

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL**

Aline Aparecida Bastos Portela

**HELMINTOS PARASITANDO ANUROS EM POÇAS AO LONGO DE
CAMPOS NATIVOS DO BIOMA PAMPA BRASILEIRO**

Santa Maria, RS
2021

Aline Aparecida Bastos Portela

**HELMINTOS PARASITANDO ANUROS EM POÇAS AO LONGO DE
CAMPOS NATIVOS DO BIOMA PAMPA BRASILEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, da Universidade Federal de Santa Maria, como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Biodiversidade Animal**.

Orientador: Tiago Gomes dos Santos
Coorientador: Luciano Alves dos Anjos

Santa Maria, RS
2021

Portela, Aline Aparecida Bastos
HELMINTOS PARASITANDO ANUROS EM POÇAS AO LONGO DE
CAMPOS NATIVOS DO BIOMA PAMPA BRASILEIRO / Aline
Aparecida Bastos Portela.- 2021.
121 p.; 30 cm

Orientador: Tiago Gomes dos Santos
Coorientador: Luciano Alves dos Anjos
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, RS, 2021

1. Helminthos 2. Anuros 3. Parasitas 4. Campos nativos
5. Pampa brasileiro I. Santos, Tiago Gomes dos II.
Anjos, Luciano Alves dos III. Título.

Aline Aparecida Bastos Portela

**HELMINTOS PARASITANDO ANUROS EM POÇAS AO LONGO DE
CAMPOS NATIVOS DO BIOMA PAMPA BRASILEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade Animal, da Universidade Federal de Santa
Maria, como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutora em Biodiversidade Animal.

Aprovado em 30 de agosto de 2021:



Tiago Gomes dos Santos, Dr. (UNIPAMPA)
(Presidente/Orientador) Videoconferência



Luciano Alves dos Anjos
(Coorientador) Videoconferência



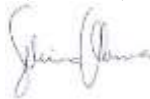
Karla Magalhães Campião, Dra. (UFPR) - Videoconferência



Marcelo Marchet Dalosto, Dr. (IFFAR) - Videoconferência



Fabrício Hiroiuki Oda, Dr. (URCA) - Videoconferência



Selvino Neckel de Oliveira, Dr. (UFSC) - Videoconferência

Santa Maria, RS
2021

DEDICATÓRIA

Às mulheres cientistas!

AGRADECIMENTOS

Mais uma etapa concluída e com ela a gratidão de ter pessoas muito especiais fazendo parte dessa história. Foram quatro anos e meio de intenso aprendizado, e todo esse conhecimento não seria possível se eu estivesse sozinha, por isso agradeço imensamente aos que estiveram do meu lado e que de alguma forma ajudaram nessa conquista. É muito bom poder dividir essa conquista com todos que eu amo.

Agradeço, em especial, ao meu orientador Prof^o. Tiago Gomes dos Santos por todos os ensinamentos, pela paciência, por estar presente em todos momentos do Doutorado me auxiliando em tudo que precisei. Obrigada pela confiança, pelos campos e pelo exemplo de profissional e pessoa que és. Agradeço simplesmente por tudo!

Ao meu coorientador Prof^o. Luciano Alves dos Anjos, que me recebeu em seu laboratório na UNESP de Ilha Solteira e me ensinou sobre o maravilhoso mundo da parasitologia. Agradeço por toda atenção e conhecimento compartilhado nesta etapa!

À Prof^a. Sonia Zanini Cechin pela acolhida no laboratório e uso de toda infraestrutura disponibilizada e pelo exemplo de profissionalismo. Pelo amor que demonstra a sua profissão e pelo curso de Pós-graduação em Biodiversidade Animal.

Ao PPG Biodiversidade Animal, aos professores pelos ensinamentos e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de Doutorado concedida.

Ao SISBIO/IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) e à Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria pelas licenças concedidas.

Agradeço imensamente ao pessoal do Laboratório de Ecologia do Parasitismo da UNESP, por todos os ensinamentos sobre os parasitas, pela imensa ajuda durante minha temporada em Ilha Solteira e pela amizade que fiz com todos. Em especial à Camila Kamblevicius Garcia pela ajuda no laboratório e pela estadia em sua casa

Aos integrantes do laboratório de Herpetologia da Universidade Federal de Santa Maria pelo acolhimento e aprendizado adquirido nesses quatro anos e meio.

A todos os proprietários por onde passamos que permitam as coletas em seus campos.

À minha querida vó Nêne, que é o meu maior exemplo e minha inspiração para sempre continuar buscando meus objetivos. Obrigada por sempre estar disposta a me ajudar em tudo!

À Brena da Silva Gonçalves e a Geane Suchy Porto pela ajuda no trabalho de campo e a Letícia Bortoluzzi Miolo pela ajuda no trabalho do laboratório.

Ao meu querido e amado Ricardo Lodovski. Obrigada por fazer todo o trabalho de campo comigo, sem a tua ajuda eu não teria conseguido realizar esse trabalho. Agradeço por estar sempre disposto a me ajudar, pelo companheirismo, pela amizade, pelo carinho e amor de todos os dias. Obrigada por acreditar em mim e me incentivar a nunca desistir!

Defendendo a Natureza

*Bicho de pelo e de pena
Tá restando muito pouco
Do veneno
E do predador
Se escapando de um sufoco*

*Desde pequeno eu me criei na campanha
Admirando o canto, mato e o rio
Tão destruindo a própria mãe natureza
Já não escuto mais o ronco do bugio
A poucos dias resolvi dar uma volteada
Pra dar uma olhada no lugar aonde me criei
O arvoredo que eu brinquei quando guri
Nada mais vi tudo mudado eu encontrei
O arvoredo que eu brinquei quando guri
Nada mais vi tudo mudado eu encontrei*

*Não vi mais campo, meu Deus eu não vi mais mato
Nem as vertentes daquele banhado antigo
O próprio homem que você botou no mundo
Da natureza se transformou inimigo
Não vi mais campo meu Deus eu não vi mais mato
Nem as vertentes daquele banhado antigo
O próprio homem que você botou no mundo
Da natureza se transformou inimigo*

*Não respeitaram as regras de Deus que é o mestre
Viraram o campestre aonde pastava o gado*

*E a nascente do antigo manancial
Infelizmente hoje estão tudo drenado
Não encontrei o capão de pitangueira
Da guaviroveira não vi toco e nem raiz
Com o próprio veneno acabaram os pirilampos
Lavraram o campo aonde cantava a perdiz
Com o próprio veneno acabaram os pirilampos
Lavraram o campo aonde cantava a perdiz*

*Não vi mais campo meu Deus eu não vi mais mato
Nem as vertentes daquele banhado antigo
O próprio homem que você botou no mundo
Da natureza se transformou inimigo
Não vi mais campo meu Deus eu não vi mais mato
Nem as vertentes daquele banhado antigo
O próprio homem que você botou no mundo
Da natureza se transformou inimigo*

*Não vi mais campo meu Deus eu não vi mais mato
Nem as vertentes daquele banhado antigo
O próprio homem que você botou no mundo
Da natureza se transformou inimigo
Não vi mais campo meu Deus eu não vi mais mato
Nem as vertentes daquele banhado antigo
O próprio homem que você botou no mundo
Da natureza se transformou inimigo*

Cantor e compositor: Baitaca

RESUMO

HELMINTOS PARASITANDO ANUROS EM POÇAS AO LONGO DE CAMPOS NATIVOS DO BIOMA PAMPA BRASILEIRO

AUTORA: Aline Aparecida Bastos Portela
ORIENTADOR: Tiago Gomes dos Santos
COORDINADOR: Luciano Alves dos Anjos

Os campos do sul do Brasil abrigam cerca de 80 espécies nativas de anuros associados às diferentes fitofisionomias, sendo uma parcela importante considerada restrita a esse tipo de ecossistema. Entretanto, o conhecimento da comunidade de helmintos em anfíbios anuros no bioma Pampa está restrito à porção pampeana Argentina e Uruguia, enquanto o Pampa brasileiro carece de informações básicas sobre esse grupo. Essa lacuna no conhecimento motivou o desenvolvimento do presente estudo, visando contribuir para o conhecimento da helmintofauna de anuros nos campos nativos do Pampa. Desta forma nós: (1) descrevemos a composição da comunidade de helmintos, as métricas parasitárias e os órgãos de infecção em oito espécies de anuros do bioma Pampa brasileiro; (2) investigamos a relação das variáveis ambientais com a variação nas métricas parasitárias e com a estrutura das comunidades de helmintos em anuros ao longo do bioma; (3) testamos a influência dos descritores ambientais e das características de anuros hospedeiros na diversidade funcional de helmintos. Os anuros foram amostrados utilizando o método de 'busca em sítios de reprodução' em 40 poças, na primavera e verão de 2017, 2018 e 2019. A amostragem ocorreu em áreas campestres, em quatro regiões fisiográficas do bioma no Rio Grande do Sul: Planície Costeira, Cuesta de Haedo, Depressão Central e Escudo Sul-rio-grandense. Encontramos 28 taxa de helmintos pertencentes à Nematoda, Trematoda (Digenea), Cestoda e Acanthocephala, distribuídas nas oito espécies de anuros hospedeiros selecionadas. Dos 28 taxa registrados, 22 são novos registros para esta região geográfica. Nossos resultados revelaram que a espacialidade das poças não foi relacionada com a variação em nenhuma das métricas de infecção parasitária dos anuros hospedeiros, mas explicou parte da variação na estrutura da comunidade de helmintos em alguns dos hospedeiros. Já as variáveis locais (principalmente) e da paisagem foram importantes para explicar parte da variação da estrutura da comunidade de helmintos e das métricas parasitárias. A temperatura da água influenciou positivamente os padrões de diversidade funcional. Além disso, encontramos correlação significativa da temperatura da água com alguns dos atributos funcionais dos helmintos: o modo de transmissão 'oral e cutâneo', a intensidade média de infecção e o ciclo de vida indireto. Desta forma, nossas análises sugerem que as variáveis ambientais em diferentes escalas influenciam a estrutura da comunidade de helmintos e as métricas parasitárias, mas que aquelas em escala local são preponderantes. Nossos resultados demonstram a importância da heterogeneidade das poças sobre a estrutura da comunidade de helmintos e as métricas parasitárias de anuros no Pampa, contribuindo para o conhecimento dos processos abióticos envolvidos na estruturação das comunidades de helmintos.

PALAVRAS-CHAVE: anuros hospedeiros; métricas do parasitismo; diversidade funcional; campos subtropicais

ABSTRACT

HELMINTHS PARASITING ANURAS IN PONDS ALONG NATIVE GRASSLANDS OF THE BRAZILIAN PAMPA BIOMA

AUTHOR: Aline Aparecida Bastos Portela

ADVISOR: Tiago Gomes dos Santos

CO-ADVISOR: Luciano Alves dos Anjos

South Brazilian grasslands harbor about 80 native species of anurans associated with different phytophysiognomies, and an important species portion is considered restricted to this ecosystem type. However, the knowledge of the helminth community associated with anuran amphibians in the Pampa biome is restricted to the Argentine and Uruguayan Pampas, while lacks basic information about this group in the Brazilian Pampa. This knowledge gap motivated the development of the present study, aiming to contribute to the knowledge of the anuran helminth fauna along the native grasslands of the Brazilian Pampa. Thus, we: (1) describe the composition of the helminth community, the parasitic metrics, and the helminth infection organs in eight anuran species along the Pampa biome; (2) we investigated the relationship of environmental variables with variation in parasitic metrics and with the structure of helminth communities in anurans along the biome; (3) we tested the influence of environmental descriptors and host anuran characteristics on the functional diversity of helminths. The anurans were sampled using the 'survey at breeding sites' method in 40 ponds, in the spring and summer of 2017, 2018 and 2019. The sampling was carried out in grassland areas along the Pampa biome, inserted in four different physiographic regions of the biome in the Rio Grande do Sul: Coastal Plain, Cuesta de Haedo, Central Depression, and Sul-Rio-Grandense Plateau. We found 28 taxa of helminths belonging to Nematoda, Trematoda (Digenea), Cestoda, and Acanthocephala, distributed in the eight host anuran species. Of the 28 registered taxa, 22 are new registrations for this geographic region. Our results revealed that the pond spatiality was not related to the variation in any of the metrics of parasitic infection of the host anurans, but explained part of the variation in the structure of the helminth community in some hosts. Local and landscape variables were important to explain part of the variation in the structure of the helminth community and in the parasitic metrics. Water temperature positively influenced the functional diversity of helminths. Furthermore, we found a significant correlation between water temperature and some of the helminth functional traits: 'oral and cutaneous' mode of transmission, the average intensity of infection, and the indirect life cycle. Thus, our analyzes suggest that environmental variables at different scales influence the structure of the helminth community and parasitic metrics, but that those at a local scale are preponderant. Our results demonstrate the importance of the heterogeneity of the ponds on the structure of the helminth community and the parasitic metrics of anurans in the Pampa, contributing to the knowledge of the abiotic processes involved in the structuring of helminth communities.

KEY-WORDS: anuran hosts; parasitism metrics; functional diversity; subtropical grasslands.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1 - HELMINTOS EM ANUROS NOS CAMPOS NATIVOS DO BIOMA PAMPA BRASILEIRO

Figura 1 - Localização dos pontos amostrados e regiões fisiográficas do bioma Pampa brasileiro, onde os anuros hospedeiros foram coletados.....	56
Figura 2 - Anuros hospedeiros coletados nas quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro...	57
Figura 3 - Nematóides coletados nos anuros amostrados nas quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro.....	58
Figura 4 - Trematódeos coletados nos anuros amostrados nas quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro.....	59
Figura 5 - Cestódeos coletados nos anuros amostrados nas quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro.....	60
Figura 6 - <i>Pseudoacantocephalus lutzi</i> coletado no hospedeiro <i>Boana pulchella</i> , amostrado nas quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro.....	61
Figura 7 - Curvas cumulativas para oito espécies de anuros hospedeiros coletados nas quatro fisionomias campestres.....	62

ARTIGO 2 - COMO AS VARIÁVEIS AMBIENTAIS INFLUENCIAM AS COMUNIDADES DE HELMINTOS EM ANUROS NO PAMPA BRASILEIRO?

Figura 1 - Localização dos pontos amostrados e regiões fisiográficas do bioma Pampa brasileiro, onde os anuros hospedeiros foram coletados.....	86
Figura 2 - Relação entre as variáveis ambientais e as métricas parasitárias, conforme análises de Regressão Lineares Generalizadas (GLM) para os anuros hospedeiros.....	87
Figura 3 - Resultado da análise de redundância com base no modelo linear (db-RDA), utilizando as variáveis ambientais que foram relacionadas com a estrutura da comunidade de helmintos nos anuros hospedeiros <i>Boana pulchella</i> e <i>Pseudis minuta</i>	88

ARTIGO 3 - ENVIRONMENTAL DESCRIPTORS AND HOST ANURAN TRAITS INFLUENCE THE FUNCTIONAL DIVERSITY OF HELMINTHS IN THE SOUTH BRAZILIAN GRASSLANDS OF PAMPA BIOME?

Figure 1 - Location of the municipalities where anuran hosts were sampled along the native grasslands of the Brazilian Pampa biome.....	113
Figure 2 - The effects of water temperature on the patterns of functional diversity in helminths communities sampled in pond breeding anurans along the Brazilian Pampa biome, southern Brazil.....	114
Figure 3 - Ordination of (a) environmental descriptors; (b) functional traits of helminths parasitizing pond breeding anurans and (c) helminth species composition resulting of the RLQ analysis.....	115
Figure 4 - Scheme representing the association between the functional traits of helminths parasitizing pond breeding anurans and environmental descriptors of ponds resulting from the Fourth corner test.....	116

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1 - HELMINTOS EM ANUROS NOS CAMPOS NATIVOS DO BIOMA PAMPA BRASILEIRO

Tabela 1A-1B - Helmintos encontrados em oito espécies de hospedeiros anuros coletados em campos nativos ao longo do bioma Pampa brasileiro.	63-64
Tabela 2 - Órgão de infecção de helmintos em anuros hospedeiros coletados ao longo de campos nativos do bioma Pampa brasileiro.....	65
Tabela 3 - Anuros hospedeiros e helmintos coletados ao longo de campos nativos do bioma Pampa brasileiro.....	66

ARTIGO 2 - COMO AS VARIÁVEIS AMBIENTAIS INFLUENCIAM AS COMUNIDADES DE HELMINTOS EM ANUROS NO PAMPA BRASILEIRO?

Tabela 1 - Anuros coletados em cada poça amostrada nas quatro regiões fisiográficas do bioma Pampa brasileiro.....	89
Tabela 2 - Resultados dos modelos de regressão lineares generalizados (GLM) que avaliaram a influência de conjuntos de variáveis (locais, espaciais e da paisagem) como preditores das métricas de infecção helmíntica (prevalência, intensidade e abundância) em anuros na região do Pampa, Rio Grande dos Sul.....	90

ARTIGO 3 - ENVIRONMENTAL DESCRIPTORS AND HOST ANURAN TRAITS INFLUENCE THE FUNCTIONAL DIVERSITY OF HELMINTHS IN THE SOUTH BRAZILIAN GRASSLANDS OF PAMPA BIOME?

Table 1 - Local environmental descriptors measured in ponds along the Brazilian Pampa biome sampled regarding parasite helminths in anurans.....	117
Table 2 -Functional traits measured from different morphological and ecological characteristics of anurans hosts and parasite helminths studied in ponds along the Brazilian Pampa biome.....	119
Table 3 - Result of the Linear Mixed-Effect Models (LMM) showing the relationship between water temperature (Temp) and the functional diversity of helminths parasitizing pond breeding anurans along the Brazilian Pampa biome.....	120

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	21
REFERÊNCIAS	27
ARTIGO 1 - HELMINTOS EM ANUROS NOS CAMPOS NATIVOS DO BIOMA PAMPA BRASILEIRO	35
RESUMO	35
ABSTRACT	36
INTRODUÇÃO	37
MATERIAL E MÉTODOS	38
RESULTADOS	41
DISCUSSÃO	41
PADRÕES ÉTICOS	47
AGRADECIMENTOS	48
REFERÊNCIAS	49
ARTIGO 2 - COMO AS VARIÁVEIS AMBIENTAIS INFLUENCIAM AS COMUNIDADES DE HELMINTOS EM ANUROS NO PAMPA BRASILEIRO	67
RESUMO	67
ABSTRACT	68
INTRODUÇÃO	69
MATERIAL E MÉTODOS	71
RESULTADOS	75
DISCUSSÃO	76
REFERÊNCIAS	79
ARTIGO 3 - ENVIRONMENTAL DESCRIPTORS AND HOST ANURAN TRAITS INFLUENCE THE FUNCTIONAL DIVERSITY OF HELMINTHS IN THE SOUTH BRAZILIAN GRASSLANDS OF PAMPA BIOME?	91
ABSTRACT	91
INTRODUCTION	92
MATERIAL AND METHODS	94
RESULTS	98
DISCUSSION	98
REFERENCES	102
 CONCLUSÕES	 121

INTRODUÇÃO

A redução do risco de doenças relacionadas à biodiversidade está diretamente associada a um ecossistema equilibrado e estável (MILLS, 2006; KEESING et al., 2010), mas ações nesse sentido requerem o conhecimento dos agentes causadores das doenças. Portanto, para todo estudo biológico e ecológico, é necessário primeiro o conhecimento da diversidade e sua distribuição (LINS, 2017). Nesse sentido, os parasitas estão sendo reconhecidos como importantes componentes da biodiversidade global, já que estão associados a diversos grupos de vertebrados, e tem seus ciclos de vida influenciados por seus hospedeiros e pelo meio ambiente, sendo, portanto, excelentes indicadores de biodiversidade em ecossistemas (MARCOGLIESE; CONE, 1997; LINS, 2017).

O parasitismo é uma relação ecológica desenvolvida entre indivíduos de diferentes espécies e caracterizada por uma associação íntima e duradoura, bem como uma dependência metabólica em vários graus (REY, 2001). Os parasitas podem ser considerados como a “diversidade oculta” da biodiversidade, uma vez que não os vemos todos os dias, mas são de grande importância para moldar a diversidade que podemos “ver” (POULIN; MORAND, 2004). Por meio do estudo dos parasitas, é possível entender como seus complexos ciclos de vida se integram às complexas teias alimentares dos ecossistemas. Os parasitas podem atuar no controle da população hospedeira e desempenhar um papel central na manutenção da diversidade genética e da estrutura das comunidades de vertebrados e invertebrados (WINDSOR, 1995).

Estudos das interações parasita-hospedeiro são essenciais para entender os diferentes aspectos ecológicos da vida desses organismos e como essa relação pode influenciar na estrutura das comunidades (POULIN, 2007; BENTZ et al., 2006; BRUNNER; EIZAGUIRRE, 2016). A estrutura das comunidades de parasitas depende de muitos fatores, incluindo hospedeiro e história ecológica e natural do parasita (JANOVY et al., 1992; BROOKS et al., 2006; BRUNNER; EIZAGUIRRE, 2016; KOŁODZIEJ-SOBOCIŃSKA, 2019). No contexto dos helmintos parasitas, características como dieta e uso do habitat do hospedeiro influenciam no sucesso da interação e infecção (MCALPINE; BURT, 1998; POULIN, 1998; BOLEK; COGGINS, 2003; ZELMER; ARAI, 2004; PINHEIRO et al., 2019), enquanto para os hospedeiros, o modo de infecção e a especificidade dos helmintos podem influenciar as taxas de infecção.

A associação entre helmintos e anuros hospedeiros é um bom modelo para examinar os padrões que regem a estrutura de comunidades de parasitas (AHO, 1990; CAMPIÃO et al., 2015). Os traços de história de vida dos anuros, com diferentes estratégias reprodutivas, a ocupação de uma ampla gama de habitats e relações tróficas distintas, fazem deles um excelente grupo para estudar as relações parasita-hospedeiro, proporcionando um melhor entendimento dos processos que determinam a abundância de helmintos e distribuição (AHO, 1990; CAMPIÃO et al., 2015; GONZÁLEZ et al., 2021). Assim, o conhecimento sobre as infecções parasitárias helmínticas é uma informação importante sobre a biodiversidade dos anuros e pode ajudar a entender como cada espécie se relaciona com o meio em que vive (LEIVAS et al., 2018). Além disso, devido à dependência que a maioria dos anuros tem de corpos d'água para se reproduzir e sobreviver, as variáveis ambientais diretamente relacionadas às propriedades das poças e, em uma escala mais ampla, a distribuição espacial das poças e a características da paisagem, (IOP et al., 2020), tornam-se um fator de ligação crucial entre anuros hospedeiros e seus helmintos, influenciando a composição e estrutura da comunidade de helmintos (PORTELA et al., 2020).

Os fatores ambientais de larga escala, como a conectividade do habitat e a paisagem circundante (residências, estradas e fragmentos de floresta na área da poça), podem facilitar ou dificultar a sobrevivência, o desenvolvimento, a distribuição e a transmissão de formas infecciosas para o hospedeiro (BASUALDO et al., 2007). Já fatores de escala local, como a vegetação nas margens e na água das poças, a temperatura da água e a densidade do hospedeiro, afetarão a capacidade dos helmintos de efetivamente se dispersarem entre hospedeiros e entre locais (KRASNOV et al., 2005). Logo, a estruturação de comunidades de helmintos de anuros estaria relacionada com as características do hábitat e com a distribuição geográfica dos hospedeiros (AHO, 1990; BURSEY et al., 2001; MUZZALL et al., 2001; TOLEDO, 2013). Essas categorias de variáveis ambientais vêm sendo usadas em outros estudos com animais e plantas de vida livre para a compreensão de padrões de comunidades biológicas relacionadas às características ambientais (NUMA et al., 2009; MATTSSON et al., 2013; BROWNE; KARUBIAN, 2016). Nesse sentido, estudos que analisam os efeitos de diferentes fatores ambientais e suas interações nos ajudarão a melhor compreender e prever mudanças nas comunidades de helmintos e nas populações de helmintos (MCDEVITT-GALLES et al., 2018).

Em escala local, características como a densidade e heterogeneidade da vegetação aquática e nas margens da poça influenciam as taxas de infecção e a composição da comunidade de helmintos (CAMPIÃO et al., 2012). As propriedades físico-químicas da água são cruciais nas taxas de transmissão dos helmintos, afetando o comportamento e a imunocompetência do hospedeiro (BLAUSTEIN; JOHNSON, 2003). Tem sido registrado, por exemplo, que variáveis da água como temperatura, umidade, salinidade, pH e oxigênio são determinantes importantes na distribuição espacial, infectividade e sobrevivência dos estágios infecciosos desses helmintos (PIETROCK & MARCOGLIESE, 2003; KOPRIVNIKAR et al., 2006, 2007; KOPRIVNIKAR & POULIN, 2009). A temperatura, por exemplo, é um descritor ambiental crucial para a sobrevivência dos helmintos e hospedeiros, uma vez que pode influenciar a fenologia, que irá alterar o tempo de interação parasita-hospedeiro, afetando as taxas de intensidade de infecção e patologia nos hospedeiros (PAULL; JOHNSON, 2014; GETHINGS et al., 2015). Temperaturas mais altas podem causar desequilíbrio na dinâmica de transmissão da rede, favorecendo o aumento das taxas de desenvolvimento de helmintos e das taxas de mortalidade de anuros hospedeiros (PAULL et al., 2012; MORDECAI et al., 2013). Por outro lado, temperaturas mais baixas afetam a taxa de crescimento, desenvolvimento e metabolismo dos helmintos, diminuindo o sucesso da transmissão e infecção em hospedeiros anuros (PAULL et al., 2015; HERCZEG et al., 2021).

Os efeitos da espacialidade na dispersão dos organismos é um padrão bem estabelecido em ecologia, uma vez que com o aumento da distância, há diminuição da similaridade entre as comunidades biológicas (RICKLEFS, 1987; NEKOLA; WHITE, 1999; SOININEN et al., 2007). A relação entre a distância e a similaridade de comunidades de parasitas foi estudada para vários grupos de hospedeiros, como mamíferos (BROUAT; DUPLANTIER, 2007; VINARSKI et al., 2007), peixes (OLIVA; GONZÁLEZ 2005; KARVONEN; VALTONEN 2009), moluscos (THIELTGES et al., 2009) e pássaros (LOCKE et al., 2011).

A paisagem circundante às poças constitui um conjunto de fatores locais que afeta significativamente a transmissão de helmintos (notadamente trematódeos), já que os níveis de infecção helmíntica podem diminuir ou aumentar em função desses fatores (THIELTGES et al., 2009). Fatores como a fragmentação da paisagem e o consequente isolamento das poças podem restringir o acesso de anfíbios, pássaros e mamíferos à área, evitando assim que os helmintos infectem outros hospedeiros potenciais (hospedeiros definitivos) (KING et al., 2007). Vários

estudos avaliaram como os fatores da paisagem afetam helmintos de anuros, incluindo a influência da cobertura florestal (KING et al., 2007; HARTSON et al., 2011; KOPRIVNIKAR & REDFERN, 2012) e a densidade de estradas (URBAN, 2006; KING et al., 2007; KOPRIVNIKAR; REDFERN, 2012) e do tipo preponderante de uso do solo (MCKENZIE, 2007; CAMPIÃO et al., 2016; PORTELA et al., 2020).

O estudo e a consequente compreensão da biodiversidade são um grande desafio, pois esta é uma área da ciência muito ampla, abrangendo, por exemplo, as variações entre as espécies dentro de seus genótipos e fenótipos, bem como as variações espaciais e temporais em comunidades e ecossistemas (CALAÇA; GRELE, 2016). Devido à enorme complexidade, a biodiversidade foi conceitualmente decomposta em vários componentes, sendo a riqueza e a diversidade taxonômica os componentes historicamente mais utilizados em estudos ecológicos (GASTON, 1996, PURVIS; HECTOR 2000, MAGURRAN, 2004). De acordo com estas métricas, todas as espécies e indivíduos desempenham papéis ecológicos equivalentes. No entanto, é sabido que diferentes organismos desempenham uma variedade de funções no meio ambiente (LAWTON, 1994, GRIME, 1998). Da mesma forma que outros grupos biológicos, os helmintos parasitas normalmente não têm suas informações de história de vida incluídas nessas métricas (EUCLYDES et al., 2021). Nesse sentido, para medir processos ou a influência das características da história de vida do parasita, a diversidade funcional é a faceta da diversidade que considera as diferenças morfológicas, ecológicas e comportamentais entre as espécies (PETCHEY; GASTON, 2002; ERNST et al., 2006; VILLÉGER et al., 2010).

Vários estudos sobre comunidades de plantas e animais de vida livre usam diversidade funcional para descrever processos ecológicos, mas raramente foi usada no estudo de helmintos parasitas (GOSWAMI et al., 2017; LLOPIS-BELENQUER et al., 2019; EUCLYDES et al., 2021). O sucesso da infecção de espécies de helmintos em diferentes hospedeiros anuros está relacionado com algumas características morfológicas dos helmintos, como o tamanho do corpo e o local da infecção, que podem estar associadas ao seu papel funcional (VIOLLE et al., 2007; LLOPIS-BELENQUER et al., 2019; EUCLYDES et al., 2021). Portanto, ao medir a diversidade funcional de comunidades de helmintos, podemos acessar a influência de características morfológicas e fisiológicas individuais e os processos ecológicos por trás da composição da comunidade (PETCHEY et al. 2009). Assim, espera-se que a história evolutiva e ecológica dos hospedeiros

influncie a variação da diversidade funcional nas comunidades de parasitas (EUCLYDES et al., 2021). Os estudos que abordam a diversidade funcional podem contribuir para a compreensão de questões mais amplas, como processos seletivos, estratégias reprodutivas (TODD, 2007), a evolução da relação parasita-hospedeiro e biogeografia (POULIN, 2007; BENTZ et al., 2006; BRUNNER; EIZAGUIRRE, 2016), contribuindo para a compreensão dos mecanismos subjacentes à variabilidade entre as comunidades de parasitas em diferentes espécies de hospedeiros (EUCLYDES et al., 2021).

Os anuros são hospedeiros intermediários e finais de uma variedade de espécies de helmintos que exibem uma ampla gama de histórias de vida e de estratégias de transmissão (CAMPIÃO et al., 2012; GONZÁLEZ et al. 2021). Muitos helmintos têm ciclos de vida complexos e, para transmissão, dependem da presença de uma variedade de vertebrados e invertebrados como hospedeiros intermediários. Entretanto, o conhecimento da comunidade de parasitas em anfíbios anuros no Pampa está restrito à porção pampeana Argentina e Uruguia (GONZÁLEZ; HAMANN, 2006; HAMANN, 2004; HAMANN et al., 2006), enquanto o Pampa brasileiro carece de informações básicas sobre esse grupo. Nesse sentido, o estudo da helmintofauna em anuros hospedeiros nos ecossistemas campestres do bioma Pampa brasileiro é de suma importância para o conhecimento dos processos ecológicos dos parasitas neste ambiente. Assim, compreender os padrões de distribuição em múltiplas escalas espaciais é importante como fonte de informações cruciais para descrever as forças que estruturam e mantêm a diversidade biológica (HARTE et al., 2005). Além disso, esses estudos são importantes por revelar os padrões que regem as comunidades e que refletem as características do hospedeiro e do parasita (EUCLYDES et al., 2021).

O presente estudo teve como objetivo realizar o levantamento das espécies de helmintos, apresentar as métricas parasitárias e os órgãos de infecção de helmintos que ocorrem em oito espécies de anuros hospedeiros (*Boana pulchella*, *Leptodactylus macrosternum*, *L. luctator*, *Physalaemus cuvieri*, *P. gracilis*, *Pseudis minuta*, *Scinax fuscovarius* e *S. granulatus*) que co-ocorrem nos campos do bioma Pampa brasileiro. Nós investigamos ainda os preditores da variação nas métricas parasitárias e da variação na estrutura das comunidades de helmintos em anuros, ao longo do Pampa brasileiro. Nós testamos a hipótese de que as variáveis ambientais estão relacionadas às métricas de infecção parasitária e à estrutura da comunidade de helmintos, já que a dispersão dos anuros hospedeiros, as características dos corpos d'água e da paisagem que os

circundam podem afetar as relações parasita-hospedeiro (AHO, 1990; POULIN, 2007). Além disso, considerando a importância das respostas ecológicas que a diversidade funcional nos permite acessar, nós avaliamos a influência de descritores ambientais e das características dos anuros hospedeiros sobre a diversidade funcional dos helmintos. Aqui nossa hipótese é que a diversidade funcional dos helmintos está correlacionada com os descritores ambientais e/ou com as características dos anuros hospedeiros. Nós esperamos que os descritores ambientais (por exemplo, o tipo de vegetação nas bordas dos corpos d'água, a cobertura vegetal na superfície da água e as variáveis físico-químicas da água); assim como as características dos anuros (como peso, tamanho corporal e guilda) influenciam positivamente a diversidade funcional dos helmintos, considerando características funcionais como comprimento do corpo, modo de transmissão, ciclo de vida, local da infecção, intensidade média da infecção e número de hospedeiros infectados.

A presente Tese foi organizada em três artigos, como seguem:

- Artigo 1- trata do levantamento de helmintos encontrados em oito espécies de anuros hospedeiros estudadas ao longo de quatro regiões fisiográficas do bioma Pampa brasileiro. Nesse capítulo estão discutidas as espécies de helmintos registradas, as métricas parasitárias dos helmintos e dos hospedeiros, bem como os órgãos parasitados pelos helmintos.
- Artigo 2- trata sobre testes de hipóteses sobre a relação das variáveis ambientais com as métricas de infecção parasitária e com a estrutura da comunidade de helmintos em oito espécies de anuros hospedeiros estudadas no bioma Pampa brasileiro.
- Artigo 3 - trata sobre testes de hipóteses sobre a correlação dos descritores ambientais e/ou das características dos anuros com a diversidade funcional dos helmintos no bioma Pampa brasileiro.

REFERÊNCIAS

- AHO, J. M. Helminth communities of amphibians and reptiles: Comparative approaches to understanding patterns and processes. In: ESCH, G. et al. (edit). **Parasite communities: Patterns and processes**. New York: Chapman and Hall, 1990. p. 157-196.
- BASUALDO, J. A.; CÓRDOBA, M. A.; LUCA, M. M.; CIARMELA, M. L.; PEZZANI, B. C.; GRENOVERO, M. S.; MINVIELLE, M. C. Intestinal parasitoses and environmental factors in a rural population of Argentina, 2002-2003. **Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49(4), p. 251-255, 2007
- BENTZ, S.; SINNAPPAH-KANG, N. D.; LIM, L. H. S.; LEBEDEV, B.; COMBES, C.; VERNEAU, O. Historical biogeography of amphibian parasites, genus *Polystoma* (Monogenea: Polystomatidae). **Journal of Biogeography**, v. 33, p. 742-749, 2006.
- BLAUSTEIN A. R.; GERVASI, S. S.; JOHNSON, P. T. J.; HOVERMAN, J. T.; BELDEN, L. K.; BRADLEY, P. W.; XIE, G. Y. Ecophysiology meets conservation: understanding the role of disease in amphibian population declines. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, p. 1688-1707, 2012.
- BOLEK, M. G.; COGGINS J. R. Helminth community structure of sympatric eastern American toad, *Bufo americanus americanus*, northern leopard frog, *Ranapipiens*, and blue-spotted salamander, *Ambystomalaterale*, from southeastern Wisconsin. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 673-680, 2003.
- BROOKS, D. R.; LEÓN-RPGAGNON, V.; MCLENNAN, D. A.; ZELMER, D. Ecological fitting as a determinant of the community structure of platyhelminth parasites of anurans. **Ecology**, v. 87, p. 76-85, 2006.
- BROUAT C.; DUPLANTIER J. M. Host habitat patchiness and the distance decay of similarity among gastro-intestinal nematode communities in two species of *Mastomys* (southeastern Senegal). **Oecologia**, v. 152, p. 715-720, 2007.
- BROWNE, L.; KARUBIAN, J. Diversity of palm communities at different spatial scales in a recently fragmented tropical landscape. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 182(2), p. 451-464, 2016.
- BRUNNER, F. S.; EIZAGUIRRE, C. Can environmental change affect host/parasite-mediated speciation? **Zoology**, v. 119, p. 384-394, 2016.
- BURSEY, C. R.; GOLDBERG, S. R.; PARMELEE, J. R. Gastrointestinal helminths of 51 species of anurans from Reserva Cuzco Amazonico, Peru. **Comparative Parasitology**, v. 68, p. 21-35, 2001.
- CALAÇA, A. M.; GRELLE, C. E. V. Diversidade funcional de comunidades: discussões conceituais e importantes avanços metodológicos. **Oecologia Australis**, v. 20, p. 401-416, 2016.

CAMPIÃO, K. M.; DELATORRE, M.; RODRIGUES, R. B.; SILVA, R. J.; FERREIRA, V. L. The Effect of Local Environmental Variables on the Helminth Parasite Communities of the Pointedbelly Frog *Leptodactylus podicipinus* from Ponds in the Pantanal Wetlands. **Journal of Parasitology**, v. 98(2), p. 229-235, 2012.

CAMPIÃO, K. M.; RIBAS, A. C. A.; MORAIS, D. H.; 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, p. 1-12, 2015.

CAMPIÃO, K. M.; RIBAS, A. C.; SILVA, I. C. O.; DALAZEN, G. T.; TAVARES, L. E. Anuran helminth communities from contrasting nature reserve and pasture sites in the Pantanal wetland, Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 91, p. 91-96, 2016.

EUCLYDES, L.; DUDCZAK, A. C.; CAMPIÃO, K.M. Anuran's habitat use drives the functional diversity of nematode parasite communities. **Parasitology Research**, v. 120, p. 993-1001, 2021.

ERNST, R.; LINSENMAIR, K. E.; RÖDEL, M. O. Diversity erosion beyond the species level: Dramatic loss of functional diversity after selective logging in two tropical amphibian communities. **Biological Conservation**, v. 133, p. 143-155, 2006.

GASTON, K. J. What is biodiversity? In: GASTON, K. J. (eds). **Biodiversity: a biology of numbers and difference**. Oxford: Blackwell Science, 1996. p. 1-9.

GETTINGS, O. J.; ROSE, H.; MITCHELL, S.; VAN DIJK, J.; MORGAN, E. R. Asynchrony in host and parasite phenology may decrease disease risk in livestock under climate warming: *Nematodirus battus* in lambs as a case study. **Parasitology**, v. 142, p. 1306-1317, 2015.

GONZÁLEZ, C. E.; HAMANN, M. I. Helminthos parásitos de *Leptodactylus bufonius* Boulenger, 1894 (Anura: Leptodactylidae) de Corrientes, Argentina. **Revista Española de Herpetología**, v. 20, p. 39-46, 2006.

GONZÁLEZ, C. E.; HAMANN, M. I.; DURÉ, M. I. Nematodes of Amphibians from the South American Chaco: Distribution, Host Specificity and Ecological Aspects. **Diversity**, v. 13, p. 321, 2021.

GOSWAMI, M.; BHATTACHARYYA, P.; MUKHERJEE, I.; TRIBEDI, P. Functional diversity: an important measure of ecosystem functioning. **AiM**, v. 07, p. 8-93, 2017.

GRIME, J. P. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. **Journal of Ecology**, v. 86, p. 901-910, 1998.

HAMANN M. I. Seasonal maturation of *Catadiscus propinquus* (Digenea: Diplodiscidae) in *Lysapsus limellus* (Anura: Pseudidae) from an Argentinean subtropical permanent pond. **Physis**, v. 59, p. 29-36, 2004.

- HAMANN, M. I.; KEHR, A. I.; GONZÁLEZ, C. E. Species affinity and infracommunity ordination of helminths of *Leptodactylus chaquensis* (Anura: Leptodactylidae) in two contrasting environments from Northeastern Argentina. **The Journal of Parasitology**, v. 92, p. 1171–1179, 2006.
- HARTE, J.; CONLISK, E.; OSTLING, A.; GREEN, J. L.; SMITH, A. B. A theory of spatial structure in ecological communities at multiple spatial scales. **Ecological Monographs**, v. 75, p. 179-197, 2005.
- HARTSON, R. B.; ORLOFSKE, S. A.; MELIN, V. E.; DILLON, R. T.; JOHNSON, P. T. J. Land Use and Wetland Spatial Position Jointly Determine Amphibian Parasite Communities. **EcoHealth**, v. 8(4), p. 485-500, 2011.
- HERCZEG, D.; UJSZEGI, J.; KÁSLER, A.; HOLLY, D.; HETTYEY, A. Host–multiparasite interactions in amphibians: a review. **Parasites Vectors**, v. 14, p. 296-316, 2021.
- IOP, S.; SANTOS, T. G.; CECHIN, S. Z.; VÉLEZ-MARTIN, E.; PILLAR, V. D.; PRADO, P. I. The interplay between local and landscape scales on the density pond dwelling anurans in subtropical grasslands. **Biotropica**, v. 00, p. 1-15, 2020.
- JANOVY, J.; CLOPTON, R. E.; PERCIVAL, T. J. The roles of ecological and evolutionary influence in providing structure to parasite species assemblages. **Journal of Parasitology**, v. 78, p. 630-640, 1992.
- KARVONEN, A.; VALTONEN, E. T. Helminth assemblages of whitefish (*Coregonus lavaretus*) in interconnected lakes: similarity as a function of species-specific parasites and geographical separation. **The Journal of Parasitology**, v. 90, p. 471-476, 2004.
- KING, K. C.; MCLAUGHLIN, J. D.; GENDRON, A. D.; PAULI, B. D.; GIROUX, I.; RONDEAU, B.; BOILY, M.; JUNEAU, P.; MARCOGLIESE, D. J. Impacts of agriculture on the parasite communities of northern leopard frogs (*Rana pipiens*) in southern Quebec, Canada. **Parasitology**, v. 134, p. 2063-2080, 2007.
- KEESING, F.; BELDEN, L. K.; DASZAK, P.; DOBSON, A.; HARVELL, C. D.; HOLT, R. D.; HUDSON, P.; JOLLES, A.; JONES, K. E.; MITCHELL, C. E.; MYERS, S. S.; BOGICH, T.; OSTFELD, R. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. **Nature**, v. 468, p. 647–652, 2010.
- KOŁODZIEJ-SOBOCIŃSKA, M. Factors affecting the spread of parasites in populations of wild European terrestrial mammals. **Mammal Research**, v. 64, p. 301-318, 2019.
- KOPRIVNIKAR, J.; FORBES, M. R.; BAKER, R. L. Effects of atrazine on cercarial longevity, activity, and infectivity. **Journal of Parasitology**, v. 923, p. 306-311, 2006.

KOPRIVNIKAR, J.; FORBES, M. R.; BAKER, L. Contaminant effects on host–parasite interactions: Atrazine, frogs and trematodes. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, p. 2166-2170, 2007.

KOPRIVNIKAR, J.; POULIN, R. Effects of temperature, salinity, and water level on the emergence of marine cercariae. **Parasitology Research**, v. 105, p. 957-965, 2009.

KOPRIVNIKAR, J.; REDFERN, J. C. Agricultural effects on amphibian parasitism: importance of general habitat perturbations and parasite life cycles. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 48(4), p. 925-936, 2012.

KRASNOV, B. R.; SHENBROT, G. I.; MOUILLOT, D.; KHOKHLOVA, I. S.; POULIN, R. Spatial variation in species diversity and composition of flea assemblages in small mammalian hosts: geographic distance or faunal similarity? **Journal of Biogeography**, v. 32, p. 633-644, 2005.

LAWTON, J. H. What Do Species Do in Ecosystems? **Oikos**, v. 71, p. 367-374, 1994.

LEIVAS, P. T.; LEIVAS, F. H. T.; CAMPIÃO, K. M. Diet and parasites of the anuran *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 (Leiuperidae) from an Atlantic Forest fragment. **Herpetology Notes**, v. 11, p. 109–113, 2018.

LINS, A. G. S.; AGUIAR, A.; MORAIS, D. H.; SILVA, L. A. F.; ÁVILA, R. W.; SILVA, R. J. Helminth fauna of *Leptodactylus siphax* (Anura: Leptodactylidae) from Caatinga biome, northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 26, p. 74–80, 2017.

LLOPIS-BELENGUER, C.; BALBUENA, J. A.; LANGE, K.; DE BELLO, F.; BLASCO-COSTA, I. Towards a unified functional trait framework for parasites. **Trends Parasitology**, v. 35, p. 972–82, 2019.

LOCKE, S. A.; LEVY, M. S.; MARCOGLIESE, D. J.; ACKERMAN, S.; MCLAUGHLIN, J. D. The decay of parasite community similarity in ring-billed gulls *Larus delawarensis* and other hosts. **Ecography**, v. 34, p. 1-9, 2012.

MAGURRAN, A. 2004. **Measuring Biological Diversity**. 1st ed. Oxford: Blackwell Science, 2004. 256 p.

MARCOGLIESE, D. J.; CONE, D. K. 1997. Food webs: a plea for parasites. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 12, p. 320–325, 1997.

MATTSSON, B. J.; ZIPKIN, E. F.; GARDNER, B.; BLANK, P. J.; SAUER, J. R.; ROYLE, J. A. Explaining Local-Scale Species Distributions: Relative Contributions of Spatial Autocorrelation and Landscape Heterogeneity for an Avian Assemblage. **PLoS ONE**, p. 8(2), p. 1-12, 2013.

- MCALPINE, D. F.; BURT, M. D. B. Helminths of bullfrogs, *Rana catesbeiana*, green frogs, *R. clamitans*, and leopard frogs, *R. pipiens* in New Brunswick. **Canadian Field-Naturalist**, v. 112, p. 50-68, 1998.
- MCDEVITT-GALLES, T.; CALHOUN, D. M.; JOHNSON, P. T. J. Parasite richness and abundance within aquatic macroinvertebrates: testing the roles of host- and habitat-level factors. **Ecosphere**, v. 9(4), p. 1-16, 2018.
- MCKENZIE, V. J. Human land use and patterns of parasitism in tropical amphibian hosts. **Biological Conservation**, v. 137, p. 102-116, 2007.
- MILLS, J. N. Biodiversity loss and emerging infectious disease: An example from the rodent-borne hemorrhagic fevers. **Biodiversity**, v. 7, p. 9-17, 2006.
- MORDECAI, E. A.; PAAIJMANS, K. P.; JOHNSON, L. R.; BALZER, C.; BEN-HORIN, T.; DE MOOR, E.; MCNALLY, A.; PAWAR, S.; RYAN, S. J.; SMITH, T. C.; LAFFERTY, K. D. Optimal temperature for malaria transmission is dramatically lower than previously predicted. **Ecology Letters**, v. 16, p. 22-30, 2012.
- MUZZALL, P. M.; GILLILLAND, M. G.; SUMMER, C. S.; MEHNE, C. J. Helminth communities of green frogs *Rana clamitans* Latreille, from southeastern Michigan. **Journal of Parasitology**, v. 98, p. 962-968, 2001.
- NEKOLA, J. C.; WHITE, P. S. The distance decay of similarity in biogeography and ecology. **Journal of Biogeography**, 26, p. 867-878, 1999.
- NUMA, C.; VERDÚ, J. R.; SÁNCHEZ, A.; GALANTE, E. Effect of landscape structure on the spatial distribution of Mediterranean dung beetle diversity. **Diversity and Distributions**, v. 15(3), p. 489-501, 2009.
- OLIVA, M. E.; GONZÁLEZ, M. T. The decay of similarity over geographical distance in parasite communities of marine fishes. **Journal of Biogeography**, v. 32, p. 1327-1332, 2005.
- PAULL, S. H.; LAFONTE, B. E.; JOHNSON, P. T. J. Temperature-driven shifts in a host-parasite interaction drive nonlinear changes in disease risk. **Global Change Biology**, v. 18, p. 3558-3567, 2012.
- PAULL, S. H.; JOHNSON, P. T. J. Experimental warming drives a seasonal shift in the timing of host-parasite dynamics with consequences for disease risk. **Ecology Letters**, v. 17, p. 445-453, 2014.
- PAULL, S. H.; RAFFEL, T. R.; LAFONTE, B. E.; JOHNSON, P. T. J. How temperature shifts affect parasite production: testing the roles of thermal stress and acclimation. **Functional Ecology**, v. 29, p. 941-950, 2015.

PIETROCK, M.; MARCOGLIESE, D. J. Free-living endohelminth stages: at the mercy of environmental conditions. **Trends in Parasitology**, v. 19, p. 293-298, 2003.

PINHEIRO, R. H. S.; TAVARES-DIAS, M.; GIESE, E. G. Helminth parasites in two populations of *Astronotus ocellatus* (Cichliformes: Cichlidae) from the eastern Amazon, Northern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, p. 425-431, 2019.

PETCHEY, O. L.; GASTON, K. J. Functional diversity (FD), species richness and community composition. **Ecology Letters**, v. 5, p. 402-411, 2002.

PETCHEY, O. L.; O'GORMAN, E. J.; FLYNN, D. F. B. A functional guide to functional diversity measures. In: NAEEM S. et al. (eds). **Biodiversity, ecosystem functioning, and human wellbeing: an ecological and economic perspective**. Oxford: University Press, 2009. p. 49-59.

PORTELA, A. A. B.; SANTOS, T. G.; ANJOS, L. A. Changes in land use affect anuran helminths in the South Brazilian grasslands. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. 1-11, 2020.

POULIN, R. **Evolutionary ecology of parasites**. London: Chapman and Hall, 1998. 212 p.

POULIN, R. The decay of similarity with geographical distance in parasite communities of vertebrate hosts. **Journal of Biogeography**, v. 30, p. 1609-1615, 2003.

POULIN, R.; MORAND, S. **Parasite biodiversity**. Washington: Smithsonian Books, 2004. 216 p.

POULIN, R. **Evolutionary ecology of parasites**. Princeton: Princeton University Press, 2007. 332p.

PURVIS, A.; HECTOR, A. Getting the measure of biodiversity. **Nature**, v. 405, p. 212-219, 2000.

RICKLEFS, R. E. Community diversity: relative roles of local and regional process. **Science**, v. 235, p. 167-171, 1987.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 856 p.

SOININEN, J.; MCDONALD, R.; HILLEBRAND, H. The distance decay of similarity in ecological communities. **Ecography**, v. 30, p. 3-12, 2007.

THIELTGES, E. W.; FERGUSON, M. A. D.; JONES, C. S.; KRAKAU M.; MONTAUDOUIN, X.; NOBLE, L.R.; REISE, K.; POULIN, R. Distance decay of similarity among parasite communities of three marine invertebrate hosts. **Oecologia**, v. 160, p. 163-173, 2009.

TODD, B. D. Parasites lost? An overlooked hypothesis for the evolution of alternative reproductive strategies in Amphibians. **The American Naturalist**, v. 170, p. 793-799, 2007.

TOLEDO, G. M. **Supracomunidade de helmintos associados a anfíbios: uso do hábitat, modo reprodutivo dos hospedeiros e distribuição espacial dos parasitas**. 104 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

URBAN, M.C. Road Facilitation of Trematode Infections in Snails of Northern Alaska. **Conservation Biology**, v. 20(4), p. 1143-1149, 2006.

VILLÉGER, S.; MIRANDA, J. R.; HERNÁNDEZ, D. F.; MOUILLOT, D. Contrasting changes in taxonomic vs. functional diversity of tropical fish communities after habitat degradation. **Ecological Applications**, v. 20, p. 1512-1522, 2010.

VINARSKI, M. V.; KORALLO, N. P.; KRASNOV, B. R.; SHENBROT, G. I.; POULIN R. Decay of similarity of gamasid mite assemblages parasitic on Palearctic small mammals: geographic distance, hostspecies composition or environment. **Journal of Biogeography**, v. 34, p. 1691-1700, 2007.

VIOLLE, C.; NAVAS, M. L.; VILE, D.; KAZAKOU, E.; FORTUNEL, C.; HUMMEL, I.; GARNIER, E. Let the concept of trait be functional! **Oikos**, v.116, p. 882-892, 2007.

WINDSOR D. A. Equal rights for parasites. **Conservation Biology**, v. 40, p. 1-2, 1995.

ZELMER, D. A.; ARAI, H. P. Development of nestedness: Host biology as a community process in parasite infracommunities of yellow perch (*Perca flavescens* (Mitchill)) from Garner Lake, Alberta. **Journal of Parasitology**, v. 90, p. 435-436, 2004.

ARTIGO 1

**HELMINTOS EM ANUROS NOS CAMPOS NATIVOS DO BIOMA PAMPA
BRASILEIRO**

Aline Aparecida Bastos Portela, Luciano Alves dos Anjos & Tiago Gomes dos Santos

RESUMO

Os helmintos parasitas podem atuar no controle da população hospedeira e desempenhar um papel central na manutenção da diversidade genética e da estrutura das comunidades de vertebrados e invertebrados. O presente estudo tem como objetivo fazer o levantamento da helmintofauna de oito espécies de anuros (*Boana pulchella*, *Leptodactylus macrosternum*, *L. luctator*, *Physalaemus cuvieri*, *P. gracilis*, *Pseudis minuta*, *Scinax fuscovarius* e *S. granulatus*) que ocorrem nos campos nativos do bioma Pampa brasileiro no estado do Rio Grande do Sul. Aqui, apresentamos descritores quantitativos de parasitismo e discutimos novos registros geográficos de parasitas para esta região. Foram coletados 685 anuros, dos quais 491 estavam parasitados por pelo menos uma espécie de parasita (com uma prevalência geral de 71%). Encontramos 15 táxons de Nematoda (larvas de Cosmocercidae, *Aplectana* cf. *adaechevarriae*, *Aplectana membranosa*, *Aplectana meridionalis*, *Cosmocerca parva*, *Cosmocerca podicipinus*, *Falcaustra mascula*, *Hedruris orestiae*, *Ochoterenella* sp., *Oxyascaris oxyascaris*, *Oxyascaris caudatus*, Phisalopteridae, *Rhabdias* sp. 1, *R.* sp. 2 e larvas não identificadas), nove táxons de Digenea da classe Trematoda (*Catadiscus* sp. 1, *C. pygmaeus*, *Choledocystus elegans*, *Glythelmins biliaris*, *Gorgoderina parvicava*, *Haematoloechus ozorioi*, *Neohaematoloechus neivai* e *Rhauschiella proxima*, *R. pseudium*), três táxons de Cestoda (*Cylindrotaenia americana*, *Ophiotaenia* sp. e Larvas plerocercoides) e apenas um táxon de Acanthocephala (*Pseudoacantocephalus lutzi*). Todos os registros de parasitas constituem novas ocorrências geográficas para o bioma Pampa brasileiro.

PALAVRAS-CHAVE: campos subtropicais; parasitas de anuros; Nematoda; Trematoda; hospedeiro selvagem.

ABSTRACT

Parasite helminths can act in host population control and play a central role in maintaining the genetic diversity and the structure of vertebrate and invertebrate communities. The present study has the objective of surveying the helminth fauna of eight anuran species (*Boana pulchella*, *Leptodactylus macrosternum*, *L. luctator*, *Physalaemus cuvieri*, *P. gracilis*, *Pseudis minuta*, *Scinax fuscovarius*, and *S. granulatus*) that occur in the native grasslands of the Brazilian Pampa biome in the Rio Grande do Sul state. Here, we present quantitative descriptors of parasitism and discuss new geographical records of parasite helminths for this region. A total of 685 anurans were collected, of which 491 were parasitized by at least one parasite species (with an overall prevalence of 71%). We found 15 taxa of Nematoda (Cosmocercidae larvae, *Aplectana* cf. *adaechevarriae*, *Aplectana membranosa*, *Aplectana meridionalis*, *Cosmocerca parva*, *Cosmocerca podicipinus*, *Falcaustra mascula*, *Hedruris orestiae*, *Ochoterenella* sp., *Oxyascaris oxyascaris*, *Oxyascaris caudatus*, Phisalopteridae, *Rhabdias* sp. 1, *R.* sp. 2, and unidentified larvae), nine taxa of Digenea of the class Trematoda (*Catadiscus* sp. 1, *C. pygmaeus*, *Choledocystus elegans*, *Glypthelmins biliaris*, *Gorgoderina parvicava*, *Haematoloechus ozorioi*, *Neohaematoloechus neivai* e *Rhauschiella proxima*, *R. pseudium*), three taxa of Cestoda (*Cylindrotaenia americana*, *Ophiotaenia* sp., plerocercoid larvae), and only one taxa of Acanthocephala (*Pseudoacantocephalus lutzi*). All records of parasite helminths constitute new geographical records for Brazilian Pampa biome.

KEY-WORDS: subtropical grasslands; anuran parasites; Nematoda; Trematoda; wild host.

INTRODUÇÃO

O parasitismo é uma relação ecológica desenvolvida entre indivíduos de diferentes espécies e caracterizada por uma associação íntima e duradoura, bem como uma dependência metabólica em vários graus (REY, 2001). Os parasitas podem ser considerados como a “diversidade oculta” da biodiversidade, uma vez que não os vemos todos os dias, mas são de grande importância para moldar a diversidade que podemos “ver” (POULIN; MORAND, 2004). Por meio do estudo dos parasitas, é possível entender como seus complexos ciclos de vida se integram às complexas teias alimentares dos ecossistemas. Os parasitas podem atuar no controle da população hospedeira e desempenhar um papel central na manutenção da diversidade genética e da estrutura das comunidades de vertebrados e invertebrados (WINDSOR, 1995).

A redução do risco de doenças relacionadas à biodiversidade está diretamente associada a um ecossistema equilibrado e estável (MILLS, 2006; KEESING et al., 2010), mas ações nesse sentido requerem o conhecimento dos agentes causadores das doenças. Portanto, para todo estudo biológico e ecológico, é necessário primeiro o conhecimento da diversidade e sua distribuição (LINS, 2017). Nesse sentido, os helmintos estão sendo reconhecidos como importantes componentes da biodiversidade global, estão associados a diversos grupos de vertebrados, e tem seus ciclos de vida influenciados por seus hospedeiros e pelo meio ambiente, sendo, portanto, excelentes indicadores de biodiversidade em ecossistemas (MARCOGLIESE; CONE, 1997; LINS, 2017).

A associação entre helmintos e hospedeiros anuros constitui um bom modelo para examinar os padrões que governam a estrutura das comunidades de parasitas (AHO, 1990; CAMPIÃO et al., 2015). Os traços de história de vida dos anuros, com diferentes estratégias reprodutivas, a ocupação de uma ampla gama de habitats e relações tróficas distintas, fazem deles um excelente grupo para estudar as relações parasita-hospedeiro, proporcionando um melhor entendimento dos processos que determinam a abundância de helmintos e distribuição (AHO, 1990; CAMPIÃO et al., 2015; GONZÁLEZ et al., 2021). Além disso, o conhecimento sobre as infecções parasitárias é uma informação importante sobre a biodiversidade dos anuros e pode ajudar a entender como cada espécie se relaciona com o meio em que vive (LEIVAS et al., 2018).

Nos campos do Sul do Brasil ocorrem cerca de 80 espécies nativas de anuros associados às diferentes fisionomias campestres, sendo uma parcela importante considerada restrita a esse tipo

de ecossistema (SANTOS et al., 2014). Entretanto, o conhecimento da comunidade de parasitas em anfíbios anuros no Pampa está restrito à porção pampeana Argentina e Uruguia (GONZÁLEZ; HAMANN, 2006; HAMANN, 2004; HAMANN et al., 2006), enquanto o Pampa brasileiro carece de informações básicas sobre esse grupo. Nesse sentido, o estudo da helmintofauna em anuros hospedeiros nos ecossistemas campestres do bioma Pampa brasileiro é de suma importância para o conhecimento dos processos ecológicos dos parasitas neste ambiente. Assim, o presente estudo apresenta um levantamento das espécies de helmintos, as métricas parasitárias e os órgãos dos infecção de helmintos em oito espécies de anuros (*Boana pulchella*, *Leptodactylus macrosternum*, *Leptodactylus luctator*, *Physalaemus cuvieri*, *Physalaemus gracilis*, *Pseudis minuta*, *Scinax fuscovarius* e *Scinax granulatus*) que ocorrem nos campos do bioma Pampa brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

Os anuros foram amostrados em áreas campestres nativas ao longo do bioma Pampa (Figura 1), inseridas em quatro diferentes regiões fisiográficas (IBGE, 2004) do bioma no Rio Grande do Sul: Planície Costeira (município de Rio Grande), Cuesta do Haedo (município de Alegrete), Depressão Central (município de São Gabriel) e Escudo Sul-rio-grandense (municípios de Santa Margarida do Sul e São Sepé), entre as latitudes 30 ° e 32 ° S, 6 - 135 m acima do nível do mar (HUECK, 1966). O Pampa é um ecossistema rico em fisionomias vegetais (HASENACK et al., 2010), com três a quatro mil espécies de plantas em uma área de 137.000 km² (OVERBECK et al., 2007) e inúmeras espécies endêmicas, como alguns anuros do gênero *Melanophryniscus*, das quais a maioria das espécies ocorrem em áreas que compreendem as formações abertas da zona subtropical / temperada da América do Sul (PRAMUK et al., 2008). O Pampa ocupava originalmente cerca de 60% do território do estado do Rio Grande do Sul, com uma área de 176.496 km², ou 2,07% do território brasileiro (SUERTEGARAY; SILVA, 2009) e se estende até o Uruguai e parte da Argentina (OYARZABAL et al., 2019). Infelizmente, o Pampa brasileiro experimenta elevada taxa de conversão de hábitat (principalmente devido ao cultivo de soja e silvicultura), bem como baixa extensão territorial em Unidades de Conservação (MMA 2007, PILLAR et al., 2009, GAUTREAU; VÉLEZ 2011, FERREIRA et al., 2012, PILLAR; LANGE 2015). O clima da região é subtemperado e subtropical (MALUF, 2000), com variações circanuais

em temperatura e fotoperíodo, os quais são os principais fatores responsáveis pela sazonalidade climática na região do Pampa brasileiro. Assim, durante o outono e inverno os dias são curtos, úmidos e frios, incluindo temperaturas negativas concentradas nos meses de junho e julho. Em contraste, as temperaturas de primavera e verão atingem, respectivamente, as médias máximas absolutas de 34°C e 38°C em grande parte da região (exceto áreas serranas). O fotoperíodo no Pampa brasileiro é menor no mês de junho, durante o inverno, totalizando cerca de 10 h diárias de luz. Já no período do verão, o fotoperíodo atinge o maior comprimento no mês de dezembro, quando totaliza em média 14 h diárias de luz (WREGE et al., 2011; RADIN et al., 2017).

O regime de chuvas varia regionalmente de 1200mm a 1900mm e são bem distribuídas ao longo do ano, sem a ocorrência de estação seca definida. Entretanto, pode ocorrer um déficit hídrico superficial durante o verão causado pela alta evapotranspiração que ocorre com as elevadas temperaturas registradas de dezembro a março (i.e. o volume evaporado pode exceder o volume precipitado durante o período). Em oposição, o inverno apresenta a maior disponibilidade hídrica, quando a temperatura do ar é baixa. Regionalmente, os maiores déficits hídricos superficiais ocorrem nos campos da Planície Costeira e do extremo oeste do Pampa, enquanto a maior disponibilidade hídrica potencial ocorre no limite norte do bioma, em parte dos campos da Depressão Central e nos campos do Planalto (WREGE et al., 2011; RADIN et al., 2017).

Amostragem dos anfíbios hospedeiros

Foi coletado um total de 685 anuros, pertencentes a duas famílias: 1) Hylidae: *B. pulchella* (n = 111), *P. minuta* (n = 128), *S. fuscovarius* (n = 91), e *S. granulatus* (n = 61); 2) Leptodactylidae: *L. luctator* (n = 124), *L. macrosternum* (n = 79), *P. cuvieri* (n = 30) e *P. gracilis* (n = 61) (Figura 2 A-H). Os hospedeiros foram amostrados durante o período crepuscular e noturno, usando o método de ‘busca em sítios de reprodução’ (SCOTT JR.; WOODWARD, 1994) ao longo dos 40 corpos d’água naturais e seminaturais selecionados em propriedades particulares, de acordo com a disponibilidade e acessibilidade local: nove poças na região dos Depressão Central, 13 na região dos Escudo Sul Rio-grandense, 11 na Cuesta de Haedo e sete poças na Planície Costeira. Os corpos d’água selecionados apresentaram o valor médio de área de 1,031m² (13,7m²-2,934m², SD=1,632m²), com hidroperíodo temporário ou permanente, e porcentagem média da cobertura de vegetação no espelho d’água de 49,6% (0%-100%, DP=37,6%). Todos os espécimes coletados

foram depositados na Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Santa Maria (ZUFISM), Departamento de Ecologia e Evolução, município de Santa Maria, Brasil. Os anuros coletados foram submetidos à eutanásia com aplicação de anestésico na pele (Lidocaína® 10%). Os órgãos internos (trato gastrointestinal, pulmões, rins, fígado, vesícula biliar e bexiga urinária), a musculatura dos membros anteriores e posteriores e a cavidade do corpo foram então examinados para a presença de parasitas.

Amostragem, preparação e identificação dos helmintos

A coleta e o processamento dos helmintos seguiram as técnicas utilizadas por Amato et al. (1991). Os nematóides foram mortos em solução quente (cerca de 60 ° C) de álcool 70%, fixados e mantidos em álcool 70% e clarificados com lactofenol de Aman (ANDRADE, 2000). Trematódeos, cestódeos e acantocéfalos foram mortos por compressão com lâmina e lamínula, mantidos úmidos com álcool absoluto como fixador e preservados em álcool 70%. Em seguida, foram corados com carmim clorídrico (ANDRADE, 2000; REY, 2001) e diafanizados com Eugenol. Os helmintos foram montados em lâminas temporárias e examinados com microscópio. Para a identificação, os dados morfométricos e fotomicrografias dos helmintos foram obtidos em sistema computadorizado de análise de imagens LAZ V4 (Leica Application Suite), adaptado aos microscópios DM 2500-Leica com sistema de contraste de fase interferencial. As espécies de testemunho foram depositadas na Coleção Helminológica do Instituto de Biociências de Botucatu (CHIBB), Departamento de Parasitologia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

Análises estatísticas

Quatro descritores quantitativos de parasitismo foram calculados para os anuros hospedeiros (de acordo com BUSH et al., 1997): prevalência (%), abundância média (AM), intensidade média de infecção (IMI) e riqueza parasitária (RP); e para os helmintos foi calculado a prevalência (%) e intensidade média de infecção (IMI), representando parâmetros de infecção para todas as espécies de parasitas encontradas. Nesse sentido, consideramos: 1) Prevalência como o número de hospedeiros infectados com pelo menos um parasita dividido pelo número total de anuros examinados; 2) Abundância média como o número total de uma espécie de parasita dividido pelo número total de anuros examinados; 3) Intensidade média de infecção como o número total

de parasitas de uma determinada espécie dividido pelo número de hospedeiros infectados com esse parasita; 4) Riqueza como o número total de espécies de parasitas. Todas as médias das métricas calculadas foram acompanhadas do respectivo erro padrão.

Para testar a suficiência de amostragem nós construímos as curvas do coletor baseadas em amostras, a partir de 100 adições aleatórias das amostras, utilizando o programa EstimateS 9.1.0 (COLWELL, 2016).

RESULTADOS

No total, 5.305 helmintos pertencentes a 28 taxa foram encontrados (Tabela 1A-1B): 15 taxa de Nematoda (Figura 3), nove taxa de Trematoda (Digenea) (Figura 4), três taxa de Cestoda (Figura 5), e apenas um taxa de Acanthocephala (Figura 6). Os nematóides representaram 53,5% do total de taxa registrados, seguidos por trematódeos (32%), cestóides (11%) e acantocéfalos (3,5%). A maioria dos taxa encontrados (15) são helmintos parasitas intestinais e 20 taxa foram encontrados dividindo o mesmo órgão de infecção com apenas mais um táxon (Tabela 2). As curvas do coletor mostraram formato ascendente para a maioria dos hospedeiros analisados, exceto para *Leptodactylus macrosternum*, que se mostrou estabilizada (Figura 7).

Dos 685 hospedeiros anuros analisados, 491 estavam parasitados por pelo menos uma espécie de parasita (prevalência total de 71%). O hospedeiro *Physalaemus gracilis* apresentou a maior intensidade de infecção (25.3 ± 18.7) e abundância média (20.3 ± 16.8) quando comparado às demais espécies hospedeiras, totalizando 49 indivíduos parasitados dos 61 analisados (Tabela 3). Os menores valores médios de abundância e intensidade de infecção foram registrados no hospedeiro *Scinax granulatus* (Tabela 3).

DISCUSSÃO

Nosso estudo foi o primeiro realizado em campos nativos do bioma Pampa brasileiro e relatou 22 táxons de parasitas como novos registros para esta região geográfica. As espécies *Choledocystus pseudium* (Trematoda), *Neohaematoloechus neivai*, *Hedruris orestiae* e *Oxyscaris caudactus* (Nematoda) foram registradas pela primeira vez no bioma Pampa (brasileiro, argentino e uruguaio), demonstrando a diversidade de helmintos nesse bioma. O registro de *Hedruris orestiae* é o primeiro do Brasil e o segundo registro do gênero no país, sendo reportado anteriormente

também em ambiente campestre na região dos Campos de Altitude, em Santa Catarina (PORTELA et al., 2018). Estudos realizados no Pampa argentino e uruguaio também relataram pelo menos 16 dos táxons registrados no presente estudo: *Pseudoacantocephalus lutzi* (Acanthocephala); *Catadiscus* sp., *Choledocystus elegans*, *Gorgoderina parvicava*, *Haematolechus ozorioi*, *Rhauschiella proxima*, *Rhauschiella pseudium* (Digenea); *Cylindrotaenia americana* e *Ophiotaenia* sp. (Cestoda); *Aplectana membranosa*, *Aplectana meridionalis*, *Cosmocerca parva*, *Co. podicipinus*, *Falcaustra mascula*, Physalopteridae, *Rhabdias* sp. (Nematoda) (CAMPIÃO et al., 2014).

As curvas do coletor apresentaram formato ascendente (exceto para o hospedeiro *Leptodactylus macrosternum*), indicando que para a maioria das espécies há expectativa de incremento no número de espécies de helmintos para um tamanho de amostragem maior. Esses resultados são um indicativo que a helmintofauna dos hospedeiros do bioma Pampa brasileiro é potencialmente diversa, mostrando assim a importância de estudos sobre helmintos de anuros nesse bioma.

Com 15 taxa encontrados, os nematóides representaram 53,5% dos helmintos coletados, constituindo assim a maioria dos helmintos em nosso estudo. Desses nematóides, a maioria consistia em indivíduos adultos parasitando o trato gastrointestinal dos anuros e exibindo um ciclo de vida direto (ANDERSON, 2000). Na verdade, os nematóides são o grupo de helmintos mais frequentemente relatado em anfíbios sul-americanos, enquanto os acantocéfalos são considerados raros (CAMPIÃO et al., 2014). Nossos dados sugerem que os anuros do bioma Pampa brasileiro são infectados principalmente por espécies generalistas de helmintos, não restritos a uma única espécie hospedeira (por exemplo, *Oxyascaris oxyascaris* e *Co. parva*), corroborando o padrão generalista das comunidades de helmintos associadas aos anuros (AHO, 1990; BURSEY et al., 2001).

Os nematóides são parasitas comuns de anuros, e isso está associado ao fato de que esses helmintos podem facilmente infectar um hospedeiro de forma direta, não necessitando de hospedeiros intermediários para completar seu ciclo biológico (ANDERSON, 2000; HAMANN et al., 2006). Por exemplo, os nematóides cosmocercídeos são transmitidos diretamente; o hospedeiro final é infectado pela ingestão de ovos contendo larvas infectantes que atingem o trato gastrointestinal e então amadurecem (*A. membranosa*) ou por larvas infectantes que penetram

ativamente através do tegumento do hospedeiro, caso em que os adultos podem alcançar o trato gastrointestinal mais tarde (*C. parva*) (ANDERSON, 2000). A infecção pulmonar por *Rhabdias* ocorre de forma semelhante, mas os helmintos desse gênero têm fêmeas partenogênicas que alternam entre os ciclos de vida livre e parasita em anuros (ANDERSON, 2000). As larvas de fisalópteros são encontradas na mucosa do estômago de anuros que ingerem insetos infectados por essas larvas; portanto, o anuro pode ser um hospedeiro definitivo ou parêntico (ANDERSON, 2000; GONZÁLEZ; HAMANN, 2006).

O segundo grupo mais expressivo em nosso estudo foi o dos trematódeos digenéticos, com nove taxa representando 32% dos helmintos coletados. Os trematódeos digenéticos necessitam de um ambiente aquático para seu desenvolvimento (TODD, 2007). A maioria desses helmintos necessita de três hospedeiros, sendo um deles obrigatoriamente um molusco como hospedeiro intermediário para completar seu ciclo de vida e, no mínimo, dois estágios evolutivos infectantes (miracídio e cercária) (ESCH et al., 2002; GALAKTIONOV; DOBROVOLSKIJ, 2003). Os anuros de hábito aquático, como *P. minuta*, ou que estejam em contato frequente com a água (principalmente para a reprodução), como *L. macrosternum* e *L. luctator*, podem atuar como hospedeiros definitivos ou intermediários / paratênicos (ESCH et al., 2002). Os ambientes aquáticos são cruciais para a sobrevivência e transmissão desses helmintos, já que diversas espécies de trematódeos digenéticos são transmitidas através de estágios aquáticos infectantes, e assim a reprodução aquática dos anuros promove um aumento na transmissão de parasitas e sustenta a dinâmica parasita-hospedeiro persistente (TODD, 2007). Além disso, a infecção também pode ocorrer durante o forrageamento dos anuros em substratos como grama ou vegetação aquática (HAMANN, 2004), já que as metacercárias de muitas espécies ficam encistadas na vegetação ou em outros substratos (PIETROCK; MARCOGLIESE, 2003). Esses fatores podem explicar a diferença na riqueza de espécies de trematódeos digenéticos registradas entre o hospedeiro aquático (*P. minuta*) e os hospedeiros semi-terrestres (*L. macrosternum* e *L. luctator*). O hospedeiro *P. minuta* mesmo apresentando uma vida inteiramente aquática registrou uma menor riqueza desses helmintos (cinco espécies), enquanto *L. macrosternum* e *L. luctator* registraram seis e oito espécies respectivamente. Por conta dos seus hábitos de vida, forragear em ambiente terrestre e utilizar ambientes aquáticos para a reprodução, *L. macrosternum* e *L. luctator* aumentam as chances de

serem infectados por diversas espécies de trematódeos digéticos tanto no ambiente aquático e terrestre.

O terceiro grupo mais expressivo do nosso estudo foi o dos cestódeos, os três taxa coletados representando 11% dos helmintos encontrados. Nesse caso, os anuros *B. pulchella*, *L. macrosternum*, *L. luctator* e *P. minuta* atuaram como hospedeiros definitivos para os cestóides *Ophiotaenia* sp. e *Cylindrotaenia americana*. Os cestódeos do gênero *Ophiotaenia* parasitam répteis e anfíbios em todo o mundo (REGO, 1994; DE CHAMBRIER et al., 2017) e apresentam duas estratégias de ciclo de vida: em uma esses helmintos precisam de três hospedeiros, os copépodes planctônicos (primeiro hospedeiro intermediário), peixes ou girinos de anuros (segundo hospedeiro intermediário) e répteis (hospedeiro definitivo). Na segunda estratégia, precisam de dois hospedeiros, com uma fase de desenvolvimento no tecido no hospedeiro final e posterior migração para o intestino, sem envolvimento de hospedeiro vertebrado intermediário ou paratênico (BISERKOV; KOSTADINOVA, 1997). Já *C. americana* apresenta ciclo de vida direto, que evolui em forma de larva tetratirídio na mucosa do intestino delgado do hospedeiro definitivo (STUMPF, 1982), esse cestódeo parasita diversas famílias de anuros como Bufonidae, Ranidae, Hylidae, Leptodactylidae e Dendrobatidae (JONES, 1987; BURSEY et al., 2001). Em qualquer caso, a infecção de hospedeiros intermediários e definitivos ocorre por via oral, independentemente dos taxa do hospedeiro (YAMAGUTI, 1959).

Entre todos os helmintos relatados neste estudo, os acantocéfalos foram os menos frequentes, com apenas uma espécie registrada, o que representou 3,5% dos helmintos coletados, corroborando assim o padrão consistente conhecido para anuros (SMALES, 2007). Os acantocéfalos foram encontrados apenas no hospedeiro arborícola *B. pulchella*, sendo que a transmissão desses helmintos ocorre pela ingestão de invertebrados parasitados por cistacantos. Estes últimos, ao serem ingeridos infectam o trato gastrointestinal dos anfíbios (KENNEDY, 2006), tornando o anuro um hospedeiro definitivo ou paratênico (SMALES 2007; PINHÃO et al., 2009; SANTOS; AMATO 2010). Os acantocéfalos apresentam adaptação para infectar uma diversidade de classes de vertebrados, tanto terrestres quanto aquáticos (KENNEDY, 2006). O ciclo de vida destes parasitas é indireto, os artrópodes, geralmente crustáceos, (anfípodos, copépodes, isópodes ou ostracoides) atuam como hospedeiros intermediários, e os vertebrados como hospedeiros definitivos, no entanto, hospedeiros paratênicos podem estar presentes

(SANTOS et al., 2013). Essa versatilidade em parasitar uma grande variedade de hospedeiros contribui para a maior dispersão destes parasitas nos ecossistemas aquáticos (SANTOS et al., 2013). Estudos relatam que acantocéfalos podem causar mudanças de cor ou comportamento de hospedeiros intermediários e assim aumentar a taxa de transmissão do parasita por tornar o hospedeiro mais susceptível à predação (NICKOL, 2006; KALDONSKI et al., 2007; SANTOS et al., 2013).

Em relação as métricas parasitárias dos helmintos, quem alcançou a maior prevalência foi o nematóide *C. parva* (71.9%), no hospedeiro *P. gracilis*. *C. parva* é comumente encontrado parasitando os intestinos dos anuros (BAKER, 1987; GONZÁLEZ; HAMANN 2007; 2009; MCALLISTER et al., 2010). Por conta do seu modo de transmissão que ocorre com a penetração direta no tegumento do hospedeiro, esses nematóides não dependem da sua ingestão durante o forrageamento do hospedeiro para completar seu ciclo de vida e, por isso esses helmintos conseguem infectar um número maior de hospedeiros (ANDERSON, 2000). Devido a essas características, *C. parva* é um helminto parasita típico de espécies de anuros que habitam ambientes terrestres (MCALPINE, 1997; BURSEY et al., 2001; GONZÁLEZ; HAMANN, 2006). A maioria dos anuros que são hospedeiros conhecidos de *C. parva* são habitantes do solo da floresta, onde se alimentam e se reproduzem (SÁNCHEZ et al., 2010). Ao contrário dos demais hospedeiros, *P. gracilis* é uma espécie de anuro tipicamente campestre, que utiliza poças temporárias e permanentes para reprodução, mas busca alimentação em ambiente terrestre (OLIVEIRA et al., 2015), e por conta do seu modo de forrageamento possibilita maior chance de encontro e infecção por nematóides como *C. parva*.

Já para trematódeos digenéticos, as maiores prevalências registradas em nosso estudo foram de *Gorgoderina parvicava*, encontrada nos hospedeiros *Leptodactylus macrosternum* (33,3%) e *L. luctator* (38,3%). Todas as espécies desse gênero são parasitas da bexiga urinária de anuros e salamandras e são amplamente distribuídas na América do Norte e América do Sul (MATA-LOPÉZ et al., 2005). Estudos da biologia de algumas espécies de *Gorgoderina* mostraram que a maioria desses helmintos usam insetos como hospedeiros intermediários e que para completar o ciclo de vida precisam ser ingeridos por anuros (KRULL, 1933; RAKIN, 1939; JOURDANE et al., 1975). Isso explica a maior prevalência desses helmintos em nosso estudo, já que *Leptodactylus*

macrosternum e *L. luctator* são anuros generalistas, que consomem diversos insetos em sua dieta, permitindo assim a infecção de um maior número de hospedeiros por *G. parvicava*.

Os resultados das métricas parasitárias dos hospedeiros nos mostram muitas características dos anuros que influenciam a composição da sua comunidade de helmintos. Isso porque para os helmintos obterem sucesso na infecção nos anuros eles precisam enfrentar características desses hospedeiros que muitas vezes são obstáculos para que a transmissão e infecção ocorra. Por exemplo, em espécies arborícolas, os valores das métricas parasitárias são reduzidas quando comparadas as espécies aquáticas ou terrícolas. Isso ocorre porque essas espécies tem um contato menor com o solo e a água, onde estão a maioria das espécies de helmintos, reduzindo a chance de recrutamento de um número maior de helmintos e reduzindo também a riqueza de espécies. Assim, a comunidade de helmintos dessas espécies geralmente é formada em sua maioria por nematóides e em sua minoria por trematódeos digenéticos (TOLEDO et al., 2017; SENA et al., 2018). De fato, registramos esse padrão em nosso estudo, já que os anuros arborícolas *Boana pulchella*, *Scinax fuscovarius* e *S. granulatus* registraram as menores riquezas de helmintos, mais espécies de nematóides que que outros grupos de helmintos e as menores taxas de intensidade média de infecção e abundância média de helmintos (por exemplo, *S. granulatus*). Além disso, outras características dos anuros são importantes para o sucesso de infecção dos helmintos, por exemplo, por serem ectotérmicos, as condições ambientais podem influenciar o recrutamento de helmintos parasitas em potencial, incluindo o desenvolvimento da comunidade de helmintos parasitas (AHO, 1990; AMO et al., 2005; PIZZATTO et al., 2013).

Ao contrário dos anuros arborícolas, os anuros aquáticos, semi-terricolas e terrícolas frequentemente apresentam maiores valores nas métricas parasitárias devido às suas interações mais frequentes com os ambientes aquáticos e terrestres. Portanto, as taxas de infecção e de transmissão dos helmintos são afetadas pelas taxas de alimentação do hospedeiro e pelo comportamento de forrageamento que pode ser aumentado quando o hospedeiro tem preferências alimentares generalistas e usa mais habitats terrestres e aquáticos do que arborícolas; esses ambientes possibilitam um contato e chance de infecção com uma maior diversidade de helmintos (AHO, 1990; AMO et al., 2005). Além disso, o tamanho corporal dos hospedeiros pode oferecer maior espaço e diversidade de microhabitats, suportando um maior número de parasitas (POULIN; MORAND, 2004; CAMPIÃO et al., 2015). Assim, hospedeiros maiores como o *Leptodactylus*

macrosternum e *L. luctator* possuem maior área de superfície corporal, aumentando a chance de penetração das larvas do parasita (MCALPINE, 1997; POULIN; MORAND, 2004; CAMPIÃO et al., 2016). Em nosso estudo corroboramos esses padrões, pois as maiores prevalências e riquezas de espécies de helmintos foram registradas nos anuros de maior tamanho corporal: *Leptodactylus macrosternum* com 13 espécies registradas e 92,4% de prevalência; e *L. luctator* com 21 espécies registradas e 92,7% de prevalência. Adicionalmente ao tamanho corporal, esses anuros possuem hábitos alimentares generalistas, forrageando diversos microhabitats, mantendo constante contato com o solo, além de manterem também constante contato com os ambientes aquáticos para a reprodução, características que aumentam a chance de encontro e infecção de uma maior diversidade de espécies e número de helmintos (BUSH et al., 2001; CAMPIÃO et al., 2015; TOLEDO, et al., 2017). Além disso, o sistema digestivo dos anfíbios possui um número limitado de nichos disponíveis para exploração pelos parasitas, uma vez que são morfologicamente simples em toda a sua extensão (AHO, 1990; BARTON, 1999). Isso é corroborado neste estudo, em que cada indivíduo das espécies de anuros avaliados possuía, no máximo, duas espécies de helmintos parasitas no mesmo local.

O conhecimento das comunidades de helmintos parasitas em hospedeiros anuros e os padrões e processos subjacentes à estrutura dessas comunidades tem crescido no Brasil (e.g. CAMPIÃO et al., 2014; TOLEDO et al., 2017; PORTELA et al., 2020; EUCLYDES et al., 2021). Esse conhecimento melhora os dados sobre a biodiversidade (e.g. déficit Wallaceano sensu HORTAL, 2015) e aumenta os registros de ocorrência de espécies de parasitas e suas relações com seus hospedeiros. Isso ajuda a expandir o conhecimento dos padrões de distribuição dessas espécies e auxilia em estudos futuros sobre as relações ecológicas parasita-hospedeiro. Nosso estudo contribui para o conhecimento da helmintofauna associada a anuros nos campos nativos do bioma Pampa brasileiro, estimulando futuras investigações taxonômicas para explorar esta helmintofauna, uma vez que novas espécies potenciais foram encontradas.

PADRÕES ÉTICOS

A amostragem foi realizada sob licença concedida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente - IBAMA (licença de coleta IBAMA / 58991/1) e para a Comissão de Ética no Uso de Animais- CEUA da Universidade Federal de Santa Maria (licença de coleta CEUA / 2535091117).

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Ricardo Lodovski Filho, Brena da Silva Gonçalves e Geane Suchy Porto pela ajuda durante o trabalho de campo, e Letícia Bortoluzzi Miolo pela ajuda durante o trabalho de laboratório. Para a Dra. Sonia Zanini Cechin por compartilhar o apoio estrutural do Laboratório de Herpetologia / UFSM. AABP e TGS receberam apoio financeiro da CAPES e CNPq por meio de bolsa de doutorado e bolsa de pesquisa (processo nº 308687 / 2016-7), respectivamente.

REFERÊNCIAS

- AHO, J. M. Helminth communities of amphibians and reptiles: Comparative approaches to understanding patterns and processes. In: ESCH, G. et al. (edit). **Parasite communities: Patterns and processes**. New York: Chapman and Hall, 1990. p. 157-196.
- AMATO, J. F. R.; BOEGER, W.; AMATO, S. B. **Protocolos para laboratório: coleta e processamento de parasitos de pescado**. Rio de Janeiro: Imprensa Universitária UFRRJ, 1991. 81p.
- AMO, L.; FARGALLO, J. A.; MARTÍNEZ-PADILLA, J.; MILLÁN, J.; LÓPEZ, P.; MARTIN, J. Prevalence and intensity of blood and intestinal parasites in a field population of a Mediterranean lizard, *Lacerta lepida*. **Parasitological Research**, v. 96, p. 413–417, 2005.
- ANDERSON, R. C.; CHABAUD, A. G.; WILLMOTT, S. **Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates: Archival Volume**. London: CAB International, 2009. 463 p.
- ANDRADE, C. M. **Meios e soluções comumente empregados em laboratórios**. Rio de Janeiro: Editora Universidade Rural, 2000. 353 p.
- BAKER, M. R. **Synopsis of the nematoda parasitic in amphibians and reptiles**. Canada: Memorial University of Newfoundland, 1987. 325 p.
- BARTON, D. P. Ecology of helminth communities in tropical Australian amphibians. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 921–926, 1999.
- BISERKOV, V.; KOSTADINOVA, A. Development of the plerocercoid I of *Ophiotaenia europaea* in reptiles. **International Journal for Parasitology**, v. 27, p. 1513-1516, 1997.
- BURSEY, C. R.; GOLDBERG, S. R.; PARMELEE, J. R. Gastrointestinal helminths of 51 species of anurans from Reserva Cuzco Amazonico, Peru. **Comparative Parasitology**, v. 68, p. 21-35, 2001.
- BUSH, A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its terms: MARGOLIS et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v.83, p. 575-583, 1997.
- BUSH, A. O.; FERNÁNDEZ, J. C.; ESCH, G. W.; SEED, R. **Parasitism: The Diversity and Ecology of Animal Parasites**. Cambridge: Cambridge University Press, 2001. 580 p.
- CAMPIÃO, K. M.; MORAIS, D. H.; TAVARES, O. D.; AGUIAR, A.; TOLEDO, G. M.; TAVARES, L. E. R.; SILVA, R. J. Checklist of Helminth parasites of Amphibians from South America. **Zootaxa**, v. 3843, p. 1–93, 2014.
- CAMPIÃO, K. M.; RIBAS, A. C. DE A.; MORAIS, D. H.; 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, p. 1-12, 2015.

CAMPIÃO, K. M.; DIAS, O. T.; SILVA, R. J.; FERREIRA, V. L.; TAVARES, L. E. R. Living apart and having similar trouble: are frog helminth parasites determined by the host or by the habitat? **Canadian Journal of Zoology**, v. 94, p. 761-765, 2016.

COLWELL, R. K. **EstimateS 7.0: Statistical estimation of species richness and shared species from samples**. Colorado, 2016. Disponível em: <http://viceroy.eeb.unconn.edu/estimates>. Acesso em: ago. 2021.

DE CHAMBRIER, A.; SCHOLZ, T.; MARIAUX, J.; KUCHTA, R. Onchoproteocephalidea I Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson & Littlewood, 2014. In: CAIRA, J.N.; JENSEN, K. (eds.). **Planetary Biodiversity Inventory (2008–2017): Tapeworms from Vertebrate Bowels of the Earth**. Kansas: University of Kansas, Natural History Museum, 2017. p. 251-277.

ESCH, G. W.; BARGER, M. A.; FELLIS, K. J. The Transmission of Digenetic Trematodes: Style, Elegance, Complexity. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 304–312, 2002.

EUCLYDES, L.; DUDCZAK, A. C.; CAMPIÃO, K.M. Anuran's habitat use drives the functional diversity of nematode parasite communities. **Parasitology Research**, v. 120, p. 993-1001, 2021.

FERREIRA, J.; PARDINI, R.; METZGER, J.P.; FONSECA, C.R.; POMPEU, P.S.; SPAROVEK, G.; LOUZADA, J. Towards environmentally sustainable agriculture in Brazil: challenges and opportunities for applied ecological research. **Journal of Applied Ecology**, v. 49, p. 535-541, 2012.

GALAKTIONOV, K. V.; DOBROVOLSKIJ, A. A. **The Biology and Evolution of Trematodes: An Essay on the Biology, Morphology, Life Cycles, Transmissions, and Evolution of Digenetic Trematodes**. St. Petersburg: Springer –science Busnisses, 2003. 592 p.

GAUTREAU, P.; VELEZ, E. Strategies of environmental knowledge production facing land use changes: Insights from the Silvicultural Zoning Plan conflict in the Brazilian state of Rio Grande do Sul. **Cybergeo: European Journal of Geography**, v. 577, 2011. Disponível em: <http://cybergeo.revues.org/24881> Acesso em: ago. 2021.

GONZÁLEZ, C. E.; HAMANN, M. I. Helminths parasites of *Leptodactylus bufonius* Boulenger, 1894 (Anura: Leptodactylidae) de Corrientes, Argentina. **Revista Española de Herpetología**, v. 20, p. 39–46, 2006.

GONZÁLEZ, C. E.; HAMANN, M. I. Nematode parasites of two species of *Chaunus* (Anura: Bufonidae) from Corrientes, Argentina. **Zootaxa**, v. 1393, p. 27-34, 2007.

GONZÁLEZ, C. E.; HAMANN, M. I. First report of nematodes in the common lesser escuerzo *Odontophrynus americanus* (Duméril and Bibron 1841) (Amphibia: Cycloramphidae) from Corrientes Argentina. **Comparative Parasitology**, v. 76, p. 122-126, 2009.

- HAMANN M. I. Seasonal maturation of *Catadiscus propinquus* (Digenea: Diplodiscidae) in *Lysapsus limellus* (Anura: Pseudidae) from an Argentinean subtropical permanent pond. **Physis**, v. 59, p. 29–36, 2004.
- HAMANN, M. I.; KEHR, A. I.; GONZÁLEZ, C. E. Species affinity and infracommunity ordination of helminths of *Leptodactylus chaquensis* (Anura: Leptodactylidae) in two contrasting environments from Northeastern Argentina. **The Journal of Parasitology**, v. 92, p. 1171–1179, 2006.
- GONZÁLEZ, C. E.; HAMANN, M. I.; DURÉ, M. I. Nematodes of Amphibians from the South American Chaco: Distribution, Host Specificity and Ecological Aspects. **Diversity**, v. 13, p. 321, 2021.
- HORTAL, J.; DE BELLO, F.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; LEWINSOHN, T. M.; LOBO, J. M.; LADLE, R. J. SEVEN Shortfalls that Beset Large-Scale Knowledge of Biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 46, p. 523-549, 2015.
- HUECK, K. **Die wälder südamerikas**. Stuttgart: Fischer, 1966. 422 p.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapa de Biomas do Brasil**. 2004. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomas.shtm>> Acesso em: out. 2017.
- JONES, M. K. A taxonomic revision of the Nematotaeniidae Lühe, 1910 (Cestoda: Cyclophyllidea). **Systematic Parasitology**, v. 10: p. 165-245, 1987.
- JOURDANE, J.; THERON, A.; ALMERAS, M. Le cycle biologique de *Gorgoderina rochalimai* Pereira et Cuocolo, 1940 Digène parasite de *Bufo marinus* en Guadeloupe. **Annales de parasitologie humaine et compare**, v. 50, p. 439-445, 1975.
- KALDONSKI, N.; PERROT-MINNOT, M-J.; CÉZILLY, F. Differential influence of two acanthocephalan parasites on the antipredator behaviour of their common intermediate host. **Animal Behaviour**, v. 74, p. 1311-1317, 2007.
- KENNEDY, C. **Ecology of the acanthocephalan**. New York: Cambridge University Press, 2006. 260p.
- KEESING, F.; BELDEN, L. K.; DASZAK, P.; DOBSON, A.; HARVELL, C. D.; HOLT, R. D.; HUDSON, P.; JOLLES, A.; JONES, K. E.; MITCHELL, C. E.; MYERS, S. S.; BOGICH, T.; OSTFELD, R. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. **Nature**, v. 468, p. 647–652, 2010.
- KRULL, W. H. Notes on the life history of a frog bladder fluke. **Journal of Parasitology**, v. 20, p. 134, 1933.

LEIVAS, P. T.; LEIVAS, F. H. T.; CAMPIÃO, K. M. Diet and parasites of the anuran *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 (Leiuperidae) from an Atlantic Forest fragment. **Herpetology Notes**, v. 11, p. 109–113, 2018.

MCALLISTER, C. T.; BURSEY, C. R.; FREED, P. S. Helminth Parasites of Selected Amphibians and Reptiles from the Republic of Ecuador. **Comparative Parasitology**, v. 77, p. 52-66, 2010.

MALUF, J. R. T. Nova classificação climática do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 8, p. 141–150, 2000.

MATA-LÓPEZ, R.; LEÓN-RÈGAGNON, V.; BROOKS, D. R. Species of Gorgoderina (Digenea: Gorgoderidae) in *Rana vaillanti* and *Rana* cf. *Forreri* (Anura: Ranidae) from Guanacaste, Costa Rica, including a description of a new species. **Journal of Parasitology**, v. 91, p. 403-410, 2005.

MILLS, J. N. Biodiversity loss and emerging infectious disease: An example from the rodent-borne hemorrhagic fevers. **Biodiversity**, v. 7, p. 9–17, 2006.

MMA. **Áreas Prioritárias para Conservação, Uso Sustentável e Repartição de Benefícios da Biodiversidade**: Atualização-Portaria MMA nº9, de 23 de janeiro de 2007. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 2007. p. 87-95.

LINS, A. G. S.; AGUIAR, A.; MORAIS, D. H.; SILVA, L. A. F.; ÁVILA, R. W.; SILVA, R. J. Helminth fauna of *Leptodactylus siphax* (Anura: Leptodactylidae) from Caatinga biome, northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 26, p. 74–80, 2017.

MARCOGLIESE, D. J.; CONE, D. K. 1997. Food webs: a plea for parasites. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 12, p. 320–325, 1997.

MCALPINE, D. F. Helminth communities in bullfrogs (*Rana catesbeiana*), green frogs (*Rana clamitans*), and leopard frogs (*Rana pipiens*) from New Brunswick, Canada. **Canadian Journal of Zoology**, v. 75, p. 1883–1890, 1997.

NICKOL, B. B. Phylum Acanthocephala. In: WOO, P.T.K. (eds). **Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections**. Canadá: University of Guelph, 2006. p. 444-465.

OLIVEIRA, M.; GOTTSCHALK, M. S.; LOEBMANN, D.; SANTOS, M. B.; MIRANDA, S.; ROSA, C.; TOZETTI, A. M. Diet composition and niche overlap in two sympatric species of *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae, Leiuperinae) in coastal subtemperate wetlands. **Herpetology Notes**, v. 8, p. 173-177, 2015.

OVERBECK, G. E.; MÜLLER, S. C.; FIDELIS, A.; PFADENHAUER, J.; PILLAR, V. D.; BLANCO, C. C.; BOLDRINI, I. I.; BOTH, R.; FORNECK, E. D. Brazil's neglected biome: The

South Brazilian Campos. **Perspectives in plant ecology, evolution and systematic**, v. 9, p. 101–116, 2007.

OYARZABAL, M.; ANDRADE, V.; PILLAR, V. P.; PARUELO, J. Temperate Subhumid Grasslands of Southern South America. In: GOLDSTEIN, M. I.; DELLASALLA, D. A. (eds). **Encyclopedia of the world's biomes, earth systems and environmental sciences. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences**. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 577-593.

PILLAR, V.P., MULLER, S.C., CASTILHOS, Z.M.S. & JACQUES, A.V.A. 2009. **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2009. 403 p.

PILLAR V.P.; LANGE, O. **Os Campos do Sul**. Porto Alegre: Rede Campos Sulinos, UFRGS, 2015. 188 p.

PINHÃO, R.; WUNDERLICH, A. C.; ANJOS, L. A.; SILVA, R. J. Helminths of toad *Rhinella icterica* (Bufonidae) from the municipality of Botucatu, São Paulo State, Brazil. **Neotropical Helminthology**, v. 3, p. 35–40, 2009.

PIZZATTO, L.; KELEHEAR, C.; SHINE, R. Seasonal dynamics of the lungworm, *Rhabdias pseudosphaerocephala*, in recently colonised cane toad (*Rhinella marina*) populations in tropical Australia. **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 753-761, 2013.

PORTELA, A. A. B.; SANTOS, T. G.; ANJOS, L. A. Changes in land use affect anuran helminths in the South Brazilian grasslands. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. 1-11, 2020.

POULIN, R. The decay of similarity with geographical distance in parasite communities of vertebrate hosts. **Journal of Biogeography**, v. 30, p. 1609-1615, 2003.

POULIN, R.; MORAND, S. **Parasite biodiversity**. Washington: Smithsonian Books, 2004. 216 p.

PRAMUK, J.B.; ROBERTSON, T.; SITES JR., J.W.; NOONAN, B. P. Around the world in 10 million years: biogeography of the nearly cosmopolitan true toads (Anura: Bufonidae). **Global Ecology and Biogeography**, v. 17, p. 72-83, 2008.

RADIN, B.; MATZENAUER, R.; DE MELO, R.W.; WREGE, M.S.; STEINMENTZ, S. Quantificação e distribuição sazonal da precipitação pluvial nas regiões ecoclimáticas do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 10, p. 1161-1169, 2017.

RANKIN, J. S. The Life Cycle of the Frog Bladder Fluke, *Gorgoderina attenuata* Stafford, 1902 (Trematoda: Gorgoderidae). **American Midland Naturalist**, v. 21, p. 476, 1939.

REGO, A. A. Order Proteocephalidea Mola, 1928. In: KHALIL, L. F et al. (eds.). **Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 257-293.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 856 p.

SÁNCHEZ, S. M.; ARAQUE, G. A.; GUTIÉRREZ-CÁRDENAS, P. D. A. The first report of *Cosmocerca parva* (Nematoda: Cosmocercidae) from *Colostethus fraterdanieli* (Anura: Dendrobatidae) in Colombia. **Phyllomedusa: Journal of Herpetology**, v. 9, p. 133, 2010.

SANTOS, V. G. T.; AMATO, S. B. *Rhinella fernandezae* (Anura, Bufonidae) a paratenic host of *Centrorhynchus* sp. (Acanthocephala, Centrorhynchidae) in Brazil. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 81, p. 53–56, 2010.

SANTOS, C. P.; MACHADO, P. M.; SANTOS, E. G. N. Acanthocephala. In: PAVANELLI, G. C. et al. (eds). **Parasitologia: Peixes de Água Doce**. Maringá: Eduem, 2013. p. 353-370.

SANTOS, T. G.; IOP, S.; ALVES, S. S. Anfíbios dos Campos Sulinos: diversidade, lacunas de conhecimento, desafios para conservação e perspectivas. **Herpetologia Brasileira**, v. 3, p. 51–59, 2014.

SCOTT, N. J. JR.; WOODWARD, B. D. Surveys at breeding sites. In: HEYER, W. R. et al. (eds). **Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1994. p. 84-92.

SENA, P. A.; CONCEIÇÃO, B. M.; SILVA, P. F.; SILVA, W. G. O.; FERREIRA, W. B.; JUNIOR, V. A. S.; MOURA, G. J. B.; OLIVEIRA, J. B. Helminth communities of *Pithecopus nordestinus* (Anura: Phyllomedusidae) in forest remnants, Brazil. **Herpetology Notes**, v. 11, p. 565-572, 2018.

SMALES, L. R. Acanthocephala in amphibians (Anura) and reptiles (Squamata) from Brazil and Paraguay with description of a new species. **The Journal of Parasitology**, v. 93, p. 392–398, 2007.

STUMPF, I. V. K. Ciclo evolutivo da *Cylindrotaenia americana* Jewell, 1916 (Cyclophyllidea: Nematotaeniidae) em *Bufo ictericus* Spix, 1824. **Acta Biológica Paranaense**, v. 10, p. 31-39, 1982.

SUERTEGARAY, D. M. A.; SILVA, L. A. P. Tchê Pampa: histórias da natureza gaúcha. In: PILLAR V.P. et al. (eds.). **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2009. p. 42-59.

TODD, B. D. Parasites lost? An overlooked hypothesis for the evolution of alternative reproductive strategies in Amphibians. **The American Naturalist**. v. 170, p. 793-799, 2007.

TOLEDO, G. M.; SCHWARTZ, H. O.; NOMURA, H. A. Q.; AGUIAR, A.; VELOTA, R. A. M. V.; DA SILVA, R. J.; ANJOS, L. A. Helminth community structure of 13 species of anurans from Atlantic rainforest remnants, Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 92, p. 438-444, 2017.

YAMAGUTI, S. **Systema Helminthum: The Cestodes of Vertebrates, Vol. II**. New York: Interscience Publishers, 1959.

WINDSOR D. A. Equal rights for parasites. **Conservation Biology**, v. 40, p. 1–2, 1995.

WREGE, M.S.; STEINMENTZ, S.; JÚNIOR, C.R.; ALMEIDA, I.R. Atlas climático da região sul do Brasil: estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2011. 336 p.

FIGURAS

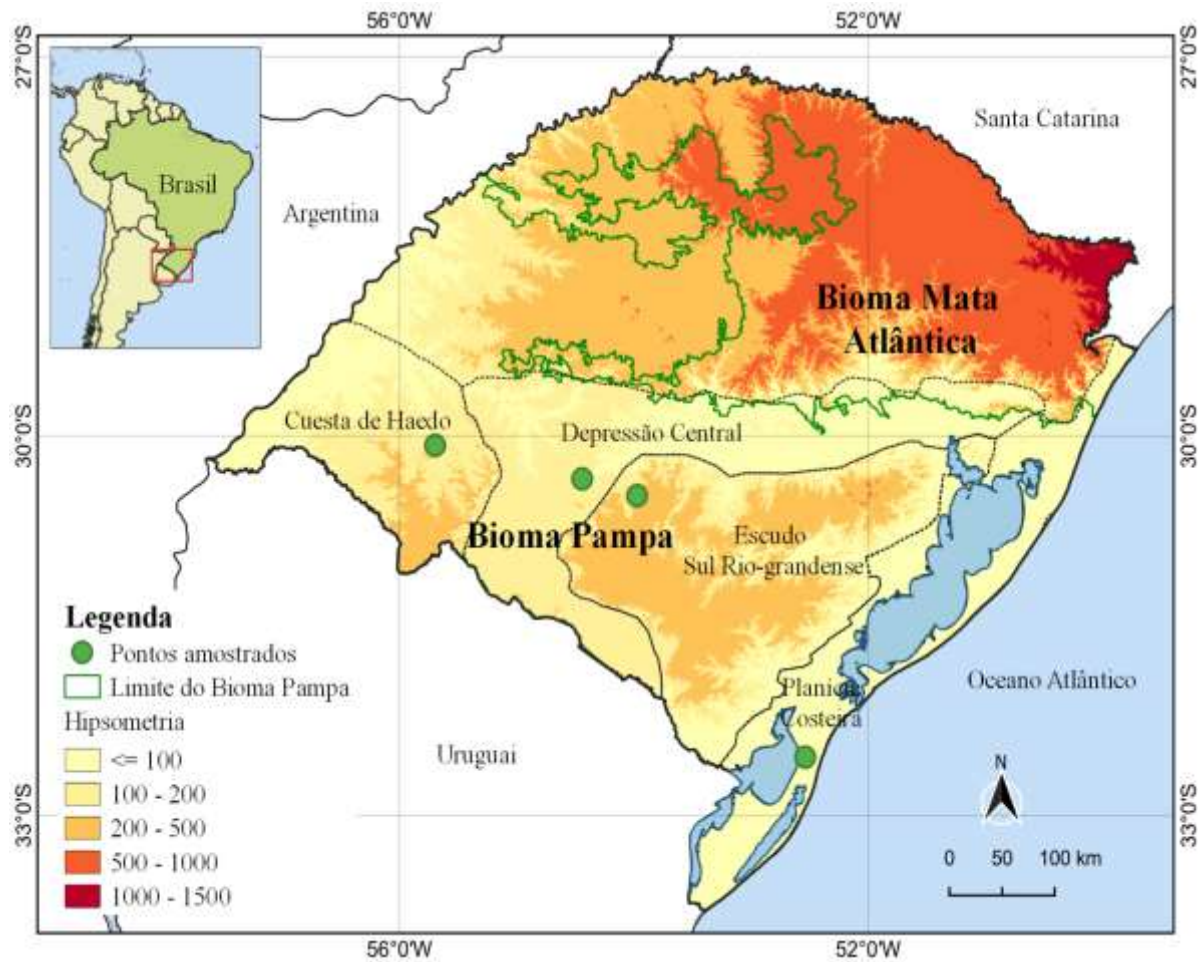


Figura 1. Localização dos pontos amostrados e regiões fisiográficas do bioma Pampa brasileiro, onde os anuros hospedeiros foram coletados, na primavera e no verão de 2017, 2018 e 2019.



Figura 2. Anuros hospedeiros coletados nas quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro: (A) *Boana pulchella* (Foto: Samanta Iop), (B) *Leptodactylus luctator* (Foto: Samanta Iop), (C) *Leptodactylus macrosternum* (Foto: Tiago Gomes dos Santos), (D) *Physalaemus cuvieri* (Foto: Tiago Gomes dos Santos), (E) *Physalaemus gracilis* (Foto: Tiago Gomes dos Santos), (F) *Pseudis minuta* (Foto: Tiago Gomes dos Santos), (G) *Scinax fuscovarius* (Foto: Tiago Gomes dos Santos) e (H) *Scinax granulatus* (Foto: Tiago Gomes dos Santos) (IOP et al., 2016).

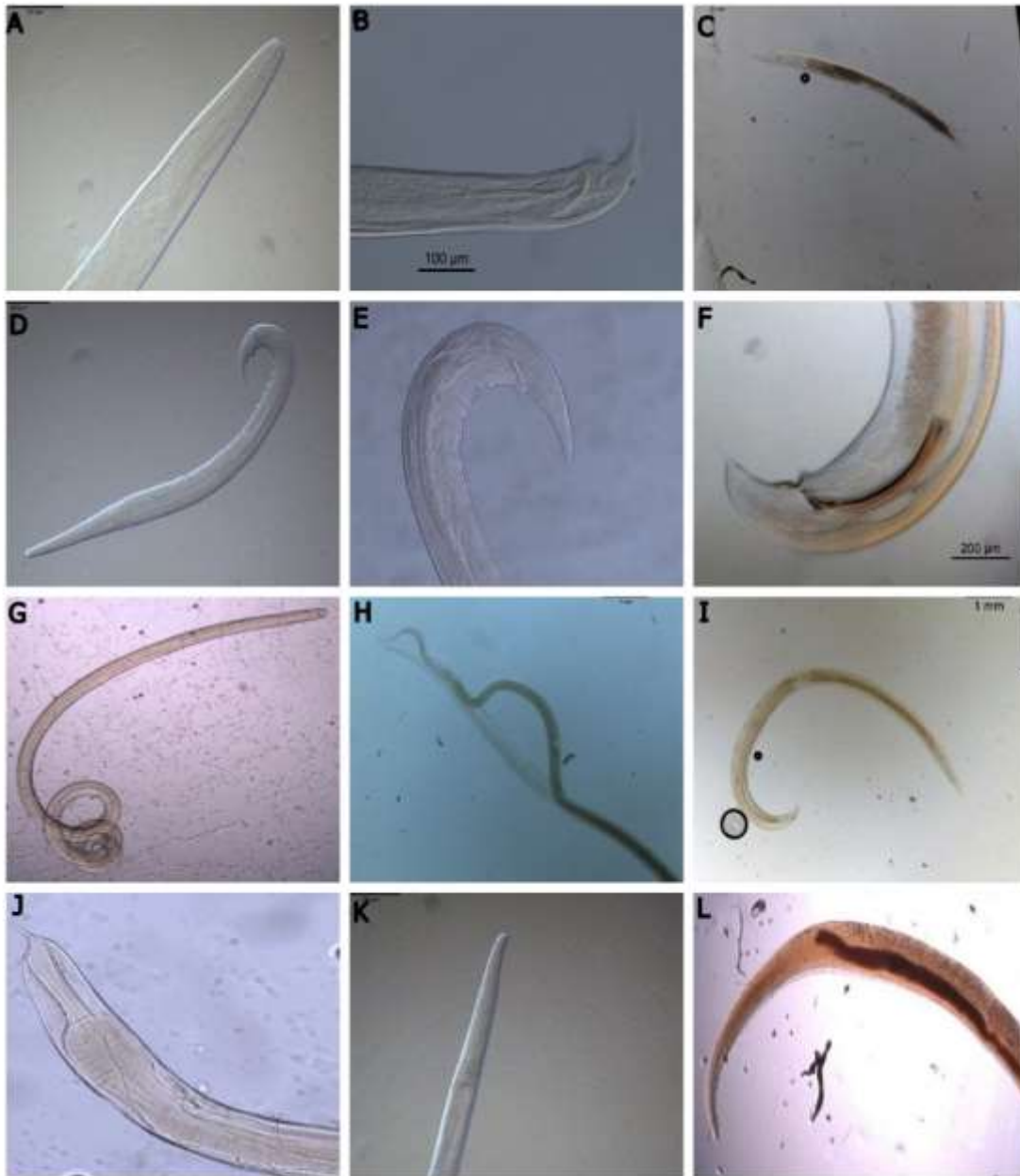


Figura 3. Nematoides coletados nos anuros amostrados nas quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro: (A) porção anterior de Cosmocercidae, (B) porção posterior de *Aplectana* cf. *adaechevarriae*, (C) visão geral do corpo de *Aplectana membranosa*, (D) visão geral do corpo de *Cosmocerca parva*, (E) porção posterior de *Cosmocerca podicipinus*, (F) porção posterior de *Falcaustra máscula*, (G) visão geral do corpo de *Hedruris orestiae*, (H) visão geral do corpo de *Ochoteranella* sp., (I) visão geral do corpo de *Oxyascaris oxyascaris*, (J) porção posterior de *Oxyarcaris caudactus*, (K) porção anterior de Phisalopteridae e (L) visão geral do corpo de *Rhabdias* sp. 1.

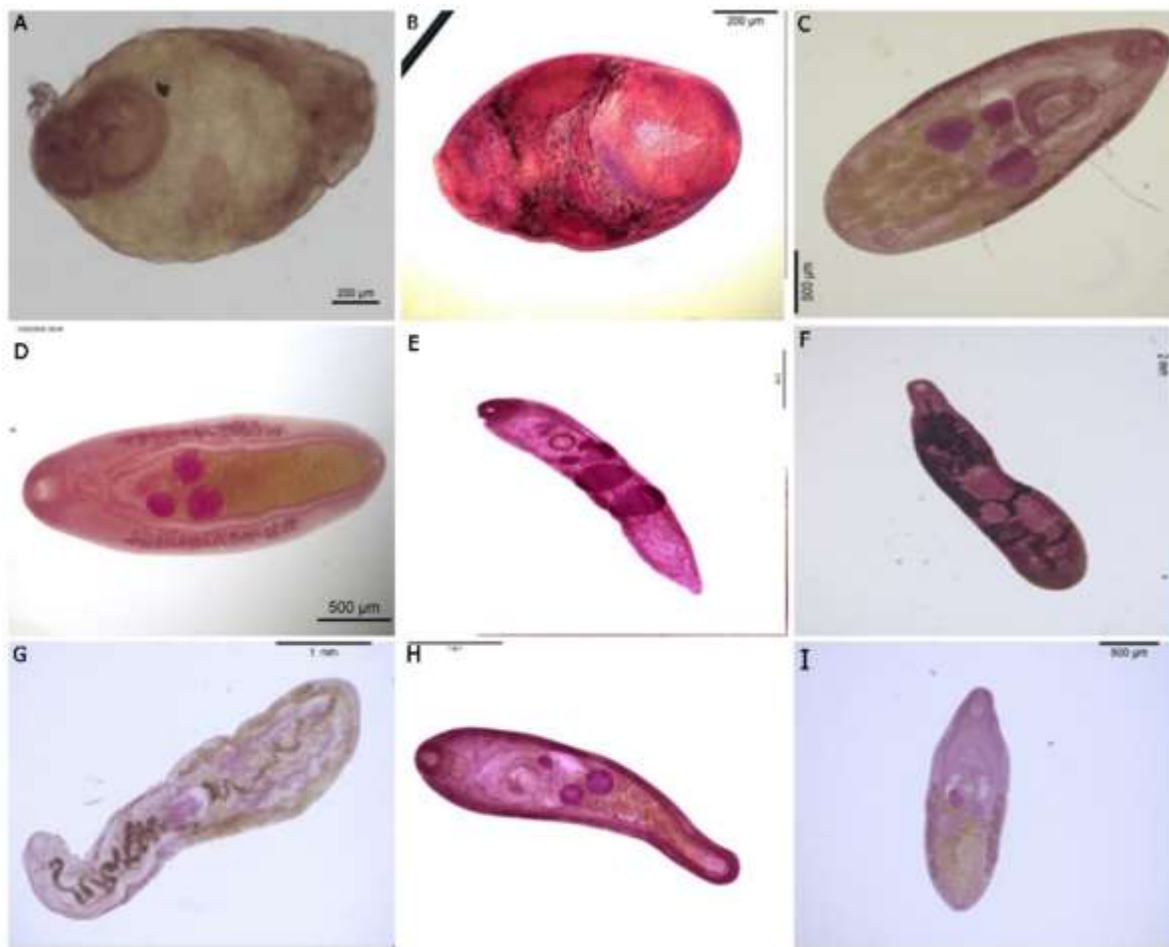


Figura 4. Trematódeos coletados nos anuros amostrados nas quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro: (A) visão geral do corpo de *Catadiscus* sp. 1, (B) visão geral do corpo de *Catadiscus pygmaeus*, (C) visão geral do corpo de *Choledocystus elegans*, (D) visão geral do corpo de *Glythelms bilialis*, (E) visão geral do corpo de *Gorgoderina parvicava*, (F) visão geral do corpo de *Haematoloechus ozorioi*, (G) visão geral do corpo de *Neohaematoloechus neivai*, (H) visão geral do corpo de *Rhauschiella proxima* e (I) visão geral do corpo de *Rhauschiella pseudium*.

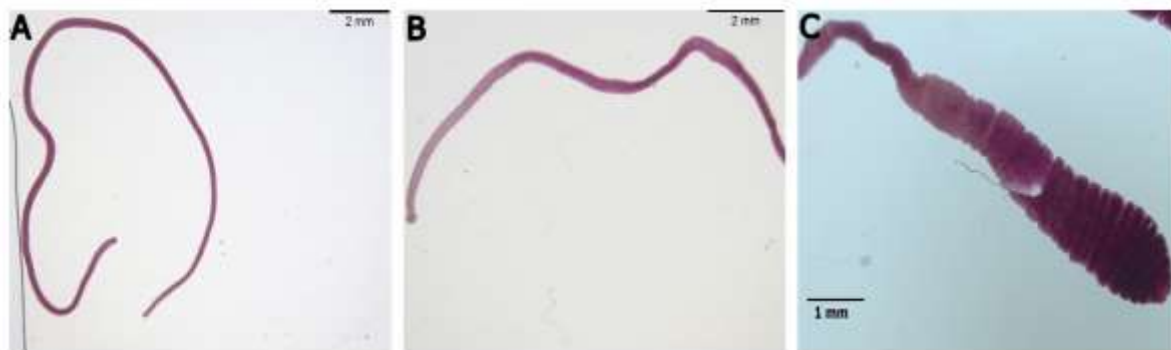


Figura 5. Cestódeos coletados nos anuros amostrados nas quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro: (A) visão geral do corpo de *Cilindrotaenia americana*, (B) visão geral do corpo de *Ophiotaenia* sp. e (C) visão geral do corpo da larva plerocercóide.



Figura 6. *Pseudoacantocephalus lutzi* coletado no hospedeiro *Boana pulchella*, amostrado nas quatro regiões fisiográficas do bioma Pampa brasileiro.

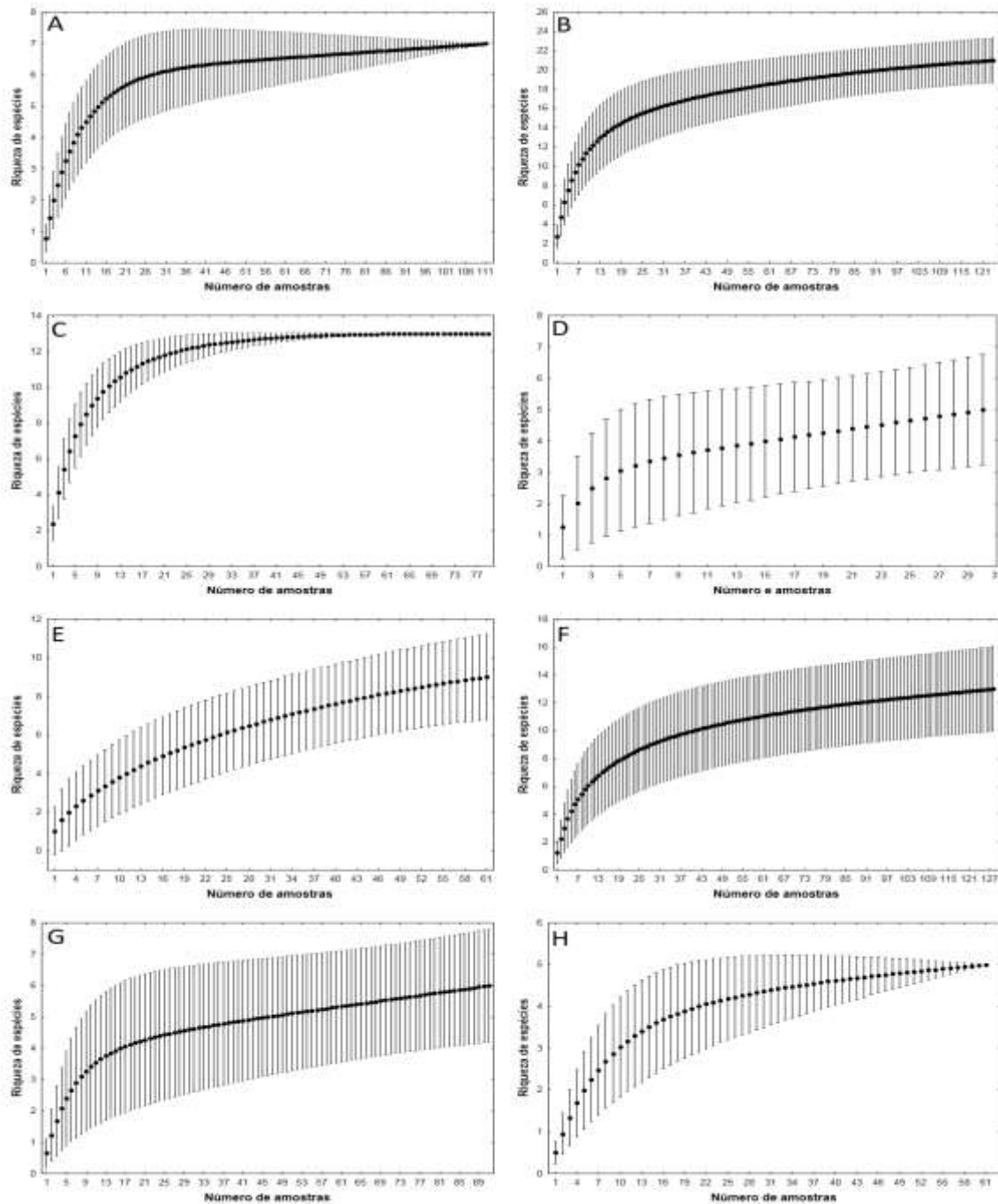


Figura 7. Curvas cumulativas para espécies de helmintos em oito espécies de anuros hospedeiros coletados em quatro regiões fisiográficas do Pampa brasileiro: *Boana pulchella* (A), *Leptodactylus luctator* (B), *Leptodactylus macrosternum* (C), *Physalaemus cuvieri* (D), *Physalaemus gracilis* (E), *Pseudis minuta* (F), *Scinax fuscovarius* (G) e *Scinax granulatus* (H). Os pontos expressam a curva cumulativa média, gerada por 100 adições aleatórias das amostras, e as barras verticais indicam a variação possível em torno da curva média (intervalo de confiança de 95%).

TABELAS

Tabela 1A. Helmintos encontrados em oito espécies de hospedeiros anuros coletados em campos nativos ao longo do bioma Pampa brasileiro. Prevalência (%), intensidade média de infecção (IMI) \pm EP. Anuros hospedeiros: *Boana pulchella* (Bpu), *Leptodactylus macrosternum* (Lma), *Leptodactylus luctator* (Llu), *Physalaemus cuvieri* (Pcu).

Parasitas	Bpu		Lma		Llu		Pcu	
	%	IMI \pm EP	%	IMI \pm EP	%	IMI \pm EP	%	IMI \pm EP
Acanthocephala								
<i>Pseudoacantocephalus lutzi</i>	36	5 \pm 0.6						
Trematoda								
<i>Catadiscus</i> sp. 1			24.4	3 \pm 0.6	15	9 \pm 3.6		
<i>Catadiscus pygmaeus</i>			24.4	6 \pm 3.3	30	9 \pm 3.2		
<i>Choledocystus elegans</i>	3.7	2 \pm 0.3	11.1	2.8 \pm 1	12	2.9 \pm 1		
<i>Glypthelmins biliaris</i>					2.1	2.5 \pm 0		
<i>Gorgoderina parvicava</i>			33.3	5.5 \pm 1	38	3 \pm 0.5		
<i>Haematoloechus ozorioi</i>			4.4	5 \pm 4.5	9.6	3 \pm 0.6		
<i>Neohaematoloechus neivai</i>								
<i>Rhauschiella proxima</i>					30	3 \pm 0.6		
<i>Rhauschiella pseudium</i>			8.9	3.5 \pm 2	1.1	7.0 \pm 0		
Cestoda								
<i>Cylindrotaenia americana</i>	9.8	1 \pm 0.2						
<i>Ophiotaenia</i> sp.			15.6	2 \pm 0.6	10	2 \pm 0.5		
Larvas plerocercóides	1.2	3.0 \pm 0	11.1	1.0 \pm 0	8.5	3 \pm 0.6		
Nematoda								
Cosmocercidae					1.1	1.0 \pm 0	3.3	1.0 \pm 0
<i>Aplectana</i> cf. <i>adaechevarriae</i>					1.8	2.5 \pm 0		
<i>Aplectana membranosa</i>					9.6	3.7 \pm 1	26.7	3.4 \pm 1
<i>Aplectana meridionalis</i>								
<i>Cosmocerca parva</i>	7.3	2.5 \pm 1	24.4	2.9 \pm 1	20	3.4 \pm 1	56.7	3.9 \pm 1
<i>Cosmocerca podicipinus</i>					1.1	1.0 \pm 0		
<i>Falcaustra mascula</i>			2.2	3.0 \pm 0	1.1	2.0 \pm 0		
<i>Hedruris orestiae</i>			13.3	12.8 \pm 9	8.5	7.5 \pm 3		
<i>Ochoterenella</i> sp.								
<i>Oxyascaris oxyascaris</i>	9.8	2 \pm 0.5	31.1	3.6 \pm 1	43	4.8 \pm 1	3.3	2.0 \pm 0
<i>Oxyascaris caudactus</i>					1.1	1.0 \pm 0		
Physalopteridae					3.2	1.3 \pm 0		
<i>Rhabdias</i> sp. 1			22.2	1.8 \pm 0	23	2.1 \pm 1		
<i>Rhabdias</i> sp. 2							30.0	3.8 \pm 1
Larvas não identificadas	12	56 \pm 27.6						

Tabela 1B. Helmintos encontrados em oito espécies de hospedeiros anuros coletados em campos nativos ao longo do bioma Pampa brasileiro. Prevalência (%), intensidade média de infecção (IMI) \pm EP. Anuros hospedeiros: *Physalaemus gracilis* (Pgr), *Pseudis minuta* (Pmi), *Scinax fuscovarius* (Sfu) e *Scinax granulatus* (Sgr).

Parasitas	Pgr		Pmi		Sfu		Sgr	
	%	IMI \pm EP	%	IMI \pm EP	%	IMI \pm EP	%	IMI \pm EP
Acanthocephala								
<i>Pseudoacantocephalus lutzii</i>								
Trematoda								
<i>Catadiscus</i> sp. 1	1.8	1.0 \pm 0	24.7	2.2 \pm 0.3				
<i>Catadiscus pygmaeus</i>			29.9	3.3 \pm 0.5				
<i>Choledocystus elegans</i>							7.7	1.0 \pm 0
<i>Glypthelmins bilialis</i>								
<i>Gorgoderina parvicava</i>			1.3	1.0 \pm 0	24	1.0 \pm 0		
<i>Haematoloechus ozorioi</i>								
<i>Neohaematoloechus neivai</i>			3.9	3.7 \pm 1.2				
<i>Rhauschiella proxima</i>								
<i>Rhauschiella pseudium</i>	1.8	2.0 \pm 0	24.7	3.6 \pm 0.9				
Cestoda								
<i>Cylindrotaenia americana</i>								
<i>Ophiotanea</i> sp.			11.7	2.8 \pm 0.7				
Larvas plerocercóides			7.8	4.5 \pm 1.0				
Nematoda								
Cosmocercidae	1.8	1000 \pm 0	1.3	2.0 \pm 0	26.8	3.3 \pm 0.7	7.7	1.0 \pm 0
<i>Aplectana</i> cf. <i>adaechevarriae</i>								
<i>Aplectana membranosa</i>					2.4	1.0 \pm 0		
<i>Aplectana meridionalis</i>	10.5	7.0 \pm 3.0						
<i>Cosmocerca parva</i>	71.9	3.6 \pm 0.4			24.4	2.3 \pm 0.5	7.7	4.0 \pm 0
<i>Cosmocerca podicipinus</i>	1.8	7.0 \pm 0	1.3	1.0 \pm 0				
<i>Falcaustra mascula</i>			1.3	2.0 \pm 0				
<i>Hedruris orestiae</i>	3.5	1.5 \pm 0.5	18.2	6.6 \pm 1.6				
<i>Ochoterenella</i> sp.			1.3	1.0 \pm 0				
<i>Oxyascaris oxyascaris</i>	14.0	4.1 \pm 1.7	1.3	1.0 \pm 0	9.8	1.5 \pm 0.5	30.8	1.8 \pm 0.5
<i>Oxyascaris caudactus</i>								
Physalopteridae								
<i>Rhabdias</i> sp. 1								
<i>Rhabdias</i> sp. 2	3.5	3.0 \pm 2.0			2.4	1.0 \pm 0	7.7	1.0 \pm 0
Larvas não identificadas								

Tabela 2. Órgão de infecção de helmintos em anuros hospedeiros coletados ao longo de campos nativos do bioma Pampa brasileiro. Locais de infecção: intestino delgado (ID); intestino grosso (IG); cavidade corporal (CC); estômago (E); pulmões (P); músculo (M); bexiga urinária (BU); vesícula biliar (V).

Parasitas	Órgão de infecção	Ocorrem com outro taxon no órgão
Acanthocephala		
<i>Pseudoacantocephalus lutzi</i>	E	Não
Trematoda		
<i>Catadiscus</i> sp. 1	ID, IG	Sim
<i>Catadiscus pygmaeus</i>	ID, IG	Sim
<i>Choledocystus elegans</i>	ID, IG	Sim
<i>Glypthelmins biliaris</i>	V	Não
<i>Gorgoderina parvicava</i>	BU	Não
<i>Haematoloechus ozorioi</i>	P	Sim
<i>Neohaematoloechus neivai</i>	P	Sim
<i>Rhauschiella próxima</i>	ID	Sim
<i>Choledocystus pseudium</i>	ID, IG	Sim
Cestoda		
<i>Cylindrotaenia americana</i>	ID, IG	Sim
<i>Ophiotaenia</i> sp.	ID, IG	Sim
Larvas plerocercoides	ID, IG	Sim
Nematoda		
Cosmocercidae	ID, IG	Sim
<i>Aplectana</i> cf. <i>adaechevarriae</i>	ID	Sim
<i>Aplectana membranosa</i>	ID	Sim
<i>Aplectana meridionalis</i>	ID	Sim
<i>Cosmocerca parva</i>	ID, IG	Sim
<i>Cosmocerca podicipinus</i>	ID, IG	Sim
<i>Falcaustra mascula</i>	ID	Sim
<i>Hedruris orestiae</i>	E	Não
<i>Ochoterenella</i> sp.	CC	Não
<i>Oxyascaris oxyascaris</i>	ID, IG	Sim
<i>Oxyascaris caudactus</i>	ID	Sim
Physalopteridae	E	Não
<i>Rhabdias</i> sp. 1	P	Sim
<i>Rhabdias</i> sp. 2	P	Sim
Larvas não identificadas	ID, IG	Sim

Tabela 3. Anuros hospedeiros e helmintos coletados ao longo de campos nativos do bioma Pampa brasileiro: hospedeiros coletados/hospedeiros parasitados (HC/HP), helmintos parasitados coletados (HPC), % de prevalência, abundância média (AM \pm EP), intensidade média de infecção (IMI \pm EP), riqueza total (RT).

Hospedeiro	HC/HP	HPC	%	AM \pm EP	IMI \pm EP	RT
<i>Boana pulchella</i>	111/64	867	57.7	6.7 \pm 3.3	7.8 \pm 3.3	7
<i>Leptodactylus macrosternum</i>	79/73	766	92.4	9.7 \pm 1.2	10.9 \pm 1.7	13
<i>Leptodactylus luctator</i>	124/115	1459	92.7	11.8 \pm 1.3	12.7 \pm 1.4	21
<i>Physalaemus cuvieri</i>	30/26	140	86.7	4.7 \pm 0.7	5.4 \pm 1.0	5
<i>Physalaemus gracilis</i>	61/49	1241	86	20.3 \pm 16.8	25.3 \pm 18.7	9
<i>Pseudis minuta</i>	128/91	524	71.1	4.1 \pm 0.5	5.8 \pm 0.5	13
<i>Scinax fuscovarius</i>	91/42	254	46.2	2.8 \pm 0.3	6.0 \pm 0.4	6
<i>Scinax granulatus</i>	61/31	54	50.8	0.9 \pm 0.2	1.7 \pm 0.3	5

ARTIGO 2

**COMO AS VARIÁVEIS AMBIENTAIS INFLUENCIAM AS
COMUNIDADES DE HELMINTOS EM ANUROS NO PAMPA
BRASILEIRO?**

Aline Aparecida Bastos Portela, Luciano Alves dos Anjos & Tiago Gomes dos Santos

RESUMO

A associação dos helmintos com anuros é um bom modelo para examinar os padrões que regem a estrutura das comunidades de parasitas e hospedeiros. No entanto, existem muitas lacunas abertas sobre quais variáveis ambientais são mais importantes na estruturação de comunidades de helmintos e métricas parasitárias, informações importantes que poderiam subsidiar um conjunto adicional de novas questões e abordagens ecológicas. Dessa forma, o presente estudo testou a influência das características ambientais (variáveis em nível de paisagem, da espacialidade e locais- i.e. das poças) nas métricas parasitárias e na estrutura das comunidades de helmintos parasitando oito espécies de anfíbios anuros, ao longo de 40 poças distribuídas em diferentes regiões fisiográficas do bioma Pampa brasileiro. A espacialidade das poças não foi relacionada com a variação em nenhuma das métricas de infecção parasitária dos anuros hospedeiros ($p > 0,05$), mas explicou parte da variação na estrutura da comunidade de helmintos em alguns hospedeiros. Já para as variáveis locais (vegetação aquática, cobertura vegetal emergente, pH, total de sólidos dissolvidos e hidroperíodo) e da paisagem (distância de estradas e distância de fragmento florestal) foram importantes para explicar parte da variação da estrutura da comunidade de helmintos e das métricas parasitárias. Desta forma, nossas análises sugerem que as variáveis ambientais em diferentes escalas influenciam a estrutura da comunidade de helmintos e as métricas parasitárias, mas que aquelas em escala local são preponderantes. Nossos resultados demonstram a importância da heterogeneidade das poças sobre a estrutura da comunidade de helmintos e as métricas parasitárias de anuros no Pampa, contribuindo para o conhecimento dos processos abióticos envolvidos na estruturação das comunidades de helmintos.

PALAVRAS-CHAVE: métricas do parasitismo; Anura; Campos Sulinos; poças.

ABSTRACT

The association between helminths and anurans is a good model for examining the patterns that govern the structure of host and parasite communities. However, there are many open gaps about which environmental variables are most important in structuring helminth communities and parasitic metrics, important information that could promoult an additional set of new ecological questions and approaches. Thus, in the present study we tested the influence of environmental variables (variables at the level of landscape, spatiality and locations – e.g. of ponds) on parasitic metrics and on the structure of helminth communities parasitizing eight species of anuran amphibians. Our study was carried out along 40 ponds distributed in different physiographic regions of the Brazilian Pampa biome. The spatiality of the ponds was not related to the variation in any of the metrics of parasitic infection of host anurans ($p > 0.05$), but explained part of the variation in the structure of the helminth community for most anuran hosts. For the local variables (number of aquatic vegetation types, emerging vegetation cover, pH, total dissolved solids, and hydroperiod) and landscape (distance from roads and distance from forest fragment) were important to explain part of the variation in the structure of the helminth communities and the parasitic metrics. Thus, our analyzes suggest that environmental variables at different scales influence the structure of the helminth community and parasitic metrics, but that those at a local scale are preponderant. Our results demonstrate the importance of pond heterogeneity on the structure of the helminth communities and on the parasitic metrics of anurans in the Pampa, contributing to the knowledge of the abiotic processes involved in the structuring of helminth communities.

KEY-WORDS: descriptors of parasitism; Anura; South Brazilian grasslands; ponds.

INTRODUÇÃO

A associação entre helmintos e anuros hospedeiros é um bom modelo para examinar os padrões que regem a estrutura de comunidades de parasitas (AHO, 1990; CAMPIÃO et al., 2015; GONZÁLEZ et al., 2021). Devido à dependência que a maioria dos anuros tem de corpos d'água para se reproduzir e sobreviver, as variáveis ambientais diretamente relacionadas às propriedades das poças e, em uma escala mais ampla, (distribuição espacial das poças e a características da paisagem) (IOP et al., 2020), tornam-se um fator de ligação crucial entre anuros hospedeiros e seus helmintos, influenciando a composição e estrutura da comunidade de helmintos (PORTELA et al., 2020). Fatores ambientais de larga escala, como a conectividade do habitat e a paisagem circundante (residências, estradas e fragmentos de floresta na área da poça), podem tornar difíceis ou fáceis a sobrevivência, o desenvolvimento, a distribuição e a transmissão de formas infecciosas para o hospedeiro (BASUALDO et al., 2007). Já fatores de escala local, como a vegetação nas margens e na água das poças, a temperatura da água e a densidade do hospedeiro, afetarão a capacidade dos helmintos de efetivamente se dispersam entre hospedeiros e entre locais (KRASNOV et al., 2005). Logo, a estruturação de comunidades de helmintos de anuros estaria relacionada com as características do hábitat e com a distribuição geográfica dos hospedeiros (AHO, 1990; BURSEY et al., 2001; MUZZALL et al., 2001; TOLEDO, 2013). Essas categorias de variáveis ambientais vêm sendo usadas em outros estudos com animais e plantas de vida livre para a compreensão de padrões de comunidades biológicas relacionadas a características ambientais (NUMA et al., 2009; MATTSSON et al., 2013; BROWNE; KARUBIAN, 2016). Nesse sentido, estudos que analisam os efeitos de cada fator ambiental e suas interações nos ajudarão a melhor compreender e prever mudanças nas comunidades de helmintos e nas populações de helmintos (MCDEVITT-GALLES et al., 2018).

Em escala local, características como a densidade e heterogeneidade da vegetação aquática e nas margens da poça influenciam as taxas de infecção e composição da comunidade de helmintos (CAMPIÃO et al., 2012). As propriedades físico-químicas da água são cruciais nas taxas de transmissão dos helmintos, afetando o comportamento e a imunocompetência do hospedeiro (BLAUSTEIN; JOHNSON, 2003). Tem sido registrado, por exemplo, que variáveis da água como temperatura, umidade, salinidade, pH e oxigênio são determinantes importantes na distribuição

espacial, infectividade e sobrevivência dos estágios infecciosos desses helmintos (PIETROCK; MARCOGLIESE, 2003; KOPRIVNIKAR et al., 2006, 2007; KOPRIVNIKAR; POULIN, 2009). Os efeitos da distribuição espacial das poças na dispersão dos organismos é um padrão bem estabelecido em ecologia, uma vez que com o aumento da distância, há diminuição da similaridade entre as comunidades biológicas (RICKLEFS, 1987; NEKOLA; WHITE, 1999; SOININEN et al., 2007). A relação entre a distância e a similaridade de comunidades de parasitas foi estudada para vários grupos de hospedeiros, como mamíferos (BROUAT; DUPLANTIER, 2007; VINARSKI et al., 2007), peixes (OLIVA; GONZÁLEZ 2005; KARVONEN; VALTONEN 2009), moluscos (THIELTGES et al., 2009) e pássaros (LOCKE et al., 2011).

A paisagem circundante às poças é um fator que afeta significativamente a transmissão de helmintos (notadamente trematódeos), dependendo das características da paisagem os níveis de infecção pode aumentar ou diminuir (THIELTGES et al., 2009). Fatores como a fragmentação da paisagem e o isolamento das poças podem restringir o acesso de anfíbios, pássaros e mamíferos à área, evitando assim que os helmintos dessas poças infectem outros hospedeiros potenciais (hospedeiros definitivos) (KING et al., 2007). Vários estudos avaliaram como os fatores da paisagem afetam helmintos de anuros, incluindo a influência da cobertura florestal (KING et al., 2007; HARTSON et al., 2011; KOPRIVNIKAR; REDFERN, 2012) e a densidade de estradas (URBAN, 2006; KING et al., 2007; KOPRIVNIKAR; REDFERN, 2012) e do tipo preponderante de uso do solo (MCKENZIE, 2007; CAMPIÃO et al., 2016; PORTELA et al., 2020).

Os anuros são hospedeiros intermediários e finais de uma variedade de espécies de helmintos que exibem uma ampla gama de histórias de vida e de estratégias de transmissão (CAMPIÃO et al., 2012; GONZÁLEZ et al., 2021). Muitos helmintos têm ciclos de vida complexos e, para transmissão, dependem da presença de uma variedade de vertebrados e invertebrados como hospedeiros intermediários. Portanto, compreender os padrões de distribuição em múltiplas escalas espaciais é importante como fonte de informações cruciais para descrever as forças que estruturam e mantêm a diversidade biológica (HARTE et al., 2005). Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo investigar os preditores da variação nas métricas parasitárias na estrutura das comunidades de helmintos em anuros, ao longo do Pampa brasileiro. Nós testamos a hipótese de que as variáveis ambientais estão relacionadas às métricas de infecção parasitária e à estrutura da comunidade helmintos, já que a dispersão dos anuros hospedeiros, as características

dos corpos d'água e da paisagem que os circunda podem afetar as relações parasita-hospedeiro (AHO, 1990; POULIN, 2007).

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

Os anuros foram amostrados em áreas campestres ao longo do bioma Pampa (Figura 1), inseridas em quatro diferentes regiões fisiográficas (IBGE, 2004) do bioma no Rio Grande do Sul: Planície Costeira (município de Rio Grande), Cuesta de Haedo (município de Alegrete), Depressão Central (município de São Gabriel) e Escudo Sul-rio-grandense (municípios de Santa Margarida do Sul e São Sepé), entre as latitudes 30 ° e 32 ° S, 6 - 135 m acima do nível do mar (HUECK, 1966). O Pampa é um ecossistema rico em fisionomias vegetais (HASENACK et al, 2010), com três a quatro mil espécies de plantas em uma área de 137.000 km² (OVERBECK et al., 2007) e inúmeras espécies endêmicas, como alguns anuros do gênero *Melanophryniscus*, das quais a maioria das espécies ocorrem em áreas que compreendem as formações abertas da zona subtropical / temperada da América do Sul (PRAMUK et al., 2008). O Pampa ocupava originalmente cerca de 60% do território do estado do Rio Grande do Sul, com uma área de 176.496 km², ou 2,07% do território brasileiro (SUERTEGARAY; SILVA, 2009) e se estende até o Uruguai e parte da Argentina (OYARZABAL et al., 2019). Infelizmente, o Pampa brasileiro experimenta elevada taxa de conversão de hábitat (principalmente devido ao cultivo de soja e silvicultura), bem como baixa extensão territorial cobertura em Unidades de Conservação (MMA, 2007, PILLAR et al. 2009, GAUTREAU; VÉLEZ 2011, FERREIRA et al., 2012, PILLAR; LANGE 2015). O clima da região é subtemperado e subtropical (MALUF, 2000). No período outono-inverno, os dias são curtos e frios, incluindo temperaturas negativas concentradas nos meses de junho e julho (e.g. mínimas médias absolutas de até -4°C). Em contraste, as temperaturas de primavera e verão atingem, respectivamente, as médias máximas absolutas de 34°C e 38°C em grande parte da região (exceto áreas serranas). O menor comprimento de fotoperíodo é de 10 h diárias de luz em junho (inverno) e o maior no mês de dezembro, alcançando 14 h diárias de luz (WREGE et al., 2011; RADIN et al., 2017). As chuvas variam regionalmente de 1200mm até 1900mm e são bem distribuídas ao longo do ano, sem a ocorrência de estação seca definida. Entretanto, pode ocorrer um déficit hídrico superficial durante o verão causado pela alta evapotranspiração que ocorre com as elevadas

temperaturas registradas de dezembro a março. Em oposição, o inverno apresenta a maior disponibilidade hídrica ocorre, quando a temperatura do ar é baixa e a umidade é alta (WREGE et al., 2011; RADIN et al., 2017).

Amostragem dos anfíbios hospedeiros

Foi amostrado um total de 40 poças naturais ou seminaturais em propriedades particulares, de acordo com a disponibilidade e acessibilidade local: nove poças na região dos Depressão Central, 13 na região dos Escudo Sul Rio-grandense, 11 na Cuesta de Haedo e sete poças na Planície Costeira (Tabela 1). A distância média entre as poças variou de 501m (DP = 361m) no Escudo Sul Rio-grandense, até 886m (DP = 412m) na Cuesta de Haedo. A distância média entre as poças na Depressão Central e na Planície Costeira foi, respectivamente, de 657m (DP = 409m) e 805m (DP = 677m). As poças apresentaram área média de $1,031\text{m}^2$ ($13,7\text{m}^2$ - $2,934\text{m}^2$, DP= $1,632\text{m}^2$).

A amostragem dos anuros foi realizada na primavera e verão de 2017, 2018 e 2019 que corresponde ao período de maior atividade reprodutiva dos anuros no sul do Brasil (SANTOS et al., 2008). Para a amostragem dos anuros adultos, foi utilizada a busca em sítios de reprodução (sensu SCOTT JR.; WOODWARD, 1994). Assim, a procura por anuros foi realizada durante o período crepuscular e noturno, ao longo das margens de poças disponíveis. O esforço de amostragem foi proporcional ao tamanho e complexidade dos corpos d'água (sensu SCOTT JR.; WOODWARD, 1994). Foi coletado um total de 685 anuros, pertencentes a duas famílias: 1) Hylidae: *Boana pulchella* (n = 111), *Pseudis minuta* (n = 128), *Scinax fuscovarius* (n = 91), e *Scinax granulatus* (n = 61); 2) Leptodactylidae: *Leptodactylus macrosternum* (n = 79), *Leptodactylus luctator* (n = 124), *Physalaemus cuvieri* (n = 30) e *Physalaemus gracilis* (n = 61). Os anuros foram eutanasiados com aplicação de anestésico sobre a pele (lidocaína® 10%). Os órgãos internos (pulmão, estômago, intestino delgado e intestino grosso, rins, vesícula biliar, bexiga), bem como a musculatura dos membros anterior e posterior e a cavidade celomática foram examinados quanto à presença de helmintos.

Amostragem, preparação e identificação dos helmintos

A coleta e o processamento dos helmintos seguiram as técnicas utilizadas por Amato et al. (1991). Os nematoides foram mortos em solução de álcool 70% quente (cerca de 60°C), fixados e

conservados em álcool 70%. Os acantocéfalos, trematódeos e cestoides foram mortos por meio de compressão com lâmina e lamínula, mantidas úmidas com álcool absoluto como fixador. Para corar os trematódeos, acantocéfalos e cestoides, foi usada a técnica do carmin clorídrico (ANDRADE, 2000; REY, 2001) e os nematoides foram clarificados com a técnica do lactofenol de Aman (ANDRADE, 2000), após foram montadas lâminas temporárias e examinadas com o auxílio do microscópio. Os dados morfométricos e fotomicrografias dos helmintos foram obtidos em sistema computadorizado para análise de imagens LAZ V4 (Leica Application Suite), adaptado aos microscópios DM 2500-Leica com o sistema de contraste interferencial de fase. Os espécimes-testemunho serão depositados na Coleção Helmintológica do Instituto de Biociências de Botucatu (CHIBB).

Variáveis ambientais

Registramos variáveis ambientais organizadas em três grupos: i) escala de paisagem, ii) espacialidade das poças, e iii) escala local, representando a heterogeneidade das poças.

Para representar a paisagem, foi registrada a menor distância de cada poça em relação a: estradas, fragmentos florestais e residências humanas. A distribuição espacial das poças amostradas foi descrita através dos Mapas de Autovetores de Moran (MEMs, “Moran’s Eigenvector Maps”), com base nas coordenadas geográficas registradas em campo (BORCARD et al., 2011).

As variáveis locais registradas como descritoras da heterogeneidade das poças foram: número de tipos estruturais de hidrófitas presentes nos corpos d’água (emersas, imersas e flutuantes); números de tipos estruturais de vegetação presentes em buffers de 1 m e 5 m no entorno dos corpos d’água (herbácea, arbustiva, arbórea); hidroperíodo (permanente ou temporário); origem dos corpos d’água (natural ou antrópica) e porcentagem de cobertura vegetal no espelho d’água. Adicionalmente, foram registradas sete variáveis físico-químicas da água (temperatura, sólidos totais dissolvidos, salinidade, pH, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica e turbidez), usando uma sonda multi-parâmetro Horiba®.

Análises estatísticas

As métricas quantitativas de parasitismo (prevalência, abundância média e intensidade média) foram calculadas segundo Bush et al. (1997), para todas as espécies de helmintos, incluindo média e respectivo erro padrão.

Para avaliar a influência de diferentes conjuntos de variáveis ambientais (escala de paisagem, espacialidade e local) sobre as métricas quantitativas de parasitismo dos helmintos, nós utilizamos análises de Regressão Lineares Generalizadas (GLM), separadamente para cada espécie de anuro hospedeiro. Os filtros espaciais foram obtidos no programa SAM 4.0 (Análise Espacial em Macroecologia) (RANGEL et al., 2006). As métricas de infecção parasitária foram transformadas ($\log(x + 1)$), assim como alguns dados ambientais, conforme inspeção prévia através de gráficos de dispersão (CLARKE et al, 2014). Os modelos foram construídos com a inclusão de variáveis passo-a-passo ("forward stepwise", ZAR, 1999). As análises de GLM foram realizadas no programa STATISTICA 10 (STATSOFT, 2000).

Para avaliar a influência das variáveis ambientais na variação da estrutura das comunidades de helmintos nós usamos modelos lineares baseados na distância (DistLM), para cada anuro hospedeiro. Essa análise foi baseada em matriz de similaridade (Bray-Curtis) calculada a partir da abundância de helmintos previamente transformada por ponderação de dispersão de espécies (indicado para reduzir os efeitos de espécies com padrões de distribuição distintos), seguido pela transformação de raiz quadrada (para diminuir o peso das contribuições de espécies quantitativamente dominantes para as semelhanças calculadas entre as amostras) (CLARKE et al., 2006, 2014). As variáveis ambientais foram transformadas (por $\log(x + 1)$ ou raiz quadrada) sempre que necessário e de acordo com inspeção prévia (CLARKE; WARWICK, 1994). Nós calculamos uma matriz de correlação (Pearson) entre as variáveis ambientais e não detectamos variáveis altamente correlacionadas ($r > 0.80$). A seleção dos melhores modelos foi realizada utilizando o Critério de Informação de Akaike corrigido (AICc), em combinação com a função BEST para a inclusão de variáveis (ANDERSON et al., 2008). Quando mais de uma variável foi incluída no modelo mais parcimonioso, nós utilizamos uma Análise de Redundância baseada em distância (db-RDA) para melhor interpretar a influência das variáveis preditoras na distribuição espacial das amostras (ANDERSON et al., 2008). Em todas as análises foram realizadas 9999 permutações. As análises foram realizadas no software PRIMER-E 7.0 (CLARKE; GORLEY, 2015).

RESULTADOS

Foram registradas 28 taxa de helmintos: 15 do Filo Nematoda, nove da classe Trematoda (Digenea), três da classe Cestoda e um de Acanthocephala.

Variação nas métricas de infecção parasitária

As variáveis da espacialidade das poças não foram relacionadas com a variação em nenhuma das métricas de infecção parasitária dos anuros hospedeiros ($p > 0,05$). Já as variáveis locais e da paisagem foram importantes para explicar parte da variação das métricas. O pH foi positivamente relacionado com a intensidade média de infecção e a abundância de helmintos em *Leptodactylus luctator*, bem como com a prevalência de helmintos em *Scinax granulatus* (Figura 2A e B). O total de sólidos dissolvidos foi negativamente correlacionado com a prevalência de infecção em *Physalaemus gracilis* (Figura 2C). O hidroperíodo permanente foi positivamente relacionado com a intensidade média de infecção em *Scinax fuscovarius*. A distância de fragmento florestal foi positivamente relacionada com a prevalência, a intensidade média de infecção e a abundância de helmintos em *Pseudis minuta* (Figura 2D). Nenhum descritor ambiental foi capaz de explicar as métricas do parasitismo em *Boana pulchella* e *Leptodactylus macrosternum* ($p > 0,05$) (Tabela 2). Não foi possível realizar essa análise para *Physalaemus cuvieri* devido ao baixo número de poças com a presença desse hospedeiro.

Variação na estrutura das comunidades de helmintos

A seleção de modelos lineares (DistLM) para *Boana pulchella* incluiu o filtro espacial (i.e. distribuição espacial das poças) e a distância de estrada como determinantes da variação na estrutura da comunidade de helmintos. O modelo final explicou 23,54% da variação dos dados, o filtro espacial explicou 17,51% e foi relacionado ao eixo 1 da db-RDA ($r = 0,957$); enquanto a distância de estrada explicou 6,03% da variação e foi correlacionada com o eixo 2 ($r = 0,957$) (Figura 2A).

Para *Pseudis minuta*, a DistLM revelou que o filtro espacial e o pH foram as variáveis que melhor explicaram a variação na estrutura da comunidade de helmintos. O filtro espacial explicou 20,53% da variação dos dados e foi correlacionado com o eixo 2 da db-RDA ($r = 0,808$), já o pH

explicou 7,65% da variação dos dados e foi correlacionado com o eixo 1 db-RDA ($r = 0,808$). Assim, o modelo final explicou 28,18% da variação dos dados (Figura 2B).

O número de tipos de hidrófitas (emersas, imersas e flutuantes) foi a variável que melhor explicou a variação na estrutura das comunidades de helmintos em *Leptodactylus luctator* (12,44% da variação) e em *Physalaemus gracilis* (25,67% da variação). A variação na estrutura da comunidade de helmintos de *Leptodactylus macrosternum* foi melhor explicada pelo filtro espacial (13,28% da variação). Para *Scinax fuscovarius*, a porcentagem de cobertura vegetal no espelho d'água explicou 16,55% da variação, enquanto o hidroperíodo da poça explicou 56,76% da variação na estrutura da comunidade de helmintos de *Physalaemus cuvieri*. Para *Scinax granulatus*, nenhuma variável foi selecionada.

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que a fauna helmíntica dos anuros na região do Pampa no sul do Brasil é influenciada pelas variáveis locais (preponderantemente), espaciais e de paisagem. No presente estudo, a estrutura da comunidade e as métricas de infecção parasitária (prevalência, intensidade de infecção parasitária e abundância média dos helmintos) foram influenciadas por pelo menos uma das categorias de variáveis, para a maioria dos hospedeiros estudados. Desta forma, nossas análises sugerem que as variáveis ambientais são determinantes para as comunidades de helmintos, incrementando ou diminuindo os valores das métricas do parasitismo analisadas, bem como os valores de similaridade quanto à estrutura da helmintofauna.

A hipótese de que as variáveis ambientais estão relacionadas a estrutura da comunidade e às métricas de infecção parasitária de anuros por helmintos foi corroborada. A distância de estradas foi a variável da paisagem relacionada com a estrutura da comunidade de helmintos em *Boana pulchella* e a distância de fragmento florestal foi correlacionada com a prevalência, a intensidade média de infecção e a abundância média de helmintos em *Pseudis minuta*. Sabe-se que essas variáveis ambientais podem influenciar a relação parasita-hospedeiro, principalmente para helmintos com ciclos de vida complexos que requerem múltiplos hospedeiros para transmissão, desenvolvimento e reprodução (KING et al., 2010; KOPRIVNIKAR et al., 2012). Fragmentos florestais são importantes refúgios para vertebrados que servem como hospedeiros definitivos, portanto, quanto maior a distância entre a poça e algum fragmento florestal menor é a chance de

helminthos como trematódeos conseguirem infectar seus hospedeiros definitivos e assim concluírem seu ciclo de vida (SCHOTTHOEFER et al., 2011). Estudos anteriores também encontraram relação da distância de fragmento florestal (KING et al., 2007; ROHR et al., 2008; HARTSON et al., 2011; SCHOTTHOEFER et al., 2011; KOPRIVNIKAR; RODFERN, 2012) e da distância de estradas até as poças (URBAN, 2006; KING et al., 2007; KOPRIVNIKAR; RODFERN, 2012) com a estrutura da comunidade de helmintos e métricas parasitárias.

O filtro espacial foi a variável mais representativa para explicar a estrutura da comunidade de helmintos entre as diferentes regiões fisiográficas amostradas, já que foi importante para três hospedeiros (*Boana pulchella*, *Pseudis minuta* e *Leptodactylus macrosternum*) nos quais a similaridade quanto à comunidade de helmintos decresceu com a distância. Segundo Nekola & White (1999) e Soininem et al. (2007), três mecanismos podem explicar o aumento da dissimilaridade na comunidade: 1) a similaridade decai com a distância devido à semelhança decrescente nas características ambientais, assim as espécies apresentam desempenho distinto sob diferentes condições ambientais; 2) a configuração e a natureza da paisagem determinam a taxa de dispersão dos organismos entre os locais. Nesse segundo caso, em uma paisagem com grandes barreiras de dispersão, a similaridade da comunidade diminui mais abruptamente, pois as barreiras de dispersão limitam o movimento dos organismos em ambientes heterogêneos; ou 3) De acordo com a Teoria Neutra (HUBBELL, 2001), mesmo se o ambiente for completamente homogêneo, a similaridade da comunidade decai com a distância, devido à dispersão limitada dos organismos. Esses processos resultam no mesmo padrão, dessa forma, tanto a limitação de dispersão quanto as barreiras ambientais podem atuar simultaneamente em um determinado grupo de organismos, gerando dissimilaridade com o incremento da distância. Resultados similares ao nosso estudo foram reportados para helmintos em mamíferos e peixes (POULIN, 2003; FELLIS; ESCH 2005; LOCKE et al., 2012; WARBURTON et al., 2016) e interpretados como variação ambiental espacialmente estruturada (i.e., que as semelhanças decrescentes das características ambientais foram mais importantes na estruturação dessas comunidades do que a capacidade de dispersão dos hospedeiros).

As variáveis locais foram as mais importantes para explicar a variação na estrutura das comunidades de helmintos e as métricas parasitárias. O número de tipos de hidrófitas, a porcentagem de cobertura vegetal no espelho d'água, o pH, os sólidos totais e o hidroperíodo foram

as variáveis preponderantemente relacionadas com as métricas analisadas em pelo menos uma das seis espécies de anuros hospedeiros. Essas variáveis refletem a complexidade e a heterogeneidade das poças, que podem afetar direta ou indiretamente a estrutura das comunidades e as métricas parasitárias dos hospedeiros (CAMPIÃO et al., 2012). A porcentagem de cobertura do espelho d'água por plantas aquáticas, por exemplo, pode influenciar as taxas de infecção de helmintos com estágio do ciclo de vida aquático, como os trematódeos (CAMPIÃO et al., 2012). A maior ou menor complexidade na estrutura de hidrófitas (imersas, emersas e flutuantes) também pode aumentar ou diminuir o sucesso da transmissão, pois a vegetação aquática está diretamente relacionada com a probabilidade de contato entre helmintos e anuros (BEASLEY et al., 2005). De fato, como os ciclos de transmissão e reprodução do helminto é dependente da heterogeneidade e a complexidade do ecossistema as comunidades de helmintos tendem a refletir esses fatores (MARCOGLIESE, 2004; HECHINGER; LAFFERTY, 2005). Variáveis da água como o pH e os sólidos totais influenciam a distribuição espacial e as taxas de infecção, devido à tolerância fisiológica dos helmintos que é limitada às condições físicas e químicas do meio ambiente. Dessa forma, os estágios do ciclo de vida de vida livre têm sua sobrevivência e distribuição afetadas por esses fatores (PIETROCK; MARCOGLIESE, 2003; THIELTGES et al., 2009). A resposta direta dos helmintos às variações do pH é conhecida e considerada assimétrica, ou seja, grupos diferentes respondem de maneiras diferentes (PIETROCK; MARCOGLIESE, 2003). Poças mais alcalinas favorecem o aumento de moluscos, que são necessários no ciclo de vida dos trematódeos; o aumento desses hospedeiros intermediários deve resultar em maior taxa de infecção por esses helmintos (LAFFERTY, 1997; JOHNSON; CHASE, 2004; MCKENZIE, 2007; PORTELA et al., 2020). Nossos resultados corroboram estudos anteriores que também encontraram relação da estrutura e métricas parasitárias da comunidade de helmintos com o pH (PIETROCK; MARCOGLIESE, 2003; EL-TANTAWY et al., 2018), os sólidos totais (PARVIN et al., 2010), a vegetação aquática e a cobertura vegetal no espelho d'água (BEASLEY et al., 2005; CAMPIÃO et al., 2012), bem como o hidroperíodo (CHOUDHURY; DICK, 2000; SILVA et al., 2018).

Esse estudo contribui para o conhecimento dos processos abióticos envolvidos na estruturação das comunidades de helmintos nos anuros do bioma Pampa. Nossos resultados demonstram a importância da heterogeneidade das poças sobre a estrutura da comunidade de helmintos e as métricas parasitárias de anuros.

REFERÊNCIAS

- AMATO, J. F. R.; BOEGER, W.; AMATO, S. B. **Protocolos para laboratório: coleta e processamento de parasitos de pescado**. Rio de Janeiro: Imprensa Universitária UFRRJ, 1991. 81p.
- AHO, J. M. Helminth communities of amphibians and reptiles: Comparatives approaches to understanding patterns and processes. In: ESCH, G. et al. (eds). **Parasite communities: Patterns and processes**. New York: Chapman and Hall, 1990. p. 157-196.
- ANDERSON, M. J.; GORLEY, R. N.; CLARKE, K. R. **PERMANOVA + for PRIMER: guide to software and statistical methods**. Plymouth: PRIMER-E, 2008. 218p.
- ANDRADE, C. M. **Meios e soluções comumente empregados em laboratórios**. Rio de Janeiro: Editora Universidade Rural, 2000. 353 p.
- BASUALDO, J. A.; CÓRDOBA, M. A.; LUCA, M. M.; CIARMELA, M. L.; PEZZANI, B. C.; GRENOVERO, M. S.; MINVIELLE, M. C. Intestinal parasitoses and environmental factors in a rural population of Argentina, 2002-2003. **Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49(4), p. 251-255, 2007.
- BEASLEY, V. R.; FAEH, S. A.; WIKOFF, B.; EISOLD, J.; NICHOLS, D.; COLE, R.; SCHOTTHOEFER, A. M.; STAEHLE, C.; GREENWELL, M.; BROWN, L. E. Risk factors and the decline of the northern cricket frog, *Acris crepitans*: Evidence for involvement of herbicides, parasitism, and habitat modifications. In: LANNO, M. J. et al. (edit). **Amphibian declines: The conservation status of United States species**. Berkeley: University of California Press, 2005. p. 75-86.
- BLAUSTEIN A. R.; GERVASI, S. S.; JOHNSON, P. T. J.; HOVERMAN, J. T.; BELDEN, L. K.; BRADLEY, P. W.; XIE, G. Y. Ecophysiology meets conservation: understanding the role of disease in amphibian population declines. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, p. 1688-1707, 2012.
- BORCARD, D.; GILLET, F.; LEGENDRE, P. **Numerical ecology with R. Use R!** New York: Springer, 2011. 319 p.
- BROUAT C.; DUPLANTIER J. M. Host habitat patchiness and the distance decay of similarity among gastro-intestinal nematode communities in two species of *Mastomys* (southeastern Senegal). **Oecologia**, v. 152, p. 715-720, 2007.
- BROWNE, L.; KARUBIAN, J. Diversity of palm communities at different spatial scales in a recently fragmented tropical landscape. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 182(2), p. 451-464, 2016.

BURSEY, C. R.; GOLDBERG, S. R.; PARMELEE, J. R. Gastrointestinal helminths of 51 species of anurans from Reserva Cuzco Amazonico, Peru. **Comparative Parasitology**, v. 68, p. 21-35, 2001.

BUSH, A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its terms: MARGOLIS et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v.83, p. 575-583, 1997.

CAMPIÃO, K. M.; DELATORRE, M.; RODRIGUES, R. B.; SILVA, R. J.; FERREIRA, V. L. The Effect of Local Environmental Variables on the Helminth Parasite Communities of the Pointedbelly Frog *Leptodactylus podicipinus* from Ponds in the Pantanal Wetlands. **Journal of Parasitology**, v. 98(2), p. 229-235, 2012.

CAMPIÃO, K. M.; RIBAS, A. C. A.; MORAIS, D. H.; 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, p. 1-12, 2015.

CAMPIÃO, K. M.; RIBAS, A. C.; SILVA, I. C. O.; DALAZEN, G. T.; TAVARES, L. E. Anuran helminth communities from contrasting nature reserve and pasture sites in the Pantanal wetland, Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 91, p. 91-96, 2016.

CLARKE, K. R.; CHAPMAN, M. G.; SOMERFIELD, P. J.; NEEDHAM, H. R. Dispersion-based weighting of species counts in assemblage analyses. **Marine Ecology Progress Series**, v. 320, p. 11-27, 2006.

CLARKE, K. R.; GORLEY, R. N.; SOMERFIELD, P. J.; WARWICK, R. M. **Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation**. Plymouth: PRIMER-E, 2014. 262 p.

CLARKE, K. R.; GORLEY R. N. PRIMER v7: User Manual/Tutorial. Plymouth: PRIMER-E, 2015. 300 p.

CHOUDHURY, A.; DICK, T. A. Richness and diversity of helminth communities in tropical freshwater fishes: empirical evidence. **Journal of Biogeography**, v. 27(4), p. 935-956, 2000.

EL-TANTAWY, S. A.; EL-NAGGA, A. M.; MASHALY, M. I.; ALMAGTUF, H. A. Relationship of Physicochemical Parameters of Water to Intestinal Helminth Fauna of *Clarias gariepinus* in Dakahlia Governorate, Egypt. **Wulfenia Journal Klagenfurt Austria**, v. 25(8), p. 102-121, 2018.

FELLIS, K.; ESCH, G. Variation in life cycle affects the distance decay of similarity among bluegill sunfish parasite communities. **Journal of Parasitology**, v.91, p. 1484-1486, 2005.

HARTE, J.; CONLISK, E.; OSTLING, A.; GREEN, J. L.; SMITH, A. B. A theory of spatial structure in ecological communities at multiple spatial scales. **Ecological Monographs**, v. 75, p. 179-197, 2005.

FERREIRA, J.; PARDINI, R.; METZGER, J.P.; FONSECA, C.R.; POMPEU, P.S.; SPAROVEK, G.; LOUZADA, J. Towards environmentally sustainable agriculture in Brazil: challenges and opportunities for applied ecological research. **Journal of Applied Ecology**, v. 49, p. 535-541, 2012.

GAUTREAU, P.; VELEZ, E. Strategies of environmental knowledge production facing land use changes: Insights from the Silvicultural Zoning Plan conflict in the Brazilian state of Rio Grande do Sul. **Cybergeo: European Journal of Geography**, v. 577, 2011. Disponível em: <<http://cybergeo.revues.org/24881>> Acesso em: ago. 2021.

GONZÁLEZ, C. E.; HAMANN, M. I.; DURÉ, M. I. Nematodes of Amphibians from the South American Chaco: Distribution, Host Specificity and Ecological Aspects. **Diversity**, v. 13, p. 321, 2021.

HARTSON, R. B.; ORLOFSKE, S. A.; MELIN, V. E.; DILLON, R. T.; JOHNSON, P. T. J. Land Use and Wetland Spatial Position Jointly Determine Amphibian Parasite Communities. **EcoHealth**, v. 8(4), p. 485-500, 2011.

HASENACK, H.; WEBER, E.; BOLDRINI, I. I.; TREVISAN, R. **Mapa de sistemas ecológicos da ecorregião das savanas uruguaias em escala 1:500.000 ou superior e relatório técnico descrevendo insumos utilizados e metodologia de elaboração do mapa de sistemas ecológicos**. Porto Alegre: Centro de Ecologia UFRGS, 2010. 18 p.

HECHINGER, R. F.; LAFFERTY, K. D. Host diversity begets parasite diversity: Bird final hosts and trematodes in snail intermediate hosts. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Science**, v. 272, p. 1059-1066, 2005.

HUBBELL, S. P. **The unified neutral theory of biodiversity and biogeography**. New Jersey: Princeton University Press, 2001. 392 p.

IOP, S.; SANTOS, T. G.; CECHIN, S. Z. **Anfíbios anuros dos Campos Sulinos: espécies com ocorrência nas áreas campestres do Pampa e da Mata Atlântica**. Porto Alegre: UFRGS – Rede de Campos Sulinos, 2016. 23 p.

JOHNSON, P. T. J.; CHASE J. M. Parasites in the food web: linking amphibian malformations and aquatic eutrophication. **Ecology Letters**, v. 7, p. 521-526, 2004.

KARVONEN, A.; VALTONEN, E. T. Helminth assemblages of whitefish (*Coregonus lavaretus*) in interconnected lakes: similarity as a function of species-specific parasites and geographical separation. **The Journal of Parasitology**, v. 90, p. 471-476, 2004.

KING, K. C.; MCLAUGHLIN, J. D.; GENDRON, A. D.; PAULI, B. D.; GIROUX, I.; RONDEAU, B.; BOILY, M.; JUNEAU, P.; MARCOGLIESE, D. J. Impacts of agriculture on the parasite communities of northern leopard frogs (*Rana pipiens*) in southern Quebec, Canada. **Parasitology**, v. 134, p. 2063-2080, 2007.

KING, K. C.; MCLAUGHLIN, J. D.; BOILY, M.; MARCOGLIESE, D. J. Effects of agricultural landscape and pesticides on parasitism in native bullfrogs. **Biological Conservation**, v. 143, p. 302-310, 2010.

KOPRIVNIKAR, J.; FORBES, M. R.; BAKER, R. L. Effects of atrazine on cercarial longevity, activity, and infectivity. **Journal of Parasitology**, v. 923, p. 306-311, 2006.

KOPRIVNIKAR, J.; FORBES, M. R.; BAKER, L. Contaminant effects on host-parasite interactions: Atrazine, frogs and trematodes. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, p. 2166-2170, 2007.

KOPRIVNIKAR, J.; POULIN, R. Effects of temperature, salinity, and water level on the emergence of marine cercariae. **Parasitology Research**, v. 105, p. 957-965, 2009.

KOPRIVNIKAR, J.; GIBSON, C. H.; REDFERN J. C. Infectious personalities: behavioural syndromes and disease risk in larval amphibians. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 279, p. 1544-1550, 2012.

KOPRIVNIKAR, J.; MARCOGLIESE, D. J.; ROHR, J. R.; ORLOFSKE, S. A.; RAFFEL, T. R.; JOHNSON, P. T. J. Macroparasite Infections of Amphibians: What Can They Tell Us? **EcoHealth**, v. 9(3), p. 342-360, 2012.

KOPRIVNIKAR, J.; REDFERN, J. C. Agricultural effects on amphibian parasitism: importance of general habitat perturbations and parasite life cycles. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 48(4), p. 925-936, 2012.

KRAPU, G. L.; GREENWOOD, R. J.; DWYER, C. P.; KRAFT, K. M.; COWARDIN, L. M. Wetland use, settling patterns, and recruitment in mallards. **Journal of Wildlife Management**, v. 61, p. 736-746, 1997.

KRASNOV, B. R.; SHENBROT, G. I.; MOUILLOT, D.; KHOKHLOVA, I. S.; POULIN, R. Spatial variation in species diversity and composition of flea assemblages in small mammalian hosts: geographic distance or faunal similarity? **Journal of Biogeography**, v. 32, p. 633-644, 2005.

LAFFERTY, K. D. Environmental parasitology: What can parasites tell us about human impacts on the environment? **Parasitology Today**, v. 13, p. 251-255, 1997.

LOCKE, S. A.; LEVY, M. S.; MARCOGLIESE, D. J.; ACKERMAN, S.; MCLAUGHLIN, J. D. The decay of parasite community similarity in ring-billed gulls *Larus delawarensis* and other hosts. **Ecography**, v. 34, p. 1-9, 2012.

MARCOGLIESE, D. J. Parasites: small players with crucial roles in the ecological theater. **Ecohealth**, v. 1, p. 151-164, 2004.

- MATTSSON, B. J.; ZIPKIN, E. F.; GARDNER, B.; BLANK, P. J.; SAUER, J. R.; ROYLE, J. A. Explaining Local-Scale Species Distributions: Relative Contributions of Spatial Autocorrelation and Landscape Heterogeneity for an Avian Assemblage. **PLoS ONE**, p. 8(2), p. 1-12, 2013.
- MCDEVITT-GALLES, T.; CALHOUN, D. M.; JOHNSON, P. T. J. Parasite richness and abundance within aquatic macroinvertebrates: testing the roles of host- and habitat-level factors. **Ecosphere**, v. 9(4), p. 1-16, 2018.
- MCKENZIE, V. J. Human land use and patterns of parasitism in tropical amphibian hosts. **Biological Conservation**, v. 137, p. 102-116, 2007.
- MMA. **Áreas Prioritárias para Conservação, Uso Sustentável e Repartição de Benefícios da Biodiversidade: Atualização-Portaria MMA nº9, de 23 de janeiro de 2007.** Brasília: Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 2007. p. 87-95.
- MUZZALL, P. M.; GILLILLAND, M. G.; SUMMER, C. S.; MEHNE, C. J. Helminth communities of green frogs *Rana clamitans* Latreille, from southeastern Michigan. **Journal of Parasitology**, v. 98, p. 962-968, 2001.
- NEKOLA, J. C.; WHITE, P. S. The distance decay of similarity in biogeography and ecology. **Journal of Biogeography**, 26, p. 867-878, 1999.
- NIMER, E. Climatologia do Brasil. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. In: PILLAR, V. P. et al. (eds). **Campos Sulinos: Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade.** Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 1990. p. 13-25.
- NUMA, C.; VERDÚ, J. R.; SÁNCHEZ, A.; GALANTE, E. Effect of landscape structure on the spatial distribution of Mediterranean dung beetle diversity. **Diversity and Distributions**, v. 15(3), p. 489-501, 2009.
- OLIVA, M. E.; GONZÁLEZ, M. T. The decay of similarity over geographical distance in parasite communities of marine fishes. **Journal of Biogeography**, v. 32, p. 1327-1332, 2005.
- OYARZABAL, M.; ANDRADE, V.; PILLAR, V. P.; PARUELO, J. Temperate Subhumid Grasslands of Southern South America. In: GOLDSTEIN, M. I.; DELLASALLA, D. A. (eds) **Encyclopedia of the world's biomes, earth systems and environmental sciences. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences.** Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 577-593.
- PARVIN, H.; UDDIN, M. H.; KHANUM, H.; ISLAM, M. S.; MATIN, M. A.; RAHMAN, M. S.; ENDTZ, H. P.; CRAVIOTO, A.; ISLAM, M. S. Prevalence of helminths in a lake of Dhaka city, Bangladesh. **Bangladesh Journal of Zoology**, v. 38(1), p. 31-39, 2010.

PIETROCK, M.; MARCOGLIESE, D. J. Free-living endohelminth stages: at the mercy of environmental conditions. **Trends in Parasitology**, v. 19, p. 293-298, 2003.

PILLAR, V.P., MULLER, S.C., CASTILHOS, Z.M.S. & JACQUES, A.V.A. 2009. **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2009. 403 p.

PILLAR V.P.; LANGE, O. **Os Campos do Sul**. Porto Alegre: Rede Campos Sulinos, UFRGS, 2015. 188 p.

PORTELA, A. A. B.; SANTOS, T. G.; ANJOS, L. A. Changes in land use affect anuran helminths in the South Brazilian grasslands. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. 1-11, 2020.

POULIN, R. The decay of similarity with geographical distance in parasite communities of vertebrate hosts. **Journal of Biogeography**, v. 30(10), p. 1609-1615, 2003.

POULIN, R. **Evolutionary ecology of parasites from individuals to communities**, 2° ed. New Jersey: Princeton University Press, 2007. 212 p.

PRAMUK, J.B.; ROBERTSON, T.; SITES JR., J.W.; NOONAN, B. P. Around the world in 10 million years: biogeography of the nearly cosmopolitan true toads (Anura: Bufonidae). **Global Ecology and Biogeography**, v. 17, p. 72-83, 2008.

RADIN, B.; MATZENAUER, R.; DE MELO, R.W.; WREGE, M.S.; STEINMENTZ, S. Quantificação e distribuição sazonal da precipitação pluvial nas regiões ecoclimáticas do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 10, p. 1161-1169, 2017.

RANGEL, T. F. L.V. B.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; BINI, L. M. Towards an integrated computational tool for spatial analysis in macroecology and biogeography. **Global Ecology and Biogeography**, v. 15, p. 321-327, 2006.

RICKLEFS, R. E. Community diversity: relative roles of local and regional process. **Science**, v. 235, p. 167-171, 1987.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 856 p.

ROHR, J. R.; RAFFELA, T. R.; ROMANSICA, J. M.; MCCALLUMB, H.; HUDSON, P. J. Evaluating the links between climate, disease spread, and amphibian declines. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 105, p. 17436-17441, 2008.

SANTOS, T. G.; KOPP, K.; SPIES, M. R.; TREVISAN, R.; CECHIN, S. Z. Distribuição temporal e espacial de anuros em área de Pampa, Santa Maria, RS. **Iheringia**, v. 98, p. 244-253, 2008.

- SCHOTTHOEFER, A. M.; ROHR, J. R.; COLE, R. A.; KOEHLER, A. V.; JOHNSON, C. M.; JOHNSON, L. B.; BEASLEY, V. R. Effects of wetland vs. landscape variables on parasite communities of *Rana pipiens*: links to anthropogenic factors. **Ecological Applications**, v. 21(4), p. 1257-1271, 2011.
- SCOTT JR., N. J.; WOODWARD, B. D. Surveys at breeding sites. In: HEYER, W. R. et al. (eds.). **Measuring and Monitoring Biological Diversity - Standard Methods for Amphibians**. Washington & London: Smithsonian Institution Press, 1994. p. 84-92.
- SILVA, C. S.; ÁVILA, R. W.; MORAIS, D. H. Helminth community dynamics in a population of *Pseudopaludicola pocoto* (Leptodactylidae: Leiuperinae) from Northeast-Brazilian. **Helminthologia**, v. 55(4), p. 292-305, 2018.
- SOININEN, J.; MCDONALD, R.; HILLEBRAND, H. The distance decay of similarity in ecological communities. **Ecography**, v. 30, p. 3-12, 2007.
- STATSOFIT INC. **STATISTICA for Windows**: Insects as flower puter program manual. Tulsa, OK, 2000.
- THIELTGES, E. W.; FERGUSON, M. A. D.; JONES, C. S.; KRAKAU M.; MONTAUDOUIN, X.; NOBLE, L.R.; REISE, K.; POULIN, R. Distance decay of similarity among parasite communities of three marine invertebrate hosts. **Oecologia**, v. 160, p. 163-173, 2009.
- TOLEDO, G. M. **Supracomunidade de helmintos associados a anfíbios: uso do hábitat, modo reprodutivo dos hospedeiros e distribuição espacial dos parasitas**. 104 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.
- URBAN, M. C. Road Facilitation of Trematode Infections in Snails of Northern Alaska. **Conservation Biology**, v. 20(4), p. 1143-1149, 2006.
- VINARSKI, M. V.; KORALLO, N. P.; KRASNOV, B. R.; SHENBROT, G. I.; POULIN R. Decay of similarity of gamasid mite assemblages parasitic on Palearctic small mammals: geographic distance, hostspecies composition or environment. **Journal of Biogeography**, v. 34, p. 1691-1700, 2007.
- WARBURTON, E. M.; KOHLER, S. L.; VONHOF, M. J. Patterns of parasite community dissimilarity: the significant role of land use and lack of distance-decay in a bat-helminth system. **Oikos**, v. 125(3), p. 374-385, 2015.
- WREGE, M.S.; STEINMENTZ, S.; JÚNIOR, C.R.; ALMEIDA, I.R. Atlas climático da região sul do Brasil: estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2011. 336 p.

FIGURAS

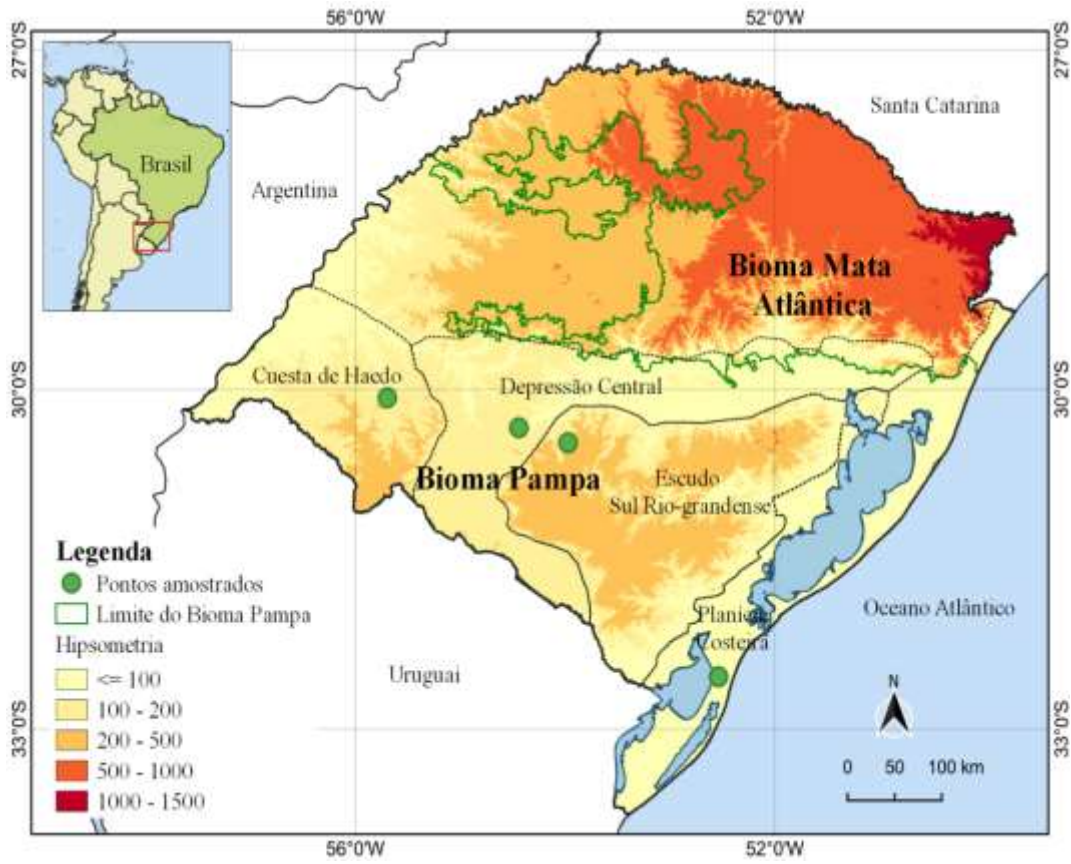


Figura 1. Localização dos pontos amostrados e regiões fisiográficas do bioma Pampa brasileiro, onde os anuros hospedeiros de helmintos foram coletados na primavera e no verão de 2017, 2018 e 2019.

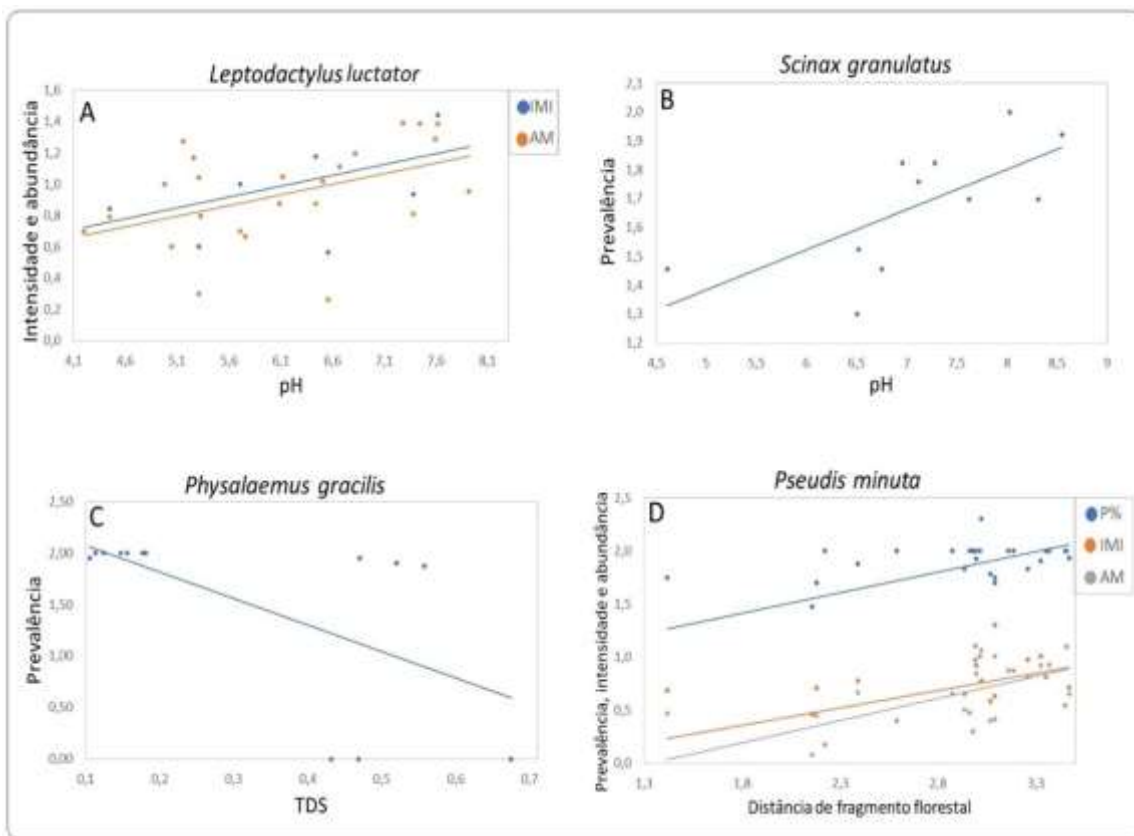


Figura 2. Relação entre as variáveis ambientais e as métricas parasitárias, conforme análises de Regressão Lineares Generalizadas (GLM) para os anuros hospedeiros *Leptodactylus luctator* (A), *Scinax granulatus* (B), *Physalaemus gracilis* (C) e *Pseudis minuta* (D). Prevalência (P%), Intensidade média de infecção (IMI) e Abundância média (AM) de helmintos.

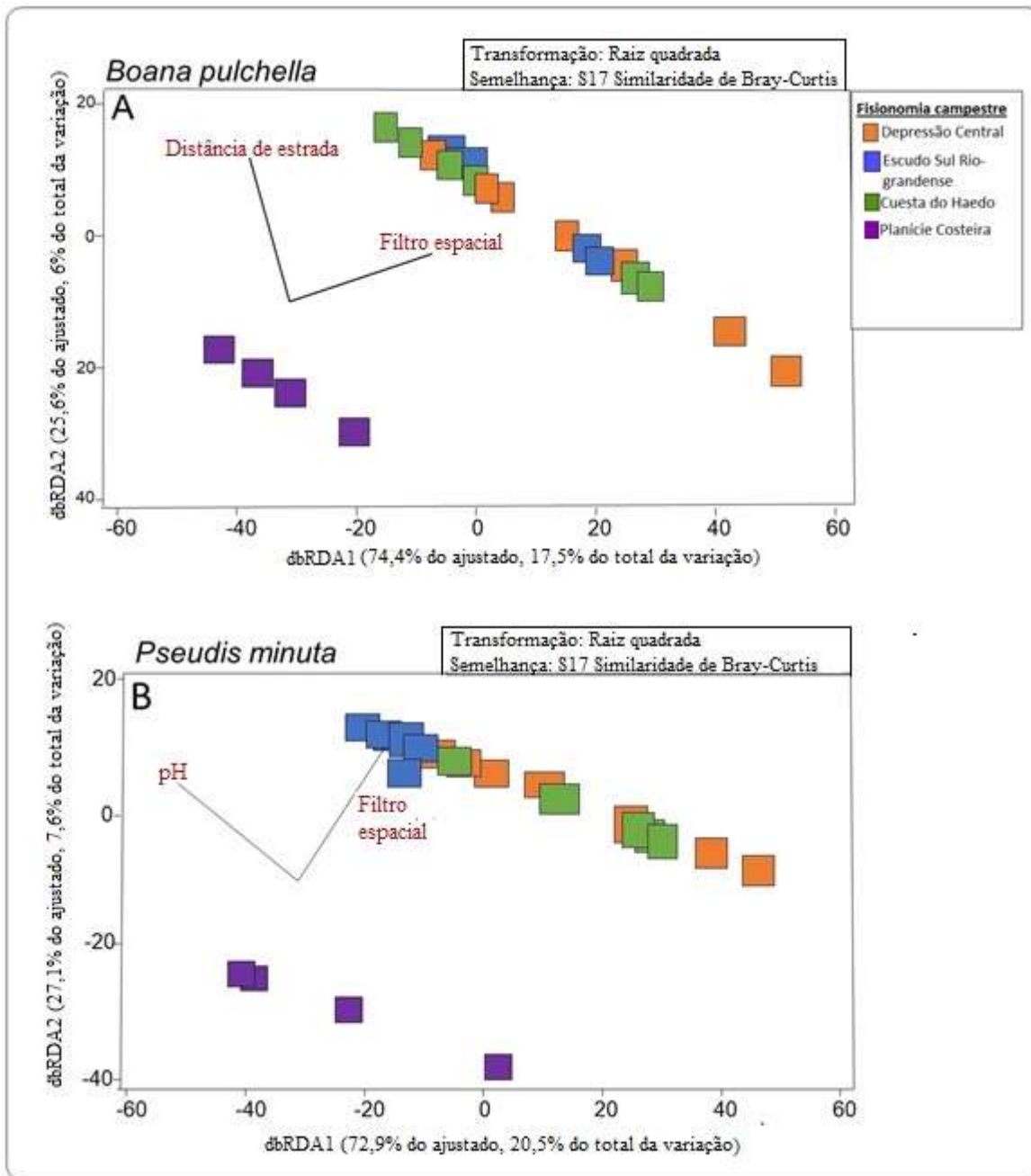


Figura 3. Resultado da análise de redundância com base no modelo linear (db-RDA), utilizando as variáveis ambientais que foram relacionadas com a estrutura da comunidade de helmintos nos anuros hospedeiros *Boana pulchella* (A) e *Pseudis minuta* (B).

TABELAS

Tabela 1. Anuros coletados em cada poça amostrada nas quatro regiões fisiográficas do bioma Pampa brasileiro. Poças: Depressão Central (DC), Escudo Sul Rio-grandense (ESRG), Cuesta de Haedo (CH) e Planície Costeira (PC). Anuros: *Boana pulchella* (Bpu), *Leptodactylus macrosternum* (Lma), *Leptodactylus luctator* (Llu), *Physalaemus cuvieri* (Pcu), *Physalaemus gracilis* (Pgr), *Pseudis minuta* (Pmi), *Scinax fuscovarius* (Sfu) e *Scinax granulatus* (Sgr).

Poças	Bpu	Lma	Llu	Pcu	Pgr	Pmi	Sfu	Sgr
DC 1			02			07		
DC 2	04					03	12	07
DC 3	03		02			01		
DC 4	03	06	07			05		
DC 5	04	07				01	08	09
DC 6	05	13	20			03	06	05
DC 7	05					05	05	07
DC 8	02					01		03
DC 9	05	04				04		
ESRG 1								
ESRG 2		02	05		03			
ESRG 3		02	05			04	05	03
ESRG 4	06	02	05	04		04	05	
ESRG 5	14	03	08		03	06		03
ESRG 6	04	02	11		05	10	05	
ESRG 7						08		
ESRG 8						02		
ESRG 9					08	01		06
ESRG 10	05	02			04	05		
ESRG 11		01		09	03		05	06
ESRG 12		03		11	02		05	06
ESRG 13	01	02		06	02		05	06
CH 1	03		04			07	03	
CH 2	01		04				03	
CH 3	04	02	02					
CH 4	02	02	05			09	03	
CH 5	03	03	04				05	
CH 6		06	03				02	
CH 7		01	03			04		
CH 8		04	01			03	04	
CH 9	03	03	02			03	04	
CH 10		05	02			02	06	
CH 11	04	04						
PC 1	04		08		09	09		
PC 2	04		03		10	17		
PC 3			02					
PC 4	06		06		03	01		
PC 5			06			01		
PC 6	16							
PC 7			04		09	02		

Tabela 2. Resultados dos modelos de regressão lineares generalizados (GLM) que avaliaram a influência de conjuntos de variáveis (locais, espaciais e da paisagem) como preditores das métricas de infecção helmíntica (prevalência, intensidade e abundância) em anuros na região do Pampa, Rio Grande dos Sul. Métrica parasitária (MP), Variável incluída (VI), *Boana Pulchella* (Bpu), *Leptodactylus macrosternum* (Lma), *Leptodactylus luctator* (Llu), *Physalaemus gracilis* (Pgr), *Pseudis minuta* (Pmi), *Scinax fuscovarius* (Sfu), *Scinax granulatus* (Sgr), prevalência (P%), intensidade média de infecção (IMI), abundância média (AM) de helmintos, Turbidez (Tur), distância de fragmento florestal (DFF), hidroperíodo (Hid). Em negrito, as variáveis e métricas que foram significativas.

Anuro	MP	VI	R ² aj	MS	df	F	p	β	t	p
<i>Bpu</i>	P%	-								
	IMI	-								
	AM	-								
<i>Lma</i>	P%	Tur	-0,05	0,017	20	0,06	0,795	0,05	0,26	0,79
	IMI	Tur	0,07	0,34	20	2,69	0,116	-0,34	-1,64	0,11
	AM	Tur	0,07	0,33	20	2,52	0,128	-0,33	-1,59	0,12
<i>Llu</i>	P%	pH	-0,04	0,00	1	0,00	0,301	-0,03	-0,13	0,89
	IMI	pH	0,37	0,52	1	0,53	1,191	0,55	3,19	0,004
	AM	pH	0,18	0,50	1	0,51	1,854	0,46	2,51	0,01
<i>Pgr</i>	P%	TDS	0,29	4,9	2	2,45	7,010	-0,71	-2,62	0,02
	IMI	TDS	-0,11	0,54	2	0,27	6,743	-0,02	-0,08	0,93
	AM	TDS	-0,10	0,56	2	0,28	6,263	-0,05	-0,17	0,86
<i>Pmi</i>	P%	DFF	0,16	1,02	1	1,02	4,359	0,43	2,46	0,02
	IMI	DFF	0,22	0,72	1	0,72	2,167	0,49	2,93	0,006
	AM	DFF	0,34	1,17	1	1,17	2,004	0,61	3,90	0,0006
<i>Sfu</i>	P%	Hid	0,12	1,70	16	3,34	0,086	-0,42	-1,83	0,08
	IMI	Hid	0,31	1,42	16	8,70	0,009	-0,59	-2,95	0,009
	AM	Hid	0,12	0,49	16	3,27	0,089	-0,41	-1,81	0,08
<i>Sgr</i>	P%	pH	0,42	0,23	1	0,23	0,248	0,69	2,87	0,01
	IMI	pH	0,07	0,10	1	0,10	0,530	-0,40	-1,33	0,21
	AM	pH	-0,09	0,02	1	0,02	1,027	0,15	0,46	0,65

ARTIGO 3

**ENVIRONMENTAL DESCRIPTORS AND HOST ANURAN TRAITS INFLUENCE THE
FUNCTIONAL DIVERSITY OF HELMINTHS IN THE SOUTH BRAZILIAN
GRASSLANDS OF PAMPA BIOME?**

Aline Aparecida Bastos Portela^{1*}, Tiago Gomes dos Santos², Diego Anderson Dalmolin³

¹Dept. de Ecologia e Evolução, Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal. Avenida Roraima s/ n°, 97105-900, sala 1140, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

²Universidade Federal do Pampa, Rua Aluizio Barros Macedo, s/n. BR 290 – km 423, São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brazil.

³Laboratório de Metacomunidades, Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

* Corresponding author. Email: abportela91@gmail.com

Abstract

Studies of host-parasite interactions are essential to understand different ecological aspects of the life of these organisms and how this relationship can influence the structure of communities. Here, we evaluate the influence of environmental descriptors and host anuran traits on the functional diversity of helminths. We sampled the anurans along the native grasslands in four physiographic regions of the Pampa biome: Cuesta de Haedo, Central Depression, Sul-Rio-Grandense Plateau, and Coastal Plain, all in the state of Rio Grande do Sul. Our results show that the water temperature was the only environmental descriptor selected as predictor of functional diversity in the helminth communities, influencing positively the patterns of functional diversity. Besides, we found significant correlation with the environmental descriptor water temperature and with some the functional traits: transmission mode ‘oral and cutaneous’, the mean intensity of infection, and the indirect life cycle. Thus, we conclude that the functional diversity of helminth communities of pond breeding anurans in the Brazilian Pampa biome may be explained by pond water temperature. So, we emphasized the importance of considering environmental descriptors in the helminth diversity studies, because this information allows to access the abiotic factors that influence the structure of the parasite communities, for a better understanding of the observed patterns.

Key-words: amphibians; native areas; local variables; parasites; ponds.

INTRODUCTION

Studies of host-parasite interactions are essential to understand different ecological aspects of the life of these organisms and how this relationship can influence the structure of communities (Poulin, 2007; Bentz et al., 2006; Brunner & Eizaguirre, 2016). The structure of the parasite communities depends on many factors, including host and parasite ecological and natural history (Janovy et al., 1992; Brooks et al., 2006; Brunner & Eizaguirre, 2016; Kołodziej-Sobocińska, 2019). For the helminths context, traits such as diet, and habitat use of the host influence the interaction and infection success (Mcalpine & Burt, 1998; Poulin, 1998; Bolek & Coggins, 2003; Zelmer & Arai, 2004; Pinheiro et al., 2019), while for the hosts, the mode de infection and specificity of the helminths can influence infections rates.

Environmental descriptors also are very important for the dynamics of hot-parasite interactions, making the survival, development, distribution and transmission of infective forms either difficult or easy for the host (Basualdo et al., 2007). The temperature, for example, is an environmental descriptor crucial for the survival of the helminths and hosts, since it can influence the phenology, which will change the timing of host-parasite interactions, affecting the rates of infection intensity and pathology in the hosts (Paull & Johnson, 2014; Gethings et al., 2015). Warmer temperatures can cause imbalance on net transmission dynamics, favoring the increasing of helminth development rates and the mortality rates of anurans hosts (Paull et al., 2012; Mordecai et al., 2013). In the other hand, lower temperatures affect the rate of growth, development and metabolism of helminths decreasing the success of transmission and infection in anuran hosts (Paull et al., 2015; Herczeg et al., 2021)

The study and understanding of biodiversity are a great challenge, as it is a very wide area of science, covering for example, the variations among species within their genotypes and phenotypes, as well as the spatial and temporal variations in communities and ecosystems (Calaça & Grelle, 2016). Due to the enormous complexity, the biodiversity was conceptually decomposed in several components, being the richness and the taxonomic diversity most frequently used components in ecological studies (Gaston, 1996; Purvis & Hector, 2000; Magurran, 2004). By the view of these metrics, all species and individuals perform equivalent ecological roles. However, it is known that different organisms play a variety of functions in the environment (Lawton, 1994; Grime, 1998). Similarly, to other biological groups, the parasite helminths not have your life history

information include in these metrics (Euclides et al., 2021). In this sense, to measure processes or the influence of parasite life history characteristics, the functional diversity is the facet of diversity that considers the morphological, ecological and behavioral differences among species (Petchey & Gaston, 2002; Ernst et al., 2006; Villéger et al., 2010).

Several studies about free-living plant and animal communities use functional diversity for describe ecological processes, but has been rarely used in the study on parasite helminths (Goswami et al., 2017; Llopis-Belenguer et al., 2019). Infection success of helminths species on different anurans hosts are related with some morphological characteristics of helminths, such as the body size and site of infection, which can be associated with their functional role (Violle et al., 2007; Llopis-Belenguer et al., 2019; Euclides et al., 2021). Therefore, when measuring the functional diversity of helminths communities, we are able to access the influence of morphological and physiological individual traits and the ecological processes underneath community composition (Petchey et al., 2009). Thus, is expected that evolutionary and ecological history of the hosts influence the variation of the functional diversity in parasite communities (Euclides et al., 2021). Studies addressing functional diversity can contribute to the understanding of broader issues such as selective processes, reproductive strategies (Todd, 2007), the evolution of the parasite-host relationship, and biogeography (Poulin, 2007; Bentz et al., 2006; Brunner & Eizaguirre, 2016), contributing to the understanding of mechanisms underneath variability among parasite communities in different host species (Euclides et al., 2021). In this sense, these studies are important for reveal the patterns that governing the communities and that reflect both host and parasite characteristics (Euclides et al., 2021).

Considering the importance of ecological responses that functional diversity allows us to access, we aimed to evaluate the influence of environmental descriptors and host anuran traits on the functional diversity of helminths. Our hypothesis is that the functional diversity of helminths is correlated with environmental descriptors and/or with the anuran traits. We expect environmental descriptors (e.g. vegetation type on pond edges, vegetation cover on the water surface, and water physical-chemical variables); as well as the anuran traits (such weight, body size and guild) influence positively the following functional diversity of helminths: length, transmission mode, life cycle, infection site, mean intensity of infection, and number of hosts infected.

MATERIAL AND METHODS

Study area

We sampled the anurans along the native grasslands in four physiographic regions of the Pampa biome (Figure 1): Cuesta de Haedo (municipality of Alegrete), Central Depression (municipality of São Gabriel), Sul-Rio-Grandense Plateau (municipalities of Santa Margarida do Sul and São Sepé), and Coastal Plain (municipality of Rio Grande), all in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, between latitudes 30° and 32° S, 6 – 135 m a.s.l (Hueck, 1966). The Pampa originally occupied about 60% of the territory of the state of Rio Grande do Sul, with an area of 176,496 km², or 2.07% of the Brazilian territory (Suertegaray & Silva, 2009). The climate of the region is subtemperate and subtropical, characterized for climatic seasonality primarily related to circannual changes in temperature and photoperiod. Therefore, the autumn-winter period presents short and cold days, including negative temperatures concentrated in the months of June and July (e.g. absolute average minimums of up to -4°C in the fields of the Crystal Shield and the extreme south of the Coastal Plain), as well such as the occurrence of frosts. In the period from December to March, temperatures are high, promoting high evapotranspiration, with consequent potential for surface water deficit during the summer (i.e. the evaporated volume may exceed the precipitated volume during the period). Rainfall varies regionally from 1200mm to 1900mm and is well distributed throughout the year, without the occurrence of a defined dry season (Wrege et al., 2011; Radin et al., 2017).

Collection and examination of frog hosts

We selected at least five ponds in each physiographic region, with variable distances among them. In the Cuesta de Haedo we sampled 11 ponds and the mean distance between the ponds was 886m (138m-1,212m, SD=412m); in the Central Depression we sampled nine ponds and the mean distance among ponds was 657m (68m-969m, SD=409m); in the Sul-Rio-Grandense Plateau we sampled 13 ponds and the mean distance between the ponds was 501m (141m-1,265m, SD=361m); and in the Coastal Plain we sampled seven ponds and the mean distance between the ponds was 805m (321m-1,756m, SD=677m). The mean distance between the four physiographic region was 301 km. The sampled ponds were of natural or semi-natural origin, with mean area value of the 1,031m between all ponds. We sampling the anurans in the spring and summer of 2017, 2018 and

2019, which corresponds to the period of greatest reproductive activity of anurans in Southern Brazil (Santos et al., 2008). Each pond was sampled once. We sampled the anurans during the twilight and night-time, using the ‘survey at breeding sites’ method (Scott Jr & Woodward, 1994) along the edges of selected ponds. During this survey, we aimed to collect at least three specimens of each host species at each pond. We transported the live anurans to the laboratory and then euthanized with anesthetic application to the skin (Lidocaine® 10%). We examined for the presence of helminths the internal organs (gastrointestinal tract, lungs, kidneys, liver, gallbladder, and urinary bladder), the musculature of the anterior and posterior limbs, and the coelomic cavity. Anuran hosts were deposited in the Herpetological Collection of the Universidade Federal de Santa Maria (ZUFISM), Santa Maria, Brazil.

We killed the nematodes in warm solution (about 60°C) of 70% alcohol, fixed and kept in 70% alcohol, and cleared with Amman’s lactophenol (Andrade, 2000). Trematodes, cestodes and acanthocephalans were killed by compression with slide and coverslip, kept moist with absolute alcohol as a fixative and preserved in 70% alcohol, after which they were stained with hydrochloric carmine (Andrade, 2000; Rey, 2001) and diaphanized with Eugenol. We mounted the helminths on temporary slides and examined in a computerized LAS V4 (Leica Application Suite) image analysis system (<https://www.leica-microsystems.com/products/microscope-software/p/leica-application-suite/>), adapted to the DM 2500-Leica microscopes with the interferential phase contrast system for helminth identification and collection of morphometric data and photomicrographs of helminths. The voucher species were deposited in the Helminthological Collection of the Instituto de Biociência de Botucatu (CHIBB), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brazil.

Sampling of environmental descriptors

We recorded environmental descriptors at local scale in order to represent the pond heterogeneity. This approach was adopted because the importance of habitat descriptors can vary with local scale in studies on helminths and/or anuran hosts (e.g., King et al., 2007, 2010; Hartson et al., 2011; Schotthoefler et al., 2011; Koprivnikar & Redfern, 2012; Iop et al., 2020; Portela et al., 2020). We recorded the local variables representing the environmental conditions of ponds directly at each waterbody, by visual inspection of the entire perimeter of the pond (adapted from

Vasconcelos et al., 2009): percentage of each structural vegetation type on pond edge (undergrowth, shrub and arboreal); percentage of vegetation cover on the water surface; and water physical-chemical variables (dissolved oxygen, pH, temperature, electrical conductivity, salinity, and turbidity) using a Horiba® multi-parameter probe (model U-5000, Kyoto, Japan) (Table 1).

Data Matrices

We built two matrices - a presence/absence matrix and a predictor matrix (local environmental descriptors of the pond) - containing the data of the helminth and anuran species collected at each of the sampled ponds. The descriptors of the environmental variables of the ponds were standardized by subtracting the corresponding mean and dividing by the standard deviation.

For the functional matrix, we measured nine different characteristics, three for the anuran hosts and six for the helminths (Table 2). The functional traits we use were selected based on their influences relationships between anuran hosts and helminth parasites (Camião et al., 2015; Llopis-Belenguer et al., 2019; Euclides et al., 2021).

Statistical analyses

We calculated the means infection of intensity for all helminth species (Bush et al., 1997).

Predictors of functional diversity

We evaluated the helminth diversity at each of the sampling ponds using Rao's Quadratic Entropy Index (Rao, 1982). This dissimilarity index is based on the proportion of species present in a community and ranges from 0 to 1. One of the advantages of this method is that it allows for the division of biodiversity into alpha, beta, and gamma components (Pavoine et al., 2004), providing a flexible framework that can be adapted to quantify and compare different components of diversity such as taxonomic, functional, and phylogenetic diversity of the communities (de Bello et al., 2009; Meynard et al., 2011; Bernard-Verdier et al., 2013; Arnan et al., 2014, 2017). We used the functional matrix to calculate the Euclidean distances between species based on the Gower distance. Rao's quadratic entropy calculations were performed using the 'SYNCSA' package in the R environment (R Development Core Team, 2013).

We used Linear Mixed-Effect Models (LMM) to model the relationship between the patterns of functional diversity and the environmental descriptors. This approach explicitly models the relationship within the data set using random effects or latent random descriptors (Breslow & Clayton, 1993; Zhang et al., 2011). We set the functional diversity of communities as response variable, environmental descriptors as fixed effects and the water bodies as random effects (FD ~ environmental descriptors, random=(~1|water body)); in this way, we also avoided the possibility of multicollinearity between the predictor variables (Burnham & Anderson, 2002). We tested the significance of each relationship using the function “anova”. We also took into account the AICc weights (w) indicating the empirical support for each model relative to the others in the candidate set (Zuur et al., 2009). LMM were built using the 'nlme', 'MuMIn' and 'lme4' packages in R software version 3.6.3.

Trait-environment relationships

Prior to carrying out the statistical analysis procedures, we transformed our quantitative data sets (functional traits and environmental descriptors) through a natural log transformation; this procedure allows to obtain a normal distribution of the different data sets. Subsequently, we used a combination of the RLQ and the fourth-corner methods for assessing the responses of the set of helminths traits to environmental variation (Dolédec et al., 1996; Dray et al., 2014). In a general view, the RLQ approach proposed is an analysis that performs ordering analyzes based on the combination of the following data matrices: an environmental matrix (R; site x environment), a species-by-sites matrix (L; site x species), and a functional trait distance matrix (Q; species x trait). The matrices R and Q are linked by the matrix L. Before the extended RLQ analysis, we run the extended version of the fourth-corner approach with 9999 permutations to test the correlations between functional traits and environmental variables; for this, we applied the null model 6 (which fixes the level of type I error; Dray et al., 2016). To prepare the matrices for the extended RLQ analysis, all matrices were analyzed separately with different ordinations: the species-by-site matrix (L) was analyzed using a canonical analysis; the environmental matrix (R) was analyzed by principal component analysis (PCA); finally, the trait distance matrix (Q) and environmental distance matrix (L) were analyzed by principal coordinate analysis (PCoA). The RLQ analysis and the fourth-corner test were implemented using the packages “spdep” (Bivand & Wong, 2008) and

“ade4” (Dray & Dufour, 2007) of R software.

RESULTS

Predictors of functional diversity

The relationships between the patterns of functional diversity and the local environmental predictors are shown in the Table 3. The water temperature was the only environmental descriptor selected as predictor of functional diversity in the helminths communities; more specifically, this predictor influenced positively the patterns of functional diversity ($R^2_m = 0.28$, $F=18.83$, $p = 0.0004$; figure 2).

Patterns of trait-environment relationships

The percentage of co-inertia (i.e. the link between functional traits and environmental descriptors) explained by the two first axes of the fitted RLQ was 93.59%; the first axis explained 88%. However, this model was not significant (Std. observed = 1.12, $p = 0.12$). Figures 3a-e present the patterns of trait-environment relationships observed for the set of ponds. The first RLQ axis had statistic significant correlation with the environmental descriptor ‘Water Temperature’ (Temp: 1.895; $p = 0.05$) and with some the functional traits: transmission mode ‘Oral and Cutaneous’ (**Trans.Ora_Cut**: -1.708, $p = 0.04$), the ‘Mean Intensity of Infection’ (**MI**: -1.973, $p = 0.04$), and the ‘Life Cycle Indirect’ (**Life_Ind**: -1.863, $p = 0.04$). We did not observe any significant relationships of the other functional traits and environmental descriptors with the second RLQ axis.

The figure 4 show the test of significance of the trait-environment relationship based on the fourth corner test. We just observed a significant relationship between water temperature and the trait Mean Intensity of the Infection.

DISCUSSION

Predictors of functional diversity

Our results showed that the pond water temperature is the best ecological predictor of functional diversity in the helminths parasitizing pond breeding anurans along native grasslands of the Brazilian Pampa biome, influencing positively the patterns of functional diversity of the helminth communities studied.

Our hypothesis that the functional diversity of helminths correlates with environmental descriptors and with the anuran traits was partially corroborated, since none of the anuran traits were correlated with helminth functional diversity. Others studies also found positively influence of water temperature on diversity of parasite helminths (Poulin, 2006; Karvonen et al., 2010; Merino & Møller, 2010; Møller, 2010; Møller et al., 2013). Water temperature is considered a crucial predictor of parasite diversity, since affect diversity by influencing species persistence due to physiological constraints that limit species ranges (Martins et al., 2020). So, this predictor can elevate both the development and mortality rates of individual hosts or helminths, as well as can alter both parasite virulence and host immunity, changing the season period of transmission. Therefore, water temperature determines the encounter rates between helminths and hosts, directly influencing the host-parasite relationship and thus the parasite diversity (Kutz et al., 2005; Lafferty, 2009; Paull & Johnson, 2012; Studer et al., 2010; Møller et al., 2010). In addition, water temperature is most important for the helminths that have a free-living stage, such as trematodes, influencing directly the survival, the rates and success of transmission and infection and the physiological responses of free-living stages being a better predictor than any host traits (Lafferty, 2009; Johnson et al., 2010; Paull & Johnson, 2012; Altizer et al., 2013; Cizauskas et al., 2016; Budria, 2017). For example, high temperatures for a long time can cause physiological stress in free-living stage of helminths, resulting in mortality (van Dijk & Morgan, 2008), as well as desiccation of eggs and larvae (O'Connor et al., 2006). Water temperature is also crucial to the development and success of the infective stages of trematodes (Poulin, 2006). For the cercariae a higher water temperature increases their development, survival rates and infection success (Kalinda et al., 2017; Poulin, 2006; Al-Jubury et al., 2020).

Helminth parasites can benefit of climate changes with a longer and earlier period of reproduction caused for increase of water temperature, so some these parasites that were previously active only in the summer are now active year-round (Ogden et al., 2006; Cadenas et al., 2007), and it could be that this also can occurs in the future with the species here in the extreme south.

Consequently, occurs the increase of the number of helminth generations per year, as a longer breeding season of the host provides helminths with a selective advantage (Dunn & Winkler, 2010; Møller et al, 2010).

Patterns of trait-environment relationships

Our analysis showed a significant correlation of the environmental descriptor (pond water temperature) with the functional traits transmission mode oral and cutaneous, with the mean intensity of the infection, as well as with the indirect life cycle. These traits are known to influence the interactions host-parasite, affecting directly the success of transmission and infection of helminths (Goedknecht et al., 2015).

For the helminths that are transmitted orally and by penetration cutaneous, the water temperature can change the host immunity and parasite penetration, influencing the transmission rates (Goedknecht et al., 2015). Water temperature have strong effect on disease dynamics from trematodes (flukes), that have an indirect life cycle, which involves one or more intermediate hosts; so, this environmental descriptor affects directly crucial phases in their transmission between life cycle stages (Goedknecht et al., 2015). Important steps like production and emergence of their free-living infective stages (cercariae) in the first intermediate hosts (mollusks), as well as the infectivity of cercariae in the second intermediate hosts (e.g., Evans, 1985; Thielges & Rick 2006; Studer et al., 2010), are strongly positively correlated with temperature (Poulin, 2006).

In a future outlook the infection levels in hosts might dramatically be increase for the global warming, since cercaria transmission is a crucial step in the trematode life cycle (Marcogliese, 2001; Poulin, 2006; Poulin & Mouritsen, 2006). Moreover, the variability of water temperature may further influence disease risk due to fluctuations above or below the optimal thermal performance of hosts or parasites (Rohr & Raffel 2010; Lambrechts et al., 2011; Raffel et al., 2013; Paull et al., 2015; Altman et al., 2016). Previous studies also found correlation of water temperature with traits of helminths, such as transmission mode (Marcogliese 2001; Karvonen et al., 2004, 2010, 2013; Poulin, 2006; Goedknecht et al., 2015), the mean intensity of infection (Carney & Dick, 2000; Karnoven et al., 2013; Wali et al., 2016; Labaude et al., 2020), and indirect life cycle (Poulin, 2006; Paull et al., 2012; Goedknecht et al., 2015; Labaude et al., 2015; Barber et al., 2016). Studies

on relationship between environmental descriptors and helminth communities reveals the ecological filters that favor or limit parasite infection.

We conclude that the functional diversity of helminth communities of pond breeding anurans in the Brazilian Pampa biome may be explained by pond water temperature. We also concluded the importance of considering environmental descriptors in the helminth diversity studies, because this information allows to access the abiotic factors that influence the structure of the parasite communities, for a better understanding of the observed patterns. We believe that, by considering traits of helminth species, functional diversity can detect important patterns of community organization and determinants that studies considering only the parasite richness do not. Besides, studies of this nature are extremely relevant and important for amphibian conservation, like for our understanding of the ecology of wildlife diseases and environmental changes (Koprivnikar et al., 2012a, b). Therefore, we emphasize the importance of understanding the processes that govern the structure of helminth communities in anurans of preserved areas.

Ethical Standards

Sampling was carried out under a license granted by the Instituto Brasileiro do Meio Ambiente – IBAMA (collection license IBAMA / 58991/1) and by the Ethics Committee on the Use of Animals – CEUA of the Universidade Federal de Santa Maria (collection license CEUA / 2535091117).

Acknowledgments

We are grateful to Ricardo Lodovski Filho, Brena da Silva Gonçalves and Geane Suchy Porto for the help during fieldwork, and Letícia Bortoluzzi Miolo for the help during laboratory work. To Dra. Sonia Zanini Cechin for sharing structural support of the Laboratory of Herpetology/UFSM. AABP and TGS received financial support from the CAPES and CNPq through the PhD fellowship and the research fellowship (process #308687/2016-7).

References

- AGOSTA, S. J.; JANZ, N.; BROOKS, D. R. How specialists can be generalists: resolving the “parasite paradox” and implications for emerging infectious disease. **Zoologia**, v. 27, p. 151-162, 2010.
- AL-JUBURY, A.; KANIA, P.; BYGUM, A.; BUCHMANN, K. Temperature and light effects on *Trichobilharzia szidati* cercariae with implications for a risk analysis. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 62, p. 1-9, 2020.
- ALTIZER, S.; OSTFELD, R. S.; JOHNSON, P. T. J.; KUTZ, S.; HARVELL, C. D. Climate Change and Infectious Diseases: From Evidence to a Predictive Framework. **Science**, v. 341, p. 514-519, 2013.
- ALTMAN, K. A.; PAULL, S. H.; JOHNSON, P. T. J.; GOLEMBIESKI, M. N.; STEPHENS, J. P.; LAFONTE, B. E.; RAFFEL, T. R. Host and parasite thermal acclimation responses depend on the stage of infection. **Journal of Animal Ecology**, v. 85, p. 1014-1024, 2016.
- ANDRADE, C. M. **Meios e soluções comumente empregados em laboratórios**. Rio de Janeiro: Editora Universidade Rural, 2000. 353 p.
- ARNAN, X.; CERDÁ, X.; RETANA, J. Ant functional responses along environmental gradients. **Journal of Animal Ecology**, v. 83, p. 1398-1408, 2014.
- ARNAN, X.; CERDÁ, X.; RETANA, J. Relationships among taxonomic, functional, and phylogenetic ant diversity across the biogeographic regions of Europe. **Ecography**, v. 40, p. 448-457, 2017.
- BARBER, I.; BERKHOUT, B. W.; ISMAIL, Z. Thermal Change and the Dynamics of Multi-Host Parasite Life Cycles in Aquatic Ecosystems. **Integrative and Comparative Biology**, v. 56, p. 561-572, 2016.
- BASUALDO, J. A.; CÓRDOBA, M. A.; LUCA, M. M.; CIARMELA, M. L.; PEZZANI, B. C.; GRENOVERO, M. S.; MINVIELLE, M. C. Intestinal parasitoses and environmental factors in a rural population of Argentina, 2002-2003. **Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49(4), p. 251-255, 2007.
- BENTZ, S.; SINNAPPAH-KANG, N. D.; LIM, L. H. S.; LEBEDEV, B.; COMBES, C.; VERNEAU, O. Historical biogeography of amphibian parasites, genus *Polystoma* (Monogenea: Polystomatidae). **Journal of Biogeography**, v. 33, p. 742-749, 2006.
- BERNARD-VERDIER, M.; FLORES, O.; NAVAS, M. L.; GARNIER, E. Partitioning phylogenetic and functional diversity into alpha and beta components along an environmental gradient in a Mediterranean range land. **Journal of Vegetation Science**, v. 24, p. 877-889, 2013.

BIVAND, R.; WONG, D. W. S. “Comparing implementations of global and local indicators of spatial association”. **TEST**, v. 27, p. 716-748, 2018.

BOLEK, M. G.; COGGINS J. R. Helminth community structure of sympatric eastern American toad, *Bufo americanus americanus*, northern leopard frog, *Rana pipiens*, and blue-spotted salamander, *Ambystomalaterale*, from southeastern Wisconsin. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 673-680, 2003.

BOTH, C.; CECHIN, S. Z.; MELO, A. S.; HARTZ, S. M. What controls tadpole richness and guild composition in ponds in subtropical grasslands? **Austral Ecology**, v. 36, p. 530-536, 2011.

BRESLOW, N. E.; CLAYTON, D. C. Approximate inference in generalized linear mixed models. **Journal of the American Statistical Association**, v. 88, p. 9-25, 1993.

BRITO, S. V.; CORSO, G.; ALMEIDA, A. M.; FERREIRA, F. S.; ALMEIDA, W. O.; ANJOS, L. A.; MESQUITA, D. O.; VASCONCELLOS, A. Phylogeny and micro-habitats utilized by lizards determine the composition of their endoparasites in the semiarid Caatinga of Northeast Brazil. **Parasitology Research**, v. 113, p. 3963-3972, 2014.

BROOKS, D. R.; LEÓN-RPGAGNON, V.; MCLENNAN, D. A.; ZELMER, D. Ecological fitting as a determinant of the community structure of platyhelminth parasites of anurans. **Ecology**, v. 87, p. 76-85, 2006.

BRUNNER, F. S.; EIZAGUIRRE, C. Can environmental change affect host/parasite-mediated speciation? **Zoology**, v. 119, p. 384-394, 2016.

BUDRIA, A. Beyond troubled waters: the influence of eutrophication on host-parasite interactions. **Functional Ecology**, v. 31, p. 1348-1358, 2017.

BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach (2nd ed.). New York: Springer-Verlag, 2002. 488 p.

BUSH, A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its terms: MARGOLIS et al. revisited. *Journal of Parasitology*, v.83, p. 575-583, 1997.

CADENAS, F.M.; RAIS, O.; JOUDA, F.; DOUET, V.; HUMAIR, P-F.; MORET, J.; GERN, L. Phenology of *Ixodes ricinus* and infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato along a North- and South-facing altitudinal gradient on Chaumont Mountain, Switzerland. **Journal of Medical Entomology**, v. 44, p. 683-693, 2007.

CALAÇA, A. M.; GRELE, C. E. V. Diversidade funcional de comunidades: discussões conceituais e importantes avanços metodológicos. **Oecologia Australis**, v. 20, p. 401-416, 2016.

- CAMPIÃO, K. M.; RIBAS, A. C. DE A.; MORAIS, D. H.; 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**, 10, p. 1-12, 2015.
- CARNEY, J. P.; DICK, T. A. Helminth communities of yellow perch (*Perca flavescens* (Mitchill)): determinants of pattern. **Canadian Journal of Zoology**, v. 78, p. 538-555, 2000.
- CIZAUSKAS, C. A.; CARLSON, C. J.; BURGIO, K. R.; CLEMENTS, C. F.; DOUGHERTY, E. R.; HARRIS, N. C.; PHILLIPS, A. J. Parasite vulnerability to climate change: an evidence-based functional trait approach. **Royal Society Open Science**, v. 4, p. 1-12, 2017.
- DE BELLO, F.; THUILLER, W.; LEPŠ, J.; CHOLER, P.; CLÉMENT, J-C.; MACEK, P.; SEBASTIÀ, M-T.; LAVOREL, S. Partitioning of functional diversity reveals the scale and extent of trait convergence and divergence. **Journal of Vegetation Science**, v. 20, p. 475-486, 2009.
- DOLÉDEC, S.; CHESSEL, D.; TER BRAAK, C. J. F.; CHAMPELY, S. Matching species traits to environmental variables: a new three-table ordination method. **Environmental and Ecological Statistics**, v. 3, p. 143-166, 1996.
- DRAY, S.; DUFOUR, A-B. The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. **Journal of Statistical Software**, v. 22, p. 1-20, 2007.
- DRAY, S.; CHOLER, P.; DOLÉDEC, S.; PERES-NETO, P. R.; THUILLER, W.; PAVOINE, S.; TER BRAAK, C. J. F. Combining the fourth-corner and the RLQ methods for assessing trait responses to environmental variation. **Ecology**, v. 95, p. 14-21, 2014.
- DUNN, P. O.; WINKLER, D. W. Effects of climate change on timing of breeding and reproductive success in birds. In: MØLLER, A. P. (eds). **Effects of climate change on birds**. Oxford: Oxford University Press, 2010. p. 113-128.
- ERNST, R.; LINSENMAIR, K. E.; RÖDEL, M. O. Diversity erosion beyond the species level: Dramatic loss of functional diversity after selective logging in two tropical amphibian communities. **Biological Conservation**, v. 133, p. 143-155, 2006.
- ESCORIZA, D.; BEN HASSINE J. Diversity of Guilds of Amphibian Larvae in North-Western Africa. **PLoS ONE**, v. 12, p. 1-18, 2017.
- EUCLYDES, L.; DUDCZAK, A. C.; CAMPIÃO, K.M. Anuran's habitat use drives the functional diversity of nematode parasite communities. **Parasitology Research**, v. 120, p. 993-1001, 2021.
- EVANS, N. A. The influence of environmental temperature upon transmission of the cercariae of *Echinostoma liei* (Digenea: Echinostomatidae). **Parasitology**, v. 90, p.269-75, 1985.

GASTON, K. J. What is biodiversity? In: GASTON, K. J. (eds). **Biodiversity: a biology of numbers and difference**. Oxford: Blackwell Science, 1996. p. 1-9.

GETTINGS, O. J.; ROSE, H.; MITCHELL, S.; VAN DIJK, J.; MORGAN, E. R. Asynchrony in host and parasite phenology may decrease disease risk in livestock under climate warming: *Nematodirus battus* in lambs as a case study. **Parasitology**, v. 142, p. 1306-1317, 2015.

GRIME, J. P. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. **Journal of Ecology**, v. 86, p. 901-910, 1998.

GOEDKNEGT, M. A.; WELSH, J. E.; DRENT, J.; THIELTGES, D. W. Climate change and parasite transmission: how temperature affects parasite infectivity via predation on infective stages. **Ecosphere**, v. 6, p. 1-9, 2015.

GOSWAMI, M.; BHATTACHARYYA, P.; MUKHERJEE, I.; TRIBEDI, P. Functional diversity: an important measure of ecosystem functioning. **AiM**, v. 07, p. 8-93, 2017.

HARTSON, R. B.; ORLOFSKE, S. A.; MELIN, V. E.; DILLON, R. T.; JOHNSON, P. T. J. Land Use and Wetland Spatial Position Jointly Determine Amphibian Parasite Communities. **EcoHealth**, v. 8, p. 485-500, 2011.

HERCZEG, D.; UJSZEGI, J.; KÁSLER, A.; HOLLY, D.; HETTYEY, A. Host–multiparasite interactions in amphibians: a review. **Parasites Vectors**, v. 14, p. 296-316, 2021.

HUECK, K. **Die wälder südamerikas**. Stuttgart: Fischer, 1966. 422 p.

IOP, S.; SANTOS, T. G.; CECHIN, S. Z.; VÉLEZ-MARTIN, E.; PILLAR, V. D.; PRADO, P. I. The interplay between local and landscape scales on the density pond dwelling anurans in subtropical grasslands. **Biotropica**, v. 00, p. 1-15, 2020.

JANOVY, J.; CLOPTON, R. E.; PERCIVAL, T. J. The roles of ecological and evolutionary influence in providing structure to parasite species assemblages. **Journal of Parasitology**, v. 78, p. 630-640, 1992.

JOHNSON, P. T. J.; TOWNSEND, A. R.; CLEVELAND, C. C.; GLIBERT, P. M.; HOWARTH, R. W.; MCKENZIE, V. J.; REJMANKOVA, E.; WARD, M. H. Linking environmental nutrient enrichment and disease emergence in humans and wildlife. **Ecological Applications**, v. 20, p. 16-29, 2010.

KALINDA, C.; CHIMBARI, M. J.; MUKARATIRWA, S. Effect of temperature on the *Bulinus globosus* — *Schistosoma haematobium* system. **Infectious Diseases of Poverty**, 6, p. 1-7, 2017.

KAMIYA, T.; O'DWYER, K.; NAKAGAWA, S.; POULIN, R. What determines species richness of parasitic organisms? A meta-analysis across animal, plant and fungal hosts: determinants of parasite species richness. **Biological Reviews**, v. 89, p. 123-134, 2014.

KARVONEN, A.; HUDSON, P. J.; SEPPALA, O.; VALTONEN, E. T. Transmission dynamics of a trematode parasite: exposure, acquired resistance and parasite aggregation. **Parasitology Research**, v. 92, p. 183-188, 2004.

KARVONEN, A.; RINTAMÄKI, P.; JOKELA, J.; VALTONEN, E. T. Increasing water temperature and disease risks in aquatic systems: Climate change increases the risk of some, but not all, diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 40, p. 1483-1488, 2010.

KARVONEN, A.; KRISTJÁNSSON, B. K.; SKÚLASON, S.; LANKI, M.; RELLSTAB, C.; JOKELA, J. Water temperature, not fish morph, determines parasite infections of sympatric Icelandic threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). **Ecology and Evolution**, v. 3, p. 1507-1517, 2013.

KING, K. C.; MCLAUGHLIN, J. D.; GENDRON, A.D.; PAULI, B. D.; GIROUX, I.; RONDEAU, B.; BOILY, M.; JUNEAU, P.; MARCOGLIESE, D. J. Impacts of agriculture on the parasite communities of northern leopard frogs (*Rana pipiens*) in southern Quebec, Canada. **Parasitology**, v. 134, p. 2063-2080, 2007.

KOŁODZIEJ-SOBOCIŃSKA, M. Factors affecting the spread of parasites in populations of wild European terrestrial mammals. **Mammal Research**, v. 64, p. 301-318, 2019.

KOPRIVNIKAR, J.; REDFERN, J. C. Agricultural effects on amphibian parasitism: importance of general habitat perturbations and parasite life cycles. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 48, p. 925-936, 2012.

KOPRIVNIKAR, J.; GIBSON, C. H.; REDFERN, J. C. Infectious personalities: behavioural syndromes and disease risk in larval amphibians. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 279, p. 1544-1550, 2012a.

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

KRUIDHOF, H. M.; ROBERTS, A. L.; MAGDARAOG, P.; MUÑOZ, D.; GOLS, R.; VET, L. E. M.; HOFFMEISTER, T. S.; HARVEY, J. A. Habitat complexity reduces parasitoid foraging efficiency, but does not prevent orientation towards learned host plant odours. **Oecologia**, v. 179, p. 353-361, 2015.

KUTZ, S.J.; HOBERG, E. P.; POLLEY, L.; JENKINS, E. J. Global warming is changing the dynamics of Arctic host–parasite systems. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 272, p. 2571-2576, 2005.

LABAUDE, S.; RIGAUD, T.; CÉZILLY, F. Host manipulation in the face of environmental changes: Ecological consequences. **International Journal of Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 4, p. 442-451, 2015.

LABAUDE, S.; CÉZILLY, F.; DE MARCO, L.; RIGAUD, T. Increased temperature has no consequence for behavioral manipulation despite effects on both partners in the interaction between a crustacean host and a manipulative parasite. **Scientific Reports**, v. 10, p. 1-13, 2020.

LAFFERTY, K. D. The ecology of climate change and infectious diseases. **Ecology**, v. 90, p. 888-900, 2009.

LAMBRECHTS, L.; PAAIJMANS, K. P.; FANSIRI, T.; CARRINGTON, L. B.; KRAMER, L. D.; THOMAS, M. B.; SCOTT, T. W.; BEATY, B. J. Impact of daily temperature fluctuations on dengue virus transmission by *Aedes aegypti*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, p. 7460-7465, 2011.

LAWTON, J. H. What Do Species Do in Ecosystems? **Oikos**, v. 71, p. 367-374, 1994.

LEUNG, T. L. F.; KOPRIVNIKAR, J. Nematode parasite diversity in birds: the role of host ecology, life history and migration. **Journal of Animal Ecology**, v. 85, p. 1471-1480, 2016.

LLOPIS-BELENGUER, C.; BALBUENA, J. A.; LANGE, K.; DE BELLO, F.; BLASCO-COSTA, I. Towards a unified functional trait framework for parasites. **Trends Parasitology**, v. 35, p. 972—82, 2019.

MAGURRAN, A. 2004. **Measuring Biological Diversity**. 1st ed. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 256.

MALUF, J. R. T. Nova classificação climática do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 8, p. 141-150, 2000.

MARCOGLIESE, D. J. Implications of climate change for parasitism of animals in the aquatic environment. **Canadian Journal of Zoology**, v. 79, p. 1331-1352, 2001.

MARTINS, P. M.; POULIN, P.; GONÇALVES-SOUZA, T. Integrating climate and host richness as drivers of global parasite diversity. **Global Ecology Biogeography**, v. 00, p. 1-9, 2020.

MCALPINE, D. F.; BURT, M. D. B. Helminths of bullfrogs, *Rana catesbeiana*, green frogs, *R. clamitans*, and leopard frogs, *R. pipiens* in New Brunswick. **Canadian Field-Naturalist**, v. 112, p. 50-68, 1998.

MERINO, S.; MØLLER, A. P. Host–parasite interactions and climate change. In: MØLLER, A. P. et al. (eds). **Effects of Climate Change on Birds**. Oxford: Oxford University Press, 2010. p. 213-226.

MEYNARD, C. N.; DEVICTOR, V.; MOUILLOT, D.; THUILLER, W.; JIGUET, F.; MOUQUET, N. Beyond taxonomic diversity patterns: How do α , β and γ components of bird functional and phylogenetic diversity respond to environmental gradients across France? **Global Ecology and Biogeography**, v. 20, p. 893-903, 2011.

MØLLER, A. P. Host-parasite interactions and vectors in the barn swallow in relation to climate change. **Global Change Biology**, v. 16, p. 1158-1170, 2010.

MØLLER, A. P.; FLENSTED-JENSEN, E.; KLARBORG, K.; MARDAL, W.; NIELSEN, J. T. Climate change affects the duration of the reproductive season in birds. **Journal of Animal Ecology**, v. 79, p. 777-784, 2010.

MØLLER, A. P.; MERINO, S.; SOLER, J. J.; ANTONOV, A.; BADÁS, E. P.; CALERO-TORRALBO, M. A.; ZIANE, N. Assessing the Effects of Climate on Host-Parasite Interactions: A Comparative Study of European Birds and Their Parasites. **PLoS ONE**, v. 8, p. 1-12, 2013.

MOUILLOT, D.; MASON, W. H. N.; DUMAY, O.; WILSON, J. B. Functional regularity: a neglected aspect of functional diversity. **Oecologia**, v. 142, p. 353-359, 2004.

MORDECAI, E. A.; PAAIJMANS, K. P.; JOHNSON, L. R.; BALZER, C.; BEN-HORIN, T.; DE MOOR, E.; MCNALLY, A.; PAWAR, S.; RYAN, S. J.; SMITH, T. C.; LAFFERTY, K. D. Optimal temperature for malaria transmission is dramatically lower than previously predicted. **Ecology Letters**, v. 16, p. 22-30, 2012.

O'CONNOR, L. J.; WALKDEN-BROWN, S. W.; KAHN, L. P. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 1-15, 2006.

OGDEN, N. H.; MAAROUF, A.; BARKER I. K.; BIGRAS-POULIN, M.; LINDSAY, L. R.; MORSHED, M. G.; O'CALLAGHAN, C. J.; RAMAY, F.; WALTNER-TOEWS, D.; CHARRON D. F. Climate change and the potential for range expansion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada. **International Journal Parasitology**, v. 36, p. 63-70, 2006.

PADIAL, A. A.; THOMAZ, S. M.; AGOSTINHO, A. A. Effects of structural heterogeneity provided by the floating macrophyte *Eichhornia azurea* on the predation efficiency and habitat use of the small Neotropical fish *Moenkhausia sanctaefilomenae*. **Hydrobiologia**, v. 624, p. 161-170, 2009.

PAVOINE, S.; DUFOUR, A. B.; CHESSEL, D. From dissimilarities among species to dissimilarities among communities: a double principal coordinate analysis. **Journal of Theoretical Biology**, v. 228, p. 523-537, 2004.

PAULL, S. H.; LAFONTE, B. E.; JOHNSON, P. T. J. Temperature-driven shifts in a host-parasite interaction drive nonlinear changes in disease risk. **Global Change Biology**, v. 18, p. 3558-3567, 2012.

PAULL, S. H.; RAFFEL, T. R.; LAFONTE, B. E.; JOHNSON, P. T. J. How temperature shifts affect parasite production: testing the roles of thermal stress and acclimation. **Functional Ecology**, v. 29, p. 941-950, 2015.

PAULL, S. H.; JOHNSON, P. T. J. Can we predict climate-driven changes to disease dynamics? Applications for theory and management in the face of uncertainty. In: BRODIE J. et al. (eds). **Wildlife Conservation in a Changing Climate**. Chicago: University of Chicago Press, 2012. p. 109-128.

PAULL, S. H.; JOHNSON, P. T. J. Experimental warming drives a seasonal shift in the timing of host-parasite dynamics with consequences for disease risk. **Ecology Letters**, v. 17, p. 445-453, 2014.

PETCHEY, O. L.; GASTON, K. J. Functional diversity (FD), species richness and community composition. **Ecology Letters**, v. 5, p. 402-411, 2002.

PETCHEY, O. L.; O'GORMAN, E. J.; FLYNN, D. F. B. A functional guide to functional diversity measures. In: NAEEM S. et al. (eds). **Biodiversity, ecosystem functioning, and human wellbeing: an ecological and economic perspective**. Oxford: University Press, 2009. p. 49-59.

PINHEIRO, R. H. S.; TAVARES-DIAS, M.; GIESE, E. G. Helminth parasites in two populations of *Astronotus ocellatus* (Cichliformes: Cichlidae) from the eastern Amazon, Northern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, p. 425-431, 2019.

PORTELA, A. A. B.; SANTOS, T. G.; ANJOS, L. A. Changes in land use affect anuran helminths in the South Brazilian grasslands. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. 1-11, 2020.

POULIN, R. The decay of similarity with geographical distance in parasite communities of vertebrate hosts. **Journal of Biogeography**, v. 30, p. 1609-1615, 2003.

POULIN, R. **Evolutionary ecology of parasites**. London: Chapman and Hall, 1998. 212 p.

POULIN, R. Global warming and temperature-mediated increases in cercarial emergence in trematode parasites. **Parasitology**, v. 132, p. 143-151, 2006.

POULIN, R. **Evolutionary ecology of parasites**. Princeton: Princeton University Press, 2007. 332p.

POULIN, R.; MORAND, S. The diversity of parasites. **The Quarterly Review of Biology**, v. 75, p. 277-293, 2000.

POULIN, R.; MOURITSEN, K. N. Climate change, parasitismo and the structure of intertidal ecosystems. **Journal of Helminthology**, v. 80, p. 183-191, 2006.

PURVIS, A.; HECTOR, A. Getting the measure of biodiversity. **Nature**, v. 405, p. 212-219, 2000.

R. R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.** Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2013.

RADIN, B.; MATZENAUER, R.; DE MELO, R.W.; WREGE, M.S.; STEINMENTZ, S. Quantificação e distribuição sazonal da precipitação pluvial nas regiões ecoclimáticas do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 10, p. 1161-1169, 2017.

RAFFEL, T.; ROMANSIC, J.; HALSTEAD, N.; MCMAHON, T.; VENESKY, M.; ROHR, J. Disease and thermal acclimation in a more variable and unpredictable climate. **Nature Climate Change**, v. 3, p. 146-151, 2013.

RAO, C. R. Diversity and dissimilarity coefficients: a unified approach. **Theoretical Population Biology**, v. 21, p. 24-43, 1982.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 856 p.

ROHR, J. R.; RAFFEL, T. R. Linking global climate and temperature variability to widespread amphibian declines putatively caused by disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, p. 8269-74, 2010.

SANTOS, T. G.; KOPP, K.; SPIES, M. R.; TREVISAN, R.; CECHIN, S. Z. Distribuição temporal e espacial de anuros em área de Pampa, Santa Maria, RS. **Iheringia**, v. 98, p. 244-253, 2008.

SCHOTTHOEFER, A. M.; ROHR, J. R.; COLE, R. A.; KOEHLER, A. V.; JOHNSON, C. M.; JOHNSON, L. B. BEASLEY, V. R. Effects of wetland vs. landscape variables on parasite communities of *Rana pipiens*: links to anthropogenic factors. **Ecological Applications**, v. 21, p. 1257-1271, 2011.

SCOTT JR., N. J.; WOODWARD, B. D. Surveys at breeding sites. In: HEYER, W. R. et al. (eds.). **Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians.** Washington & London: Smithsonian Institution Press, 1994. p. 84-92.

SOUSA, W. P.; GROSHOLZ, E. D. The influence of habitat structure on the transmission of parasites. In: BELL, S. S. et al. (eds). **Habitat structure.** Dordrecht: Springer, 1991. p. 300-324.

STUDER, A.; THIELTGES, D. W.; POULIN, R. Parasites and global warming: net effects of temperature on an intertidal host-parasite system. **Marine Ecology Progress Series**, v. 415, p. 11-22, 2010.

SUERTEGARAY, D. M. A.; SILVA, L. A. P. Tchê Pampa: histórias da natureza gaúcha. In: PILLAR V.P. et al. (eds.). **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2009. p. 42–59.

THIELTGES, D.W.; RICK, J. Effect of temperature on emergence, survival and infectivity of cercariae of the marine trematode *Renicola roscovita* (Digenea: Rencolidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 73, p. 63-68, 2006.

THOMAZ, S. M.; CUNHA, E. R. The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages' composition and biodiversity. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 22, p. 218-236, 2010.

TODD, B. D. Parasites lost? An overlooked hypothesis for the evolution of alternative reproductive strategies in Amphibians. **The American Naturalist**, v. 170, p. 793-799, 2007.

VASCONCELOS, T. S.; SANTOS, T. G.; ROSSA-FERES, D. C.; HADDAD, C. F. B. Influence of the environmental heterogeneity of breeding ponds on anuran assemblages from southeastern Brazil. **Canadian Journal of Zoology**, v. 87, p. 699-707, 2009.

VILLÉGER, S.; MIRANDA, J. R.; HERNÁNDEZ, D. F.; MOUILLOT, D. Contrasting changes in taxonomic vs. functional diversity of tropical fish communities after habitat degradation. **Ecological Applications**, v. 20, p. 1512-1522, 2010.

VIOLLE, C.; NAVAS, M. L.; VILE, D.; KAZAKOU, E.; FORTUNEL, C.; HUMMEL, I.; GARNIER, E. Let the concept of trait be functional! **Oikos**, v.116, p. 882-892, 2007.

WALI, A.; BALKHI, M. H.; MAQBOOL, R.; DARZI, M. M.; SHAH, F. A.; BHAT, F. A.; BHAT, B. A. Distribution of Helminth Parasites in Intestines and Their Seasonal Rate of Infestation in Three Freshwater Fishes of Kashmir. **Journal of Parasitology Research**, v. 2016, p. 1-16, 2016.

WELBORN, G. A.; SKELLY, D. K.; WERNER, E. E.; ARBOR, A. Mechanisms creating community structure across a freshwater habitat gradient. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 27, p. 337-363, 1996.

WELLS, K.; GIBSON, D. I.; CLARK, N. J. Global patterns in helminth host specificity: phylogenetic and functional diversity of regional host species pools matter. **Ecography**, v. 42, p. 416-427, 2019.

WILKINSON, E. B.; FEENER JR., D. H. Habitat complexity modifies ant–parasitoid interactions: implications for community dynamics and the role of disturbance. **Oecologia**, v. 152, p. 151-161, 2007.

WREGE, M.S.; STEINMENTZ, S.; JÚNIOR, C.R.; ALMEIDA, I.R. Atlas climático da região sul do Brasil: estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2011. 336 p.

ZELMER, D. A.; ARAI, H. P. Development of nestedness: Host biology as a community process in parasite infracommunities of yellow perch (*Perca flavescens* (Mitchill)) from Garner Lake, Alberta. **Journal of Parasitology**, v. 90, p. 435-436, 2004.

ZHANG, H.; LU, N.; FENG, C.; THURSTON, S. W.; XIA, Y.; TU, X. M. On Fitting Generalized Linear Mixed-effects Models for Binary Responses using Different Statistical Packages. **Statistics in Medicine**, v. 30, p. 2562-2572, 2011.

ZUUR, A. F.; IENO, E. N.; WALKER, N.J.; SAVELIEV, A. A.; SMITH, G. M. Mixed effects models and extensions in ecology with R. New York: Springer Verlag, 2009.

Figures

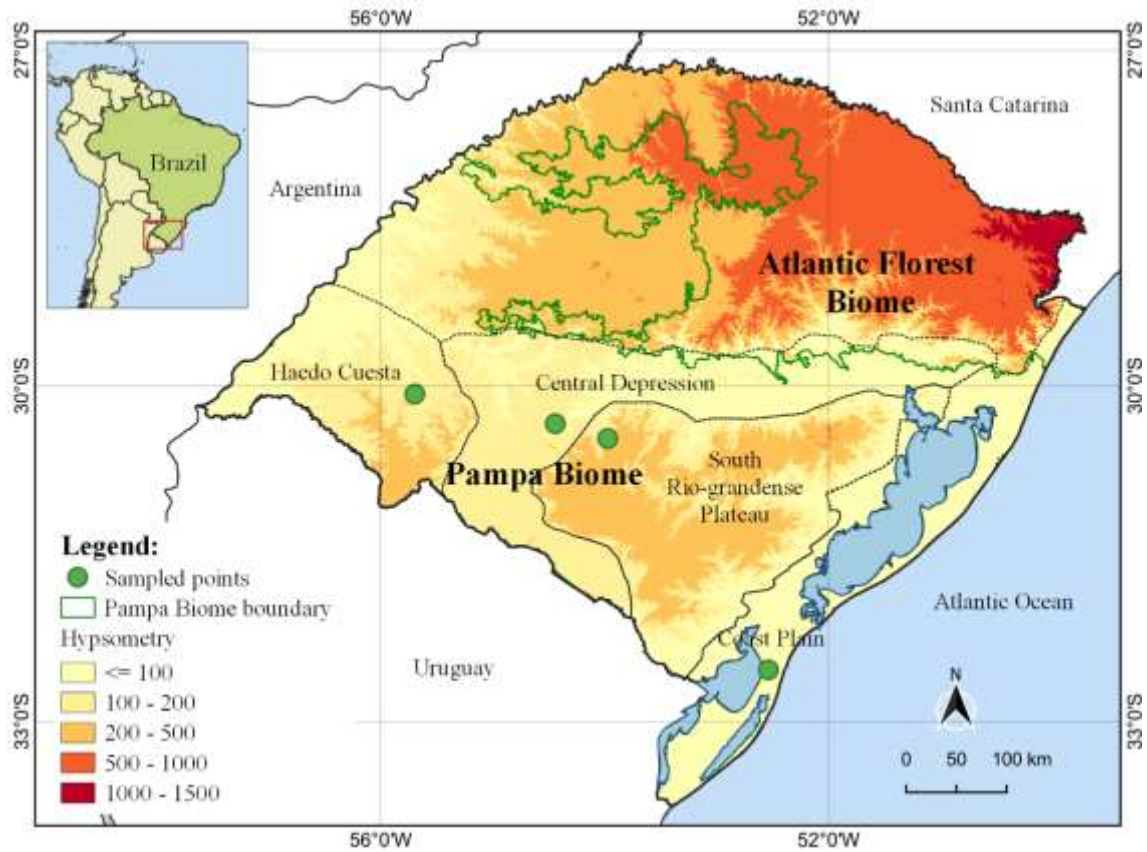


Figure 1. Location of the municipalities where anuran hosts were sampled along the native grasslands of the Brazilian Pampa biome, between spring and summer of 2017, 2018 and 2019.

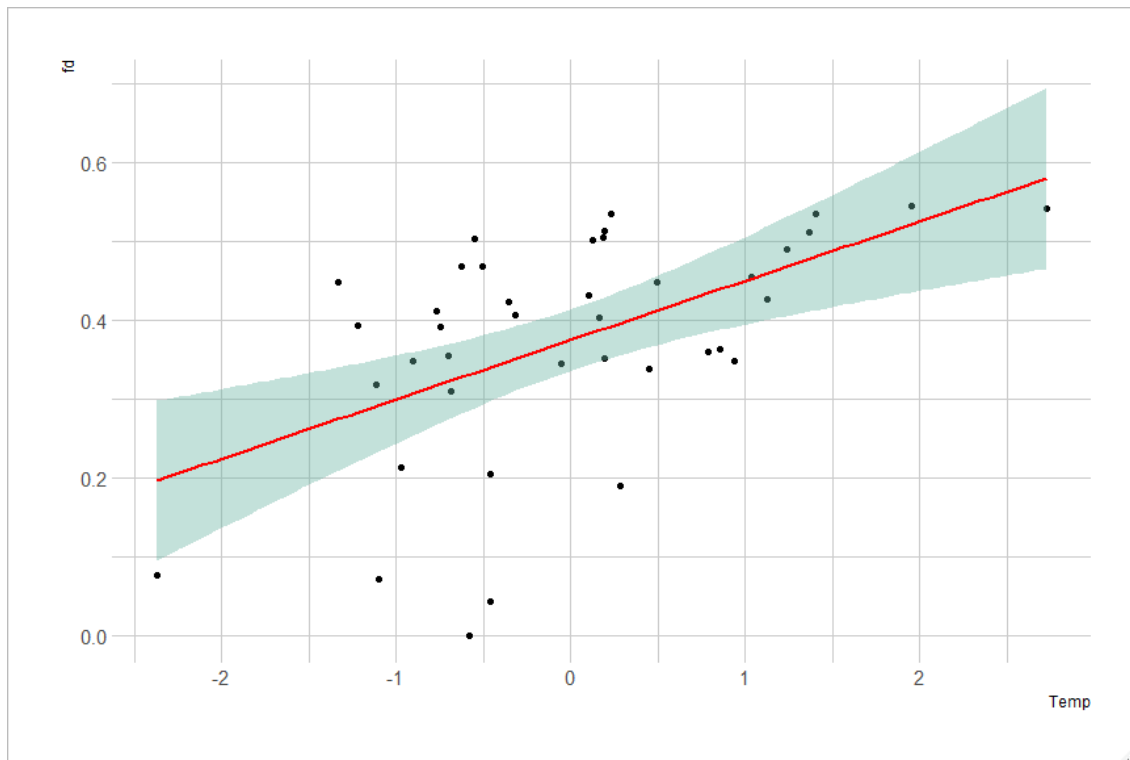


Figure 2. The effects of water temperature on the patterns of functional diversity in helminth communities sampled in pond breeding anurans along the Brazilian Pampa biome, southern Brazil.

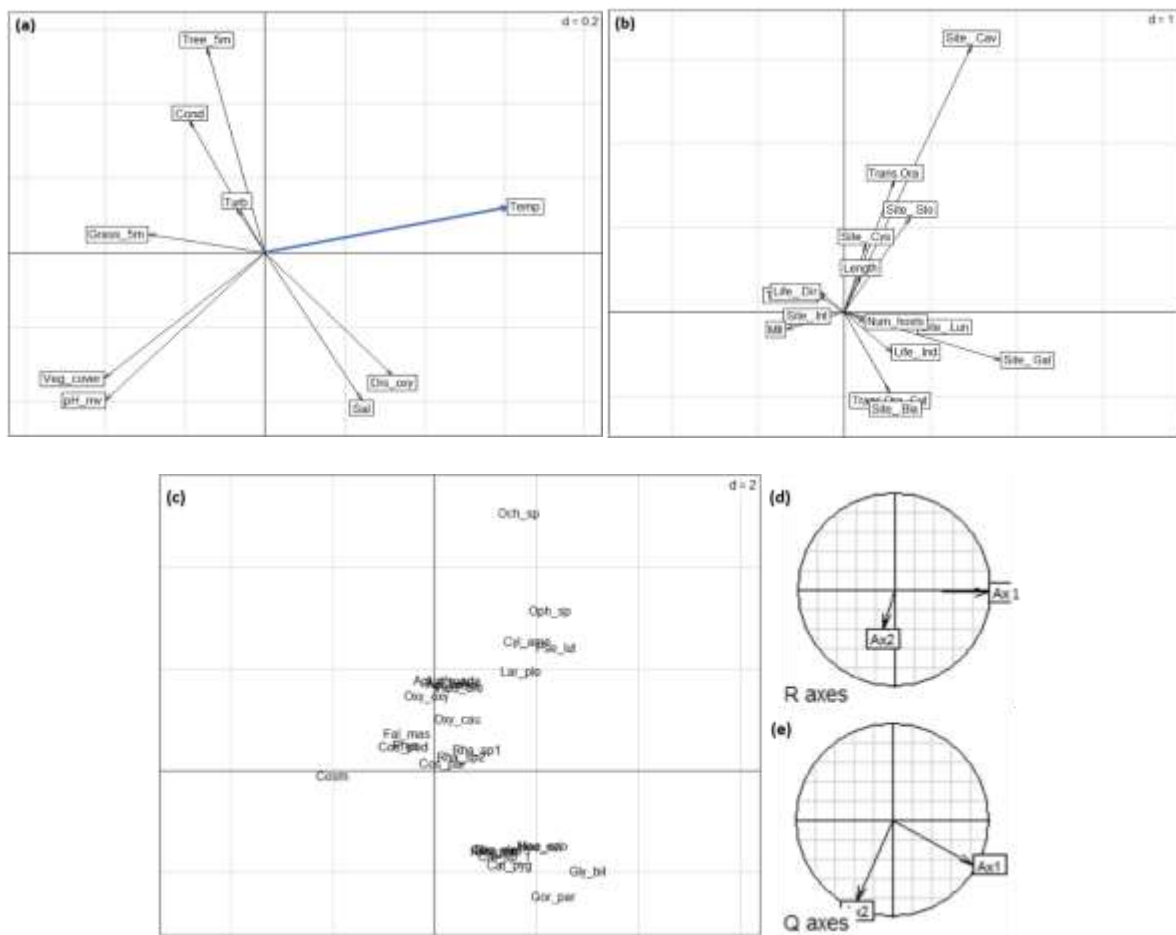


Figure 3. Ordination of (a) environmental descriptors: percentage of grass in 5m of the edge pond (Grass), percentage of trees in 5m of the edge pond (Tree), percentage of shrub in 5m of the edge pond (Shrub), percentage of vegetation cover on the water surface (Veg_cover), water temperature (Temp), water pH (pH/mv), water dissolved oxygen (Dis_oxy), water electrical conductivity (Cond), water turbidity (Turb), water salinity (Sal); (b) functional traits of helminths parasitizing pond breeding anurans: Helminth length (length), helminth transmission mode oral (Trans.Ora), helminth transmission mode oral/cutaneous (Trans.Ora_Cut), helminth transmission mode cutaneous (Trans.Cut), helminth life cycle direct (Life_Dir), helminth life cycle indirect (Life_Ind), helminth infection site stomach (Site_Sto), helminth infection site lungs (Site_Lun), helminth infection site intestine (Site_Int), helminth infection site bladder (Site_Bla), helminth infection site gallbladder (Site_Gal), helminth infection site cavity (Site_Cav), helminth infection site cyst (Site_Cys), helminth mean intensity of infection (MII), and number of hosts infected (Num_hosts); (c) helminth species composition resulting of the RLQ analysis: *Pseudoacantocephalus lutzi* (Pse_lut), *Catadiscus* sp. 1 (Cat_sp_1), *Catadiscus pygmaeus* (Cat_pyg), *Choledocystus elegans* (Cho_ele), *Rhouschiella pseudium* (Rha_pse), *Rhouschiella proxima* (Rha_pro), *Gorgoderina parvicava* (Gor_par), *Glyphetelmis bilialis* (Gly_bil), *Haematoloechus ozorioi* (Hae_ozo), *Neohaematoloechus neivai* (Neo_nei), *Cylindrotaenia americana* (Cyl_ame), *Ophiotaenia* sp.(Oph_sp), Larva plerocercoides (Lar_ple), Cosmoceridae (Cosm), *Aplectana membranosa* (Apl_mem), *Aplectana meridionalis* (Apl_mer), *Aplectana* cf. *adaechevarria* (Apl_cf_ada), *Cosmocerca parva* (Cos_par), *Cosmocerca podicipinus* (Cos_pod), *Falcaustra mascula* (Fal_mas), *Hedruris orestiae* (Hed_ore), *Ochoterella* sp. (Och_sp), *Oxyascaris oxyascaris* (Oxy_oxy), *Oxyascaris caudatus* (Oxy_cau), Physalopteridae (Phys), *Rhabdias* sp. 1 (Rha_sp1), *Rhabdias* sp. 2 (Rha_sp2). The relationship of the two first axis of RLQ with the R matrix and Q matrix are shown, respectively in the (d) and (e). Blues arrows represent the positive effect of the environmental descriptor (fig. a); black arrows represent the environmental descriptors with no significant effects on functional traits.

	Grass_5m	Tree_5m	Veg_cover	Temp	pH_mv	Cond	Turb	Dis_oxy	Sal
Length									
Trans.Cut									
Trans.Ora									
Trans.Ora_Cut									
Site_Bla									
Site_Cav									
Site_Cys									
Site_Gal									
Site_Int									
Site_Lun									
Site_Sto									
MII									
Num_hosts									
Life_Dir									
Life_Ind									

Figure 4. Scheme representing the association between the functional traits of helminths parasitizing pond breeding anurans and environmental descriptors of ponds resulting from the Fourth corner test. Cells in grey represent non-significant associations. Positive associations are represented in blue. Subtitles: environmental descriptors - percentage of grass in 5m of the edge pond (Grass), percentage of trees in 5m of the edge pond (Tree), percentage of shrub in 5m of the edge pond (Shrub), percentage of vegetation cover on the water surface (Veg_cover), water temperature (Temp), water pH (pH/mv), water dissolved oxygen (Dis_oxy), water electrical conductivity (Cond), water turbidity (Turb), water salinity (Sal); functional traits of helminths parasitizing pond breeding anurans: helminth length (length), helminth transmission mode oral (Trans.Ora), helminth transmission mode oral/cutaneous (Trans.Ora_Cut), helminth transmission mode cutaneous (Trans.Cut), helminth life cycle direct (Life_Dir), helminth life cycle indirect (Life_Ind), helminth infection site stomach (Site_Sto), helminth infection site lungs (Site_Lun), helminth infection site intestine (Site_Int), helminth infection site bladder (Site_Bla), helminth infection site gallbladder (Site_Gal), helminth infection site cavity (Site_Cav), helminth infection site cyst (Site_Cys), helminth mean intensity of infection (MII), and number of hosts infected (Num_hosts).

Tables

Table 1. Local environmental descriptors measured in ponds along the Brazilian Pampa biome sampled regarding parasite helminths in anurans.

Descriptor	Levels	Ecological Relevance	Reference
Vegetation type on pond edges	Categories (%): undergrowth, shrub and arboreal	Influence the helminth transmission because increases the environmental complexity, affects primary productivity, nutrient cycling and, consequently, increases the visitation of the definitive host vertebrates, and intermediate hosts that use these environments.	1, 2,3
Vegetation cover on the water surface	Porcentagem (%)	The presence and structuring of aquatic vegetation promote micro-spatial heterogeneity, increases food availability, consequently increases the definitive host vertebrates and intermediate hosts that use these ponds, which	4, 5, 6

can influence the success of infection and transmission of helminths of different species.

Dissolved oxygen

of water mg/L

Influence host and 7, 8 helminth survival and diversity, as they induce

Water pH Continuous (from 0 to 14) physiological/metabolic and behavioral responses that are determinant in host-parasite interactions.

Water temperature °C

Electrical conductivity ms/cm

Salinity PPT

Turbidity NTU

(1) Vasconcelos et al., (2009); (2) Padiál et al., (2009); (3) Thomaz & Cunha, (2010); (4) Sousa & Grosholz, (1991); (5) Wilkinson & Fenner Jr., (2007); (6) Kruidhof et al., (2015); (8) Welborn et al., (1996); (9) Both et al., (2011); (10) Escoriza & Ben Hassine (2017).

Table 2. Functional traits measured from different morphological and ecological characteristics of anurans hosts and parasite helminths studied in ponds along the Brazilian Pampa biome.

Functional trait	Variable	Ecological relevance
Host weight	Continuous	
Host body size	Continuous	Influence the interaction with helminths (1, 2, 3, 4)
Host guild	Categorical	
Parasite length	Continuous	
Parasite transmission mode	Categorical	
Parasite life cycle	Categorical	Related with the infection success in different hosts, influence the persistence, establishment, and dispersion, as well as with their effect on host fitness (5, 6, 7, 8, 9)
Parasite infection site	Categorical	
Parasite mean intensity of infection	Continuous	
Number of hosts infected	Continuous	

References: (1) Kamiya et al. (2014); (2) Brito et al. (2014); (3) Leung & Koprivnikar (2016); (4) Campião et al. (2015); (5) Mouillot et al. (2005); (6) Agosta et al. (2010); (7) Wells & Clark (2019); (8) Poulin & Morand (2000); (9) Llopis-Belenguer et al. (2019)

Table 3. Result of the Linear Mixed-Effect Models (LMM) showing the relationship between water temperature (Temp) and the functional diversity of helminths parasitizing pond breeding anurans along the Brazilian Pampa biome.

Variable	numDF	denDF	F-value	P-value
Temp	1	38	14.83	0.0004

CONCLUSÕES

- Registramos 28 *taxa* de helmintos pertencentes às classes Trematoda (Digenea), Cestoda, Acanthocephala e ao Filo Nematoda, parasitando as oito espécies de anuros hospedeiros analisadas (*Boana pulchella*, *Leptodactylus macrosternum*, *Leptodactylus luctator*, *Physalaemus cuvieri*, *Physalaemus gracilis*, *Pseudis minuta*, *Scinax fuscovarius* e *Scinax granulatus*).
- A helmintofauna dos anuros do bioma Pampa brasileiro são infectados principalmente por espécies generalistas de helmintos, não restritos a uma única espécie hospedeira, corroborando o padrão generalista das comunidades de helmintos associadas aos anuros.
- Nossos resultados mostram que a fauna helmíntica dos anuros na região do Pampa no sul do Brasil é influenciada pelas variáveis locais (preponderantemente), espaciais e de paisagem. Desta forma, nossas análises sugerem que as variáveis ambientais são determinantes para as comunidades de helmintos, incrementando ou diminuindo os valores das métricas do parasitismo analisadas, bem como os valores de similaridade quanto à estrutura da helmintofauna.
- Há variação na diversidade funcional das comunidades de helmintos dos anuros no bioma Pampa, bem como alguns traços funcionais dos parasitas foram positivamente associados com a temperatura da água. Essa correlação possivelmente indica que temperaturas mais elevadas favorecem o sucesso de transmissão e infecção helmíntica.
- Nosso trabalho evidencia a importância de se considerar os descritores ambientais nos estudos de diversidade de helmintos, pois essas informações permitem acessar os fatores abióticos que influenciam a estrutura das comunidades de parasitas, para um melhor entendimento dos padrões observados.