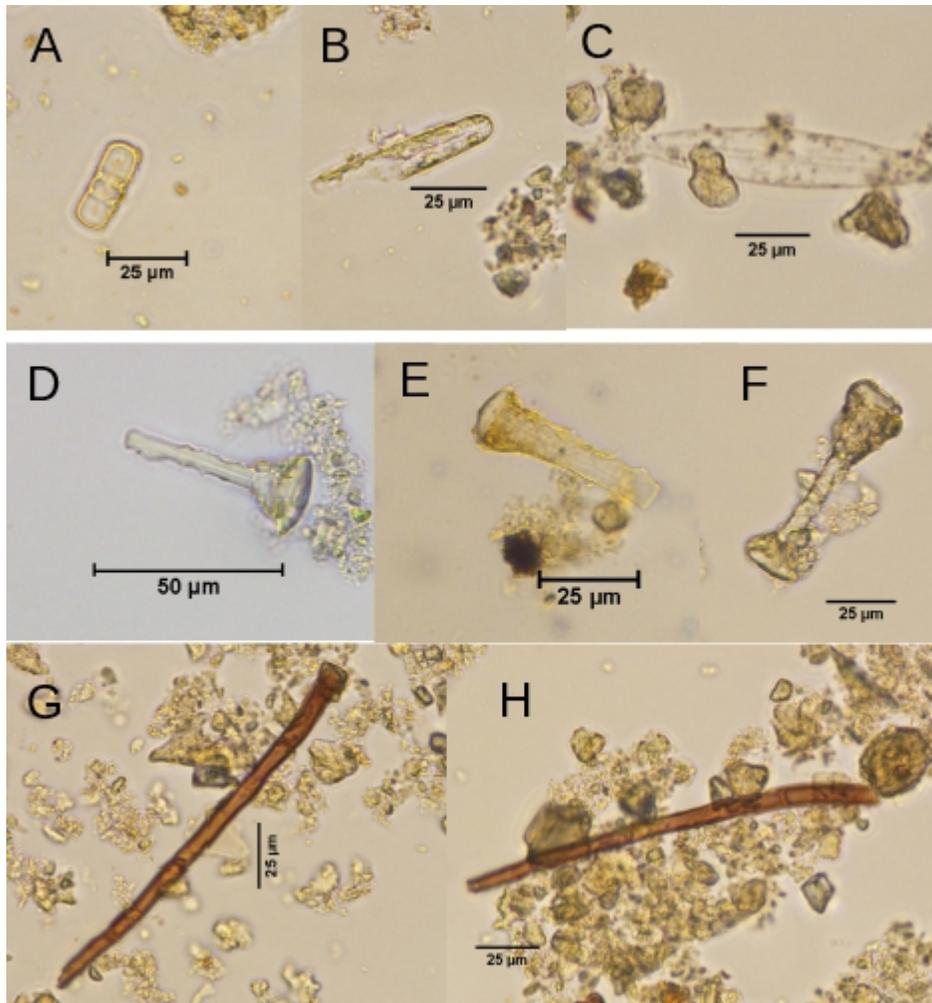


Figura 8: Diatomácea cêntrica, fotografada com observação por microscopia de contraste de fase; B e C. Fragmentos de diatomáceas indeterminadas; D-F. Diversidade de remanescentes espiculares; G e H. Alguns dos possíveis fragmentos de estruturas fúngicas encontrados em A2654.

Amostra A2657

Datação LOE: Não informada

Origem zoológica: Possível carnívoro

O material observado nas lâminas encontrava-se bastante fragmentado, não fornecendo informações que permitissem identificação dos itens biológicos remanescentes de dieta. Foram encontrados também esporos de fungos sugestivos de *Drechslera*-tipo (Fig. 9).



Figura 9: Fungo encontrado em A2657, possivelmente *Drechslera*-tipo.

Amostra A2661

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Possível herbívoro

Nessa amostra foram encontrados diversos fragmentos de material vegetal (exemplificados na Fig. 10G), o que sugere uma dieta herbívora, confirmando a identificação inicial, pela observação das características morfométricas. Também foram recuperadas algas não-identificadas e diversos remanescentes espiculares (exemplos na Fig. 11).

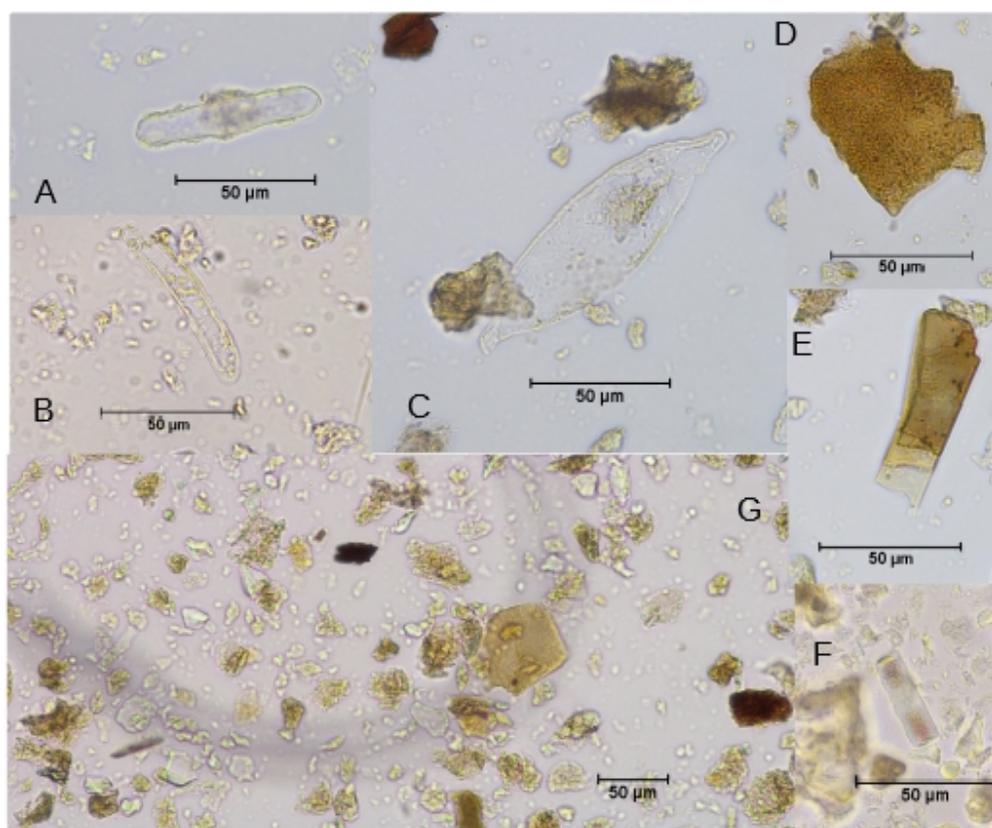


Figura 10: A-C. Fragmentos de algas; D-F. Remanescentes vegetais. G. Campo ilustrando material de origem vegetal em A2661.

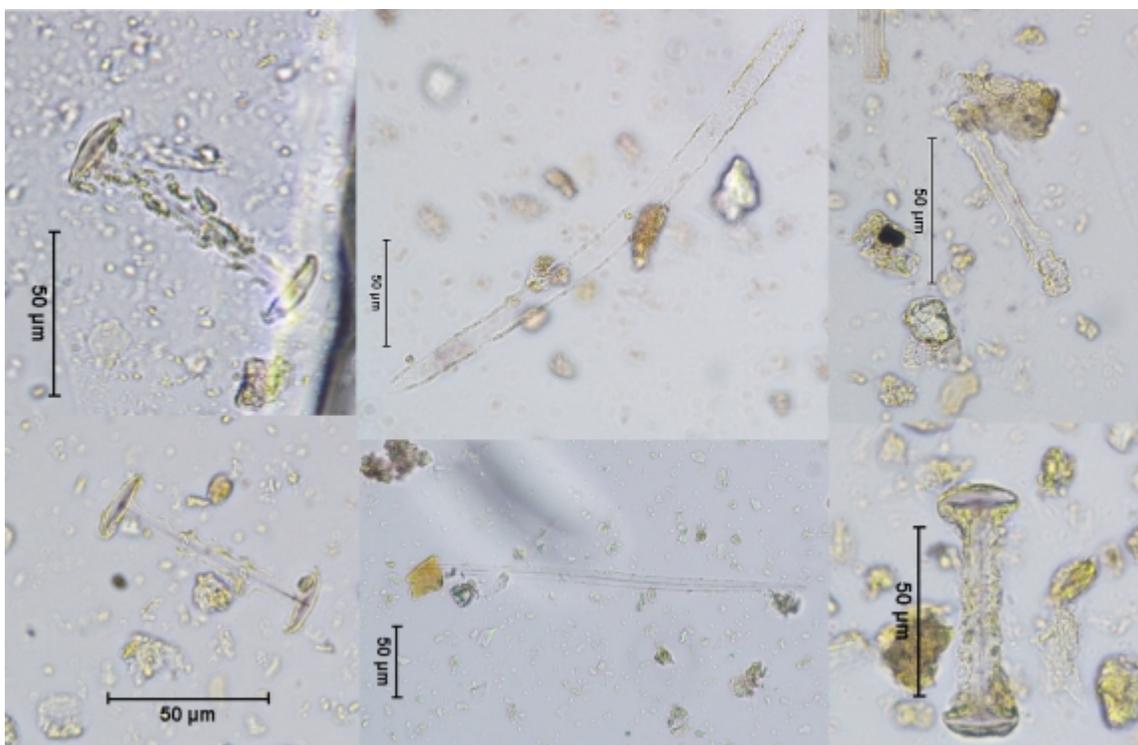


Figura 11: Conjuntos de remanescentes espiculares recuperados na amostra A2661.

Amostra A2667

Datação LOE: 18.600±1470 anos AP

Origem zoológica: Possível carnívoro

O material observado na lâmina se mostrava bastante fragmentado, mas foi possível a recuperação de alguns fitólitos, tecido vegetal, algas e fungos (Fig. 12).

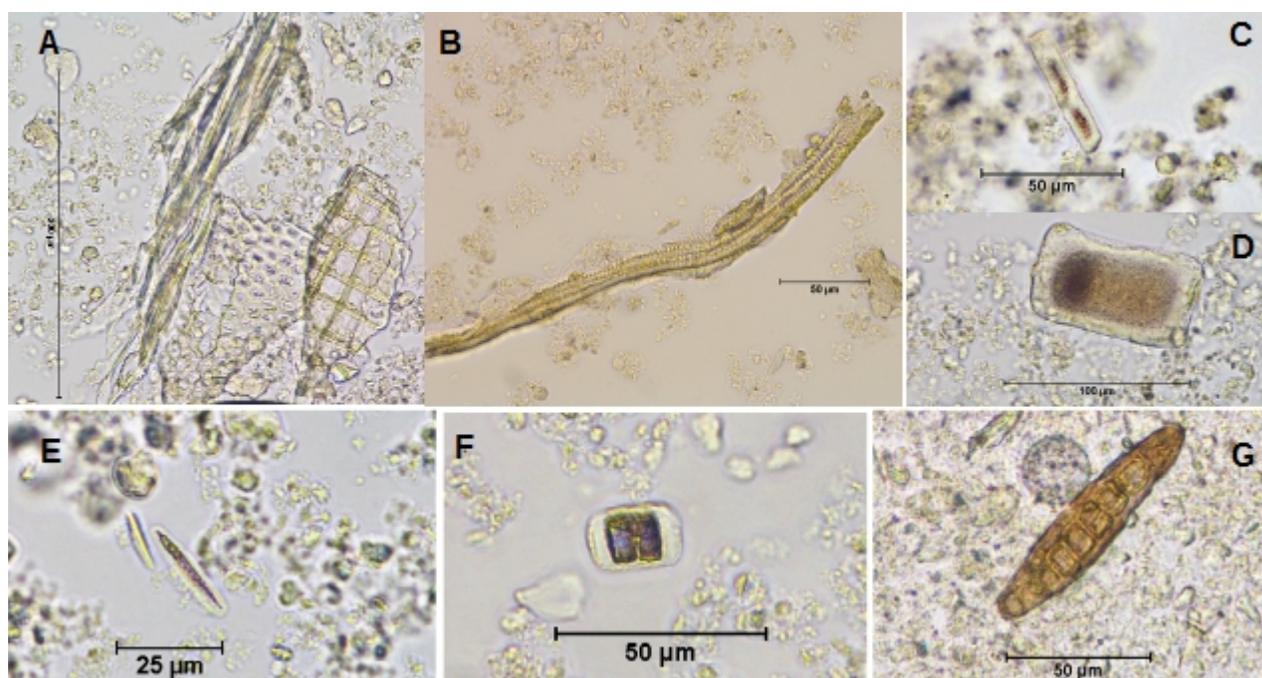


Figura 12: A-D. Vestígios vegetais, remanescentes de dieta; F-G. Algas indeterminadas; H. Esporo de *Drechslera*-tipo.

Amostra A2670

Datação LOE: 18.600±1470 anos AP

Origem zoológica: Não identificada

Foram recuperados fragmentos de diatomáceas e conjuntos espiculares (Fig. 13).



Figura 13: Fragmentos de algas; D e E. Espículas de esponjas encontrados em A2670.

Amostra A2675

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Não identificada

Além do resultado ser negativo na análise paleoparasitológica, não foi possível recuperar nenhuma informação de vestígios de dieta nessa amostra, já que a observação das lâminas mostrou material bastante fragmentado. Os únicos itens recuperáveis foram os esporos de fungos, numerosos em todas as lâminas observadas (Fig. 14).

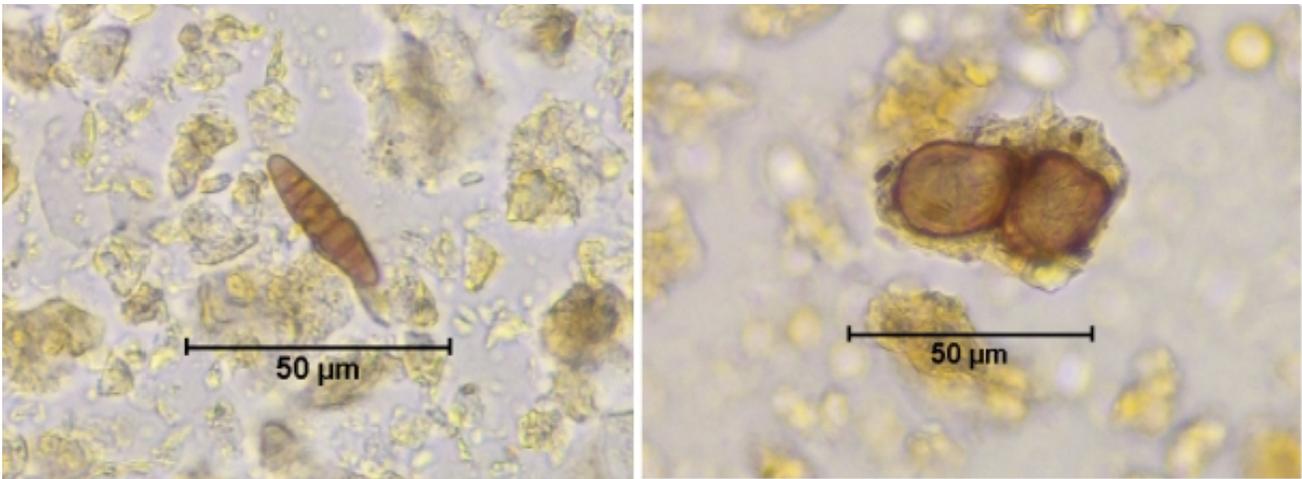


Figura 14: Exemplos de estruturas fúngicas recuperadas em A2675.

Amostra A2678

Datação LOE: 34.600±690 anos AP

Origem zoológica: Possível herbívoro

A amostra foi negativa na análise parasitológica. Exemplos dos itens recuperados estão demonstrados na Fig. 15.

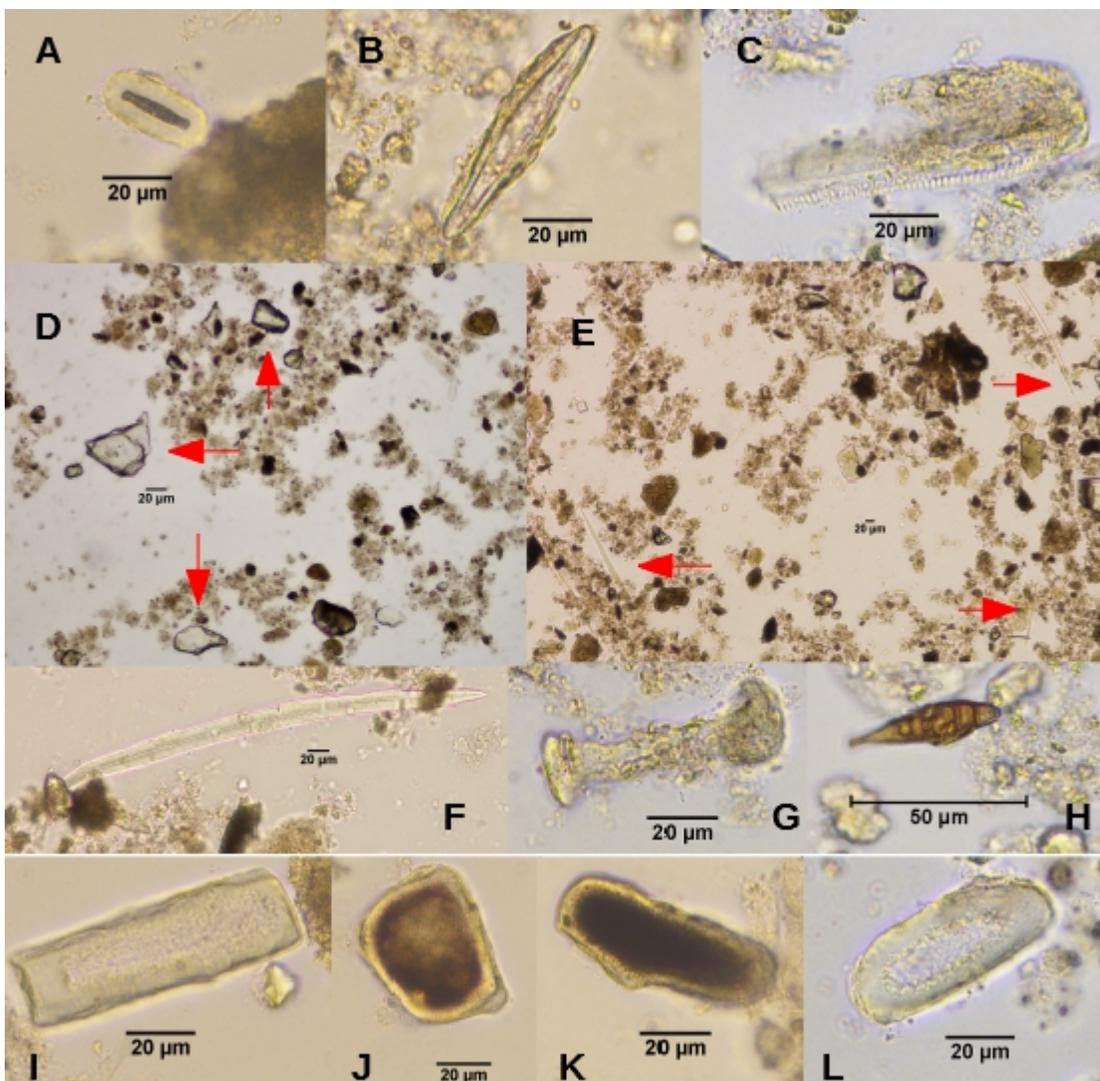


Figura 15: A-C: Algas indeterminadas; D. Corpos silicosos (setas vermelhas); E. Grande quantidade de remanescentes espiculares (setas vermelhas) em A2678, em comparação às demais amostras; F-G. Exemplos de espículas de esponjas; H. Fungo indeterminado; I-L. Fitólitos.

Amostra A2679

Datação LOE: 18.600±1470 anos AP

Origem zoológica: Felidae

Nessa amostra não foram encontrados remanescentes de origem biológica que fossem identificáveis. O material recuperado se mostrava bastante fragmentado (Fig. 16), semelhante ao encontrado nas outras amostras também originadas de animais com dieta carnívora. Essa informação é mais um indicador do coprólito como sendo de Felidae, já que na triagem inicial foi registrada dúvida entre os grupos Felidae e Equidae.

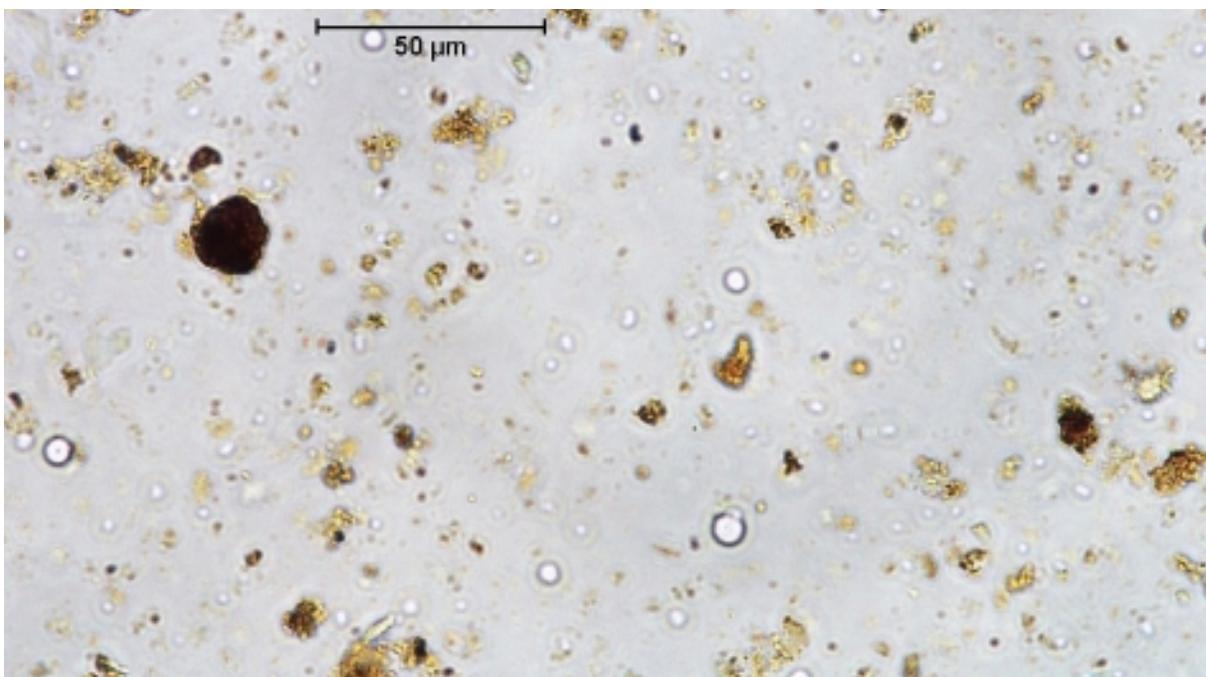


Figura 16: Material bastante fragmentado em A2679.

Amostra A2681a/b

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Felidae

Material recuperado na análise microscópica bastante fragmentado e com poucos remanescentes vegetais (tais como pólenes e fitólitos) discerníveis (Fig. 17). Essa informação, junto com o fato de que foi encontrado um possível pelo animal, pode confirmar a sugestão, pela análise inicial, de que se trata de um Felidae.

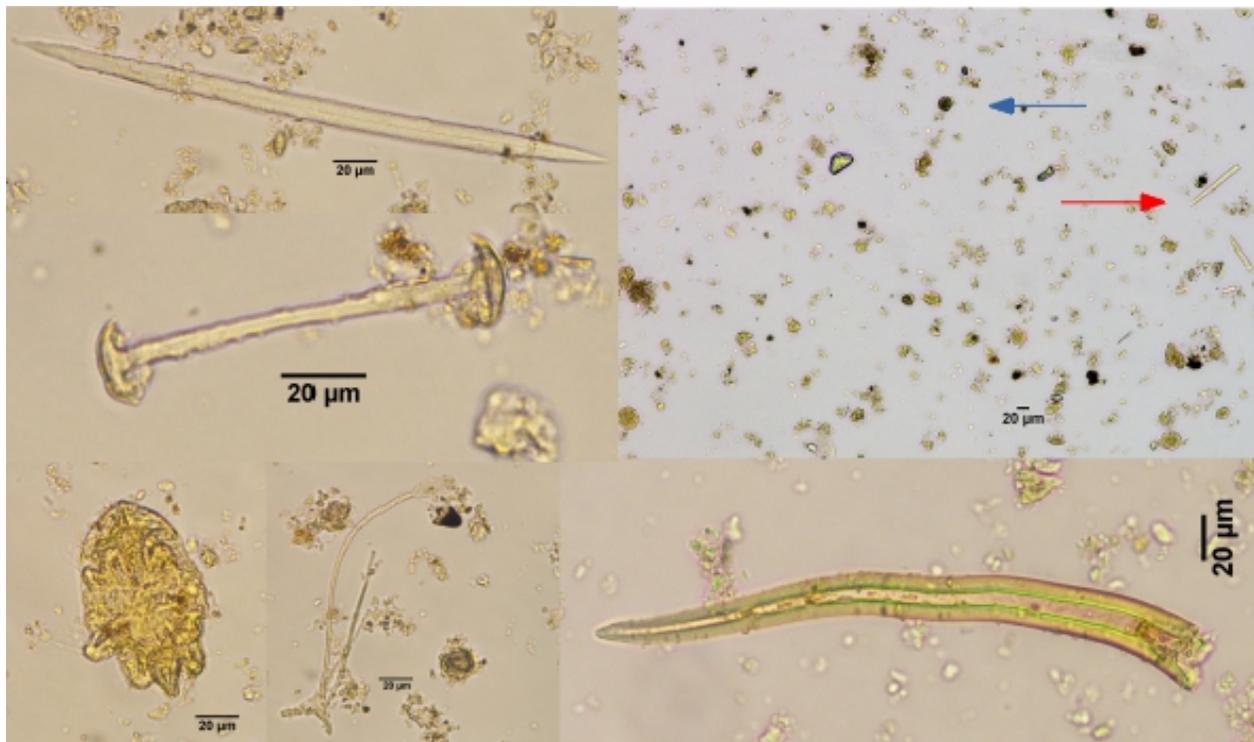


Figura 17: Itens recuperados em A2681a. A-B. Remanescentes espiculares; C. Possível ácaro; D. Estrutura fúngica de espécie indeterminada; F. Possível pelo; E. Campo ilustrando o grau de fragmentação do material, seta azul indicando vestígios bastante fragmentados de dieta e setas vermelhas indicando espículas.

Amostra A2683a/b

Datação LOE: Não informada

Origem zoológica: Felidae

As amostras A2683a e A2683b tiveram resultados semelhantes, com possíveis fragmentos de algas e pouco material vegetal discernível (Fig. 18).

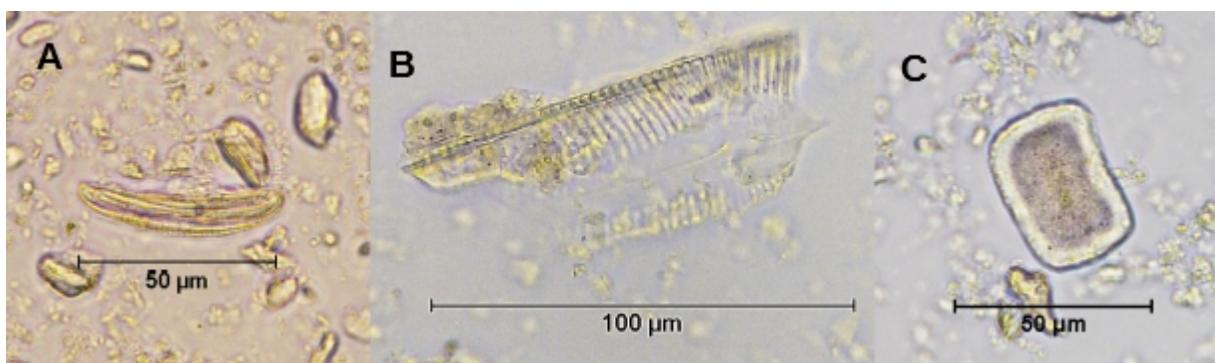


Figura 18: A e B. Possíveis fragmentos de alga; C. Remanescente vegetal, possivelmente fitólito, encontrados em pequena quantidade em A2683b.

Amostra A2703

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Possível carnívoro

Não foi encontrado material de origem biológica discernível (Fig. 19), o que corresponde a mais uma evidência de que pode ser de um animal carnívoro. A amostra apresentava fragmentos escuros, semelhantes a carvão (Fig. 19).

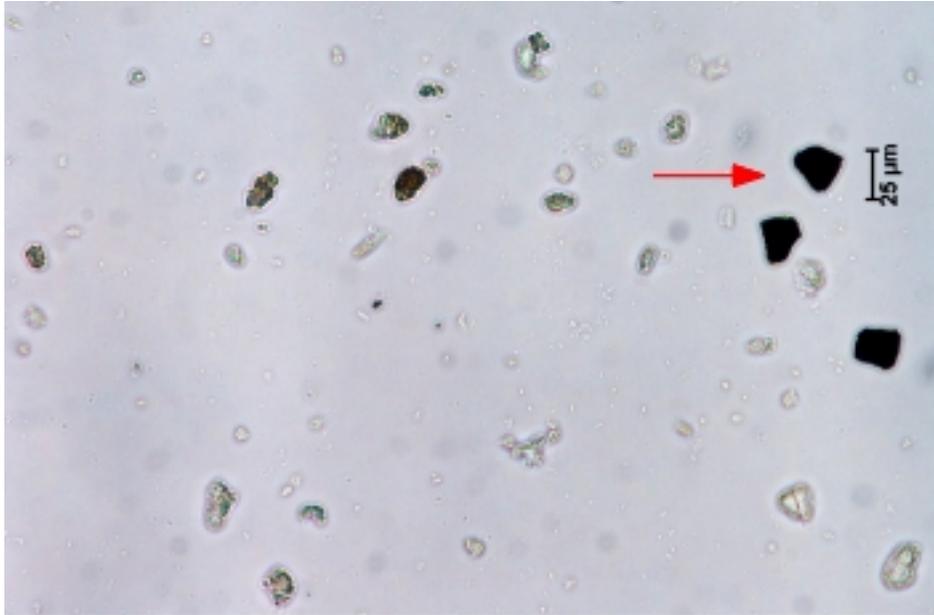


Figura 19: Seta vermelha indicando possíveis fragmentos de carvão encontrados em A2703.

Amostra A2713

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Não identificada

Na amostra foram encontrados esporos de *Drechslera*-tipo, amidos com modificações morfológicas semelhantes àquelas provocadas por exposição à altas temperaturas (exposição ao fogo), além de diversos corpos silicosos (espículas e fitólitos) (Fig. 20).

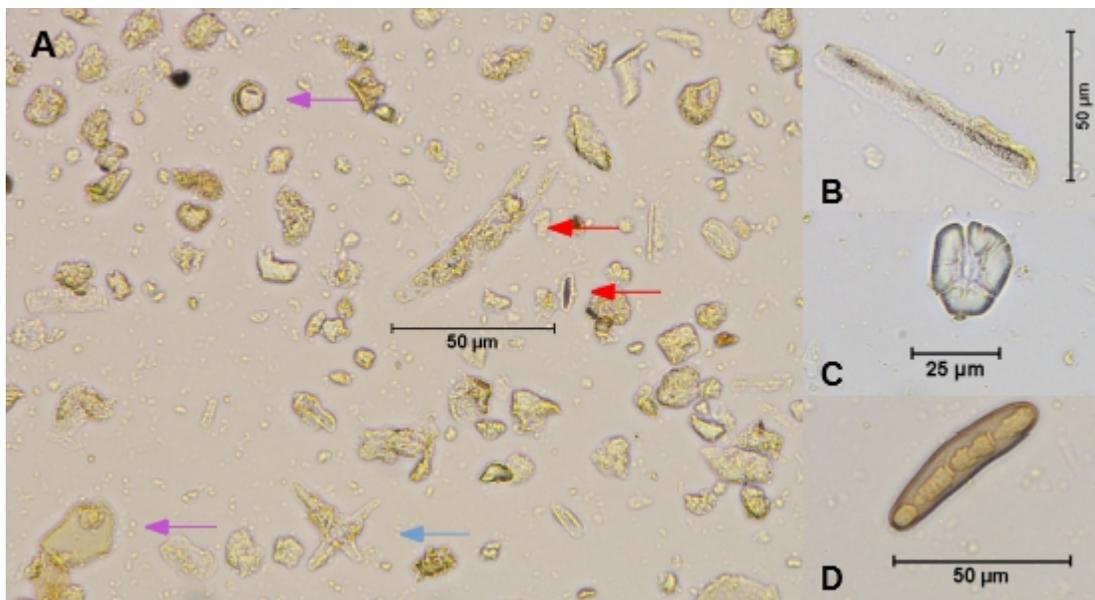


Figura 20: Amostra A2713. A. Campo ilustrando material encontrado na amostra, incluindo material vegetal, remanescente de dieta (setas lilás), corpos silicosos (seta azul) e algas (setas vermelhas); B. Possível fitólito; C. Grânulo de amido com modificações sugestivas de exposição a altas temperaturas. D. Esporo de fungo, possível *Dreschlera*-tipo.

Amostra A2717

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Possivelmente humano

Amostra negativa para a análise paleoparasitológica. Foram recuperados alguns remanescentes de dieta de origem vegetal, incluindo possíveis fitólitos, além de possíveis estruturas fúngicas (Fig. 21). Nessa amostra também foi marcante o encontro de corpos silicosos na maior parte dos campos visualizados.

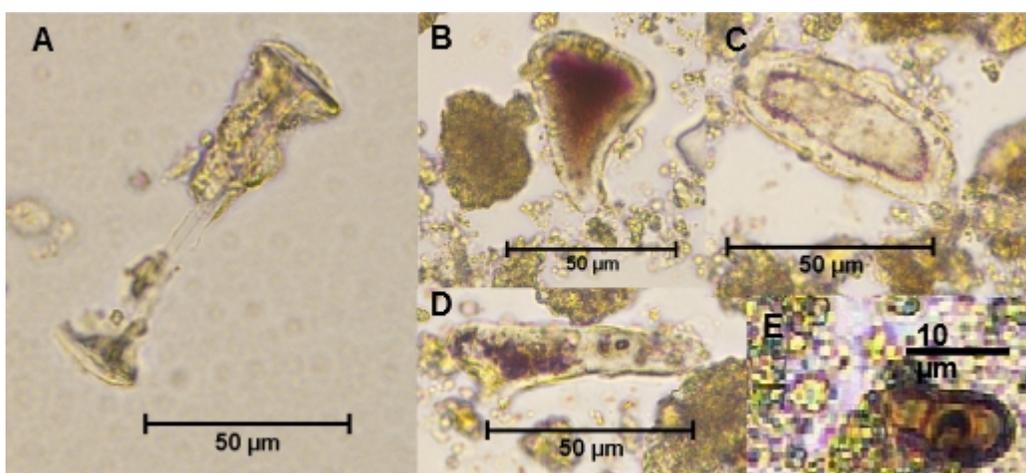


Figura 21: A. Espícula de esponja; B-D. Remanescentes de dieta de origem vegetal; E. Possível fragmento de fungo.

Amostra A2719

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Possivelmente humano

Nessa amostra, como em A2717, também foi marcante a presença de corpos silicosos (exemplo ilustrado pela Figura 22). Também foram recuperados amidos e fitólitos.

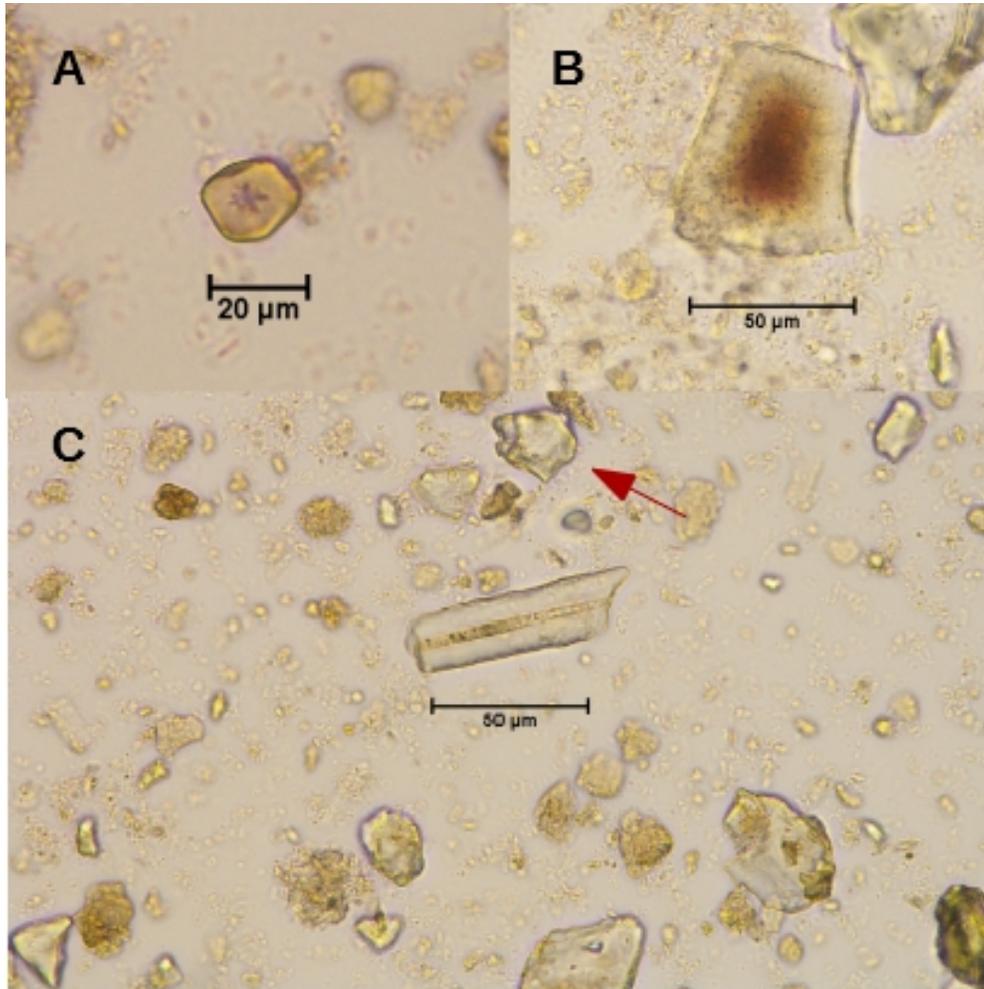


Figura 22: A. Possível amido de *Manihot esculenta* (mandioca); B. Fitólito indeterminado; C. Campo com presença de fitólito e diversos corpos silicosos (seta vermelha) em A2719.

Amostra A2728

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Não identificada

Na amostra A2728 foram encontrados remanescentes espiculares de esponjas, muitas vezes sendo observadas várias espículas em um mesmo campo (Fig. 23A). Também foram recuperadas algumas diatomáceas.

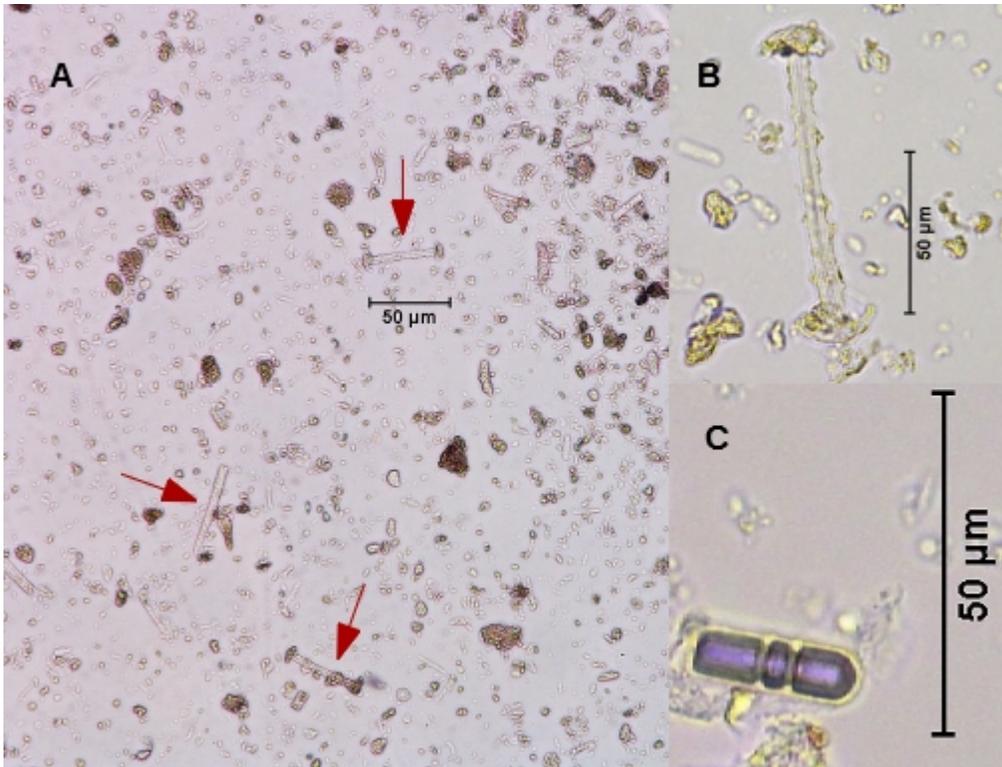


Figura 23: Setas indicando algumas das espículas encontradas em um mesmo campo (aumento de 100X); B. Espícula de esponja; C. Fragmento de diatomácea cêntrica. Todos encontrados em A2728.

Amostra A2730

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Não identificada

Amostra negativa para a análise paleoparasitológica. Foram encontradas diatomáceas e remanescentes espiculares (Fig. 24).

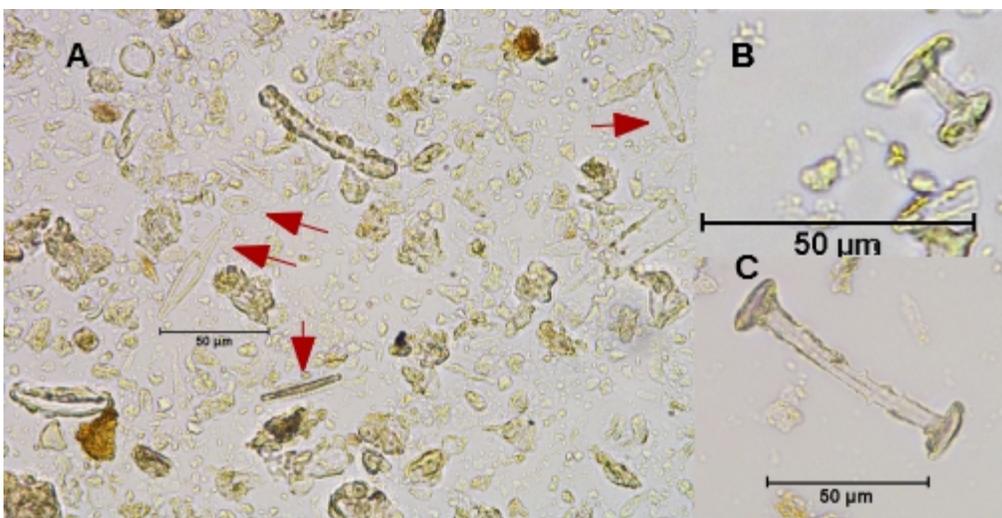


Figura 24: A. Setas indicando diferentes tipos de algas em um campo de observação (aumento de 100x), ilustrando a diversidade de algas presente na amostra A2730. B e C. Diversidade também encontrada para remanescentes espiculares.

Amostra A2737

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Não identificada

Nessa amostra foram encontradas diatomáceas indeterminadas, remanescentes espiculares e esporos de fungos (Fig. 25).

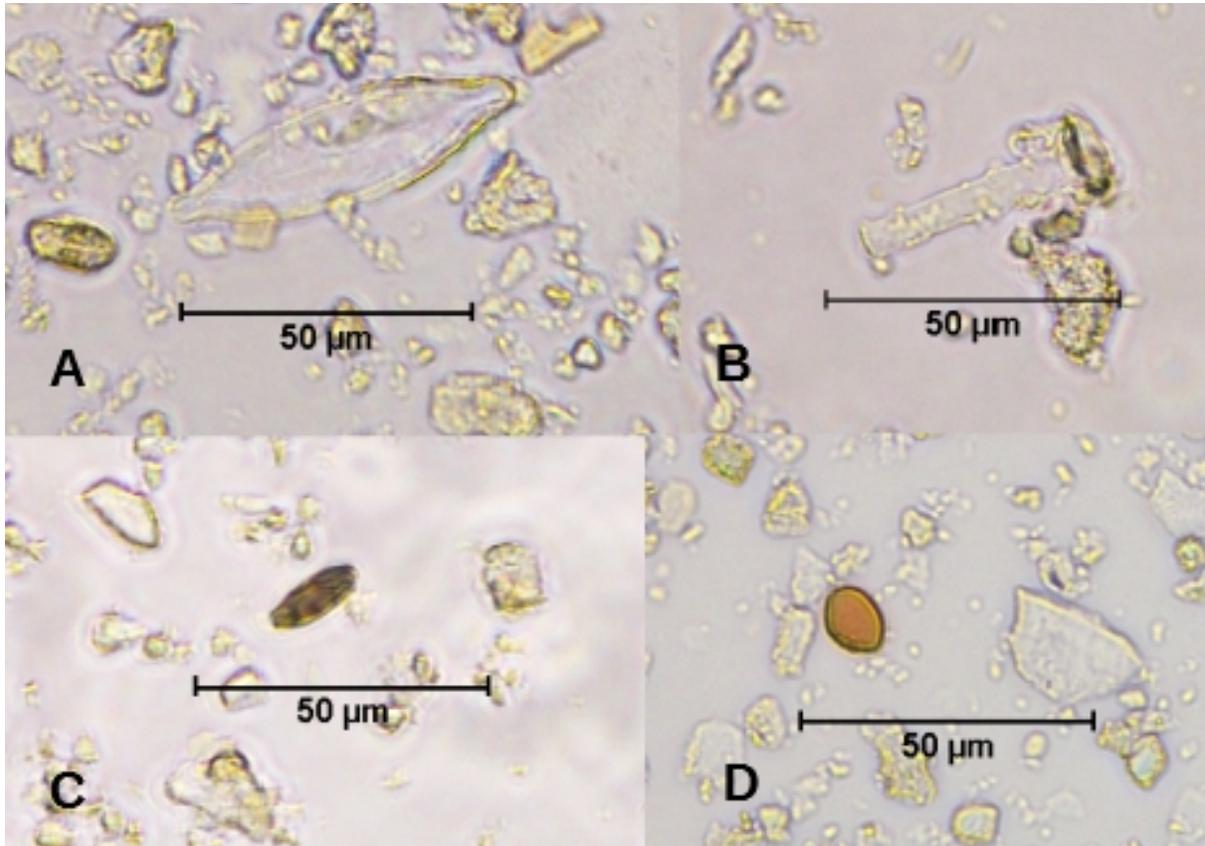


Figura 25: Estruturas com espécies indeterminadas em A2737. A. Diatomácea penada; B. Espícula de esponja; C. Possível estrutura fúngica; D. Esporo de fungo.

Amostra A2740

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Não identificada

Amostra com estruturas microscópicas bastante fragmentadas, não tendo sido recuperados itens biológicos discerníveis (Fig. 26).

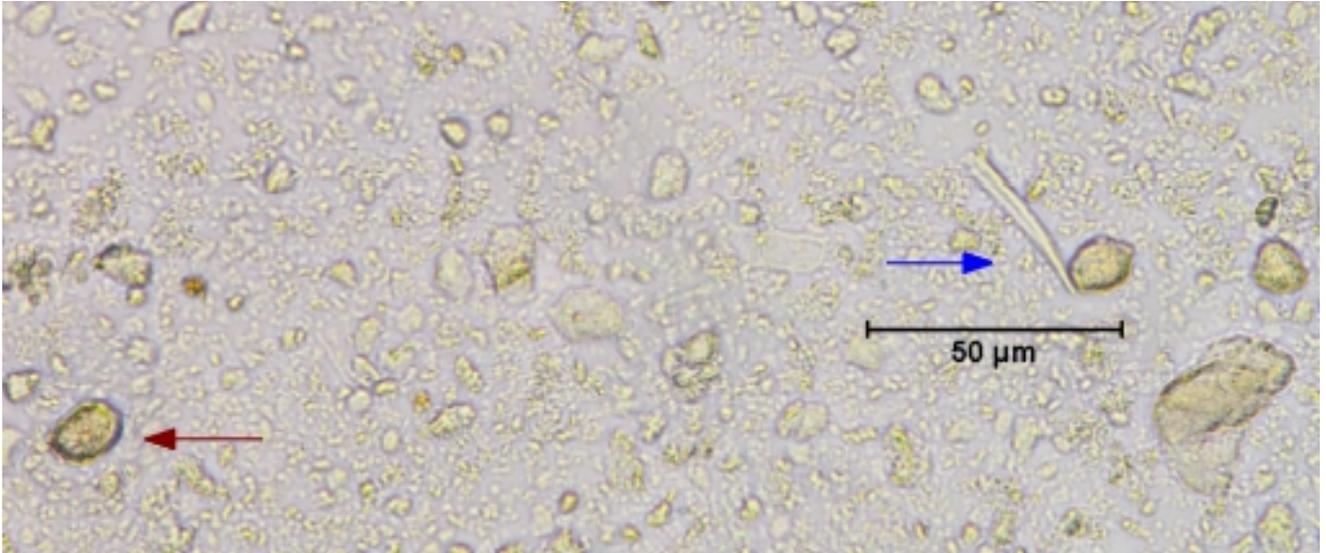


Figura 26: Seta vermelha indicando possível amido; e seta azul indicando possível espícula de esponja, em A2740.

Amostra A2741

Datação LOE: 8.800 ± 1320 anos AP

Origem zoológica: Não identificada

Dentre todos os coprólitos analisados, essa amostra foi a que apresentou o maior número de diatomáceas e de espículas de esponja, além de apresentar grande diversidade desses organismos (Fig. 27).

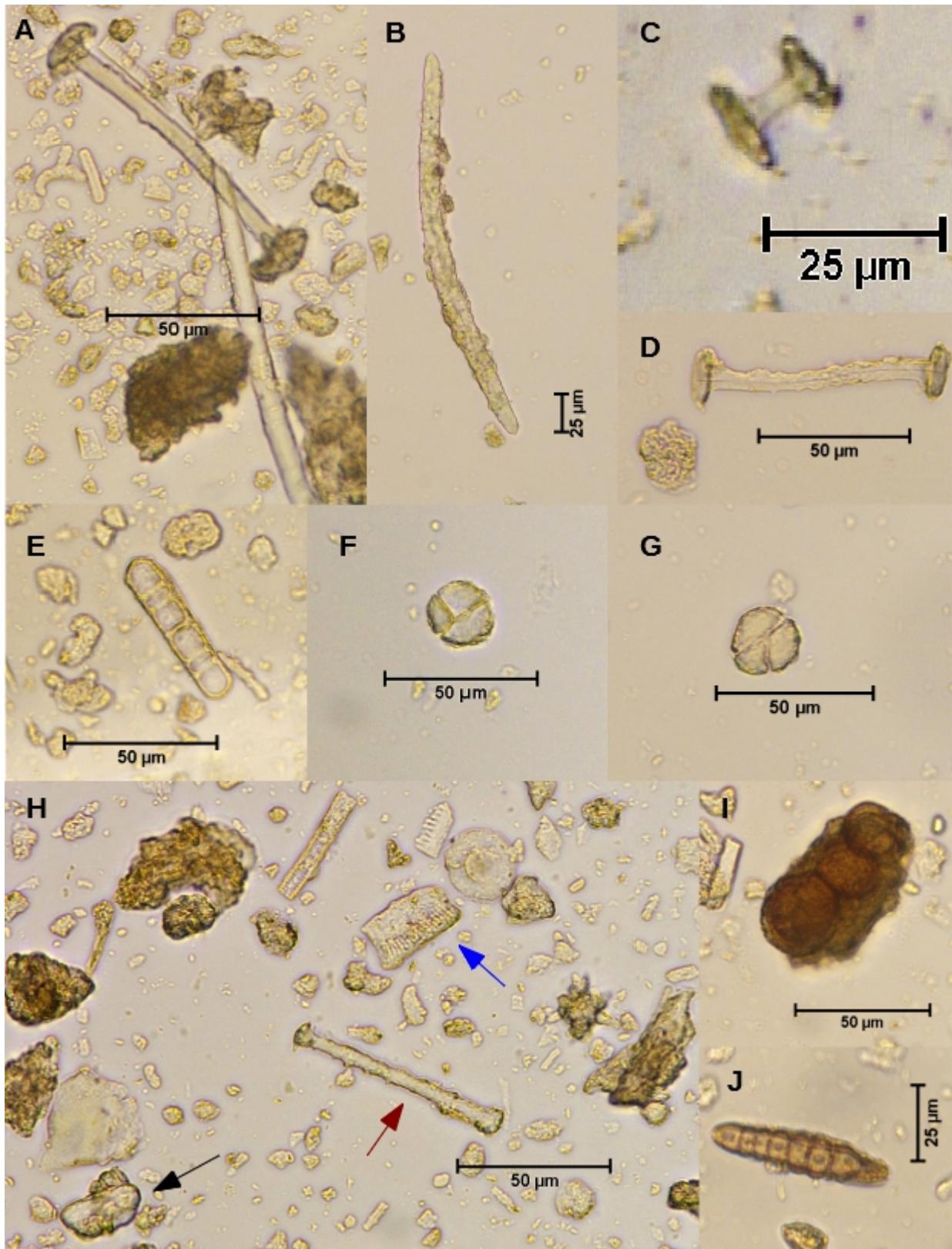


Figura 27: A-D. Exemplos de espículas de esponjas encontradas na amostra A2741; E. Vestígio de cadeia de diatomáceas cêntricas; F e G. Amidos apresentando estruturas modificadas, sugestivas de alteração por ação de fogo; H. Campo ilustrando diversidade de algas (seta azul), de material vegetal (seta preta) e de espículas de esponjas (seta vermelha); I e J. Estruturas fúngicas.

3.2 AMOSTRAS COM RESULTADOS POSITIVOS NA ANÁLISE PALEOPARASITOLÓGICA

Em duas das 24 amostras analisadas foram encontrados parasitos gastrintestinais, correspondendo a 8,33% de amostras positivas na análise paleoparasitológica. Na amostra A2726 foram encontrados 04 ovos de cestódeo. Enquanto que em A2712 foram encontradas uma larva de Nematoda e 260 oocistos de coccídios.

3.2.1. AMOSTRA A2726

Datação LOE: 8.800±1320 anos AP

Origem zoológica: Possível carnívoro

A amostra foi positiva para a análise parasitológica, sendo encontrados 4 ovos de cestódeo, com morfologia sugestiva de *Diphyllobothrium* sp. Três ovos apresentaram medidas que variavam entre 52,3–59,4µm x 38,8–45,6µm (comprimento x largura) e um deles apresentou 225,64µm de comprimento x 142,41µm de largura. Foram também encontradas espículas de esponjas e 3 diferentes tipos de fungo (Fig. 28).

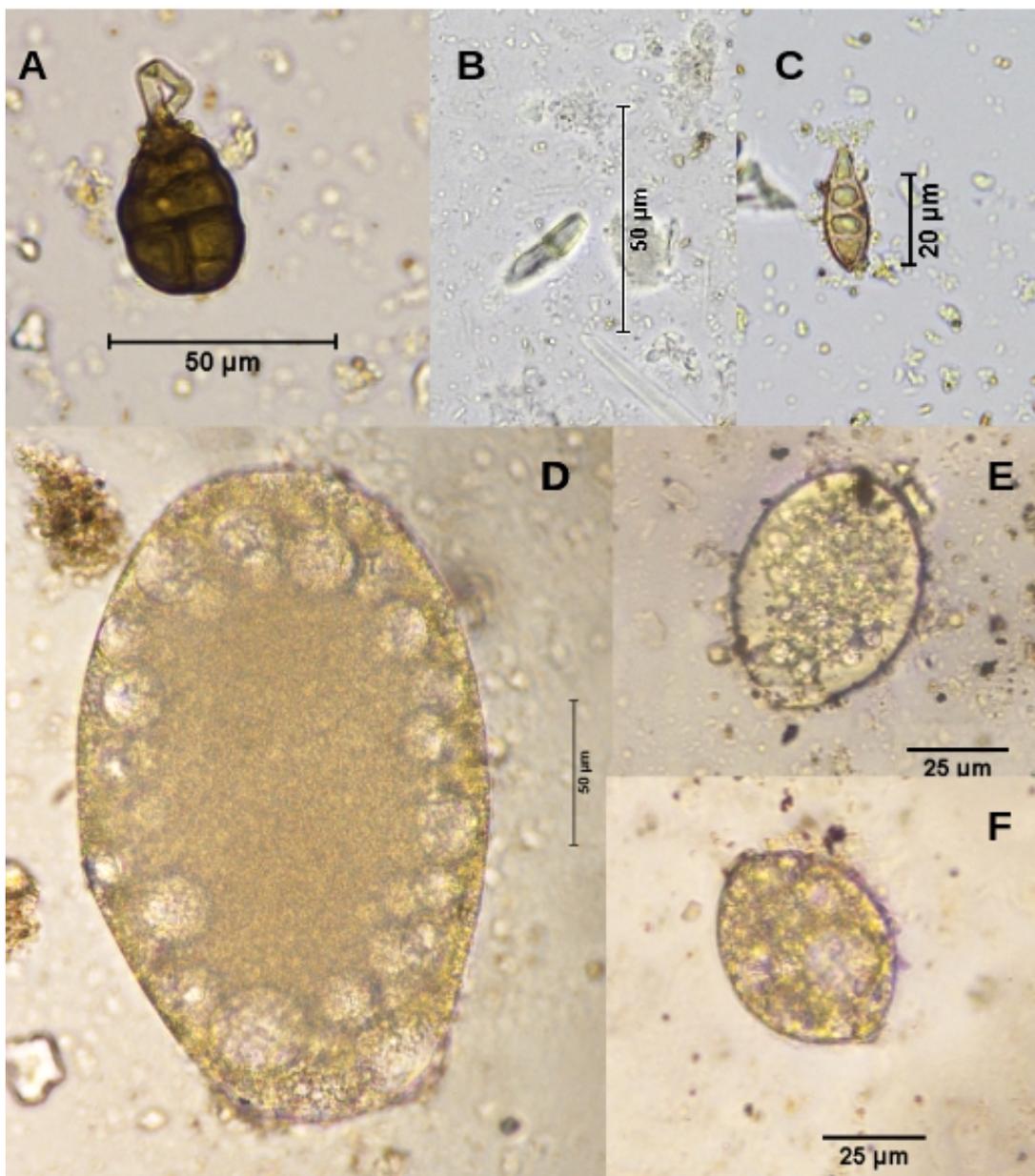


Figura 28: A-C. Estruturas relacionadas a três diferentes tipos de fungos. D-F. Ovos de Cestoda, sugestivos de *Diphyllbothrium* sp., encontrados em A2726.

A morfologia dos ovos encontrados em A2726 assemelham-se àquela descrita na literatura para ovos de *Diphyllbothrium* sp. Os ciclos de vida dos parasitos desse grupo incluem como hospedeiros intermediários organismos de água doce, principalmente peixes e crustáceos, o que seria possível em um ambiente de lagoas, como é o caso do sítio em estudo.

Na América do Sul, *Diphyllbothrium* spp. e *Diphyllbothrium pacificum* foram registrados no Chile e no Peru (Novo e Ferreira, 2016). O primeiro registro de *D. pacificum* em coprólitos foi feito em coprólitos humanos de cerca de quatro mil anos AP, coletados no Chile (Duarte et al., 2006). Essa descoberta corroborou pesquisas que sugeriam *D. pacificum* como causador de difilobotríase humana em populações recentes (Baer, 1969; Baer et al., 1967) já que, até então, imaginava-se que esse parasito ocorresse

especificamente em leões marinhos (*Otaria flavescens*) (Ferreira et al., 1984). Tais achados indicaram que se tratava de uma zoonose encontrada em populações humanas pré-colombianas, e que o hábito alimentar da caça e consumo de carne crua de *O. flavescens*, comum entre andinos atuais, já ocorria nessas antigas populações (Duarte et al., 2006).

No Brasil, esse gênero ainda não foi registrado em coprólitos. As medidas do maior dos ovos encontrados em A2726 são de 225,64 µm x 142,41 µm (comprimento x largura), o que não corresponde a nenhuma espécie atualmente conhecida pertencente ao gênero *Diphyllbothrium*, especialmente o comprimento, que excede os cerca de 120 µm registrados para as maiores espécies descritas até então. Entretanto, em publicação de 1984 relatando os achados de *D. pacificum* em coprólitos humanos no Chile, Ferreira e colaboradores chamaram atenção para o fato de que esse achado já havia sido feito anteriormente em materiais arqueológicos, por Callen e Cameron, em 1960, e por Szidat (1944). Entretanto, em ambos os casos foram apenas citados pelos autores, pelo fato de serem considerados resultados inesperados para hospedeiros humanos e por terem obtido medidas distintas das descritas para esses parasitos.

A utilização de métodos adicionais, na tentativa de concentração de maior número de ovos, pode fornecer mais detalhes sobre os parasitos encontrados na amostra, inclusive com a recuperação de ovos com características morfológicas mais específicas, que permitam mais informações sobre o gênero e possivelmente sobre a espécie do cestódeo. A confirmação do parasito confirmaria também a origem zoológica do material, indicado pelas suas características morfométricas como possível carnívoro (Fig. 29). Além disso, seria o primeiro registro de *Diphyllbothrium* sp. em coprólitos no Brasil e um dos mais antigos para a América do Sul.



Figura 29: Amostra A2726. Coprólito com morfologia sugestiva de animal com dieta carnívora.

3.2.2. AMOSTRA A2712

Datação LOE: 4.600±900 anos AP

Origem zoológica: Possível herbívoro

Foram encontradas diversas estruturas fúngicas (com alguns exemplos demonstrados na Fig. 30) e espículas de esponjas. Em uma análise preliminar feita pelo Laboratório de Paleoparasitologia, ainda na Fiocruz, foi também recuperado um ácaro, publicado por Sianto et al. (2013).

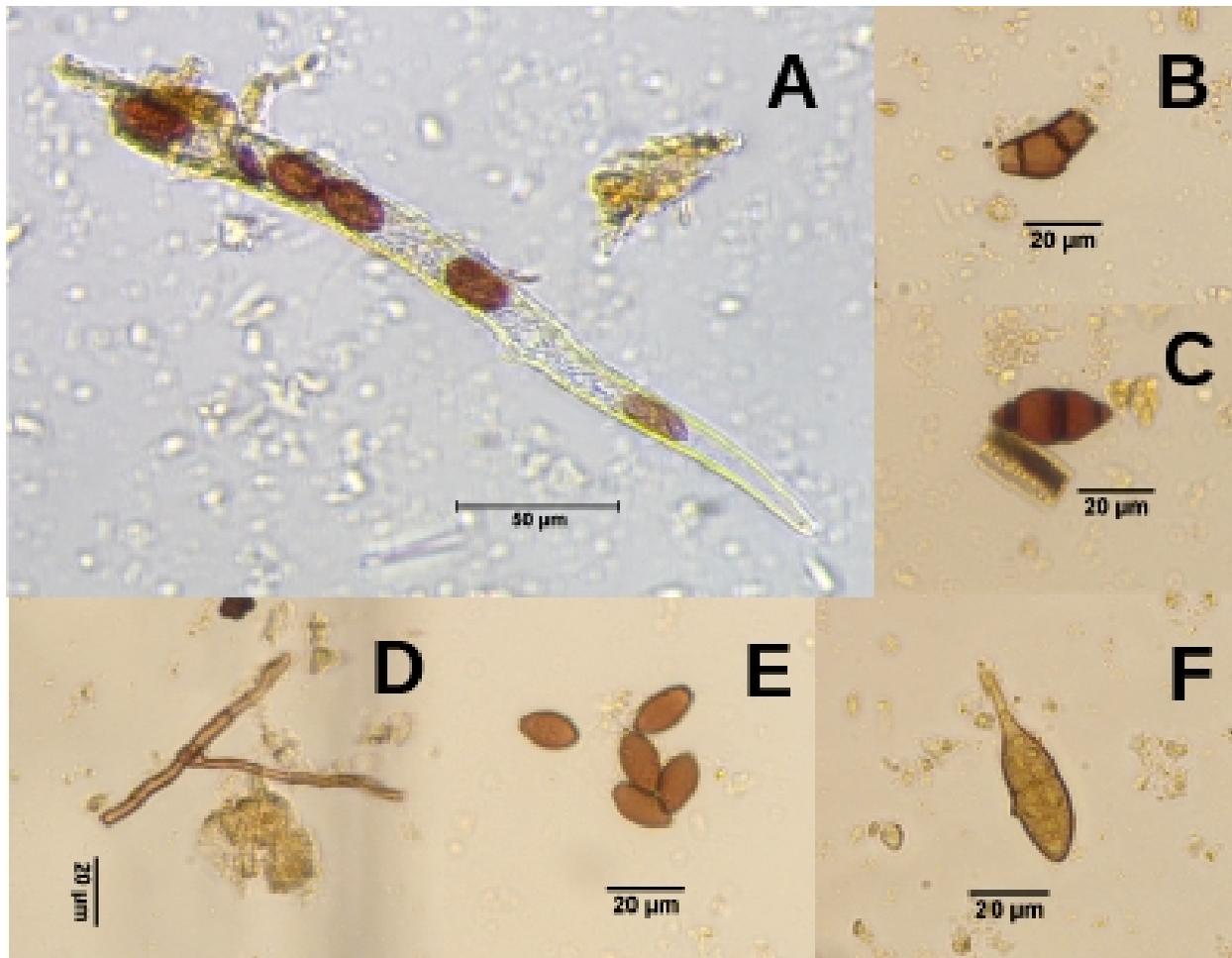


Figura 30: Diversidade de fungos encontrada em A2712, incluindo esporos (A e E), fragmentos de hifas (B e D) e conídios (C e F).

Essa amostra foi também positiva na análise paleoparasitológica, sendo recuperadas uma larva de Nematoda (Fig. 31) e 260 oocistos de *Eimeria* sp., com formato esférico a elíptico, coloração castanho-avermelhada, com medidas variando entre 10,20–22,78 µm x 13,25–23,72 µm (largura x comprimento) e espessura da parede variando entre 0,50–1,90 µm. Alguns desses oocistos estavam esporulados, sendo possível observar parte do seu conteúdo interno.

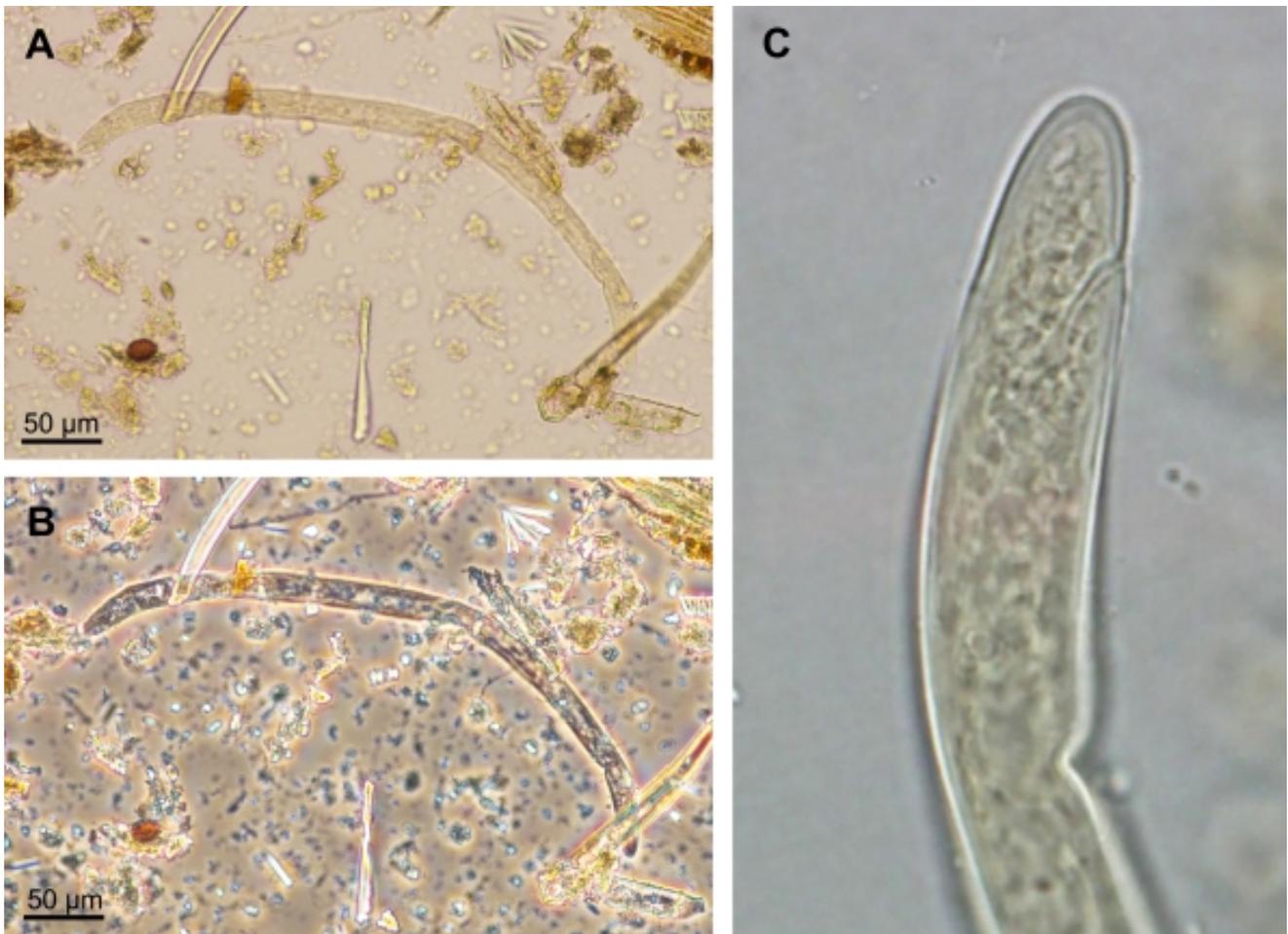


Figura 31: Larva de nematoide observada por meio de microscopia óptica. A: campo claro (200x); B: contraste de fase, evidenciando o conteúdo interno degradado; C: detalhes da extremidade posterior e ânus da larva.

Para confirmar a identificação do nematódeo, é necessário encontrar ovos que tenham preservado características morfológicas específicas, que permitam relacioná-lo a um determinado gênero. Em especial, seria necessário observar ovos embrionados e com camadas externas íntegras e ornamentação característica. Isso nem sempre é possível, já que, para o gênero *Ascaris*, por exemplo, estudos correlacionando intensidade de infecção e fertilidade dos ovos demonstram que em infecções leves quase todos os ovos encontrados são inférteis (Costa-Macêdo, 2005). Outra situação também para *Ascaris* sp. é apontada por Camillo-Coura et al. (2005), nos casos em que o parasitismo ocorre apenas por fêmeas e os ovos encontrados nas fezes são todos inférteis, liberados sem terem sido fecundados.

A preservação de poucas estruturas internas da larva encontrada na amostra também dificulta a sua identificação. De acordo com Fugassa (2010), a diferenciação morfológica entre larvas de espécies parasitas e saprófitas pode ser feita pelo fato dessas últimas geralmente apresentarem cutícula mais fina e corpo com morfologia mais irregular do que as espécies parasitas. Entretanto, Vicente et al. (1997), apenas para mamíferos brasileiros atuais, apresentam uma diversidade registrada de parasitos nematoides de 495 espécies, incluídos em 160 gêneros e 45 famílias. Para material antigo, que pode inclusive

apresentar espécies extintas, esse número pode ser ainda maior, englobando grande diversidade morfológica. Por esse motivo, para identificação da larva, inclusive definindo-a como parasita ou de vida livre, seria necessário encontrar o organismo em outros estágios de desenvolvimento, e com preservação de estruturas específicas, como ovos com medidas e morfometria característicos que permitissem comparação com grupos atuais.

Na amostra A2712 também foram recuperados 260 oocistos de protozoários. Protozoários dificilmente são encontrados em análises de coprólitos, sendo a sua recuperação nesse material ainda considerada excepcional (Frías et al., 2013). É possível que isso ocorra por conta da dificuldade de preservação, em especial para alguns tipos de formas de transmissão, que são mais frágeis e menos resistentes aos fatores tafonômicos a que são submetidos. Além disso, há também a dificuldade de detecção desses organismos por meio de técnicas comuns de microscopia óptica, o que pode levar a uma subestimativa de prevalência de protozoários em populações animais no passado (Ferreira e Araújo, 2005; Frías et al., 2013).

Para protozoários intestinais, mesmo em material atual, as análises por microscopia óptica são consideradas, muitas vezes, insuficientes, apesar de serem geralmente o método mais utilizado em laboratórios. Outras técnicas específicas são requeridas para maior exatidão, como perfil isoenzimático, técnicas moleculares, como PCR, e imunológicas (Silva, 2005). No presente estudo foi utilizada apenas microscopia óptica, sendo encontrado um oocisto de um Eimeriidae, com características morfológicas semelhantes às encontradas em *Eimeria*, um gênero que engloba espécies causadoras de coccidioses em vários grupos de hospedeiros, incluindo mamíferos (Berenguer, 2006) e apresenta pelo menos 1200 espécies conhecidas atualmente (Chapman et al., 2013).

Os oocistos recuperados em A2712 apresentam variações em sua morfologia, ilustradas pela Figura 32.

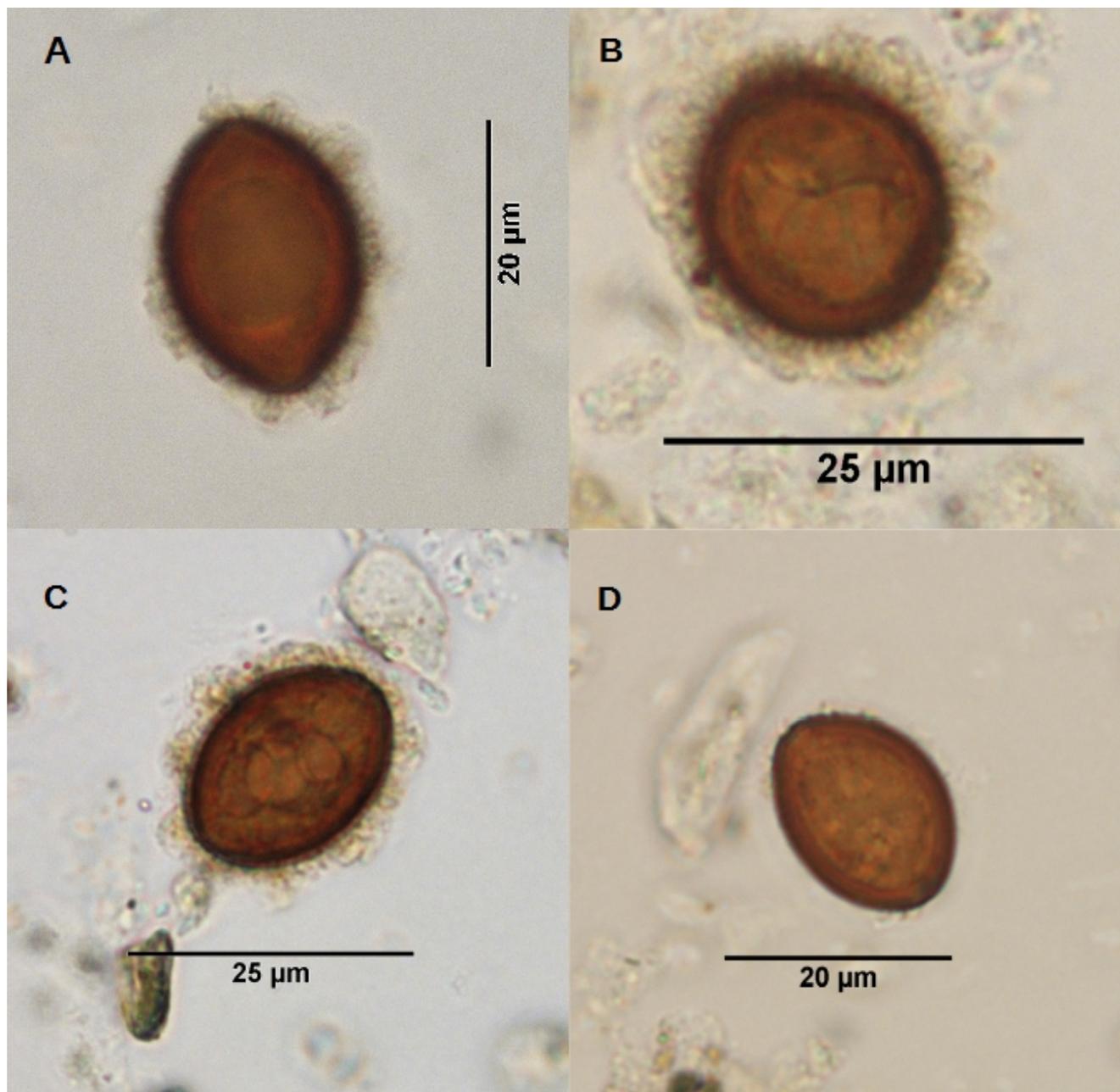


Figura 32: Variações morfológicas dos oocistos de *Eimeira* sp. A. Formato elíptico e extensões filamentosas da parede externa evidentes; B. Formato esférico; C. Extensões filamentosas evidentes; D. Extensões da parede bastante encurtadas, quase imperceptíveis.

Alguns apresentam micrópila bastante visível, enquanto em outros essa estrutura não foi visualizada no aumento de 1000x. No caso das extensões filamentosas que ocorrem por toda a extensão da parede externa, em alguns indivíduos elas são bastante evidentes, enquanto em outros elas são menos pronunciadas, formadas por menor quantidade de filamentos, e mais curtos. Entretanto, independente de mais curtos ou mais longos, em todos os oocistos visualizados ocorrem tais estruturas. Em eimerídeos atuais, extensões desse tipo são encontradas apenas na espécie *Eimeria spinosa* Henry, 1931. Entretanto, os coccídios recuperados em A2712 apresentam morfologia distinta de *E. spinosa* (Fig. 33).

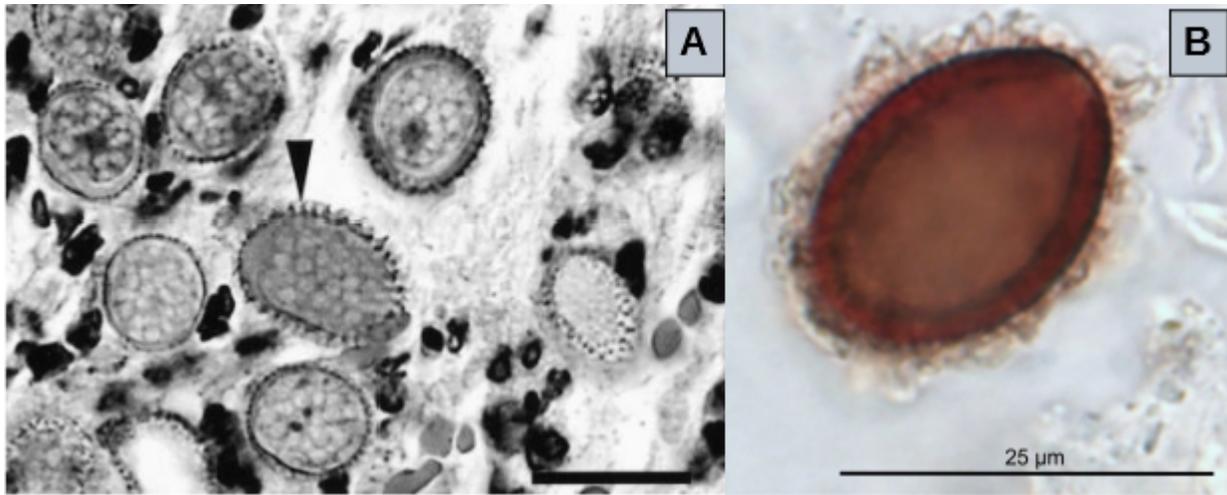


Figura 33: A. Oocistos esporulados e não-esporulados de *Eimeria spinosa*. Barra de escala = 20 µm. Imagem retirada de Yaeger et al. (2003); B. Oocisto não-esporulado encontrado em A2712, apresentando micrúpila, extensões filamentosas na parede e parede espessa.

A variabilidade morfológica encontrada nas espécies desse gênero foi discutida por Hurková et al. (2000), descrevendo a variabilidade de formatos de oocistos de *Eimeria motelo* encontrada em *Geochelone denticulata*, e por Dauschies et al. (1999), que discutem a dificuldade de identificação e separação de diferentes espécies de *Eimeria* sp. em casos de infecção em um mesmo organismo hospedeiro.

Para testar se a separação em diferentes grupos de coccídios se justificaria para A2712, foi aplicada uma análise utilizando o *software* Gephi v.0.9.1 (Fig. 34), para verificar a formação de *clusters*. Para tal, foi escrito um programa utilizando a linguagem de programação Perl, que utilizou como dados de entrada as medidas de comprimento e largura obtidas de 10% dos oocistos ($n = 26$) recuperados na amostra. Essas medidas foram então relacionadas a três variáveis: formato aparente do oocisto (0 = esférico; 1 = elíptico), característica da micrúpila (0 = aparente; 1 = não visualizada) e dos filamentos (0 = curtos/quase imperceptíveis, 1 = bastante aparentes).

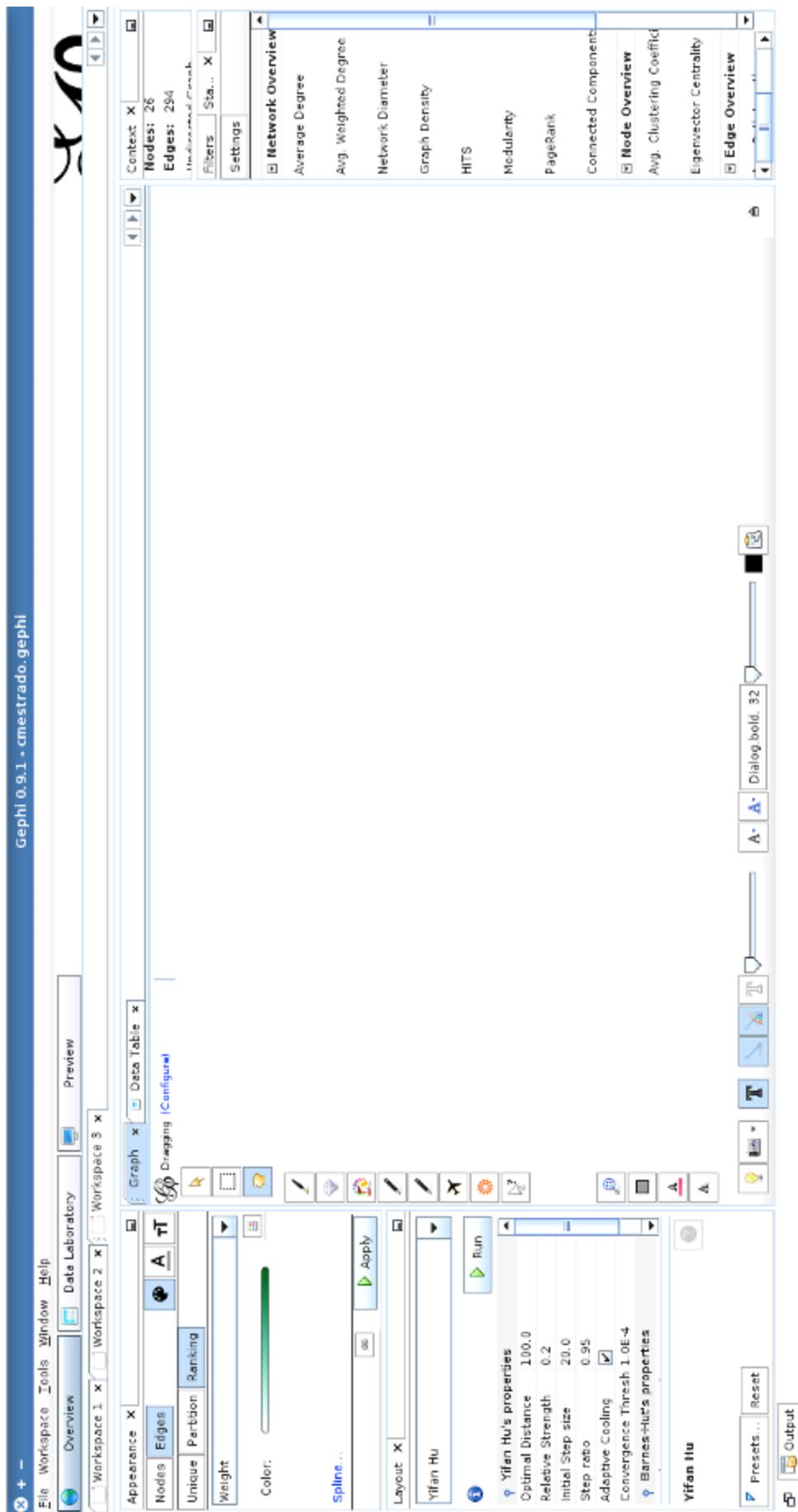


Figura 34: Visão geral do Programa Gephi v. 0.9.1.

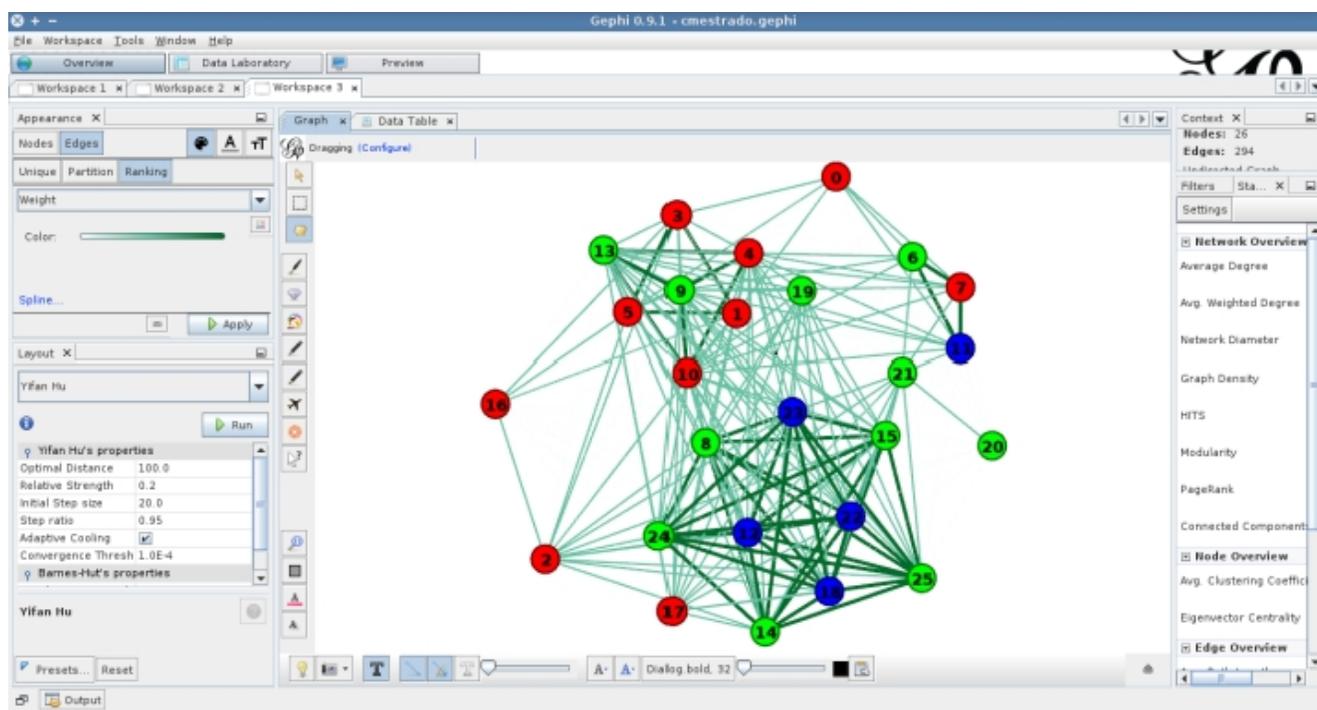


Figura 35: Resultado obtido na análise por semelhança dos oocistos, utilizando o Programa Gephi.

As Figuras 35 e 37 representam o grafo obtido. Os nodos da representação foram formados utilizando as medidas de comprimento e largura dos coccídios. A divisão das larguras pelos comprimentos obteve um valor mínimo de 1,01 e valor máximo de 1,58. Mais próximos ao valor mínimo ficaram os oocistos esféricos. Os elípticos ficaram mais próximos ao valor máximo, enquanto os formatos subesféricos apresentavam valores intermediários. Dessa forma, os oocistos foram divididos pelo programa em três diferentes tipos: esférico (representados pelos nodos vermelhos), elíptico (nodos azuis) e subesférico (nodos verdes) (Figura 36). Ou seja, a divisão da largura pelo comprimento caracterizou os oocistos quanto ao formato, formando os nodos da representação.

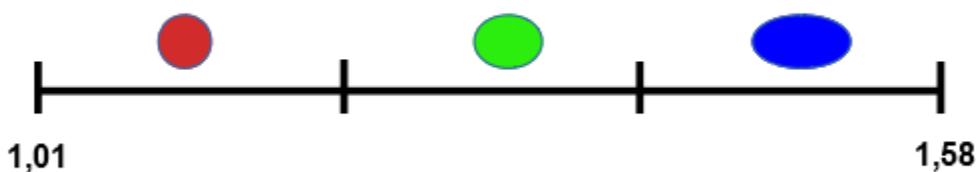


Figura 36: Esquema representando a formação dos nodos pelo Programa. Mais próximo ao valor mínimo ficaram os oocistos esféricos (vermelhos); os elípticos ficaram mais próximos ao valor máximo, formando os nodos azuis; os de valor intermediário (subesféricos) foram representados pelos nodos verdes.

A comparação entre os diferentes formatos (esférico, subesférico e elíptico) e as demais características morfológicas obteve como resultado a separação em dois diferentes grupos (coloração verde mais escuro na Fig. 37). No grupo 1 ficaram abrigados quase todos os oocistos com formato elíptico e fortemente ligados a cinco dos 11 subesféricos. O grupo 2 abrigou metade dos esféricos ($n=5$) e apenas dois dos subesféricos. As outras correlações não caracterizam a formação de grupos porque se mostraram correlações fracas (em verde mais claro, na Fig. 37), com poucas ligações.

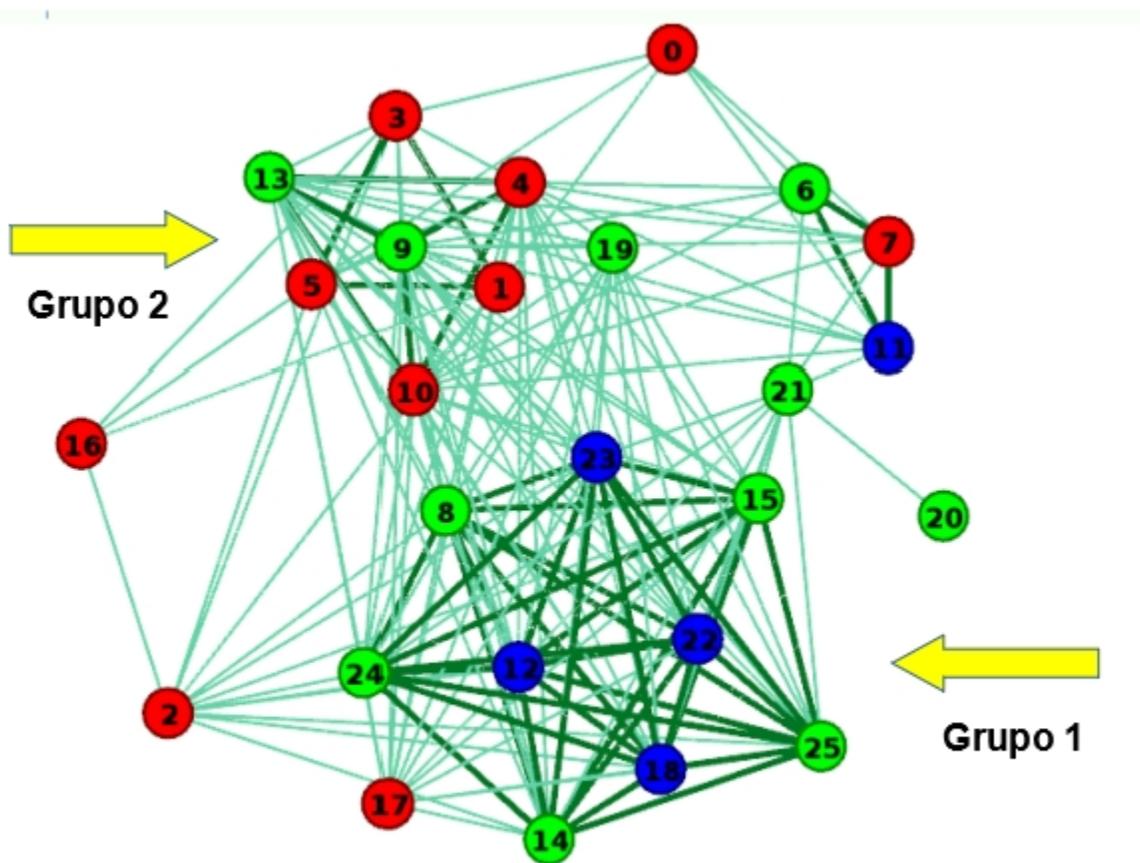


Figura 37: Grafo gerado pelo Programa Gephi v. 0.9.1, utilizando as medidas de largura e comprimento (nodos) e micrópila aparente, formato e tipos de filamentos (arestas).

Para amostras de fezes recentes, outras variáveis são observadas e podem ser adicionadas, tais como informações sobre esporulação, coloração, espessura e ornamentações da parede, tornando esse tipo de análise bastante informativa para separação de grupos. Para material recuperado de coprólitos, a análise por grafos torna-se mais limitada por não permitir a inclusão de maior número de variáveis, já que as características supracitadas podem ser modificadas por fatores tafonômicos diversos e pela preparação anterior de reidratação para a análise paleoparasitológica. Por exemplo, não é recomendável utilizar o parâmetro de coloração da parede, já que para observação de

algumas lâminas é adicionado lugol como corante na preparação. Ainda assim, a análise utilizada se mostrou bastante útil, já que evidenciou variações morfológicas encontradas nos oocistos. Por exemplo, na tabela com os dados de entrada, onde já havia a variável “formato”, haviam sido consideradas apenas duas possibilidades, esférico e elíptico. O terceiro tipo, subesférico, não havia sido considerado, mas foi reconhecido e evidenciado pelo Programa.

Os oocistos de *Eimeria* sp. encontrados na amostra A2712 podem corresponder a coccídios distintos, caracterizando um quadro de coinfeção, o que não é incomum em populações animais atuais (Dauguschies et al., 1999) ou serem uma mesma espécie, apenas apresentando variações morfológicas, ainda que no mesmo indivíduo hospedeiro. Já que todos os oocistos apresentam as extensões filamentosas, que são uma característica marcante e incomum em espécies atuais, a distinção de grupos demonstrada na análise de grafos pode indicar uma mesma espécie, mas com dois diferentes morfotipos. Não há descrição de espécie de Eimeriidae que corresponda aos oocistos encontrados na amostra. Sendo assim, pode se tratar de uma espécie atualmente existente, mas ainda não descrita ou uma espécie extinta.

3.3. DEMAIS ITENS BIOLÓGICOS RECUPERADOS E SEUS RESPECTIVOS SIGNIFICADOS ECOLÓGICOS

3.3.1. ESPONGOFAUNA

O encontro de espículas de esponjas (Porifera) em 14 das 24 amostras indica a utilização do corpo d'água pelos animais da região. Volkmer-Ribeiro e Batista (2007) discutem algumas situações em que espículas de esponjas, que costumam ficar aderidas ao fundo dos lagos, podem acabar em suspensão. Nesses casos, os animais poderiam tê-las ingerido acidentalmente ao utilizarem a água. Já a obtenção por meio da alimentação pode ocorrer porque algumas espécies de esponjas costumam ser encontradas aderidas à macrófitas (Machado et al., 2016), podendo ser ingeridas pelos organismos ao se alimentarem dos vegetais encontrados no lago.

Algumas espécies de esponjas de água doce também podem estar envolvidas em relações saúde-doença. Em humanos, atualmente há registros de espécies que possivelmente apresentam relação com processos patológicos, como lesões oculares e

dermatites, quando há contato com espículas de esponjas em suspensão, por meio de utilização de água de rios e lagos para consumo ou banho (Volkmer-Ribeiro e Batista, 2007).

Futuras análises dos conjuntos espiculares, se demonstrarem possibilidade de definição de espécies para algumas das esponjas, podem, em adição a outras análises paleolimnológicas, ajudar a traçar um perfil do lago, indicando características como grau de energia do ambiente, oxigenação, temperatura e pH. Além de indicar alterações no paleoambiente ao longo do tempo.

3.3.2. NECROBIOMA (FUNGOS E ÁCAROS)

Os excrementos são uma fonte rica de nutrientes, podendo ser bastante atrativos para a ação de bactérias, fungos e insetos e outros artrópodes, que se alimentam dos vestígios encontrados nas fezes, degradando a matéria orgânica (Putman, 1983). Esse conjunto de organismos coprófagos é conhecido como necrobioma, e interage com o material podendo levar à perda de evidências (Morrow et al., 2016) utilizadas em estudos paleoparasitológicos, tais como ovos, larvas e inclusive material genético dos parasitos encontrados nas amostras.

O achado de ovos e estágios evolutivos de ácaros em coprólitos não é incomum (Morrow et al., 2016). Eles podem fazer parte de vestígios alimentares, parasitando as presas consumidas pelo produtor do coprólito; serem organismos de vida livre, que aproveitam a matéria orgânica em decomposição ou serem eles mesmos parasitos (Guerra et al., 2003).

Como os fungos presentes nas amostras não apresentavam estruturas reprodutivas, não foi possível identificar as espécies encontradas. Entretanto, eles podem representar um fator tafonômico importante, já que a presença desses organismos costuma afetar a preservação de evidências de parasitos (Leles et al., 2010). Em trabalho experimental, Lỳsek (1978) registrou a ação de *Verticillium chlamydosporium* sobre ovos de *Ascaris lumbricoides*, demonstrando que as hifas desse fungo podem perfurar a casca dos ovos, formar uma rede de micélios em seu interior e destruir os embriões.

A ação de fungos, ácaros e outros microrganismos registrados e não registrados na observação dos coprólitos pode ter degradado parte da matéria orgânica originalmente encontrada no material. As larvas, os ovos de helmintos, os cistos e oocistos de protozoários que possivelmente estavam presentes nas fezes durante a sua deposição podem ter sido

degradados pelo necrobioma que estava presente no sedimento, que foi incorporado ao material fecal e recuperado parcialmente nas análises paleoparasitológicas.

No caso da amostra A2712, foram encontrados ácaros e fragmentos de artrópodes, além de diversas estruturas fúngicas, indicando a presença desse necrobioma quando as fezes foram depositadas no ambiente pelo organismo produtor. Entretanto, ela foi associada à camada de sedimentos datados em 4.600 ± 900 anos AP do sítio, sendo a amostra mais recente dentre todas as outras coletadas. Considerando a antiguidade da amostra em questão, é possível que, além de ser mais recente e por isso ter ficado menos tempo sob influência de fatores tafonômicos (em comparação às amostras mais antigas, como A2654, A2667, A2679 e A2678, por exemplo), ela estivesse inserida em um contexto ambiental já de menor umidade, com a região do sítio transitando de um ambiente úmido para semi-árido, com diminuição da umidade local. Dessa forma, os remanescentes da dieta do animal produtor e toda a matéria biológica presente nas fezes poderiam se manter por mais tempo, com menor ação de degradação, permitindo a preservação de algumas das estruturas parasitárias originalmente presentes nas fezes, incluindo algumas mais frágeis, como larvas, e principalmente as mais resistentes, como oocistos de protozoários. Uma possibilidade é que o indivíduo produtor das fezes estivesse com elevada carga parasitária, liberando grande quantidade de parasitos intestinais com o material fecal. Isso é observado em populações animais atuais, em que os indivíduos jovens podem liberar centenas a milhares de oocistos por grama de fezes (Almeida et al., 2011; Lucas et al., 2014). Nesses casos, mesmo com a ação do necrobioma, a preservação, ainda que de apenas uma pequena porcentagem dos oocistos de *Eimeria* sp. existentes originalmente, já forneceria um número suficiente de oocistos a serem recuperados nas análises paleoparasitológicas.

3.4. CONSIDERAÇÕES TAFONÔMICAS

Condições favoráveis de temperatura e umidade e presença de estruturas de proteção e resistência do organismo ao ambiente diminuem as chances de haver degradação e aumentam a possibilidade de manter parte da sua morfologia e características específicas para identificação. Por conta desses requisitos, o estudo de sedimentos em lagoas tem se mostrado um desafio quanto à recuperação de estruturas de parasitos (Sianto et al., 2013).

Morrow et al. (2016) chamam atenção para os grupos de fatores tafonômicos envolvidos na preservação diferencial dos ovos de parasitos e afirmam que estes são um elemento-chave a ser considerado nas análises paleoparasitológicas. De acordo com os autores, é indispensável considerá-los ao interpretar os dados obtidos nesse tipo de estudo, evitando assim representações incorretas de padrões epidemiológicos de populações no passado.

Um desses grupos é o de fatores abióticos, que inclui características ambientais, tais como temperatura, umidade e condições do solo. Ovos de parasitos costumam preservar melhor em ambientes áridos, com temperaturas elevadas ou muito baixas, o que induz a um processo de mumificação espontânea (Morrow et al., 2016). Esse ponto é um desafio importante em ambientes de lagoas e corpos d'água em geral, como no caso do sítio Uri de Cima, em que a própria ação da água pode degradar as fezes frescas, além de propiciar o desenvolvimento de diversos microrganismos que degradam a matéria orgânica presente no material fecal.

Os fatores antropogênicos envolvem as modificações causadas a partir da deposição do material, passando pelo encontro, coleta, transporte, processamento e armazenamento (Morrow et al., 2016). A utilização do ácido clorídrico para preparação da amostra, ainda que limitado ao tempo necessário para sua desagregação, e utilizando água destilada para cessar a reação, pode acabar por destruir algumas estruturas mais sensíveis, levando a um resultado de falso negativo ou subestimando a abundância e a diversidade de parasitos na amostra.

Por fim, os fatores ecológicos incluem a interação dos parasitos com o necrobioma – a comunidade de organismos decompositores e escavadores encontrados no ambiente (Morrow et al., 2016). Em algumas amostras foram encontrados fungos e ácaros que podem ter modificado ou degradado parte da matéria orgânica originalmente presente nas fezes.

Nem todos os coprólitos tiveram a sua origem zoológica determinada, isso porque não apresentavam morfologia característica que permitisse identificação. É o caso da amostra A2712, que se mostrou bastante fragmentada. Não identificar o produtor do material dificulta a análise paleoparasitológica, por não permitir relacionar as estruturas parasitárias encontradas aos seus hospedeiros conhecidos, o que ajudaria na identificação dos parasitos. Para tanques fossilíferos, Paula-Couto (1980) discutiu o porquê do acentuado grau de

fragmentação dos fósseis encontrados em seu interior, sendo, em geral, raro encontrar peças esqueléticas inteiras ou articuladas. O motivo dessa fragmentação seriam fatores tafonômicos relacionados à ação de carniceiros e à dinâmica hidráulica envolvida no processo de transporte e de deposição no corpo d'água. Os tanques deviam servir de bebedouros naturais para a fauna da região, e os restos mortais podem ter chegado ao seu interior quando os animais caíam acidentalmente, na tentativa de ter acesso à água, ou pós-morte, quando chuvas torrenciais acabavam por transportar os ossos para o fundo das depressões, junto com material sedimentar, causando desarticulação e fragmentação (Paula-Couto, 1980; Ximenes, 2009). Acontecimentos análogos poderiam ocorrer em corpos d'água, incluindo lagoas, e envolvendo outros materiais, como fezes depositadas nas suas margens ou no entorno. Esse material fecal, ao ser transportado para dentro da lagoa, poderia desagregar, perdendo partes da sua massa e de estruturas características, o que pode ter ocorrido com as amostras que não apresentaram morfologia característica que permitissem identificação zoológica.

3.5. FAUNA EXTINTA E MUDANÇAS DE HOSPEDEIROS E RESERVATÓRIOS

A Lagoa Uri de Cima é considerada um depósito importante do Quaternário da região de Pernambuco (Faure e Guérin, 2013), por apresentar vestígios fósseis da paleofauna da região (Tabela 2).

Tabela 2. Fósseis recuperados da mastofauna extinta do sítio Lagoa Uri de Cima, município de Salgueiro, Pernambuco, Brasil.

ORDEM/SUPERORDEM	ESPÉCIE
Artiodactila	<i>Paleolama niedae</i> Guérin e Faure, 1999
Liptoterna	<i>Macrauchenia patachonica</i> Owen, 1840 (<i>Xenorhinotherium bahiense</i> Cartelle e Lessa, 1988)
Notoungulata	<i>Toxodon platensis</i> Owen, 1840
Perissodactila	<i>Hippidion bonaerensis</i> Ameghino, 1907
Proboscidea	<i>Haplomastodon waringi</i> Holland, 1920
Xenarthra	<i>Eremotherium rusconi</i> Schaub, 1935 <i>Pampatherium humboldti</i> Lund, 1839 <i>Glyptodon</i> sp. Owen, 1839

Fonte: Tabela desenvolvida com base no trabalho de Faure e Guérin (2013).

Nas prospecções no sítio foram recuperados 750 vestígios fósseis identificáveis, tais como osteodermos, fragmentos de ossos e dentes de representantes da paleofauna da região, incluindo espécies de mamíferos atualmente extintos pertencentes às famílias Megatheriidae, Pampatheriidae, Glyptodontidae, Toxodontidae, Gompotheriidae, Macraucheniidae, Camelidae e Equidae (Faure e Guérin, 2013).

Analisando essa paleomastofauna recuperada no sítio, Faure e Guérin (2013) afirmam que o paleoambiente em que estava inserida a lagoa deveria apresentar umidade bem mais elevada. Atualmente, a paisagem da região é característica do semi-árido, com vegetação xérica predominantemente formada por bromeliáceas, mimosáceas e cactáceas

(Sianto et al., 2013). Entretanto, a assembleia fóssil recuperada no sítio indica que durante o Pleistoceno e no início do Holoceno as condições climáticas na região eram bem mais úmidas, com uma composição vegetal mais diversificada, semelhante a uma savana tropical, com uma paisagem de campos e cerrados (Ximenes, 2009), capaz de manter os grandes herbívoros que foram registrados (Faure e Guérin, 2013).

Uma outra discussão, portanto, estaria relacionada ao que teria acontecido às parasitoses que circulavam nessa fauna extinta da região, já que o declínio populacional e posterior extinção das populações e espécies animais levou à perda de hospedeiros intermediários e definitivos, além de reservatórios para esses parasitos.

Discutindo padrões de co-filogenia entre mamíferos e seus parasitos, Hugot (1999) sugere especificidade extrema de hospedeiros para Oxiuriidae, o que seria facilitado ao envolver aqueles que apresentam ciclos de vida diretos, sem a necessidade de hospedeiros intermediários ou passagem pelo ambiente externo (solo, água) para completar seu desenvolvimento.

Apesar de os coprólitos analisados no presente estudo serem do Pleistoceno Final e do Holoceno, e as amostras positivas na análise paleoparasitológica apresentarem datação de aproximadamente 8.800 ± 1320 anos AP (A2726) e 4.600 ± 900 anos AP (A2712), vale lembrar que em trabalho do ano de 1999, Faure et al. apresentaram uma datação entre 8.490 ± 120 e 6.890 ± 60 anos AP (^{14}C) para matéria orgânica associada à fósseis de animais dos gêneros *Propraopus*, *Hoplophorus*, *Glyptodon*, *Equus* e *Palaeolama* na América do Sul, indicando a sobrevivência de gêneros da megafauna até o Holoceno Médio.

Ao analisar oocistos de *Eimeria macusaniensis* em coprólitos de Camelidae na região da Patagônia (Argentina), Fugassa et al. (2008) observaram variação no tamanho desses coccídios ao longo do tempo. Eles observaram uma tendência na redução dos comprimentos até 3.000 anos AP, e aumento na largura até 5.000 anos AP. Como *E. macusaniensis* é um coccídio que parasita especificamente camelídeos, os autores sugeriram que essa variação de tamanho tenha ocorrido por conta da substituição de hospedeiros na região da Patagônia, já que a transição Pleistoceno-Holoceno é marcada por mudanças climáticas que modificaram a composição faunística da região. Essa mudança teria então selecionado linhagens com menores dimensões e medidas. Uma outra possibilidade levantada é que esses oocistos de maiores larguras fossem, na verdade,

coccídios anteriormente comuns nos camelídeos, e que foram sendo extintos durante a transição Pleistoceno-Holoceno, sendo sucedidos por *E. macusaniensis* (Fugassa et al., 2008).

As mudanças climáticas do Pleistoceno-Holoceno, afetaram as populações dos grandes herbívoros provocando uma redução nas suas populações (Cione et al., 2015). A perda de diversidade genética em populações reduzidas diminui a sua habilidade para responder à mudanças ambientais, aumentando o risco de extinção (Frankham et al., 2008). Em trabalho experimental com *Drosophila melanogaster*, Spielman et al. (2004) demonstraram que a perda de diversidade genética pode acarretar em diminuição de resistência mesmo a patógenos que já circulavam anteriormente na população.

As difilobotríases podem ser assintomáticas ou causar quadros de dores abdominais e diarreias, que são acentuados em caso de coinfeção com outros helmintos ou com protozoários intestinais (Aquino e Takeda, 2014). Eimerioses podem causar mortalidade, especialmente em animais jovens, ou morbidade, com retardo do crescimento e perda de peso (Aumont et al., 1984). A ação de parasitos em hospedeiros já debilitados poderia acentuar a fragilidade dessas populações, diminuindo a capacidade dos indivíduos de forragear, de absorver nutrientes dos alimentos ingeridos ou de evitar predação, por exemplo, contribuindo para a aceleração dos processos de extinção.

Quanto às espécies que parasitavam essas populações, ao terem o número de hospedeiros reduzidos e, por fim, extintos, algumas podem ter se extinguido também, naqueles casos em que havia relações bastante específicas entre os organismos. Para aquelas que apresentavam uma maior flexibilidade no ambiente em que podiam habitar, a busca por novos habitats pode ter ocasionado substituição de hospedeiros, ainda que havendo a seleção de apenas algumas linhagens específicas do parasito.

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Apesar do necrobioma (fungos e ácaros) encontrado nas amostras e dos demais fatores tafonômicos que provocam a degradação de matéria orgânica em material fecal depositado em corpos d'água, duas das amostras apresentadas neste trabalho foram positivas para parasitos intestinais. Na amostra A2726, foram encontrados quatro ovos de Cestoda. Na amostra A2712 foram encontrados uma larva de Nematoda e cerca de 260

oocistos de Eimeriidae. Esses resultados indicam que as populações animais do Pleistoceno e Holoceno do sítio Lagoa Uri de Cima eram acometidas por parasitoses. Em casos de populações animais afetadas pelo efeito das mudanças climáticas ocorridas durante o Pleistoceno-Holoceno, que levaram a declínios populacionais, o efeito dessas parasitoses pode ter sido agravado, causando processos infecciosos que influenciaram a habilidade do hospedeiro de responder às pressões do ambiente.

A continuação da análise das amostras, com o aumento do número de observações de lâminas para cada uma, pode fornecer ainda mais informações sobre itens biológicos preservados nos coprólitos. A identificação e a análise de outras estruturas encontradas, além dos parasitos, tais como pólen, remanescentes espiculares, fitólitos e amidos, podem indicar algumas das características do ambiente em que esses animais se encontravam, permitindo inferências paleoambientais e de modificações do ambiente ao longo do tempo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, V. DOS A.; MAGALHÃES, V. C. S.; NETA, E. S. M; MUNHOZ, A. D. 2011. **Frequency of species of the Genus Eimeria in naturally infected cattle in Southern Bahia, Northeast Brazil.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 20, n. 1, p. 78–81.
- AQUINO, Á. R. D. S.; TAKEDA, G. K. F. 2014. **Difilobotriose: uma doença exótica Brasil.** Atlas de Ciências da Saúde (ISSN 2448-3753), v. 2, n. 1.
- ARAÚJO, A.; FERREIRA, L. F. 1998. **Infecções Parasitárias na Pré – História da América do Sul.** In: Veras, R. P.; Barreto, M. L.; Filho, N. A.; Barata, R. B. Epidemiologia: contextos e pluralidade. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 51 – 60.
- AUFDERHEID, A. C.; RODRÍGUEZ – MARTÍN, C. 1998. The Cambridge encyclopedia of human paleopathology. Cambridge: Cambridge University Press.
- AUMONT, G.; YVORE, P.; ESNAULT, A. 1984. **Experimental coccidiosis in goats. 1. Experimental model. Effects of parasitism on the feeding behaviour and the growth of animals; intestinal lesions.** Ann Rech Vet, v. 15, n. 4, p. 467–73.
- BAER, J. G. et al. 1967. **Human diphyllobothriasis in Peru.** Parasitology Research, v. 28, n. 3, p. 277–289.
- BAER, J. G. 1969. **Diphyllobothrium pacificum, a tapeworm from sea lions endemic in man along the coastal area of Peru.** Journal of the Fisheries Board of Canada, v. 26, n. 4, p. 717–723.
- BASTIAN, M.; HEYMAN, S.; JACOMY, M. 2009. **Gephi: an open source software for exploring and manipulating networks.** International AAAI Conference on Weblogs and Social Media.
- BERENQUER, J. G. 2006. **Manual de Parasitologia: Morfologia e Biologia dos Parasitos de Interesse Sanitário.** Argos, Chapecó, 602 pp.
- CALLEN, E. O.; CAMERON, T. W. M. 1960. **A prehistoric diet as revealed in coprolites.** New Scientist 8: 35-40.
- CAMILLO-COURA, L.; CONCEIÇÃO, M. J.; LANFREDI, R. 2005. **Geo-helminthiases – Enterobíase.** In Coura JR (ed.), Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, vol.1, p. 1027–1056.
- CIONE, A. L.; GASPARINI, G. M.; SOIBELZON, E.; SOIBELZON, L. H.; TONNI, E. P. 2015. **The Great American Biotic Interchange.** Springer Netherlands, Dordrecht.
- COSTA-MACEDO, L. M. 2005. **Técnicas básicas de diagnóstico parasitológico das helmintoses intestinais.** In: Coura, J. R. (ed.), Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, vol.1, p 1057–1069.

- CHAME, M. 2003. Terrestrial Mammal feces: a morphometric summary and description. Memória do Instituto Oswaldo Cruz. Vol. 98 (Suppl. I): 71-94.
- CHAPMAN, H. D.; BARTA, J. R.; BLAKE, D.; GRUBER, A.; JENKINS, M.; SMITH, N. C.; SUO, X.; TOMLEY, F. M. 2013. **A Selective Review of Advances in Coccidiosis Research**. In: Advances in Parasitology, Elsevier, pp. 93–171.
- DAUGSCHIES, A.; IMAROM, S.; BOLLWAHN, W. **Differentiation of porcine *Eimeria* spp. by morphologic algorithms**. Veterinary Parasitology, v. 81, n. 3, p. 201–210, 1999.
- DENTZIEN-DIAS, P. C.; POINAR, G.; FIGUEIREDO, A. E. Q.; DE, PACHECO ACL, HORN BLD, SCHULTZ CL 2013. **Tapeworm Eggs in a 270 Million-Year-Old Shark Coprolite**. PLoS ONE, v. 8, n. 1, p. e55007 .
- DUARTE, A. N.; ARAÚJO, A. J. G.; SILVA, L.F. 2006. **Paleoparasitologia e paleoepidemiologia**. In: Medronho RA, Carvalho DM, Bloch KV, Luiz RG, Werneck GL (Ed.). Epidemiologia. São Paulo: Atheneu. pp. 457–463.
- FAURE, M.; GUÉRIN, C.; PARENTI, F. 1999. **Découverte d'une mégafaune holocène à la Toca do Serrote do Artur (aire archéologique de São Raimundo Nonato, Piauí, Brésil)**. Sciences de la terre et des planètes. Paris, 329: 443-448.
- FAURE, M.; GUÉRIN, C. 2013. **Les grands mammifères du Pléistocène Supérieur de la Lagoa Uri de Cima**. FUMDHAMentos: 1:10, pp. 161 – 188.
- FELICE, G. D.; PESSIS, A.; CORRÊA, A. C. B.; GUIDON, N.; LOURDEAU, A.; PAGLI, M.; MÜTZENBERG, D.; MACEDO, A. O. 2013. **Microescavação de amostra da concreção carbonática da Lagoa Uri de Cima: Gênese e tafonomia**. FUMDHAMentos: 1:10, pp. 69-99.
- FERIGOLO, J. 2007. **Paleopatologia em mamíferos**. In: Carvalho, I. S.; Fernandes, A. C. S. (Ed.). Icnologia. São Paulo: Sociedade Brasileira de Geologia. p. 88-107. Série Textos, nº 3.
- FERREIRA, L. F.; ARAÚJO, A. J. G.; CONFALONIERI, U. E. C.; NUÑEZ, L. 1984. The finding of eggs of *Diphylobothrium* in human coprolites (4,100-1,950 B.C.) from Northern Chile. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 79 (2): 175-180.
- FERREIRA, L. F., ARAÚJO, A. 2005. **Parasitismo, doença parasitária e Paleoparasitologia**. In: COURA, J. R. (Ed.). Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Vol.1, pp. 7–19.
- FERREIRA, L. F.; REINHARD, K. J.; ARAÚJO, A. 2008. **Paleoparasitologia**. Rio de Janeiro: Fiocruz. Disponível em <<http://books.cielo.org>>
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. 2008. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 280 p.

- FRÍAS, L.; LELES, D.; ARAÚJO, A. 2013. **Studies on protozoa in ancient remains - A Review**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 108: 1–12.
- FUGASSA, M. H.; BELTRAME, M. O.; SARDELLA, N. H.; CIVALERO, M. T.; ASCHERO, C. 2010. **Paleoparasitological results from coprolites dated at the Pleistocene–Holocene transition as source of paleoecological evidence in Patagonia**. Journal of Archaeology Science 37: 880–884.
- FUGASSA, M. H.; SARDELLA, N. H.; TAGLIORETTI, V.; REINHARD, K. J.; ARAUJO, A. 2008. **Eimeriid oocysts from archaeological samples in Patagonia, Argentina**. Journal of Parasitology 94: 1418–1420.
- GONÇALVES, M. L. C.; ARAÚJO, A.; FERREIRA, L. F. 2002. **Paleoparasitologia no Brasil**. Ciência e Saúde Coletiva, 7 (1): 191–196.
- GUERRA, R. DE M. S. N.; GAZÊTA, G. S.; AMORIM, M.; DUARTE, A. N.; SERRA-FREIRE, N. M. 2003. **Ecological analysis of acari recovered from coprolites from archaeological site of northeast Brazil**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 98, p. 181–190.
- HENRY, D. P. (1931). **A study of the species of *Eimeria* occurring swine**. Berkeley, Calif.: University of California press.
- HUGOT, J. P. 1999. **Primates and their pinworm parasites: the Cameron hypothesis revisited**. Systematic Biology 48: 523–546.
- HUGOT, J. P.; GARDNER, S. L.; BORBA, V.; ARAUJO, P.; LELES, D.; DA-ROSA, A. A. S.; DUTRA, J.; FERREIRA, L. F.; ARAÚJO, A. 2014. **Discovery of a 240-million-year old nematode parasite egg in a cynodont coprolite sheds light on the early origin of pinworms in vertebrates**. Parasitology Vectors 7: 1.
- HURKOVÁ, L. et al. **Description of *Eimeria motelo* sp. n.(Apicomplexa: Eimeriidae) from the yellow footed tortoise, *Geochelone denticulata* (Chelonia: Testudinidae), and replacement of *Eimeria carinii* Lainson, Costa & Shaw, 1990 by *Eimeria lainsoni* nom. nov.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 95, n. 6, p. 829–832, 2000.
- LELES, D.; REINHARD, K. J.; FUGASSA, M.; FERREIRA, L. F.; IÑIGUEZ, A. M.; ARAÚJO, A. 2010. **A parasitological paradox: Why is ascarid infection so rare in the prehistoric Americas?** Journal of Archaeological Science, v. 37, n. 7, p. 1510–1520.
- LÝSEK, H, 1978. **A scanning electron microscope study of the effect of an ovicidal fungus on the eggs of *Ascaris lumbricoides***. Parasitology 77: 139–141.
- LUCAS, A. S.; SWECKER, W. S.; LINDSAY, D. S.; GUILLERMO, S.; NEEL, J. P. S.; ELVINGER, F. C.; ZAJAC, A. M. 2014. **A study of the level and dynamics of *Eimeria* populations in naturally infected, grazing beef cattle at various stages of production in the Mid-Atlantic USA**. Veterinary Parasitology, v. 202, n. 3–4, p. 201–206.

- MACHADO, V. S.; VOLKMER-RIBEIRO, C.; IANNUZZI, R. **Investigation of freshwater sponges spicules deposits in a karstic lake in Brazil**. Brazilian Journal of Biology, v. 76, n. 1, p. 36–44, fev. 2016.
- MORROW, J. J.; NEWBY, J.; PIOMBINO-MASCALI, D.; REINHARDT, K. J. 2016. **Taphonomic considerations for the analysis of parasites in archaeological materials**. International Journal of Paleopathology, v. 13, p. 56–64.
- MÜTZENBERG, D.; CORRÊA, A. C. B.; CISNEIROS, D.; VIDA, I. A.; FELICE, G. D.; SILVA, D. G.; KHOURY, H.; LIBONATI, R. 2013. **Sítio Arqueológico Lagoa Uri De Cima: cronoestratigrafia de eventos paleoambientais no semiárido nordestino**. FUMDHAMentos: 1:10. pp.50-67.
- NOVO, S. P. C.; FERREIRA, L. F. 2016. **The Paleoparasitology in Brazil and Findings in Human Remains from South America: A Review**. The Korean Journal of Parasitology, v. 54, n. 5, p. 573–583.
- ÖPIK, A. A. 1953. **Lower Silurian fossils from the ‘Illaenus Band’ Heathcote, Victoria**. Memory of the Geological Survey of Victoria 19: 1–42, pp. 1–13.
- PAULA-COUTO, C. 1980. **Fossil Pleistocene to Sub-Recent Mammals From Northeastern Brasil: I – Edentata, Megalonychidae**. Anais da Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro, 52(1): 144-151.
- PESSIS, A. M.; MARTIN, G.; GUIDON, N. 2013. **Lagoa Uri de Cima**. FUMDHAMentos: 1:10. pp. 1–7.
- PESSIS, A. M.; MÜTZENBERG, D.; ASÓN, I.; CISNEIROS, D.; FELICE, G. D.; PERAZZO, M.; LAVALLE, H. 2013. **Estratégias de escavação e documentação arqueológica**. FUMDHAMentos: 1:10. pp. 31-49.
- PUTMAN, R. J. 1983. **Carrion and Dung the Decomposition of Animal Wastes: Studies in Biology**. N. 156, Edward Arnold Ltd., Great Britain, 62 p.
- REINHARD, K. J.; CONFALONIERI, U.; HERRMANN, B.; FERREIRA, L. F.; ARAÚJO, A. 1986. **Recovery of parasite remains from coprolites and latrines: aspects of paleoparasitological technique**. Homo 37: 217-239.
- RUFFER, M. A. **Studies in palaeopathology in Egypt**. The Journal of Pathology, v. 18, n. 1, p. 149–162, 1913.
- SCHEEL-YBERT, R.; EGGERS, S.; WESOLOWSKI, V.; PETRONILHO, C. C.; BOYADJIAN, C. H.; DEBLASIS, P. A. D.; BARBOSA-GUIMARÃES, M.; GASPAR, M. D. 2003. **Novas perspectivas na reconstituição do modo de vida dos sambaquieiros: uma abordagem multidisciplinar**. Revista de Arqueologia, 16: 109-137.

SIANTO, L.; OLIVEIRA-SANTOS, J. D.; MAGALHÃES, J. G.; TEIXEIRA-SANTOS, I.; SILVA, L. H. S.; SALDANHA, B. M.; KLEIN, E.; SILVA, P. A.; CHAME, M. 2013. **Coprólitos, sedimentos e fezes de animais do Sítio arqueológico Lagoa Uri de Cima: Análise preliminar.** FUMDHAMENTOS 1:10. P. 130 – 147.

SILVA, E. F. 2005. **Diagnóstico de laboratório da amebíase.** In: COURA, J. R. (Ed.). Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. Vol.1. Pág. 789–792.

SOUTO, P. R. F. 2007. **Coprólitos.** In: Carvalho, I. S.; Fernandes, A. C. S. (Ed.). Icnologia. São Paulo: Sociedade Brasileira de Geologia. pp. 84–87. Série Textos, nº 3.

SOUZA, S. M. 2011. **A Paleopatologia no Brasil: crânios, parasitos e doenças no passado.** In: Ferreira, L. F.; Reinhard, K. J.; Araújo, A. Fundamentos da Paleoparasitologia. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz: 53 – 67.

SPIELMAN, D.; BROOK, B. W.; BRISCOE, D. A; FRANKHAM, R. 2004. **Does inbreeding and loss of genetic diversity decrease disease resistance?** Conservation Genetics, v. 5, n. 4, p. 439–448.

SZIDAT, L. 1944. **Über die Erhaltungsfähigkeit von Helmintheneiern in vor-und frühgeschichtlichen Moorleichen.** Zeitschrift für Parasitenkunde, v. 13, n. 3, p. 265.

VICENTE, J. J.; RODRIGUES, H. O.; GOMES, D. L.; PINTO, R. M. 1997. **Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de Mamíferos.** Revista Brasileira de Zoologia, 14 (Supl. 1), pp. 1-452.

VOLKMER-RIBEIRO, C.; BATISTA, T. C. A. 2007. **Levantamento de cauxi (Porifera, Demospongiae), provável agente etiológico de doença ocular em humanos, Araguatins, rio Araguaia, Estado do Tocantins, Brasil.** Revista Brasileira de Zoologia 24 (1): 133-143.

XIMENES, C. L. 2009. **Tanques fossilíferos de Itapipoca, CE–bebedouros e cemitérios de megafauna pré-histórica.** Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil. Brasília CPRM: 465–478.

