

Como o hábito alimentar dos anuros influencia a aquisição de parasitos?

Introdução

Hoje são conhecidas mais de 7700 espécies de anfíbios no planeta, dessas, mais de 6800 pertencem a ordem Anura (Frost 2018). O grupo têm representantes em todos os biomas do mundo, principalmente nas regiões tropicais, sendo o Brasil o país que abriga o maior número de espécies (IUCN 2017).

Sua ampla distribuição e a busca por recursos não foram os únicos fatores que modelaram a grande diversidade dos anfíbios e seus padrões comunitários, mas também predadores, patógenos e parasitos (Wells 2007). Sendo suas diferentes estratégias de sobrevivência baseadas nas interações predador-presa e hospedeiro parasito (Pompanon et al. 2012). Parasitos em especial, interferem no fluxo de energia e forças de interações na cadeia alimentar, influenciando a produtividade do ecossistema e estrutura das teias tróficas (Lafferty et al. 2008).

Os anuros estão em contato com várias formas de vida parasitas, sendo altamente associados a elas (Aho, 1990, Campião et al. 2015). Espécies que habitam ou utilizam corpos d'água em algum momento da vida, estão em contato com formas infectantes livre-natantes, que podem penetrar pela pele ou orifícios naturais do corpo (Leung et al. 2009). Similarmente existem espécies de parasitos que toleram o ambiente terrestre e penetram ativamente pelo tegumento dos anfíbios (Anderson 2000). O tamanho do hospedeiro também está relacionado a sua carga parasitária, assim anuros maiores podem apresentar grande variedade de espécies parasíticas (Hamann et al. 2012, Campião et al. 2015).

Parasitos troficamente transmitidos necessitam que o hospedeiro intermediário seja consumido pelo hospedeiro definitivo para completar seu ciclo de vida (Cirtwill et al. 2017). Os anuros são componentes fundamentais da cadeia alimentar de diversos ecossistemas (Haddad et al. 2013). Desta forma, desempenham papel de hospedeiros intermediários e definitivos de várias espécies de parasitos (Goater; Goater, 2001).

Neste sentido é importante distinguir entre espécies dominantes e raras de parasitos, além de entender as funções e pressões desses organismos nas comunidades de anfíbios (Wells 2007). Entender como o hábito, habitat e o uso dos recursos pelos anfíbios influenciam a infecção por parasitos torna-se uma ferramenta para a conservação dessas espécies (Schoener 1974).

Justificativa

A mata atlântica apresenta características e geografia que favorecem a alta biodiversidade e endemismo, sendo um dos hotspots de biodiversidade mais importantes do mundo (Myers et al. 2000, Ribeiro et al. 2009). A região abriga cerca de 7,7% das espécies conhecidas de anfíbios, das quais 88% são endêmicas (Haddad et al. 2013).

Um terço dos anfíbios neotropicais estão ameaçados de extinção, e pelo menos metade deles em declínio, configurando os anfíbios como grupo de vertebrados mais ameaçado do mundo (Catenazzi 2015, Loyola et al. 2014, IUCN 2017). Uma das causas dos declínios e extinções são as infecções por parasitos e patógenos. Os parasitos são os personagens principais em protocolos de monitoramento de mudanças nas estruturas nesses ecossistemas, utilizados para detectar potenciais doenças emergentes de espécies nativas e invasoras. Além disso, são importantes também porque contam história da ecologia de seus hospedeiros, distribuição geográfica e ecossistemas que vivem e evoluem. Desta forma, é preciso entender a história natural das espécies de parasitos, assim como seus locais de origem, dinâmica de transmissão e habitat preferenciais (Brooks et al. 2014).

O estudo da biologia e ecologia dos parasitos geralmente requerem métodos invasivos, que exigem a eutanásia do hospedeiro estudado (Akani et al. 2011, Brooks et al. 2014, Campião et al. 2015). Dessa forma, análises moleculares como as que utilizam as sequências de DNA barcode tem aplicação universal e vem sendo utilizadas para identificação de espécies (Hebert et al. 2003, Vences et al. 2005). A coleta do material genético para essa análise não precisa ser letal, podendo ser coletado de amostras no ambiente, fezes, saliva, pele, entre outros (Floyd et al. 2002, Tautz et al. 2003, Brem et al. 2007, De Barba et al. 2014, Yu et al. 2012). A aplicação desses métodos pode revolucionar a forma como estudamos essas interações, sendo um método não invasivo, robusto, cada vez mais acessível e que apresenta alta eficiência (Vences et al. 2005).

A vulnerabilidade dos anfíbios às mudanças no ecossistema, sejam antrópicas ou não, torna o grupo extremamente ameaçado. Desta forma é cada vez mais importante estudos que relacionem os recursos que utilizam com fatores que podem afetar sua sobrevivência, como endoparasitos. E principalmente, desenvolvendo

métodos de alta precisão que não necessitem o sacrifício do animal, contribuindo assim para a conservação do grupo.

Objetivos

Investigaremos como o hábito alimentar dos anuros está relacionado a aquisição de parasitos. Serão amostrados anuros diferentes linhagens e modos de vida, para análise quanto ao hábito alimentar e aquisição de parasitos, considerando a diversidade, abundância e características das presas e parasitos.

Metodologia

Área de estudo

Realizaremos as coletas na unidade de conservação Mananciais da Serra, localizada junto ao Parque Estadual do Pico do Marumbi, município de Piraquara, região metropolitana de Curitiba, Paraná (48°59'W;25°29'S).

Coleta dos anfíbios e parasitos

Realizaremos coletas noturnas, durante o período de setembro a março, por dois anos consecutivos. Os anfíbios serão capturados manualmente, através de busca ativa, visual e auditiva. Capturaremos 30 indivíduos de cada espécie, estas serão definidas conforme sua abundância, não coletaremos espécies ameaçadas. Coletaremos três espécies de cada habitat: arbóreo, terrestre e semiaquático. A quantidade de indivíduos coletados não afetará negativamente suas populações.

Sacrificaremos os indivíduos por meio de anestésico tópico (metodologia aprovada pelo comitê de ética da UFPR) e faremos a retirada dos órgãos da cavidade abdominal na busca de parasitos e dieta. Após a dissecação fixaremos os anuros em solução formalina 10% e os conservaremos em etanol 70%. Os indivíduos serão transportados para o laboratório localizado no departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, onde permanecerão na coleção do laboratório até a finalização da pesquisa.

Coleta de itens da dieta

Para verificar a disponibilidade dos itens consumidos na dieta, faremos coletas noturnas, duas vezes por semana a partir de armadilhas recomendadas para cada habitat. As armadilhas serão dispostas próximo aos locais de coleta dos anuros, afim

de verificar as possíveis presas desses animais. Após a coleta os invertebrados serão armazenados em etanol 70% até sua triagem e identificação.

Identificação dos parasitos

Para os parasitos encontrados iremos registrar o órgão de origem e armazenaremos em etanol 70% para posterior identificação. Os parasitos serão identificados seguindo os métodos específicos para cada grupo (Andrade, 2000; Rey, 2001).

Identificação dos itens da dieta

Identificaremos os invertebrados ingeridos pelos anfíbios com a maior resolução taxonômica possível, utilizando as chaves correspondentes para cada grupo.

Análise estatística

A composição da dieta será analisada com base no número e frequência da ocorrência de cada tipo de presa no estomago dos anfíbios. Calcularemos um índice de importância relativa para cada categoria de presa encontrada na dieta (Pianka et al. 1971). Para relacionar os recursos alimentares presentes no ambiente com os ingeridos pelos anfíbios, utilizaremos a fórmula proposta por Jacobs (1974), que leva em consideração as diferentes abundancias relativas de presas do ambiente com a seleção do alimento pelo anfíbio. A prevalência, abundância e intensidade da infecção dos parasitos serão analisados como proposto por Bush e colaboradores (1997).

Custo do projeto

Material	Custo
Custos transporte para o campo	R\$ 3.600,00
Reagentes e suprimentos de laboratório	R\$ 500,00
Paquímetro	R\$ 30,00
Dinanômetro Pesola	R\$ 100,00
Álcool e Formol	R\$ 500,00
Fracos armazenamento	R\$ 300,00
Armadilhas invertebrados	R\$ 200,00
Análise molecular	R\$ 14.000,00
Total	R\$ 19.230,00

Cronograma de desenvolvimento do projeto

	2018											2019										
	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Pesquisa Bibliográfica																						
Coleta de Dados																						
Identificação dos parasitos																						
Identificação dos invertebrados																						
Análise molecular																						
Análise estatística																						
Redação																						

	2020												2021											
	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Pesquisa Bibliográfica																								
Coleta de Dados																								
Identificação dos parasitos																								
Identificação dos invertebrados																								
Análise molecular																								
Análise estatística																								
Redação																								

Referências Bibliográficas

AHO, J.M. Helminth communities of amphibians and reptiles: comparative approaches to understanding patterns and processes. In: ESCH, G.W.; BUSH, A.O.; AHO, J.M. **Parasite Communities: Patterns and Processes**. Chapman and Hall; 1990. p. 157–195.

AKANI, G. C.; LUISELLI, L.; AMUZIE, C. C.; WOKEM, G. N. Helminth community structure and diet of three Afrotropical anuran species: A test of the interactive-versus-isolationist parasite communities hypothesis. **Web Ecology**, v. 11, n. May, p. 11–19, 2011.

ANDERSON, R. C. C. **Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission (2nd edn)**. 2000.

BALINT, N.; INDREI, C.; IANC, R.; URSUT, A. ON THE DIET OF THE *Pelophylax ridibundus* (ANURA, RANIDAE) IN TICLENI, ROMANIA. **South Western Journal of Horticulure, Biology and Environment**, v. 1, n. 1, p. 57–66, 2010.

DE BARBA, M.; MIQUEL, C.; BOYER, F.; et al. DNA metabarcoding multiplexing and validation of data accuracy for diet assessment: Application to omnivorous diet. **Molecular Ecology Resources**, v. 14, n. 2, p. 306–323, 2014.

BLASCO-COSTA, I.; CUTMORE, S. C.; MILLER, T. L.; NOLAN, M. J. Molecular approaches to trematode systematics: “best practice” and implications for future study. **Systematic Parasitology**, v. 93, p. 295–306, 2016. Springer Netherlands.

BREM, F.; MENDELSON III, J. R.; LIPS, K. R. Field-sampling protocol for *Batrachochytrium dendrobatidis* from living amphibians, using alcohol preserved swabs. Disponível em:

<<https://pdfs.semanticscholar.org/36ca/5213496bae2486ddb6e9e7d37fcf3af67cbe.pdf>>. .

BROOKS, D. R.; HOBERG, E. P.; BOEGER, W. A.; et al. Finding Them Before They Find Us: Informatics, Parasites, and Environments in Accelerating Climate Change. **Comparative Parasitology**, v. 81, n. 2, p. 155–164, 2014. Disponível em:

<<http://www.bioone.org/doi/abs/10.1654/4724b.1>>. .

BUSH, A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; et al. PARASITOLOGY ON ITS OWN TERMS : MEETS ECOLOGY MARGOLIS. **The Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575–583, 1997.

CAMPIÃO, K. M.; DE AQUINO RIBAS, A. C.; MORAIS, D. H.; DA SILVA, R. J.; TAVARES, L. E. R. How many parasites species a frog might have? Determinants of parasite diversity in South American anurans. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–12, 2015.

CAMPIÃO, K. M.; RIBAS, A.; TAVARES, L. E. R. Diversity and patterns of interaction of an anuran–parasite network in a neotropical wetland. **Parasitology**, v. 142, n. 14, p. 1751–1757, 2015. Disponível em:

<http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0031182015001262>. .

CATENAZZI, A. State of the World’s Amphibians. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 40, n. 1, p. 91–119, 2015. Disponível em:

<<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-environ-102014-021358>>. .

CIRTWILL, A. R.; LAGRUE, C.; POULIN, R.; STOUFFER, D. B. Host taxonomy constrains the properties of trophic transmission routes for parasites in lake food

webs. **Ecology**, v. 98, n. 9, p. 2401–2412, 2017.

COGHLAN, M. L.; WHITE, N. E.; MURRAY, D. C.; et al. Metabarcoding avian diets at airports: Implications for birdstrike hazard management planning. **Investigative Genetics**, v. 4, n. 1, 2013.

FLOYD, R.; ABEBE, E.; PAPERT, A.; BLAXTER, M. Molecular barcodes for soil nematode identification. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 4, p. 839–850, 2002.

HADDAD, C. F. B.; TOLEDO, L. F.; PRADO, C. P. A.; et al. **Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica: Diversidade e Biologia**. São Paulo: Analisbooks, 2013.

HAMANN, M. I.; KEHR, A. I.; GONZÁLEZ, C. E. Community Structure of Helminth Parasites of. , v. 51, n. 8, p. 1454–1463, 2012.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; JEREMY, R. Biological identifications through DNA barcodes. , , n. January, p. 313–321, 2003.

IUCN. IUCN Red List of Threatened Species. **Version 2017.3**, 2017. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. .

JACOBS, J. Quantitative measurement of food selection. **Oecologia**, v. 14, p. 413–417, 1974.

JI, Y.; ASHTON, L.; PEDLEY, S. M.; et al. Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding. **Ecology Letters**, v. 16, n. 10, p. 1245–1257, 2013.

JONES, R. M. Urea synthesis and osmotic stress in the terrestrial anurans *Bufo woodhousei* and *Hyla cadaverina*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 71, p. 293–297, 1982.

LAFFERTY, K. D.; ALLESINA, S.; ARIM, M.; et al. Parasites in food webs: The ultimate missing links. **Ecology Letters**, v. 11, n. 6, p. 533–546, 2008.

LEUNG, T. L. F.; DONALD, K. M.; KEENEY, D. B.; et al. Trematode parasites of Otago Harbour (New Zealand) soft-sediment intertidal ecosystems: Life cycles, ecological roles and DNA barcodes. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 43, n. 4, p. 857–865, 2009.

LOYOLA, R. D.; LEMES, P.; BRUM, F. T.; PROVETE, D. B.; DUARTE, L. D. S. Clade-specific consequences of climate change to amphibians in Atlantic Forest protected areas. **Ecography**, v. 37, n. 1, p. 65–72, 2014.

MAHAN, R. D.; JOHNSON, J. R. Diet of the Gray Treefrog (*Hyla Versicolor*) in Relation to Foraging Site Location. **Journal of Herpetology**, v. 41, n. 1, p. 16–23, 2007.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853–858, 2000. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/35002501>>. .

NABLI, H.; BAILEY, W. C.; NECIBI, S. Beneficial attraction to light traps with different wavelengths. **Biological Control**, v. 16, p. 185, 1999.

PARADIS, E.; CLAUDE, J.; STRIMMER, K. APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language. **Bioinformatics**, v. 20, n. 2, p. 289–290, 2004.

PEKÁR, S. Differential effects of formaldehyde concentration and detergent on the catching efficiency of surface active arthropods by pitfall traps. **Pedobiologia**, v. 46, n. 6, p. 539–547, 2002.

PIANKA, L.; OLIPHANT, M.; IVERSON, Z. Food habits of albacore bluefin, tuna and bonito in California waters. **California Department of Fish and Game Bulletin**, v. 152, p. 1–350, 1971.

POMPANON, F.; DEAGLE, B. E.; SYMONDSON, W. O. C.; et al. Who is eating what: Diet assessment using next generation sequencing. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1931–1950, 2012.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4^o ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

POULIN, R. Parasites and the neutral theory of biodiversity. **Ecography**, 2004.

PYRON, A. R.; WIENS, J. J. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 61, n. 2, p. 543–583, 2011. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2011.06.012>>. .

REGINATO, M.; GOLDENBERG, R. Análise florística, estrutural e fitogeográfica da vegetação em região de transição entre as Florestas Ombrófilas Mista e Densa Montana, Piraquara, Paraná, Brasil. **Hoehnea**, v. 34, n. 3, p. 349–360, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2236-89062007000300006&lng=pt&tlng=pt>. .

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141–1153, 2009. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>>. .

SCHOENER, T. W. Resource Partitioning in Ecological Communities. **Science**, v.

185, p. 27–39, 1974.

TAUTZ, D.; ARCTANDER, P.; MINELLI, A.; THOMAS, R. H.; VOGLER, A. P. A plea for DNA taxonomy. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, n. 2, p. 70–74, 2003.

TOFT, C. A. Feeding ecology of thirteen syntopic species of anurans in a seasonal tropical environment. **Oecologia**, v. 45, n. 1, p. 131–141, 1980.

TOFT, C. A. Feeding Ecology of Panamanian Litter Anurans : Patterns in Diet and Foraging Mode Feeding Ecology of Panamanian Litter Anurans : Patterns in Diet and Foraging Mode. , v. 15, n. 2, p. 139–144, 1981.

TOFT, C. A; DUELLMAN, W. E. Anurans of the lower rio Lullapichis, Amazonian Peru: a preliminary analysis of community structure. **Herpetologica**, v. 35, n. 1, p. 71–77, 1979.

VENCES, M.; THOMAS, M.; VAN DER MEIJDEN, A.; CHIARI, Y.; VIEITES, D. R. Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. **Frontiers in zoology**, v. 2, p. 5, 2005.

WELLS, K. D. **The Ecology and Behavior of Amphibians**. Chicago, 2007.

WOOD, C. L.; JOHNSON, P. T. J. A world without parasites: Exploring the hidden ecology of infection. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 13, n. 8, p. 425–434, 2015.

YU, D. W.; JI, Y.; EMERSON, B. C.; et al. Biodiversity soup: Metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 3, n. 4, p. 613–623, 2012.