



THERRYNE SOUZA PECHEGOVSKI

**ANÁLISE COMPARATIVA DA MICROBIOTA CUTÂNEA DE ESPÉCIES DO
GÊNERO *Leptodactylus* QUE OCORREM EM ÁREAS FRAGMENTADAS E
FLORESTAS CONTÍNUAS DE JI-PARANÁ, RONDÔNIA.**

**THERRYNE SOUZA PECHGOVSKI
NATÁLIA FARIA ROMÃO**

**ANÁLISE COMPARATIVA DA MICROBIOTA CUTÂNEA DE ESPÉCIES DO
GÊNERO *Leptodactylus* QUE OCORREM EM ÁREAS FRAGMENTADAS E
FLORESTAS CONTÍNUAS DE JI-PARANÁ, RONDÔNIA.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná,
como parte dos requisitos para obtenção de nota
da disciplina TRABALHO DE CONCLUSÃO DE
CURSO II no curso de Ciências Biológicas
Bacharelado, sob orientação da Professora Dra.
Natalia Faria Romão.

Ji-Paraná
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação - CIP

P365a Pechegovski, Therryne Souza.

Análise comparativa da microbiota cutânea de espécies do gênero leptodactylus que ocorrem em áreas fragmentadas e floresta contínuas de Ji-Paraná, Rondônia. / Therryne Souza Pechegovski. – Ji -Paraná, 2021.
17 f. ; 30 cm.

Artigo Científico (Graduação) – Centro Universitário São Lucas Ji - Paraná, 2021.

Orientação Profa. Dra. Natalia Faria Romão, Coordenação de Ciências Biológicas.

1. Ciências Biológicas. 2. Anfíbios. 3. Microbiota Cutânea. 4. leptodactylus. I. Título. II. Romão, Natalia Faria.

CDU 567.6

ANÁLISE COMPARATIVA DA MICROBIOTA CUTÂNEA DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Leptodactylus* QUE OCORREM EM ÁREAS FRAGMENTADAS E FLORESTAS CONTÍNUAS DE JI-PARANÁ, RONDÔNIA.¹

Therryne Souza Pechegovski²

Natália Faria Romão³

Resumo: É notório que crescimento populacional e a falta de tratamento de esgotos, fazem com que ambientes anteriormente conservados passem a se tornar antropizados com a contaminação de rios e igarapés, causando assim, parte do declínio de populações de espécies inteira ou parcialmente aquáticas. Os anuros, como animais bioindicadores, são de grande importância ecológica, portanto, necessitam de um ambiente que proporcione uma qualidade de vida favorável a seu ciclo de desenvolvimento. Para isso, a microbiota cutânea é uma das defesas primárias existentes no tegumento dos anfíbios, que pode auxiliar no equilíbrio osmótico e na proteção contra patógenos exteriores causados pelo aumento da poluição e a antropização de ambientes. A interação entre Anuro e Bactéria é muito comum, pois ambas são beneficiadas com a ação de viverem juntas. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo demonstrar a importância da presença da microbiota cutânea existente no tegumento de anfíbios anuros do gênero *Leptodactylus sp.*, coletadas em diferentes ambientes na região de Ji-Paraná, Rondônia, evidenciando quais as principais espécies de bactérias podem ser amostradas em cada ponto escolhido. Esta pesquisa trouxe dados relevantes principalmente em relação a interferência da ação antrópica de poluentes além de comparar a flora microbiana presente nas espécies de anuros que possuem muito e pouca interferência antrópica.

Palavras-chave: Anfíbios. Bioindicadores. Microbiota cutânea. *Leotodactylus sp.*, Antropização.

¹ Artigo apresentado no curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário São Lucas para a conclusão do curso sob a orientação da Dra. Natália Faria Romão E-Mail nataliaromao2@gmail.com

² Therryne Souza Pechegovski, Graduada em Ciências Biológicas do Centro Universitário São Lucas, 2020 E-mail tsp.biologicalscience@gmail.com

³ Natália Faria Romão, Bióloga, Me. em Genética e Toxicologia e Dra. Em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia E-mail nataliaromao2@gmail.com

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE CUTANEOUS MICROBIOTA OF THE SPECIES *Leptodactylus* THAT OCCUR IN FRAGMENTED AREAS AND CONTINUOUS FORESTS OF JI-PARANÁ, RONDÔNIA

Therryne Souza Pechegovski

Natália Faria Romão

Abstract: It is well known that population growth and the lack of sewage treatment, cause previously conserved environments to become anthropized with the contamination of rivers and streams, thus causing part of the decline in populations of species that are entirely or partially aquatic. Anurans, as bioindicator animals, are of great ecological importance, therefore, they need an environment that provides a quality of life favorable to their development cycle. For this, the cutaneous microbiota is one of the primary defenses existing in the coat of amphibians, which can assist in osmotic balance and protection against external pathogens caused by increased pollution and the anthropization of environments. The interaction between Anuro and Bacteria is very common, as both benefit from the action of living together. In view of this, the present study aimed to demonstrate the importance of the presence of the cutaneous microbiota existing in the anuran amphibian tegument of the genus *Leptodactylus* sp., Collected in different environments in the region of Ji-Paraná, Rondônia, showing which are the main species of bacteria be sampled at each chosen point. This research brought relevant data mainly in relation to the interference of the anthropic action of pollutants in addition to comparing the microbial flora present in anuran species that have a lot and little anthropic interference.

Keywords: Amphibians. Bioindicators. Cutaneous microbiota. *Leotodactylus*. Anthropization

1. INTRODUÇÃO

Grandes mudanças ambientais e o crescimento industrial e populacional, tem sido pontos cruciais para o comprometimento da qualidade ambiental ao que se refere ao solo, ar e principalmente a poluição hídrica (AGUIAR, 2002; GONÇALVES, 2015). Este aumento desenfreado da poluição e da grande falta de saneamento básico em locais próximos as

grandes cidades tem se tornado cada vez mais preocupantes, principalmente pelo aumento de despejos químicos e rejeitos domésticos que podem acarretar sérios danos à saúde de indivíduos presentes na biodiversidade local (CAREY; COHEN; ROLLINS-SMITH, 1999; DA SILVA, 2018; LIPS et al., 2006).

Tendo em vista que a água é um fator fundamental para a manutenção dos ecossistemas, os anuros, que por serem animais altamente bioindicadores e possuírem seu desenvolvimento e sobrevivência intimamente ligados ao meio aquático, acabam sendo um dos mais prejudicados com a presença de efluentes que contaminam diretamente estes habitats (BOER & HOEIJMAKERS, 2000; CARITÁ, 2010).

Devido a esta grande exposição ao ambiente, a pele dos anuros, que possui um papel fundamental na respiração cutânea e na obtenção de um bom desempenho na homeostase do corpo, precisa contar com as principais barreiras e mecanismos naturais de defesa existentes no próprio tegumento (ASSIS, 2012; ZASLOFF, 2002). É importante salientar que, embora ainda não seja amplamente conhecida, uma das grandes fontes de proteção que objetivam o principal foco deste estudo, são as bactérias que compõe a flora da microbiota cutânea dos anfíbios (ASSIS, 2012, 2016; CAREY; COHEN; ROLLINS-SMITH, 1999).

Essa flora é um componente natural e primordial contra os agentes patológicos que estão presentes no meio ambiente, uma vez que bactérias e fungos encontrados na pele dos anuros são capazes de atuar juntamente as glândulas secretoras de muco e substâncias contendo moléculas de peptídeos (PAM's) as quais fazem parte do sistema imune inato, sendo capazes de complementar a defesa de seu hospedeiro impedindo o desenvolvimento desenfreado de outras bactérias, vírus, protozoários e outros parasitas responsáveis por debilitar a saúde de anfíbios, permitindo também a permanência de certas espécies bacterianas, moldando assim a microbiota cutânea de cada espécie destes indivíduos de acordo com seus habitats (ASSIS, 2016; FALICO, 2014; PEIXOTO et al., 2020).

O descobrimento dos efeitos de proteção que a microbiota natural possui sobre a pele dos anuros, tem sido o principal responsável por promover cada vez mais pesquisas, tanto destinadas a desvendar sobre outros benefícios promovidos pela simbiose entre estes indivíduos, quanto ao tipo de espécies que compõem a flora bacteriana responsável pela proteção da pele dos anuros (HARRIS et al., 2006, 2009; IBARRA, 2016).

Sendo assim, é incontestável a importância do estudo e amostragem voltada a relações entre estes diferentes organismos que atuam em conjunto para a proteção e

benefício de ambos, tendo em vista novas descobertas e medidas que possam contribuir para a preservação e mitigação da perda da biodiversidade destes indivíduos (IBARRA, 2016; PEIXOTO et al., 2020; ZASLOFF, 2002).

Diante disto, o presente estudo teve como objetivo demonstrar a importância da presença da microbiota cutânea na pele dos anuros e evidenciar através de identificação dos morfotipos se há diferença na diversidade microbiana dos dois pontos de amostragem e se habitats fragmentados e poluídos podem influenciar nas características microbiológicas da pele dos anuros em fragmentos florestais do município de Ji-Paraná, Rondônia.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO

As amostras de secreção cutânea (anuros *Leptodactylus sp.*) foram coletados em 2 pontos diferentes a que caracterizam dois tipos de habitats, sendo o Ponto 1 um fragmento florestal contínuo, estando localizado na coordenada 10°57'28" S e 61°54'12" O (Figura 1), correspondendo a Área do Rondônia Rural Show (RRS) no município de Ji-Paraná Rondônia.



Figura 1 - Imagem de satélite da trilha em mata de floresta contínua, localizada na Rondônia Rural Show (RRS) situada no Município de Ji-Paraná, Estado de Rondônia. Fonte: Google Earth, 2020.

O ponto 2 trata-se de um fragmento florestal antropizado, localizado na coordenada 10°53'17" S e 61°56'17" W, situado no Parque Ecológico do Município de Ji-Paraná-RO (Figura 2).



Figura 2 - Imagem de satélite da trilha em mata com fragmentação por interferência humana, localizada no Parque Ecológico, situada no Município de Ji-Paraná, Estado de Rondônia. Fonte: Google Earth, 2020.

Os locais escolhidos para a coleta se tratam de locais distintos, onde é possível observar um local afastado da área urbana, sem interferência humana direta, por se tratar de uma floresta contínua (figura 1), em contraste a uma área fragmentada com alto índice de interferência antrópica (figura 2).

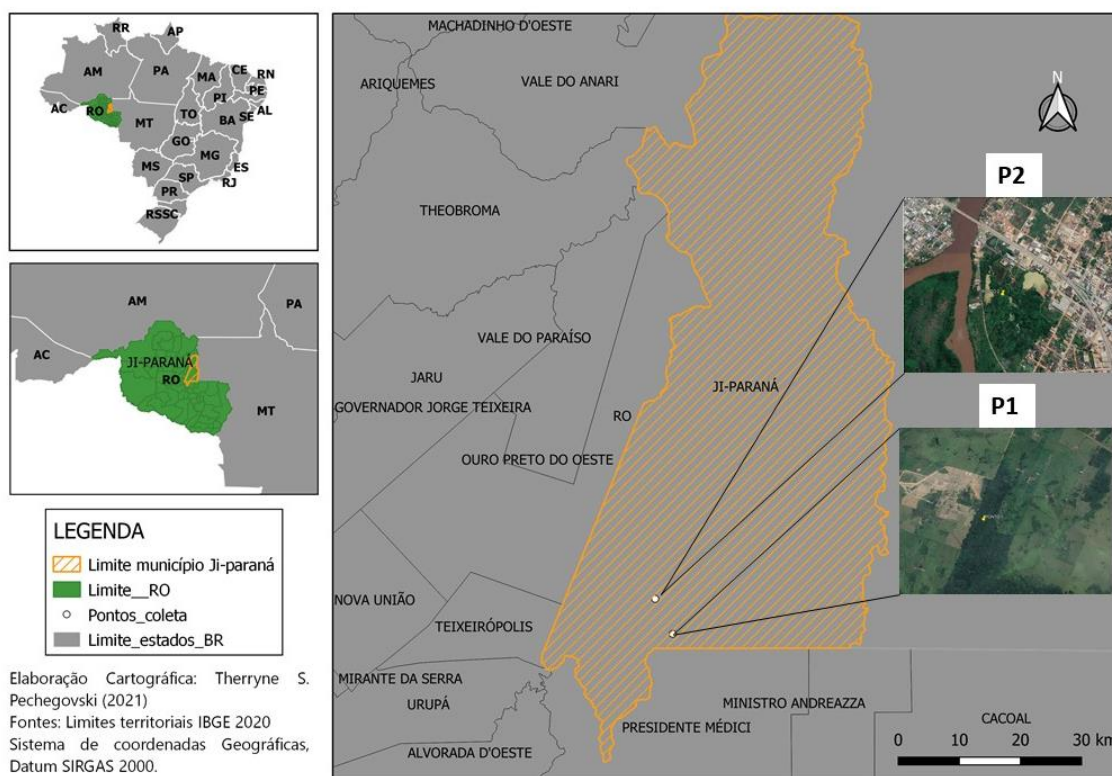


Figura 3 - Mapa de referência e localização geográfica dos pontos de coleta, Ji-Paraná, Rondônia, Brasil. Fonte: Limites Territoriais IBGE 2020; Datum: SIRGAS 2000;

2.2 ESPÉCIE DE ESTUDO

Para a realização do presente estudo, foram escolhidos os anuros do gênero *Leptodactyllus* por se tratar de um dos gêneros que estão mais intimamente ligados ao meio aquático, além de ser um dos gêneros mais envolvidos testes biológicos de avaliação da qualidade da água, tornando-se excelente ferramenta de estudos sobre este tema (DA SILVA, 2018; SAYED et al., 2020).

Este gênero pertence à família *Leptodactylidae*, mais conhecidas como rãs de dedos finos, fortemente encontrada na bacia amazônica. Pode ser localizada principalmente no chão, próximos a água, onde podem ter seus ovos para que seus girinos se desenvolvam em água lenta (ASSIS, 2016; GONÇALVES, 2015). Espécies do gênero são altamente adaptáveis a ambientes antrópicos e expostos a ações humanas, desde que este, contenha pequenos habitats alagadiços onde possam viver e se reproduzir (ASSIS, 2012; DA SILVA, 2018).

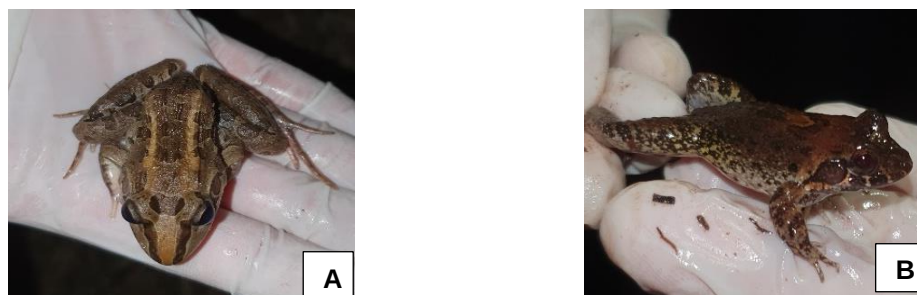


Figura 4 – Anuros do gênero *Leptodactylus* capturados por busca ativa noturna; **A)** Indivíduo capturados no ponto de coleta número 1; **B)** Indivíduo capturado no ponto de coleta número 2;

2.3 COLETA DE MICROBIOTA

Para a coleta de anuros utilizou-se a metodologia de busca ativa noturna ao entorno de represas, nascentes, igarapés, regiões de várzea e serapilheira, presentes em ambos os pontos de coleta. Assim que capturados foram previamente higienizados com água destilada para que fosse retirado todo o excesso de resíduo, matéria orgânica e consequentemente as bactérias transitórias sobrepostas sobre a pele dos anuros, afim de evidenciar apenas as bactérias residentes na microbiota de cada indivíduo.

Com auxílio de um *swab* estéril, foram coletadas amostras das regiões de toda a extensão do dorso, ventre e região lateral, exceto na cabeça, e região gular do animal acondicionando em seguida o *swab* em tubos de ensaio com 10 ml solução de salina a 0,9% (NaCl).



Figura 5 - **A)** Material utilizado para a coleta de amostras do tegumento dos anfíbios; **B)** Higienização do anuro com água destilada estéril para remoção de excesso de matéria orgânica e **C)** Coleta da microbiota cutânea residente no tegumento dos anfíbios com auxílio de um *swab* estéril.

Foram realizadas 7 amostragens em cada um dos pontos de coleta e para cada indivíduo capturado foi utilizado um *swab* estéril e luvas novas e limpas para que não houvesse risco de contaminação com o material coletado de outro indivíduo.

Após a coleta das secreções cutâneas, cada indivíduo foi imediatamente

devolvido a seu habitat no sentido contrário de onde as coletas estavam sendo realizadas, evitando riscos de reincidência do mesmo indivíduo.

As amostras coletadas foram dispostas em tubos de ensaio contendo 10 ml com solução de NaCl (0,9%), a qual foram acondicionadas em caixas isotérmicas levadas ao laboratório de microbiologia do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná, localizado em Ji-Paraná, Rondônia.

Esta pesquisa foi submetida e autorizada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná sob nº 76496.

2.4 CULTIVO DAS BACTÉRIAS

O cultivo das bactérias seguiu a metodologia descrita por Assis (2016). Para a melhor contagem e identificação das bactérias realizou-se diluição seriada múltiplos de 10 (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). Após a diluição, cada amostra diluída foi inoculada em placas de Petri contendo meio de cultura de com baixo teor de crescimento (R2A Agar DIFCO) pelo método de esgotamento em placas, para assim possibilitar melhor observação do crescimento de uma maior diversidade de bactérias presentes em cada amostra e seus respectivos morfotipos.

Figura 6 – Realização das análises no laboratório de Microbiologia da Universidade São Lucas Ji-Paraná.



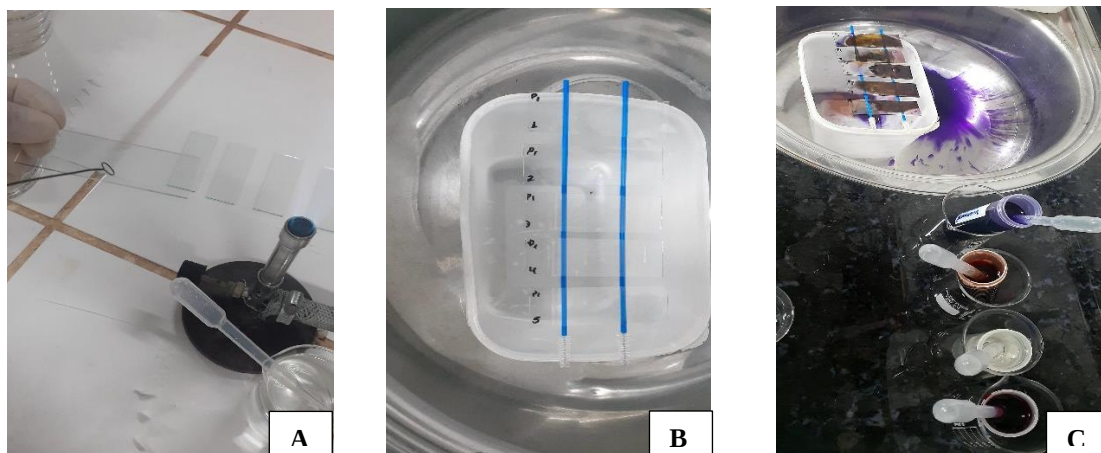
Legenda: **A)** Tubos com amostras e suas respectivas diluições em triplicatas; **B)** Realização do processo de diluição seriada; **C)** Método de esgotamento em meio de cultura ágar R2A (DIFCO).

Após a inoculação das amostras, as placas foram encubadas em estufa a 37°C por um período de 48h. Depois do período de incubação foram devidamente realizadas a contagem das colônias utilizando o método padrão CHP (Contagem de Colônias Heterotróficas) com a utilização de um contador de colônias (Phoenix®) para a melhor visualização e análise dos aspectos morfológicos de cada unidade formadora de colônia (UFC) a fim de evidenciar através do tamanho, cor, formato, borda e

aspecto o crescimento de diferentes tipos de bactérias que pertencem ao tegumento dos anfíbios, estas variações de morfotipos foram avaliados para cada indivíduo e isoladamente a cada ponto de coleta.

Também foram realizados testes tintoriais de coloração de Gram e microscopia em cada um dos grupos de morfotipos encontrados, evidenciando a densidade de bactérias Gram positivas e Gram negativas encontradas em cada um dos pontos de amostragem.

Figura 7 - Procedimento de coloração de bactérias gram positivas e gram negativas.



Legenda: A) Esfregaço da amostra em lâmina para coloração; B) Preparação das a coloração; C) Coloração das lâminas com Cristal violeta, Lugol, Alcool e fuccina;

Os resultados foram computados no software Microsoft Office Excel, em seguida os dados foram transferidos e analisados no programa de estatística OriginPro 2019 (OriginLab®).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram amostrados 14 espécimes do gênero *Leptodactylus sp.*, da ordem Anura, pertencentes a ordem Leptodactylidae, procedentes em dois pontos (P1 e P2). É importante ressaltar que além desta pesquisa proporcionar resultados onde demonstram parâmetros de densidade e morfotipos bacterianos, também foi possível ver ocasionalmente a diferença de tamanho dos indivíduos encontrados em cada um dos pontos de coleta.

Considerando o supracitado, durante as capturas foi possível observar que os indivíduos no ponto 1 puderam apresentar uma diferença visível de tamanho em

comparação com os indivíduos coletados no ponto 2, como pode ser demonstrado no gráfico abaixo.

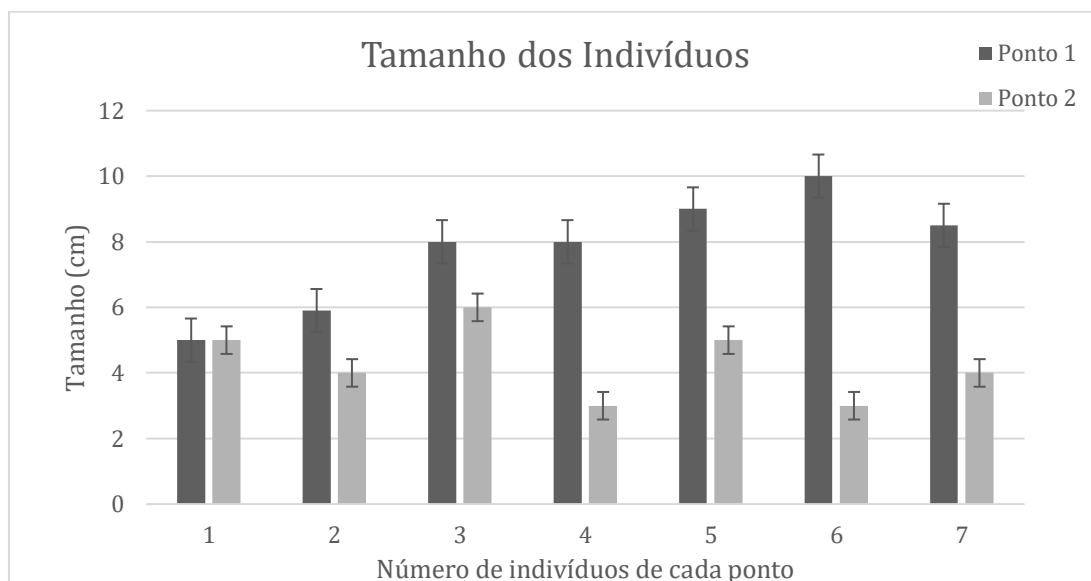


Gráfico 1 - Índice dos tamanhos dos indivíduos dos pontos de coleta 1 e 2.

Os espécimes do fragmento florestal (ponto 1) geralmente encontrados em poças de água temporária e em locais alagadiços sem presença de lixo, puderam se mostrar visivelmente maiores e mais robustos, contendo em média, tamanhos de 5 e 10 centímetros. Já os indivíduos capturados em ambiente antrópico (ponto 2) foram encontrados em locais alagadiços e em serrapilheira com grande incidência de lixo e entulhos, identificados por sendo indivíduos com média de tamanho de 3 a 6 centímetros, apresentando-se bem menores e mais ativos que os indivíduos do ponto de coleta anterior.

Não foi possível dizer com clareza o principal motivo da diferença entre os tamanhos dos indivíduos coletados nas áreas de estudo, no entanto esta divergência pode estar diretamente ligada à características dos ambientes em que se encontram os dois pontos de coleta.

De acordo com ASSIS (2012) e ZASLOFF (2002) grandes mudanças ambientais, tais como presença de lixo e rejeitos domésticos podem influenciar e proporcionar a presença de indivíduos que estejam mais propícios e adaptados a suportar condições onde o ambiente é considerado mais impactados, bem como em ambientes mais preservados pode ser encontrado espécies com índice bioindicador de qualidade muito mais elevado, explicando a discrepante diferença morfológica dos anfíbios coletados nas duas áreas.

Com relação ao cálculo de densidade de unidades formadoras de colônias (UFC) e a comparação entre as diversidades morfológicas microbianas foi utilizado o teste Anova- Kruskal- Wallis a 5% de significância ($p < 0,05$) no programa OriginPro 2018, onde foram estimados valores de acordo com a quantidade de UFC/mL.

Densidade bacteriana total		
Indivíduo	Ponto 1	Ponto 2
1	2620	2618,75
2	9591,67	2170,83
3	7325,00	10875
4	7425	416,67
5	781,25	803,13
6	687,5	20142,86
7	3058,33	1103,13

Tabela 1 - Densidade total das bactérias encontradas nos dois pontos de coleta.

Como pode se observar na tabela 1 está descrita a densidade total amostrada em cada indivíduo de cada ponto de coleta. Já no gráfico 2, estão demonstrados os valores da densidade média total das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) amostradas na pele de *Leptodactylus sp.*, onde foi de $5,2 \times 10^3$ UFC/mL (desvio-padrão= 927,8), com intervalos de confiança de 1984,26.

Usando um nível de significância de 0,05, o teste Kruskal- Wallis demonstrou que os pontos 1 e 2 não apresentam diferença estatisticamente significativa em relação ao número de UFC/mL dos indivíduos amostrados. (Gráfico 2)

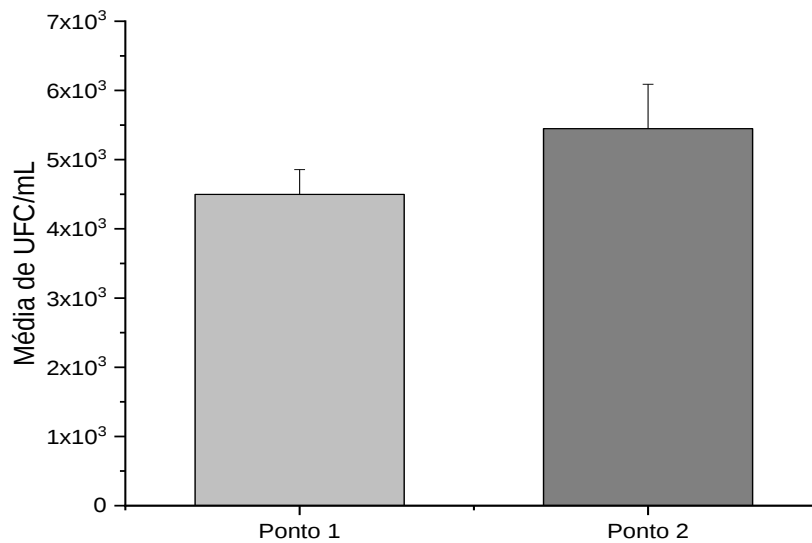


Gráfico 2 - Distribuição de variância da densidade bacteriana de UFC/mL em dois pontos de amostragem da microbiota de anuros do gênero *Leptodactylus*.

Diante destes dados, pode-se dizer que não foi observada diferença na densidade bacterianas entre ambientes preservados e ambientes antropizados como o esperado.

Dando continuidade às análises, foram identificados 21 morfotipos de colônias bacterianas, considerando-se todas as amostras. A média de morfotipos por indivíduo foi de 5,6 independente do ponto de coleta.

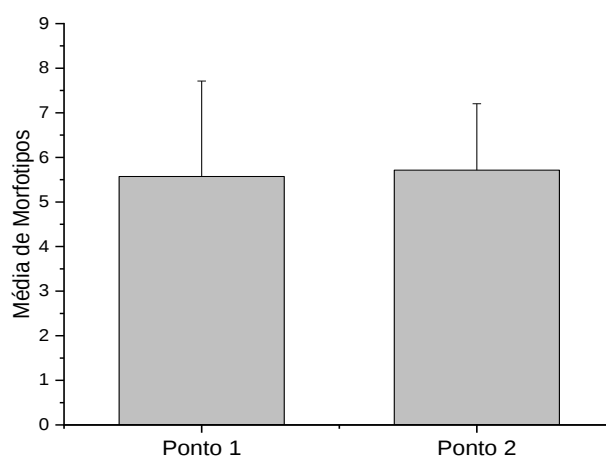


Gráfico 3 - Caracterização da média de morfotipos encontrados nos dois pontos de coleta.

Apesar de as duas áreas não apresentarem taxa de variação significativa nos dados estatísticos, o maior índice de riqueza de morfotipos foram provenientes em

indivíduos capturados no ponto 1, apresentando ao todo 9 morfotipos.

É importante evidenciar que a região em que se encontrou a maior riqueza de morfotipos está caracterizada por ser um fragmento florestal contínuo, portanto considerada mais preservada, no entanto ao comparar a riqueza de morfotipos entre os pontos de coleta, não houve diferença estatisticamente significativa.

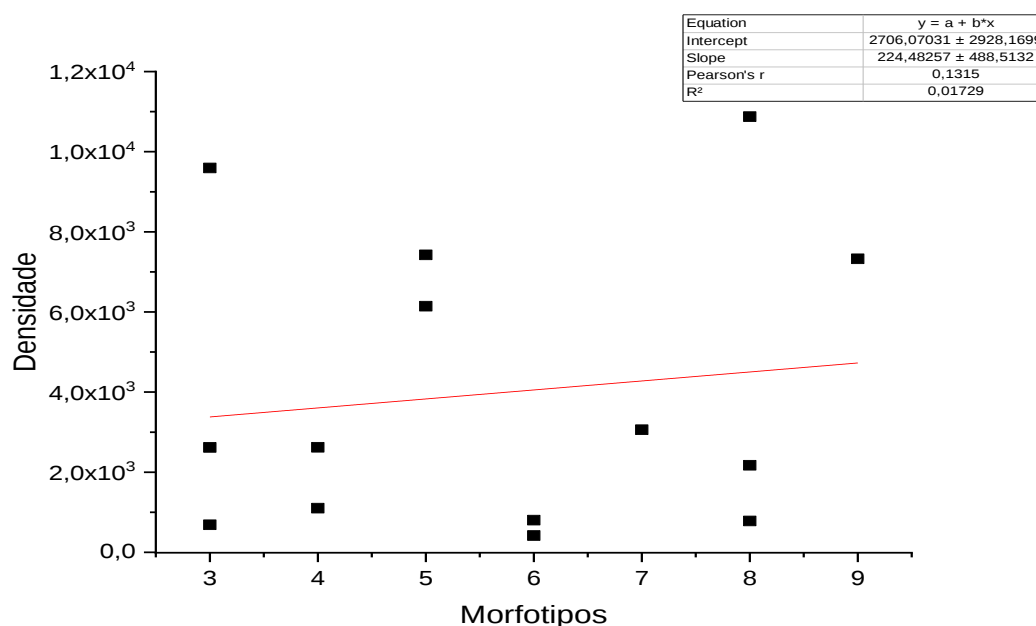


Gráfico 4 - Densidade total da variância dos morfotipos registrados nas análises realizados nos dois pontos de coleta.

Uma maior densidade poderia ser explicada por uma maior riqueza bacteriana, assim para investigar essa relação o coeficiente correlação de Spearman foi aplicado. O resultado dessa análise revelou que existe uma baixa relação linear entre a densidade e riqueza bacteriana na microbiota cutânea de *Leptodactylus sp*, como pode ser evidenciado no gráfico 4.

4. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos pode-se definir que as características da microbiota cutânea e de sua riqueza tanto em relação a densidade e morfotipos pode ser variada desde indivíduos pertencentes ao mesmo local e também de indivíduos locais distintos.

Diante disso, é possível evidenciar que podem existir variações da microbiota cutânea tanto na composição da microbiota quanto na densidade representada, no entanto, neste caso, como houve apenas uma pequena variação entre as

características bacterianas encontradas, pode-se observar que os fatores ambientais não tiveram interferência direta na densidade microbiológica e nas características da microbiota cutânea dos indivíduos presentes nos dois pontos de amostragem, mas sim, somente no tamanho e na morfologia dos anuros capturados para a realização desta pesquisa.

Ainda são poucos os dados encontrados na literatura em relação a composição da microbiota presente na pele dos anfíbios, impossibilitando a eventual comparação com estas características presentes em outros indivíduos ou até mesmo na mesma espécie de estudo em outras regiões do país.

Contudo é importante ressaltar a necessidade de novos estudos mais aprofundados sobre a relação microbiota cutânea e anfíbios para que, além de possibilitar cada vez mais o conhecimento deste vasto mundo, poder conhecer mais sobre a ação destes microrganismos e destacar medidas voltadas a conservação contra eventuais patógenos que podem ocasionar a perda de grande parte da biodiversidade.

REFERENCIAS

AGUIAR, M. R. M. P. DE, ET AL. Remoção de metais pesados de efluêntes industriais por aluminossilicato. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1145–1154, 2002.

ASSIS, A. B. DE. Microbiota, secreções cutâneas e microclima: consequências para os anfíbios. **Revista da Biologia**, v. 8, p. 45–48, 2012.

ASSIS, A. B. DE. Microbiota cutânea e secreções dérmicas de *Proceratophrys boiei* (Amphibia, Anura) em fragmentos de Floresta Atlântica. 2016.

BOER, J. DE & HOEIJMAKERS, J. H. J. Reparo de excisão de nucleotídeos e síndromes humanas. v. 21, n. 3, p. 453–460, 2000.

CAREY, C.; COHEN, N.; ROLLINS-SMITH, L. Amphibian declines: An immunological perspective. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 23, n. 6, p. 459–472, 1999.

CARITÁ, R. Avaliação do potêncil genotóxico e mutagênico de amostras de águas de recursos hídricos que recebem efluentes urbanos e industriais do polo ceramista da cidade de Sata Gertrudes – SP. **Repositório UNESP BR**, 2010. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/87723?locale-attribute=en>>

DA SILVA, F. D. Avaliação ecotoxicológica da água do igarapé Ouro Preto utilizando a espécie bioindicadora *Leptodactylus petersii*. **SOUTH AMERICAN Journal of Basic**

Education, Technical and Technological, v. 5, n. 2, p. 69–87, 2018.

FALICO, D. A. Identificação, purificação e caracterização de peptídeos antimicrobianos presentes na secreção cutânea do anuro *Hypsiboas raniceps*. p. 1–63, 2014.

GONÇALVES, M. W. **Alterações genômicas e mutagênicas em duas espécies de anfíbios anuros**, 2015.

HARRIS, R. N. et al. Amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* is inhibited by the cutaneous bacteria of amphibian species. **EcoHealth**, v. 3, n. 1, p. 53–56, 2006.

HARRIS, R. N. et al. Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus. **ISME Journal**, v. 3, n. 7, p. 818–824, 2009.

IBARRA, L. A. E. Evaluación de la actividad *Bathachochytrium dendrobatidis* or parte de la microbiota presente em la piel de dos especies de ranas Andinas, 2016.

LIPS, K. R. et al. Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 9, p. 3165–3170, 2006.

PEIXOTO, A. S.; GUEDES, D. S.; FERREIRA, A. K.; FERNANDES, R. R. S.; RIBEIRO, R. A. K.; TAVEIRA FERNANDES, G. DO S. Composição da comunidade bacteriana cutânea em anfíbios na região Oeste do Pará, Amazônia, Brasil.pdf. **Ibaro - Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 6, p. 412–427, 2020.

SAYED, E. T. et al. Larval anatomy of monotypic painted ant nest frog *Lithodytes lineatus* reveals putative homoplasies with the *Leptodactylus pentadactylus* group (Anura: Leptodactylidae). **Science of the Total Environment**, p. 144505, 2020.

ZASLOFF, M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. **Nature**, v. 415, n. January, p. 389–395, 2002.