



INFLUÊNCIA DA CARGA PARASITÁRIA E FISIOLÓGIA DO COMPORTAMENTO VOCAL EM *HYPISIBOAS PRASINUS* (ANURA: HYLIDAE) DE BOTUCATU, SP, BRASIL.

Carla Bonetti Madelaire¹

”Fernando Ribeiro Gomes²; Reinaldo José da Silva¹

1 - Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, Universidade Júlio de Mesquita Filho, Distrito de Rubião Júnior s/nº, Rubião Júnior, 18619 - 000, Botucatu, Brasil.

2 - Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, Universidade Júlio de Mesquita Filho, Distrito de Rubião Júnior s/nº, Rubião Júnior, 18619 - 000, Botucatu, Brasil.

e - mail:cmadelaire@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Na esmagadora maioria das espécies de anfíbios anuros, a seleção intersexual se dá principalmente a partir da avaliação de componentes acústicos de vocalizações emitidas pelos machos, os chamados “coachos de anúncio” (Haddad 1995). Vocalizações com frequências mais baixas, de maior duração, mais intensas e emitidas mais vezes por unidade de tempo demandam mais energia para serem produzidas, e são aquelas preferidas por fêmeas de muitas espécies (Arak 1983, Gerhardt 1988). O custo energético da manutenção do comportamento vocal para muitas espécies de anuros, já estudados, é extremamente alto quando comparado com aquele associado a outras atividades, tais como exercício locomotor. As diferenças comportamentais entre machos refletem a energia devotada ao comportamento e estão associadas ao componente hereditário de cada indivíduo (Welch 1998). Vários autores sugerem que fêmeas preferem comportamentos energeticamente caros porque permitem avaliar as diferenças genéticas entre os machos. Esta hipótese é corroborada por vários autores em diferentes contextos (e.g. Hamilton e Zuk 1982, Borgia e Collins 1989, Kodric - Brown e Brown 1984, Zahavi 1977).

Hamilton e Zuk (1982) sugeriram que as frequências de alelos, numa população, podem não estar em equilíbrio porque alguma característica do ambiente encontra - se em contínua transformação. Segundo estes autores, a mudança contínua da composição genética da população de parasitas poderia manter a variância genética aditiva das características de resistência a estes e, conseqüentemente, o valor adaptativo da população dos hospedeiros (Hamilton e Zuk 1982). Como o tempo de vida do hospedeiro é tipicamente mais longo que o de seus parasitas, estes apresentam várias gerações que podem encontrar modos de driblar as defesas imunitárias do

hospedeiro. Se o hospedeiro gerar indivíduos geneticamente semelhantes quanto à resistência parasitária, sua progênie será tão suscetível aos parasitas quanto eles. Sendo assim, a única forma do hospedeiro manter - se na corrida evolutiva com os parasitas, é produzindo uma progênie suficientemente diferente a cada geração. Como a composição genética das populações de parasitas muda rapidamente, a vantagem seletiva dos diversos alelos de resistência parasitária torna - se cíclica, criando uma situação de equilíbrio dinâmico e a manutenção do polimorfismo para o valor adaptativo na população dos hospedeiros. A relação da hipótese da rainha vermelha com os caracteres sexuais secundários é que apenas machos em excelentes condições e com genes resistentes a parasitas estão aptos para expressar com maior intensidade suas características de exibição (Hamilton e Zuk, 1982). Desta forma, a intensidade da expressão das características sexuais secundárias dos machos constituiria uma sinalização honesta de sua resistência a parasitas.

No que diz respeito ao padrão anual de reprodução, dentre os anfíbios anuros, o mais comum é a concentração da atividade reprodutiva na época mais quente e chuvosa. Desta forma, o comportamento vocal em um grande número de espécies cessa completamente ou sofre grande decréscimo durante o inverno (Duellman e Trueb 1986). Entretanto, diversas espécies de anuros subtropicais brasileiros mantêm seus padrões de atividade reprodutiva ao longo de todo o ano (Haddad e Sazima, 1992; Rossa - Ferres e Jim, 1994; Bertoluci 1998). Dentre estas espécies, destaca - se *H. prasinus*, que ocorre em elevações moderadas na Floresta Atlântica subtropical e permanece reprodutivamente ativa mesmo durante o inverno (Haddad e Sazima, 1992), quando as temperaturas podem freqüentemente atingir valores abaixo de 10oC. Kiss e colaboradores (2009) não en-

contraram um efeito sazonal nas taxas de vocalização desta espécie, embora haja uma grande queda da capacidade aeróbia do fígado e do coração durante o inverno, parcialmente compensada por um aumento da massa do órgão, no caso do fígado.

OBJETIVOS

Considerando os aspectos acima descritos, os objetivos deste estudo foram testar as seguintes hipóteses: (1) existe uma correlação negativa entre a carga parasitária e a taxa de vocalização; (2) existe variação sazonal da massa cardíaca e fígado, indicativos da capacidade aeróbia e metabólica para a manutenção das taxas de vocalização.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo do animal e local de coleta

Foram estudados exemplares machos de *H. prasinus* do Recanto Sacae Watanabe, Botucatu, SP. A vocalização do macho de *H. prasinus* foi observada e os indivíduos capturados nas duas diferentes estações: inverno e verão.

Observação comportamental

Machos em vocalização foram localizados por inspeção visual e observados durante 30 minutos para quantificar o comportamento vocal. Este período de observação é suficiente para avaliar taxa de vocalização, uma vez que estas se mantêm relativamente constantes por toda atividade noturna. Para reduzir a interferência das observações de comportamento foram usadas lâmpadas vermelhas e o início da contagem de vocalizações se deu 10 minutos após o indivíduo ter sido localizado. Também se tomou nota da distância deste em relação a outros machos no coro. Para cada indivíduo, o número total de vocalizações foi contado e dividido pela amostra de tempo obtendo a média estimada do índice de vocalizações (número de chamados por minuto). Todos os animais foram coletados no horário compreendido entre 20h30min às 23h30min.

Captura dos animais, análise helmintológica e da massa de órgãos

Os indivíduos foram capturados com a mão e acondicionados em vasilhames plásticos. Sendo posteriormente transportados para o Laboratório de Fisiologia Ambiental e Evolutiva, Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu, onde foram realizadas as necropsias para a pesquisa helmintológica. Os animais foram pesados (0.0001g), eutanasiados com solução de tiopental sódico e, em seguida, todos os órgãos internos e a cavidade celomática foram avaliados quanto à presença de helmintos. O fígado, o coração e o restante da carcaça foram secos em estufa 60°C e posteriormente pesados (0.0001g). A massa seca total foi derivada da soma destes três componentes.

Análise estatística

Para as análises para a realização da matriz de correlações, todos os valores das variáveis comportamentais, morfológicas e parasitológicas foram transformados em log10. A massa dos órgãos foi incluída nos testes estatísticos como resíduos da massa corpórea total. A existência de possíveis

correlações entre as variáveis estudadas foi testada através da determinação do coeficiente de Pearson. Diferenças sazonais das variáveis medidas foram testadas através do teste t de student, comparando valores encontrados no verão e no inverno. O nível de significância adotado em todos os testes estatísticos foi de 5%. Os resultados obtidos encontram-se expressos como média \pm desvio - padrão.

RESULTADOS

Foram observados e capturados 25 machos durante o inverno (21, 23, 24 e 29 de julho de 2008) e 17 machos no verão (10, 11, 12 e 13 de fevereiro de 2009). No local de coleta, a temperatura do ar, da água e umidade relativa registradas no verão, foram respectivamente: 21,44°C \pm 0,97; 21,76°C \pm 0,31; e 96,2% \pm 3,1. A temperatura do ar, da água e umidade relativa registradas no inverno, foram respectivamente: 11,40°C \pm 2,63; 18,81°C \pm 0,59; e 86,2% \pm 11,3.

No verão, a taxa de vocalização foi 10,0 \pm 10,7 vocalizações/minuto, enquanto no inverno foi de 10,5 \pm 8,3 vocalizações/minuto, sendo que não houve variação sazonal desta variável ($F(1,39) = 0,348$, $P = 0,559$).

As abundâncias médias de parasitas no verão foram: pulmão 1,9 \pm 3,6, intestino delgado 0,89 \pm 1,24, parasitas totais 3 \pm 3,5; no inverno foram: pulmão 2 \pm 2,6, intestino delgado 2 \pm 3, parasitas totais 4 \pm 4,1. Também não houve variação sazonal desta variável ($F(1,40) = 0,202$, $P = 0,655$). A massa seca do fígado (g) no verão foi: 0,0220 \pm 0,007; no inverno foi: 0,0242 \pm 0,011. A massa seca do coração (g) no verão: 0,0026 \pm 0,004; no inverno: 0,0035 \pm 0,001. A massa seca total no verão: 0,78 \pm 0,23; no inverno: 0,77 \pm 0,23. Animais capturados durante o inverno tiveram massas do coração e do fígado maiores que aqueles capturados durante o verão (fígado $F(1,39) = 94,80$, $P = 0,00$ e coração $F(1,38) = 119,35$, $P = 0,00$).

No inverno, machos com maior número de parasitas no intestino delgado (Pearson = - 0,76) e no pulmão (Person = - 0,73) apresentaram menores taxas de vocalização. A lista de espécies de helmintos encontrados em *H. prasinus* foi: no pulmão, *Rhabdias sp.*; no intestino delgado, *Cylindrotaenia americana* e helmintos da família Cosmocercidae.

Discussão

Os resultados demonstram a existência de correlação negativa entre carga parasitária e comportamento vocal em *H. prasinus* durante o inverno, indicando que a presença de parasitas deve influenciar aspectos da fisiologia deste hospedeiro, reduzindo seu desempenho vocal. A vocalização em anuros é um exercício sustentado aerobiamente (Wells 2001). Em mamíferos, a presença de parasitas pulmonares deve estar associada à redução da eficiência da difusão do pulmão ou injúria dos alvéolos pulmonares. (Behnke e Barnard, 1990). Santos *et al.*, (2008) analisaram o tecido pulmonar de serpentes parasitadas por *Rhabdias sp.* e encontraram grandes áreas de inflamação no tecido decorrente da infecção helmíntica. Desta forma, é possível que o processo inflamatório deflagrado por estes nematódeos também influenciem a barreira de difusão pulmonar em *H. prasinus*. No caso da correlação negativa entre parasitas no intestino delgado e taxa de vocalização, algumas hipóteses podem

ser traçadas: *Drenagem de nutrientes*: neste caso o parasita compete com o hospedeiro pelos recursos energéticos do bolo alimentar; *Redução da eficiência de assimilação*: quando o parasita causa danos no tecido causando uma menor digestão do alimento ou diminuição da assimilação de nutrientes (Behnke e Barnard, 1990). No intestino delgado foram encontrados helmintos do grupo cestódeo, que não possuem sistema digestivo, sendo assimiladores dos nutrientes que fluem no trato gastrointestinal. O escólex dos cestódeos é a estrutura que se adere fortemente à mucosa do hospedeiro e que dependendo da morfologia pode causar ou não injúrias na mucosa. Desse modo, é possível que a competição pelos nutrientes e/ou injúrias causadas na mucosa intestinal interfiram na disponibilidade dos nutrientes, tornando menor a quantidade de energia disponível para os processos fisiológicos, entre eles a vocalização.

Independentemente das alterações fisiológicas específicas causadas pelos parasitas pulmonares e intestinais, as evidências do possível efeito deletério da carga parasitária sobre as taxas de vocalização apontam para uma possível influência indireta dos parasitas sobre a expressão de uma característica chave na seleção inter - sexual desta espécie (Hamilton e Zuk 1982).

A manutenção sazonal das taxas de vocalização, assim como o aumento da massa relativa do coração e fígado durante o inverno, corroboram resultados prévios encontrados no laboratório (Kiss *et al.*, 2009). Este estudo prévio detectou também que ambos os órgãos apresentam uma significativa depressão metabólica durante esta estação, com significativa redução da atividade da citocromo - sintase, uma enzima chave do ciclo de Krebs (Kiss *et al.*, 2009).

CONCLUSÃO

Concluímos que, em *H. prasinus*, o nível parasitário pode interferir na realocação da energia metabólica para outras funções, em detrimento do display sexual. Deste modo, nossos resultados corroboram a hipótese da Rainha Vermelha, formulada por Hamilton e Zuk em 1982. Acreditamos também que o aumento relativo da massa do fígado e coração durante o inverno represente um mecanismo compensatório da redução da capacidade aeróbia específica, ajudando a manter o desempenho comportamental dos indivíduos durante esta estação.

(Agradecimento especial a Recanto Sacae Watanabe, Profa Dr. Jorge Jim, Dr. Silvio César de Almeida, Raquel de Arruda Santos e FAPESP 08/51037 - 3, 08/ fff e JP 06/54699 - 1, pelo apoio financeiro ao projeto).

REFERÊNCIAS

- Arak A., Sexual selection by male - male competition in natterjack toad choruses, *Nature*, 306: 261 - 62, 1983.
- Barnard C.J., Behnke, J.M. Parasitism and host behaviour. Nottinham, UK: Burgess Science Press, 1990. 39 - 43p.
- Bertoluci, J.A., Annual patterns of breeding activity in Atlantic Rainforest anurans. *J. Herpetol.*, 32:607 - 611, 1998.
- Borgia G., Collis K. Femele choice for parasites - free male satin bowerbirds and evolution of bright male plumage. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 25: 445 - 454, 1989.
- Duellman, W.E., Trueb, L. *Biology of Amphibians*. New York Mc Graw-Hill Book Company, 1986.
- Gehardt H.C. Acoustic properties used in call regognition by frogs and toads. The evolution of the amphibian auditory system, New York: John Wiley and Sons, 1988, 253 - 73p.
- Haddad C.F.B. Comunicação em anuros (Amphibia). In: Titto EAL, Ades C e Costa MJRP (eds) *Anais de Etologia. Sociedade Brasileira de Etologia*, 1995.
- Haddad C.F.B., Sazima I. Anfíbios anuros da Serra do Japi. *História Natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil*. In: Morellato LPC (Ed). Campinas: Editora da Unicamp/Fapesp, 1992. 188-211p.
- Hamilton W.D., Zuk M. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science*, 218: 384 - 387, 1982.
- Kiss, A.C.I., Carvalho, J.E., Navas C.A., Gomes, F.R. Seasonal metabolic changes in a year - round reproductively active subtropical tree - frog (*H. prasinus*). *Compar. Biochem. and Physiol.-Part A: Molec. & Integrat. Physiol.*, 152: n. 2, 182 - 188, 2009.
- Kodric - Brown, J.H. e Kodric A. Truth in advertising: The kinds of traits favored by sexual selection. *Amer. Nat.*, 124: n.3, 1984.
- Rossa - Ferres D.C., Jim J. Distribuição sazonal em comunidade de anfíbios anuros na região de Botucatu, São Paulo (Amphibia, Anura). *Rev Brasil Zool* 54:323 - 334, 1994.
- Santos, K.R., Takahira, R.K., Rall, V.L.M., Calderón, C., Sequeira, J.L., Silva, R.J. Pulmonary, microbiological and hematological changes in *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae) parasitized by nematodes of the genus *Rhabdias* (Nematoda, Rhabdiasidae). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 60: n. 3, 667 - 674, 2008.
- Welch A.M., Semlitsch R.D., Gerhardt H.C. Call duration as an indicator of genetic quality in male Gray tree frogs. *Science*, 280: 1928 - 1930, 1998.
- Wells, K.D. The energetics of calling in frogs. *Anuran Communication*. M.J. Ryan (ed). Smithsonian Institute Press, Washington, DC, 2001, p.45-60.
- Zahavi A. The cost of honesty (further remarks on the handicap principle). *J. Theor. Biol.*, 67: 603 - 605, 1977.