

Interações antagonistas entre helmintos e anfíbios: o que determina as infecções?

Introdução

Parasitos são componentes importantes da diversidade global não apenas por constituírem uma fração significativa de biomassa, mas especialmente pelo papel que desempenham nos ecossistemas (Marcogliese, 2004). Esses organismos podem regular as populações de seus hospedeiros, estabilizando as teias alimentares e estruturando as comunidades de animais de vida livre (Poulin & Morand, 2004). Além disso, são bons indicadores do ambiente e da biologia de seus hospedeiros. Parasitos são marcadores biológicos da estrutura populacional (Catalano et al., 2013), filogeografia dieta e interações tróficas dos seus hospedeiros (Marcogliese, 2004) de seus hospedeiros.

Anfíbios constituem um grupo de organismos muito importante para estudos da infecção por parasitos. O estudo dos macroparasitos de anfíbios é consistentemente relevante para a conservação desse grupo de vertebrados e para compreensão geral da ecologia de interações (Kropivnikar et al., 2012). Os anuros constituem o grupo de anfíbios mais diverso e amplamente distribuído geograficamente (Frost, 2014); e dentre seus parasitos, os helmintos compreendem o grupo mais conspicuo. Anfíbios são parasitados pelos principais grupos de helmintos (Acanthocephala, Nematoda, Cestoda e Trematoda) em estágios larvais e adultos (Campião et al., 2014).

O estudo da interação parasito-hospedeiro indica relação como os parâmetros de infecção, como riqueza e composição das comunidades parasitárias, estão relacionadas a diversas características dos hospedeiros, como dieta, tamanho, ontogenia, habitat e hábito (Campião et al., 2015). Em relação aos atributos dos parasitos que compõe essas comunidades, parece haver um consenso acerca da baixa especificidade dos helmintos (Campião et al., 2014); embora seja possível que essa baixa especificidade esteja restrita a determinados grupos taxonômicos ou faixas ontogenéticas dos helmintos.

Informações acerca do padrão de infecção em diferentes espécies de anfíbios abundantes na região possui aplicações diretas para definição do status de conservação da espécie. Além disso, a geração de conhecimento será um importante resultado do projeto, devido ao caráter multidisciplinar da proposta, as informações

geradas contribuirão para um avanço científico em áreas como Ecologia e Conservação, e Zoologia.

Justificativa

Doenças infecciosas emergentes estão entre as causas mais importantes de perda de diversidade de anfíbios no mundo (Blaustein et al. 2012, Daszak et al. 2013). Patógenos e parasitas têm uma variedade de efeitos deletérios em seus hospedeiros, incluindo modificações comportamentais, e reduções nas taxas de desenvolvimento e reprodução. O número de evidências dos efeitos nocivos dos parasitos é crescente (Koprivnikar et al., 2012). Eles podem influenciar hospedeiros anfíbios de formas sutis e complexas, diminuindo as taxas de crescimento e reprodução. Esses efeitos podem resultar em aumento das taxas de mortalidade e declínios populacionais (Marcogliese, 2004). Porém, também podem causar efeitos drásticos e diretos, como por exemplo a espécie parasita *Ribeiroia ondatrae*, que causa deformações severas em anfíbios e é apontada como uma séria ameaça a populações no hemisfério norte (Blaustein et al. 2012).

Adicionalmente, estudos recentes mostram que fatores ambientais como a fragmentação de habitat, pesticidas, e eutrofização, tem potencial de exacerbar a intensidade das infecções (Blaustein et al. 2012). Essas mudanças podem tanto diminuir a capacidade de resposta imunológica dos hospedeiros, como também aumentar o número de estágios infectantes dos parasitos no ambiente (Johnson et al. 2007). Diversos estudos sugerem que as mudanças ambientais, incluindo o aumento das temperaturas terão influências significativas sobre infecções e surgimento de patógenos, desencadeando novos surtos de doenças infecciosas (Brooks et al. 2014). Assim, o estudo de infecções por macroparasitos tem potencial como ferramenta importante para conservação das espécies de anfíbios. O levantamento de informações sobre infecções em populações naturais é comum em diversos países do mundo, mas ainda muito rara no Brasil. Assim, a presente proposta representa uma iniciativa inovadora, que resultará em resultados inéditos para espécies da Floresta Atlântica brasileira.

Objetivos

Diante da escassez no conhecimento acerca da interação dos anfíbios com outros organismos, e da importância dessas interações na dinâmica populacional e montagem das comunidades, o objetivo principal deste estudo é inventariar e descrever os padrões de infecção de parasitos associados às espécies de anfíbios mais abundantes e representativos na região da Floresta Atlântica no estado do Paraná. Serão calculados os parâmetros para descrever as populações e comunidades parasitárias, como prevalência, abundância, intensidade de infecção e riqueza de espécies (Bush et al., 1997). Adicionalmente, serão considerados diferentes aspectos da biodiversidade, como medidas de diversidade taxonômica e análises de rede de interações (que descrevem os padrões de distribuição da riqueza de espécies). As medidas de diversidade serão interpretadas considerando os aspectos morfológicos (como o tamanho), ecológicos (como o hábito) e filogenéticos de cada espécie de hospedeiro amostrada.

Metodologia

Coleta dos anfíbios

O estudo será realizado em diferentes localidades da Floresta Atlântica, nos estados do Paraná. Uma das regiões já selecionadas é a Reserva Natural do Rio Cachoeira, Antonina, Paraná. Também pretendemos coletar na Reserva Mananciais da Serra, e outras UCs.

Dentre os anfíbios mais abundantes nas regiões selecionadas, serão coletados entre 20 e 30 espécimes de cada espécie de anuro, de acordo com o resultado das análises de curva de acúmulo de espécie. Esse número de espécimes é geralmente uma fração pequena das populações (considerando espécies não ameaçadas), mas é um número satisfatório para inventariação dos parasitos (Campião et al., 2015) pelo método de procura visual limitada por tempo (PVLTV), que consiste na realização de deslocamentos a pé, lentamente (cerca de 70 metros por hora). A PVLTV será realizada sempre no período noturno, quando os anfíbios estão em atividade. Esse método de busca é muito eficiente, pois permite coletar anfíbios de diversos hábitos, uma vez que inclui a busca em abrigos e diversos microambientes visualmente acessíveis. As coletas serão realizadas no verão, durante quatro dias consecutivos. As espécies ameaçadas de extinção (lista oficial de espécies ameaçadas) que possam ocorrer na região não serão coletadas. Os anfíbios capturados serão eutanasiados com aplicação de dosagem excessiva de anestésico (método aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Paraná). Para cada espécime, será registrado o comprimento-rostro-cloacal (CRC) e sua massa corpórea. Em seguida, todos os

órgãos internos e a cavidade celomática serão examinados quanto à presença de helmintos.

Coleta e preparo dos helmintos

Todos os helmintos serão coletados, fixados, quantificados e preparados para análise de acordo com metodologias clássicas (Amato et al., 1991). Os helmintos coletados serão conservados em solução de álcool 70% até o momento do preparo das lâminas temporárias para identificação. Para o preparo de lâminas temporárias os nematóides serão clarificados com lactofenol de Aman; os cestóides, trematódeos e acantocéfalos serão corados com carmim clorídrico e clarificados com creosoto de Faia.

Para a caracterização morfológica, e posterior identificação dos helmintos, serão obtidos os dados morfométricos e fotomicrografias em sistema computadorizado para análise de imagens, adaptado aos microscópios com o sistema de contraste interferencial de fase. A determinação das espécies de helmintos será feita com base nas principais chaves de identificação (Travassos et al., 1969; Vicente et al., 1990; Gibson et al., 2002; Jones et al., 2005; Anderson et al., 2009 e Gibbons, 2010), além de artigos e publicações recentes.

Análises de dados

Serão registradas o número de helmintos para cada indivíduo (riqueza média) e para cada espécie de hospedeiro (riqueza total). Neste estudo a riqueza de espécies de helmintos será estimada para cada hospedeiro utilizando o Jackknife ($S(Jk)$), indicado como o estimador de riqueza de espécies mais robusto para comunidades parasitárias (Poulin, 1998; Zelmer & Esch, 1999).

Outra medida de diversidade será diversidade taxonômica de parasitas, calculado através do Índice de Distinção Taxonômica ($\Delta+$).

Para quantificar a correlação entre as características dos hospedeiros (como tamanho, hábito, filogenia) e as características das comunidades de parasitos (diversidade, composição) serão construídos modelos lineares generalizados (GLMs) (Bolker, 2007), assim como modelos e equações não lineares derivados de GLMs que permitam a inclusão da filogenia (Paradis & Claude, 2002). A relação entre o grau de especificidade e características dos parasitos também serão investigados pela construção de modelos lineares (e derivações) (Bolker, 2007).

Resultados esperados

Estudar a helmintofauna, bem como sua influência na ecologia e história natural dos anuros, é de extrema importância para ciência básica, e contribuirá para o conhecimento científico nas áreas de parasitologia, zoologia e ecologia. Este estudo será uma importante contribuição para o inventário da helmintofauna parasita dos anfíbios mais representativos Floresta Atlântica. Inventários de helminto fauna servem assim de subsídio para estudos dos ciclos parasitários, que são desconhecidos para praticamente todas as espécies de anuros desta região. Os resultados deste estudo permitirão uma maior compreensão da história de vida e ecologia dos anfíbios da Floresta Atlântica, e essas informações podem futuramente subsidiar planos de manejo e conservação dessas espécies. Além de desvendar parte da biodiversidade críptica da região da Floresta Atlântica, os resultados deste estudo contribuirão para elucidação de questões importantes na compreensão da interação parasito-hospedeiro. Através de uma análise comparativa das comunidades parasitárias de anfíbios de diferentes hábitos e linhagens evolutivas, os resultados deste estudo auxiliarão na elucidação da importância de fatores ecológicos e filogenéticos na estruturação das comunidades parasitárias.

Referências

- AMATO, J., BOEGER, W. & AMATO, S. 1991. Protocolos para laboratório: coleta e processamento de parasitos de pescado, Seropédica, UFRRJ.
- ANDERSON, R., CHABAUD, A. & WILLMOTT, S. 2009. Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates: Archival Volume, Wallingford, CABI. 672 pp.
- BLAUSTEIN, A. R., GERVASI, S. S., JOHNSON, P. T. J., HOVERMAN, J. T., BELDEN, L. K., BRADLEY, P. W. AND G. Y. XIE 2012. Ecophysiology meets conservation: understanding the role of disease in amphibian population declines. *Philosophical Transactions of the Royal Society, Series B* 367: 1688-1707
- BOLKER B. 2007. *Ecological Models and Data* in R. Princeton University Press, Princeton and Oxford. 484 pp.
- BROOKS, D. R. 2001. Parasite Systematics in the 21st Century: Opportunities and Obstacles. *Trends in Parasitology*, 17, 273-275.

CAMPIÃO, K. M., MORAIS, D.H., DIAS, O. T., AGUIAR, A., TOLEDO, G., TAVARES, L. E. R. & DA SILVA, R. J. Checklist of helminth parasites of amphibians from South America. *Zootaxa*, 3843, 001–093.

CATALANO, S. R., I. D. WHITTINGTON, S. C. DONNELLAN, AND B. M. GILLANDERS. 2013. Parasites as biological tags to assess host population structure: Guidelines, recent genetic advances and comments on a holistic approach. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* In press. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijppaw.2013.11.001>.

CORN, P. S., BURY, R. B. & CAREY, A. B. & RUGGIERO, L. F. (ed.) United States Department of Agriculture, Forest Service. 1990. Wildlife-habitat relationships: Sampling procedures for Pacific Northwest Vertebrates - Sampling methods for terrestrial Amphibians and Reptiles. Oregon: United States Department of Agriculture, Forest Service, Relatório Técnico PNW-GTR-256.

DASZAK, P., CUNNINGHAM, A. A. & HYATT, A. D. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife: threats to biodiversity and human health. *Science*, 287: 443–449.

DOBSON, A., LAFFERTY, K. D., KURIS, A. M., HECHINGER, R. F. & JETZ, W. (2008). Homage to Linnaeus: How many parasites? How many hosts? *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 105, 11482-11489.

FROST, D. R. 2017. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (acessado em 18/08/2114). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.

GIBBONS, L. M. 2010. Keys to the nematode parasites of vertebrates: Supplementary volume, Wallingford, CABI Publishing, 416 pp.

GIBSON, D. I., JONES, A., BRAY, R. A. 2002. Keys to the Trematoda. Londres: CABI International Publishing, 521 pp.

KOPRIVNIKAR, J., MARCOGLIESE, D. J., ROHR, J. R., ORLOFSKE, S. A., RAFFEL, T. R. & JOHNSON, P. T. 2012. Macroparasite infections of amphibians: what can they tell us? *Ecohealth*, 9: 342-60.

MARCOGLIESE, D.J. 2004. Parasites: small players with crucial roles in the ecological theatre. *Ecohealth*, 1, 151–164.

POULIN, R. & MORAND, S. 2004. Parasite Biodiversity. Washington, DC: Smithsonian Institution Scholarly Press, 224 pp.