

## RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 12/07/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
Câmpus de São José do Rio Preto

Paula Maria Rosa

**Trematódeos digenéticos (Platyhelminthes: Digenea) influenciam o desempenho da alimentação e comportamentos antipredatórios em girinos?**

São José do Rio Preto  
2021

Paula Maria Rosa

**Trematódeos digenéticos (Platyhelminthes: Digenea) influenciam o desempenho da alimentação e comportamentos antipredatórios em girinos?**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CNPq (GM - 131805/2019-3) e (PQ/CNPq – 302328/2017-3)

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise de Cerqueira  
Rossa-Feres

Coorientador: Prof. Dr. Luciano Alves dos Anjos

São José do Rio Preto  
2021

R788t

Rosa, Paula Maria

Trematódeos digenéticos (Platyhelminthes: Digenea) influenciam o desempenho da alimentação e comportamentos antipredatórios em girinos? /

Paula Maria Rosa. -- São José do Rio Preto, 2021

42 f. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Denise de Cerqueira Rossa-Feres

Coorientador: Luciano Alves dos Anjos

1. Endoparasitos. 2. Digenea. 3. Larvas de Anfíbios. 4. Alterações Comportamentais. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Paula Maria Rosa

**Trematódeos digenéticos (Platyhelminthes: Digenea) influenciam o desempenho da alimentação e comportamentos antipredatórios em girinos?**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CNPq (GM - 131805/2019-3) e (PQ/CNPq – 302328/2017-3)

**Comissão Examinadora**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise de Cerqueira Rossa-Feres  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto  
Orientador

Prof. Dr. Fausto Nomura  
UFG – Câmpus de Goiânia

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karla Magalhães Campião  
UFPR – Câmpus de Curitiba

São José do Rio Preto  
12 de julho de 2021

Àqueles que acreditam na ciência e que admiram os processos da natureza que me trouxeram até aqui. Que isso também possa guiar os que virão.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Profa. Dra. Denise de Cerqueira Rossa-Feres, por toda jornada desde a minha Iniciação Científica I. Por ter inspirado todo amor, curiosidade e compromisso com a pesquisa. Agradeço imensamente por cada conversa (por vezes acompanhada de choro), cada conselho e cada sugestão. Inclusive por me apoiar nas ideias de projeto, principalmente na área experimental, que descobrimos ser bem imprevisível, mas extremamente interessante. A senhora é como uma mãe para mim, aquela pessoa que cuida, que quer saber como tudo está indo e que eu confio de olhos fechados para falar sobre qualquer assunto. Muito obrigada por ter feito parte da minha pequena carreira científica até aqui, tudo que a senhora me ensinou e fez por mim jamais será esquecido. Eu só tenho a agradecer pela oportunidade, privilégio e sorte de ser sua aluna, pois tudo que vivi não contribuiu somente para meu crescimento profissional, mas pessoal e humano, também. A senhora não é uma orientadora fácil de se encontrar, por fazer questão de ser próxima dos alunos, amiga e carinhosa em um nível que ultrapassa a relação aluno-orientador.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Luciano Alves dos Anjos, que fez uma visita muito feliz a minha orientadora quando eu estava pensando no tema do meu projeto de mestrado. Agradeço por toda ajuda, desde a disponibilização dos seus alunos do laboratório para me ajudarem (e que equipe!), todo material de coleta e de laboratório necessários não só para o desenvolvimento do meu projeto, mas também para realização do meu estágio, onde pude aprender todas as técnicas e métodos adequados que empreguei no decorrer dos meus experimentos. O senhor proveu todo meu conhecimento e interesse por parasitos, quem diria?! Eu detestei essa matéria na graduação! Obrigada por todo apoio, por me receber de braços abertos e por ter me apresentado não só colaboradores, mas também amigos e pesquisadores sensacionais que passaram a fazer parte da minha vida.

Ao meu amigo e colaborador Dr. Murilo de S. Queiroz, que me acompanhou desde o início na parasitologia, me ensinou tudo na prática, desde o meu estágio no laboratório e que sempre me ajudou, mesmo a distância em todas as dúvidas que eu tive ao longo do meu mestrado. Que sorte a minha conhecer um pesquisador tão competente e disposto a colaborar comigo. Obrigada por todas as mensagens respondidas, mesmo fora do horário comercial, por todas as dicas, orientações, ideias e pelos dias que não pode se dedicar ao seu doutorado por estar me ajudando a coletar caramujos e identificar cercárias e metacercárias. Sua contribuição foi fundamental para o desenvolvimento desse projeto.

Ao meu amigo e colaborador Dr. Rodolfo Mei Pellinson, que mesmo antes de ser meu colaborador oficial já me ajudava muito com meus dados. Obrigada por ter aceitado prontamente a me orientar nas análises estatísticas, por toda paciência em me ensinar essa ciência que é tão complexa, por responder milhares de vezes a mesma pergunta e por essa didática incrível que você tem! Sem dúvidas eu estaria olhando para interface do R sem saber o que fazer até agora, se não fosse por você. Também agradeço por nunca ter me dado o peixe e por ter me ensinado a pescar. Com certeza eu amadureci muito com todos os seus ensinamentos. Obrigada também por sua amizade, por ter me dado a oportunidade em ajudar um pouquinho com a sua coleta de dados do Doutorado e pelos momentos divertidos que vivemos nos bares, churrascos da biologia e na cidade de São Paulo.

Agradeço imensamente à Profa. Dra. Lilian Casatti que contrubui com a minha formação desde que a conheci. Tenho nela uma grande admiração e inspiração, principalmente pelo seu pensamento crítico, por sempre defender seus ideais e por nos fazer pensar criticamente dentro do contexto histórico-social que estamos inseridos. Muito obrigada pelos comentários na minha qualificação e por toda a ajuda, seja me emprestando livros de parasito, me mandando artigos sensacionais e indicando pessoas para me avaliar. Você é fonte de força e de coragem, professora. Como diria o meu amigo João Paulo, para resolver um problema basta pensar: “O que a Lilian Casatti faria nessa situação?”.

Também agradeço a Profa. Dra. Karla M. Campião, pela contribuição direta na melhoria dessa pesquisa, por meio de todas as sugestões, críticas e pela disponibilidade em avaliar meu trabalho.

Primeiramente agradeço por terem aceitado contribuir com esse trabalho. Vocês são pesquisadores incríveis e de grande destaque, que com certeza farão toda diferença nessa avaliação. Meus sinceros agradecimentos e admiração, Prof. Dr. Fausto Nomura e Profa. Dra. Karla M. Campião.

Primeiramente agradeço a minha mãe, dona Nelza, quem me criou e quem sempre me ensinou a observar e admirar a natureza, por todo suporte e apoio financeiro, além de ser uma grande admiradora dos meus estudos. Ao meu pai, que nem sempre presente, me levou para conhecer os lugares mais lindos do nosso país, sempre muito entusiasta da biodiversidade dos nossos biomas.

Aos meus tios, irmãos e irmãs da minha mãe, por todas as palavras de conforto e coragem sempre que eu quis desistir da graduação e voltar para casa dos meus pais.

Ao meu amigo e colega de programa de pós, Douglas Ribeiro, por todas as receitas de ração para girinos mais baratas e fáceis de fazer, por todos os dias de coleta que você participou sem pensar duas vezes, por todo material que cedeu para eu realizar os meus experimentos, por todas as discussões sobre ciência e por me receber na sua casa, junto com a Jumma, todas as vezes que eu tive que ficar mais de um dia em Ilha Solteira. Agradeço por vocês dois me apresentarem a cidade e todos os lugares bons de comer por um preço camarada, por não me deixarem com fome no jantar fazendo stroganoff e pão com ovo e por terem me recebido tão bem, como se já nos conhecêssemos há muito tempo.

Aos meus amigos de graduação e pós-graduação: André Vitor, Ariane Queiroz, Ivan F. Golfetti, Igor Noll, João Paulo S. Silva, Vitor F. Oliveira e Ynaiá Y. Marques; por todos os momentos que compartilhamos de alegria, tristeza, perrengues e por toda ajuda e suporte que vocês me deram ao longo de todos esses anos, me acompanhando nas coletas, dando ideias e soluções. Agradeço a amizade e por compartilharmos tanto. Sem a participação de vocês na minha vida, nada disso seria possível. Obrigada por segurarem a minha mão.

Às minhas amigas de casa, minhas irmãs e parceiras para todas as horas. Muito obrigada Ana Rita L. R. V. Barbas e Caroline A. de Almeida, pelos jantares e cafés da tarde, por todas as risadas e brincadeiras, por me acompanharem no médico e quando eu fiz cirurgia. Obrigada por cuidarem tão bem de mim e me fazer sentir bem, segura

e acolhida em casa, livre (nem sempre) de qualquer julgamento. Eu amo vocês demais!

Às minhas amigadas de longa data, que se fizeram quando eu ainda estava na escola e que duram até hoje. Meus amigos, Luana B. Bonilha, Jhonatan Lodo e Tainá F. Lente, muito obrigada por estarem até hoje ao meu lado. Por sempre cuidarem de mim, pelos momentos mais divertidos que vivi, risadas e muito companheirismo. Agradeço tanto por terem me permitido ser amiga de vocês, tenho muita sorte. Aos meus amigos que ingressaram no mesmo ano que eu na graduação, Leonardo H. C. Longo e Vitor H. da S. da Silva, por também nunca terem me abandonado e por compartilharem tudo comigo. Agradeço também ao meu amigo Leonardo Zagui, que em pouco tempo conquistou tudo que tinha para conquistar de mim! Sou muito feliz por ter vocês na minha vida e pela consideração que temos uns pelos outros, por me darem casa e ouvidos sempre que preciso.

Agradeço meu amigo alma-gêmea Julio B. Ronchi, por me entender como ninguém mais consegue. Por toda paciência que ele tem para me explicar que eu sou extremamente passional e que a maioria das coisas que me fazem sofrer existem apenas na minha cabeça. Muito obrigada por me carregar no colo, por todos os momentos engraçados e por me deixar reclamar à vontade. Obrigada por existir e saiba que eu admiro muito sua luta e estou sempre ao seu lado, assim como você está por mim!

Por fim, agradeço minha amiga Izabella L. Tambones, por ser a maior admiradora e incentivadora do meu trabalho. Obrigada por todos os conselhos, por toda motivação para eu entrar na pós e por me ensinar tanto sobre amor em seus vários formatos. Obrigada pelo apoio em todos os momentos importantes. Eu amo você.

Aos meus colegas do laboratório, em especial a Dra. Fabiane Annibale, que sempre me socorreu em momentos de incerteza, além de ter sido minha coorientadora de Iniciação Científica II e no Trabalho de Conclusão de Curso. Também agradeço por cada ideia, sugestão e cada conversa compartilhada. Agradeço a Katiuce Pichelli, por todos os abraços, conversas e por ela ser uma fotógrafa e girinóloga excelente! Apreendi muita coisa com você, Kat. Agradeço aos técnicos Cristiano, por cuidar da coleção como ninguém e pelas sugestões que me deu quando eu precisava esterilizar os aquários; e ao Carlos, que sempre me acompanhou nas coletas de desovas e em algumas de caramujos, sempre disposto e incansável no trabalho braçal de ficar passando a peneira pesada sob sol ardente, sempre de muito bom humor.

Agradeço ao Prof. Dr. Florindo e todo o pessoal do Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados, por todas as vezes que me emprestaram material, me deram café, me contaram histórias, permitiram que eu desabafasse inúmeras vezes sobre assuntos para além dos acadêmicos e por me deixarem dormir embaixo da bancada em dias que eu tinha tanta dor de cabeça que não conseguia nem ir para a casa. O apoio de vocês em momentos de descontração foi fundamental para que eu tomasse um ar e voltasse para meus experimentos que nem sempre davam certo.

O presente trabalho foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) a Paula Maria Rosa (GM - 131805/2019-3) e pela Bolsa de Pesquisa (PQ/CNPq – 302328/2017-3) a Denise de C. Rossa-Feres.

Muito obrigada a todos, que direta ou indiretamente, contribuíram para que essa dissertação acontecesse.

“[...] Ela não queria saber *como* uma coisa era feita, mas o *porquê*. Isso pode ser embaraçoso. Você pergunta o *porquê* de muitas coisas e, se insistir, acaba se tornando realmente muito infeliz. A coitada da garota está morta, e foi melhor para ela.”

Bradbury, Ray (2003, p. 84).

## RESUMO

Girinos de anuros são hospedeiros intermediários de um grande número de espécies de trematódeos digenéticos e, portanto, um importante elo na transmissão desses parasitos para os hospedeiros terrestres. Com o objetivo de avaliar o efeito desses parasitos no comportamento de girinos desenvolvemos um estudo experimental, sob a hipótese de que as alterações comportamentais induzidas pelos parasitos poderiam facilitar a predação dos girinos pelos hospedeiros definitivos. Os parasitos *Lophosicyadiplostomum* sp. e uma espécie de Echinostomatidae foram obtidos de moluscos Planorbidae, hospedeiros intermediários de trematódeos digenéticos e girinos de *Physalaemus cuvieri*, obtidos de desovas coletadas em campo, foram experimentalmente infectados. Experimentos idênticos foram conduzidos para girinos infectados com cada um desses parasitos, de modo a obtermos as mesmas variáveis resposta, que quantificaram aspectos da atividade e taxa de consumo de alimento pelos girinos. Os girinos parasitados por *Lophosicyadiplostomum* sp. consumiram maior quantidade de alimento, apresentaram menor tempo de atividade e de deslocamento, mas não apresentaram alteração na resposta de escape a predadores. Os girinos parasitados por Echinostomatidae também apresentaram menores tempo de atividade e de deslocamento, mas seu tamanho e a velocidade de arranque na resposta de escape a predadores foram maiores. Os resultados obtidos evidenciam que os dois parasitos alteraram o comportamento dos girinos e, apesar de causarem alterações similares no tempo de atividade e no número de deslocamentos efetuados pelos girinos, provavelmente possuem estratégias diferentes de transmissão para o hospedeiro definitivo.

**Palavras-chave:** Endoparasitos; Digenea; Larvas de Anfíbios; Alterações Comportamentais.

## ABSTRACT

Tadpoles are intermediate hosts of a great number of digenetic trematodes and an important link between these parasites and their terrestrial final hosts. Aiming at assessing the effect of parasites on tadpole behavior, we conducted experiments to test the hypothesis that the behavioral changes induced by parasites could facilitate the predation of tadpoles by their definitive hosts. The parasites of *Lophosicyadiplostomum* sp. and Echinostomatidae family were obtained from Planorbid gastropods, which are intermediate hosts of digenetic trematodes. Tadpoles of *Physalaemus cuvieri* were obtained from foam nests collected at temporary ponds and tadpoles hatched in the laboratory. We conducted two experiments in order to quantify different aspects of activity and consumption rates for both parasite types. Tadpoles infected by *Lophosicyadiplostomum* sp. consumed a larger amount of food, exhibited lower activity time, a lower number of movements, and exhibited no alteration in their scape response to predators. On the other hand, tadpoles with cists of Echinostomatidae, although exhibiting similar patterns of activity time and number of movements, exhibited higher body length and starting speed (cm/s) when scaping from predation. Our results emphasize that both parasites altered the behavior of tadpoles and, despite causing similar changes in activity time and number of movements, they probably differ in transmission strategies to their final host.

**Keywords:** Endoparasites; Digenea; Amphibian Larvae; Behavior Modifications.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> – A - Parte do córrego que dá origem a uma poça onde parte da coleta foi realizada; e B – Desova em espuma obtida na coleta.....                                                                                                                                                                                                      | 17 |
| <b>Figura 2</b> – A – Parte da lagoa temporária formada pelo Córrego da Véstia, local de coleta dos caramujos; e B – Amostra de um exemplar ( <i>Drepanotrema lucidum</i> ) obtido nas coletas.....                                                                                                                                                   | 18 |
| <b>Figura 3</b> – Dois tipos cercarianos utilizados nas infecções experimentais. A - tipo Distoma Longifurcada Faringeada e B - tipo Equinostoma.....                                                                                                                                                                                                 | 19 |
| <b>Figura 4</b> – A: metacercária de <i>Lophosicyadiplostomum</i> sp.; B: cistos de Echinostomatidae sob a pele dos girinos; e C: um cisto que foi retirado da cauda.....                                                                                                                                                                             | 22 |
| <b>Figura 5</b> – (A) Tempo de atividade (em segundos) nos períodos dia e noite (B); número de deslocamentos nos períodos do dia e da noite; (C) proporção de alimento consumido por; e (D) tamanho (em centímetros) dos girinos infectados por <i>Lophosicyadiplostomum</i> sp. (parasitado) e girinos não infectados (não parasitado).....          | 27 |
| <b>Figura 6</b> – Relação da carga parasitária de cercárias de <i>Lophosicyadiplostomum</i> sp. na atividade dos girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> . (A) Tempo de atividade (em segundos) e (B) número de deslocamentos.....                                                                                                                      | 28 |
| <b>Figura 7</b> – (A) Tempo de atividade (em segundos) nos períodos do dia e da noite (B); número de deslocamentos nos períodos do dia e da noite (C); proporção de alimento consumido (D) e tamanho ao final do experimento dos girinos (em centímetros) infectados por Echinostomatidae (parasitado) e girinos não infectados (não parasitado)..... | 29 |
| <b>Figura 8</b> – Relação da carga parasitária de cistos da família Echinostomatidae na atividade dos girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> . (A) Tempo de atividade (em segundos) e (B) número de deslocamentos.....                                                                                                                                 | 29 |
| <b>Figura 9</b> – Desempenho na natação de arranque em girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> infectados por trematódeos da família Echinostomatidae (parasitados) e não infectados.....                                                                                                                                                               | 31 |

## SUMÁRIO

|            |                                                                           |           |
|------------|---------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>   | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                                                    | <b>13</b> |
| <b>2</b>   | <b>METODOLOGIA.....</b>                                                   | <b>17</b> |
| <b>2.1</b> | <b>Espécies.....</b>                                                      | <b>17</b> |
| <b>2.2</b> | <b>Delineamento experimental.....</b>                                     | <b>19</b> |
| 2.2.1      | Experimento 1 – Influência do parasito no comportamento dos girinos.....  | 20        |
| 2.2.2      | Experimento 2 – Influência do parasito na natação de escape dos girinos.. | 21        |
| <b>2.3</b> | <b>Análises estatísticas.....</b>                                         | <b>22</b> |
| <b>3</b>   | <b>RESULTADOS.....</b>                                                    | <b>25</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Influência do parasito no comportamento dos girinos.....</b>           | <b>26</b> |
| <b>3.2</b> | <b>Influência do parasito na natação de escape dos girinos.....</b>       | <b>30</b> |
| <b>4</b>   | <b>DISCUSSÃO.....</b>                                                     | <b>32</b> |
| <b>5</b>   | <b>CONCLUSÃO.....</b>                                                     | <b>36</b> |
|            | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                   | <b>37</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Os Digenea compõem uma das duas subclasses de Trematoda, que, por sua vez, junto com as classes Cestoda e Monogenea, formam o clado Neordermata, dentro do filo Platyhelminthes (OLSON *et al.*, 2003). Nas três classes citadas, todas as formas de vida são parasíticas (JOHNSON; LUNDE, 2005), embora Digenea seja a subclasse que apresente indivíduos com o ciclo de vida mais complexo dentre esses clados, além de representar o maior grupo de metazoários endoparasitos (CRIBB *et al.*, 2003; OLSON *et al.*, 2003). Eles possuem, obrigatoriamente, um hospedeiro intermediário e um definitivo, mas seu ciclo pode incluir até quatro hospedeiros intermediários diferentes, que infectam o hospedeiro das mais variadas formas (ESCH; BARGER; FELLIS, 2002; OLSON *et al.*, 2003; TRAVASSOS, 1950). Geralmente é no segundo hospedeiro intermediário (e.g. larvas de insetos, anelídeos, girinos e peixes) que são formadas as metacercárias, formas que são transmitidas ao hospedeiro definitivo (PINTO; DE MELO, 2013). Parasitos que possuem um segundo hospedeiro intermediário apresentam maior sucesso de infecção e conclusão do ciclo reprodutivo quando o hospedeiro intermediário é ingerido pelo definitivo, já que o encistamento direto no hospedeiro definitivo frequentemente é eliminado pela resposta imune do hospedeiro (ORLOFSKE, SARAH A. *et al.*, 2012).

As metacercárias de platelmintos digenéticos são agentes causadores de malformações nos membros e de altos índices de mortalidade em adultos e larvas de anfíbios, tanto em condições naturais quanto experimentais (GOODMAN; JOHNSON, 2011; JOHNSON; LUNDE, 2005; SCHOTTHOEFER; COLE; BEASLEY, 2003). Aumenta o interesse por esse grupo de parasitos, o fato dos anfíbios representarem o grupo de vertebrados mais ameaçado na atualidade, com declínio mundial documentado há pelo menos 30 anos (CAMPBELL GRANT; MILLER; MUTHS, 2020; GREEN *et al.*, 2020).

Estudos que investigaram os efeitos da interação parasitos digenéticos e girinos avaliaram principalmente estratégias antiparasitas e/ou efeitos do parasito na resposta de escape de predadores. Koprivnikar *et al.* (2006) demonstraram que girinos *Lithobates clamitans* e *L. sylvaticus* tiveram o nível de atividade, determinado pela porcentagem de tempo que os girinos permaneceram nadando, aumentado na presença de cercarias de *Echinostoma trivolvis*, o que foi interpretado pelos autores como uma forma de evitar o contágio. Em acordo com esse resultado, girinos de *L.*

*sylvaticus* considerados mais ativos e que exploraram mais o ambiente foram menos susceptíveis ao contágio por *Echinoparyphium* sp. (KOPRIVNIKAR; GIBSON; REDFERN, 2012). Além disso, a queda na temperatura da água, que reduz a atividade dos girinos, provocada pelos pesquisadores nesse trabalho, levou a um aumento na prevalência de parasitos (KOPRIVNIKAR; FORBES; BAKER, 2006; SZUROCZKI; RICHARDSON, 2012). Dois outros estudos reforçam esses resultados. Girinos de *Pseudacris regilla* anestesiados, portanto incapazes de se deslocar, tiveram aumento de 20 a 39% na chance de serem infectados por parasitos dos gêneros *Ribeiroia* e *Echinostoma* (DALY; JOHNSON, 2011); e por meio da análise de vídeos (ROHR et al., 2009) demonstraram que girinos podem evitar cercárias livres e caramujos que estão emitindo cercárias de *Echinostoma trivolvis*, se distanciando desses organismos.

Quando combinada com a presença de predadores, a influência de parasitos digenéticos difere conforme a espécie de hospedeiro. Girinos de *L. sylvaticus* reduziram o tempo de natação na presença do parasito *E. trivolvis* e do predador *Lepomis gibbosus*, enquanto os girinos de *L. catesbeianus* aumentaram os níveis de atividade (SZUROCZKI; RICHARDSON, 2012). Os girinos que apresentaram menor taxa de atividade tiveram carga parasitária mais elevada em comparação com os de *L. catesbeianus* que apresentaram maior taxa de atividade, sendo que nem todos os girinos foram infectados (SZUROCZKI; RICHARDSON, 2012). Resultado semelhante foi obtido por Thiemann et. al. (2000) em experimento que evidenciou que a resposta a presença de parasitos e predadores difere entre girinos de espécies diferentes. Girinos de *L. sylvaticus* apresentaram maior redução na atividade, enquanto os de *L. clamitans*, embora tenham também reduzido a atividade na presença de parasitos e predadores separadamente, não manifestaram redução significativa no além da já observada no tratamento combinado. Como resultado, o número de parasitos encistados em girinos de *L. sylvaticus* não diferiu entre o grupo exposto apenas aos parasitos e o grupo exposto a uma combinação de parasitos e predadores, ao passo que os girinos de *L. clamitans* do grupo exposto a parasitos e predadores combinados, quando a redução da sua atividade não foi significativa, tiveram um aumento de 16% no número de cistos (THIEMANN; WASSERSUG, 2000). Entretanto, o aumento na atividade, que pode evitar ou diminuir a infecção pelo parasito, pode atrair a atenção de predadores (BAKER; SMITH, 1997), já que cessar o deslocamento e permanecer

imóvel é uma conhecida estratégia antipredatória (HEYER; MCDIARMID; WEIGMANN, 1975; NOMURA *et al.*, 2013; WATKINS, 1996).

Diversos experimentos (SZUROCZKI; RICHARDSON, 2012; THIEMANN; WASSERSUG, 2000) indicam ainda que as respostas dos girinos ao parasitismo podem ser espécie-específicas. Por exemplo, a presença de metacercárias de *Echinoparyphium* no ambiente levou a um aumento nos níveis de atividade de girinos de três espécies (*Anaxyrus americanus*, *Lithobates sylvaticus* e *L. catesbeianus*), enquanto uma redução na atividade foi observada em duas outras espécies, *L. pipiens* e *Hyla versicolor* (KOPRIVNIKAR; REDFERN; MAZIER, 2013). Esse resultado indica que a reação a presença de parasitos não segue um padrão, uma vez que as espécies diferem em vulnerabilidade e em mecanismos de defesa (BELDEN; WOJDAK, 2011; KOPRIVNIKAR; REDFERN; MAZIER, 2013). Aspectos da história de vida, como o tempo que os girinos demoram para completar a metamorfose, podem influenciar as estratégias comportamentais ou imunológicas contra patógenos, dependendo da espécie em questão (KOPRIVNIKAR; REDFERN; MAZIER, 2013).

Nesse contexto, estratégias imunológicas mais elaboradas foram observadas em girinos que levam mais tempo para completar a metamorfose, enquanto que estratégias comportamentais foram predominantes em girinos com período de desenvolvimento mais curto, embora isso não seja uma regra (KOPRIVNIKAR; REDFERN; MAZIER, 2013; SZUROCZKI; RICHARDSON, 2012). Entretanto, essa não é uma relação unidirecional, pois uma intensa infecção por *Echinostoma trivolvis* foi responsável pela redução no crescimento e atraso no desenvolvimento de girinos de *L. sylvaticus* (ORLOFSKE, S. A.; BELDEN; HOPKINS, 2013). Esse efeito se deu, provavelmente, por alteração na fisiologia dos indivíduos parasitados, embora não tenha sido observada mudança na taxa metabólica, determinada pela taxa metabólica padrão, obtida por meio de respirometria (ORLOFSKE, S. A.; BELDEN; HOPKINS, 2013). Os autores sugerem que o desenvolvimento tenha sido retardado em razão da interferência dos cistos no desenvolvimento dos rins, inferindo que, no ambiente natural, esse atraso estenderia o tempo de exposição do hospedeiro a mais patógenos e outras ameaças (ORLOFSKE, S. A.; BELDEN; HOPKINS, 2013; RAFFEL *et al.*, 2010).

É importante considerar que esses estudos foram desenvolvidos majoritariamente com espécies de parasitos e de girinos de regiões temperadas, que possuem aspectos de história de vida diferentes e estão submetidos a condições climáticas diferentes

das de regiões tropicais e subtropicais (KEARNEY; PORTER, 2009; VASCONCELOS *et al.*, 2010). Por exemplo, em regiões temperadas, Echinostomatidae (MARINO; HOLLAND; MAHER, 2014), tem como sítio de encistamento os rins dos girinos (MARINO; HOLLAND; MAHER, 2014), enquanto que em regiões tropicais, parasitos dessa mesma família encistam na região subcutânea da cauda (HAMANN; GONZÁLEZ, 2009).

O ciclo de vida dos trematódeos digenéticos parasitos de girinos no Brasil é muito pouco conhecido, bem como seu efeito sobre o comportamento e desenvolvimento dos girinos (QUEIROZ, MURILO S. *et al.*, 2020; TRAVASSOS, 1950). Sabe-se que eles possuem uma grande variedade de hospedeiros intermediários, desde invertebrados a vertebrados ectotérmicos, bem como de hospedeiros definitivos, que envolvem qualquer grupo de vertebrado (ESCH; BARGER; FELLIS, 2002). Nesse estudo, investigamos experimentalmente se trematódeos digenéticos levam a alterações comportamentais em girinos, especificamente no nível de atividade, eficiência de forrageamento e na natação de escape à predadores. Alterações nesses comportamentos são comumente associadas ao que se conhece como estratégias de transmissão trófica, conceito designado para parasitos que causam alterações comportamentais complexas no hospedeiro intermediário, como o aumento na exposição e a redução do nível de alerta do indivíduo, que parecem facilitar sua predação pelo hospedeiro definitivo (KURIS, 2003).

## 5. CONCLUSÃO

As cercárias de ambos os parasitos diminuíram o tempo de atividade e o número de deslocamentos dos girinos de *Physalaemus cuvieri* o que, considerando sua coloração críptica, pode dificultar sua captura por aves, que são o hospedeiro definitivo de *Lophosicyadiplostomum* sp, bem como por outros predadores. Dessa forma, é possível que a transmissão para o hospedeiro definitivo ocorra pelo consumo dos anuros adultos. O hospedeiro definitivo e o ciclo de vida de Echinostomatidae permanecem desconhecidos para grande parte dos representantes dessa família na região neotropical, o que limita a interpretação dos resultados obtidos.

O aumento na taxa de consumo de alimento pelos girinos parasitados por cercárias de *Lophosicyadiplostomum* sp. não resultou em maior crescimento, contrastando com o maior tamanho observado nos girinos parasitados por cercárias de Echinostomatidae, a despeito de não ter ocorrido alteração na taxa de consumo de alimento. É possível que essa diferença resulte dos diferentes órgãos de encistamento das cercárias e/ou de diferentes estratégias de transmissão dos parasitos.

O maior tamanho dos girinos parasitados por Echinostomatidae e seu melhor desempenho na resposta de escape a simulação de predação, em comparação com os girinos infectados por *Lophosicyadiplostomum* sp., sugerem que o ciclo de vida de Echinostomatidae, sua transmissão para e as espécies de hospedeiro definitivo seja diferente dos de *Lophosicyadiplostomum* sp.

## REFERÊNCIAS

- ANNIBALE, Fabiane S. *et al.* Influence of substrate orientation on tadpoles feeding efficiency. *Biology Open*, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2019.
- AUDO, M. C. *et al.* Food deprivation during different periods of tadpole (*Hyla chrysoscelis*) ontogeny affects metamorphic performance differently. *Oecologia*, v. 103, n. 4, p. 518–522, 1995.
- BADETS, M.; MORRISON, C.; VERNEAU, O. Alternative parasite development in transmission strategies: How time flies! *Journal of Evolutionary Biology*, v. 23, n. 10, p. 2151–2162, 2010.
- BAKER, Robert L.; SMITH, Bruce P. Conflict between antipredator and antiparasite behaviour in larval damselflies. *Oecologia*, v. 109, n. 4, p. 622–628, 1997.
- BEGON; TOWNSEND; HARPER. *Ecologia de indivíduos a ecossistemas*. 4<sup>a</sup> ed. [S.l.]: Artmed, 2007.
- BELDEN, Lisa K.; WOJDAK, Jeremy M. The combined influence of trematode parasites and predatory salamanders on wood frog (*Rana sylvatica*) tadpoles. *Oecologia*, v. 166, n. 4, p. 1077–1086, 2011.
- BRADBURY, Ray. *Fahrenheit 451*. 2. ed. São Paulo: Globo, 2003.
- BRANNELLY, Laura A. *et al.* Effects of hydroperiod on growth, development, survival and immune defences in a temperate amphibian. [S.l.: s.n.], 2019. v. 33.
- BRASIL. *Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica*. 2<sup>a</sup> ed. Brasília: [s.n.], 2008.
- BRIDGES, Christine M. Tadpole swimming performance and activity affected by acute exposure to sublethal levels of carbaryl. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 16, n. 9, p. 1935–1939, 1997.
- BUSH, Albert O. *et al.* Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology*, v. 83, n. 4, p. 575–583, 1997.
- CAMPBELL GRANT, Evan H.; MILLER, David A.W.; MUTHS, Erin. A Synthesis of evidence of drivers of amphibian declines. *Herpetologica*, v. 76, n. 2, p. 101–107, 2020.
- CHAPPELL, L. H. The biology of diplostomatid eyeflukes of fishes. *Journal of Helminthology*, v. 69, n. 2, p. 97–101, 1995.

CRIBB, Thomas H. *et al.* Life Cycle Evolution in the Digenea: A New Perspective from Phylogeny. *Advances in Parasitology*, v. 54, p. 197–254, 2003.

D'HEURSEL, A.; HADDAD, C.F.B. Unpalatability of *Hyla semilineata* tadpoles (anura) to captive and free-ranging vertebrate predators. *Ethology Ecology and Evolution*, v. 11, n. 4, p. 339–348, 1999.

DALY, Elizabeth W.; JOHNSON, Pieter T.J. Beyond immunity: Quantifying the effects of host anti-parasite behavior on parasite transmission. *Oecologia*, v. 165, n. 4, p. 1043–1050, 2011.

DAYTON, Gage H. *et al.* Body shape, burst speed and escape behavior of larval anurans. *Oikos*, v. 111, n. 3, p. 582–591, 2005.

EGEA-SERRANO, A.; TEJEDO, M. Contrasting effects of nitrogenous pollution on fitness and swimming performance of Iberian waterfrog, *Pelophylax perezi* (Seoane, 1885), larvae in mesocosms and field enclosures. *Aquatic Toxicology*, v. 146, p. 144–153, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.11.003>>.

ESCH, Gerald W.; BARGER, Michael A.; FELLIS, K. Joel. The transmission of digenetic trematodes: Style, elegance, complexity. *Integrative and Comparative Biology*, v. 42, n. 2, p. 304–312, 2002.

FERNANDES, Berenice M. M. *et al.* *South American Trematodes Parasites of Birds and Mammals*. Rio de Janeiro: Oficina de Livros, 2015.

FITZPATRICK, John W. Foraging Behavior of Neotropical Tyrant Flycatchers. *The Condor*, v. 82, n. 1, p. 43–57, 1980.

GILL, A. B. The dynamics of prey choice in fish: The importance of prey size and satiation. *Journal of Fish Biology*, v. 63, n. SUPPL. A, p. 105–116, 2003.

GOODMAN, Brett A.; JOHNSON, Pieter T.J. Disease and the extended phenotype: Parasites control host performance and survival through induced changes in body plan. *PLoS ONE*, v. 6, n. 5, p. 1–10, 2011.

GOSNER, Kenneth L. A Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. *Herpetologica*, v. 16, n. 3, p. 183–190, 1960.

GREEN, David M. *et al.* Amphibian population declines: 30 years of progress in confronting a complex problem. *Herpetologica*, v. 76, n. 2, p. 97–100, 2020.

HAAS, Wilfried. Parasitic worms: strategies of host finding, recognition and invasion. *Zoology*, v. 106, n. 4, p. 349–364, 2003.

HAMANN, M. I.; GONZÁLEZ, C. E. Larval digenetic trematodes in tadpoles of six amphibian species from northeastern Argentina. *Journal of Parasitology*, v. 95, n. 3, p. 623–628, 2009. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/abs/10.1645/GE-1738.1>>.

HARTIG, Florian. *DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models*. . [S.l.]: R package version 0.4.1. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=DHARMA>>. , 2021

HARTIG, Sean M. Basic image analysis and manipulation in imageJ. *Current Protocols in Molecular Biology*, n. SUPPL.102, p. 1–12, 2013.

HEYER, W. Ronald; MCDIARMID, Roy W.; WEIGMANN, Diana L. Tadpoles, Predation and Pond Habitats in the Tropics. *Biotropica*, v. 7, n. 2, p. 100, 1975.

JOHNSON, Pieter Tj; LUNDE, Kevin B. Parasite infection and limb malformations : a growing problem in amphibian conservation. *Amphibian Declines: the Conservation Status of United States Species*, n. 1, p. 124–138, 2005.

KEARNEY, Michael; PORTER, Warren. Mechanistic niche modelling: Combining physiological and spatial data to predict species' ranges. *Ecology Letters*, v. 12, n. 4, p. 334–350, 2009.

KOPRIVNIKAR, Janet *et al.* Endocrine and immune responses of larval amphibians to trematode exposure. *Parasitology Research*, v. 118, n. 1, p. 275–288, 2019.

KOPRIVNIKAR, Janet; FORBES, Mark R.; BAKER, Robert L. On the efficacy of anti-parasite behaviour: A case study of tadpole susceptibility to cercariae of *Echinostoma trivolvis*. *Canadian Journal of Zoology*, v. 84, n. 11, p. 1623–1629, 2006.

KOPRIVNIKAR, Janet; GIBSON, Chris H; REDFERN, Julia C. Infectious personalities: Behavioural syndromes and disease risk in larval amphibians. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 279, n. 1733, p. 1544–1550, 2012.

KOPRIVNIKAR, Janet; REDFERN, Julia C.; MAZIER, Hannah L. Variation in anti-parasite behaviour and infection among larval amphibian species. *Oecologia*, v. 174, n. 4, p. 1179–1185, 2013.

KURIS, Armand M. Evolutionary Ecology of Trophically Transmitted Parasites. *Journal of Parasitology*, v. 89, p. S96–S100, 2003.

KURIS, Armand M. Trophic transmission of parasites and host behavior modification. *Behavioural Processes*, v. 68, n. 3 SPEC. ISS., p. 215–217, 2004.

MACARTHUR, R. H.; PIANKA, E. R. On optimal use of a patchy environment. *American Naturalist*, v. 100, p. 603–609, 1966.

MARINO, John A.; HOLLAND, Manja P.; MAHER, Jessica M. Predators and trematode parasites jointly affect larval anuran functional traits and corticosterone levels. *Oikos*, v. 123, p. 451–460, 2014.

MARTINS, Ítalo Moreira *et al.* Detectability is in the eye of the beholder—the role of UV reflectance on tadpole detection and predation by a passerine bird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, v. 75, n. 3, 2021.

MOORE, Janice. *Parasites and the behaviour of animals*. [S.l: s.n.], 2002.

MORAND, Serge *et al.* Body size evolution of oxyurid (nematoda) parasites: The role of hosts. *Oecologia*, v. 107, n. 2, p. 274–282, 1996.

NOMURA, F. *et al.* Are you experienced? Predator type and predator experience trade-offs in relation to tadpole mortality rates. *Journal of Zoology*, v. 289, p. 144–150, 2011.

NOMURA, F. *et al.* Does background colouration affect the behaviour of tadpoles? An experimental approach with an odonate predator. *Ethology Ecology and Evolution*, v. 25, n. 2, p. 185–198, 2013.

OLSON, P. D. *et al.* Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*, v. 33, n. 7, p. 733–755, 2003.

ORLOFSKE, S. A.; BELDEN, L. K.; HOPKINS, W. A. Larval wood frog (*Rana* [=*Lithobates*] *sylvatica*) development and physiology following infection with the trematode parasite, *Echinostoma trivolvis*. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, v. 164, n. 3, p. 529–536, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.12.013>>.

ORLOFSKE, Sarah A. *et al.* Parasite transmission in complex communities: Predators and alternative hosts alter pathogenic infections in amphibians. *Ecology*, v. 93, n. 6, p. 1247–1253, 2012.

PINTO, Hudson A.; DE MELO, Alan Lane. Larvas de trematódeos em moluscos do Brasil: panorama e perspectivas após um século de estudos. *Revista de Patologia Tropical*, v. 42, n. 4, p. 369–386, 2013. Disponível em: <<http://revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/view/27922>>.

POULIN, Robert. Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions. *Advances in the Study of Behavior*, v. 41, p. 151–186, 2010. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0065-3454\(10\)41005-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-3454(10)41005-0)>.

POULIN, Robert. The disparity between observed and uniform distributions: A new look at parasite aggregation. *International Journal for Parasitology*, v. 23, n. 7, p. 937–944, 1993.

PRADO, Vitor H. M. Do *et al.* Niche Occupancy and the Relative Role of Micro-Habitat and Diet in Resource Partitioning Among Pond Dwelling Tadpoles. *South American Journal of Herpetology*, v. 4, n. 3, p. 275–285, 2009.

QUEIROZ, C. de S.; SILVA, F. R.; ROSSA-FERES, D. C. The relationship between pond habitat depth and functional tadpole diversity in an agricultural landscape. *Royal Society*, v. 2, p. 150–165, 2015.

QUEIROZ, Murilo S. *et al.* Helminths of eight anuran species from a remnant riparian forest in the cerrado biome, Brazil. *Herpetology Notes*, v. 13, n. June, p. 463–478, 2020.

R CORE TEAM. *R: A language and environment for statistical computing*. . Vienna, Austria.: Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. , 2021

RAFFEL, Thomas R. *et al.* Parasitism in a community context: Trait-mediated interactions with competition and predation. *Ecology*, v. 91, n. 7, p. 1900–1907, 2010.

REICZIGEL, J.; MAROZZI, M.; FÁBIÁN I, RÓZSA, F. I. *Biostatistics for parasitologists – a primer to Quantitative Parasitology*. . [S.l.]: Trends in Parasitology. Disponível em: <<http://www.zoologia.hu/qp/qp.html>>. , 2019.

ROBAR, Nicholas; MURRAY, Dennis L.; BURNES, Gary. Effects of parasites on host energy expenditure: The resting metabolic rate stalemate. *Canadian Journal of Zoology*, v. 89, n. 11, p. 1146–1155, 2011.

RODGERS, Gwendolen M.; DOWNING, Beatrice; MORRELL, Lesley J. Prey body size mediates the predation risk associated with being “odd”. *Behavioral Ecology*, v. 26, n. 1, p. 242–246, 2015.

ROHR, Jason R. *et al.* Parasites, info-disruption, and the ecology of fear. *Oecologia*, v. 159, n. 2, p. 447–454, 2009.

SCHOTTHOEFER, Anna M. *et al.* Influence of *Ribeiroia ondatrae* (Trematoda: Digenea) infection on limb development and survival of northern leopard frogs (*Rana pipiens*): effects of host stage and parasite-exposure level. *Canadian Journal of Zoology*, v. 81, p. 1144–1153, 2003. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/z03-099>>.

SCHOTTHOEFER, Anna M.; COLE, Rebecca A.; BEASLEY, Val R. Relationship of tadpole stage to location of echinostome cercariae encystment and the consequences for tadpole survival. *The Journal of parasitology*, v. 89, n. 3, p. 475–482, 2003.

SILVA, W. R.; GIARETTA, A. A. Further notes on the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Anura, Leptodactylidae). *Brazilian Journal of Biology*, v. 68, n. 2, p. 403–407, 2008.

SZUROCZKI, Dorina; RICHARDSON, Jean M. L. The behavioral response of larval amphibians (Ranidae) to threats from predators and parasites. *PLoS ONE*, v. 7, n. 11, p. 1–8, 2012.

THIEMANN, Gregory W.; WASSERSUG, Richard J. Patterns and consequences of behavioural responses to predators and parasites in *Rana* tadpoles. *Biological journal of the Linnean society*, v. 71, p. 513–528, 2000.

TOLEDO, Rafael; MUÑOZ-ANTOLI, Carla; ESTEBAN, J. Guillermo. Production and chronobiology of emergence of the cercariae of *Euparyphium albuferensis* (Trematoda: Echinostomatidae). *Journal of Parasitology*, v. 85, n. 2, p. 263–267, 1999.

TRAVASSOS, Lauro. Introdução ao estudo da helmintologia. *Brazilian Journal of Biology*, p. 86–108, 1950.

VAN BUSKIRK, Josh *et al.* Prey risk assessment depends on conspecific density. *Oikos*, v. 120, n. 8, p. 1235–1239, 2011.

VASCONCELOS, Tiago Da Silveira *et al.* Climatic variables and altitude as predictors of anuran species richness and number of reproductive modes in Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, v. 26, n. 4, p. 423–432, 2010.

WATKINS, Timothy B. Predator-mediated selection on burst swimming performance in tadpoles of the pacific tree frog, *Pseudacris regilla*. *Physiological Zoology*, v. 69, n. 1, p. 154–167, 1996.

WILSON, R. S.; JAMES, R. S.; JOHNSTON, I. A. Thermal acclimation of locomotor performance in tadpoles and adults of the aquatic frog *Xenopus laevis*. *Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, v. 170, n. 2, p. 117–124, 2000.

ZUUR, Alain *et al.* *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. New York, NY: Springer, 2009.