METACERCÁRIAS DE DIPLOSTOMIDAE (DIGENEA:DIPLOSTOMOIDEA) EM *Geophagus sveni* (CICHLIFORMES: OSTEICHTHYES), PARANÁ, BRASIL

Aparecida de Fátima Cracco Rodrigues[1], Atsler Luana Lehun[2], Flávia Samara Ribeiro[3], Ricardo Massato Takemoto[4]

[1]Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá - UEM. cidacracco@hotmail.com
[2] Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Limnologia de Ambientes Aquáticos e Continentais, Universidade Estadual do Paraná - UEM. atslerluana@gmail.com
[3] Curso de Ciências Biológicas, Centro Universitário de Maringá-Paraná-Unicesumar Flaviasamara.ribeiro@hotmail.com
[5]Orientador, Doutor, Núcleo de Pesquisas de Limnologia, Ictiologia e Aquicultura - Nupélia. Universidade Estadual de Maringá-Paraná takemotorm@nupelia.uem.br

RESUMO

Os trematódeos digenéticos são endoparasitas conhecidos por possuir ciclo de vida complexo, necessitam de hospedeiros intermediários e definitivos. São encontrados parasitando uma grande variedades de peixes, entre eles os *Geophagus.* O objetivo deste trabalho foi identificar metacercárias encontradas em olhos e cérebros de *Geophagus sveni* Lucinda, Lucena e Assis, 2010 e realizar um estudo quantitativo das metacercárias encontradas nestes hospedeiros provindos do reservatório de Itaipu, Estado do Paraná, Brasil. Os Estudos foram realizados no Laboratório de Ictioparasitologia do Nupélia (Núcleo de Pesquisas de Limnologia, Ictiologia e Aquicultura) da UEM (Universidade Estadual de Maringá). Os peixes foram identificados segundo Lucinda et al., (2010), pesados, medidos e tiveram o sexo determinado. Os olhos e os cérebros foram retirados separadamente para coleta e quantificação de metacercárias. As metacercárias foram processadas, coradas e montadas de acordo com Eiras et al., (2006). O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para determinar se houve diferença significativa na abundância de metacercárias entre olho esquerdo e direito, e entre macho e fêmea. Um total de 362 metacercárias foram encontradas livres no humor vítreo em ambos os olhos dos peixes e na cavidade craniana foi encontrado apenas seis em seis *G. sveni*, as metacercárias foram identificadas como *Austrodiplostomum compactum* (Lutz, 1928) Dubois, 1970. Quando somados os olhos (esquerdo e direito) os hospedeiros machos apresentaram mais metacercárias que as fêmeas. No entanto não foi verificada diferença significativa entre o olho esquerdo e direito em ambos os sexos. O monitoramento desse parasita é importante para o conhecimento da relação com hospedeiros.

PALAVRAS-CHAVE: Ciclídeos, Parasita, Reservatório.

1 INTRODUÇÃO

Os trematódeos digenéticos são endoparasitas pertencentes ao filo Platyhelminthes, estima-se a existência de 15.000 a 25.000 espécies pertencentes a 2.500 gêneros e 150 famílias, possuem o corpo achatado, provido de ventosa oral e acetábulo na região mediana do corpo, geralmente são hermafroditas com os sistemas masculino e feminino se abrindo em uma cavidade denominada átrio genital. Porém algumas espécies podem apresentar sexos separados e acentuado dimorfismo sexual (TRAVASSOS et al.,1928; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008).

São conhecidos por possuir ciclo de vida complexo, devido a habilidade de transmissão por cadeia trófica. Na fase adulta, os parasitas vivem no intestino de aves piscívoras e peixes carnívoros, considerados hospedeiros definitivos, estes liberam ovos junto com as fezes, que em contato com a água, eclode uma larva ciliada, o miracídio. (TRAVASSOS et al.,1928; TAKEMOTO et al., 2009).

O miracídio penetra no corpo de hospedeiros intermediários que na maioria das vezes são moluscos, transformando-se em rédias e posteriormente em cercárias, nesta fase a larva abandona o hospedeiro e procuram um peixe suscetível para infectar e evoluírem para metacercárias, onde permanecem até que um hospedeiro definitivo se alimente do peixe (TRAVASSOS et al.,1928).

Os peixes infectados por metacercárias são de fácil identificação. Algumas espécies como o *Austrodiplostomum compactum* (Lutz, 1928) Dubois, 1970, ocorrem nos olhos de uma grande variedade de espécies de peixes (TAKEMOTO et al., 2009). Segundo Eiras (1994) e Affonso et al., (2017), a presença deste parasita nos olhos pode causar cegueira ou prejudicar a visão, tornando o peixe suscetível à predação facilitando a transmissão do parasita ao hospedeiro definitivo.

Machado et al., (2005) relatam que peixes introduzidos na região da planície do alto rio Paraná apresentaram maiores valores de prevalência em relação aos nativas. Provavelmente, esta espécie de metacercária foi introduzida juntamente com os hospedeiros e os peixes nativos adquiriram esses parasitas. Como no caso do *Geophagus sveni* Lucinda, Lucena, Assis, 2010, pertencente à família Cichlidae, nativo da bacia hidrográfica da Amazônia, apresenta a ocorrência na bacia hidrográfica do Alto rio Paraná (GRAÇA & PAVANELLI, 2007; OTA et al., 2018)

A maioria dos ciclídeos habita ambientes lênticos dentro de rios e córregos alimentando-se de uma variedade de invertebrados, peixes e plantas (LOWE-MCCONNELL, 1991). E destacam-se pelo investimento no cuidado à prole por um ou ambos os pais desde a desova à independência o que não é comum nos peixes de um modo geral (KEENLEY SIDE, 1991; KULLANDER, 2003). Esse comportamento pode facilitar o contato entre o peixe e o parasita, aumentando assim a possibilidade de infecção pelas cercárias (THATCHER, 1981; MACHADO et al.,2005).

Como exemplo de ambientes lênticos podemos destacar o reservatório de Itaipu criado em 1982, que devido a construção da barragem do rio, para construção da usina hidrelétrica, a dinâmica da água foi alterada, transformando águas lóticas em águas lênticas (AGOSTINHO; JÚLIO; BORGHETTI. 1992) Portanto estudos científicos são importantes para contribuir na elucidação de novas interações entre estes parasitos e seus hospedeiros, promovendo assim um melhor entendimento dos aspectos evolutivos, ecológicos, biogeográficos e patológicos (PINTO, 2013)

O objetivo deste trabalho foi identificar metacercárias encontradas em olhos e cérebros de *Geophagus sveni* Lucinda, Lucena e Assis, 2010 e realizar um estudo quantitativo das metacercárias encontradas nos hospedeiro provindos do reservatório da Itaipu, Estado do Paraná, Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

O reservatório da Itaipu apresenta 1350 quilômetros quadrados (780 no Brasil e 570 no Paraguai), é o segundo maior lago artificial do mundo, menor apenas que o Lago Nasser, no Rio Nilo (Egito) (DOS SANTOS, 2007) o ponto de coleta dos espécimes de hospedeiros, dentro do reservatório foi o Refúgio Biológico Bela Vista com as coordenadas geográficas (25° 26′ 57″ S, 54° 33′ 18″ W). No Estado do Paraná-Brasil.

Figura 1- Mapa de localização geográfica do reservatório da Itaipu.
Fonte: Lacerda et al (2013)

COLETA E TRIAGEM

Espécimes de *Geophagus sveni* foram coletados com auxílio de redes de espera de malhagens entrenós de 3, 4 e 5 cm. No momento da coleta foram selecionados 15 espécimes com os olhos parasitados com metacercárias, pois esse parasita é facilmente visualizado a olho nú. Posteriormente as espécimes foram sacrificadas por secção medular e acondicionados em recipientes plásticos contendo solução de formol a 10%.
Os Estudos prosseguiram no Laboratório de Ictioparasitologia do Nupélia (Núcleo de Pesquisas de Limnologia, Ictiologia e Aquicultura) da UEM (Universidade Estadual de Maringá). Os peixes foram identificados segundo Lucinda et al., (2010), pesados, medidos e tiveram o sexo determinado. Os olhos e os cérebros foram retirados separadamente para coleta e quantificação de metacercárias. As metacercárias foram processadas, coradas e montadas de acordo com Eiras et al., (2006).

ANÁLISE DE DADOS

O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para determinar se houve diferença significativa na abundância de metacercárias entre olho esquerdo e direito, e entre macho e fêmea. As análises foram realizadas no programa Statistica 7.1, e os resultados considerados significativos á nível de 95% ($p = < 0,05$) (Statsoft Inc, 2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 362 metacercárias foram encontradas livres no humor vítreo em ambos os olhos dos peixes e na cavidade craniana foi encontrado apenas seis em seis *G. sveni*, conforme as características observadas a espécie foi identificada como *Austrodiplostomum compactum* (Lutz, 1928) Dubois, 1970 (Figura 1 e 2).

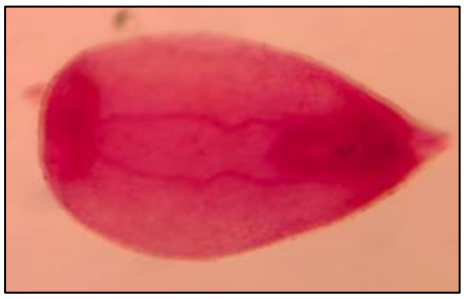

Figura 1. Fotomicrografia *de Austrodiplostomum compactum* encontrado em *Geophagus sveni* coletado no reservatório de Itaipu, Estado do Paraná, Brasil. objetiva de 40x.
Fonte: Autores

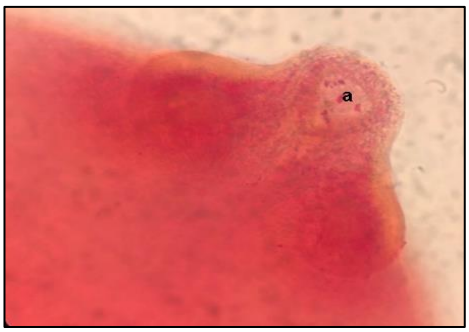

Figura 2. Fotomicrografia *de Austrodiplostomum compactum*, encontrado no olho e no cérebro de *Geophagus sveni* coletado no reservatório de Itaipu, Estado do Paraná, Brasil**. a** – Ventosa oral visualizada na objetiva de 100x.
Fonte: Autores

As metacercárias apresentaram corpo foliáceo, levemente côncavo na face ventral, uma pequena ventosa oral subterminal dois pseudo-ventosas laterais na região anterior; faringe oval; esôfago curto; ceco intestinal terminando perto da região posterior. Células glandulares ocupando a maior parte da região anterior, estendendo-se desde o início do ceco intestinal até a região anterior do órgão tribocítico e pequenas gônadas na região posterior (NOVAES et al., 2006; SANTOS et al., 2002).

A penetração e o acesso ao cérebro e aos olhos dos peixes por esse parasita se dá na fase de cercárias que penetram ativamente, através a pele do novo hospedeiro, por via sanguínea ou linfática, depois desenvolvem a forma de metacercárias a espera que seu hospedeiro definitivo se alimente do hospedeiro intermediário o qual ela se encontra (TRAVASSOS,1922).

3.1 DADOS QUANTITATIVOS DE METACERCÁRIAS.

Os hospedeiros machos apresentaram 256 metacercárias, quando somados os olhos (esquerdo e direito), nas fêmeas foi verificado um número menor 106 metacercárias.

No entanto não foi verificada diferença significativa entre o olho esquerdo e direito para os machos (Z=0,24; p=0,80) ou para as fêmeas (Z=-0,52; p=0,50) (Tabela 1 e 2).

Machado et al., (2005) avaliaram a distribuição de *A. compactum* nos olhos esquerdo e direito de *Hoplias aff. malabaricus, Satanoperca pappaterra*, *Plagioscion squamosissimus, Crenicichla britskii* e *Cichla monoculus* e também não encontraram

diferenças significativas, em relação ao sexo. Encontraram valores de prevalência distintos para fêmeas e machos, porém não houve diferenças significativa na abundância de parasitas entre os sexos.

Neste estudo as metacercárias não apresentaram um padrão para a infestação nos olhos dos *Geophagus sveni,* porém hospedeiros machos apresentaram mais metacercárias nos olhos do que as fêmeas (Z=1,94; p = 0,05).

Tabela 1: Dados biométricos e quantidade de metacercárias em cada olho de *Geophagus sveni,* machos, do reservatório da Itaipu (Média e o Desvio Padrão).

Sexo	Peso - g	Comprimento padrão - cm	Comprimento total - cm	Olho direito	Olho esquerdo
M	85,19	13,06	17,0	30	72
M	103,42	14,0	17,0	2	4
M	113,08	14,8	18,02	13	10
M	114,30	14,8	18,05	64	16
M	118,49	15,5	18,06	3	2
M	143,39	15,5	19,4	26	14
Média +DV	112,97±19,08	14,61±0,94	17,92±0,88	23±23,15	19,66±26,21

Tabela 2: Dados biométricos e quantidade de metacercárias em cada olho de *Geophagus sveni,* fêmeas, do reservatório da Itaipu (Média e o Desvio Padrão).

Sexo	Peso - g	Comprimento padrão - cm	Comprimento total - cm	Olho direito	Olho esquerdo
F	72,25	12,8	15,3	3	4
F	75,83	13,2	15,8	10	2
F	79,10	14,0	16,05	2	4
F	81,43	13,5	16,5	3	6
F	82,72	13,5	16,5	2	8
F	88,27	13,6	16,4	6	9

F	97,66	14,0	17,0	11	4
F	102,22	15,0	17,08	4	5
F	145,38	16,0	19,05	9	14
Média+DV	91,65±22,4	13,95±0,98	16,63±1,06	5,55±3,57	6,22±3,63

O peso entre os machos variaram de 85,19 a 143,39 g e entre as fêmeas de 72,25 a 145,38 g, o comprimento padrão dos *Geophagus* foram entre 13,06 a 15,5 cm para os machos e 12,8 a 16,0 para as fêmeas. Portanto o peso e o comprimento padrão foram similares, não sendo possível relacionar essas características com a diferença da quantidade de metacercárias que os olhos apresentavam.

Austrodiplostomum compactum apresentou neste estudo preferência a um sítio de infestação, pois quase todas as metacercárias localizavam-se livres no humor vítreo dos olhos, porém as cercárias parecem escolher de forma aleatória a direção do olho esquerdo ou direito, a ser parasitado em dos *Geophagus sveni*. Segundo Locke et al., (2010) os olhos dos peixes servem como micro-habitat para as metacercárias e funcionam como uma barreira protetora aos fatores ambientais e a resposta imune do hospedeiro que é reduzida neste local.

Dos 15 espécimes analisadas, foram encontradas metacercárias na cavidade craniana de apenas seis peixes, localizavam –se na parte superior do órgão e pareciam não ter causado graves prejuízos aos hospedeiros, porém é necessário mais estudos para verificar possíveis danos causados ao funcionamento do cérebro.

Hoffman e Hoyme (1958) relataram que em infestações elevadas no cérebro por metacercárias, houve considerável hemorragia póstero-lateral ao cérebro e atrás dos olhos. Interessante notar que peixes fortemente infectados podem sobreviver. Embora haja uma perda considerável de tecido cerebral. Também houve relato de ocorrência de A. *compactum* na cavidade craniana de *C. monoculus* e de *P. squamosissimus* (Machado et al.2005).

4 CONSIDERAÇÃO FINAIS

Devido a possíveis danos que as metacercárias de *Austrodiplostomum compactum* podem causar tanto nos olhos, como no cérebro dos peixes, é importante o desenvolvimento de estudos voltados para o monitoramento da infestação desse parasita, tanto em rios contínuos como em reservatórios.

REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A. A.; JÚLIO JR, Horacio Ferreira; BORGHETTI, J. R. Considerações sobre os impactos dos represamentos na ictiofauna e medidas para sua atenuação. Um estudo de caso: reservatório de Itaipu. **Revista Unimar**, v. 14, n. ssupl, 1992.

AFFONSO, I. D. P., KARLING, L. C., TAKEMOTO, R. M., GOMES, L. C., & NILSSON, P. A. Light-induced eye-fluke behavior enhances parasite life cycle. **Frontiers in Ecology and the Environment,** 15(6), 340-341.2017.

DA GRACA, W. J., & PAVANELLI, C. S. **Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes**. Eduem, Maringá, PR. 2007.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**, 2.ed. Maringá: Eduem, 2006.

EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Fundação Eng. António de Almeida, Porto, Portugal, 339p, 1994.

HOFFMAN, G. L.; HOYME, J. B. The experimental histopathology of the" tumor" on the brain of the stickleback caused by *Diplostomum baeri eucaliae* Hoffman and Hundley, 1957 (Trematoda: Strigeoidea). 1958. **Journal of Parasitology**, v. 44, n. 4, p. 374-378.1958.

KEENLEY SIDE, M.H.A. Parental care, p. In: M.H.A. KEENLEYSIDE (Ed.). Cichlid Fishes – **Behaviour Ecology and Evolution**. **London**, Chapman and Hall, 190-208. 378p.1991.

KULLANDER, S. O. Family cichlidae. IN.**Check list of the freshwater fishes of South and Central America**, p. 605-654, 2003.

LACERDA, A. C., TAKEMOTO, R. M., POULIN, R., & PAVANELLI, G. C. Parasites of the fish *Cichla piquiti* (Cichlidae) in native and invaded Brazilian basins: release not from the enemy, but from its effects. **Parasitology research**, v. 112, n. 1, p. 279-288, 2013.

LOWE-MCCONNELL R.H. Ecology of cichlids in South American and African waters, excluding the African Great Lakes. In: Keenleyside M.H.A. (Eds). **Cichlid Fishes: Behaviour, Ecology and Evolution**. Chapman & Hall, London, p. 60-85.1991.

LUCINDA, P. HF; LUCENA, C. AS; ASSIS, N. C. Two new species of cichlid fish genus *Geophagus* Heckel from the Rio Tocantins drainage (Perciformes: Cichlidae). **Zootaxa**, v. 2429, n. 1, p. 29-42, 2010.

LOCKE, S. A.; DANIEL MCLAUGHLIN, J.; MARCOGLIESE, D. J. DNA barcodes show cryptic diversity and a potential physiological basis for host specificity among Diplostomoidea (Platyhelminthes: Digenea) parasitizing freshwater fishes in the St. Lawrence River, Canada. **Molecular Ecology**, v. 19, n. 13, p. 2813-2827, 2010.

MACHADO, P. M.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. *Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum* (Lutz, 1928) (Platyhelminthes, Digenea) metacercariae in fish from the floodplain of the Upper Paraná River, Brazil. **Parasitology Research**, v. 97, n. 6, p. 436-444, 2005.

NOVAES, J. L. C., RAMOS, I. P., CARVALHO, E. D., & SILVA, R. J. Metacercariae of *Diplostomum compactum* Lutz, 1928 (Trematoda, Diplostomidae) in the eyes of acara *Geophagus brasiliensis* Quoy & Gaimard, 1824 (Teleostei, Cichlidae) from Barra Bonita Reservoir-São Paulo, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1229-1231, 2006.

OTA, R. R.; DEPRÁ, G. C.; GRAÇA, W. J.; PAVANELLI, C. S. *Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes:* revised, annotated and updated. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 2, 2018.

PAVANELLI, G.C.; J.C. EIRAS; R.M. TAKEMOTO. **Doenças de peixes. Profilaxia, diagnóstico e tratamento**, 3a. edição. Eduem, Maringá, PR. 311p, 2008.

PINTO, H. A. Biologia e taxonomia de trematódeos transmitidos por moluscos dulciaquícolas na represa da Pampulha. **Tese – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.** Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. 2013.

SANTOS, R. D. S., PIMENTA, F. D. A., MARTINS, M. L., TAKAHASHI, H. K., & MARENGONI, N. G. Metacercárias de *Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum* Lutz, 1928 (Digenea, Diplostomidae) em peixes do rio Paraná, Brasil. Prevalência, sazonalidade e intensidade de infecção. **Acta Scientiarum, Biological Science**, p. 475-480, 2002.
Statsoft

TAKEMOTO, R. M., PAVANELLI, G. C., LIZAMA, M. A. P., LACERDA, A. C. F., YAMADA, F. H., MOREIRA, L. H. A., ... & BELLAY, S. Diversity of parasites of fish from the Upper Paraná River floodplain, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 1, p. 691-705, 2009.

THATCHER, V. E. Patologia de peixes da Amazônia Brasileira, 1. Aspectos gerais. **Acta Amazonica**, v. 11, n. 1, p. 125-140, 1981.

TRAVASSOS, L. Informações sobre a fauna helmintológica de Mato Grosso, Trematódeos. **Folha Médica**, São Paulo, v.3, n.24, p.187-190, 1922.

TRAVASSOS, L.; ARTIGAS, P.; PEREIRA, C. Fauna helminthologica dos peixes de água doce do Brasil. **Archivos do Instituto Biológico**, v.1, p. 5-68.1928.