



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Oviposição, eclosão e desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Platyhelminthes, Monogenea), parasito de *Rhamdia quelen*, e sua relação com a temperatura e salinidade da água

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Aquicultura

Orientador: Maurício Laterça Martins

Natalia da Costa Marchiori

Florianópolis  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Marchiori, Natalia da Costa

Oviposição, eclosão e desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Platyhelminthes, Monogenea), parasito de *Rhamdia quelen*, e sua relação com a temperatura e salinidade da água / Natalia da Costa Marchiori ; orientador, Maurício Laterça Martins - Florianópolis, SC, 2013.

94 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. parasitologia. 3. ciclo de vida. 4. ectoparasito. 5. infestação experimental. I. Martins, Maurício Laterça. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

**Oviposição, eclosão e desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Platyhelminthes: Monogenea), parasito de *Rhamdia quelen*, e sua relação com a temperatura e salinidade da água**

Por

NATALIA DA COSTA MARCHIORI

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de

**DOUTOR EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de  
Pós-Graduação em Aquicultura.

---

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

---

Dr. Maurício Laterça Martins – *Orientador*

---

Dra. Ana Carolina Figueiredo Lacerda

---

Dr. Felipe do Nascimento Vieira

---

Dra. Mônica Yumi Tsuzuki

---

Dr. Ricardo Massato Takemoto



Dedico este trabalho aos meus mentores  
Marcos Alberto Marchiori, Joaber  
Pereira Jr. e Maurício Laterça Martins



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, mas sempre de forma especial, para a realização deste trabalho tão importante para mim:

À minha família pelo amor incondicional de sempre;

Ao meu amigo e Orientador Maurício Laterça Martins pela confiança depositada desde quando nos conhecemos. Aprendo muito contigo, é um privilégio poder trabalhar contigo e não abro mão;

Ao meu amigo, conselheiro e Orientador “vitalício” Joaber Pereira Jr. Obrigada por teres me ensinado tanto. Trabalhamos juntos há mais de 10 anos e tua generosidade me encanta. Mais do que professor, és um verdadeiro educador, na maior e melhor acepção da palavra;

Aos meus companheiros por toda essa vida: Felipe, Renata e Edmilson. Vocês me ensinam tanto sobre a vida, adoro “ler o mundo” com vocês. Ao Edmilson, agradeço por ter feito os desenhos esquemáticos deste estudo. Obrigada por compartilhar teu talento incrível comigo;

Aos meus amigos e colegas de trabalho do laboratório AQUOS Karen Tancredo, Gabriela Hashimoto, Lucas Cardoso, Katina Roumbedakis, Ana Carolina Figueiredo Lacerda, Eduardo Luís Tavares Gonçalves, Jerko Ledic, Jully Debortoli, Keka e Patrícia Garcia pela parceria e amizade;

À mestranda Karen Tancredo, um agradecimento especial. Obrigada pela amizade, carinho e dedicação. Tua colaboração foi absolutamente indispensável para a realização deste estudo;

Ao pesquisador Luís Antônio Suita de Castro por ter disponibilizado o microscópio eletrônico de varredura da EMBRAPA para este estudo;

Ao Dr. Juan Ramon Esquivel Garcia por ter fornecido todos os peixes utilizados nesse estudo. A cada visita, um aprendizado novo sobre piscicultura continental. Obrigada pelo carinho de sempre;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo e por oferecer o Programa Ciências sem fronteiras que me proporcionou uma das experiências mais autênticas que já vivi;

Ao Dr. Antoine Pariselle, por seu “mental extraordinaire”. Obrigada pela simplicidade com que me recebestes no teu laboratório por quase cinco meses de estudo. Aprendi muito contigo, não só no que se refere à taxonomia de parasitos Monogenea, mas também no âmbito das relações no trabalho.





## RESUMO GERAL

Neste estudo investigou-se a biologia e a influência da temperatura e da salinidade da água sobre o desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus* (Dactylogyridae), parasito do jundiá *Rhamdia quelen*, em condições experimentais. Para tanto, tornou-se evidente a necessidade de desenvolver uma técnica prática e capaz de oferecer condições ambientais controladas nesse tipo de estudo. Assim, um aparelho novo e fácil de ser construído para coleta de ovos de Monogenea é descrito e ilustrado. Espécimes de *A. mastigatus* coletados nas brânquias do jundiá foram caracterizados morfológicamente. Informações adicionais sobre a morfologia da espécie são propostas, assim como uma chave dicotômica para identificação de *Aphanoblastella*. A embriogenia de *A. mastigatus* ocorreu em 72 horas. A larva nadou ativamente por aproximadamente três horas; os movimentos foram rápidos e erráticos, intercalados com pequenos períodos de descanso, onde a larva nadou lentamente por alguns segundos. Oncomiracídio com células ciliadas em três zonas; haptor armado com sete pares de ganchos e um par de âncoras dorsais. Dois dias após adesão ao hospedeiro, uma delicada barra dorsal foi observada no haptor da pós-oncomiracídio. Quatro a cinco dias após adesão, a pós-larva aumentou em tamanho e completou o desenvolvimento do haptor. Acredita-se que *A. mastigatus* pode atingir maturidade sexual sete dias após adesão ao hospedeiro. A temperatura da água não influenciou significativamente a taxa de oviposição nem o sucesso de infestação de *A. mastigatus* nas temperaturas analisadas; por outro lado, a adição de cloreto de sódio (9 g/l) na água inviabilizou não só a sobrevivência do parasito mas também a viabilidade dos ovos. Esse resultado indica que seu uso é eficiente como tratamento profilático. Futuros estudos são recomendados utilizando intervalos de temperatura e intensidades de infestação maiores para verificar a influência da temperatura na longevidade larval e sucesso de infestação de *A. mastigatus*.

Palavras-chave: parasitologia, catfish, ectoparasito, ciclo de vida, infestação experimental, oncomiracídio.



## ABSTRACT

In this study it was investigated the biology and the influence of water temperature and water salinity on the development of *Aphanoblastella mastigatus* (Monogenea, Dactylogyridae), parasite of the silver catfish *Rhamdia quelen*, in south Brazil. It became evident, therefore, the need to develop a practical technique which is able to provide controlled environmental conditions for this kind of study. In this way, a novel and easily constructed apparatus for collecting monogenean eggs is described and illustrated. Specimens of *Aphanoblastella mastigatus* collected from the gills of *R. quelen* were morphologically characterized. Additional information to the morphology of this species is proposed, as well as a dichotomous identification key to *Aphanoblastella*. Egg embryonation of *A. mastigatus* occurred in 72 hours. Oncomiracidium swam actively for about three hours. Movements were fast and erratic, interleaved with small periods of resting, in which larva swam slowly for a few seconds. Oncomiracidium with ciliated cells in three zones; haptor armed with seven pairs of hooklets and one pair of dorsal anchors. Two days after attachment to host, a delicate dorsal bar was observed in the haptor; four to five days after attachment, the post-larva increased in size and completed haptor development. It is believed that *A. mastigatus* may achieve sexual maturity seven days after host attachment. Water temperature significantly influenced neither oviposition rate nor infestation success of *A. mastigatus* for the chosen temperatures. Differently, adding NaCl (9 g/l) to the water prevented not only parasite survival but also egg viability. This result indicates that its use is efficient as a potential prophylactic treatment. Future studies are recommended using greater temperature intervals and infestation intensities in order to verify the influence of water temperature on larval longevity and infestation success of *A. mastigatus*.

Keywords: parasitology, catfish, ectoparasite, life cycle, experimental infestation, oncomiracidium.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1. Fotomicrografia em microscópio eletrônico de varredura de um filamento branquial de jundiá *Rhamdia quelen* parasitado por *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Dactylogyridae). Fonte: Natalia Marchiori ..... 20
- Figura 2. Fotomicrografia em microscópio eletrônico de varredura demonstrando as lesões (indicadas por flechas) na epiderme do salmão do Atlântico causadas pela alimentação de *Gyrodactylus salaris*. Fonte: Bakke et al. (2007) ..... 22

### CAPÍTULO I

- Figura 1. Desenho esquemático da técnica ..... 31
- Figura 2. Ovo de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986). Barra: 50 µm ..... 33

### CAPÍTULO II

- Figura 1. *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) parasito de *Rhamdia quelen*, Santa Catarina, Brasil. **A.** Barra dorsal. **B.** Barra ventral. **C.** Ovo. **D.** Complexo copulatório masculino. **E.** Âncora dorsal. **F.** Gancho. **G.** Âncora ventral. Barras: 10 µm (A, B), 15 µm (C, D, E, G) e 5 µm (F) ..... 43

### CAPÍTULO III

- Figura 1. Fotomicrografia eletrônica de varredura de um aglomerado de ovos de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) ..... 57
- Figura 2. Ovo de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986): **A.** Vinte e quatro horas após oviposição (HAO); **B.** 48 HAO; **C.** 67 HAO; **D.** 72 HAO; **E.** Ovo inviável. Barras: 20 µm ..... 59
- Figura 3. Rejeição das células epiteliais ciliadas (indicadas por setas) pela oncomiracídio de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986). Barra: 30 µm ..... 60
- Figura 4. Fotomicrografia da oncomiracídio de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986). Aberturas anterolaterais indicadas por setas pretas. Barra: 30 µm ..... 61

Figura 5. Desenho diagramático da oncomiracídio de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986). *a* âncora, *aal* abertura anterolateral, *gam* glândulas anteromedianas, *c* cílio, *cc* cone ciliado, *cr* cristalino, *o* ocelo, *g* gancho, *gl* glândulas laterais, *f* faringe. Barra: 30 µm .....62

## CAPÍTULO IV

Figura 1. Valores médios com intervalo de confiança 95% (barras verticais) nas diferentes temperaturas: (A) Número de parasitos adultos de *Aphanoblastella mastigatus*; (B) Número total de ovos; (C) Taxa de oviposição. Letras diferentes denotam diferença significativa (Teste T de Student) .....77

Figura 2. Valores médios com intervalo de confiança 95% (barra vertical) nas diferentes salinidades: (A) Número de parasitos adultos de *Aphanoblastella mastigatus*; (B) Número total de ovos; (C) Taxa de oviposição. Letras diferentes denotam diferença significativa (ANOVA unifatorial) .....78

Figura 3. Valores médios do sucesso de eclosão de *Aphanoblastella mastigatus* com intervalo de confiança 95% (barra vertical) nas diferentes temperaturas e salinidades da água. AD = água destilada. Letras diferentes denotam diferença significativa (ANOVA fatorial) ..79

Figura 4: Valores médios com intervalo de confiança 95% (barra vertical) na infestação experimental de *Aphanoblastella mastigatus* em diferentes: (A) temperaturas; (B) salinidades e (C) interação entre salinidades e temperaturas da água. Letras diferentes denotam diferença significativa (ANOVA fatorial) .....80

Figura 5. Ritmo de oviposição. Número de ovos de *Aphanoblastella mastigatus* coletados em intervalos de três horas sobre um período de 24 horas .....81

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

Tabela 1. Dimensões de <i>Aphanoblastella mastigatus</i> . <sup>CT</sup> : comprimento total; <sup>L</sup> : largura; <sup>D</sup> : diâmetro; OCM: órgão copulatório masculino .....	42
Tabela 2: Dimensões de <i>Aphanoblastella</i> spp. <sup>CT</sup> : comprimento total; <sup>L</sup> : largura; <sup>D</sup> : diâmetro; OCM: órgão copulatório masculino .....	44

### CAPÍTULO IV

Tabela 1. Parâmetros de qualidade de água (média ± desvio padrão) para cada tratamento.....	76
Tabela 2. Índices parasitológicos (média ± desvio padrão) de <i>Aphanoblastella mastigatus</i> em jundiá <i>Rhamdia quelen</i> .....	80
Tabela 3: Ritmo de oviposição de <i>Aphanoblastella mastigatus</i> (Suriano, 1986). Parâmetros físico-químicos da água mensurados no início e fim do período de 24 horas.....	81





## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	19
<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	26
<b>OBJETIVOS</b> .....	27
<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	27
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	27
<b>CAPÍTULO I: Nova técnica para coleta de ovos de parasitos</b>	
Monogenea van Beneden, 1858 .....	28
Resumo.....	30
Introdução .....	30
Descrição do aparelho .....	30
Teste do aparelho .....	31
Discussão.....	33
Agradecimentos.....	34
Referências .....	34
<b>CAPÍTULO II: <i>Aphanoblastella mastigatus</i> (Suriano, 1986)</b> <b>(Monogenea, Dactylogyridae) em jundiá <i>Rhamdia quelen</i> no sul do</b> <b>Brasil e chave para identificação das espécies do gênero</b> .....	36
Abstract .....	38
Resumo.....	38
Introdução .....	39
Material e Métodos.....	40
Resultados .....	40
Discussão.....	46
Agradecimentos.....	48
Referências .....	48
<b>CAPÍTULO III: Estágios iniciais de desenvolvimento de</b> <b><i>Aphanoblastella mastigatus</i> (Suriano, 1986) (Monogenea,</b> <b>Dactylogyridae) com referência especial ao ovo e oncomiracídio</b> .....	51
Resumo.....	53
Introdução .....	53
Material e Métodos.....	54
Resultados .....	56
Discussão.....	63
Agradecimentos.....	65
Referências .....	65

<b>CAPÍTULO IV: Influência da temperatura e salinidade da água na oviposição, sucesso de eclosão e infestação de <i>Aphanoblastella mastigatus</i> (Monogenea, Dactylogyridae) parasito de <i>Rhamdia quelen</i>.....</b>	<b>68</b>
Resumo .....	70
Introdução .....	71
Material e Métodos .....	71
Resultados .....	75
Discussão .....	82
Agradecimentos .....	84
Referências.....	84
<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>87</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>88</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

Mesmo sendo uma atividade econômica relativamente recente no Estado de Santa Catarina tendo surgido na década de 70 (SOUZA-FILHO et al., 2003), a piscicultura apresentou aumento considerável na produção, colocando o Estado como um dos principais produtores de peixes dulcícolas do Brasil (SILVEIRA et al., 2012). Devido a este crescimento e à estagnação da produção da pesca extrativista (SILVEIRA et al., 2012), a demanda por peixes cultivados está em expansão, tornando a atividade cada vez mais importante como fonte de proteína animal para o consumo humano (PAVANELLI et al., 2002; COE et al., 2011).

Existem atualmente no Estado de Santa Catarina diversos modelos de cultivo de peixes de água doce, tais como o policultivo consorciado com suínos (INSTITUTO CEPA, 1996; SOUZA-FILHO et al., 2002; BOSCARDIN, 2008) e os pesque-pagues, que associam a produção à empreendimentos turísticos, oferecendo uma estrutura de lazer aliada à eficiente forma de comercialização (INSTITUTO CEPA, 1996). Contudo, a maior parte dos cultivos continua sendo desenvolvida por pequenos produtores rurais que, na sua maioria, têm na piscicultura uma atividade complementar de renda (SOUZA-FILHO et al., 2002).

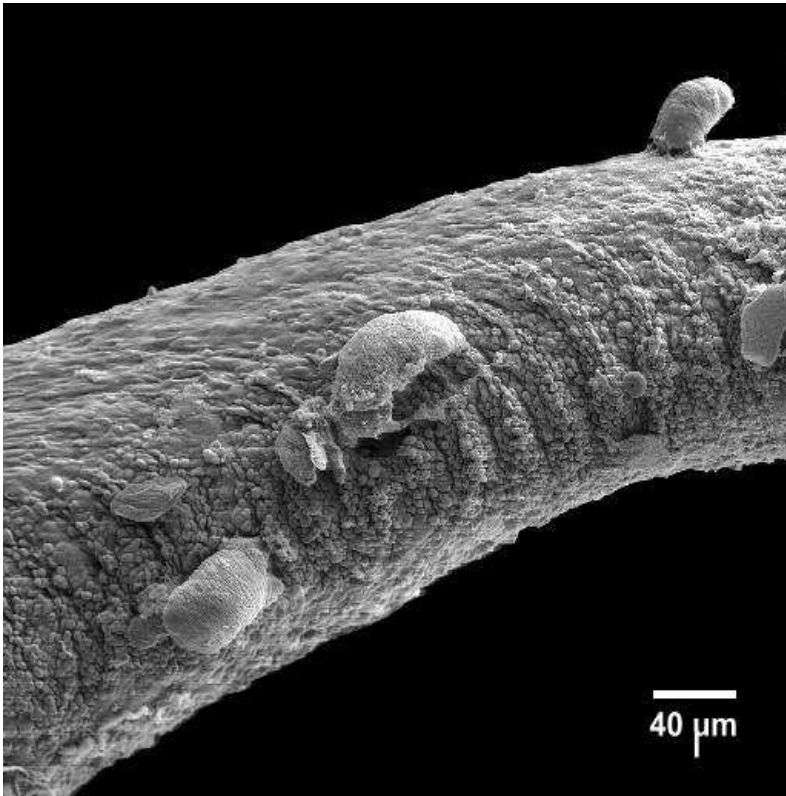
O sucesso de uma criação, no entanto, é resultado de uma série de fatores que estão intimamente relacionados com o bem-estar do peixe. Devido ao seu íntimo contato com o ambiente aquático, complexo e dinâmico, e à sua condição ectotérmica, os peixes estão sob desafios constantes, os quais vão desde variações nos parâmetros físico-químicos da água a práticas de manejo, transporte, tratamentos, altas densidades de estocagem (LIMA et al., 2006) e doenças infecciosas e parasitárias que podem culminar em estresse aos peixes de cultivo e significativos prejuízos econômicos (MORAES; MARTINS, 2004).

Algumas associações parasitárias podem ser ampliadas em condições de cultivo intensivo e, dessa forma, serem prejudiciais aos seus hospedeiros, não devendo por isso ser desprezadas (THATCHER, 1981). Havendo estresse, a resistência do peixe à doenças rapidamente enfraquece. Nesse caso, a erradicação de enfermidades por meio de produtos químicos pode ser muito difícil (ROHDE, 2005). Buchmann (1993) alerta ainda para o risco do desenvolvimento de resistência às drogas por parte dos parasitos. Para Valenti et al. (2000) os problemas mais sérios da piscicultura intensiva decorrentes de algumas associações parasitárias são o aparecimento de elevadas taxas de mortalidade, redução da captura e diminuição do valor comercial dos animais. Por

isso, informações sobre parasitos ganham relevância diante do aumento do esforço de cultivo de peixes observado nos últimos tempos (TAVECHIO et al., 2009).

Entre os parasitos considerados economicamente importantes agentes patogênicos em Aquicultura, há destaque para os Monogenea van Beneden, 1858 (TURGUT, 2012), incluídos entre os parasitos com maior capacidade de dispersão, impacto epizoótico e dificuldade de controle em cativeiro (PEREIRA JR. et al., 2006).

Os Monogenea são hermafroditas e a maioria ectoparasitos, podendo estar presentes na superfície do corpo, nadadeiras, narinas e mais comumente nas brânquias de peixes marinhos e dulcícolas (Figura 1) (BUSH et al., 2001; ONAKA; MORAES, 2004). Algumas espécies são,



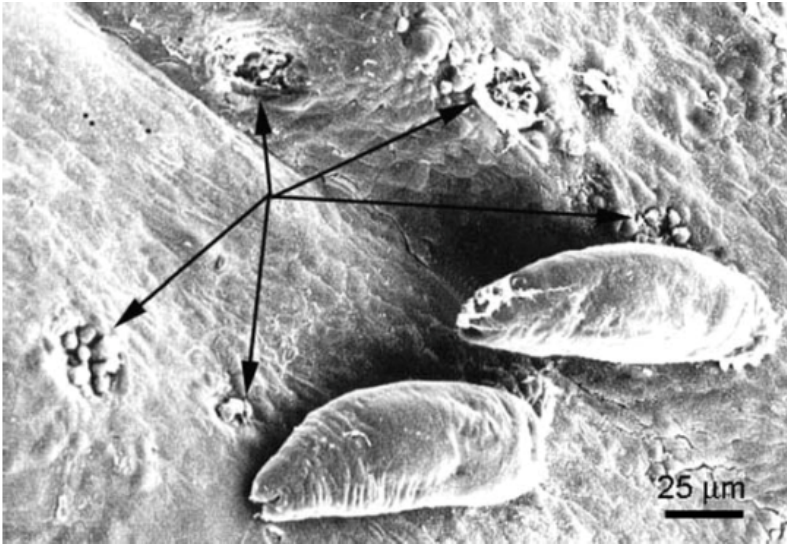
**Figura 1.** Fotomicrografia em microscópio eletrônico de varredura de um filamento branquial de jundiá *Rhamdia quelen* parasitado por *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Dactylogyridae). Fonte: Natalia Marchiori.

entretanto, endoparasitas de anfíbios, quelônios e apenas uma espécie é conhecida parasitando mamíferos: *Oculotrema hippopotami* Stunkard, 1924 (Polystomatidae) (DOMINGUES, 2004). Os adultos apresentam forma do corpo achatada, podendo ser alongada, oval ou circular e medem cerca de 1 a 30 mm de comprimento. A literatura existente sugere que 74 a 78% desses parasitos são, geralmente, restritos a uma única espécie hospedeira (VINOBA, 1994; BUCHMANN; LINDENSTROM, 2002; GERASEV et al., 2013). Llewellyn (1956), por exemplo, ao estudar 18 espécies de Monogenea parasitos de 17 espécies de peixes concluiu que todas, com exceção de duas espécies, eram estritamente específicas aos seus hospedeiros. Para Buchmann e Lindenstrom (2002), diversas evidências apontam os estímulos químicos como os fatores determinantes na especificidade de hospedeiro em Monogenea.

De acordo com a biologia da espécie, podem alimentar-se de muco e células epiteliais da superfície do corpo e brânquias do hospedeiro ou de seu sangue. A extremidade anterior do corpo, também chamada de prohaptor, pode conter um número variável de glândulas que secretam muco adesivo viscoso utilizado para adesão (BUSH et al., 2001). Na extremidade posterior do corpo, esses parasitos possuem um característico órgão de fixação denominado haptor, que pode ser constituído por ganchos, âncoras e barras (Monopisthocotylea) ou por ventosas em vários estágios de desenvolvimento ou formações em pinças (Polyopisthocotylea). Além de característico, o haptor é muito importante tanto do ponto de vista sistemático (EIRAS, 1994) quanto patológico.

Na maioria dos casos, esses parasitos podem causar um duplo tipo de lesão em seus hospedeiros: com o haptor, eles lesionam mecanicamente os tecidos no local de adesão podendo causar hemorragias locais; ao mesmo tempo, alimentam-se do tecido rompido e do sangue proveniente da ferida (Figura 2) (BYCHOWSKY, 1957). Isso pode acabar favorecendo infecções secundárias causadas por bactérias ou protozoários, por exemplo (CRESPO; CRESPO, 2003).

O grau de severidade das lesões ao hospedeiro varia, podendo ser desde leve resposta tecidual até hiperplasia grave, hipersecreção de muco, focos necróticos, edema, hemorragia cutânea e branquial, desprendimento do epitélio, inchaço e fusão de filamentos das lamelas branquiais, emagrecimento do animal, anorexia e morte (MARTINS; ROMERO, 1996; PAVANELLI et al., 2002; CRESPO; CRESPO, 2003; ONAKA; MORAES, 2004).



**Figura 2.** Fotomicrografia em microscópio eletrônico de varredura demonstrando as lesões (indicadas por flechas) na epiderme do salmão do Atlântico causadas pela alimentação de *Gyrodactylus salaris*. Fonte: Bakke et al. (2007).

Vários estudos demonstram a existência de mortalidade, por vezes elevada, em espécies de peixes cultivadas devido à infestação por Monogenea. Alguns exemplos incluem *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Gyrodactylidae), espécie considerada responsável por grandes surtos epizoóticos nos cultivos do salmão do Atlântico *Salmo salar* Linnaeus, 1758 (Salmonidae) (JOHNSEN; JENSEN, 2006), *Cichlidogyrus* Paperna, 1960 (Ancyrocephalidae) em tilápias cultivadas na África (RUBIO-GODOY, 2007), *Benedenia seriolae* (Yamaguti, 1934) (Capsalidae) e *Heteraxine heterocerca* (Goto, 1894) (Heteraxinidae) parasitos do olhete japonês *Seriola quinqueradiata* Temminck e Schlegel, 1845 (Carangidae) (EGUSA, 1983) e as espécies de *Pseudodactylogyrus* (Dactylogyridae), *P. anguillae* Yin e Sproston, 1948 e *P. bini* Kiknuchi, 1929 em enguia européia *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758) (Anguillidae) (RUBIO-GODOY, 2007).

A patogenicidade provocada por este grupo é ainda acentuada pelo ciclo de vida e mecanismos de infestação desses parasitos. Os Monogenea possuem ciclo de vida monoxênico (não requerendo hospedeiros intermediários), o que permite o alcance de altas densidades

populacionais rapidamente no hospedeiro (VINOBA, 1994). Compreendem também espécies vivíparas ou ovíparas, as quais diferem no tipo de estratégia de busca por seu hospedeiro (BUCHMANN; LINDENSTROM, 2002). Enquanto espécies vivíparas, como a maioria dos Gyrodactylidae, utilizam mecanismos de transmissão mais restritos como, por exemplo, o contato direto entre peixes, as espécies ovíparas produzem constantemente ovos os quais são liberados ao meio ambiente. Estes ovos possuem um opérculo por onde se dá a eclosão, são geralmente volumosos e, em muitas espécies, apresentam excrescências filiformes (em uma ou ambas as extremidades) que podem desempenhar algumas funções como fixação ao hospedeiro, adesão ao sedimento e/ou retardamento da velocidade de sedimentação quando em suspensão (EIRAS, 1994).

Os fatores que intervêm na eclosão dos ovos de Monogenea parecem ser vários, mas nem sempre coincidentes entre as espécies. MacDonald (1975) verificou em *Diclidophora merlangi* (Kuhn, 1832), *D. denticulata* (Olsson, 1876) e *D. luscae* (van Beneden e Hesse, 1864) (Diclidophoridae) que a eclosão dos ovos é dependente do período de iluminação, sendo possível relacionar o padrão de cada parasitose com o comportamento do respectivo hospedeiro no sentido da otimização da sua probabilidade de encontro. Bovet (1967) observou que a eclosão de *Diplozoon paradoxum* Nordman, 1832 (Diplozoidae) é estimulada por perturbações mecânicas na água. Já MacDonald (1974) concluiu que a eclosão de *Acanthocotyle lobianchi* Monticelli, 1888 (Acanthocotylidae) não esteve relacionada com o fotoperíodo nem com perturbações mecânicas, mas com a presença de produtos de secreção do hospedeiro como forma de assegurar a sua proximidade. Buchmann (1988) registrou taxas de oviposição e eclosão por *P. bini* em *A. anguilla* temperatura-dependentes, assim como outros autores para outras espécies de Monogenea (BYCHOWSKY, 1957; PROST, 1963; MOLNÁR, 1971; GANNICOTT; TINSLEY, 1998; TURGUT, 2012). Bullard et al. 2000, no entanto, concluíram que os ovos de *Dionchus* sp. (Dionchidae) eclodiram na ausência de qualquer estímulo aparente, assim como Kearns (1975) para *Dictyocotyle coeliaca* Nybelin, 1941 (Calicotylidae) parasito de arraia *Raja naevus* (Müller e Henle, 1841) (Carcharhinidae).

Quando os ovos tornam-se maduros, uma larva chamada oncomiracídio emerge. Estas larvas são responsáveis por localizar e infestar o seu hospedeiro. Seu tempo de vida é curto (geralmente medido em horas) e está associado com a utilização de estoques de energia limitados, já que não se alimentam neste período

(GANNICOTT; TINSLEY, 1998). A grande maioria das oncomiracídios possui uma epiderme ciliada, o que lhes confere capacidade natatória. No entanto, sabe-se que existem espécies não ciliadas e, portanto, sem capacidade natatória. Isto é verdade para *Dionchus* sp. (BULLARD et al., 2000) e *Benedenia disciliata* Whittington e Deveney, 2011 (Capsalidae) (WHITTINGTON; DEVENEY, 2011), parasitos dos tubarões *Carcharhinus limbatus* (Müller e Henle, 1839) (Carcharhinidae) e *Diagramma labiosum* Macleay, 1883 (Haemulidae), respectivamente. Com relação às espécies natantes, a epiderme ciliada proporciona a capacidade de realizarem movimentos muito rápidos, erráticos e em alguns casos, giratórios em torno do próprio eixo (ROHDE, 2005). O seu comportamento em busca do estabelecimento no hospedeiro varia de espécie para espécie e de alguns fatores abióticos. Essas larvas podem responder não somente a luz, mas também a gravidade, perturbações mecânicas, compostos do hospedeiro ou até mesmo correntes de água, indicando que tais respostas aumentam a probabilidade de sucesso no encontro do hospedeiro. (KTARI, 1969; PALING, 1969; WHITTINGTON; KEARN, 1988; YOSHINAGA et al., 2000).

Molnár (1994) observou em um experimento utilizando carpas comuns *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (Cyprinidae) que, ao diminuir gradativamente as taxas de oxigênio dissolvido na água, os animais mais intensamente parasitados por *Dactylogyrus vastator* Nybelin, 1924 (Dactylogyridae) morreram mais rapidamente quando comparados ao grupo controle do experimento, sugerindo que a diminuição gradativa de oxigênio dissolvido na água pode tornar uma infestação subletal em letal.

Para Koskivaara et al. (1991) e Ozturk e Antunel (2006), a temperatura é considerada um dos fatores mais importantes que determinam a existência e abundância de Monogenea. Pojmanska (1995) concluiu que os níveis máximos de infestação por *Dactylogyrus nobilis* Nobilis, 1991 (Dactylogyridae) foram alcançados em temperaturas mais frias. Diferentemente, Ozturk e Antunel (2006) observaram que *Dactylogyrus cornu* Linston, 1878, *D. difformis*, Wagener, 1857 e *D. sphyrna* Linstow, 1878 (Dactylogyridae) alcançaram os níveis máximos de infestação no período do verão, quando as temperaturas atingiram 25 a 30 °C. Ao estudar a biologia de *Zeuxapta seriolae* (Meserve, 1938) (Heteraxinidae) e *B. seriolae* parasitos de *Seriola lalandi* Valenciennes, 1833 (Carangidae), Tubbs et al. (2005) concluíram que, à baixas temperaturas (13 °C), ambas as espécies parasitas diminuem o seu potencial reprodutivo,



desenvolvendo-se mais lentamente e produzindo menos ovos quando comparado à altas temperaturas. Entre as duas espécies, *Z. seriolae* exibiu menor potencial reprodutivo à baixa temperatura devido a redução significativa no sucesso de eclosão, sugerindo que a tolerância termal entre as espécies testadas é menor para a última.

Ernst et al. (2005) concluíram que a salinidade da água apresenta considerável efeito na embriogenia dos ovos e sucesso de eclosão de *B. seriolae*. Diversos autores sugerem adição de cloreto de sódio em pisciculturas de água doce como estratégia de manejo profilático e/ou intervenção terapêutica (MARTINS et al., 2000; GARCIA et al., 2003; CARNEIRO et al., 2006). Para Kubitzka (2007), banhos terapêuticos em água salgada não apenas desidratam os parasitos (levando-os à morte), mas também possibilitam a reposição de sais (sódio e cloreto) no sangue dos peixes, facilitando o restabelecimento do equilíbrio osmorregulatório.

De acordo com dados recentes (COHEN et al., 2013; VIEIRA et al., 2013), existem aproximadamente 651 espécies de Monogenea parasitos de peixes, anfíbios e répteis encontrados na América do Sul, sendo 434 destas reportadas para o Brasil. Entre eles, os Dactylogyridae são frequentes e possuem grande diversidade de espécies parasitas de brânquias de peixes Characiformes, Perciformes e Siluriformes.

Parasitos *Aphanoblastella* Kritsky, Mendoza-Franco e Scholz, 2000 (Dactylogyridae) são comumente encontrados nas brânquias de Siluriformes “catfish” da região Neotropical (THATCHER, 2006). Até o momento, seis espécies são descritas para o gênero: *Aphanoblastella travassosi* (Price, 1938) (espécie tipo) parasito de *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824) (MENDOZA-FRANCO et al., 1999; KRITSKY et al. 2000; MENDOZA-FRANCO et al., 2007), *R. nicaraguensis* (Günther, 1864) (MENDOZA-FRANCO et al., 2003) e *Pimelodella laticeps* Eigenmann, 1917 (SURIANO, 1986); *A. robustus* (Mizelle e Kritsky, 1969) em *Rhamdia* sp. (MIZELLE; KRITSKY, 1969); *A. mastigatus* (Suriano, 1986) em *R. quelen* (SURIANO, 1986; AZEVEDO et al. 2010; AMADA et al., 2013); *A. chagresii* Mendoza-Franco, Aguirre-Macedo e Vidal-Martínez, 2007 em *Pimelodella chagresi* (Steindachner, 1876) (MENDOZA-FRANCO et al., 2007); *A. juizforense* Carvalho, Tavares e Luque, 2009 em *R. quelen* (CARVALHO et al., 2009) e *A. aurorae* Mendoza-Palmero, Scholz, Mendoza-Franco e Kuchta, 2012 em *Goeldiella eques* (Müller e Troschel, 1849) (MENDOZA-PALMERO et al., 2012).

O jundiá *R. quelen*, por sua vez, é abundante na fauna aquática brasileira e apresenta ampla distribuição (desde sul do México até o

centro da Argentina) (GOMES et al., 2000). Segundo Carneiro e Mikos (2005), é uma espécie de peixe nativa ainda pouco conhecida cientificamente, mas que tem atraído a atenção de pesquisadores e produtores devido as várias características favoráveis à sua inclusão na lista de peixes cultivados comercialmente no Brasil. Além disso, essa espécie apresenta grande aceitação pelo mercado consumidor devido a sua carne saborosa e ausência de espinhos intramusculares (CARNEIRO; MIKOS, 2005).

Portanto, diante do potencial epizootico representado por parasitos Monogenea para o cultivo desta espécie nativa de grande importância no sul do Brasil, e o provável impacto sócio-econômico que traria o seu cultivo para a piscicultura catarinense, torna-se evidente a necessidade de incrementar estudos que viabilizem esta atividade. Mudanças em alguns fatores ambientais podem modular a expressão dos efeitos patogênicos dos parasitos e o reconhecimento da sua biologia e das condições que favorecem o seu desenvolvimento é fundamental para elaborar estratégias eficientes no controle da enfermidade.

## JUSTIFICATIVA

Monogenea agrupa espécies problemáticas na Aquicultura. A gestão desses parasitos em pisciculturas têm focado amplamente na utilização de banhos terapêuticos que podem, por sua vez, ser caros, tóxicos e estressantes ao peixe. O controle adequado de parasitos Monogenea em pisciculturas depende de informações acerca da biologia, ecologia e epidemiologia de espécies problemáticas. A associação parasitária entre *Aphanoblastella* sp. e *R. quelen* foi utilizada como modelo para fornecer dados que possam estender o conhecimento sobre a dinâmica de populações parasitas de hospedeiros em cativeiro e auxiliar na elaboração de estratégias de controle como, por exemplo através da interrupção do ciclo de vida desses animais. O interesse que a biologia desta associação tem despertado é grande e seu estudo contribui para a compreensão e esclarecimento de questões que viabilizem o cultivo e garantam o sucesso do grupo hospedeiro envolvido. No Brasil, são raros os estudos sobre infestações experimentais e o modo de transmissão de parasitos.

O jundiá, espécie nativa, está entre os peixes mais apreciados para consumo no sul do Brasil. Com produção anual de 756.748 Kg e importância percentual de 2,3 % nos dados de produção pela piscicultura continental no Estado de Santa Catarina em 2011 (SILVEIRA et al., 2012), o jundiá desponta pelo crescimento acelerado

da produção. Apresenta excelentes qualidades nutricionais e vem conquistando aos poucos a preferência dos consumidores. Porém, nada se sabe sobre o ciclo de vida de parasitos Monogenea de brânquias em jundiá. Sob condições de estresse, baixa qualidade de água e variações bruscas de temperatura estes parasitos podem proliferar com facilidade comprometendo o cultivo e culminando em prejuízos econômicos.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL**

Investigar a biologia e a influência da temperatura e salinidade da água sobre o desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus* (Monogenea, Dactylogyridae).

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Como forma de instrumentalizar o objetivo geral, são propostos os seguintes objetivos específicos:

- Propor um novo método para coleta de ovos de parasitos Monogenea;
- Caracterizar morfológicamente *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Dactylogyridae);
- Investigar os estágios iniciais de desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus*;
- Investigar a influência da temperatura e salinidade da água na oviposição, sucesso de eclosão e infestação de *Aphanoblastella mastigatus* (Monogenea, Dactylogyridae).

**CAPÍTULO I - Nova técnica para coleta de ovos de parasitos  
Monogenea van Beneden, 1858**

Artigo publicado no periódico **Experimental Parasitology** (ISSN: 0014  
- 4894)

Publicado em 13 de março de 2013

DOI: 10.1016/j.exppara.2013.02.011

## Nova técnica para coleta de ovos de parasitos *Monogenea* van Beneden, 1858

Natalia Marchiori <sup>a</sup>, Karen Tancredo <sup>a</sup>, Katina Roumbedakis <sup>a</sup>, Eduardo L.T. Gonçalves <sup>a</sup>, Joaber Pereira Jr. <sup>b</sup>, Maurício Laterça Martins <sup>a</sup>

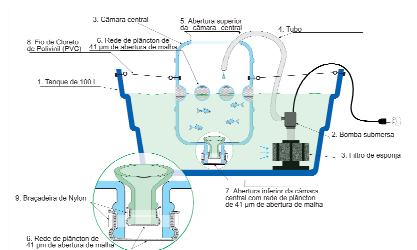
<sup>a</sup> AQUOS - Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Rod. Admar Gonzaga, 1346, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil. Tel: + 55 48 37219923; e-mail: namarchiori@gmail.com

<sup>b</sup> Laboratório Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos, PPG Aquicultura, Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), RS, Brasil.

### “Highlights”

1. Um novo método para coleta de ovos de *Monogenea* é proposto;
2. O uso desta técnica pode levar ao entendimento da biologia do parasito;
3. Pode ser usada em uma ampla gama de estudos biológicos;
4. Oferece condições ambientais controladas em estudos de longo prazo.

### “Graphical abstract”



## **Resumo**

Um aparelho novo e fácil de ser construído para coleta de ovos de parasitos *Monogenea* liberados na água é descrito e ilustrado. O uso desta técnica pode contribuir para o melhor entendimento da biologia do parasito, o que, por sua vez, pode levar ao melhoramento nas estratégias de controle parasitário em pisciculturas onde *Monogenea* são potencialmente prejudiciais aos seus hospedeiros. Esta técnica também é útil para estudos referentes a ovos ou estágios de vida livre de outros parasitos de peixes.

Palavras-chave: *Monogenea*; técnica; coleta de ovos.

## **1. Introdução**

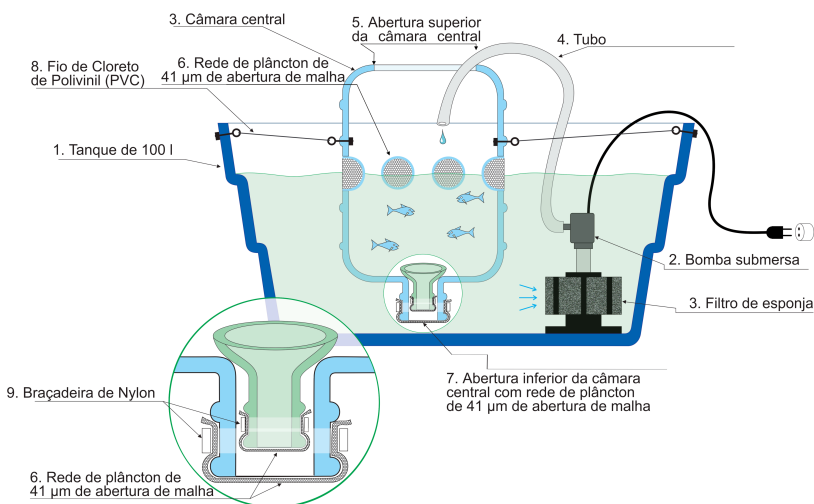
Com ciclos de vida direto, em ambientes aquáticos, parasitos *Monogenea* van Beneden, 1858 são capazes de liberar quantidade variável de ovos na água provavelmente mediada pelo hospedeiro, parasito e pressões ambientais que agem na regulação dos processos reprodutivos. Sob condições de cultivo, esses parasitos são capazes de proliferar fácil e rapidamente sendo, por isso, considerados um dos grupos parasitas mais importantes com potencial para causar impactos econômicos significativos em sistemas de cultivo (Moraes e Martins, 2004).

Os custos associados a esta relação parasitária podem ser reduzidos através da implementação de estratégias de controle eficientes, as quais dependem do bom entendimento da relação hospedeiro-parasito (Mooney et al., 2008). Os autores têm como objetivo caracterizar um novo método para coleta de ovos de parasitos *Monogenea*. Esta técnica pode ser facilmente utilizada em uma ampla gama de estudos biológicos, além de oferecer condições ambientais controladas a peixes submetidos a estudos de longo prazo.

## **2. Descrição do aparelho**

A unidade experimental (Figura 1) foi composta por um tanque de 100 l (1) abastecido com uma bomba submersa (2) ligada a um filtro de esponja (3); dessa forma a água estava constantemente sendo filtrada e, com o auxílio de um tubo conectado ao filtro (4), enviada ao interior de uma câmara central (5), ou seja, um tanque de plástico (20 l) com fundo cônico e oito aberturas circulares dispostas horizontalmente na região central cobertas com uma rede de plâncton com 41  $\mu$ m de abertura de malha (6). A câmara central foi fixada dentro de um tanque de 100 l com o auxílio de um fio de Cloreto de Polivinil (PVC) (8). A

abertura inferior da câmara central (7) foi equipada com um funil de plástico, aqui chamado aparelho de inspeção, cuja extremidade inferior foi coberta com rede de plâncton (41  $\mu\text{m}$  de abertura de malha) (6). O funil de plástico pode ser feito com a parte superior de uma garrafa plástica de 1 l. Para assegurar a retenção dos ovos, outra rede de plâncton foi adicionada ao fundo da câmara central (filtro principal) (7). Braçadeiras de Nylon (9) foram utilizadas para firmar as malhas de plâncton firmemente (aparelho de inspeção e abertura inferior da câmara) em seus respectivos locais, enquanto que as redes referentes às oito aberturas circulares mantiveram-se seguramente coladas.



**Figura 1.** Desenho esquemático da técnica.

### 3. Teste do aparelho

Espécimes de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824) (Heptapteridae) parasitados foram coletados na piscicultura Panamá (27° 57' 38" S, 48° 45' 27" W), localizada no Município de Paulo Lopes, Estado de Santa Catarina, em fevereiro de 2012. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos do Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC/23080.029980/2009-21).

Trinta e seis animais com  $9,74 \pm 0,76$  cm de comprimento e  $6,85 \pm 1,84$  g de peso foram distribuídos em nove unidades experimentais. Quatro peixes foram colocados em cada câmara central por um período

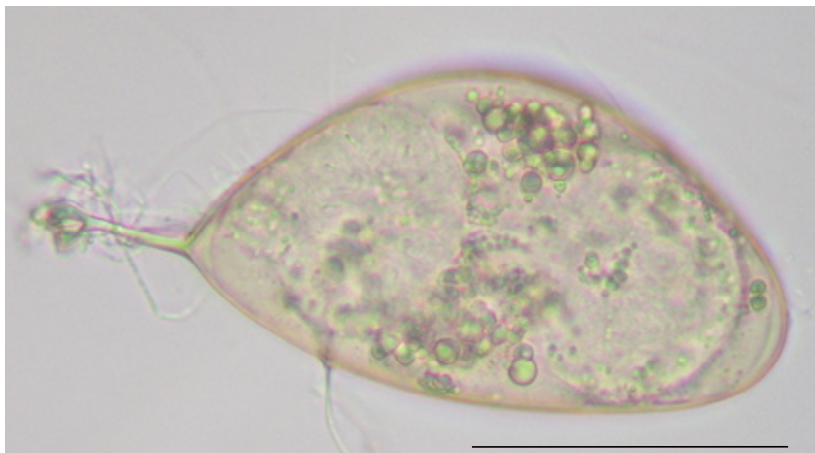
de dez dias. Nenhuma morte foi registrada durante o período de estudo. Os principais parâmetros de qualidade de água foram mensurados diariamente, sempre ao final da tarde, e foram mantidos como segue: amônia total:  $0,31 \pm 0,11$  mg/l, temperatura da água:  $23,67 \pm 0,96$  °C, pH:  $8,33 \pm 0,59$ , alcalinidade: 40,0 mg/l e oxigênio dissolvido:  $9,22 \pm 0,58$  mg/l. Estes dados mantiveram-se dentro dos níveis adequados para o desenvolvimento da espécie estudada, segundo Gomes et al. (2000) e Piedras et al. (2004).

Após 12 horas da distribuição dos peixes nas unidades experimentais, o aparelho de inspeção foi retirado e seu conteúdo transferido para uma placa de Petri a fim de verificar a presença de ovos do parasito. Após 24 horas da distribuição dos peixes, estes foram momentaneamente transferidos para o tanque de 100 l; as malhas de plâncton das aberturas circulares foram lavadas com o próprio fluxo de água oriundo do tubo conectado à bomba para desprender eventuais ovos aderidos. Em seguida, a câmara central foi suspensa para esvaziamento da água e retenção dos ovos no filtro principal, que posteriormente teve seu conteúdo transferido para uma placa de Petri, onde foi analisado. As malhas de plâncton referentes ao aparelho de inspeção e abertura inferior da câmara central foram então recolocadas e os peixes devolvidos a câmara central, onde foram mantidos por mais nove dias a fim de avaliar a eficácia do filtro do aparelho em uso prolongado.

A análise do conteúdo filtrado revelou a presença de inúmeros ovos de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Dactylogyridae), identificados pelo seu tamanho  $96,8 \pm 8,9$  (84 - 116; n: 40) de comprimento por  $46,6 \pm 4,2$  (44 - 63; n: 40) µm de largura, pela sua forma e presença de um prolongamento estreito terminando em forma de bulbo na extremidade posterior do ovo, de onde saem dois grandes filamentos (Fig. 2).

O uso do aparelho de inspeção (funil de plástico removível) oferece interessante benefício a esse sistema. Sua remoção permite a realização de análise do conteúdo em si depositado (como por exemplo, fezes do hospedeiro, ovos de parasitos e diferentes estágios de vida livre de organismos infectantes), sem causar dano ao sistema, e posteriormente recolocá-lo à câmara central. Isto oferece a oportunidade de determinar quando o parasito começa a ovipositar, bem como permite determinar se os peixes estão infectados ou não sem ter que eutanasiá-los.





**Figura 2.** Ovo de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986). Barra: 50  $\mu\text{m}$ .

As oito aberturas circulares dispostas horizontalmente na região central da câmara servem a dois propósitos principais: primeiro, asseguram trocas de água com o sistema de filtração externo, mantendo assim boa qualidade de água dentro da câmara central, principalmente no que se refere aos níveis de oxigênio dissolvido; segundo, estendem-se acima do nível da água para prevenir transbordamento no caso de um fluxo inadequado de água nas malhas de plâncton inferiores, evento que causaria a perda dos ovos. Não obstante, as redes foram cuidadosamente lavadas durante cada inspeção do material filtrado.

#### 4. Discussão

Diversos métodos têm sido utilizados para coleta de ovos de Monogenea. Isto inclui manter os peixes em pequenos sacos de tela de Nylon (Buchmann, 1988); introduzir os sacos de tela de Nylon dentro de um tanque contendo peixes infectados, para que os filamentos dos ovos se enrosquem nas redes (Hirazawa et al., 2010); coletar os ovos de parasitos retirados vivos de seus hospedeiros e mantidos em placas de Petri (Chisholm e Whittington, 2000; Kritsky e Stephens, 2001). Todas essas técnicas podem, de fato, ter êxito na coleta dos ovos. No entanto, podem também expor os peixes a diversos tipos de agentes estressores como por exemplo o manejo ou comprometimento da qualidade da água, podendo, por isso, não ser tão eficientes quando estudos a longo prazo são propostos.

A nova técnica descrita no presente estudo pode, portanto, ser considerada uma ferramenta útil para diversos tipos de estudos parasitológicos referentes a biologia, ciclo de vida, infestação experimental e tratamentos destinados ao controle parasitário. É uma técnica prática e capaz de oferecer condições ambientais controladas em estudos prolongados.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro ao Dr. M.L. Martins e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro a N.C. Marchiori.

### Referências

- Buchmann, K., 1988. Temperature-dependent reproduction and survival of *Pseudodactylogyryrus bini* (Monogenea) on the European eel (*Anguilla anguilla*). Parasitology Research 75, 162-164.
- Chisholm, L.A., Whittington, I.D., 2000. Egg hatching in 3 species of monocytylid monogenean parasites from the shovelnose ray *Rhinobatos typus* at Heron Island, Australia. Parasitology 121, 303-313.
- Gomes, L.C., Golombieski, J.I., Gomes, A.R.C., Baldisserotto, B., 2000. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). Ciência Rural 30, 179-185.
- Hirazawa, N., Takano, R., Hagiwara, H., Noguchi, M., Narita, M., 2010. The influence of different water temperatures on *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection, parasite growth, egg production and emerging second generation on amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae) and the histopathological effect of this parasite on fish skin. Aquaculture 299, 2-7.
- Kritsky, D.C., Stephens, F., 2001. *Haliotrema abaddon* n. sp. (Monogenoidea: Dactylogyridae) from the gills of wild and maricultured West Australian dhufish *Glaucosoma hebraicum* (Teleostei: Glaucosomatidae), in Australia. Journal of Parasitology 87, 749-754.
- Mooney, A.J., Ernst, I., Whittington, I.D., 2008. Egg-laying patterns and in vivo egg production in the monogenean parasites *Heteraxine heterocerca* and *Benedenia seriolae* from Japanese yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Parasitology 135, 1295-1302.
- Moraes, F.R., Martins, M.L., 2004. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. in:

- Cyrino, J.E.P., Urbinati, E.C, Fracalossi, D.M.; Castagnolli, N. (Eds). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo, pp. 343-383.
- Piedras, S.R.N., Moraes, P.R.R., Pouey, J.L.O.F., 2004. Crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), de acordo com a temperatura da água. Boletim do Instituto de Pesca 30, 177-182.

**CAPÍTULO II - *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986)  
(Monogenea, Dactylogyridae) em jundiá *Rhamdia quelen* no sul do  
Brasil e chave para identificação das espécies do gênero**

O artigo será enviado para publicação no periódico **Brazilian Journal of Biology** (ISSN: 1519 - 6984), tendo sido redigido segundo as normas da referida revista científica.

***Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Monogenea, Dactylogyridae) em jundiá *Rhamdia quelen* no sul do Brasil e chave para identificação das espécies do gênero**

Natalia C. Marchiori <sup>a\*</sup>; Antoine Pariselle <sup>b</sup>; Karen R. Tancredo <sup>a</sup>; Joaber Pereira Jr. <sup>c</sup>; Maurício Laterça Martins <sup>a</sup>

<sup>a\*</sup> (AQUOS) Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Rodovia Admar Gonzaga, 1346, 88040-900; Florianópolis, SC, Brasil. E-mail: [namarchiori@gmail.com](mailto:namarchiori@gmail.com)

<sup>b</sup> Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UMR226/UMR5554, ISE-M, Université Montpellier II, CC 063, Place E. Bataillon, 34095, Montpellier, cedex 5, France.

<sup>c</sup> Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos, PPG Aquicultura, I. Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, Brasil.

Número de figuras: 1

Running title: *Aphanoblastella mastigatus* no sul do Brasil e chave de identificação para o gênero

## Abstract

Specimens of *Aphanoblastella mastigatus* collected from the gills of the silver catfish *Rhamdia quelen* are morphologically characterized. Some specimens were mounted in Hoyer's medium while others were stained with Gomori's trichrome. Additional information on the morphology of this species is proposed: dorsal bar with a dorso-medial projection; male copulatory organ with 5 to 6 spirals and well developed trilobed base; proximal extremity of accessory piece flattened and characterized by an irregular border; distal extremity makes a slight turn around its own axis to exhibit a developed, sharpened and angled spine-like protrusion; two extensive filaments are laterally attached to the posterior tip of the egg. Comparative measurement tables and an identification key for *Aphanoblastella* species are presented.

*Keywords:* monogenean, taxonomy, Neotropical region, parasite.

## Resumo

Espécimes de *Aphanoblastella mastigatus* coletados nas brânquias do jundiá *Rhamdia quelen* no sul do Brasil são caracterizados morfológicamente. Alguns espécimes foram analisados em meio de Hoyer enquanto outros foram corados com tricrômico de Gomori. Informações adicionais sobre a morfologia da espécie são propostas: barra dorsal com saliência dorso-medial; órgão copulatório com 5 a 6 espirais e base trilobada desenvolvida; extremidade proximal da peça acessória achatada e com borda irregular, extremidade distal curvada em torno do seu próprio eixo para exibir uma protuberância em forma de espinho; ovo com dois grandes filamentos aderidos lateralmente à sua extremidade posterior. Tabelas de medidas comparativas e uma chave dicotômica para identificação das espécies de *Aphanoblastella* são apresentadas.

*Palavras-chave:* Monogenea, taxonomia, região Neotropical, parasito.

## 1. Introdução

O jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824) (Siluriformes: Heptapteridae) é um peixe bentônico encontrado na região Neotropical, do sul do México à Argentina (Venancio et al., 2010). Com produção anual de 756.748 Kg no Estado de Santa Catarina (Silveira et al., 2012), é apreciado para a aquicultura no sul do Brasil devido a sua tolerância à dietas artificiais e variações ambientais, rápido crescimento, fácil manejo e boa aceitação no mercado consumidor (Marchioro e Baldisserotto, 1999; Cardoso et al., 2004; Carneiro et al., 2006).

Durante um estudo parasitológico em *R. quelen* coletado em uma piscicultura no sul do país, espécimes de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Monogenea, Dactylogyridae) foram encontrados nas brânquias do hospedeiro. Originalmente descrito por Suriano (1986) como *Uroleidoides mastigatus* em *Rhamdia sapo* (= *R. quelen*) na Laguna de Chascomús, Provincia de Buenos Aires (Argentina), a espécie foi após transferida para o gênero *Aphanoblastella* Kritsky, Mendoza-Franco e Scholz, 2000 (Kritsky et al., 2000).

Até o presente, seis espécies são descritas para o gênero: *Aphanoblastella travassosi* (Price, 1938) (espécie-tipo) parasito de *Rhamdia* spp. no Panamá (Mendoza-Franco et al., 2007), México (Mendoza-Franco et al., 1999; Kritsky et al. 2000), Trinidad e Tobago (Molnar et al., 1974), Nicarágua (Günther, 1864) (Mendoza-Franco et al., 2003) e de *Pimelodella laticeps* Eigenmann, 1917 na Argentina (Suriano, 1986); *A. robustus* (Mizelle e Kritsky, 1969) em *Rhamdia* sp. no Brasil (Mizelle e Kritsky, 1969); *A. mastigatus* em *R. sapo* (= *R. quelen*) na Argentina (Suriano, 1986) e Brasil (Abdallah, 2009; Azevedo et al. 2010); *A. chagresii* Mendoza-Franco, Aguirre-Macedo e Vidal-Martínez, 2007 em *Pimelodella chagresi* (Steindachner, 1877) no Panamá (Mendoza-Franco et al., 2007); *A. juizforense* Carvalho, Roland-Tavares e Luque, 2009 em *R. quelen* no Brasil (Carvalho et al., 2009) e *A. aurorae* Mendoza-Palmero, Scholz, Mendoza-Franco e Kuchta, 2012 em *Goeldiella eques* (Müller e Troschel, 1849) na Amazônia Peruana (Mendoza-Palmero et al., 2012).

Neste estudo, os autores tiveram como objetivo caracterizar morfológicamente espécimes de *A. mastigatus* coletados no sul do Brasil e propor informações morfológicas adicionais para a espécie. Tabelas de medidas comparativas para *Aphanoblastella* spp. são apresentadas, assim como uma chave dicotômica para identificação das espécies.

## 2. Material e métodos

### Coleta dos peixes

Quinze jundiás *R. quelen* foram coletados na piscicultura Panamá (27° 57' 38" S, 48° 45' 27" W), Município de Paulo Lopes, Estado de Santa Catarina, Brasil. Os peixes foram transportados em sacos plásticos com oxigênio até o laboratório para análise parasitológica.

Os arcos branquiais foram removidos e colocados em frascos contendo álcool 95%. Após, os parasitos fixados foram isolados dos arcos e, enquanto alguns foram montados em meio de Hoyer (Kritsky et al., 1995) para estudo das estruturas esclerotizadas, outros foram corados com tricrômico de Gomori (Humason, 1979) para estudo da morfologia interna.

Os desenhos esquemáticos foram realizados a partir de micrografias obtidas por meio de câmera acoplada ao microscópio de contraste de fase. Medidas estão em micrômetros; a média apresentada é seguida do desvio padrão ( $n > 30$ ) e valores mínimo e máximo entre parênteses. Os critérios utilizados para mensuração das estruturas esclerotizadas do haptor seguiram os propostos por Suriano (1981).

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos do Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC/23080.029980/2009-21).

## 3. Resultados

### *Aphanoblastella mastigatus*

(Suriano, 1986) Kritsky, Mendoza-Franco e Scholz, 2000  
(Figura 1, A - G)

*Hospedeiro-tipo e localidade:* *Rhamdia sapo* (= *R. quelen*): Laguna de Chascomús, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

*Localização:* brânquias.

*Espécimes estudados:* 46 espécimes (33 montados em meio Hoyer; 13 corados com tricrômico de Gomori).

*Espécimes depositados:* espécimes voucher foram depositados na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro (CHIOC n.).

*Descrição dos espécimes estudados:* Corpo dividido em região cefálica, tronco, pedúnculo e haptor. Tegumento fino e liso. Região cefálica com três lobos, dois laterais com 3 órgãos da cabeça cada e um lobo central com 1 par de órgãos da cabeça. Glândulas cefálicas não observadas. Dois

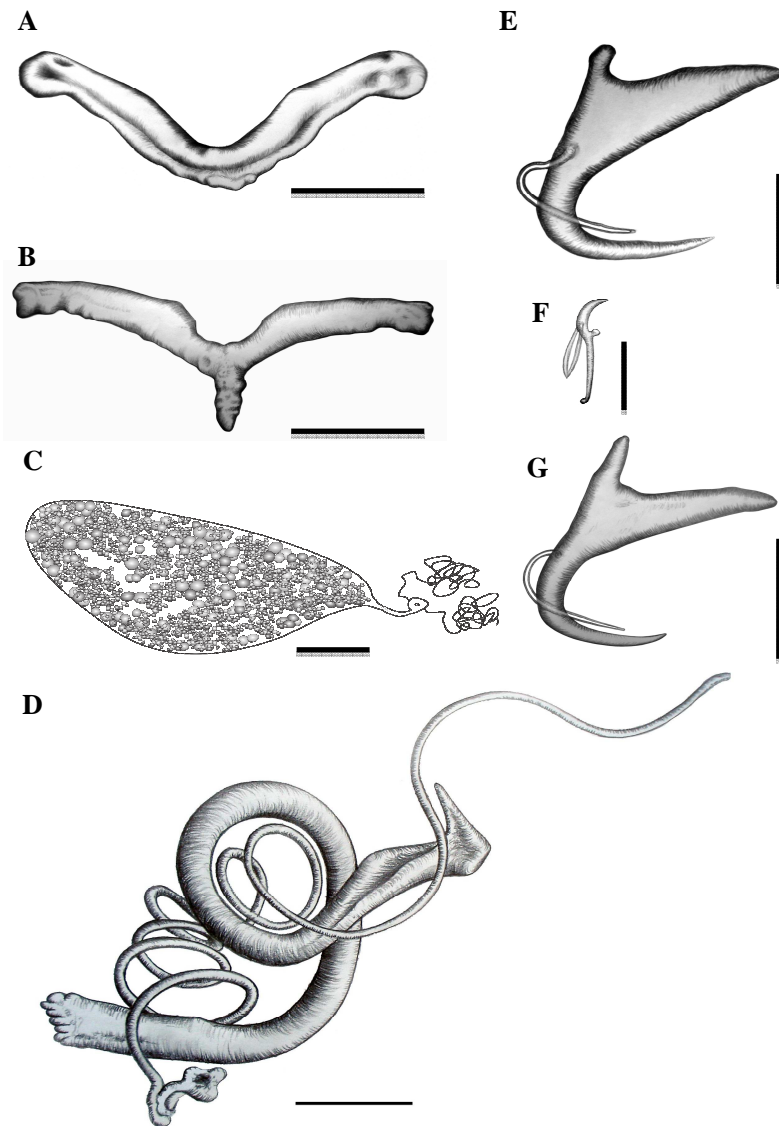


pares de olhos compostos por inúmeros grânulos pequenos, ovais; par posterior maior e mais próximo do que o par anterior. Boca médio-ventral. Faringe muscular, esôfago desenvolvido. Dois cecos intestinais confluentes posteriormente. Poro genital muscular, médio-ventral situado logo após bifurcação do intestino. Gônadas intercecais, tandem; testículo pós-germário. Dois reservatórios prostáticos situados na base do complexo copulatório masculino (CCM). CCM compreende órgão copulatório masculino (OCM) e peça acessória não articulada (Fig. 1D). OCM espiralado, com cinco a seis espirais, as três proximais em sentido horário e as distais em sentido anti-horário; base trilobada desenvolvida. Peça acessória cilíndrica com 1 espiral. Extremidade proximal da peça acessória achatada e com borda irregular; a extremidade distal faz uma ligeira curva em torno do seu próprio eixo exibindo uma protuberância desenvolvida em forma de espinho perpendicular ao eixo principal da peça acessória (Figura 1D). Receptáculo seminal pré-germário. Germário subsférico, pré-testicular e intercecal. Oótipo não observado. Abertura vaginal sinistro-ventral; canal vaginal não observado. Vitelária folicular, co-extensiva com cecos intestinais. Haptor armado com 14 ganchos iguais em tamanho e forma (Fig. 1F). Um par de âncoras ventrais, raiz superficial representando quase três vezes o tamanho da raiz profunda, ponta uniformemente recurvada (Fig. 1G; tabela 1); as âncoras estão conectadas por uma barra transversal ventral em forma de Y, com notável projeção postero-mediana (Fig. 1B). Um par de âncoras dorsais, raiz superficial representando quatro vezes o tamanho da raiz profunda, ponta uniformemente recurvada (Fig. 1E; tabela 1); as âncoras estão conectadas por uma barra transversal dorsal com discreta saliência dorso-medial (Fig. 1A). Ovo com forma alongada; extremidade posterior do ovo com prolongamento estreito terminando em uma porção em forma de bulbo com um pequeno orifício em seu centro; desta porção, dois grandes filamentos estão aderidos lateralmente (Fig. 1C).

*Emenda da diagnose da espécie:* Além das demais características descritas por Suriano (1986), *Aphanoblastella mastigatus* apresenta barra dorsal com discreta saliência dorso-medial. Extremidade posterior do ovo com dois grandes filamentos aderidos lateralmente. Extremidade proximal da peça acessória achatada e com borda irregular; extremidade distal com protuberância desenvolvida em forma de espinho perpendicular ao eixo principal da peça acessória.

**Tabela 1.** Dimensões de *Aphanoblastella mastigatus*. <sup>CT</sup>: comprimento total; <sup>L</sup>: largura; <sup>D</sup>: diâmetro; **OCM**: órgão copulatório masculino.

<i>Aphanoblastella mastigatus</i>			
Fonte	Presente estudo	Suriano (1986)	Abdallah (2009)
Localidade	Paulo Lopes, Santa Catarina, Brasil	Laguna de Chascomús, Buenos Aires, Argentina	rio Guandu, Rio de Janeiro, Brasil
Número de espécimes	46	25	4
<b>Corpo</b> <sup>CT</sup>	694 ± 94 (483 - 909)	734 (450 - 1050)	618 (514 - 788)
<b>Corpo</b> <sup>L</sup>	137 ± 31 (86 - 208)	155 (110 - 200)	117 (92 - 132)
<b>Âncora ventral</b> <sup>CT</sup>	28,5 ± 1,6 (23,6 - 31,3)	30,7 (28 - 35)	30 (23 - 38)
Raiz superficial <sup>CT</sup>	13,9 ± 1,9 (9,3 - 15)	13,8 (10 - 15)	-
Raiz profunda <sup>CT</sup>	4,8 ± 1,4 (2,2 - 8,5)	3,5 (3 - 6)	-
<b>Âncora dorsal</b> <sup>CT</sup>	30,4 ± 1,7 (26,5 - 32,7)	36,50 (32 - 40)	33 (30 - 37)
Raiz superficial <sup>CT</sup>	12,8 ± 1,6 (10,7 - 16,5)	12 (10 - 15)	-
Raiz profunda <sup>CT</sup>	3,1 ± 0,8 (2,0 - 5,5)	3,5 (2 - 5)	-
<b>Barra ventral</b> <sup>CT</sup>	38,0 ± 8,0 (17,1 - 53,7)	39 (37 - 45)	-
<b>Barra dorsal</b> <sup>CT</sup>	42,2 ± 6,8 (22,8 - 55,0)	39 (35 - 43)	-
<b>Gancho</b> <sup>CT</sup>	15,6 ± 0,8 (13,4 - 17,5)	14,5 (12 - 18)	12 (11 - 13)
<b>Faringe</b> <sup>D</sup>	37,4 ± 6,6 (27,7 - 66,3)	45 (30 - 65)	23 (16 - 29)
<b>OCM</b> <sup>CT</sup>	233 ± 15 (198 - 260)	205 (150 - 270)	194 (153 - 236)
<b>Peça acessória</b> <sup>CT</sup>	117 ± 13 (94 - 144)	120 (90 - 170)	108 (84 - 140)



**Figura 1.** *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) parasito de *Rhamdia quelen*, Santa Catarina, Brasil. **A.** Barra dorsal. **B.** Barra ventral. **C.** Ovo. **D.** Complexo copulatório masculino. **E.** Âncora dorsal. **F.** Gancho. **G.** Âncora ventral. Barras: 10  $\mu\text{m}$  (A, B), 15  $\mu\text{m}$  (C, D, E, G) e 5  $\mu\text{m}$  (F).

**Tabela 2:** Dimensões de *Aphanoblastella* spp. <sup>CT</sup>: comprimento total; <sup>L</sup>: largura; <sup>D</sup>: diâmetro; **OCM**: órgão copulatório masculino.

<i>Aphanoblastella</i> spp.			
Espécie	<i>A. robustus</i>	<i>A. travassosi</i>	<i>A. chagresii</i>
<b>Fonte</b>	Mizelle e Kritsky (1969)	Kritsky et al. (2000)	Mendoza-Franco et al. (2007)
<b>Localidade</b>	Bacia do rio Amazonas, Brasil	Yucatán, México	rio Frijolito, Panamá
<b>Número de espécimes</b>	20	4 - 32	5 - 28
<b>Corpo</b> <sup>CT</sup>	760 (565 - 897)	282 (204 - 364)	236 (175 - 350)
<b>Corpo</b> <sup>L</sup>	113 (106 - 138)	104 (77 - 127)	63 (42 - 82)
<b>Âncora ventral</b> <sup>CT</sup>	27 (25 - 28)	22 (21 - 24)	20 (19 - 20)
<b>Âncora dorsal</b> <sup>CT</sup>	30 (28 - 31)	24 (21 - 2-7)	16 (16 - 17)
<b>Barra ventral</b> <sup>CT</sup>	38 (35 - 42)	32 (29 - 37)	23 (20 - 28)
<b>Barra dorsal</b> <sup>CT</sup>	43 (38 - 48)	37 (31 - 44)	24 (20 - 28)
<b>Gancho</b> <sup>CT</sup>	Par 5 - 12; 13; outros: 14	13 (12 - 14)	Pares 1, 3 - 7; 14 (13 - 14) Par 2: 10 (10 - 11)
<b>Faringe</b> <sup>D</sup>	31 (27 - 38)	28 (21 - 33)	19 (14 - 22)
<b>OCM</b> <sup>CT</sup>	27 (20 - 32)	41 (38 - 45)	16 (15 - 17)
<b>Peça acessória</b> <sup>CT</sup>	25 (23 - 28)	31 (28 - 36)	18 (15 - 22)

Tabela 2. Continuação.

<i>Aphanoblastella</i> spp.		
Espécie	<i>A. juizforense</i>	<i>A. aurorae</i>
Fonte	Carvalho et al. (2009)	Mendoza-Palmero et al. (2012)
Localidade	Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil	Santa Clara, Iquitos, Peru
Número de espécimes	20	20
Corpo <sup>CT</sup>	781 (680 - 1000)	289 (225 - 343)
Corpo <sup>L</sup>	101 (70 - 130)	47 (40 - 56)
Âncora ventral <sup>CT</sup>	37 (33 - 38)	25 (23 - 26)
Âncora dorsal <sup>CT</sup>	40 (30 - 53)	22 (21 - 23)
Barra ventral <sup>CT</sup>	49 (40 - 55)	29 (26 - 31)
Barra dorsal <sup>CT</sup>	50 (43 - 55)	26 (24 - 28)
Gancho <sup>CT</sup>	13 (12 - 14)	-
Faringe <sup>D</sup>	43 (35 - 50)	18 (16 - 20)
OCM <sup>CT</sup>	74 (63 - 91)	48 (35 - 68)
Peça acessória <sup>CT</sup>	52 (35 - 70)	51 (44 - 59)

## Discussão

*Aphanoblastella* foi proposto por Kritsky et al. (2000) para agrupar espécies parasitas de brânquias de Siluriformes da região Neotropical. O gênero é caracterizado, em parte, por apresentar: (1) barra ventral com projeção postero-mediana bem desenvolvida, (2) ausência de projeções na barra dorsal, (3) vagina não esclerotizada e (4) peça acessória não articulada.

Em contradição com a descrição original do gênero, Mendoza-Palmero et al. (2012) reconheceram uma vagina esclerotizada em *A. aurorae*; já Mendoza-Palmero et al. (2012) e Carvalho et al. (2009) observaram a presença de uma projeção mediana na barra dorsal de *A. aurorae* e *A. juizforense*, respectivamente. Neste estudo, não foi possível observar o canal vaginal em *A. mastigatus*, já que nenhuma das técnicas (diafanização e coloração) evidenciaram tal estrutura. Embora a descrição original de *A. mastigatus* feita por Suriano (1986) não demonstre a existência de qualquer tipo de projeção na barra dorsal, neste estudo foi possível constatar a presença de uma saliência dorso-medial para a espécie.

Além disso, Suriano (1986) não incluiu a presença de dois longos filamentos aderidos às laterais da porção distal em forma de bulbo do ovo de *A. mastigatus*, nem a presença de uma protuberância em forma de espinho na extremidade distal da peça acessória e borda achatada irregular em sua extremidade proximal. Os autores propõem a inclusão dessas características para diagnose da espécie.

De acordo com as descrições originais, *A. robustus*, *A. juizforense* e *A. aurorae* apresentam um orifício em suas âncoras (em forma de triângulo para *A. juizforense*). Este caráter, que também está presente em diversas outras espécies de Monogenea como, por exemplo, *Thaparocleidus pangasi* (Tripathi, 1957) e *T. bahari* Pariselle, Lim e Lambert, 2001 (Ancylo-discoidinae) de pangasídeos *Pangasius pangasius* (Hamilton, 1822) e *Pangasius kinabatanganensis* Roberts e Vidhayanon, 1991, respectivamente, do sudeste Asiático (veja Pariselle et al., 2001), não foi observado nem nos espécimes de *A. mastigatus* analisados neste estudo, nem nos registros prévios para a espécie oferecidos por Suriano (1986) e Abdallah (2009).

*Aphanoblastella mastigatus* distingue-se de todos os seus congêneros pela configuração do complexo copulatório masculino (CCM): é a única espécie do gênero com peça acessória em espiral (com 1 volta); além disso, o comprimento total do órgão copulatório masculino excede em mais de duas vezes o tamanho das outras espécies (Tabelas 1 e 2).

A Tabela 1 apresenta a variação morfológica de algumas estruturas entre indivíduos de *A. mastigatus* provenientes de diferentes regiões: o comprimento total da barra dorsal foi menor nos espécimes analisados no presente estudo; com relação ao OCM, Abdallah (2009) observou 4 a 5 espirais em espécimes de *A. mastigatus* coletados no rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, assim como Suriano (1986) em espécimes coletados na laguna de Chascomús, Província de Buenos Aires. De acordo com Abdallah (2009), apesar das dimensões dos espécimes serem menores do que as apresentadas por Suriano (1986), a morfologia é similar. Diferentemente, espécimes analisados no presente estudo apresentaram 5 a 6 espirais no OCM, com média de comprimento total maior do que os registros anteriores para a espécie. As outras estruturas destacadas na Tabela 1 apresentaram medidas similares entre os diferentes registros para *A. mastigatus*.

### **Chave de Identificação para as espécies de *Aphanoblastella* Kritsky, Mendoza-Franco e Scholz, 2000**

1. Projeção postero-mediana na barra dorsal presente ..... 2
- 1'. Projeção postero-mediana na barra dorsal ausente ..... 3
  
2. Vagina esclerotizada em forma de flecha ..... *A. aurorae*  
 Notável projeção postero-mediana na barra dorsal; Âncora dorsal com um orifício na base, órgão copulatório masculino com 2,5 espirais no sentido anti-horário. Hospedeiro-tipo: *Goeldiella eques* (Muller e Troschel, 1849).
- 2'. Vagina em forma de um tubo diagonal, não esclerotizada ..... *A. juizforense*  
 Pequena projeção postero-mediana na barra dorsal; Barra ventral robusta, com projeção postero-mediana triangular espessa; órgão copulatório masculino com uma espiral em sentido anti-horário; peça acessória com 52 µm de comprimento. Hospedeiro-tipo: *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824).
  
3. Projeção postero-mediana bem desenvolvida na barra ventral ..... 4
- 3'. Projeção postero-mediana muito pouco desenvolvida na barra ventral ..... *A. chagresii*  
 Peça acessória com espessura variável encobrindo parcialmente órgão copulatório masculino (OCM). OCM 16 µm de comprimento, sinuoso, e com 1 espiral. Hospedeiro-tipo: *Pimelodella chagresi* (Steindachner, 1877).

4. Órgão copulatório masculino (OCM) com menos de 4 espirais .....5
- 4'. Órgão copulatório masculino (OCM) com mais de 4 espirais .....*A. mastigatus*  
OCM com quatro a seis espirais e ~ 200 µm de comprimento. Peça acessória com uma espiral, extremidade distal faz uma ligeira curva em torno do seu próprio eixo para exibir uma protuberância bem desenvolvida em forma de espinho. Barra ventral em forma de Y com projeção postero-medial. Barra dorsal com discreta saliência dorso-medial. Hospedeiro-tipo: *R. quelen*.
5. OCM menor que 32 µm de comprimento ..... *A. robustus*  
OCM com 2 a 3 ½ espirais, 27 µm de comprimento; peça acessória 25 µm de comprimento. Hospedeiro-tipo: *Rhamdia* sp.
- 5'. OCM maior que 38 µm de comprimento .....*A. travassosi*  
OCM 41 µm de comprimento, com duas ondulações; peça acessória 31 (28 - 36) µm reta, em forma de haste, com extremidade aguda. Hospedeiro-tipo: *Rhamdia laticauda* (Kner, 1858) (= *Rhamdia rogersi*).

### Agradecimentos

Os autores agradecem o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro a M.L. Martins (CNPq 302493/2010-7) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro à N.C. Marchiori e J. Pereira Jr. (Proc. 1272/11) e E. Vasconcellos pela confecção das ilustrações.

### Referências

- ABDALLAH, VD., 2009. Biodiversidade dos Monogenéticos (Platyhelminthes: Monogenea) parasitos de peixes do Rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 72 p. Tese de Doutorado em Ciências Veterinárias.
- AZEVEDO, RK., ABDALLAH, VD. e LUQUE, JL., 2010. Acanthocephala, Annelida, Arthropoda, Myxozoa, Nematoda and Platyhelminthes parasites of fishes from the Guandu river, Rio de Janeiro, Brazil. Checklist, vol. 6, no. 4, p. 659 - 667.
- CARDOSO, AP., NETO, JR., MEDEIROS, TS., KNÖPER, MA. e LAZZARI, R., 2004. Criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*)



- alimentadas com rações granuladas contendo fígados ou hidrolisados. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, vol. 26, no. 4, p. 457 - 462.
- CARNEIRO, PCF., CIRIO, SM. e SCHORER, M., 2006. Estudo anatomopatológico de alevinos de jundiá infectados experimentalmente por *Ichthyophthirius multifiliis* e submetidos a tratamentos convencionais. *Archives of Veterinary Science*, vol. 11, no. 1, p. 33 - 38.
- CARVALHO, AR., TAVARES, LER. e LUQUE, JL., 2009. A new species of *Aphanoblastella* (Monogenea: Dactylogyridae) parasitic on *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) from Southeastern Brazil. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, vol. 31, no. 3, p. 323 - 325.
- HUMASON, GL. 1979. *Animal Tissue Techniques*. 4th ed. San Francisco: W.H. Freeman and Company, 661 p.
- KRITSKY, DC., BOEGER, WA. e POPAZOGLO, F., 1995. Neotropical Monogeneoidea. 22. Variation in *Scleroductus* species (Gyrodactylidea, Gyrodactylidae) from Siluriformes fishes of Southeastern Brazil. *Journal of Helminthology Society of Washington*, vol. 62, no. 1, p. 53 - 56.
- KRITSKY, DC., MENDOZA-FRANCO, EF. e SCHOLZ, T., 2000. Neotropical Monogeneoidea. 36. Dactylogyrids from the gills of *Rhamdia guatemalensis* (Siluriformes: Pimelodidae) from cenotes of the Yucatán Peninsula, Mexico, with proposal of *Ameloblastella* gen. n. and *Aphanoblastella* gen. n. (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae). *Comparative Parasitology*, vol. 67, n. 1, p. 76 - 84.
- MARCHIORO, MI. e BALDISSEROTTO, B., 1999. Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824) à variação de salinidade da água. *Ciência Rural*, vol. 29, no. 2, p. 318 - 318.
- MENDOZA-FRANCO, EF., SCHOLZ, T., VIVAS-RODRÍGUEZ, C. e VARGAS-VASQUÉZ, J., 1999. Monogeneans of freshwater fishes from cenotes (sinkholes) of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Folia Parasitologica*, vol. 46, no. 4, p. 267 - 273.
- MENDOZA-FRANCO, EF., POSEL, P. e DUMAILO, S., 2003. Monogeneans (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae) of freshwater fishes from the Caribbean coast of Nicaragua. *Comparative Parasitology*, vol. 70, no. 1, p. 32 - 41.
- MENDOZA-FRANCO, EF., AGUIRRE-MACEDO, ML. e VIDAL-MARTÍNEZ, VM., 2007. New and previously described species of Dactylogyridae (Monogeneoidea) from the gills of Panamanian

- freshwater fishes (Teleostei). *Journal of Parasitology*, vol. 93, no. 4, p. 761 - 771.
- MENDOZA-PALMERO, CA., SCHOLZ, T., MENDOZA-FRANCO, EF. e KUCHTA, R., 2012. New species and geographical records of Dactylogyrids (Monogenea) of catfish (Siluriformes) from the peruvian Amazonia. *Journal of Parasitology*, vol. 98, no. 3, p. 484 - 497.
- MIZELLE, JD. e KRITSKY, DC., 1969. Studies on Monogenetic Trematodes XXXIX. Exotic species of Monopisthocotylea with the proposal of *Archidiplectanum* gen. n. and *Longihaptor* gen. n. *The American Midland Naturalist*, vol. 81, no. 2, p. 371 - 386.
- MOLNAR, K., HANECK, G. e FERNANDO, CH., 1974. Ancyrocephalids (Monogenea) from freshwater fishes of Trinidad. *Journal of Parasitology*, vol. 60, no. 6, p. 914 - 920.
- PARISELLE, A., LIM, LHS. e LAMBERT, A., 2001. Monogeneans from Pangasiidae (Siluriformes) in Southeast Asia: I. Five new species of *Thaparocleidus* Jain, 1952 (Ancylo-discoidinae) from *Pangasius pangasius*, *P. kinabatanganensis*, *P. rheophilus* and *P. nieuwenhuisii*. *Parasite*, vol. 8, p. 127 - 135.
- SILVEIRA, FS., SILVA, FM. e GRAEFF, A., 2012. Desempenho da Pesca e da Aquicultura em 2011. Florianópolis: Instituto CEPA/SC/Epagri/Acaq. p. 124 - 133.
- SURIANO, DM., 1981. *Androspira* gen. nov. (Monogenea, Ancyrocephalinae). Parasito branquial de *Pseudocurimata gilberti* (Quoy & Gaimard, 1824) Fernandez-Yepes, 1948 (Pisces Tetragonopteridae) de la Laguna de Chascomús, Republica Argentina. *Neotropica*, vol. 27, no. 77, p. 67 - 78.
- SURIANO, DM., 1986. El genero *Urocleidoides* Mizelle y Price, 1964 (Monogenea: Ancyrocephalidae). Anatomia y posicion sistematica. *Urocleidoides mastigatus* sp. nov. y *U. travassosi* (Price, 1934) Molnar, Hanek y Fernando, 1974 parasitas de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1917 (Pices: Siluriformes) de la Laguna de Chascomus, Republica Argentina. *Physis*, vol. 107, p. 73 - 80.
- VENANCIO, ACP., AGUIAR, GR., LOPES, PS. e ALVES, DR., 2010. Metazoan parasites of Mandi-Amarelo *Pimelodus maculatus* and of jundiá *Rhamdia quelen* (Osteichthyes: Siluriformes) of Paraíba do Sul River, Volta Redonda, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, vol. 19, no. 3, p. 157 - 163.

**CAPÍTULO III - Estágios iniciais de desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Monogenea, Dactylogyridae) com referência especial ao ovo e oncomiracídio**

O artigo será enviado para publicação no periódico **Parasitology Research** (ISSN: 1432 - 1955), tendo sido redigido segundo as normas da referida revista científica.

**Estágios iniciais de desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) com referência especial ao ovo e oncomiracídio**

Natalia C. Marchiori <sup>a\*</sup>; Karen R. Tancredo <sup>a</sup>; Joaber Pereira Jr. <sup>b</sup>; Luis A. S. Castro <sup>c</sup>; Maurício L. Martins <sup>a</sup>

<sup>a\*</sup> AQUOS - Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Rodovia Admar Gonzaga, 1346, 88040-900; Florianópolis, SC, Brasil. Tel: (48) 3721 9923. E-mail: namarchiori@gmail.com

<sup>b</sup> Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos, PPG Aquicultura, I. Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, Brasil.

<sup>c</sup> Embrapa Clima Temperado, Rodovia BR 392, km 78 Cx. Postal 403, 96010-971; Pelotas, RS, Brasil.

## Resumo

Os estágios iniciais de desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus* (Monogenea, Dactylogyridae), parasito de brânquias do jundiá *Rhamdia quelen* foram investigados por meio de análise em microscopia de contraste de fase e estereomicroscópio. A embriogenia de *A. mastigatus* ocorreu em 72 horas. A larva nadou ativamente por aproximadamente três horas; os movimentos foram rápidos, erráticos, para cima e para baixo na coluna d'água e às vezes circulares, intercalados com pequenos períodos de descanso, onde a larva nadou lentamente por alguns segundos. Larva oncomiracídio com células ciliadas em três zonas: uma anterior, duas medianas (uma em cada lado do corpo) e outra no cone ciliado; estas células são arredondadas, não aderidas umas às outras e compostas por pequenos grânulos refringentes e inúmeros cílios longos e finos na superfície. Haptor armado com sete pares de ganchos e um par de âncoras dorsais. Dois dias após adesão ao hospedeiro, uma delicada barra dorsal foi observada no haptor da pós-oncomiracídio. Quatro a cinco dias após adesão, a pós-larva aumentou em tamanho: enquanto o haptor completou o seu desenvolvimento, os órgãos reprodutivos foram observados ainda em desenvolvimento. Acredita-se que *A. mastigatus* pode atingir maturidade sexual sete dias após adesão ao hospedeiro.

Palavras-chave: parasito, ciclo de vida, ovo, larva, infestação experimental.

## Introdução

Parasitas Monogenea van Beneden, 1858 representam importante fator de risco ao sucesso de atividades de cultivo de peixes, não só no Brasil mas no mundo (Moraes e Martins 2004; Johansen et al. 2011). Estes estão incluídos entre os parasitos com maior habilidade de dispersão e impacto epizoótico (Pereira Jr. et al. 2006), proliferando rapidamente em sistemas de cultivo na falta de um manejo apropriado (Mooney et al. 2008).

O conhecimento de informações acerca do ovo, da larva oncomiracídio e desenvolvimento pós-larval de Monogenea tem aumentado nos últimos anos na medida em que aumentam as informações referentes à taxa de oviposição, características de sobrevivência larval e comportamento natatório que podem aumentar as chances de infestação ao hospedeiro (Llewellyn 1963; Bychowsky e

Nagibina 1975; Gannicott e Tinsley 1998; Chisholm e Whittington 2007; Hirazawa et al. 2010). Estes dados são importantes a fim de permitir o desenvolvimento de estratégias efetivas de controle parasitário em situações de cultivo. Todavia, até o presente, poucos estudos têm sido dedicados em documentar esses estágios de vida de Monogenea encontrados no Brasil. Excepcionalmente, Pamplona-Basilio et al. (2001) caracterizaram o ovo de *Anacanthorus penilabiatu*s Boeger, Husak e Martins, 1993 (Dactylogyridae) em peixes Serrasalmidae e Characidae no nordeste do Brasil com um pequeno filamento em forma de espinho; Abdallah et al. (2012) descreveram o ovo de *Jainus leporini* Abdallah, Azevedo e Luque, 2012 (Dactylogyridae) nas brânquias de *Leporinus copelandii* Steindachner 1875 sem nenhum filamento. Já Kohn et al. (2000) observaram um longo filamento no ovo de *Paranaella luquei* Kohn, Baptista-Farias e Cohen, 2000 (Microcotylidae) parasito de *Hypostomus* sp., *Hypostomus regani* (Ihering 1905) e *Rhinelepis aspera* Spix e Agassiz 1829 (Loricariidae).

O objetivo dos autores com este estudo é caracterizar alguns aspectos do desenvolvimento do ovo, da larva oncomiracídio e desenvolvimento pós-larval de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano 1986) parasito do jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard 1824) (Heptapteridae) cultivado no sul do Brasil.

## Material e Métodos

### Hospedeiro, coleta e incubação dos ovos do parasito

Jundiás *R. quelen* foram coletados na piscicultura Panamá (27° 57' 38" S, 48° 45' 27" W), Município de Paulo Lopes, Estado de Santa Catarina, sul do Brasil, em fevereiro de 2012. Os peixes foram aclimatados dentro de um tanque de 70 l equipado com filtro de esponja e aerador por 48 horas, à 24 °C. A coleta dos ovos de *A. mastigatus* expelidos de cada hospedeiro durante o intervalo de 24 horas seguiu a técnica proposta por Marchiori et al. (2013). Quatro lotes de aproximadamente 100 ovos foram transferidos para quatro placas de Petri de 55 mm de diâmetro (100 ovos em cada) com o auxílio de uma pipeta Pasteur e incubados à 24 °C, por meio de placa aquecedora com controle de temperatura microprocessado, no mesmo regime de luz do hospedeiro (12 horas claro) para acompanhamento do desenvolvimento embrionário. Trocas parciais de água (50%) foram realizadas diariamente dentro das placas de Petri utilizando-se a mesma água do

tanque de 70 l onde os hospedeiros foram mantidos.

#### Caracterização do desenvolvimento do ovo

Quarenta ovos foram removidos das placas de Petri, sendo dez ovos a cada intervalo, às 24, 48, 67 e 72 horas após oviposição e montados entre lâmina e lamínula com uma gota d'água para avaliar seu estado de embriogenia. O período de desenvolvimento, definido como o tempo entre a oviposição à eclosão foi estabelecido.

#### Eclosão, atividade natatória e comportamento larval

Oito larvas foram coletadas no início do processo de eclosão (movimentos corporais ativos e vigorosos dentro do ovo com conseqüente abertura do opérculo) e imediatamente transferidas individualmente para outra placa de Petri para subsequente análise em estereomicroscópio ou diretamente para uma gota d'água entre lâmina e lamínula para análise em microscópio de contraste de fase. O comportamento larval nos segundos que antecedem a eclosão foi registrado.

O tempo de natação da larva (até a perda das células epiteliais ciliadas) e comportamento natatório foram avaliados pela observação direta de larvas vivas em estereomicroscópio.

#### Caracterização da larva oncomiracídio

Após a eclosão, larvas oncomiracídios (n = 8) foram transferidas para uma gota d'água entre lâmina e lamínula para análise em microscópio de contraste de fase.

#### Desenvolvimento pós-larval

Quinze *R. quelen* foram submetidos a banho terapêutico de formalina (37%) diluída em água na concentração de 0,2 ml/l durante 1 hora. Após 24 horas, cinco peixes foram eutanasiados a fim de verificar a eficácia da formalina no controle de *A. mastigatus*. Subsequentemente, os dez peixes restantes foram infestados com dez larvas/peixe recentemente eclodidas (estas foram removidas das placas de Petri com o auxílio de uma pipeta Pasteur e colocadas no mesmo aquário (20 l) onde os peixes estavam. Durante sete dias consecutivos, um peixe foi diariamente retirado do aquário e eutanasiado para observação de pós-

larvas nas brânquias do hospedeiro em estereomicroscópio. A determinação da idade com a qual o parasito atinge maturidade sexual foi tentada pela observação de ovos no sistema reprodutor feminino dos espécimes encontrados e/ou pela análise da água do tanque filtrada para observação de eventuais ovos retidos. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos do Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC/23080.029980/2009-21).

#### Microscopia eletrônica de varredura

Ovos e larvas foram fixados em glutaraldeído (GTA) a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pós-fixados em tetróxido de ósmio 2% e desidratados em série crescente de Etanol até a secagem em Ponto Crítico de CO<sub>2</sub> para análise em microscópio eletrônico de varredura (Zeiss DSM-940A) na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA - Clima Temperado), Pelotas, RS, Brasil.

#### Desenhos e dimensões

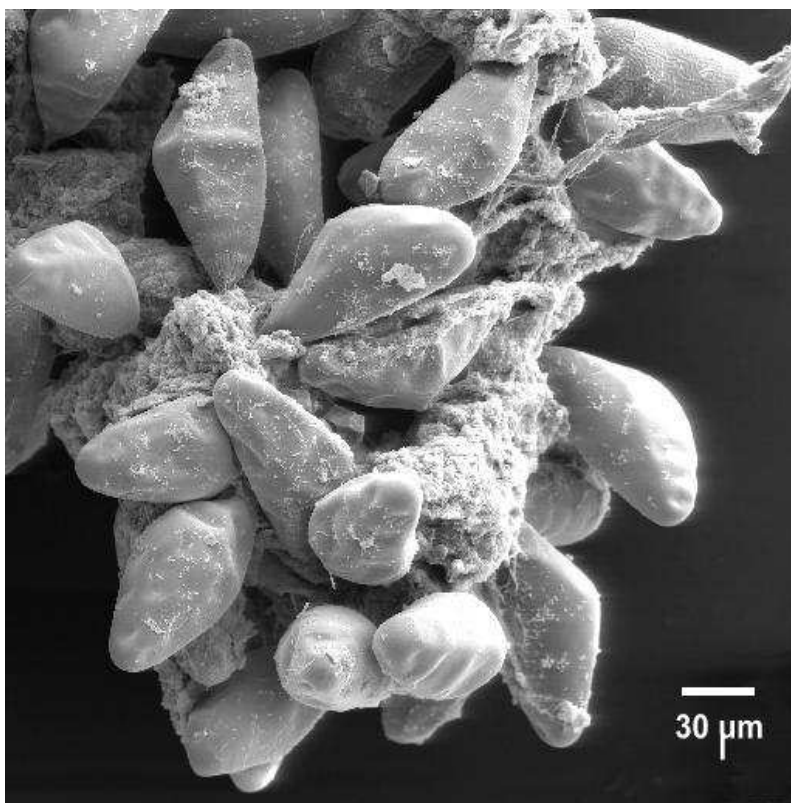
Desenhos esquemáticos de ovos em diferentes estágios de desenvolvimento e oncomiracídeos foram feitos com software Coreldraw X5 a partir de fotomicrografias obtidas com uma câmera fotográfica acoplada ao microscópio de contraste de fase. Medidas estão em micrômetros; a média é seguida do desvio padrão ( $n > 30$ ) e dos valores mínimo e máximo entre parênteses.

### Resultados

#### Ovo

Aglomerados de ovos foram facilmente encontrados enrolados uns aos outros na forma de grandes cordões (Fig. 1). Isto aconteceu devido a presença de dois longos filamentos no ovo. O ovo de *A. mastigatus* possui opérculo e tem forma alongada,  $96,8 \pm 8,9$  (84 - 116;  $n: 40$ )  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $46,6 \pm 4,2$  (44 - 63;  $n: 40$ )  $\mu\text{m}$  de largura. Extremidade posterior com prolongamento estreito terminando em uma porção em forma de bulbo com um pequeno orifício em seu centro; desta porção, dois grandes filamentos estão aderidos lateralmente (Fig. 2).





**Fig. 1** Fotomicrografia eletrônica de varredura de um aglomerado de ovos de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano 1986).

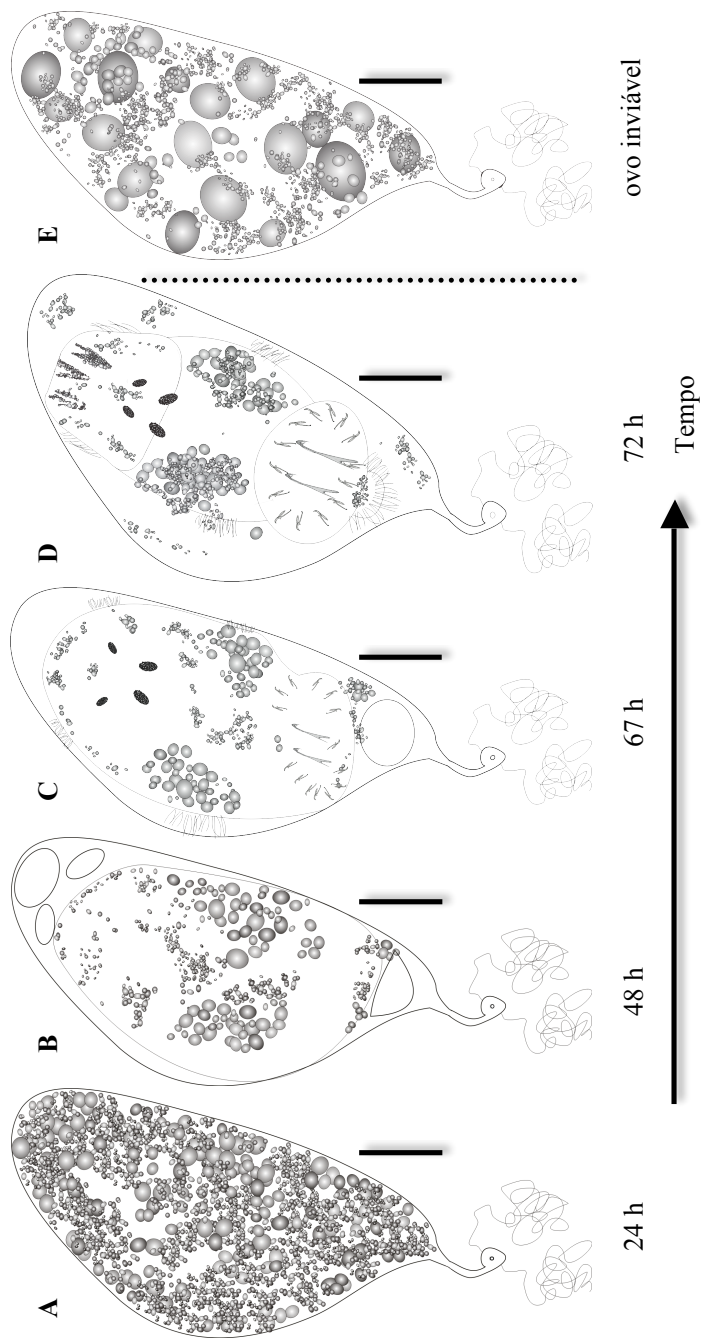
#### Caracterização do desenvolvimento do ovo

Vinte e quatro horas após oviposição, o ovo é claro e cheio de materiais de reserva, provavelmente gotículas lipídicas ou corpos refringentes dispersos por toda a extensão do ovo e com dois tamanhos distintos (um maior que o outro) (Fig. 2A). Às 48 horas da oviposição, a quantidade de materiais de reserva diminui e os corpos refringentes de maior tamanho encontraram-se principalmente concentrados no equador do ovo, enquanto que os de tamanho menor estão ainda, mas menos dispersos, por toda a extensão do ovo. Como resultado, o ovo tem aspecto mais claro. Próximo a extremidade anterior do ovo, três

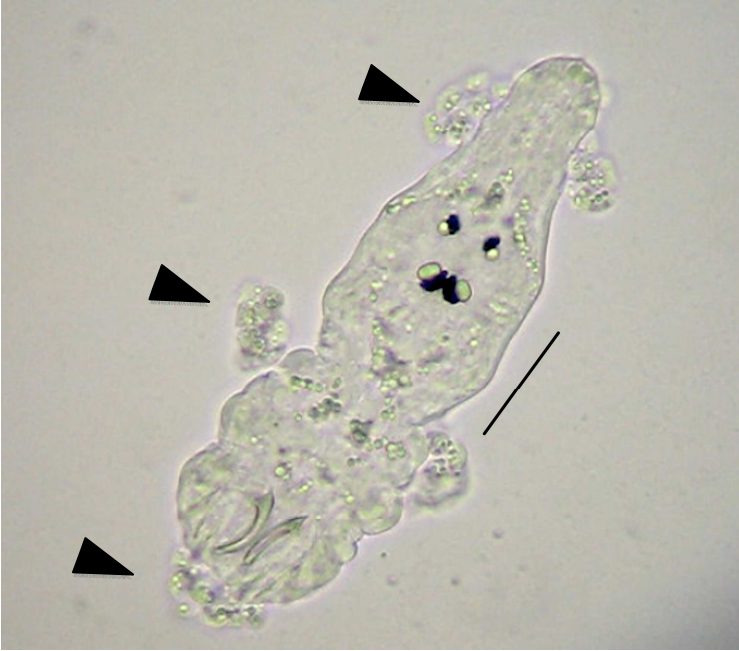
partículas com formato oval foram observadas, uma maior e central e as outras duas menores e lateralmente arranjadas (Fig. 2B); na extremidade posterior, outra partícula oval em posição central foi observada, que permaneceu presente 67 horas após a oviposição, enquanto que as primeiras desapareceram nesse estágio. Neste ponto, o embrião já apresenta forma semelhante à larva oncomiracídio, com dois pares de ocelos, epiderme ciliada não ativa e haptor em construção (Fig. 2C). Não foram registrados movimentos do embrião neste estágio. Às 72 horas da oviposição, o embrião completou seu desenvolvimento: movimentos ativos e vigorosos ocorreram dentro do ovo, incluindo o movimento dos cílios da epiderme ciliada. Haptor com 14 ganchos e um par de âncoras dorsais. Glândulas adesivas presentes e bem desenvolvidas (Fig. 2D). Ovo não-viável facilmente detectável (Fig. 2E), na medida em que seu conteúdo é subdividido em diversas grandes massas arredondadas.

#### Eclosão, atividade natatória larval e comportamento larval

Observação baseada em 8 larvas: No momento da eclosão, a larva oncomiracídio de *A. mastigatus* começa a mover o seu corpo em torno do seu próprio eixo de forma rápida e repetitiva. O opérculo se abre, com conseqüente liberação da larva, graças à pressão promovida pela extremidade anterior do seu corpo. Todo o processo dura aproximadamente 12 segundos. Uma vez eclodida, a larva livre natante é vigorosamente ativa: a natação é errática, incluindo movimentos para cima e para baixo na coluna d'água e outros circulares, intercalados com pequenos períodos de descanso (10 a 40 segundos), onde a larva nada lentamente. Movimento de forte propulsão retoma o período natatório ativo. Após aproximadamente três horas de natação errática (longevidade variou de 3 horas a 3 h 40 min), a larva para de nadar e encontra-se no fundo da placa de Petri. Neste instante, inicia-se o processo de rejeição das células epidérmicas ciliadas (Fig. 3). Movimentos de contração e distensão do corpo seguem o processo até a completa exaustão com subsequente morte da larva.



**Fig. 2** Ovo de *Aphanoblastella mastigattus* (Suriano 1986): A. Vinte e quatro horas após oviposição (HAO); B. 48 HAO; C. 67 HAO; D. 72 HAO; E. Ovo inviável. Barras: 20  $\mu$ m.



**Fig. 3** Rejeição das células epiteliais ciliadas (indicadas por setas) pela larva oncomiracídio de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano 1986). Barra: 30  $\mu\text{m}$ .

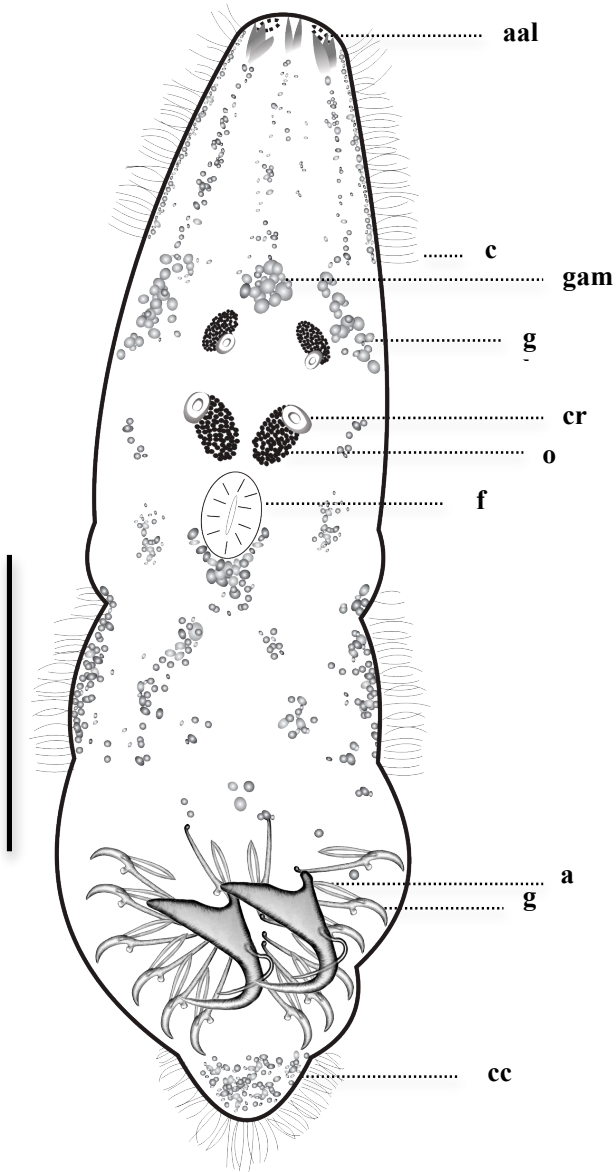
### Oncomiracídio

Observações baseadas em 8 larvas recém eclodidas: Larva 110 (108 - 124, n: 8)  $\mu\text{m}$  de comprimento e 20 (14 - 25, n: 8)  $\mu\text{m}$  de largura. Haptor armado com sete pares de ganchos 10,15 (9,68 - 10,52, n: 8), todos iguais em tamanho e forma, e um par de âncoras dorsais (Figs. 4 e 5). Células ciliadas em três zonas: uma anterior (número de células ciliadas não quantificado), duas medianas (uma em cada lado do corpo; 10 células em cada lado) e outra no cone ciliado (12 - 14 células). Estas células são arredondadas, não aderidas umas às outras e compostas por pequenos grânulos refringentes e inúmeros cílios longos e finos em sua superfície. Dois pares de ocelos compostos por inúmeros grânulos subsféricos, par posterior maior e mais próximo do que o par anterior. Quatro cristalinos; par posterior maior do que par anterior. Boca médio-ventral, faringe muscular. Diversas glândulas associadas com a faringe. Glóbulo terminal ausente. Trato digestório não observado. Glândulas

antero-medianas localizadas logo acima do par anterior de ocelos. Os ductos provenientes dessas glândulas conduzem à extremidade anteromediana, terminando em volume aumentado. Glândulas laterais situadas ao nível do par anterior de ocelos. Os ductos provenientes dessa glândulas conduzem à extremidade anterolateral, terminando em volume aumentado. Duas aberturas anterolaterais presentes (Fig. 4). Glândulas posteriores ausentes ou não reconhecidas. Número total de ductos não determinado. Nenhuma larva foi encontrada durante a análise em microscópio eletrônico de varredura.



**Fig. 4** Fotomicrografia da larva oncomiracídio de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano 1986). Aberturas anterolaterais indicadas por setas pretas. Barra: 30  $\mu\text{m}$ .



**Fig. 5** Desenho diagramático da larva oncomiracidio de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano 1986). **a** âncora, **aal** abertura anterolateral, **gam** glândulas anteromedianas, **c** cílio, **cc** cone ciliado, **cr** cristalino, **o** ocelo, **g** gancho, **gl** glândulas laterais, **f** faringe. Barra: 30  $\mu$ m.

## Desenvolvimento pós-larval

Dois dias após infestação experimental, uma pós-oncomiracídio foi encontrada nas brânquias do hospedeiro. A morfologia era semelhante ao estágio de oncomiracídio, mas ausente de células epidérmicas ciliadas na superfície do corpo. Com comprimento de 140  $\mu\text{m}$  e largura de 44  $\mu\text{m}$ , a pós-larva não apresentou movimento corporal; o aparecimento de uma delicada barra dorsal foi notado. Quatro a cinco dias após adesão, a pós-larva, 160  $\mu\text{m}$  de comprimento e 50  $\mu\text{m}$  de largura aumentou em tamanho: enquanto o haptor completou o seu desenvolvimento, os órgãos reprodutivos estavam ainda em desenvolvimento. Sete dias após a infestação, dois espécimes foram coletados; um deles com 1 ovo em desenvolvimento no interior do útero. Além disso, análise da água filtrada proveniente do tanque onde os peixes foram mantidos revelou a presença de dois ovos morfologicamente similares ao estágio de desenvolvimento em 24 horas após oviposição (Fig. 2A).

## Discussão

Este é o segundo estudo a caracterizar o desenvolvimento inicial de um parasito Monogenea da região Neotropical e o primeiro no Brasil. Neste sentido, Grano-Maldonado et al. (2011) recentemente caracterizaram morfologicamente o ovo e o desenvolvimento larval de *Heterobothrium equadori* (Meserve 1938) (Diclidophoridae) parasito de *Spherooides annulatus* (Jenyns 1842) no México.

A longevidade de oncomiracídios parece variar bastante conforme a espécie e a temperatura da água. De acordo com Gannicott e Tinsley (1998), a temperatura é importante e afeta significativamente a longevidade larval. Estudos em laboratório conduzidos pelos autores em diferentes temperaturas (6 - 22 °C) demonstraram que a larva oncomiracídio de *Discocotyle sagittata* (Leuckart 1842) (Discocotylidae) atingiu longevidade máxima de 96 horas à 6 °C, diminuindo com o aumento da temperatura (26 horas à 22 °C).

Whittington et al. (2000) resumiram brevemente o conhecimento sobre longevidade larval em diferentes famílias de Monogenea. De acordo com os autores, Plectanocotylidae pode viver até 52 horas e Microcotylidae até 24 horas, enquanto que Discocotylidae foi registrada sobrevivendo livre na água por 4-6 horas. Similar à última espécie, a larva oncomiracídio de *Pseudodactylogyrus anguillae* (Yin e Sproston 1948) (Dactylogyridae) sobreviveu 3 a 5 horas com

temperatura da água aproximada de 20 a 22 °C (Buchmann et al. 1987). Por outro lado, Grano-Maldonado et al. (2011) registraram tempo de sobrevivência média de 121,8 horas à 21 °C para *H. ecuadori*. Nossos resultados aproximam-se dos obtidos para Discocotylidae e Dactylogyridae, em que três horas foi o tempo de longevidade média para *A. mastigatus*. Qualquer que seja o grau de influência da temperatura testada (24 °C) para a longevidade larval de *A. mastigatus*, é importante destacar que este resultado foi alcançado quando as larvas foram observadas desde o início do processo de eclosão, individualmente. Se os autores tivessem levado em consideração o tempo de sobrevivência registrado nas placas de Petri onde os ovos foram inicialmente depositados, este resultado teria aumentado consideravelmente na medida em que todos os ovos lançados na água pelas formas adultas do parasito em um intervalo de 24 horas foram incubados juntos.

Características comportamentais do hospedeiro podem estar relacionadas com as estratégias adotadas por parasitos Monogenea a fim de aumentar as chances de infestação, incluindo longevidade da larva e morfologia do ovo. O jundiá *R. quelen* é um peixe bentônico, territorialista e com preferência por ambientes lênticos (Bizerril e Lima 2000; Le Bail et al. 2000; Peil et al. 2007). Neste sentido, é possível que a larva oncomiracídio de *A. mastigatus* precise se deslocar menos para localizar e aderir-se ao hospedeiro. Além disso, a presença de dois grandes filamentos na base posterior dos ovos de *A. mastigatus* permite aos mesmos enrolarem-se uns aos outros. Este aglomerado de ovos assemelha-se a um cordão, o que, por sua vez, pode afundar mais rapidamente do que ovos isolados. Isto pode aumentar as chances de deixá-los mais próximos aos hospedeiro bentônico. Caso esta especulação esteja correta, tal estratégia poderia corroborar com a estratégia sugerida por Whittington e Kearns (1988) para *Diclidophora luscae* (van Beneden e Hesse 1863) (Diclidophoridae) parasito de *Trisopterus luscus* (Linnaeus 1758).

Llewellyn (1963) comentou sobre a dificuldade em estudar as glândulas e ductos de oncomiracídios na medida em que seus produtos de secreção podem nem sempre estar presentes. El-Naggar e Kearns (1983) registraram dois tipos de secreção liberadas pelas glândulas de *Entobdella soleae* (van Beneden e Hesse 1864) (Capsalidae): (1) secreção em forma de haste (mais abundante) e (2) secreção de forma esférica. Apesar de não ter sido possível descrever consistentemente o número de ductos provenientes das glândulas de *A. mastigatus*, assim como o tipo de secreção produzida pelas mesmas devido ao pequeno



número de larvas examinadas, observações do comportamento da larva sugerem que as glândulas laterais podem estar envolvidas no processo de adesão ao hospedeiro. A larva oncomiracídio de *A. mastigatus* possui duas aberturas anterolaterais, por onde foi possível perceber a extensão de alguma secreção para fora do corpo seguida de sua retração para o interior do mesmo. Neste sentido, Cribb et al. (2004) estudaram o mecanismo de adesão anterior de *Merizocotyle icopae* Beverley-Burton e Williams 1989 (Monocotylidae) e concluíram que as extremidades do ductos provenientes das glândulas laterais desembocam em aberturas através das quais podem ser evertidas ou retraídas, dependendo do estado de adesão. De qualquer forma, isto não está claro para *A. mastigatus* e futuros estudos são necessários para elucidar essa questão.

A partir dos dados observados neste estudo, acredita-se que *A. mastigatus* pode atingir maturidade sexual sete dias após a eclosão. Este resultado concorda com os achados de Buchmann (1990) para *P. anguillae* nos quais o autor observou o alcance da maturidade sexual para a espécie sete dias após a infestação à 25 - 30 °C. Mas isso também parece variar bastante de acordo com a espécie parasita: enquanto Bychowsky (1957) *apud* Llewellyn (1963) mostrou que *Dactylogyrus vastator* Nybelin 1924 (Dactylogyridae) leva 6 dias para o alcance da maturidade sexual, Gallien (1935) *apud* Llewellyn (1963) mostrou experimentalmente que para *Polystoma integerrimum* (Froelich 1791) (Polystomatidae) o período correspondente é de 3 anos.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro a M.L. Martins (CNPq 302493/2010-7) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro à N.C. Marchiori e J. Pereira Jr. (Proc. 1272/11).

### **Referências**

- Abdallah VD, Azevedo, R.K., Luque JLF (2012) Three new species of Monogenea (Platyhelminthes) parasites of fish in the Guandu river, southeastern Brazil. *Acta sci Biol sci* 34: 483 - 490
- Bizerril CRSF, Lima NRW (2000) Levantamento da ictiofauna da bacia do Rio Ribeira, Brasil. *Acta Biol Leopoldensia* 22: 103 - 110

- Buchmann K (1990) Influence of temperature on reproduction and survival of *Pseudactylogyrus anguillae* (Monogenea) from the european eel. *Folia Parasitol* 37: 59 - 62
- Buchmann K, Mellergaard S, Koie M (1987) *Pseudactylogyrus* infections in eel: a review. *Dis Aquat Org* 3: 51 - 57
- Bychowsky BE, Nagibina LF (1975) New data on the postembrional development of some members of Monogenoidea. *Parazit* 9: 209 - 219
- Chisholm LA, Whittington ID (2007) The oncomiracidium of *Nasicola klawei* (Monogenea: Capasalidae: Capsalinae). *Parasitol Res* 100: 467 - 471
- Cribb BW, Armstrong WD, Whittington ID (2004) Mechanism of adhesion and detachment at the anterior end of *Merizocotyle icopae* (Monogenea: Monocotylidae) including ultrastructure of the anterior adhesive matrix. *Parasitol* 129: 181 - 190
- El-Naggar MM, Kearns GC (1983) Glands associated with the anterior adhesive areas and body margins in the skin-parasitic monogenean *Entobdella soleae*. *Int J Parasitol* 13: 67 - 81
- Gannicott AM, Tinsley RC (1998) Larval survival characteristics and behaviour of the gill monogenean *Discocotyle sagittata*. *Parasitol* 117: 491 - 498
- Grano-Maldonado M, Roque A, Aguirre H, Fajer-Avila E (2011) Egg morphology, larval development and description of the oncomiracidium of *Heterobothrium ecuadori* (Monogenea: Diclidophoridae) parasitising the bullseye pufferfish, *Sphoeroides annulatus*. *Helminthologia* 48: 51 - 55
- Hirazawa N, Takano R, Hagiwara H, Noguchi M, Narita M (2010) The influence of different water temperatures on *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection, parasite growth, egg production and emerging second generation on amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae) and the histopathological effect of this parasite on fish skin. *Aquaculture* 299: 2 - 7
- Johansen LH, Jensen I, Mikkelsen H, Bjørn P-A, Jansen PA, Bergh O (2011) Disease interaction and pathogens exchange between wild and farmed fish populations with special reference to Norway. *Aquaculture* 315: 167 - 186
- Kohn A, Baptista-Farias MFD, Cohen SC (2000) *Paranaella luquei* gen. et sp. n. (Monogenea: Microcotylidae), a new parasite of Brazilian catfishes. *Folia Parasitol* 47: 279 - 283

- Le Bail PY, Keith P, Planquette P (2000) Atlas de poissons d'eau douce de Guyane (Tome 2, Fascicule II). Paris, Publications Scientifique de MNHN
- Llewellyn J (1963) Larvae and larval development of monogeneans. *Adv Parasitol* 1: 287 - 326
- Marchiori NC, Tancredo K, Roumbedakis K, Gonçalves ELT, Pereira Jr P, Martins ML (2013) New technique for collecting eggs from monogenean parasites. *Exp Parasitol* 134: 138 - 140
- Mooney AJ, Ernst I, Whittington ID (2008) Egg-laying patterns and *in vivo* egg production in the monogenean parasites *Heteraxine heterocerca* and *Benedenia seriolae* from japanese yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Parasitol*, 135: 1295 - 1302
- Moraes FR, Martins ML (2004) Condições predisponentes e principais enfermidades de teleosteos em piscicultura intensiva. In: Cyrino JEP, Urbinati EC, Fracalossi DM, Castagnolli N (eds) Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo, pp 343 - 383
- Pamplona-Basilio MC, Kohn A, Feitosa VA (2001) New host records and description of the egg of *Anacanthorus penilabiatius* (Monogenea, Dactylogyridae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 667 - 668
- Peil SQ, Pouey JLOF, Lopes PRS, Martins CR, Timm G (2007) Adição de vitamina A na dieta de pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Biod Pampeana* 5: 9 - 15
- Pereira Jr J, Vianna RT, Morais NCM (2006) Revisão comentada de parasitos associados a *Rhamdia*. In: ABRAPOA. Sanidade de organismos aquáticos no Brasil. Maringá, pp. 271 - 295
- Whittington ID, Kearns GC (1988) Rapid hatching of mechanically-disturbed eggs of the monogenean gill parasite *Diclidophora luscae*, with observations on sedimentation of egg bundles. *Int J Parasitol* 18: 847 - 852
- Whittington ID, Chisholm LA, Rohde K (2000) The larvae of Monogenea (Platyhelminthes). *Adv Parasitol* 44: 139 - 232

**CAPÍTULO IV - Influência da temperatura e salinidade da água na oviposição, sucesso de eclosão e infestação de *Aphanoblastella mastigatus* (Monogenea, Dactylogyridae) parasito de *Rhamdia quelen***

O artigo será enviado para publicação no periódico **Aquaculture** (ISSN: 0044 - 8486), tendo sido redigido segundo as normas da referida revista científica.

**Influência da temperatura e salinidade da água na oviposição,  
sucesso de eclosão e infestação de *Aphanoblastella mastigatus*  
(Monogenea, Dactylogyridae) parasito de *Rhamdia quelen***

Natalia C. Marchiori <sup>a\*</sup>; Eduardo L. T. Gonçalves <sup>a</sup>; Karen R. Tancredo <sup>a</sup>; Joaber Pereira Jr. <sup>b</sup>; Maurício L. Martins <sup>a</sup>

<sup>a\*</sup> AQUOS - Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Rodovia Admar Gonzaga, 1346, 88040-900; Florianópolis, SC, Brasil. E-mail: namarchiori@gmail.com

<sup>b</sup> Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos, PPG Aquicultura, I. Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, Brasil.

## Resumo

Parâmetros ambientais podem afetar os processos biológicos de diversos organismos invertebrados aquáticos, como os Monogenea. Neste estudo, nós investigamos a oviposição, sucesso de eclosão e infestação de *Aphanoblastella mastigatus*, parasito de jundiá *Rhamdia quelen*, em diferentes condições de temperatura (~ 24 e 28 °C) e salinidade (por meio da adição de cloreto de sódio na água nas concentrações de 0, 5 e 9 g/l) em laboratório. Não houve diferença significativa na taxa de oviposição nem no sucesso de infestação de *A. mastigatus* à 24 e 28 °C; por outro lado, a concentração de 9 g/l de cloreto de sódio na água inviabilizou não só a sobrevivência do parasito mas também a viabilidade dos ovos. Esse resultado indica que seu uso é eficiente como potencial tratamento profilático. A taxa de eclosão dos ovos de *A. mastigatus* foi significativamente maior a 28 °C. A partir de 5 g/l, a mesma foi significativamente menor. Durante um período de 24 horas, dois picos na oviposição ocorreram nos momentos de maior variação da luminosidade (06h15 e 18h15). Futuros estudos são recomendados utilizando intervalos de temperatura e intensidades de infestação experimental maiores para verificar a influência da temperatura na longevidade e sucesso de infestação de *A. mastigatus*.

Palavras-chave: jundiá, parasitologia, qualidade de água, infestação experimental, profilaxia.

## 1. Introdução

Parasitas Monogenea são considerados economicamente importantes agentes patogênicos em Aquicultura (Turgut, 2012). Devido a sua riqueza de espécies e ubiquidade, são um dos parasitos mais estudados em hospedeiros peixes. Whittington (1998) sugeriu que o número de espécies de Monogenea é, no mínimo, tão alto quanto o número de espécies de peixes e uma estimativa incerta proposta pelo autor sugere a existência de mais de 25.000 espécies viventes pertencentes ao referido taxon.

O jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard, 1824) (Heptapteridae), importante espécie de peixe comercialmente cultivada no sul do Brasil, é susceptível à infestação por *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) (Dactylogyridae). Recentemente foi demonstrado experimentalmente que a larva oncomiracídio de *A. mastigatus* eclode em 72 horas após oviposição e que sua longevidade enquanto larva natante é de aproximadamente três horas (Marchiori et al., artigo submetido).

De acordo com Jackson e Tinsley (1998), é esperado que algumas taxas fisiológicas de parasitos Monogenea tais como a produção de ovos sejam influenciadas por alterações ambientais. De fato, diversos estudos indicam que variações na temperatura têm uma influência significativa na dinâmica de populações desses parasitos (Buchmann, 1988; Jackson e Tinsley, 1998; Ernst et al., 2005; Turgut, 2012). Além disso, sabe-se que alterações nos valores de salinidade podem influenciar nos processos biológicos do parasito, sendo estas, por meio de adição de cloreto de sódio na água, uma possível forma de controle de parasitoses por Monogenea (Carneiro et al., 2006; Buchmann et al., 1987; Kubitzka, 2007; Souza-Bastos e Freire, 2009).

Neste estudo, nós investigamos a oviposição, sucesso de eclosão e infestação de *A. mastigatus* em diferentes condições ambientais controladas em laboratório.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Peixes e parasitos

Um total de 125 jundiás foram coletados na piscicultura Panamá (27° 57' 38" S, 48° 45' 27" W) localizada no Município de Paulo Lopes, Estado de Santa Catarina, sul do Brasil, durante o período de janeiro a abril de 2012. Após cada coleta, os peixes foram transportados em sacos

plásticos com oxigênio até o laboratório e aclimatados em um tanque (200 l) equipado com filtro e aerador à temperatura ambiente (24 °C) por 48 horas antes do início de cada experimento.

Os peixes foram alimentados uma vez por dia com ração comercial extrusada (Purina), numa proporção de 3% da biomassa total inicial estimada. A alimentação dos animais foi suspensa nas 24 horas anteriores ao início dos experimentos referentes às taxas de oviposição de *A. mastigatus* em diferentes temperaturas e salinidades da água a fim de evitar a presença de fezes e facilitar a contagem dos ovos através da água filtrada.

Alguns dos principais parâmetros de qualidade de água, a saber oxigênio dissolvido (mg/l), pH, temperatura (°C), condutividade elétrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), alcalinidade (mg  $\text{CaCO}_3/\text{l}$ ) e amônia total (mg/l) foram medidos diariamente, sempre ao final da tarde, por meio de oxímetro digital microprocessado AT 150, pHmetro de bancada AT 350, termômetro de mercúrio, condutivímetro de bancada microprocessado W12D Bel e método colorimétrico Alfakit, respectivamente. Os dados biométricos dos peixes estão apresentados como segue: média aritmética  $\pm$  desvio padrão e valores mínimo e máximo entre parênteses. Os animais submetidos à análise parasitológica foram anestesiados com benzocaína (50 mg/l) e eutanasiados por aprofundamento do estado anestésico. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos do Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC/23080.029980/2009-21).

## 2.2. Coleta e incubação dos ovos

A explicação completa da metodologia utilizada para coleta dos ovos pode ser encontrada em Marchiori et al. (2013), mas uma breve descrição é fornecida aqui: jundiás parasitados foram colocados dentro de uma câmara central (tanque de 20 l com fundo cônico guarnecido com rede de plâncton de 41  $\mu\text{m}$  de abertura de malha para garantir a retenção dos ovos liberados pelo parasito). Ao final de 24 horas, os peixes foram retirados da câmara central, que foi suspensa para esvaziamento da água e retenção dos ovos nas malhas. Estas foram lavadas e seu conteúdo, incluindo os ovos, foi transferido para placas de Petri onde foram incubados até eclosão espontânea. A taxa de oviposição foi calculada como o número de ovos liberados por parasito em 24 horas, segundo Buchmann (1988).



## 2.3 Estrutura experimental

Previamente ao experimento, uma coleta de 30 jundiás foi realizada para assegurar a presença de *A. mastigatus*. Após, os peixes foram distribuídos em unidades experimentais conforme Marchiori et al. (2013). Estas foram utilizadas para cada um dos experimentos realizados, descritos a seguir:

### 2.3.1. Avaliação da influência da temperatura da água na oviposição por *A. mastigatus*

Vinte e quatro jundiás com  $17,82 \pm 2,79$  (12,5 - 24,7) cm de comprimento e  $46,01 \pm 16,10$  (15,0 - 73,8) g de peso foram distribuídos em 12 unidades experimentais, cada unidade com dois peixes por câmara central, durante um período de 24 horas, onde receberam os seguintes tratamentos: (1) peixes mantidos à  $\sim 24^\circ\text{C}$  e (2) peixes mantidos à  $\sim 28^\circ\text{C}$ , com seis repetições para cada grupo. As diferentes temperaturas da água foram ajustadas e controladas com aquecedores submersos com termostato integrado.

### 2.3.2. Avaliação da influência da salinidade da água na oviposição por *A. mastigatus*

Trinta e seis jundiás com  $9,74 \pm 0,75$  (8,7 - 12,5) cm de comprimento e  $6,85 \pm 1,84$  (4,4 - 14,6) g de peso foram distribuídos em 18 unidades experimentais, cada uma com dois peixes por câmara central, durante um período de 24 horas, onde receberam os seguintes tratamentos: (1) peixes mantidos à 0 g/l (água da torneira desclorada), (2) peixes mantidos à 5 g/l e (3) peixes mantidos à 9 g/l, com seis repetições para cada grupo. As diferentes salinidades da água foram obtidas por meio de adição de cloreto de sódio (sal não iodado) na água. Em seguida, a salinidade da água foi medida por meio de condutímetro de bancada, tendo encontrado, respectivamente, os valores aproximados de 100, 8.000 e 15.000  $\mu\text{S/cm}$ .

### 2.3.3. Avaliação da influência da interação de diferentes temperaturas e salinidades da água na infestação experimental por *A. mastigatus*

Sessenta e quatro peixes com  $13,07 \pm 8,91$  (7,80 - 14,4) cm de comprimento e  $11,21 \pm 3,11$  (6,3 - 18,2) g de peso foram primeiramente

submetidos a banho terapêutico de formalina (37%) diluída em água na concentração de 0,2 ml/l durante uma hora. Após 24 horas do banho, 5 peixes foram eutanasiados a fim de verificar a eficácia da formalina no controle de *A. mastigatus*. Uma vez comprovada a eficácia do tratamento, os peixes foram distribuídos em 18 unidades experimentais, cada uma com três peixes por câmara central e expostos à larvas recentemente eclodidas usando, para tanto, uma intensidade de infestação de 10 larvas por peixe (as larvas foram obtidas de acordo com técnica previamente explicitada). Os seguintes tratamentos (valores aproximados), com três repetições cada, foram avaliados: (1) 24 °C - 0 g/l, (2) 28 °C - 0 g/l, (3) 24 °C - 5 g/l, (4) 28 °C - 5 g/l, (5) 24 °C - 9 g/l, (6) 28 °C - 9 g/l. Após 10 dias, todos os peixes foram eutanasiados para estabelecimento dos índices parasitológicos de *A. mastigatus*, a saber intensidade média de infestação e prevalência (calculados segundo Bush et al., 1997).

#### 2.4. Embriogenia dos ovos e sucesso de eclosão

Aglomerados de ovos de *A. mastigatus* foram transferidos para 24 placas de Petri de 55 milímetros de diâmetro (30 ovos por placa), onde foram deixados para embrionar no mesmo regime fotoperiódico que os peixes (12 h claro, 12 h escuro). Os tratamentos em triplicatas consistiram de: (1) 24 °C - água do tanque (onde os peixes foram mantidos); (2) 28 °C - água do tanque; (3) 24 °C - água destilada, (4) 28 °C - água destilada; (5) 24 °C - 9 g/l; (6) 28 °C - 9 g/l; (7) 24 °C - 25 g/l e (8) 28 °C - 25 g/l. Trocas parciais de água (50%) foram realizadas diariamente dentro das placas de Petri. Os ovos foram avaliados quanto a sua viabilidade até 96 horas após oviposição. A estimativa da viabilidade foi feita com base na observação de ovos contendo oncomiracídios desenvolvidas, com presença de ocelos. As diferentes temperaturas de água foram controladas por meio de placa aquecedora com controle de temperatura microprocessado, ao passo que as diferentes salinidades da água foram obtidas através da adição de cloreto de sódio na água.

#### 2.5. Ritmo de oviposição de *A. mastigatus*

Um jundiá com 15,7 cm de comprimento e 31 g de peso foi mantido dentro de um tanque de 20 litros equipado com aerador à temperatura de 24 °C por 24 horas, sob regime fotoperiódico controlado de 12h claro e 12h escuro (luz ligada às 06:15 e desligada às 18:15). A

cada três horas, a água foi filtrada com o auxílio de uma rede de plâncton de 41 µm de abertura de malha e seu conteúdo transferido para uma placa de Petri para posterior análise em estereomicroscópio. O número de ovos liberados por adultos de *A. mastigatus* foi estabelecido para o referido intervalo de tempo. Alguns dos principais parâmetros de qualidade de água (supracitados) foram medidos no início e fim do período experimental.

### 2.6. Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett para verificar normalidade e homocedasticidade, respectivamente. Estando os pressupostos garantidos, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) unifatorial, fatorial ou teste T de Student, de acordo com o design experimental. Para comparação de médias na ANOVA foi utilizado o teste de Tukey. Transformação dos dados foi usada conforme pertinência. Foi também avaliado, por meio de ANOVA fatorial, se as unidades experimentais (tanque e câmara central) foram uma causa de variação significativa, como forma de assegurar a confiabilidade dos resultados dos desenhos experimentais investigados.

## 3. Resultados

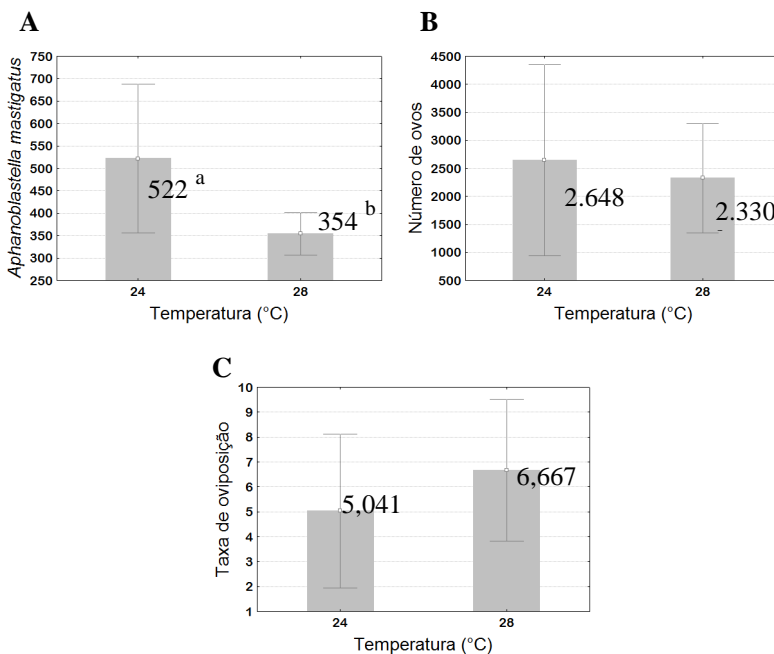
De acordo com os resultados obtidos por meio de ANOVA fatorial, as unidades experimentais não representaram uma causa de variação significativa nos valores de peso e comprimento dos peixes, número de parasitos e número de ovos em cada um dos experimentos investigados. Também não houve diferença significativa nos valores de qualidade de água mensurados entre as unidades experimentais nos diferentes tratamentos estudados (Tabela 1). Os valores mantiveram-se dentro dos níveis adequados para o desenvolvimento do jundiá, segundo Piedras et al. (2004) e Baldisserotto e Radünz Neto, (2004).

Tabela 1. Parâmetros de qualidade de água (média  $\pm$  desvio padrão) para cada tratamento.

	Temperatura da água (°C)	Condutividade elétrica da água ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Oxigênio dissolvido (mg/l)	pH	Alcalinidade (mg $\text{CaCO}_3/\text{l}$ )	Amônia total (mg/l)
<b>1. Temperatura</b>						
24	24,10 $\pm$ 0,63	90,33 $\pm$ 19,76	9,0 $\pm$ 0	7,95 $\pm$ 0,56	19,16 $\pm$ 4,91	0,30 $\pm$ 0,21
28	28,30 $\pm$ 0,80	95,50 $\pm$ 21,04	9,2 $\pm$ 0,40	7,90 $\pm$ 0,54	25 $\pm$ 4,47	0,33 $\pm$ 0,31
<b>2. Salinidade (g/l)</b>						
0	23,80 $\pm$ 0,34	104 $\pm$ 16,10	9,6 $\pm$ 0,26	8,10 $\pm$ 0,47	40 $\pm$ 0	0,25 $\pm$ 0
5	24,23 $\pm$ 0,05	8.566 $\pm$ 452	9,0 $\pm$ 0,70	7,60 $\pm$ 0,36	40 $\pm$ 0	0,41 $\pm$ 0,14
9	23,39 $\pm$ 0,90	14.667 $\pm$ 289	9,0 $\pm$ 1	7,8 $\pm$ 0	40 $\pm$ 0	0,25 $\pm$ 0
<b>3. Temperatura x salinidade</b>						
24 - 0	23,5 $\pm$ 0,86	120 $\pm$ 30	9,4 $\pm$ 0,50	8,0 $\pm$ 0,20	32 $\pm$ 2	0,25 $\pm$ 0,30
28 - 0	28,6 $\pm$ 10	83,33 $\pm$ 20,81	9,0 $\pm$ 0,70	7,86 $\pm$ 0,20	40 $\pm$ 0	0,40 $\pm$ 0
24 - 5	23,66 $\pm$ 0,57	8.500 $\pm$ 200	9,2 $\pm$ 1	7,5 $\pm$ 0,17	40 $\pm$ 0	0,23 $\pm$ 0,23
28 - 5	29,33 $\pm$ 1,15	9.100 $\pm$ 264	9,4 $\pm$ 0	7,3 $\pm$ 0,10	27 $\pm$ 3,68	0,40 $\pm$ 0
24 - 9	25,13 $\pm$ 1,02	12.920 $\pm$ 950	9,2 $\pm$ 0,40	7,0 $\pm$ 0,30	38,8 $\pm$ 1,40	0,40 $\pm$ 0
28 - 9	28 $\pm$ 0	15.336 $\pm$ 342	9,4 $\pm$ 0	7,3 $\pm$ 0,05	40 $\pm$ 0	0,40 $\pm$ 0

### 3.1. Influência da temperatura da água na oviposição

Não houve diferença significativa na taxa de oviposição de *A. mastigatus* entre 24 °C e 28 °C, assim como no número total de ovos. Houve, porém, diferença significativa ( $P < 0,05$ ) no número de parasitos adultos para ambas as temperaturas avaliadas (Fig. 1).

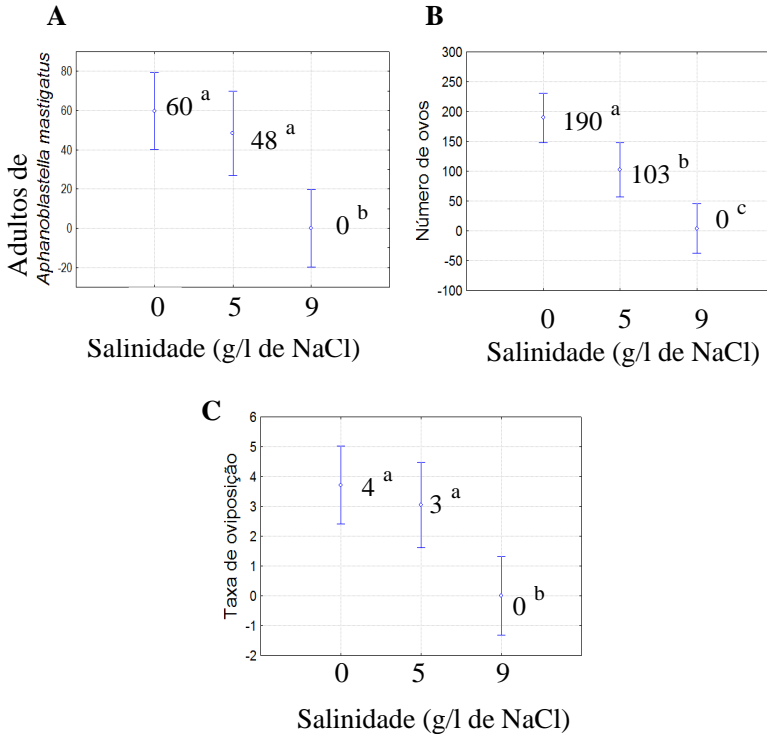


**Figura 1.** Valores médios com intervalo de confiança 95% (barras verticais) nas diferentes temperaturas: (A) Número de parasitos adultos de *Aphanoblastella mastigatus*; (B) Número total de ovos; (C) Taxa de oviposição. Letras diferentes denotam diferença significativa (Teste T de Student).

### 3.2. Influência da salinidade da água na oviposição

Enquanto o número de parasitos adultos e a taxa de oviposição não diferiram significativamente nas concentrações de 0 e 5 g/l de cloreto de sódio na água, estes foram significativamente menores à 9 g/l; já o número total de ovos coletados foi significativamente maior a 0 g/l e significativamente menor à 9 g/l (Fig. 2). Não foram encontrados

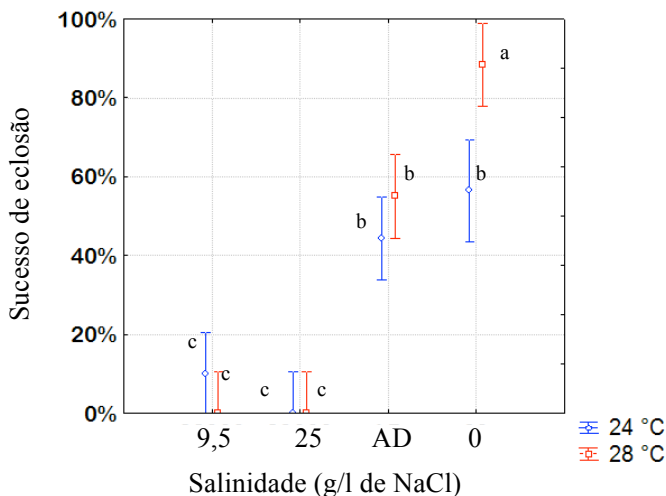
parasitos adultos nas brânquias dos jundiás mantidos à concentração de 9 g/l.



**Figura 2.** Valores médios com intervalo de confiança 95% (barra vertical) nas diferentes salinidades: **(A)** Número de parasitos adultos de *Aphanoblastella mastigatus*; **(B)** Número total de ovos; **(C)** Taxa de oviposição. Letras diferentes denotam diferença significativa (ANOVA unifatorial).

### 3.3. Embriogenia dos ovos e sucesso de eclosão

À 0 g/l, os ovos de *A. mastigatus* mantidos em ambas as temperaturas eclodiram a partir de 72 horas após oviposição; porém, a taxa de eclosão foi significativamente maior a 28 °C (88%) quando comparado a 24 °C (56%); na água destilada, ovos eclodiram a partir de 96 horas para as duas temperaturas testadas; a taxa de eclosão não teve diferença significativa entre as temperaturas (55% a 28 °C; 44% a 24 °C). À 9 e 25 g/l, a taxa de eclosão foi significativamente menor do que no resto dos tratamentos para ambas as temperaturas (Fig. 3).

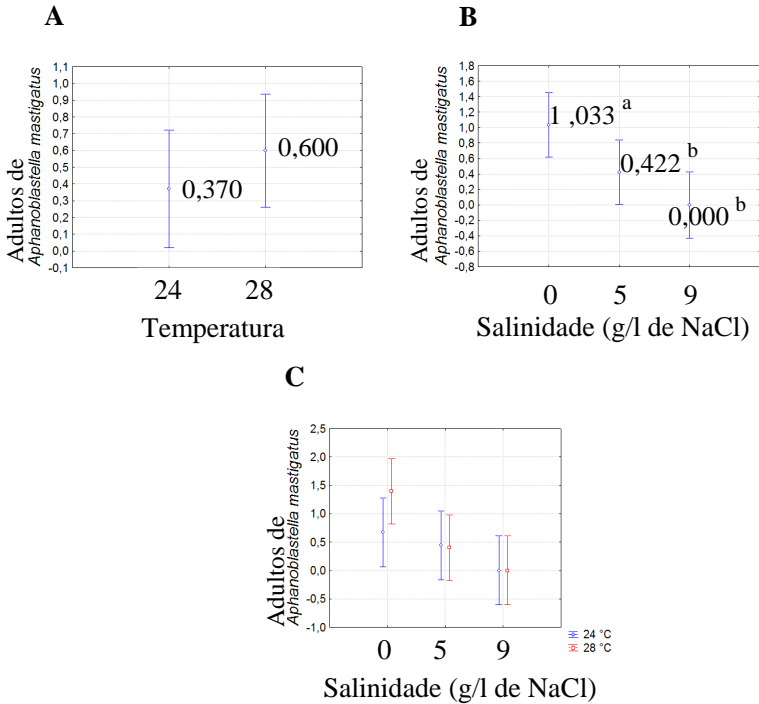


**Figura 3.** Valores médios do sucesso de eclosão de *Aphanoblastella mastigatus* com intervalo de confiança 95% (barra vertical) nas diferentes temperaturas e salinidades da água. AD = água destilada. Letras diferentes denotam diferença significativa (ANOVA fatorial).

### 3.4. Influência da interação de diferentes temperaturas e salinidades da água na infestação por *A. mastigatus*

A ANOVA fatorial não identificou interação significativa entre as variáveis testadas (Fig. 4C). Por este motivo, os fatores foram analisados isoladamente. Para as temperaturas testadas não houve diferença significativa, entretanto, a salinidade influenciou significativamente ( $P < 0,05$ ) a infestação por *A. mastigatus* nos diferentes valores testados.

Os índices de intensidade média de infestação e prevalência obtidos neste experimento estão apresentados na tabela 2. Nenhum parasito foi encontrado nas brânquias de peixes mantidos no tratamento com adição de 9 g/l de cloreto de sódio na água. A maior prevalência de parasitos foi encontrada no tratamento 28 °C – 0 g/l.



**Figura 4:** Valores médios com intervalo de confiança 95% (barra vertical) na infestação experimental de *Aphanoblastella mastigatus* em diferentes: **(A)** temperaturas; **(B)** salinidade e **(C)** interação entre salinidades e temperaturas da água. Letras diferentes denotam diferença significativa (ANOVA fatorial).

**Tabela 2.** Índices parasitológicos (média  $\pm$  desvio padrão) de *Aphanoblastella mastigatus* em jundiá *Rhamdia quelen*.

Índices Parasitológicos		
Temperatura (°C) – Salinidade (g/l)	Intensidade média de infestação	Prevalência (%)
24 – 0	2 $\pm$ 1	33%
28 – 0	2 $\pm$ 1,15	70%
24 – 5	2 $\pm$ 0	22%
28 – 5	2 $\pm$ 1,41	20%
24 – 9	0 $\pm$ 0	0
28 – 9	0 $\pm$ 0	0



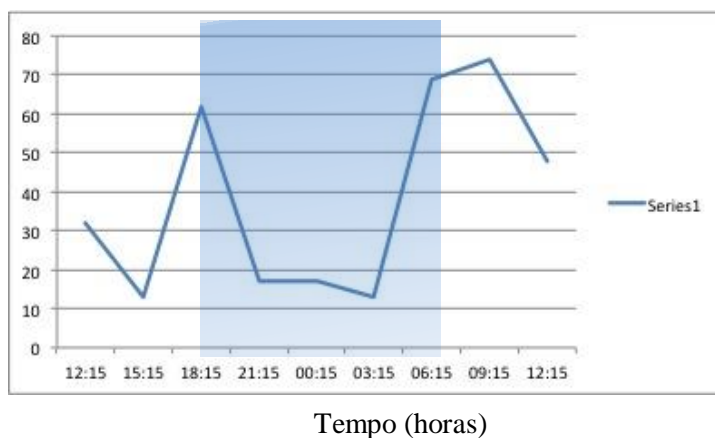
### 3.5. Ritmo de oviposição de *Aphanoblastella mastigatus*

Os valores dos parâmetros de qualidade de água mantiveram-se constantes, com exceção da condutividade elétrica da água e do pH (Tabela 3).

**Tabela 3:** Ritmo de oviposição de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986). Parâmetros físico-químicos da água mensurados no início e fim do período de 24 horas.

	Início	Fim
<b>Dados de qualidade de água</b>		
Temperatura (°C)	23	23
Amônia total (mg/l)	0,1	0,1
Oxigênio dissolvido (mg/l)	9,2	9,2
Condutividade elétrica (µS/cm)	101	80
pH	7,8	8,4

O número de ovos de *A. mastigatus* coletados em intervalos de 3 horas sobre um período de 24 horas está apresentado na figura 5. Dois picos na oviposição ocorreram nos momentos de maior alteração da luminosidade (18h15 e 06h15).



**Figura 5.** Ritmo de oviposição. Número de ovos de *Aphanoblastella mastigatus* coletados em intervalos de três horas sobre um período de 24 horas.

#### 4. Discussão

Temperatura e salinidade são dois importantes parâmetros ambientais que afetam os processos biológicos de diversos organismos invertebrados aquáticos como os Monogenea (Mooney et al., 2008).

Diversos estudos demonstram correlação positiva entre aumento da temperatura da água e taxa de oviposição de Monogenea (Buchmann, 1988; Jackson e Tinsley, 1998; Tubbs et al., 2005; Turgut, 2012). No entanto, assim como nesse estudo, Buchmann (1988) e Paperna (1963) não encontraram diferença significativa na taxa de oviposição de *Pseudactylogyrus bini* Kiknuchi, 1929 (Dactylogyridae) e *Dactylogyrus vastator* Nybelin, 1924 (Dactylogyridae), respectivamente, no intervalo entre 24 e 28 °C. Isto não quer dizer que a temperatura não influencie o processo de oviposição de *A. mastigatus*, mas sugere que o intervalo analisado não foi suficiente para evidenciar variações significativas. O número de parasitos adultos observados neste estudo, no entanto, variou significativamente entre as duas temperaturas testadas. Os autores acreditam que isso, muito provavelmente, tenha ocorrido devido a diferenças de intensidade parasitária inicial nos hospedeiros utilizados nesse estudo (não passível de controle).

Kubitza (2007) sugere a utilização do sal comum (NaCl) no controle de parasitos protozoários e Monogenea em concentrações que variam entre 10 a 50 ‰ (tempos de exposição entre 12 horas à 20 segundos), ao passo que Souza-Bastos e Freire (2009) sugerem concentração de 15 ‰ (15 g/l) em tempo de exposição de uma hora para tratamento de *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 (Ictio) no jundiá *R. quelen*. Marchioro e Baldisserotto (1999) concluíram que *R. quelen* suporta concentrações de NaCl na água de até 9 ‰ (9 g/l) por 96 horas, sem registro de mortalidade, mas com alteração do comportamento alimentar. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, o tratamento aplicado na concentração de 5 g/l por 24 horas não foi suficiente para eliminar totalmente os parasitos. Entretanto, não foram encontrados parasitos adultos vivos em peixes mantidos a 9 g/l, resultado que, aliado a sobrevivência de 100% dos jundiás verificada, indica que seu uso é eficiente como potencial tratamento profilático para esta parasitose.

Durante este estudo, não foram investigados fatores que favorecem a eclosão dos ovos de *A. mastigatus*, mas os resultados indicam que esta espécie retém a habilidade de eclodir espontaneamente mesmo na ausência de estímulos do hospedeiro, assim como Whittington e Kearn (2011) concluíram para *Entobdella soleae* (van

Beneden e Hesse, 1863) (Capsalidae). Apesar de ter sido observado um atraso de 24 horas no tempo de eclosão dos ovos de *A. mastigatus* mantidos em água destilada, ainda assim os mesmos eclodiram. Embora as temperaturas da água analisadas não tenham influenciado o tempo de eclosão de *A. mastigatus*, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na taxa de eclosão. Isso sugere que temperaturas mais altas podem favorecer o desenvolvimento de ovos viáveis, contribuindo para aumento no sucesso de infestação de *A. mastigatus*. Os resultados obtidos para taxa de eclosão dos ovos à salinidades acima de 9 g/l nos permitem concluir que essa concentração é eficiente no controle parasitário dessa espécie.

A literatura disponível envolvendo estudos de infestação experimental com *Monogenea* propõe diferentes intensidades de infestação: Enquanto Buchmann (1988) utilizou 5 - 14 larvas de *P. bini* por peixe (*Anguilla anguilla*), Gannicott e Tinsley (1998) utilizaram 100 larvas de *Discocotyle sagittata* (Leuckart, 1842) (Discocotylidae) por peixe (*Oncorhynchus mykiss*). De acordo com os resultados obtidos neste estudo, acreditamos que a intensidade de infestação de 10 larvas de *A. mastigatus* por hospedeiro foi muito baixa, o que justifica os baixos índices parasitológicos observados. Além disso, sabe-se que a longevidade da larva de *A. mastigatus* a 24 °C é baixa (Marchiori et al., artigo submetido), o que também pode ter influenciado nos baixos índices observados. Apesar da maior prevalência de *A. mastigatus* ter sido encontrada no tratamento 28 °C - 0 g/l, a análise estatística não diferiu significativamente entre as temperaturas testadas durante a infestação experimental. Futuros estudos, utilizando intervalos de temperatura e intensidade de infestação maiores (50 a 100 larvas por hospedeiro), são recomendados para verificar a influência da temperatura na longevidade e sucesso de infestação de *A. mastigatus*.

Quando e como os ovos são liberados pelos parasitos provavelmente têm uma influência importante no sucesso da eclosão e infestação no hospedeiro (Whittington e Kearns, 2011). Mooney et al. (2008) estudaram o ritmo diário de oviposição de espécies marinhas de *Monogenea* parasitas do olhete japonês *Seriola quinqueradiata* e concluíram que, enquanto *Heteraxine heterocerca* (Goto, 1894) (Heteraxinidae) possui um ritmo bem definido para liberação dos ovos (45% dos ovos são liberados durante as primeiras 3 horas que iniciam o período escuro), *Benedenia seriola* (Yamaguti, 1934) (Capsalidae) libera seus ovos continuamente ao longo do dia. O ritmo de oviposição para *H. heterocerca* é parecido com o exibido por *Zeuxapta seriola* (Meserve, 1938) (Axinidae), parasito de *Seriola lalandi*, na qual 75% da produção diária de ovos é liberada durante as primeiras 3 horas que

iniciam o período escuro (Mooney et al., 2006). É importante destacar que essas espécies acumulam grande quantidade de ovos no útero. Diferentemente, *A. mastigatus* não acumula ovos no útero, produzindo e liberando-os individualmente. Ainda sim, foi observado um maior número de ovos retidos nas malhas de plâncton nos dois períodos em que houve maior alteração de luminosidade (06:15 e 18:15 para o fotoperíodo utilizado), sugerindo que alterações de luz podem, de alguma forma, influenciar na oviposição da espécie estudada. No entanto, esse resultado foi atingido a partir de dados coletados em um curto período de tempo (24 horas, sem repetição) não sendo, portanto, possível confirmar tal relação sem que uma observação mais prolongada seja realizada.

### Agradecimentos

Os autores agradecem o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro a M.L. Martins (CNPq 302493/2010-7) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro à N.C. Marchiori e J. Pereira Jr. (Proc. 1272/11).

### Referências

- Baldisserotto, B., Radünz Neto, J., 2004. Criação de jundiá. Santa Maria: Ed. UFSM, 232p.
- Buchmann, K., 1988. Temperature-dependent reproduction and survival of *Pseudodactylogyrus bini* (Monogenea) on the european eel (*Anguilla anguilla*). Parasitol. Res. 75, 162 - 164.
- Buchmann, K., Møllergaard, S., Koie, M., 1987. *Pseudodactylogyrus* infections in eel: a review. Dis. Aquat. Org. 3, 51 - 57.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. J. Parasitol. 83, 575 - 583.
- Carneiro, P.C.F., Cirio, S.M., Schorer, M., 2006. Estudo anatomopatológico de alevinos de jundiás infectados experimentalmente por *Ichthyophthirius multifiliis* e submetidos a tratamentos convencionais. Arch. Vet. Sci. 11, 33 - 38.
- Ernst, I., Whittington, I.D., Corneillie, S., Talbot, C., 2005. Effects of temperature, salinity, desiccation and chemical treatments on egg embryonation and hatching success of *Benedenia seriolae*

- (Monogenea, Capsalidae), a parasite of farmed *Seriola* spp. J. Fish Dis. 28, 157 - 164.
- Gannicott, A.M., Tinsley, R.C., 1998. Environmental effects on transmission of *Discocotyle sagittata* (Monogenea): egg production and development. Parasitol. 117, 499 - 504.
- Jackson, J.A., Tinsley, R.C., 1998. Effects of temperature on oviposition rate in *Protopolystoma xenopodis* (Monogenea: Polystomatidae). Int. J. Parasitol. 28, 309 - 315.
- Kubitza, F., 2007. A versatilidade do sal na piscicultura. Panor. Aquic. 17, 14 - 27.
- Marchiori, N., Tancredo, K., Roubledakis, K., Gonçalves, E.L.T., Pereira JR., J., Martins, M.L., 2013. New technique for collecting eggs from monogenean parasites. Exp. Parasitol. 134, 138 - 140.
- Marchiori, N., Tancredo, K., Pereira JR., J., Castro, L.A.S., Martins, M.L. Estágios iniciais de desenvolvimento de *Aphanoblastella mastigatus* (Suriano, 1986) com referência especial ao ovo e oncomiracídio. Parasitol. Res., artigo submetido.
- Marchioro, M.I., Baldisserotto, B., 1999. Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824) à variação de salinidade de água. Ciênc. Rural 29, 315 - 318.
- Mooney, A.J., Ernst, I., Whittington, I., 2006. An egg-laying rhythm in *Zeuxapta seriolae* (Monogenea: Heteraxinidae), a gill parasite of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). Aquaculture 253, 10 - 16.
- Mooney, A.J., Ernst, I., Whittington, I., 2008. Egg-laying patterns and in vivo egg production in the monogenean parasites *Heteraxine heterocerca* and *Benedenia seriolae* from japanese yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Parasitol. 135, 1295 - 1302.
- Paperna, I., 1963. Some observations on the biology and ecology of *Dactylogyrus vastator* in Israel. Bamidgeh 15, 8 - 28.
- Piedras, S.R.N., Moraes, P.R.R., Pouey, J.L.O.F., 2004. Crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), de acordo com a temperatura da água. Bol. Inst. Pesca 30, 177 - 182.
- Sinclair Knight Merz. National Water Quality Assessment, 2011. Report prepared for the Australian Government Department of Sustainability, Environment, Water, Population and Communities on behalf of the State of the Environment 2011 Committee. Canberra: DSEWPac.
- Souza-Bastos, L.R., Freire, C.A., 2009. The handling of salt by the neotropical cultured freshwater fish *Rhamdia quelen*. Aquaculture 289, 167 - 174.

- Tubbs, L.A., Poortenaar, C.W., Sewell, M.A., Diggles, B.K., 2005. Effects of temperature on fecundity in vitro, egg hatching and reproductive development of *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae* (Monogenea) parasitic on yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Int. J. Parasitol.* 35, 315 - 327.
- Turgut, E., 2012. Influence of temperature and parasite intensity on egg production and hatching of the monogenean *Dactylogyrus extensus*. *Isr. J. Aquacult. Bamidgeh* 64, 729 - 733.
- Whittington, I.D., 1998. Diversity down under: monogeneans in the antipodes Australia with a prediction of monogenean biodiversity worldwide. *Int. J. Parasitol.* 28, 1481 - 1493.
- Whittington, I.D., Kearns, G.C., 2011. Hatching strategies in monogenean (platyhelminth) parasites that facilitate host infection. *Integr. Comp. Biol.* 51, 91 - 99.

## CONCLUSÕES GERAIS

- *Aphanoblastella mastigatus* distingue-se de todos os seus congêneros pela configuração do complexo copulatório masculino (CCM): é a única espécie do gênero com peça acessória em espiral (com 1 volta); além disso, o comprimento total do órgão copulatório masculino excede em mais de duas vezes o tamanho das outras espécies;
- A eclosão da larva de *A. mastigatus* ocorre 72 horas após oviposição à temperatura de 24 °C;
- A longevidade da larva de *A. mastigatus* é de aproximadamente três horas à temperatura de 24 °C;
- Estratégias adotadas por *A. mastigatus* podem estar conectadas com as características sobre o comportamento de *R. quelen* a fim de aumentar as chances de infestação, incluindo longevidade da larva e morfologia do ovo;
- Não houve diferença significativa na taxa de oviposição nem no sucesso de infestação de *A. mastigatus* à 24 e 28 °C;
- Adição de cloreto de sódio na água na concentração 9 g/l é eficiente como tratamento profilático no combate ao parasitismo por *A. mastigatus*;
- Para estudos de infestação experimental em *Rhamdia quelen*, o uso de intensidade parasitária de 10 larvas de *Aphanoblastella mastigatus* por peixe é baixa;

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- AMADA, F.H.; BRANDAO, H.; TOLEDO, G.M.; CARVALHO, E.D.; SILVA, R.J. *Aphanoblastella mastigatus* (Monogenea: Dactylogyridae) parasito de brânquias de *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) da represa de Jurumirim, alto rio Paranapanema, São Paulo, Brasil. In: XX Encontro Brasileiro de Ictiologia; 2013; Maringá, PR. **Encontro Brasileiro de Ictiologia**, 2013.
- AZEVEDO, R.K.; ABDALLAH, V.D.; LUQUE, J.L. Acanthocephala, Annelida, Arthropoda, Myxozoa, Nematoda and Platyhelminthes parasites of fishes from the Guandu river, Rio de Janeiro, Brazil. **Checklist**, São Paulo, v. 6, n. 4, p. 659 - 667, 2010.
- BAKKE, T.A.; CABLE, J.; HARRIS, P.D. The biology of Gyrodactylid Monogeneans: The “Russian-Doll” Killers. **Advances in Parasitology**, London, v. 64, p. 161 – 376, 2007.
- BOSCARDIN, N.R. Produção Aquícola. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. (eds.). **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília: CNPq; 2008, p. 36 - 38.
- BOVET, J. Contribution à la morphologie et à la biologie de *Diplozoon paradoxum* v. Nordmann, 1832. **Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles**, Neuchatel, v. 90, p. 64 - 159, 1967.
- BUCHMANN, K. Temperature-dependent reproduction and survival of *Pseudodactylogyrus bini* (Monogenea) on the European eel (*Anguilla anguilla*). **Parasitology Research**, Berlin, v. 75, p. 162 - 164, 1988.
- BUCHMANN, K. Epidémiologie et contrôle des infections à *Pseudodactylogyrus* dans les élevages intensifs d'anguilles: Données actuelles. **Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture**, Les Ulis, v. 328, p. 66 - 73, 1993.
- BUCHMANN, K.; LINDENSTROM, T. Interactions between monogenean parasites and their fish hosts. **International Journal for Parasitology**, Lawrence, v. 32, p. 309 - 319, 2002.
- BULLARD, S.A.; BENZ, G.W.; BRASWELL, J.S. *Dionchus postoncomiracidia* (Monogenea: Dionchidae) from the skin of blacktip sharks, *Carcharhinus limbatus* (Carcharhinidae). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 8, n. 2, p. 245 - 250, 2000.
- BUSH, A.O.; FERNÁNDEZ, J.C.; ESCH, G.W.; SEED, J.R. **Parasitism. The diversity and ecology of animal parasites**. Cambridge University Press, 2001, 552 p.



- BYCHOWSKY, B.E. **Monogenetic trematodes, their systematics and phylogeny.** Academy of Sciences USSR, Moscow Leningrad (English translation, American Institute of Biological Sciences), 1957. 509 p.
- CARNEIRO, P.C.F.; MIKOS, J.D. Frequência alimentar e crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 187 - 191, 2005.
- CARNEIRO, P.C.; CIRIO, S.M.; SCHORER, M. Estudo anatomopatológico de alevinos de jundiá infectados experimentalmente por *Ichthyophthirius multifiliis* e submetidos a tratamentos convencionais. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 33 - 38, 2006.
- CARVALHO, A.R.; TAVARES, L.E.R.; LUQUE, J.L. A new species of *Aphanoblastella* (Monogenea: Dactylogyridae) parasitic on *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) from Southeastern Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 323 - 325, 2009.
- COE, C.M.; FREITAS, M.C.; ARAÚJO, R.C.P. Diagnóstico da cadeia produtiva de peixes ornamentais no município de Fortaleza, Ceará. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 23, n. 3, p. 107 - 114, 2011.
- COHEN, S.C.; JUSTO, M.C.N.; KOHN, A. South American Monogenoidea parasites of fishes, amphibians and reptiles. In: **7<sup>th</sup> International Symposium on Monogenea**. Rio de Janeiro, 2013.
- CRESPO, J.F.; CRESPO, R.F. Monogenean parasites in Mexican fish: a recapitulation. **Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias**, Jiutepec, v. 41, n. 2, p. 175 - 192, 2003.
- DOMINGUES, M.V. **Filogenia e taxonomia de Diplectanidae Monticelli, 1903 (Platyhelminthes: Monogenoidea)**. 2004. 198 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná. 2004.
- EGUSA, S. Disease problems in Japanese yellowtail *Seriola quinqueradiata* culture: a review. **Rapports et Procès-verbaux des Réunions. Conseil International pour l'Exploration de la Mer**, Charlottenlund, v. 182, p. 10 - 18, 1983.
- EIRAS, J. **Elementos de Ictioparasitologia**. Porto: Fundação Eng. Antônio de Almeida, 1994. 339 p.
- ERNST, I., WHITTINGTON, I.D., CORNEILLIE, S., TALBOT, C. Effects of temperature, salinity, desiccation and chemical treatments on egg embryonation and hatching success of *Benedenia seriolae* (Monogenea, Capsalidae), a parasite of farmed *Seriola* spp. **Journal of Fish Diseases**, Oxford, v. 28, p. 57 - 164, 2005.

- GANNICOTT, A.M.; TINSLEY, R.C. Larval survival characteristics and behaviour of the gill monogenean *Discocotyle sagittata*. **Parasitology**, Cambridge, v. 117, p. 491 - 498, 1998.
- GARCIA, F.; FUJIMOTO, R.Y.; MARTINS, M.L.; MORAES, F.R. Parasitismo de *Xiphophorus* spp. por *Urocleidoides* sp. e sua relação com os parâmetros hídricos. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 123 - 131, 2003.
- GERASEV, P.I.; DMITRIEVA, E.V.; KOLPAKOV, V. What are “generalist” monogenean species? In: **7<sup>th</sup> International Symposium on Monogenea**. Rio de Janeiro, 2013.
- GOMES, L.C.; GOLOMBIESKI, J.I.; GOMES, A.R.C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 179 - 185, 2000.
- INSTITUTO CEPA. **Pescado em Santa Catarina**. Florianópolis, 1996. Disponível em < <http://cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/Peixe.pdf> >. Acesso em: 01 agosto 2013.
- JOHNSEN, B.O.; JENSEN, A.J. Infestations of Atlantic salmon *Salmo salar* by *Gyrodactylus salaris* in Norwegian rivers. **Journal of Fish Biology**, London, v. 29, n. 2, p. 233 - 241, 2006.
- KEARN, G.C. Hatching in the monogenean parasite *Dictyocotyle coeliaca* from the body cavity of *Raja naevus*. **Parasitology**, Cambridge, v. 70, p. 87 - 93, 1975.
- KOSKIVAARA, M.; VALTONEN, E.T.; PROST, M. Dactylogyrids on the gills of roach in Central Finland: Features of infection and species composition. **International Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 25, p. 565 - 572, 1991.
- KRITSKY, D.C.; MENDOZA-FRANCO, E.F.; SCHOLZ, T. Neotropical Monogenoidea. 36. Dactylogyrids from the gills of *Rhamdia guatemalensis* (Siluriformes: Pimelodidae) from cenotes of the Yucatán Peninsula, Mexico, with proposal of *Ameloblastella* gen. n. and *Aphanoblastella* gen. n. (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae). **Comparative Parasitology**, Lawrence, v. 67, n. 1, p. 76 - 84, 2000.
- KTARI, M.H. Recherches sur l’anatomie et la biologie de *Microcotyle salpae* Parona et Perugia, 1980 parasite de *Box salpa* L. (Téléostéen). **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, Paris, v. 44, p. 425 - 440, 1969.
- KUBITZA, F. A versatilidade do sal na piscicultura. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 103, p. 14 - 23, 2007.

- LIMA, L.C.; RIBEIRO, L.P.; LEITE, R.C.; MELO, D.C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n. 3/4, p. 113 - 117, 2006.
- LLEWELLYN, J. The host-specificity, micro-ecology, adhesive attitudes and comparative morphology of some trematode gill parasites. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, Cambridge, v. 35, p. 113 - 127, 1956.
- MACDONALD, S. Host skin mucus as a hatching stimulant in *Acanthocotyle lobianchi*, a monogenean from the skin of *Raja* spp. **Parasitology**, Cambridge, v. 68, p. 331 - 338, 1974.
- MACDONALD, S. Hatching rhythms in three species of *Diclidophora* (Monogenea) with observations on host behavior. **Parasitology**, Cambridge, v. 71, p. 211 - 228, 1975.
- MARTINS, M.L.; ROMERO, N.G. Efectos del parasitismo sobre el tejido branquial em peces cultivados: estudio parasitológico e histopatológico. **Revista Brasileira de Zoologia**, Jaboticabal, v. 13, n. 2, p. 489 - 500, 1996.
- MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.Y.; ONAKA, E.M.; NOMURA, D.T.; SILVA, C.A.H.; SCHALCH, S.H.C. Parasitic infections in cultivated brazilian freshwater fishes. A survey of diagnosticated cases. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 23 - 28, 2000.
- MENDOZA-FRANCO, E.F.; SCHOLZ, T.; VIVAS-RODRÍGUEZ, C.; VARGAS-VASQUÉZ, J. Monogeneans of freshwater fishes from cenotes (sinkholes) of the Yucatan Peninsula, Mexico. **Folia Parasitologica**, Prague, v. 46, n. 4, p. 267 - 273, 1999.
- MENDOZA-FRANCO, E.F.; POSEL, P.; DUMAILO, S. Monogeneans (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae) of freshwater fishes from the Caribbean coast of Nicaragua. **Comparative Parasitology**, Lawrence, v. 70, n. 1, p. 32 - 41, 2003.
- MENDOZA-FRANCO, E.F.; AGUIRRE-MACEDO, M.L.; VIDAL-MARTÍNEZ, V.M. New and previously described species of Dactylogyridae (Monogeneoidea) from the gills of Panamanian freshwater fishes (Teleostei). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 93, n. 4, p. 761 - 771, 2007.
- MENDOZA-PALMERO, C.A.; SCHOLZ, T.; MENDOZA-FRANCO, E.F.; KUCHTA, R. New species and geographical records of Dactylogyrids (Monogenea) of catfish (Siluriformes) from the peruvian Amazonia. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 98, n. 3, p. 484 - 497, 2012.

- MIZELLE, J.D.; KRITSKY, D.C. Studies on Monogenetic Trematodes. XXXIX. Exotic species of Monopisthocotylea with the Proposal of *Archidiplectanum* gen. n. and *Longihaptor* gen. n. **The American Midland Naturalist**, Notre Dame, v. 81, n. 2, p. 370 - 386, 1969.
- MOLNÁR, K. Studies on the gill parasitosis of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) caused by *Dactylogyrus lamellatus* Achmerov, 1952. **Acta Veterinaria Hungarica**, Budapest, v. 21, p. 267 - 289, 1971.
- MOLNÁR, K. Effect of decreased oxygen content on common carp fry with *Dactylogyrus vastator* (Monogenea) infection of varying severity. **Diseases of Aquatic Organisms**, Oldendorf, v. 20 p. 153 - 157, 1994.
- MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C; FRACALOSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N., (eds.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: FUNEP – FCAVJ/UNESP; 2004, p. 343 - 383.
- ONAKA, E.M.; MORAES, F.R. **Enfermidades parasitárias de peixes**. San Juan de Pasto, Colombia, em 2004. Disponível em: < <http://www.udenar.edu.co/acuicola/revista/archivo/a1v011/conf17.pdf> >. Acesso em: 19 fev. 2009.
- OZTURK, M.O.; ALTUNEL, F.N. Occurrence of *Dactylogyrus* infection linked to seasonal changes and host fish size on four cyprinid fishes in lake Manyas, Turkey. **Acta Zoologica Hungarica**, Budapest, v. 52, n. 4, p. 407 - 415, 2006.
- PALING, J.E. The manner of infection of trout gills by the monogenean parasite *Discocotyle sagittata*. **Journal of Zoology**, London, v. 153, p. 293 - 309, 1969.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 2.ed. Maringá: EDUEM, 2002. 305 p.
- PEREIRA JR., J.; VIANNA, R.T.; MORAIS, N.C.M. Revisão comentada de parasitos associados a *Rhamdia*. In: SILVA-SOUZA, A.T. (Ed.). **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: Associação Brasileira de Patologia de Organismos Aquáticos, 2006, p. 271 - 295.
- POJMANSKA, T. Seasonal dynamics of occurrence and reproduction of some parasites in four cyprinid fish cultured in ponds. II. Monogenea. **Acta Parasitologica Polonica**, Warszawa, v. 40, p. 79 - 84, 1995.

- PROST, M. Investigations on the development and pathogenicity of *Dactylogyrus anchoratus* (Duj. 1845) and *D. extensus* Mueller et Van Cleave, 1932 for breeding carps. **Acta Parasitologica Polonica**, Warszawa, v. 11, p. 17 - 47, 1963.
- ROHDE, K. **Marine Parasitology**. Collingwood: CSIRO Publishing, 2005. 592 p.
- RUBIO-GODOY, M. Fish host-monogenean parasite interactions, with special reference to Polyopisthocotylea. In: TERRAZAS, L.I. (Ed.). **Advances in the Immunobiology of Parasitic Diseases**. Trivandrum: Research Signpost, 2007, p. 91 - 109.
- SILVEIRA, F.S.; SILVA, F.M.; GRAEFF, A. **Desempenho da Pesca e da Aquicultura em 2011**. Florianópolis: Instituto CEPA/SC/Epagri/Acaq, 2012.
- SOUZA-FILHO, J.; SCHAPPO, C.L.; TAMASSIA, S.T.J.; BORCHARDT, I. **Estudo da competitividade da piscicultura no Alto Vale do Itajaí**. Florianópolis: Instituto CEPA/SC/Epagri/Acaq, 2002.
- SOUZA-FILHO, J.; SCHAPPO, C.L.; TAMASSIA, S.T.J. **Custo de produção do peixe de água doce**. Florianópolis: Instituto Cepa/SC/ Epagri, 2003. 40 p.
- SURIANO, D.M. El genero *Urocleidoides* Mizelle y Price, 1964 (Monogenea: Ancyrocephalidae). Anatomia y posicion sistematica. *Urocleidoides mastigatus* sp. nov. y *U. travassosi* (Price, 1934) Molnar, Hanek y Fernando, 1974 parasitas de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1917 (Pices: Siluriformes) de la Laguna de Chascomus, Republica Argentina. **Physis**, Buenos Aires, v. 107, p. 73 - 80, 1986.
- TAVECHIO, W.L.G.; GUIDELLI, G.; PORTZ, L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 335 - 341, 2009.
- THATCHER, V. Patologia de peixes da Amazônia brasileira. 1. Aspectos gerais. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 11, p. 125 - 140, 1981.
- THATCHER, V.E. **Amazon fish parasites, 2nd ed**. Pensoft: Sofia, Bulgaria, 2006, 508 p.
- TUBBS, L.A.; POORTENAAR, C.W.; SEWELL, M.A.; DIGGLES, B.K. Effects of temperature on fecundity in vitro, egg hatching and reproductive development of *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae* (Monogenea) parasitic on yellowtail kingfish *Seriolae lalandi*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 35, p. 315 - 327, 2005.

- TURGUT, E. Influence of temperature and parasite intensity on egg production and hatching of the monogenean *Dactylogyrus extensus*. **The Israeli Journal of Aquaculture**, Kibbutz, v. 64, p. 729 - 735, 2012.
- VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Ministério da Ciência e Tecnologia, CNPq, Florianópolis, 2000. p. 309.
- VIEIRA, V.S.F.; SCHOLZ, T.; LUQUE, J.L. Gill monogeneans (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae) of *Pimelodus maculatus* (Siluriformes): current state of knowledge and future research. In: **7<sup>th</sup> International Symposium on Monogenea**. Rio de Janeiro, 2013.
- VINOBA, P. **Some aspects of the biology of *Dactylogyrus vastator* Nybelin, 1924 (Monogenea) a gill parasite of *Cyprinus carpio* L.** 1994. 179 f. Tese (Doutorado em Aquicultura e Pesca) - Universidade de Stirling, Stirling. 1994.
- WHITTINGTON, I.D.; KEARN, G.C. Rapid hatching of mechanically-disturbed eggs of the monogenean gill parasite *Diclidophora luscae*, with observations on sedimentation of egg bundles. **International Journal for Parasitology**, Lawrence, v. 18, n. 6, p. 847 - 852, 1988.
- WHITTINGTON, I.D.; DEVENY, M.R. New *Benedenia* species (Monogenea: Capsalidae) from *Diagramma labiosum* (Perciformes: Haemulidae) on the Great Barrier reef, Australia, with oncomiracidial descriptions and a report of egg attachment to the host. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 97, n. 6, p. 1026 - 1034, 2011.
- YOSHINAGA, T.; NAGAKURA, T.; OGAWA, K.; WAKABAYASHI, H. Attachment-inducing capacities of fish tissue extracts on oncomiracidia of *Neobenedenia girellae* (Monogenea: Capsalidae). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 86, n. 2, p. 214 - 221, 2000.