

Abordagem ecofilogenética para compreensão dos padrões de diversidade das espécies na interação entre anuros e parasitos

Introdução

A Mata Atlântica é considerada um dos 35 hotspots mundiais com prioridade para conservação da sua biodiversidade (MMA, 2002), apresentando um alto grau de riqueza de espécies e endemismo (Ribeiro et al., 2009). Entretanto, nas últimas décadas este bioma teve um elevado declínio, grande parte causado pelo desmatamento e outras atividades antrópicas, restando cerca de 7-8% da cobertura original (SOS Mata Atlântica, 2018). O Paraná apresenta o maior remanescente da Mata Atlântica (Ribeiro et al. 2009), que vem apresentando um crescente número de estudos acerca da anurofauna (Haddad et al., 2013, Crivellari et al., 2014). Entretanto, pouco se conhece sobre a parasitofauna destes anuros, importantes na estruturação das comunidades (Poulin & Morand, 2004). Realizar inventários destes parasitos supre uma lacuna importante da relação existente entre os anuros e outros organismos, e quais impactos um grupo pode ter sobre o outro (Brooks et al., 2005; Campião et al., 2015b).

Anuros são um grupo diverso, possuindo atualmente 7.401 espécies conhecidas no mundo e presentes em todos os biomas (Frost 2021). Também é um grupo que tem sua diversidade ameaçada, cerca de um terço das espécies está ameaçada de extinção (Loyola et al. 2014; Catenazzi 2015). Apesar da principal perda de diversidade desse grupo ser a perda de habitat, uma das causas está ligada a infecções por patógenos e parasitos. Por exemplo, o fungo quitrídio, responsável pelo declínio de espécies de anuros em vários continentes (Weldon et al. 2004). As interações entre os anuros e os parasitos, podem ser influenciadas por características biológicas e ecológicas dos hospedeiros como tamanho corpóreo, uso do habitat e filogenia (Aho 1990; Campião et al. 2015; Euclides et al. 2021). Conhecer os aspectos da história de vida dos anuros e a relação deles com outros organismos é importante para elaboração de medidas que sejam efetivas para conservação dessa diversidade (Silvano e Segalla, 2005; Wells, 2007).

Investigar a existência de padrões na interação entre parasitos e hospedeiros é um desafio que ajuda a entender como os parasitos se

diversificam e circulam entre diferentes hospedeiros (Fountain-Jones et al. 2018). A busca por padrões na diversificação e amplitude de nicho dos parasitos e patógenos pode ser essencial para compreender questões em ecologia e evolução, e também para o surgimento de doenças (Cooper et al. 2012). Uma abordagem ecofilogenética permite conciliar conceitos fundamentais sobre a história de vida das espécies de forma integrativa (Mouquet et al. 2012). Esta abordagem surgiu com o objetivo de encontrar divergências ou convergências entre características ecológicas a partir de uma perspectiva evolutiva (Wiens e Graham 2005; Fountain-Jones et al. 2018). Estudos que aplicaram as abordagens ecofilogenéticas aumentaram a compreensão das consequências das interações entre comunidades para especiação, adaptação e extinção de espécies (Cavender-Bares et al. 2009). Parasitos são bons modelos para o estudo em abordagens ecofilogenéticas, pois podem fornecer, a partir da sua história evolutiva, informações sobre a dinâmica de doenças emergentes e biogeografia.

Objetivo geral

Compreender como a variabilidade ecológica e filogenética dos anuros está associada à diversidade, especificidade, distribuição geográfica e plasticidade fenotípica e a variabilidade genética dos parasitos de anuros.

Objetivos específicos

- 1 - Descrever a diversidade de parasitos associados a diferentes espécies de anuros.
- 2 - Analisar a influência do uso do hábitat dos hospedeiros parasitados por diversas espécies de parasitos na dispersão dos parasitos e amplitude no uso de diferentes espécies hospedeiras.
- 3 - Avaliar como variáveis ambientais abióticas (temperatura e umidade), importantes para o desenvolvimento de estágios infectantes dos parasitos, e variáveis bióticas como a riqueza local de espécies hospedeiras, influenciam a especificidade e amplitude de distribuição das espécies de parasitos.

Material e Métodos

Local de coleta

Realizaremos as coletas nas Unidades 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); Parque Estadual do Pico do Marumbi, próximo a trilha do Rochedinho, Morretes, Paraná (25°26'S, 48°55'W); Parque Estadual do Palmito, Paranaguá, Paraná (25°35'S, 48°33'W).

Coleta de anuros

Para a coleta dos anuros utilizaremos a técnica de busca visual e auditiva (Crump e Scott Jr. 1994). Iremos coletar diversas espécies de anuros com um esforço amostral baseado na quantidade de parasitos necessários para as análises (n = 10 parasitos). Os anuros coletados serão classificados de acordo com o hábitat em que foram encontrados, como: arbóreo, terrestre, aquático e subaquático. Após a captura e classificação, os espécimes serão imediatamente transportados para o laboratório, no qual serão eutanasiados com Lidocaína 4%, seguindo a legislação vigente no Conselho Federal de Biologia (CFBIO - Resolução 308), e em seguida os espécimes realizaremos as necropsias com abertura de uma incisão longitudinal no eixo antero posterior para a coleta dos parasitos. Examinaremos principalmente os pulmões, e também todos os órgãos do trato gastrointestinal, rins, bexiga e cavidade abdominal dos hospedeiros. Todos os espécimes serão fixados e depositados no Museu de História Natural do Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná, Brasil.

Coleta dos parasitos

Os parasitos encontrados nos órgãos serão fixados em álcool etílico 92%. Uma parcela dos espécimes será separada e mantida refrigerada para futuras análises moleculares. A segunda parte dos parasitos, será utilizada para extração de dados morfométricos. Estes nematoides serão fixados e clarificados com lactofenol de Aman para a confecção de lâminas temporárias, serão medidas estruturas de valor taxonômico para identificação. Utilizando o sistema

para a captura de imagens QWin Lite 3.1 e Image J para obter as medidas para identificação.

Análises estatísticas

Para analisar a especificidade de cada espécie de parasito calcularemos o Índice de especificidade (Std). Este índice considera a diferença taxonômica média entre os hospedeiros que cada espécie de parasito utiliza. Iremos calcular o índice no software TaxoBiodiv2 (Disponível em: <https://www.otago.ac.nz/parasitegroup/downloads.html>) (Poulin e Mouillot 2005).

Iremos avaliar se hospedeiros com amplo uso de habitats estão associados a parasitos mais generalistas, visto que proporcionam maior dispersão dos parasitos e assim maior oportunidade de contato com outros hospedeiros. Para isso testaremos a relação entre o índice de especificidade de cada parasito e amplitude no uso de diferentes espécies hospedeiras, utilizaremos um PGLMM (Modelo misto linear generalizado filogenético) método comparativo filogenético, que correlaciona as variáveis de interesse, e corrige a correlação a partir das relações filogenéticas dos hospedeiros. Iremos testar a relação entre variáveis ambientais abióticas e variáveis bióticas e a especificidade e amplitude de distribuição geográfica das espécies de parasitos.

A relação entre plasticidade, especificidade e amplitude no uso de diferentes espécies hospedeiras, será realizada a partir de um GLM (Modelo Linear Generalizado) análise que inclui variáveis de resposta discretas e contínuas que podem ser consideradas independentes entre as unidades experimentais (Zeger e Karim 1991).

Resultados esperados

Esperamos aumentar o conhecimento sobre a diversidade de parasitos de anuros, assim como descrever possíveis novas espécies. Também esperamos compreender melhor quais fatores associados aos grupos de estudos influenciam na interação parasito-hospedeiro, como questões envolvendo a história natural, ecologia e evolutiva dos anuros e parasitos.

Cronograma

Atividades	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Revisão bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Coletas	x	x	x	x	x	x						x	x	x	x	x	x							x	x	x	
Identificação dos parasitos		x	x	x			x	x					x	x	x				x	x							x
Análises								x	x	x	x	x				x					x	x					x
Redação																						x	x	x	x	x	x

Referências

AHO, J. M. Helminth communities of amphibians and reptiles: comparative approaches to understanding patterns and processes. In: G. W. Esch; A. O. Bush; J. M. Aho (Orgs.); Parasite Communities: Patterns and Processes. p.157–195, 1990.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Biodiversidade Brasileira: Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros. Brasília, 2002. 404 p. disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/chm/_arquivos/biodivbr.pdf>. Acesso em: 19 jun. 2018.

BRASIL. SOS Mata Atlântica. Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica: Relatório Técnico. São Paulo: Arcplan, 2013. 61 p. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/wp-content/uploads/2013/06/atlas_20112012_relatorio_tecnico_2013final.pdf> Acesso em: 30 jun. 2018.

BROOKS, Daniel R. et al. Ecological fitting as a determinant of the community structure of Platyhelminth parasites of anurans. *Ecology*, v. 87, n. 7, p.76-85, jul. 2006.

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, 7 out. 2015a. Cambridge University Press (CUP).

CAMPIÃO, K. M. et al. 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, 16 out. 2015b. Public Library of Science (PLoS).

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

CAVENDER-BARES, J.; KOZAK, K. H.; FINE, P. V. A.; KEMBEL, S. W. The merging of community ecology and phylogenetic biology. *Ecology Letters*, v. 12, n. 7, p. 693–715, 2009.

COOPER, N.; GRIFFIN, R.; FRANZ, M.; OMOTAYO, M.; NUNN, C. L. Phylogenetic host specificity and understanding parasite sharing in primates. (J. Fryxell, Org.) *Ecology Letters*, v. 15, n. 12, p. 1370–1377, 2012.

- CRIVELLARI, L. B. Amphibians of grasslands in the state of Paraná, southern Brazil (Campos Sulinos). *Herpetology Notes*, v.7, p. 639-654. nov. 2014.
- CRUMP, M.L e SCOTT,N.J, Jr. Visual encounter survey.In: Heyer, W.R.Donnelly, MA; McDiarmid, R.W, Donnelly, Heyek, L.C, and Foster, M.S.(Eds) *Measuring and monitoring Biological diversity, Standard Methods for Amphibians* Smithsonian Institution Press, Washington D.C: pp 84-91. 1994.
- FOUNTAIN-JONES, N. M.; PEARSE, W. D.; ESCOBAR, L. E.; et al. Towards an ecophylogenetic framework for infectious disease ecology: Eco-phylogenetics and disease ecology. *Biological Reviews*, v. 93, n. 2, p. 950–970, 2018.
- FROST, D. 2021. American Museum of Natural History. Disponível em: < <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/> >. Acesso em: 12 set. 2021.
- HADDAD, C.F.B.; TOLEDO, L.F.; PRADO, C.P.A.; LOEBMANN, D.; GASPARINI, J.L.; SAZIMA, I. *Guia dos anfíbios da Mata Atlântica: Diversidade e Biologia*. São Paulo: Anolis, 2013.
- LOYOLA, R. D.; LEMES, P.; BRUM, F. T.; PROVETE, D. B.; DUARTE, L. D. S. Cladespecific consequences of climate change to amphibians in Atlantic Forest protected areas. *Ecography*, v. 37, n. 1, p. 65–72, 2014.
- MOUQUET, N.; DEVICTOR, V.; MEYNARD, C. N.; et al. Ecophylogenetics: advances and perspectives. *Biological Reviews*, v. 87, n. 4, p. 769–785, 2012.
- POULIN, R.; MORAND, S. *Parasite biodiversity*. Washington, DC: Smithsonian Institution Books, 2004, 216pp.
- POULIN, R.; MOUILLOT, D. Host specificity and the probability of discovering species of helminth parasites. *Parasitology*, v. 130, n. 6, p. 709–715, 2005.
- RIBEIRO, Milton Cezar et al. 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, jun. 2009.
- SILVANO, D.L. & SEGALLA, M.V. Conservação de anfíbios no Brasil. *Megadiversidade*, 1(1):79-86, 2005.
- WELDON, C.; DU PREEZ, L. H.; HYATT, A. D.; MULLER, R.; SPEARE, R. Origin of the Amphibian Chytrid Fungus. *Emerging*