



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, CONSERVAÇÃO E MANEJO DA VIDA  
SILVESTRE

Dissertação de Mestrado

**Prevalência e consequências da Infecção por *Plasmodium tropiduri tropiduri*  
em duas populações de calangos (Tropiduridae: *Tropidurus torquatus*) no  
estado de Minas Gerais, Brasil.**

Oscar Dario Hernandez Córdoba

Belo Horizonte

2017

**Prevalência e consequências da infecção por *Plasmodium tropiduri tropiduri*  
em duas populações de calangos (Tropiduridae: *Tropidurus torquatus*) no  
estado de Minas Gerais, Brasil.**

Oscar Dario Hernandez Córdoba

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-graduação em Ecologia,  
Conservação e Manejo da Vida Silvestre  
do Instituto de Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Minas Gerais  
como requisito parcial para a obtenção  
do título de Mestre, sob a orientação da  
Profa. Dra. Érika Martins Braga.

BELO HORIZONTE

2017

## **Agradecimentos**

Agradeço à professora Érika Braga pelo apoio, orientação, confiança e paciência durante o desenvolvimento deste projeto.

Ao programa PAEC/OEA pela bolsa de mestrado.

Muito agradecido pelo o apoio brindado pelo pessoal do laboratório de malária da UFMG durante todas as fases do projeto, em especial a Raquel Andrade, Daniela Dutra e Francisco Ferreira.

Ao programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre e a seus professores pelo ensino.

Ao professor Paulo Garcia pelas assessorias e ao doutorando Antônio Cruz pela ajuda com as licenças de coleta.

À banca examinadora, conformada por Vincenzo Ellis e Julia Silveira pelos seus importantes comentários.

Apesar da distância, agradeço a minha família que está sempre comigo e me incentiva a seguir em frente.

A meu amor, Ana, pela ajuda durante todo o projeto, pelo amor e principalmente pela companhia no longo, e às vezes solitário caminho para me formar como cientista.

## ABSTRACT

A wide ranges of biotic and abiotic variables influence parasitic infection patterns. Therefore, each parasite-host system carries its own particularities and the consequences of infection vary from one parasite-host system to another. Thus, research on these systems are important for understanding the evolution of parasitism as the evolutionary relationships between host and parasite species. *Plasmodium spp.* Infections in lizard hosts shows a great variation in its patterns which depends on multiple environmental and host individual factors. However, available data in this field are scarce. In this work, we focused on *Plasmodium tropiduri tropiduri* infecting *Tropidurus torquatus* in two populations. Our objectives were first; assess infection patterns in terms of variation in prevalence, infection intensity and how these parameters vary with other parasite infections. Second, evaluate the malarial infection consequences on hosts by measuring parameters as body condition, predation risk, hematological alterations and concomitant consequences with other infections. We found three parasitic infections on *T. torquatus*, *P.t. tropiduri*, a microfilariae infection (Onchocercidae sp.) and an ectoparasitic species (*Eutrombicula* sp.). Spatial (locality) and temporal (season) variables, host individual characters like age and co-infections (microfilariae) defined *P.t. tropiduri* infection pattern. On the other hand, malarial infection was not related to alterations on H.L ratio, body condition and risk predation parameters, showing no effects on host fitness. Nevertheless, lizards with malaria showed hematological alterations associated to anemia and immune response. Concomitant effect with other infections were not evident but a possible facilitating effect for *P. t. tropiduri* by microfilariae was detected. In conclusion, variation in patterns of infections could depend on several abiotic factors and biological processes, such as co-occurrence of infections, in this case, with microfilaria. Although *P. tropiduri* does not seem to produce several negative consequences on *T. torquatus*, infected hosts present hematological changes that may determine costs and therefore can alter life and ecology of lizards.

**Key Words:** Co-occurrence, co-infection, lizard malaria, lizard hematology, parasite, virulence.

## RESUMO

Uma grande gama de variáveis bióticas e abióticas influenciam os padrões das infecções parasitárias, dando assim particularidades a cada sistema parasito-hospedeiro. As alterações decorrentes da infecção variam de acordo com essas particularidades, portanto, estudos relacionados a esses sistemas são importantes para o entendimento das relações evolutivas entre as espécies e a evolução do parasitismo. As infecções por *Plasmodium* spp. em lagartos apresentam diversos padrões que dependem de múltiplos fatores relacionados aos hospedeiros e ao meio ambiente. Porém, atualmente, os dados neste campo são escassos. Neste estudo, nos focamos no sistema *Plasmodium tropiduri tropiduri* infectando *Tropidurus torquatus* em duas populações distintas. Os objetivos deste trabalho foram, em primeiro lugar, avaliar o padrão da infecção de acordo com variações na prevalência e intensidade e como interagem esses parâmetros em relação a infecções por outros parasitos. Em segundo lugar, avaliar consequências da infecção para os hospedeiros a partir de medidas de condição corporal, risco de predação e perfil hematológico, como também efeitos concomitantes pelas co-infecções. Encontramos co-infecções com uma espécie de Microfilária (Onchocercidae sp.) e uma de ectoparasito (*Eutrombicula* sp.). Variáveis espaciais (localidade), temporais (temporada do ano), características individuais dos hospedeiros como idade, e co-infecções (microfilária) determinaram o padrão da infecção por *P. t. tropiduri*. Por outra parte, a infecção malárica não esteve relacionada a alterações nos parâmetros como condição corporal, risco de predação e taxa H:L, não evidenciando uma redução no fitness dos hospedeiros. Porém, houve mudanças hematológicas nos hospedeiros infectados por malária, essas alterações foram associadas com anemia e com a resposta imune do hospedeiro. Efeitos concomitantes com as outras infecções não foram evidentes

mas detectamos um possível efeito facilitador entre a infecção por *P. t. tropiduri* e a intensidade de microfilária. Em conclusão, *P. t. tropiduri* apresenta um padrão de infecção variável que depende além de uma série de fatores abióticos, de processos biológicos, um deles é a co-ocorrência de infecções, neste caso com microfilária. Apesar de que a infecção *P. t. tropiduri* não evidenciou graves consequências negativas em *T. torquatus*, os hospedeiros infectados apresentaram mudanças hematológicas que significam custos que podem transcender e alterar a vida e a ecologia dos lagartos.

**Palavras Chave:** Co-ocorrência, co-infecção, malária em lagartos, hematologia, virulencia.

## INTRODUÇÃO

A variação da prevalência e a intensidade das espécies de parasitos no tempo e no espaço, geralmente é um fato aceitado (Bensch & Åkesson 2003, Fallon *et al.* 2004, Poulin 2006). Fatores abióticos como clima e paisagem, ou bióticos, próprios da história de vida do parasito, interagem com variáveis como a densidade de vetores ou densidade de hospedeiros, como também com suas respostas imunes. O balance final da interação entre todas essas variáveis determina o padrão da infecção, definido pelas variações em parâmetros como abundancia, prevalência e intensidade dos parasitos nas populações dos hospedeiros (Poulin, 1998; Krasnov *et al.* 2006).

Adicionalmente, os parasitos de uma espécie podem variar no grau de virulência e os hospedeiros podem apresentar resistência diferencial aos parasitos entre as populações. Assim, as consequências do parasitismo variam entre as populações.

As consequências do parasitismo involucram uma gama de respostas que potencialmente podem exercer pressões ecológicas e evolutivas nos hospedeiros

em diferentes níveis (Møller 1997, Sol *et al.* 2000). Em nível individual, o parasitismo pode ter efeitos negativos como a diminuição do transporte de oxigênio (Schall 1982), alteração na condição corporal, mobilidade e capacidade para defender territórios, bem como as habilidades de competição, defesa e comportamentos antipredador e reprodutivos (Price 1980, Schaal 1992, Schall & Pearson 2000; Majláthová *et al.* 2010). Essas alterações prejudicam, portanto, o *fitness* dos indivíduos, alterando interações inter e intraespecíficas. Em nível populacional, os parasitos podem causar mortalidade diferencial entre sexos ou entre as diferentes idades, o que pode alterar estrutura etária da população e, em maior escala, modular a distribuição das espécies nas comunidades e até mesmo redefinir o fluxo de energia nos ecossistemas (Schall 1992, Poulin & Monrad 2000).

Por outro lado, os hospedeiros geralmente são infectados por mais de uma espécie de parasito (Telfer *et al.* 2010). Esses parasitos em co-infecção podem interagir positivamente, neutral ou negativamente (Lainson *et al.* 2001, Seabloom *et al.* 2015). Assim, uma espécie de parasito pode ter efeito nos padrões da infecção de outros parasitos filogeneticamente distantes, como também podem interagir e causar efeitos concomitantes nos hospedeiros (Seabloom *et al.* 2015). Notavelmente, informações dessas interações são escassas já que geralmente tem se estudado as co-infecções de parasitos não relacionadas filogeneticamente como eventos independentes (Poulin 1998). Por tanto, avaliar o efeito das co-infecções nos padrões e consequências das infecções resulta importante para entender como funcionam as comunidades de parasitos.

O gênero *Plasmodium* (lato sensu), constitui um diverso grupo de parasitos hemsporídeos transmitidos por insetos. Com cerca de 250 espécies que infectam pássaros, mamíferos e répteis (Eisen & Schall 2000, Chavatte *et al.* 2007), 90 delas usam apenas répteis como hospedeiros (Telford 2008, Jacobson 2007). A relação entre diferentes espécies do gênero *Plasmodium* e répteis constitui um

excelente modelo para estudos sobre ecologia evolutiva relacionada ao parasitismo (Keymer & Read 1991; Schall 1996; Salked & Schwarzkopf 2005).

As diferentes interações *Plasmodium*-réptil determinam diferentes padrões de infecção, e por tanto apresentam consequências que vão desde casos assintomáticos, sem efeitos nos lagartos hospedeiros, até efeitos com consequências e custos importantes na ecologia do hospedeiro. Tem se conferido que a infecção malárica em répteis impõe pressões seletivas nos lagartos, reduzindo seu êxito reprodutivo, alterando as interações intra e inter específicas e modulando a distribuição de espécies nos ecossistemas (Schall 1982, Schall 1992, Schall & Pearson 2000). No entanto, informações a respeito das consequências da infecção para o hospedeiro, e do padrão das infecções em répteis pelas diferentes espécies de *Plasmodium* e suas variações intra e interespecíficas, ou interações com outros parasitos no mesmo hospedeiro, são surpreendentemente escassas na literatura (Schall 1996, Bonadiman *et al.* 2010, Zimmerman *et al.* 2010, Motz & Vardo 2014). Contudo, considera-se a importância de se realizar estudos em diversos sistemas *Plasmodium*-réptil para o entendimento de questões importantes, como a evolução da virulência (Schall 2002). A ausência de conhecimento das consequências e custos de um parasito específico numa determinada espécie de hospedeiro, impede-nos de avaliar a importância do parasito como uma força evolutiva (Price 2007, Bouma *et al.* 2007).

Além da variação do padrão de infecção entre populações, tem se referido que a prevalência e parasitemia de *Plasmodium* varia dentro das populações de lagartos, por exemplo, os machos e os animais mais velhos geralmente são os indivíduos mais infectados (Ayala 1976, Schall 1996). Por outro lado, para avaliar as consequências da infecção, tem-se usado estudos comparativos entre animais infectados e não infectados com malária, nos quais as consequências patológicas da infecção são utilizadas para mensuração da virulência (Schall 2002). Medidas de diferentes parâmetros têm revelado consequências negativas geradas pela infecção por *Plasmodium spp*, entre elas, diminuição na condição corporal (Schall



1996) e aumento do risco de predação (Schall & Pianka 1980), como também alterações hematológicas, que involucram aumento no número e alteração nas proporções de leucócitos, as quais podem estar associados com respostas adrenais ao stress (Davis *et al.* 2008). Da mesma forma, tem se reportado aumento no número de hemácias imaturas, o que pode estar associado com uma possível anemia (Dunlap 1993, Massey *et al.* 1996, Ricklefs & Sheldon 2007, Motz & Vardo 2014).

Considerando que a presença de co-infecção pode alterar as consequências e a variação nos traços da infecção malárica supracitados, estudamos a infecção por *Plasmodium tropiduri tropiduri* (Aragão e Neiva 1909) em duas populações do lagarto *Tropidurus torquatus* Wied-Neiwied, 1820 (Tropiduridae). Tivemos dois objetivos, em primeiro lugar, avaliar o padrão da infecção por *P. t. tropiduri* a partir de medidas na prevalência e intensidade. Avaliamos variações desses parâmetros com relação ao sexo, a idade, as duas populações estudadas, clima e as diferentes temporadas do ano, tomando em conta também a presença de co-infecção com outros tipos de parasito.

O segundo objetivo, foi avaliar as consequências da infecção por *P.t. Tropiduri* e possíveis efeitos concomitantes com outros tipos de parasitos, medindo a relação de parâmetros de condição corporal, risco de predação e de mudanças hematológicas dos hospedeiros com relação às infecções.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Espécies de estudo**

*Plasmodium tropiduri* foi descrito por Aragão e Neiva em 1909, em um único hospedeiro, *Tropidurus torquatus* da região de Bicudos, no estado de Minas Gerais. Posteriormente este parasito foi reportado no mesmo hospedeiro em Goiás, Bahia e São Paulo (Pessoa & Lopes 1963, Cairini 1941, Rocha & Silva e Rodrigues 1974). Também fora do Brasil, essa espécie de parasito já foi reportada

na Guyana (Telford,1973) e Venezuela (Scorza 1971a, Telford,1978) em *T. hipidus* e em *Mabuya mabuya* (Lainson & Shaw 1969). Parasitos com formas muito similares foram identificadas como *P. tropiduri* na República Dominicana, Haiti, Jamaica, Panamá e Venezuela. *P. tropiduri* foi agrupada em 5 subespécies por Telford (2008). Assim, a espécie de estudo nesta pesquisa é *P. tropiduri tropiduri* (Aragão & Neiva 1909, Telford 1979, Telford 2008). As medidas e pranchas dos indivíduos usados para a identificação estão disponíveis no material Anexo.

*P. tropiduri tropiduri* apresenta infecções eritrocitárias (em hemácias) e em menor proporção infecta também trombócitos e linfócitos. Desta forma, em nosso texto trataremos a presença da infecção em geral (patente e sub-patente), detectada a partir de diagnóstico molecular como *P. t. tropiduri*. Entretanto, nas análises por microscopia óptica analisamos os dois tipos de infecção separadamente, sendo que nestes casos nos referíamos a elas como *P. t. tropiduri* vermelho ou *P.t.v* ao parasito encontrado em hemácias e como *P. t. tropiduri* branco ou *P.t.b* à infecção encontrada em trombócitos e linfócitos.

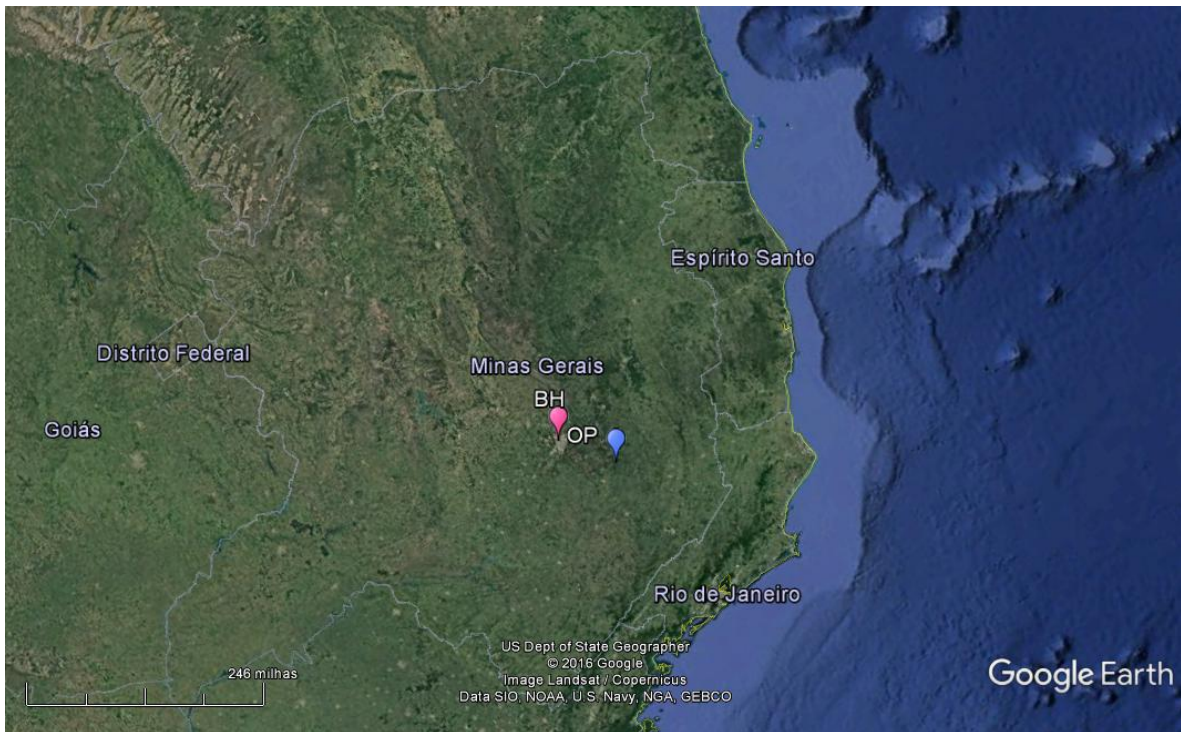
*Tropidurus torquatus* (Wied-Neuwied 1820) é um lagarto tropidurino diurno e heliófilo de tamanho médio. Essa espécie é caracterizada por apresentar escamas mucronadas, sendo as laterais do pescoço muito menores que as dorsais adjacentes, com uma prega separando duas bolsas de ácaros, de 2 a 3 áreas com escamas granulares na região axilar e uma bolsa de ácaros na virilha igualmente revestida por grânulos (Rodrigues 1987, Arruda *et al.* 2008). Esta espécie apresenta dimorfismo sexual marcado pelo tamanho maior nos machos com média de 101.86 cm ( $\pm$  13.81) enquanto que as fêmeas medem em média 87.57 cm ( $\pm$  11.09) e por apresentar colorações usualmente pretas na face ventral da coxa e na aba anal (Pinto *et al.* 2005). Sua distribuição é uma das maiores dentro do gênero, indo desde o Brasil central até o norte da Argentina (Arruda *et al.* 2008, Ribeiro *et al.* 2009). Essa espécie tem sido verificada com atividade ótima em temperatura corporal entre 30 e 38°C e temperatura ambiente entre 29 e

35°C (Kiefer *et al.* 2005). Este lagarto habita áreas abertas e rochosas do Cerrado, Mata Atlântica, áreas arenosas costeiras e suas áreas de transição. *T. torquatus* é uma espécie abundante e resiliente, podendo colonizar assentamentos humanos, inclusive grandes cidades, sendo catalogado como uma espécie generalista de micro-habitat (Rodrigues 1987, Ribeiro *et al.* 2009).

### **Área de estudo**

As coletas foram realizadas em duas populações no estado de Minas Geras, as quais foram escolhidas devido à sua abundância de calangos e por apresentarem indivíduos infectados por malária, o que foi determinado por um estudo piloto realizado por nosso grupo. A primeira área situa-se no município de Belo Horizonte (Latitude: 19°51'33.76"S, Longitude: 43°59'56.21"O), região da Pampulha, ao nordeste da cidade, dentro da região metropolitana. A área caracteriza-se por ser extensamente modificada pelo homem. Buscas ativas por lagartos foram realizadas em terrenos baldios e em paredes das casas ou condomínios perto de lotes ou parques. O clima da região é tropical com estações seca e húmida bem definidas, a temperatura média mensal variando entre 9 e 37°C, sendo a temperatura média anual em torno de 20°C. A precipitação anual foi em torno de 1600mm.

A segunda localidade de estudo foi o Parque Municipal Cachoeira das Andorinhas, no município de Ouro Preto (Latitude: 20°33'1.22"S, Longitude: 43°29'13.90"O), distante cerca de 70 km de Belo Horizonte. A área é caracterizada pelas abundantes formações rochosas, em cujas intersecções se formam buracos e cavernas utilizadas como refúgio pelos calangos. O clima predominante é tropical de altitude, também sazonal, com uma estação seca e fria e outra quente e úmida. A temperatura média mensal varia entre 9.1 e 26.4°C, sendo a temperatura média e a precipitação anuais em torno de 18.3 °C e de 1.552mm, respectivamente.



**Figura 1.** Mapa amostrando as duas localidades de estudo no estado de Minas Gerais, acima em cor rosa (BH), a localidade na região da Pampulha, bairro bandeirantes, em Belo Horizonte. Em baixo, cor azul (OP), localidade no Parque Municipal Cachoeira das Andorinhas, em Ouro Preto.

### **Amostragem**

A coleta dos dados foi realizada entre dezembro de 2015 e dezembro de 2016, compreendendo 33 campanhas de coleta feitas ocasionalmente, de uma a dois por mês. Durante essas campanhas foram realizadas buscas ativas por calangos entre às 9 e às 16 horas, sempre em dias em que a temperatura esteve entre 20 e 38°C.

Os lagartos foram capturados usando uma vara de pesca com um nó corrediço no final e foram mantidos em sacos de pano até serem analisados para coleta dos dados. O sexo foi determinado observando o dimorfismo sexual entre macho e fêmea (os indivíduos sem dimorfismo e menores de 70mm foram classificados como jovens). Foi registrado o status da cauda (intacta, ferida), já que é reconhecido como um indicador de risco de predação (Schall & Pianka

1980), o comprimento rosto-cloacal (SLV, pelas siglas em inglês) foi determinado como uma medida indireta da idade do lagarto e junto com o peso (g) foi usado para calcular um índice de condição corporal usando os resíduos de um modelo GLM entre as duas variáveis. Para obtenção de sangue dos indivíduos, foi feita punção da veia caudal utilizando uma agulha estéril de 0.30 x 13mm, sendo coletados de 5 a 15 µL. Parte do sangue coletado foi armazenado em papel filtro e mantido no freezer a -20°C, para ser utilizado em análises moleculares por Reação de Cadeia da Polimerase (PCR). Outra parte do sangue foi utilizada na confecção de esfregaços sanguíneos, os quais foram utilizados para análise de microscopia. Os lagartos foram marcados usando um código de cor com borrachas de silicone para cabelo de diferentes diâmetros, segundo o método descrito em Nunes & Sousa (2012).

Todos os animais capturados foram examinados usando uma lupa com 30x de aumento em busca de ectoparasitos e posteriormente foram liberados perto do lugar da sua captura. O estudo foi feito baixo a licença SISbio 51066-3, as análises das amostras foram feitas no Laboratório de Malária da UFMG.

### **Análise microscópica**

Os esfregaços sanguíneos foram confeccionados no campo, secos ao ar e fixados com metanol absoluto. A coloração foi realizada em laboratório com solução de GIEMSA a 10%.

Cada esfregaço foi examinado no microscópio de luz com aumento de 1000x em objetivo de imersão, sendo visualizados 200 campos, começando na borda da lâmina, fazendo uma forma de “s”, para determinar presença/ausência e a intensidade (número de hemácias infectadas em 15.000 hemácias) de *P. t. tropiduri*. Os parasitos foram identificados usando a diagnose publicada por Telford (2008), as medidas foram tomadas com o software imageJ (medidas disponíveis no material anexo).

Além disso, ao analisarmos as lâminas também buscamos outros hemoparasitos, registrando a presença e o total de parasitos nos 200 campos. Fizemos uma análise de leucócitos usando apenas os campos que tiveram mais de 15 hemácias numa camada fina (Davis *et al.* 2008).

Comparações de padrões hematológicos entre animais infectados e não infectados podem refletir alterações fisiológicas causadas por stress ou processos inflamatórios. Para avaliar estes efeitos, usamos um contador de células manual para registrar o número de linfócitos, heterófilos, monócitos e trombócitos até a contagem de um total de 100 leucócitos. Também calculamos a relação entre heterófilos e linfócitos (H:L), cujo incremento tem sido associado com infecção (Davis *et al.* 2008). O número total de leucócitos e hemácias imaturas foi determinado pela contagem de leucócitos em 10 campos.

### **Análise molecular**

Todas as amostras foram submetidas na análise molecular, com o objetivo de confirmar e identificar infecções sub-patentes, ou seja, presença de *Plasmodium* em situações de baixas parasitemias, nas quais não foi possível a detecção da infecção por microscópica óptica.

A extração do DNA a partir de sangue coletado em papel filtro foi realizada segundo o protocolo descrito por Scopel *et al.* (2004) utilizando proteinase K seguida de extração por fenol-clorofórmio. Em seguida, as amostras de DNA obtidas foram submetidas à PCR simples visando à amplificação da região altamente conservada do gene mitocondrial SSU, executada de acordo com Fallon e colaboradores (2004). A PCR foi desenhada para *Plasmodium* spp. de aves, porém, como a região amplificada é altamente conservada da região mitocondrial SSU dos genomas do gênero, foi efetiva também para espécies de *Plasmodium* infectando répteis. Os primers utilizados na reação foram 343F: 5'GCTCACGCATCGCTTCT3' e 496R:5'GACCGGTCATTTTCTTTG3'. Na reação de amplificação, cada tubo recebeu 2 µl do DNA molde e 13 µl de tampão de

reação contendo 10 mM Tris HCl, pH 8.5, 50 mM KCl; (PHONEUTRIA); 2.0-2.5 mM MgCl<sub>2</sub>; 200 µM dNTP; 0.5 U Taq DNA polimerase (PHONEUTRIA); 0.4mM de cada iniciador e água ultra pura estéril. O programa do termociclador para amplificação consistiu de 35 ciclos a 94°C por 1 minuto, seguida de anelamento a 62°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto e 10 segundos. A desnaturação inicial ocorreu a 94°C por 2 minutos. Seguiu-se a extensão final a 72°C por três minutos, para finalizar, manutenção da temperatura de 4°C.

O fragmento alvo da PCR possui 198 pb, os produtos das reações foram submetidos a eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) 6%, não desnaturante em tampão TBE-1X. Os géis foram fixados em álcool etílico e ácido acético, corados por nitrato de prata e revelados em formaldeído e hidróxido de sódio (Sanguinetti *et al.* 1994)

## **Análise de dados**

### **Padrão da infecção**

Avaliamos o padrão da infecção identificando as variáveis que influem sobre a probabilidade de infecção de *P.t. tropiduri* como também na intensidade da infecção. Para isso, usamos modelos lineares generalizados (GLM): um com a presença ou ausência de *Plasmodium* detectada com a análise molecular como variável dependente, outros dois com a presença ou ausência de cada tipo de infecção (P.t.v, P.t.b) determinada microscopicamente, ou seja, infecções patententes. Para a infecção em hemácias P.t.v, também foi testado um modelo com a intensidade (número de parasitos em 15.000 hemácias) como variável dependente. As variáveis explicativas para os anteriores modelos foram o Sexo, Idade (inferida a partir do SLV), localidade de coleta, precipitação e temperaturas médias mensais (Os dados climáticos de Ouro Preto foram obtidos da plataforma ACCUWEATHER <http://www.accuweather.com/en/uy/uruguay-weather> e os dados de Belo Horizonte foram obtidos da estação climática nessa cidade, usando a plataforma INMET

[http://www.inmet.gov.br/sonabra/pg\\_dspDadosCodigo\\_sim.php?QTUyMQ](http://www.inmet.gov.br/sonabra/pg_dspDadosCodigo_sim.php?QTUyMQ)), a temporada do ano (quatro categorias início chuvosa, final chuvosa, início seca e final seca foram definidas de acordo ao instituto nacional de meteorologia inmet), também foram adicionadas como variáveis explicativas a intensidade e presença/ausência de outros tipos de parasitos.

### **Consequências da infecção**

As consequências da infecção por *P.t. tropiduri* e os possíveis efeitos concomitantes com as co-infecções foram avaliadas usando um modelo GLM para cada parâmetro. Assim, desenhamos um modelo para cada uma das seguintes variáveis dependentes: índice de condição corporal, status da cauda, número total de leucócitos e número de hemácias imaturas. Como também a taxa H:L e as porcentagens de linfócitos, heterófilos, trombócitos, monócitos e trombócitos.

O índice de condição corporal foi obtivo a partir dos erros dum modelo GLM entre o peso e o SLV, com distribuição gaussiana, foi testada a independência entre os erros e o SLV para ter certeza de que a interferência do tamanho sobre o peso foi eliminada.

Colocamos como variáveis explicativas categóricas à condição de infecção (infectado/não infectado) por *P. t. tropiduri* e os dois tipos de infecção, como também incluímos a presença das outras infecções detectadas e suas combinações (co-infecção). Como variáveis explicativas quantitativas colocamos a carga de cada um dos parasitos. Sexo e localidade de coleta foram incluídas como co-variáveis em todos os modelos saturados.

Todos os modelos GLM foram criados de acordo à distribuição de erros mais adequada, posteriormente foram contrastados com modelos nulos e se consideraram explicativos quando tiveram diferenças significativas acima do 95%. Começando com modelos totalmente saturados e procurando o modelo adequado mínimo e com valores AIC (Siglas em inglês para o critério de informação de



Akaike) e devianza mais baixos, respeitando-se o princípio de parcimônia, simplificamos o modelo ao eliminar interações e variáveis explicativas não significativas e unificando níveis dos fatores quando não tiveram diferenças. Os detalhes dos modelos utilizados estão disponíveis no material anexo. Todas as análises foram feitas usando R software (versão 3.3.3).

## RESULTADOS

Em total, foram avaliados 186 indivíduos, dos quais 99 são da população de Belo Horizonte, sendo 39 machos, 44 fêmeas e 16 jovens, e 87 indivíduos da população de Ouro Preto, englobando 18 machos, 38 fêmeas e 31 jovens. Dos 186 indivíduos, 48% estiveram infectados por *Plasmodium* (positivos na PCR). Das amostras com malária, a maioria (85%) teve intensidade baixa (<10 parasitos/15.000 hemácias), que possivelmente correspondem a infecções crônicas (Rand *et al.* 1983, Schall 1996). A análise molecular teve 100% de concordância com a detecção microscópica, ou seja, todas as amostras positivas no microscópio foram positivas na PCR. Por outro lado, a detecção de infecções sub-patentes, diagnosticadas apenas pela PCR, permitiu estabelecermos uma prevalência de 11% em lagartos capturados em Ouro Preto e de 62% naquelas amostrados em Belo Horizonte.

Mais dois tipos de parasitos foram detectados nos animais avaliados. Uma espécie de ácaro, que seguindo a descrição feita por Brennan & Read (1974), possui entre as características diagnosticas: garra palpal tibial bifurcada, lamina quelíceral em tricúspide e segmentação das patas 7-7-7. Essa espécie de ectoparasito pertence ao gênero *Eutrombicula sp.* (Trombiculidae), os quais são parasitos apenas no seu estágio larval e infectam um amplo espectro de hospedeiros vertebrados, entre eles, várias espécies de lagartos tropidurinos (Rocha *et al.* 2008). A prevalência total de *Eutrombicula sp.* foi de 31% (Tabela 1).

Uma espécie de microfilária (Fillaroidea) também foi detectada, apresentou largura média de  $2.9 \pm 0.6$ , e comprimento médio de  $32.6 \pm 2.4$ , com bainha ausente e borda anterior arredondada, borda posterior afinulada e alongada, esse espécimen foi assignado à família Onchocercidae, uma diversa família de nematódeos que produzem microfilária e nos estágios adultos infectam todos os tecidos de hospedeiros vertebrados (Anderson et al. 2009), este parasito apenas foi registrado em hospedeiros da população de Ouro Preto e a prevalência foi de 13% (Tabela 1).

**Tabela 1.** Prevalências (porcentagem de indivíduos infectados no total de indivíduos avaliados) para cada infecção encontrada nas duas localidades e porcentagem de co-infecções.

	A	B	C	A+B	A+C	B+C	A+B+C
	<i>P. t. tropiduri</i> *	<i>Eutrombicula sp.</i>	<i>Microfilaria</i>				
Belo Horizonte (n=99)	29%	23%	0%	4%	0%	0%	0%
Ouro Preto (n=87)	69%	58%	18%	39%	14%	8%	6%

Letras correspondem a abreviações dos tipos de infecções e suas somas correspondem às frequências de co-infecções. \* Prevalência determinada com base no diagnóstico molecular. Os dois tipos de infecções, em hemácias ou trombócitos, foram consideradas para definição de infecção por *P. t. tropiduri*.

### Padrão da Infecção

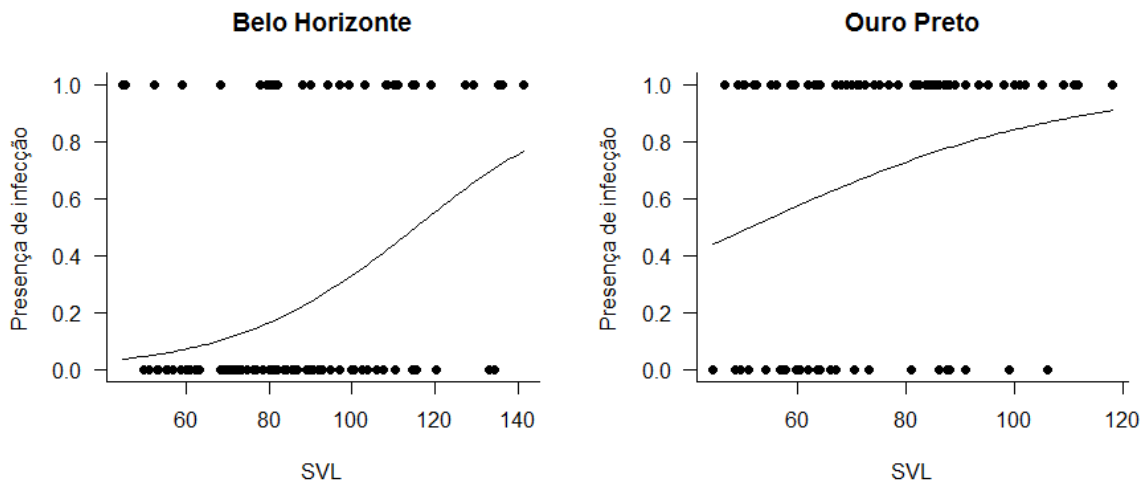
A prevalência média de *P. t. tropiduri* nas duas localidades foi na temporada chuvosa. Porém, as variáveis climáticas como temperatura e precipitação não explicaram a variação na prevalência detectada a partir de análise molecular (infecções patentes e sub-patentes). Porém, a prevalência variou com relação as temporadas, sendo particularmente alta no final da temporada chuvosa, com reduções significativas na taxa de indivíduos infectados nas outras três temporadas (coeficientes estimados: final seca  $-0.95 \pm 0.6$ , início chuvosa  $-2.4 \pm 0.6$ , início seca  $-1.6 \pm 0.6$ ). A prevalência de *P.t. tropiduri* para a população de Belo Horizonte foi de 29% enquanto para a população de Ouro Preto foi de 69% (Tabela 2). Assim, a probabilidade de infecção, dependeu particularmente da localidade (coeficiente estimado:  $2.37 \pm 0.4$ ). A infecção não dependeu do sexo mas sim dependeu da idade dos hospedeiros (SVL) nas duas localidades (coeficiente estimado Idade:  $0.9 \pm 0.009$ ), indicando que a idade é um fator que está

associado à maior chance de infecção. Assim, a probabilidade de um indivíduo estar infectado por *P.t. tropiduri* se torna maior na medida em que o indivíduo apresenta maior idade ou tamanho (Figura 1).

**Tabela 2.** Dados gerais da prevalência (% de indivíduos infectados em cada categoria) para a infecção por *P. t. tropiduri* (diagnosticada por PCR) e a prevalência de cada um dos tipos de infecção (detectados somente por análise microscópica) assim como a intensidade média (I.m.) em cada sexo nas duas localidades. As filas com cada localidade (Belo Horizonte e Ouro Preto) contém os totais para cada uma.

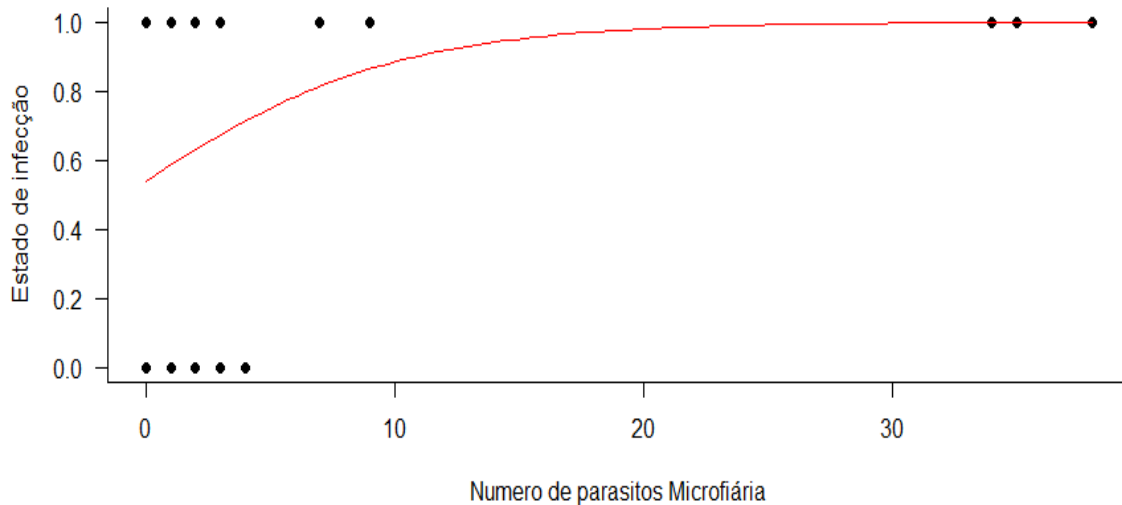
	<b>Infecção (PCR)</b>	<b>Prevalência (P.t.v)</b>	<b>Prevalência (P.t.b)</b>	<b>C. p. (P.t.v)</b>	<b>C. p.(P.t.b)</b>	<b>% Infecções mistas</b>
<b>BH</b>	29	12	1	1	2	0
Machos	38	15	2	2	2	0
Femeas	20	6	0	0	0	0
Jovens	31	25	0	0	0	0
<b>OP</b>	69	49.4	6.8	6.8	2.5	8.13
Machos	77	55	22	11	1.5	11
Femeas	81	50	13	2.6	5	10.5
Jovens	48	41	16	9.6	2.6	6.4

As prevalências dos dois tipos de infecção, *P.t.b* e *P.t.v*, foram diferentes entre as duas localidades (Tabela 2), sendo a localidade de Ouro Preto aquela com maior número de indivíduos infectados. A infecção por *P.t.v* foi mais prevalente quando comparada com a infecção em trombócitos por *P.t.b*. Ao avaliar a prevalência dos dois tipos de infecções patentes, a probabilidade de infecção em hemácias dependeu da localidade e variou entre as temporadas. Por enquanto, para a infecção em trombócitos só variou em relação a localidade (coeficientes estimados Ptv. Localidade:  $2.43 \pm 0.4$ , final seca:  $-1.1 \pm 0.5$ , início chuvosa:  $-1.9 \pm 0.5$ , início seca:  $-1.4 \pm 0.5$ . Coeficiente estimado Ptb, Localidade:  $2.9 \pm 1$ ).



**Figura 1.** Presença ou ausência (1/0) de infecção por *P.t. tropiduri* com relação ao comprimento rostro-cloacal (SVL) de *T. Torquatus* nas populações de Belo Horizonte e de Ouro Preto. Linha preta corresponde à probabilidade de infecção com relação ao SVL (coeficiente estimado SVL:  $0.9 \pm 0.009$ ).

A probabilidade de infecção por *P. t. tropiduri* não variou com relação à presença/ausência e/ou intensidade das outras infecções detectadas. No caso das infecções patentes, cada uma ocorreu independente da outra. O modelo com *P.t.v* como a variável dependente e a intensidade por microfilária como uma das variáveis explicativas, foram significativamente diferentes do modelo nulo (ANOVA, microfilária:  $p < 0.05$ ). Assim, criamos um modelo apenas com as variáveis relacionadas às outras infecções explicando a probabilidade de infecção por *P.t.v*. Dessa forma, evidenciou-se uma relação positiva entre a presença da infecção *P.t.v* e a intensidade de microfilária (coeficiente estimado, microfilária:  $0.6 \pm 0.1$ ). Observou-se que os indivíduos com maiores cargas de microfilária foram aqueles infectados por *P.t.v* (Figura 2).



**Figura 2.** Efeito do número de microfilária (*Onchocercidae* sp.) sobre a presença/ausência (1/0) da infecção *P.t.v* em *T. torquatus*. microfilária (coeficiente estimado, microfilária:  $0.6 \pm 0.1$ ).

A intensidade de *P.t.b* (infecção em trombócitos) foi muito baixa (Tabela 2), de 1 até 5 parasitos por 15.000 hemácias analisadas, não permitindo observar variação com relação as variáveis explicativas. A intensidade de *P.t.v* foi de 1 até 370 hemácias infectadas em 15.000 avaliadas, sendo a maior intensidade verificada na localidade de Ouro Preto quando comparada à Belo Horizonte. Entretanto, a maioria das infecções detectadas apresentaram baixa intensidade (<10/15.000), sendo que apenas 11% das infecções detectadas apresentaram intensidades superiores a 30 células infectadas/15.000 hemácias, todas elas na população de Ouro Preto. Por tanto, a intensidade dependeu principalmente da localidade, mas também teve variação entre as temporadas, apresentando um padrão similar à prevalência, com valores mais altos na final da chuvosa e diminuindo nas seguintes temporadas (coeficiente estimado, localidade:  $3.6 \pm 0.3$ , final seca:  $-1.14 \pm 0.4$ , início chuvosa:  $-1.17 \pm 0.4$ , início seca:  $-1.89 \pm 0.5$ ). A intensidade de *P.t.v* não dependeu da presença/ausência nem da intensidade dos outros tipos de parasitos.

## Consequências da Infecção

A condição corporal de *T. torquatus* não variou em função da presença ou ausência de infecção malárica. Igualmente, o número de parasitos dos dois tipos de infecção de *P. t. tropiduri* não tiveram efeito sobre a condição corporal. Também não houve evidência de efeito concomitante (interação entre as co-variáveis) no caso das infecções múltiplas com o ectoparasito *Eutrombicula sp.* Nem com microfilária Onchocercidae sp. Porém, a condição corporal variou com relação à infecção por *Eutrombicula sp.* (coeficientes estimados *Eutrombicula*:  $5 \pm 1.4$ ).

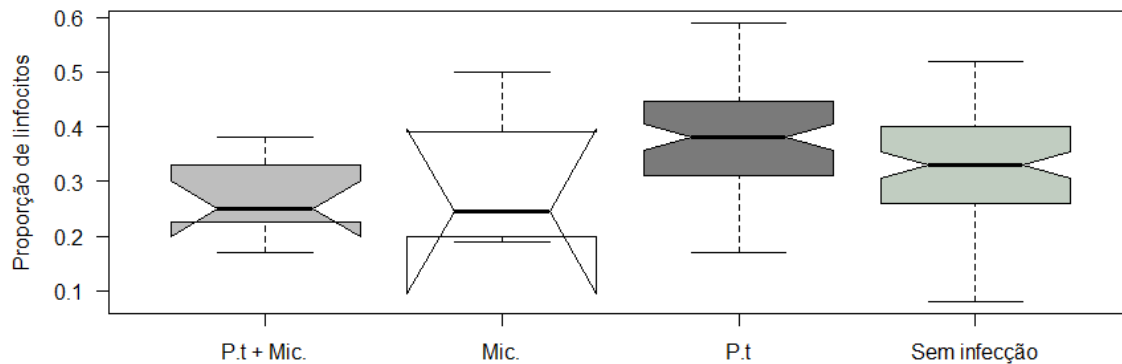
Não foi evidente o aumento no risco de predação nos lagartos infectados por *P. t. tropiduri* a partir da avaliação do estado da cauda. A proporção dos diferentes estados de cauda foi similar em indivíduos não infectados e infectados. Verificou-se também proporção similar entre o estado de cauda e o sexo.

O modelo testado para avaliar a variação na relação entre heterófilos e linfócitos, taxa H:L, não mostrou que H:L fosse influenciada pela presença de *P. t. tropiduri* nem pela intensidade dos dois tipos de infecção, assim como também não houve variação entre localidades e sexos. Porém, a taxa H:L foi influenciada positivamente pela presença da microfilária Onchocercidae sp. (coeficiente estimado microfilária:  $0.5 \pm 0.1$ ) e negativamente pela presença de *Eutrombicula sp.* (coeficiente estimado *Eutrombicula sp.*  $-0.4 \pm 0.1$ ).

Ao avaliar cada tipo de leucócito separadamente, encontramos que os heterófilos não apresentaram diferenças com relação à presença *P. t. tropiduri* nem com relação a intensidade dos dois tipos de infecção. A variação nas proporções de heterofilos também teve relação á presença de *Eutrombicula sp.* (coeficiente estimado *Eutrombicula sp*  $0.4 \pm 0.1$ ).

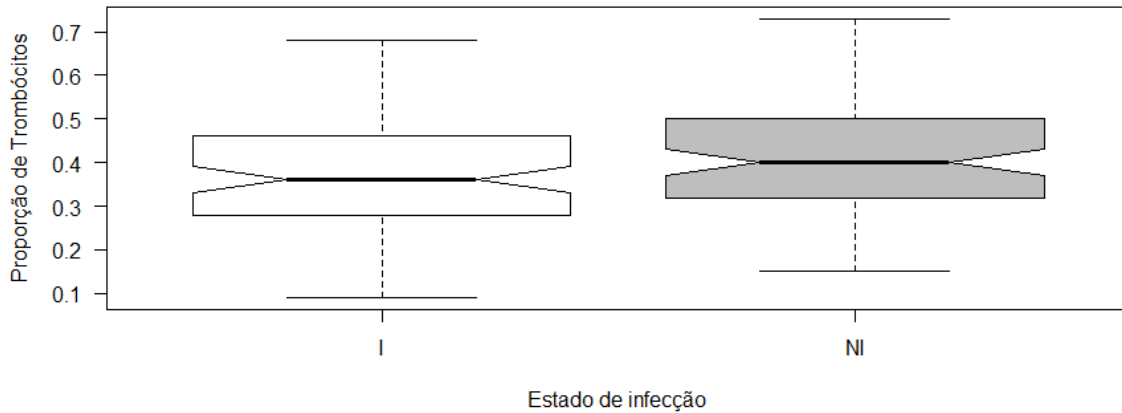
Por outro lado, a proporção de linfócitos foi influenciada positivamente pela presença de *P. t. tropiduri* (coeficiente estimado *P.t. tropiduri*:  $0.8 \pm 0.06$ ) e

negativamente pela presença de Microfilária (coeficiente estimado Onchocercidae sp.:  $-0.6 \pm 0.1$ ). Observamos um aumento na proporção de linfócitos com relação à presença de *P.t. tropiduri*. Porém, quando houve co-infecção com microfilária, os níveis foram significativamente mais baixos quando comparados com os níveis sem infecção. A infecção apenas por microfilária também esteve associada a redução na proporção de linfócitos (Figura 3).



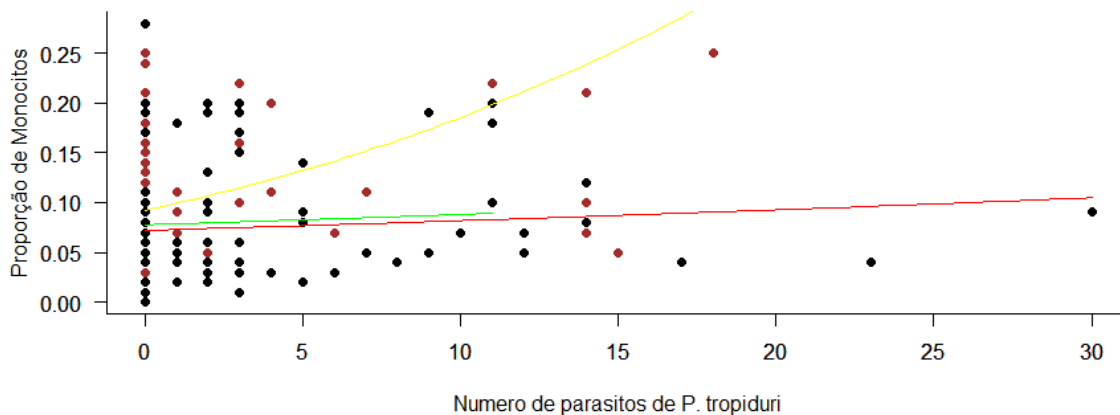
**Figura 3.** Proporção de linfócitos em sangue de *T. torquatus* em relação as infecções por *P. t. tropiduri* (P.t), microfilária (Mic.), infectados pelos duos parasitos (P.t. + Mic.) e sem infecção (coeficiente estimado *P.t. tropiduri*:  $0.8 \pm 0.06$ , coeficiente estimado Onchocercidae sp.:  $-0.6 \pm 0.1$ ). Os animais com a infecção malárica apresentaram um aumento significativo nas proporções de linfócitos.

A proporção de trombócitos não variou entre os sexos, localidade ou tipo de infecção. O modelo testado mostrou que a presença de infecção malárica influencia essas proporções negativamente, assim, os animais infectados com *P.t. tropiduri* tiveram menor proporção de trombócitos (coeficiente estimado *P.t. tropiduri*:  $-0.2 \pm 0.006$ ).



**Figura 4.** Variação na proporção de trombócitos no sangue de *T. torquatus* com relação ao estado de infecção por *P.t.tropiduri* nas duas populações. Os animais infectados apresentaram uma menor proporção de trombócitos (coeficiente estimado *P.t. tropiduri*:  $-0.2 \pm 0.006$ ).

O modelo criado para avaliar a variação na proporção dos monócitos com relação as variáveis explicativas, mostrou que o número de parasitos de *P.t.v* e *P.t.b* influenciam positivamente essa proporção (coeficientes estimados *P.t.v.*:  $0.1 \pm 0.06$ . *P.t.b.*:  $0.1 \pm 0.03$ ). O sexo foi uma co-variável significativa (coeficiente estimado Sexo Jovens:  $0.3 \pm 0.01$ ), sendo este efeito significativamente mais marcado nos jovens comparados com os adultos (Figura 5).

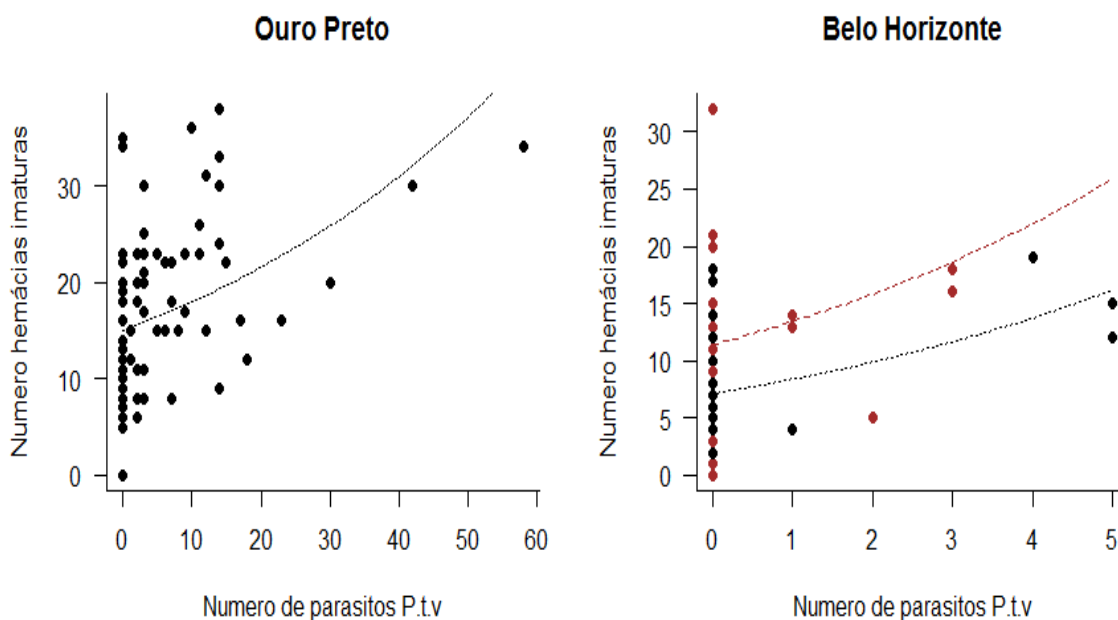


**Figura 5.** Efeito da intensidade dos dois tipos de infecção de *P. t. tropiduri* na proporção de monócitos em sangue de *T. torquatus*. A linha vermelha corresponde a *P.t.v*. Linha verde corresponde a *P.t.b* e a linha amarela à resposta na proporção de monócitos em *T. torquatus* jovens. Pontos pretos representam *T. torquatus* adultos, pontos marrons representam jovens. (coeficientes estimados *P.t.v.*:  $0.1 \pm 0.06$ . *P.t.b.*:  $0.1 \pm 0.03$ . Sexo Jovens:  $0.3 \pm 0.01$ )



O total de leucócitos não variou com relação à infecção por *P. t. tropiduri*, assim como não teve relação com a presença de nenhum outro parasito. Da mesma forma, também não se evidenciou efeito relacionado com o número desses parasitos.

A variabilidade na quantidade de hemácias imaturas em relação ao estado de infecção, foi explicada por um modelo com a intensidade de *P.t.v* como variável explicativa nas duas localidades (coeficiente estimado P.v.:  $0.5\pm 0.1$ ). Além disso, foi estatisticamente significativa a co-variável sexo na localidade de Belo Horizonte, já que os jovens tiveram uma resposta significativamente mais alta (coeficiente estimado Jovem:  $0.4\pm 0.1$ . Figura 6).



**Figura 6.** Efeito da intensidade da infecção em hemácias *P.t.v* em relação ao número de hemácias imaturas nas duas localidades estudadas (coeficiente estimado P.v.:  $0.5\pm 0.1$ ). Na população de Belo Horizonte, o efeito foi maior nos jovens (pontos e linha marrons) comparado com os adultos (pontos e linha preta) (coeficiente estimado Jovem:  $0.4\pm 0.1$ ). Pontos pretos na Figura a direita correspondem a todos os indivíduos.

Os valores e especificações dos modelos mínimos adequados, estatisticamente diferentes do modelo nulo, estão disponíveis na tabela 3.

**Tabela 3.** Contém os modelos mínimos adequados para os modelos que foram significativamente diferentes dos modelos nulos ( $p < 0.05$ ), em itálico se apresenta a variável a avaliar nos modelos seguintes, os modelos se apresentam como variável dependente~variavel explicativa+co- variável explicativa. Cada modelo tem a distribuição dos erros mais adequada, seguido do coeficiente estimado do modelo para cada variável explicativa e o erro padrão do coeficiente. Também se apresenta o valor do estatístico do modelo (z,t) com o valor p correspondente, valores significativamente diferentes de 0 foram considerados com um valor p menor a 0.05. P/A= presença ou ausência.

<b>Modelo mínimo adequado</b>	<b>Dist. Erros</b>	<b>Coef. Estimado</b>	<b>Erro-padrão</b>	<b>estatístico</b>	<b>Valor p</b>
<b>Probabilidade de infecção</b>					
<b>P/A de P.t. tropiduri ~ Localidade+Idade+Temporada</b>	binomial				
Localidade (OP)		2.37	0.413	5.746	<0.00001
Idade		0.99	0.009	2.166	0.0303
Temporada (Inicio_Chuvosa)		-2.49	0.604	-4.131	0.0000362
<b>P/A de P.t.v ~ Localidade+Temporada</b>	binomial				
Localidade (OP)		2.43	0.411	5.906	0.0000035
Temporada (Inicio_Chuvosa)		-1.92	0.553	-3.477	0.000507
<b>P/A de P.t.b ~ Localidade</b>	binomial				
Localidade (OP)		2.93	1.052	2.788	0.00586
<b>Probabilidade de infecção vs. Co-infecções</b>					
<b>P/A de P.t.v ~ intensidade Microfilária</b>	binomial				
Microfilaria		0.624	0.119	1.952	0.04
<b>Intensidade da infecção por P.t.v</b>					
<b>Número de P.t.v~Localidade+Temporada</b>	Bin. Negativa				
Temporada (Inicio_Chuvosa)		-1.733	0.483	-3.586	0.000335
Localidade (OP)		3.612	0.379	9.533	<0.0001
<b>Consequências da infecção</b>					
<b>taxa H:L ~P/A Microfilária+P/A ectoparasito</b>	quasibinomial				
Sem infecção por Microfilária		-0.584	0.247	-2.356	0.01958
Sem infecção por Ectoparasitos		0.430	0.158	2.723	0.00712
<b>Proporção Trombócitos~P/A P. t. tropiduri</b>	quasibinomial				
Sem infecção por P. t. tropiduri		0.197	0.07	2.504	0.0132
<b>Proporção Monócitos~Número de P.t.v+Número de P.t.b.+Sexo</b>	quasibinomial				
Resposta em T. torquatus Jovens		0.313	0.115	2.72	0.00718
Número de P.t.b		0.080	0.03	2.202	0.02899
Número de P.t.v		0.014	0.006	2.256	0.02533
<b>Proporção Heterófilos~Ectoparasitos</b>	quasibinomial				
Sem infecção por Ectoparasitos		0.243	0.105	2.3	0.0226
<b>Proporção Linfócitos~P/A P.t. tropiduri+P/A Microfilária</b>	quasibinomial				
Sem infecção por P. t. tropiduri		-0.206	0.064	-3.192	0.00168
Sem infecção por Microfilária		0.409	0.122	3.339	0.00103
<b>Condição corporal~Ectoparasitos</b>	Gaussiana				
Sem infecção por Ectoparasitos		5.093	1.44	3.518	0.000574
<b>Número de Hemácias imaturas~Numero de P.t.v+Sexo</b>	Poisson				
Número de P.t.v		0.514	0.2	-2.574	0.0117
Sexo(BH)		0.468	0.17	2.65	0.00957

## DISCUSSÃO

A infecção por *P. t. tropiduri* nas duas populações de lagartos exibiu um padrão com alta variabilidade na prevalência e intensidade. Além disso, evidenciamos variação desses parâmetros no nível intrapopulacional (jovens≠adultos) e constatamos que a variação nesses parâmetros não depende diretamente da sazonalidade e variáveis climáticas. Já que fatores como co-ocorrências de outros parasitos podem alterar essas dinâmicas. Por outro lado, não foi possível determinar que a infecção por *P. t. tropiduri* fosse altamente virulenta, mas observamos alterações hematológicas que podem indicar resposta imune desses hospedeiros à infecção.

### Padrão da infecção

O padrão da infecção por *P. t. tropiduri* em *T. torquatus* mostrou variação em quanto a prevalência e a intensidade, esses parâmetros foram dependentes principalmente de variáveis como localidade e temporada. Variação na prevalência e intensidade de *P. t. tropiduri* entre as populações é evidente também ao comparar os dados obtidos para os sistemas de *P. t. tropiduri* em diferentes trabalhos já publicados (Cairini 1941, Cordeiro 1975, Pessoa & Lopes 1963, Telford 2008). Em quanto às variações entre as temporadas, não encontramos um padrão similar ao observado para o mesmo sistema por Cordeiro (1975) em duas localidades próximas de Belo Horizonte. Esse trabalho identificou um aumento nas taxas de infecção em períodos cujos índices de precipitação e temperatura encontraram-se elevados, nosso estudo não evidenciou associação entre a temperatura e a precipitação com a prevalência ou intensidade, mas observamos variações entre as temporadas, independentes do clima. Os máximos valores de prevalência e intensidade foram registrados apenas ao final da chuvosa, diminuindo nas outras temporadas. Pode-se sugerir que essa variabilidade no padrão de infecção entre as localidades e nas temporadas corresponde a que diferentes processos biológicos sustentam a variação nesses traços, por exemplo a abundância e variação sazonal de vetores, taxa de

transmissão, virulência diferencial em linhagens dos parasitos ou resistência dos hospedeiros aos parasitos (Wood *et al.* 2007, Knowles *et al.* 2011, Grannath 2015). De fato, diferenças entre as taxas de infecções sub-patentes como as observadas neste estudo, tem-se associado a uma estratégia de história de vida do parasito em resposta a diferentes taxas de transmissão (Perkins *et al.* 1998, Vardo & Schall 2005). Isso pode explicar a baixa intensidade encontrada na população de Belo Horizonte. Por outro lado, a menor taxa de infecções sub-patentes em Ouro Preto, junto as altas prevalências durante todo o ano, indicam uma taxa de transmissão mais alta e estável em comparação com Belo Horizonte.

O padrão de infecção variou dentro das populações, já que a probabilidade de infecção foi também explicada pela idade inferida a partir do tamanho dos hospedeiros (SVL), ainda quando tem sido reportado que *P. t. tropiduri* apresenta prevalências mais elevadas nos machos do que nas fêmeas (Cordeiro 1975), o que não é raro nas infecções maláricas em répteis (Schall 1996, Schall 2002). No presente trabalho não foi observada uma susceptibilidade diferencial entre os sexos, mas evidenciou-se que o estado de infecção pode definir-se melhor em função do tamanho do que pelo sexo, já que o risco de infecção malárica aumenta nos indivíduos maiores. Isso denota uma exposição diferenciada, o que pode ser um reflexo de que os indivíduos mais velhos têm mais tempo de exposição a infecções comparados com os mais jovens e de que a infecção malárica em répteis é raramente eliminada do organismo (Rand *et al.* 1983, Schall 2002). Outros sistemas *Plasmodium*-réptil apresentam um marcado declínio nas prevalências dos animais maiores, aquele padrão é associado à possível mortalidade nos lagartos mais velhos (Schall 1996, Schall 2002), esse padrão não foi observado para o sistema *P. t. tropiduri* - *T. torquatus*.

Em quanto a intensidade de P.t.v, apenas variou em relação às duas populações, a intensidade não foi dependente da idade nem do sexo. Assim, os casos de indivíduos com maior número de parasitos, podem se dever a fatores individuais dos hospedeiros e dos parasitos, como imunossupressão ou resposta

imune insuficiente do hospedeiro, ou genótipos virulentos do parasito (Ayala 1976, Schall 2002).

As diferentes combinações de co-ocorrências dos três tipos de parasito não tiveram mais influência na probabilidade de infecção malárica (*P. t. tropiduri*, P.t.v e P.t.b) do que a localidade, temporada e idade. Porém, ao avaliar a influência das co-ocorrências sobre a probabilidade de infecção por P.t.v, houve uma relação positiva entre a infecção malárica e a intensidade de infecção de Onchocercidae sp., o que foi particularmente intrigante dado que a presença de microfilária em répteis geralmente é considerada como pouco patogênica, de influência neutra ou inclusive benéfica (Mader 2006, Jacobson 2007). Pode-se indicar um possível efeito facilitador que favorece a infecção por *P. t. tropiduri* quando um indivíduo porta altas cargas de microfilária. Merece atenção o fato de que a presença de P.t.v e não a presença de *P. t. tropiduri* em geral (incluindo infecções não detectadas por microscopia) seja a variável relacionada com a intensidade de microfilária, ou seja, o número de microfilária de Onchocercidae esteve associada positivamente com a presença da infecção patente. Por tanto, está associada a infecções que apresentam atividade reprodutiva. Isso sugere que a infecção por microfilária pode suprimir os mecanismos imunes que limitam a infecção malárica ao estado sub-patente. Essas observações merecem estudos experimentais a fim de confirmar a influência de uma infecção sobre a outra.

Os dois tipos de infecção de *P. t. tropiduri* apresentaram traços diferenciados na prevalência e intensidade. Esses traços são marcadamente baixos em P.t.b confirmando uma limitação no recurso disponível para esse tipo de infecção, já que o número de células brancas é muito menor comparado ao recurso disponível para P.t.v, as hemácias (Schall 2002). *P. t. tropiduri* em trombócitos já foi reportado como pouco comum comparado à infecção em hemácias (Pessoa & Lopes 1963, Scorza 1971a, Telford 2008). Outras espécies de *Plasmodium* tem sido reportadas infectando leucócitos, como *P. mexicanum* e *P. azurophilum* (Ayala 1970, Ayala & Hertz 1981, Perkins 2000). *P. mexicanum*

normalmente infecta hemácias e em infecções muito agudas foi observado em leucócitos (Ayala 1970, Jordan 1970), sendo os dois tipos de infecção em *P. mexicanum* morfologicamente idênticos. Por outro lado, as infecções em leucócitos por *P. azurophilum* foram constatadas como uma espécie monofilética diferente à espécie encontrada em hemácias (Perkins 2000). Telford, (2008) constatou diferenças morfológicas entre as duas espécies e nomeou a espécie que infecta leucócitos como *P. leucoyitica*. No caso de *P. tropiduri*, Scorza (1971c) evidenciou que a morfologia dos parasitos que infectam leucócitos é idêntica quando comparada aos parasitos encontrados em hemácias. Entretanto, observamos que a presença de *P.t.b* é independente da presença e intensidade de *P.t.v*, situação diferente daquela observada para *P. mexicanum*. Inclusive observamos a presença dos dois tipos de infecção com baixas parasitemias como também hospedeiros infectados apenas com *P.t.b*. A independência entre as duas infecções não descarta que *P. t. tropiduri* possa ser composto por duas linhagens geneticamente diferentes, porém, na atualidade não há estudos moleculares que possam solucionar este dilema (Telford 2008) e essa questão será pesquisada em nossos futuros trabalhos.

Em síntese, a variação na prevalência e intensidade de *P. t. tropiduri* em *T. torquatus* dependeu da localidade, como também das temporadas do ano, com independência das variáveis climáticas, isso sugere que esses parâmetros dependem de diversas variáveis intrínsecas de cada localidade como a cobertura e o substrato, paisagem e microclima, ou de variáveis bióticas, relacionadas com a ecologia da transmissão (exposição aos parasitos, êxito de transmissão, abundância de vetores). Dentro das populações, a probabilidade de infecção foi explicada pela idade dos hospedeiros, por enquanto a intensidade não teve relação com a idade e possivelmente esteja relacionada com características próprias dos indivíduos (variações na resposta imune, nos genótipos, estresse ou imunossupressão, resistência inata, etc).

As co-ocorrências entre diferentes tipos de parasitos podem ser um fator importante que pode influenciar a prevalência e intensidade das infecções maláricas, no caso do presente trabalho, foi a interação positiva entre a probabilidade de infecção por *P.t.v* e a intensidade da infecção por microfilária (*Onchocercidae* sp.). As dinâmicas de essas co-ocorrências são pouco estudadas e seu entendimento requer estudos experimentais focados nessas interações.

### **Consequências da infecção**

Avaliamos dois importantes parâmetros que poderiam ter dado evidências de altos custos da infecção no sistema estudado: a diminuição da condição corporal e o aumento de risco de predação. Dunlap & Mathies (1993) encontraram evidencia de que a malária está associada à diminuição na condição corporal em *Seloporus occidentalis* quando infectado simultaneamente por *P. mexicanum* e o ectoparasito *Ixodes pacificus*. Não obstante, no nosso sistema de estudo não foi evidente uma diminuição na condição corporal de *T. torquatus* com relação à presença ou intensidade de infecção por *P. t. tropiduri*, como também não foi evidente um efeito concomitante das infecções por microfilária ou ectoparasitos. A malária em lagartos não necessariamente está relacionada com a diminuição na condição corporal dos hospedeiros. Igual ao observado no presente estudo, espécies como *P. floridense*, *P. azurophilum*, *P. tropiduri panamense* e *P. bali* não tem efeito sobre a condição corporal de seus hospedeiros (Rand *et al.*1983, Schall 1996, Schall & Pearson 2000, Schall 2002).

Da mesma maneira, a tendência reportada para lagartos *Anolis gundlachi* e *A. gingivinus* infectados com *Plasmodium spp.* na América Central, onde animais infectados têm uma taxa mais alta de injúrias na cauda (Schall 2002), não foi observada neste estudo, indicando que o risco de predação não foi maior em indivíduos infectados com *P. t. tropiduri*.

Por outro lado, nossos resultados indicaram consequências hematológicas em *T. torquatus* associadas à infecção malárica. Entre elas, o aumento na



proporção de linfócitos, o que já foi observado como uma das consequências relacionadas à infecção por *P. mexicanum* por Mcfarland *et al.* (2012), constatando que esse processo está relacionado à cronicidade das infecções. Porém, essa resposta não foi evidente nos casos de co-infecção com microfilária. Ainda nos casos de co-infecção com *P. t. tropiduri*, a infecção por microfilária esteve associada a proporções de linfócitos baixas quando comparadas com as proporções em animais sem infecção. Isso pode ser explicado porque a infecção por microfilária esteve associada apenas a infecções patententes (P.t.v) que foram detectadas na análise microscópica e não necessariamente estão na etapa crônica.

Dado o aumento na proporção de linfócitos com relação a infecção por *P. t. tropiduri*, e que não observamos aumento na proporção de heterofilos, não foi possível detectar o aumento na taxa H:L. Por outro lado, a infecção por microfilária esteve relacionada com um aumento na taxa H:L. Os parasitos filariais podem diminuir a capacidade do hospedeiro para produzir células imunes (Chatterjee *et al.* 2015, Clark *et al.* 2016) e por tanto, podem aumentar H:L. Assim, a infecção por microfilária pode alterar e deprimir as rotas imunológicas em aves (Clark *et al.* 2016), e se uma resposta similar ocorre em répteis, isso poderia explicar a relação positiva com o P.t.v. Por tanto, é preciso considerar melhor o papel da infecção por microfilária em répteis, já que as dinâmicas de co-ocorrência são ainda desconhecidas e existe evidencia de que as associações não necessariamente são positivas para todas as espécies de hemosporídeos, e que podem ser diferenciais inclusive com espécies do mesmo gênero (Clark *et al.* 2016).

A intensidade dos dois tipos de infecção de *P. t. tropiduri* teve como consequência o aumento na proporção dos monócitos no sangue dos lagartos, essa resposta é associada à resposta imune a infecções em répteis (Sykes & Klaphake 2008, Bonadiman *et al.* 2010, Campbell 2015). O fato dos lagartos mais jovens apresentarem uma resposta imunológica mais forte no número de monócitos com relação a intensidade de *P. t. tropiduri* pode ser explicado pelas

possíveis diferenças ontogênicas na resposta imune dos lagartos, sendo que em outros répteis já fora observado que os indivíduos maiores, por estarem expostos a uma maior quantidade de antígenos diferentes, podem apresentar maior experiência imunológica, o que permite-lhes reconhecer e eliciar a resposta imune humoral moderada quando comparados com os indivíduos jovens, que tem uma robusta resposta imune inata (Ujvari et al. 2005, Zimmerman *et al.* 2010, Zimmerman *et al.* 2016).

Detectamos um aumento no nível de hemácias imaturas em animais infectados coma intensidade de infecção por *P.t.v*, essa tendência é geral nas infecções maláricas em répteis (Schall 2002, Campbell 2015), está em parte relacionada à redução no nível de hemoglobina, causando anemia e, portanto, afeta atividades sustentadas aerobicamente, como a distância de corrida (Ayala 1970; Schall 1996, Mcfarland 2012, Schall 2002). É comum observar níveis mais altos de hemácias imaturas em indivíduos jovens (Campbell 2015), por esta razão, a relação hemácias imaturas-com a intensidade de infecção foi mais forte neste grupo de indivíduos em Belo Horizonte, a qual teve maior proporção de indivíduos jovens infectados. Essa patologia se relaciona também com a observação da redução na proporção de trombócitos nos animais infectados por *P.t. tropiduri*, dado que trombocitopenia também tem sido relacionada com anemia (Claver 2005). De fato, trabalhos experimentais têm demonstrado que *P. t. tropiduri* pode causar anemia severa em *T. torquatus* infectados artificialmente em laboratório (Scorza 1970b, Jacobson 2007). O aumento de hemácias imaturas, foi particularmente relacionado com as infecções patentes em hemácias *P.t.v*, já que esse tipo de infecção causa destruição de hemácias, enquanto *P.t.b* parasita trombócitos e, por tanto, não tem influência no número de hemácias imaturas.

Não foi detectado um aumento no número total de leucócitos. Essa resposta, da mesma forma que a redução em H:L, têm sido reportada como consequência da infecção e evidencia um processo inflamatório em resposta a uma patologia que envolucra um alto estresse nos hospedeiros (Schall 2002, Davis

*et al.* 2008, McFarland *et al.* 2012, Campell 2015). Ainda assim, as alterações hematológicas evidenciadas aqui, podem refletir respostas imunes para as infecções crônicas (aumento na proporção de linfócitos) como para as infecções ativas (aumento na proporção de monócitos, no número de hemácias imaturas e diminuição na proporção de trombócitos) e devem influenciar as dinâmicas das infecções parasitárias (Motz & Vardo 2014), como também podem representar um custo fisiológico ao hospedeiro.

Não encontramos evidências que sugiram que a infecção natural por *P. t. tropiduri* induza uma redução no fitness do hospedeiro *T. torquatus*. As infecções maláricas em lagartos não se caracterizam por uma alta virulência em termos de mortalidade ou efeitos patológicos notórios. Desta forma, a infecção por *Plasmodium* pode ter efeitos sub-clínicos que conseguem afetar a ecologia do hospedeiro. Por exemplo, *P. azurophilum* infectando *Anolis* tem sido indicado como uma espécie não virulenta (Schall 2002), mas sabe-se que este parasito pode mediar a competição interespecífica entre seus hospedeiros (Schall 1992). Em contraste, *P. mexicanum*, referida como a mais virulenta das espécies de *Plasmodium* infectando lagartos (Schall 2002), não parece apresentar uma alta mortalidade nos seus hospedeiros *S. occidentalis* em infecções naturais, mas pode provocar alta mortalidade em estudos de laboratório (Eisen & Schall 2000). *P. t. tropiduri*, da mesma forma que *P. mexicanum*, pode induzir anemia severa e aumentar a taxa de mortalidade de *T. torquatus* em laboratório (Scorza 1970b, Cordeiro 1975), sugerindo que a infecção pode tirar vantagem da imunossupressão do lagarto causada pelo stress do cativeiro e causar a sua morte.

Em conclusão, *P. t. tropiduri* não altera a condição corporal nem aumenta o risco de predação de *T. torquatus*, mas causa alterações na hematologia associadas à anemia e a resposta imune, o que pode significar um custo para o lagarto. A intensidade desse custo e a consequente redução no *fitness* causada pela infecção malárica requer mais estudos sobre os efeitos no comportamento,

reprodução, mortalidade na natureza e êxito de forrageio, assim como efeitos na fisiologia do lagarto como consumo de oxigênio e variações em testosterona, glicose e temperatura corporal, etc. Não observamos efeitos concomitantes entre os três tipos de infecção avaliados, aparentemente cada infecção gera consequências independentes no hospedeiro, por exemplo, os efeitos do parasitismo de *Eutrombicula sp.* Podem-se considerar independentes das outras infecções. Porém, observamos que algumas consequências de infecções não relacionadas podem facilitar indiretamente o desenvolvimento de outros tipos de infecção, como no caso da infecção por microfilária facilitando a infecção malárica.

## REFERÊNCIAS

Anderson, R. Chabaud, A. & S. Wollmott. 2009. Keys to the nematode parasites of vertebrates: Archival volume. CAB international. The Philippines. 500 p.

Aragão H. & A. Neiva. 1909. A contribution to the study of the intraglobular parasites of the lizards. Two new species of Plasmodium, *Pl. diploglossi* n. sp. and *Pl. tropiduri* n. sp. *Memorias do Institute Oswaldo cruz* 1: 44-50.

Arruda, J.L.S. 2008. Reptilia, Squamata, Tropiduridae, *Tropidurus torquatus*: Distribution extension. *Check List* 4(3): 269–271.

Ayala, S. 1970. Lizard Malaria in California; Description of a Strain of *Plasmodium mexicanum*, and Biogeography of Lizard Malaria in Western North America. Vol. 56(3): 417-425

Ayala S. & L. Spain. 1976. A population of *Plasmodium colombiense* SP. N. in the iguanid lizard, *Anolis auratus*. *The journal of parasitology*. V. 62(2): 177-189.

Ayala, S. & Hertz, P. 1981. Malaria infection in anolis lizards on Martinique, Lesser Antilles. *Rev.INst.Med.Trop.* 23(1):12-17.

Bensch, S. & S. Åkesson. 2003. Temporal and spatial variation of hematozoans in Scandinavian Willow Warblers. *Journal of Parasitology* 89:388–391.

Bonadiman, S. F., F. J. B. Miranda, M. L. S. Riberio, G. Rabelo, R. Lainson, E. O. Silva, & R. A. Damatta. 2010. Hematological parameters of *Ameiva ameiva* (Reptilia: Teiidae) naturally infected with hemogregarine: Confirmation of monocytosis. *Veterinary Parasitology* 171: 146–150.

Bouma M., Smallridge, C. Bull, M. & J. Komdeur. 2007. Susceptibility to infection by a haemogregarine parasite and the impact of infection in the Australian sleepy lizard *Tiliqua rugose*. *Parasitol Res.* 100:949–954.

Brenan, M. & J. Reed. 1974. The Genus *Eutrombicula* in Venezuela (Acarina: Trombiculidae). *The Journal of Parasitology*, Vol. 60(4). pp. 699-711.

Bromwich, C. R., & J. J. Schall. 1986. Infection dynamics of *Plasmodium mexicanum*, a malarial parasite of lizards. *Ecology* 67: 1227–1235.

Chatterjee, S., Clark, C.E., Lugli, E., Roederer, M. & Nutman, T.B. 2015. Filarial infection modulates the immune response to mycobacterium tuberculosis through expansion of CD4+ IL-4 memory T cells. *The Journal of Immunology*, 194, 2706–2714.

Chavatte, JM, Chiron, F., Chabaud, A. & I. Landau. 2007. Probable speciations by "host-vector 'fidelisation'": 14 species of *Plasmodium* from Magpies. *Parasite* 14(1):21-37.

Carini, A. 1941. Sobre um plasmodium endoglobular de um lagarto. *Arq. Biol. São Paulo* 25: 46–47.

Campbell, T. 2015. *Exotic animal hematology and cytology*. Colorado State University. Usa. 402p.

Cordeiro, Nelson. 1975. *Biologia do Plasmodium Tropicuri Aragao & Neiva, 1909 em Tropicurus torquatus (Wied, 1820) e observações sobre sua transmissão*. Tese de Mestrado em Parasitologia. ICB. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

Clark, N., Wells, K. Dimitrov, D. & S. Clegg. 2016. Co-infections and environmental conditions drive the distributions of blood parasites in wild birds. *Journal of Animal Ecology* 2016.

Claver, J.A. 2005. El trombocito aviar. *InVet.* 7(1): 139-146

Davis, A.K., Maney, D.L. & C. Maerz. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology.* 22. P. 760–772.

Dunlap, K. & T. Mathies. 1993. Effects of Nymphal Ticks and Their Interaction with Malaria on the Physiology of Male Fence Lizards. *Copeia*, V.4. p. 1045-1048

Eisen, R. & J. Schall. 2000. Life history of a malaria parasite (*Plasmodium mexicanum*): independent traits and basis for variation. *Proc. R. Soc. Lond.* 267, 793-799 p.

Ewald, P. W. 1994. *Evolution of infectious disease.* Oxford University Press, New York, 298 p.

Fallon, S. M., R. E. Ricklefs, S. C. Latta, & E. Bermingham. 2004. Temporal stability of insular avian malarial parasite communities. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 271:493–500.

Gill, D. E., & B. A Mock. 1985. Ecological and evolutionary dynamics of parasites: the case of *Trypanosoma diemyctyli* in the redspotted newt *Notophthalmus viridescens*. In *Ecology and genetics of host-parasite interactions*, D. Rollinson and R. M. Anderson (eds.). Academic Press, New York, p. 157–183.

Granath, W.O. 2015. Habitat Alteration and Parasite Transmission: Is It a One-Way Street? *Comparative Parasitology*, 82(2):161-174.

Jacobson, E. 2007. Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text. CRC press. USA. 681p.

Jordan, H. B. 1970. The occurrence and development of *Plasmodium mexicanum* in the western fence lizard *Sceloporus occidentalis*. J. Protozool. 17:86-89.

Keymer, A.E. & Read, A.F., 1991. Behavioural ecology: the impact of parasitism. In: Bolis, L. (Ed.), Parasitism: Coexistence or Conflict? Oxford University Press, Oxford, pp. 37–61.

Knowles, S., Wood, M.J., Alves, R., Wilkin, S. & B. Sheldon. 2011. Molecular epidemiology of malaria prevalence and parasitaemia in a wild bird population. Molecular Ecology. 20:1062-1076

Kiefer, M.C., Da Costa, C., Sluys, M. & F. Duarte. 2006. *Treoidurus torquatus*. Prey. Herpetological review. 37(4). 475.

Krasnov, B.R., Stanko, M., Miklisova, D., Morand, S. 2006. Host specificity, parasite community size and the relation between abundance and its variance. Evol. Ecol. 20, 75–91.

Lainson, R. & J. J. Shaw. 1969. New host records for *Plasmodium diploglossi*, *P. tropiduri* Aragão and Neiva 1909, and *P. cnemidophori* Carini, 1941. Parasitology 59:163–170.

Lainson, R., I. Landau, & I. Paperna. 2001. *Plasmodium kentropyxi* n. sp. (Apicomplexa: Haemosporina: Plasmodiidae) and a *Plasmodium tropiduri*-like parasite in the lizard *Kentropyx calcarata* (Lacertilia: Teiidae) in north Brazil. Parasite 8: 107–113.



Mader, D.R. Reptile medicine and surgery. 2006. Elsevier. 804 p.

Maia, J., Harris, D.J., Carranza, S. & E. Gómez-Díaz. 2014. A Comparison of Multiple Methods for Estimating Parasitemia of Hemogregarine Hemoparasites (Apicomplexa: Adeleorina) and Its Application for Studying Infection in Natural Populations.

Majláthová, M., Majláth, I., Haklová, B., Hromada, M., Ekner, A., Antczak, M. & P. Tryjanowski. 2010. Blood parasites in two co-existing species of lizards (*Zootoca vivipara* and *Lacerta agilis*). *Parasitol. Res.* 107:1121–1127.

Massey, J. G., T. K. Graczyk, & M. R. Cranfield. 1996. Characteristics of naturally acquired *Plasmodium relictum capistranoae* infections in naive Hawaiian crows (*Corvus hawaiiensis*) in Hawaii. *Journal of Parasitology* 82: 182–185.

McFarland, C.A., Talent, L., Quinn, M., Bazar, A. Wilbanks, S., Nisanian, M., Cogal, R., Johnson, M. Perkins, E. & K. Gust. 2012. Multiple environmental stressors elicit complex interactive effects in the western fence lizard (*Sceloporus occidentalis*). *Ecotoxicology*. 21:2372–2390

Møller, A. P. 1997. Parasitism and the evolution of host life history. – In: Clayton, D. H. and Moore, J. (eds), *Host-parasite evolution*. – Oxford Univ. Press, pp. 105–127.

Motz, L. & Vardo. 2014. Leukocyte Profiles for Western Fence Lizards, *Sceloporus occidentalis*, Naturally Infected by the Malaria Parasite *Plasmodium mexicanum*. *Journal of Parasitology*. 100(5):592-597.

Numes, J. Elisei, T. & B. Sousa. 2012. Anti-predator behaviour in the Brazilian lizard *Tropidurus itambere* (Tropiduridae) on a rocky outcrop. *Herpetological Bulletin*. 120: 22-28.

Perkins, S. M. Osgood, & J. J. Schall. 1998. Use of PCR for detection of subpatent infections of lizard malaria: implications for epizootiology. *Molecular Ecology* 7: 1587–1590.

Perkins, S. 2000. Species concepts and malaria parasites: detecting a cryptic species of *Plasmodium*. *Proc. R. Soc. Lond. B267*: 2345-2350.

Perkins, S., Kerwin, A. & A. Rothschild. 2009. Patterns of infection of the lizard malaria parasite, *Plasmodium floridense*, in invasive brown anoles (*Anolis sagrei*) in Southwestern Florida. *Parasitol. Res.* 104:1191–1196.

Pessôa, S. B. & J. A. S. Lopes. 1963. Nota sôbre alguns hematozoários de lagartixas de Jacobina (Bahia, Brasil). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 5: 133–139.

Pinto A.C.S., Wiederhecker, H.C. & G.R. Colli. 2005 Sexual dimorphism in the Neotropical lizard, *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae). *Amphibia-Reptilia* 26: 127-137.

Poulin, R. 1998. *Evolutionary Ecology of Parasites: From Individuals to Communities*. London, Chapman & Hall.

Poulin, R., & S. Morand. 2000. The Diversity of Parasites. *The Quarterly Review of Biology*. 75: 277-293 p.

Poulin, R. 2006. Variation in infection parameters among populations within parasite species: Intrinsic properties versus local factors. *International Journal for Parasitology* 36: 877–885

Price, P.W. 1980. Evolutionary biology of parasites. Monographs in population biology. Princeton University Press, Princeton. 256p.

Rand, A.S., Guerrero, S. & R. Andrews. 1983. The ecological effects of malaria on populations of the lizard *Anolis limifrons* on Barro Colorado Island, Panama. In: Advances in Herpetology and evolutionary biology. Rhodin & Miyata. 455-471 pp- Cambridge, MA: Museum of comparative zoology.

Ribeiro, L. Sousa, B., & S. Gomides. 2009. Range structure, microhabitat use, and activity patterns of the saxicolous lizard *Tropidurus torquatus* (Tropiduridae) on a rock outcrop in Minas Gerais, Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural*. 82: 577-588.

Ricklefs, R. E., & K. S. Sheldon. 2007. Malaria prevalence and whiteblood- cell response to infection in a tropical and in a temperate thrush. *Auk* 124: 1254–1266.

Rocha & Silva, E. O. & D. DE C. Rodrigues. 1974. Encontro do Plasmodium (S) *tropiduri tropiduri* no estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saude Publica (São Paulo)* 8: 163-170.

Rocha, C., Cunha-Barros, M., Menezes, V. Fontes, A. Vrcibradic, D. & M. Van Sluys. 2008. Patterns of infestation by the trombiculid mite *Eutrombicula alfreddugesi* in four sympatric lizard species (genus *Tropidurus*) in northeastern Brazil. *Parasite*.15, 131-136.

Rodrigues MT.1987. Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao sul do Rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). *Arq Zool* 31: 105–230.

Sanguinetti CJ, Dias Neto E, & A. Simpson. 1994. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques* 17: 915–919.

Salked, D. & L. Schwarzkopf. 2005. Epizootiology of blood parasites in an Australian lizard: a mark-recapture study of a natural population. *International Journal for Parasitology* 35 (2005) 11–18.

Schall, JJ. 1982. Lizards infected with malaria: physiological and behavioral consequences. *Science*. 217(4564):1057-9.

Schall, JJ. 1992. Parasite-mediated competition in *Anolis* lizards. *Oecologia*. 92:58-64.

Schall, J.J., 1996. Malarial parasites of lizards: diversity and ecology. *Advances in Parasitology* 37: 255-333.

Schall 2002. Parasite virulence in: Lewis , M. Sukhdeo & J. Campbell (Eds.). 2002. *The Behavioral Ecology of Parasites*. CAB international. USA. 283 p.

Schall J. & A. B. Marghoob. 1995. Prevalence of a malarial parasite over time and space: *Plasmodium mexicanum* in its vertebrate host, the western fence lizard *Sceloporus occidentalis*. *Journal of Animal Ecology* 64: 177–185.

Schall, J.J. & A.R. Pearson. 2000. Body condition of a Puerto Rican anole, *Anolis gundlachi*: effect of a malaria parasite and weather variation. *J. Herpetol.* 34, 489–491.

Schall, J.J. & E.R. Pianka. 1980. Evolution of escape behavior diversity. *American Naturalist* 115, 551-556.

Schall J. & C. Staats. 2002. Virulence of Lizard Malaria: Three Species of Plasmodium Infecting Anolis sabanus, the Endemic Anole of Saba, Netherlands Antilles. *Copeia*, V.1, pp. 39–43.

Scopel, K., Fontes, C., Nunes, A.; Horta, M. & E. Braga. 2004. Low sensitivity of nested PCR using Plasmodium DNA extracted from stained thick blood smears: an epidemiological retrospective study among subjects with low parasitemias in a Brazilian Amazon endemic area. *Malaria Journal*. 3(8).

Scorza, J. V. 1971a. Electron microscope study of the blood stages of Plasmodium tropiduri, a lizard malaria parasite. *Parasitology* 63: 1–20.

Scorza, J. V. 1971b. Anaemia in lizard malaria infections. *Parassitologia* 13: 391–405.

Scorza, J.V. 1971c. Asexual and sexual stages of a malaria parasite in the thrombocytes of Tropidurus torquatus (Iguanidae) Infected with Plasmodium tropiduri. *J. Protozool.*18(3): 403-410.

Seabloom, E., Borer, E., Gross, K., Kendig, A., Lacroix, C. Mitchell, C., Mordecai, E. & A. Power. 2015. The community ecology of pathogens: coinfection, coexistence and community composition. *Ecology Letters*, 2015,1-15.

Sol, D., Roger, J. & J. Torres. 2000. Geographical variation in blood parasites in feral pigeons: the role of vectors. *Ecography* 23: 307–314.

Staats C.M. & JJ Schall. 1996. Distribution and abundance of two malarial parasites of the endemic Anolis lizard of Saba Island, Netherlands Antilles. *J. Parasitol.* 82:409–413.

Telford, S.R. 1972. The course of infection of Japanese saurian malaria (*Plasmodium sasai*, Telfors & Ball) in natural and experimental host. *Japanese Journal of Experimental Medicine*. 42, 1-21.

Telford, S. R. 1973. Saurian malarial parasites from Guyana: their effect on the validity of the family Garnidae and the genus *Garnia*, with descriptions of two new species. *Int J Parasitol* 3: 829-842.

Telford, S. R., Jr. 1974. The malarial parasites of *Anolis* species (Sauria: Iguanidae) in Panama. *Int. J. Parasitol.* 4: 91–102.

Telford, S. R., Jr. 1978. The saurian malarias of Venezuela: haemosporidian parasites of gekkonid lizards. *Int. J. Parasitol.* 8: 341–353.

Telford, S. R., Jr. 1979. A taxonomic revision of small Neotropical saurian malarias allied to *Plasmodium minasense*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 54: 409–422.

Telford, S. 2008. *Hemoparasites of the Reptilia. Color atlas and text.* CRC Press is an imprint of the Taylor & Francis Group, an in forma business.

Teller, S., Lambim, X., Birtles, R., Beldomenico, P., Burthe, S., Paterson, S. & M. Begon. 2010. Species Interactions in a Parasite Community Drive Infection Risk in a Wildlife Population. *Science*. Vol. 330

Ujvati, B. & T. Madsen. 2005. Age, parasites, and condition affect humoral immune response in tropical pythons. *Behavioral Ecology* 16: 20-26.

Vardo, A., Wargo, A. & J.J. Schall. 2005. PCR Detection of Lizard Malaria Parasites: Prevalence of *Plasmodium* Infections with Low-Level Parasitemia Differs by Site and Season. *J. Parasitol.*, 91(6): 1509–1511.

Wied-Neuwied, M. Prinz zu 1820. Reise nach Brasilien in den Jahren 1815 bis 1817. Vol. 1. Heinrich Ludwig Bronner, Frankfurt.

Wood, M., Cosgrove, T., Wilkin, T., Knowles, S., Day, K. & B. Sheldon. 2007. Within-population variation in prevalence and lineage distribution of avian malaria in blue tits, *Cyanistes caeruleus*- *Molecular Ecology*. 16: 3263-3273.

Zimmerman, L. M., L. A. Vogel, & R. M. Bowden. 2010. Understanding the vertebrate immune system: Insights from the reptilian perspective. *Journal of Experimental Biology* 213: 661–671.

Zimmerman, L. 2016. The immune system in reptiles. In: Ratcliffe, M., Hein, W., Gordon, J., Guidos, C. & A. Rolink. 2016. *Encyclopedia of immunobiology*. Elsevier. United Kingdom. 494p.

## Material anexo

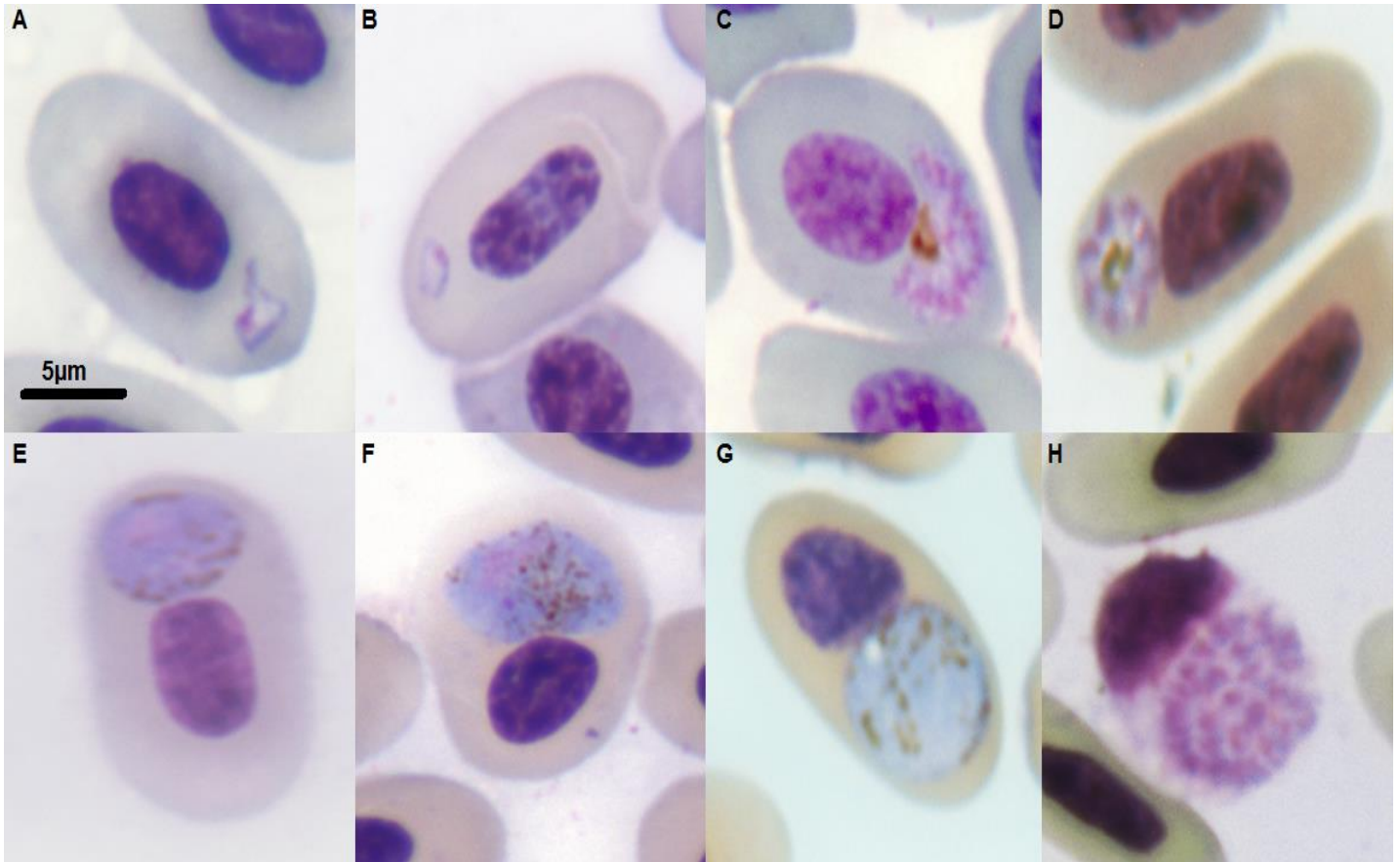
### Identificação morfológica de *Plasmodium t. tropiduri*

*P. t. tropiduri* foi identificado por apresentar geralmente posição polar na hemácia e raras vezes lateropolar, sem causar maior distorção no núcleo. Seus esquizontes possuem núcleos em forma de roseta ou leque, com o pigmento em posição central ou polar, respectivamente. O número médio de merozoítos foi de 9, sendo os merontes pequenos e usualmente de corpo alongado, com média de 6.84  $\mu\text{m}$  x 4.3  $\mu\text{m}$  (largura x comprimento). A relação do tamanho do meronte e o núcleo da hemácia hospedeira foi de 0.40  $\mu\text{m}$  a 1.6  $\mu\text{m}$ . Os gametócitos em geral foram ovoides e mediram em média 6.9  $\mu\text{m}$  x 4.8  $\mu\text{m}$ . Tamanho do gametócito relativo ao núcleo de hemácia infectada foi desde 0.06 a 1.6 e núcleo normal desde 0.7 a 1.6. Gametócitos não diferiram em forma ou dimensões entre o sexo ou fase da infecção, essas características coincidem com a descrição de *P. t. tropiduri* de acordo a Aragão & Neiva 1909, Telford 1974 e Telford 2008 (Tabela 1, Figura 1). As formas encontradas no interior dos trombócitos não tem pigmentação e os merontes apresentam em média 18 merozoítos, quando maduros mediram até 8  $\mu\text{m}$  x 5  $\mu\text{m}$  (largura x comprimento) e causaram deformação da célula hospedeira.

**Tabela 1.** Medidas de *P. t. tropiduri* (n=90). L= largura, C=Cumprimento, T.R. tamanho relativo ao núcleo de hemácia infectada e não infectada (média  $\pm$  desvio padrão,  $\mu\text{m}$ )

	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Cumprimento ( $\mu\text{m}$ )	Área (L x C, $\mu\text{m}^2$ )	L/C	T.R. Hemácia Infectada	T.R. Hemácia não infectada
Merontes	4.5-10	3.4-7	15-52	0.9-2.6	0.8 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.01
Macrogametócitos	5-9	3-6	18-46	1-2.3	0.88 $\pm$ 0.3	0.88 $\pm$ 0.3
Microgametócitos	5-10	3-7	24-47	0.8-1.7	1.1 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.4





**Figura 1.** *P. t. tropiduri* observados em *T. torquatus*. A e B, trofozoito, C e D, merontes em forma de leque e roseta, respectivamente. E e F, macrogametócitos, G, microgametócito, H meronte em trombócito.