

# OVOPOSIÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Caligus* sp. (COPEPODA: CALIGIDAE) PARASITA DE JUVENIS DO LINGUADO *Paralichthys orbignyanus* (TELEOSTEI: PARALICHTHYIDAE) EM CATIVEIRO

RICARDO ROBALDO<sup>1</sup>, JOABER PEREIRA JR.<sup>2</sup>, LUÍS ANDRÉ SAMPAIO<sup>3</sup>, VINICIUS KÜTTER<sup>2</sup> & ADALTO BIANCHINI<sup>4</sup>  
Fundação Universidade Federal do Rio Grande – CP 474 – 96201-900 – Rio Grande/RS

<sup>1</sup>Pós-Graduação em Oceanografia Biológica – robaldo@octopus.furg.br

<sup>2</sup>Laboratório de Ictioparasitologia – Dep. Ciências Morfo-Biológicas – dmbj@super.furg.br

<sup>3</sup>Laboratório de Maricultura – Dep. Oceanografia – sampai@mikrus.com.br

<sup>4</sup>Laboratório de Zoofisiologia – Dep. Ciências Fisiológicas – adalto@octopus.furg.br

## RESUMO

Fêmeas ovígeras de *Caligus* sp. foram coletadas em juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) capturados na Praia do Cassino (Rio Grande – RS) e mantidos em cativeiro no Laboratório de Maricultura da FURG. As fêmeas de *Caligus* sp. foram mantidas em placas de Petry com o objetivo de acompanhar a ovoposição e o desenvolvimento das fases larvais livres. O comprimento médio das fêmeas, excluindo as cerdas das lâminas caudais, foi de  $3,58 \pm 0,28$ mm (média  $\pm$  desvio padrão). Foi verificado que a diferenciação dos embriões ocorre cerca de 20h após a postura, a primeira eclosão entre 21-25h e o tempo para atingir o estágio de copepódito foi estimado em 20h. Foram produzidas  $31,5 \pm 3,6$  larvas por fêmea, sendo sua sobrevivência até o estágio de copepódito igual a  $46,3 \pm 14,3\%$ . Imediatamente após a eclosão foi observada a reposição dos sacos ovígeros e a eclosão dos ovos do segundo par de sacos ovígeros ocorreu 50h após o início da sua formação. Este segundo lote de ovos foi produzido com as fêmeas em jejum e na ausência de machos. Os resultados deste trabalho sugerem a existência de um elevado potencial de infestação de juvenis de *P. orbignyanus* por *Caligus* sp., indicando a importância da elaboração de protocolos profiláticos que permitam o controle desta parasitose e assim evitar possíveis perdas em sistema de cultivo intensivo de linguado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Crustacea parasita, Copepoda, Caligidae, *Paralichthys orbignyanus*, linguado.

## ABSTRACT

### Egg release and initial development of *Caligus* sp. (Copepoda: Caligidae) parasite of captive juvenile flounder *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae)

Ovigerous females of *Caligus* sp. were collected from juvenile flounder *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) captured at Cassino Beach (Rio Grande – RS) and kept in captivity in the Mariculture Laboratory (FURG). Fifteen females were kept in Petry dishes in order to observe egg release and development of free-swimming larvae. The average length of females, excluding anal setae, was  $3.58 \pm 0.28$ mm (average  $\pm$  standard deviation). Differentiation of embryos occurred in 20h and larvae hatched between 21-25h. The elapsed time from hatching to the copepodid stage was estimated as 20h. The average number of nauplii I produced per female was  $31.5 \pm 3.6$ , and survival to the copepodid stage was found to be  $46.3 \pm 14.3\%$ . The second pair of egg sacs, was observed immediately after the first eggs had hatched. Hatching began 50h after the emergence of the second pair of egg sacs. It is important to note that the production of the second pair of egg sacs was achieved in the absence of males and of food. Results of this work suggest a high potential for infestation of juvenile flounder *P. orbignyanus* by *Caligus* sp. Therefore, a prophylactic protocol should be established to control this parasite and avoid losses that might occur in intensive flounder culture.

**KEY WORDS:** Parasitic Crustacea, Copepoda, Caligidae, *Paralichthys orbignyanus*, flounder.

## 1 – INTRODUÇÃO

O linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes 1839) é encontrado no estuário da Lagoa dos Patos (RS) e na costa marinha adjacente em profundidades inferiores a 30m (Carneiro 1995, Haimovici *et al.* 1996). O desembarque de linguado oriundo da pesca artesanal no Porto de Rio Grande (RS) teve uma queda de 66% entre os anos de 1991 e 1995, quando a produção foi de apenas 47ton (IBAMA 1998). Devido ao seu alto valor comercial, o linguado é um recurso importante para os pescadores artesanais da região. Portanto, a redução observada em sua captura representa uma grande perda no poder econômico destas comunidades.

A produção de linguado em cativeiro é uma alternativa para aumentar a oferta de pescado e a renda dos pescadores. Alguns trabalhos apontam para a viabilidade do cultivo desta espécie porque *P. orbignyanus* é tolerante a concentrações elevadas de compostos nitrogenados (Bianchini *et al.* 1996), a variações de temperatura (Wasielisky *et al.* 1998), por apresentar bom crescimento em água salgada ou salobra (Sampaio *et al.* 2001), e sobreviver por longos períodos em água doce (Sampaio & Bianchini 2002).

Parasitas que na natureza não interferem de forma rigorosa no desenvolvimento de peixes podem ser muito prejudiciais em cativeiro (Thatcher 1981). Portanto, para cultivar uma espécie, é importante conhecer os parasitas que podem infestá-la, sendo fundamental o conhecimento sobre suas associações, forma de distribuição e forma de ocorrência.

Os Caligidae (Copepoda), conhecidos como piolhos de peixe (“sea lice”), podem causar lesões na pele dos hospedeiros, que muitas vezes levam a desequilíbrios osmorregulatórios e/ou infecções secundárias por fungos e bactérias (Boxhall & Defaye 1993), contribuindo para perdas significativas na piscicultura (Jacobsen & Gaard 1997), devido à redução da taxa de crescimento, depreciação da qualidade do pescado e aumento do custo de produção pelos gastos com o tratamento da parasitose (Carvajal *et al.* 1998).

Registros anteriores de parasitismo de Caligidae em linguados do gênero *Paralichthys* citam *Lepeophtheirus paralichthydis* em *P. olivaceus* do Mar do Japão, Japão (Yamaguti & Yamasu 1960), *Caligus flexispina* e *L. edwardsi* em *P. microps* no Sul do Chile (Carvajal *et al.* 1988) e *Lepeophtheirus bagri* em *Paralichthys* sp. no litoral do Rio de Janeiro, Brasil (Luque & Cezar 2000). A primeira observação de infestação por *Caligus* em *P. orbignyianus* no Laboratório de Maricultura da FURG foi feita na primavera do ano 2000.

O objetivo deste trabalho foi estudar a ovoposição e o desenvolvimento das fases larvais livres de *Caligus* sp. através do acompanhamento de fêmeas ovígeras *in vitro*, em busca de informações que possam embasar métodos profiláticos e de tratamento desta parasitose em cativo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Trinta e quatro copépodes adultos (27 fêmeas e 7 machos) foram coletados na superfície corpórea de um juvenil de *P. orbignyianus* capturado na Praia do Cassino (Rio Grande – RS) e mantido durante 41 dias no Laboratório de Maricultura da FURG. Destes, 15 fêmeas ovadas foram mantidas em placas de Petry com água do mar filtrada, separadas em quatro grupos com 3, 4, 4, e 4 indivíduos. As fêmeas foram selecionadas de modo que os indivíduos em uma mesma placa apresentassem ovos com aproximadamente o mesmo estágio de desenvolvimento.

Durante o experimento, a temperatura foi mantida entre 18 e 20°C, a salinidade em 28 e o fotoperíodo de 14c: 8e. A água não foi renovada e os animais foram mantidos em jejum.

Os ovos e as larvas foram observados sob lupa durante aproximadamente 96h. Dois estágios de desenvolvimento embrionário foram registrados: no surgimento de manchas ocelares (MO) e na diferenciação dos embriões. Durante o desenvolvimento larval foram observados os estágios de náuplio I (NI), náuplio II (NII) e copepódito (CD). O início do experimento é tratado como tempo zero e o tempo nos resultados é apresentado em horas.

A identificação e a medida do comprimento foram feitas com exemplares em lâminas montadas pela técnica de Grey-Wess e segundo protocolo de Amato *et al.* (1991). Para a identificação dos parasitas foi usado Kabata (1979).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de lúnulas frontais, três segmentos no quarto par de patas, complexo genital simples, segmento torácico livre, ovos uniseriados e dois segmentos nos pares de antenas identifica os espécimes como *Caligus* sp. conforme diagnose definida por Kabata (1979).

O ciclo de vida de Caligidae compreende dois estágios de náuplio (I e II), dois de copepódito (1 livre -1 fixo), três de calima fixos, pré-adulto e adulto móveis (Eiras, 1994). Nos espécimes acompanhados neste trabalho, foi possível observar a ocorrência das três fases larvais livres, não tendo sido observadas fases fixas devido a ausência de hospedeiro. A produção de náuplios I foi de 31,5 indivíduos por fêmea, sendo a sobrevivência até o estágio de copepódito igual a 46,3% (Tab. 1).

TABELA 1 – Número de larvas e sobrevivência de *Caligus* sp., parasita do linguado *Paralichthys orbignyianus*.

Placa	Fêmeas/placa	NI/fêmea	NII/fêmea	CD/fêmea	Sobrevivência (%)
I	3	35,3	35,3	16,3	46,2
II	4	27,5	24,5	16,7	60,9
III	4	33,7	32,5	17,2	51,1
IV	4	29,7	29,7	8,0	26,9
Média ± DP	-	31,5 ± 3,6	30,5 ± 4,6	14,6 ± 4,4	46,3 ± 14,3

NI – náuplio I; NII – náuplio II; CD – copepódito.

O comprimento total das fêmeas utilizadas no experimento, excluindo as cerdas das lâminas caudais, foi igual a  $3,58 \pm 0,28$ mm,  $n = 15$  (média ± desvio padrão, número amostral). Todas as fêmeas coletadas eram ovígeras e apresentaram em média  $15,3 \pm 3,5$  ovos por saco ovífero ( $n = 24$ ) na primeira desova. Este número é similar a fecundidade de *Caligus spinosus*, estimada entre 10 e 20 ovos por saco ovífero (Izawa 1969). Outras espécies de copépodes parasitas podem apresentar fecundidade mais elevada, atingindo até 3.000 ovos por saco ovífero, como em *Lernaocera branchialis* (Copepoda, Pennellidae) parasita de *Platichthys flesus* (Whitfield *et al.* 1988).

O tempo necessário para a eclosão, partindo de ovos com embriões indiferenciados, foi estimado em torno de 25h. O tempo decorrido para a observação da primeira eclosão nas placas I e II foi superior ao tempo registrado para as placas III e IV (Tab. 2). Isto ocorreu porque os embriões nas duas primeiras placas estavam menos desenvolvidos. Este fato foi confirmado, uma vez que as manchas ocelares nos ovos das fêmeas das placas I e II surgiram somente 21 horas após o início do experimento, enquanto que na placa III as manchas ocelares foram observadas após seis horas e na placa IV as manchas já estavam presentes no início do experimento.

O tempo necessário para as larvas atingirem o estágio de copepódito variou entre 19 e 23h após a eclosão (Tab. 2). Foram observados copepóditos mortos aproximadamente 70h após a eclosão, sugerindo preliminarmente, que nas condições deste experimento, este é o tempo que *Caligus* sp. dispõe para encontrar um hospedeiro. Este tempo pode ser considerado relativamente curto, quando comparado ao período máximo de 18 dias tolerado por copepóditos de vida livre de *L. branchialis* (Whitfield *et al.* 1988). Entretanto, os tempos de desenvolvimento dos copepóditos, bem como a taxa de sobrevivência observados neste trabalho, podem estar sendo influenciados pela concentração de resíduos metabólicos, uma vez que não houve a renovação do meio durante o experimento.

TABELA 2 – Tempo (h) de primeira observação dos eventos registrados durante o desenvolvimento embrionário e larval de *Caligus* sp., parasita do linguado *Paralichthys orbignyanus*, a partir do início do experimento.

Placa	Presença de MO no início do ensaio	Aparecimento da MO	1ª ECL	CD	Reposição do SO	2ª ECL
I	Não	25 – 26	25 - 26	23	-	-
II	Não	21- 25	21 - 25	21	26	46
III	Não	6	8	19	20	53
IV	Sim	-	5	19	8	49

MO – mancha ocelar; ECL – eclosão; CD – copepódito (tempo a partir da 1ª ECL); SO - saco ovífero.

Nas placas II, III e IV verificou-se a reposição dos sacos ovíferos, imediatamente após a primeira eclosão. O tempo para o surgimento dos novos sacos ovíferos variou entre 8 e 26h. Assim como a diferença observada para o tempo de eclosão, esta variação pode ser explicada pela diferença no estágio de desenvolvimento dos ovos no início do experimento. As fêmeas que já apresentavam embriões com MO (placa IV) foram aquelas em que a formação dos sacos ovíferos foi mais rápida. Entretanto, nas fêmeas da placa II, onde o tempo para o surgimento das MO foi maior, a formação dos sacos ovíferos foi mais lenta (Tab. 2). O número de ovos observado nos novos sacos ovíferos ( $5,7 \pm 2,3$ ;  $n = 6$ ) foi menor do que o da primeira desova. Isto pode ter ocorrido, pois no momento da formação do primeiro SO as fêmeas estavam consumindo nutrientes dos hospedeiros, enquanto que na formação do segundo SO as fêmeas estavam em jejum.

Os ovos produzidos durante o ensaio foram viáveis mesmo sem a presença de machos, uma vez que as fêmeas de Caligidae reservam espermatozoides em um receptáculo seminal, permitindo a fecundação contínua dos ovos como é conhecido para estes crustáceos (Huys & Boxshall 1991).

O tempo necessário para a eclosão dos ovos, bem como o tempo que o copepódito pode esperar até encontrar um hospedeiro, são importantes para determinar o sucesso de infestação e de dispersão da espécie (Whitfield *et al.* 1988). Estes eventos são dependentes da temperatura (Johannessen 1978) e, portanto seria natural supor que em espécies de águas frias o tempo para eclosão e a sobrevivência dos copepóditos seja mais longo do que para espécies de águas quentes. *Caligus* sp. apresentou baixa fecundidade e o tempo de vida dos copepóditos foi de 70h, mas o tempo de reposição dos sacos ovíferos também foi curto, portanto seu potencial de infestação e de dispersão não são necessariamente prejudicados. Estas informações podem auxiliar no planejamento de protocolos de tratamentos preventivos através do manejo dos hospedeiros.

A piscicultura intensiva tem sido responsabilizada pelo aumento na infestação por parasitas de peixes selvagens, e Dawson (1998) sugere que este seria o motivo do desaparecimento de algumas populações de salmão na Irlanda. Isto aponta para a importância do estudo dos parasitas de *P. orbignyanus* antes que seu cultivo comercial esteja estabelecido, pois o conhecimento prévio das suas parasitoses permite que sejam estabelecidas medidas sanitárias visando a proteção não só dos peixes cultivados, mas também das populações selvagens.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a SCT-RS (Prog. Pólos Tecnológicos), a empresa Sul Química Ltda e a FAPERGS (Proc. no. 00/2159.9) pelo suporte financeiro oferecido para o desenvolvimento deste trabalho. R. Robaldo é bolsista de doutorado do CNPq (Proc. no 144334/98-4) e A. Bianchini recebe Bolsa de Produtividade em Pesquisa do CNPq (Proc. no 300536/90-9).

## LITERATURA CITADA

- AMATO, JFR, WA BOEGER & SB AMATO. 1991. Protocolos para Laboratório – Coleta e Processamento de Parasitos de Pescado. Ed. Universitária UFRRJ, R. de Janeiro. 81p.
- BIANCHINI, A, W WASIELESKY JR. & K MIRANDA FILHO. 1996. Toxicity of nitrogenous compounds to juveniles of flatfish *Paralichthys orbignyanus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 453-459.
- BOXSHALL, GA & D DEFAYE. 1993. Pathogens of wild and farmed fish: Sea lice. Ellis Horwood. 377p.
- CARNEIRO, MH 1995. Reprodução e alimentação dos linguados *Paralichthys patagonicus* e *Paralichthys orbignyanus* (Pleuronectiformes: Bothidae), no Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado. Fundação Universidade do Rio Grande, 80p.
- CARVAJAL, J, L GONZÁLEZ & M GEORGE-NASCIMENTO. 1998. Native sea lice (Copepoda: Caligidae) infestation of salmonids reared in netpen systems in Southern Chile. *Aquaculture*, 166 (3/4): 241-246.
- DAWSON, LHJ. 1998. The physiological effects of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) infections on returning post-smolt sea trout (*Salmo trutta* L.) in Western Ireland, 1996. *ICES J. Mar. Sci.*, 55 (2): 193-200.
- EIRAS, JC. 1994. Elementos de Ictiparasitologia. Porto, Fundação Eng. Antônio de Almeida. 339p.
- HAIMOVICI, M, AS MARTINS & PC VIEIRA. 1996. Distribuição e abundância de teleósteos demersais sobre a plataforma continental do Sul do Brasil. *Rev. Brasil. Biol.*, 56 (1): 27-50.
- HUYS, R & GA BOXSHALL. 1991. Copepod evolution. The Ray Soc. London, UK. 468p.
- IBAMA, 1998. Desembarque de pescados no Rio Grande do Sul, IBAMA, Rio Grande, 8p.
- IZAWA, K. 1969. Life-history of *Caligus spinosus* (Yamaguti 1939), obtained from cultured yellow tail, *Seriola quinqueradiata* T & S (Crustacea: Caligoida). *Rep. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie.*, 6: 127-157.
- JACOBSEN, JA & E GAARD. 1997. Open-ocean infestation by salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*): comparison of wild and escaped farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *ICES J. Mar. Sci.*, 54 (6): 1113-1119.
- JOHANNESSEN, A. 1978. Early stages of *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Sarsia*, 63: 169-176.
- KABATA, Z. 1979. Parasitic Copepoda of British Fishes. Londres, The Ray Society. 468p.
- LUQUE, JL & AD CEZAR. 2000. Redescriptions of two species of *Lepeophtheirus* (Copepoda, Siphonostomatoidea, Caligidae) parasitic on teleost marine fishes from coastal zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Zool.*, 17: 1079-1088.
- SAMPAIO, LA, A BIANCHINI. & VR CERQUEIRA. 2001. Growth of juvenile Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, cultured at different salinities. *J. Appl. Aquac.*, 11 (1/2): 67-75.
- SAMPAIO, LA & A BIANCHINI. 2002. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 269: 187-196.
- SILVEIRA, MP, JCB COUSIN & M HAIMOVICI. 1995. Estrutura testicular ovárica e testicular do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839). *Atlântica*, 17: 135-152.
- THATCHER, VE. 1981. Patologia de peixes da Amazônia brasileira, 1. Aspectos gerais. *Acta Amazônica*, 11 (1): 125-140.
- WASIELESKY JR., W, A BIANCHINI. & K MIRANDA FILHO. 1998. Tolerancia a la temperatura de juveniles de lenguado *Paralichthys orbignyanus*. *Frente Marítimo*, 17 (Sec. A): 55-60.
- WHITFIELD, PJ, MW PILCHER, HJ GRANT & J RILEY. 1988. Experimental studies on the development of *Lernaeocera branchialis* (Copepoda: Pennellidae): population processes from egg production to maturation on the flatfish host. *Hydrobiologia*, 167/168: 579-586.
- YAMAGUTI, S & T YAMASU. 1960. Two new species of copepods parasitic on Japanese fishes. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, 8(1):137-140.

Entrada: 08/05/02

Aceito: 05/08/02