

**Assembleia de metazoários parasitos e
histopatologias associadas às brânquias de
Odontesthes (Atherinopsidae) em habitat aquáticos
do extremo sul do Brasil**

Robert Blanco Huanto

Orientador: Prof. Dr. Rogério Tubino Vianna
Co-orientador: Dr. Renato Zacarias Silva

Rio Grande
2017



Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-graduação em Biologia de Ambientes
Aquáticos Continentais



Assembleia de metazoários parasitos e histopatologias associadas às brânquias de *Odontesthes* (Atherinopsidae) em habitat aquáticos do extremo sul do Brasil

Aluno: Robert Blanco Huanto

Orientador: Prof. Dr. Rogério Tubino Vianna

Co-orientador: Dr. Renato Zacarias Silva

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Biologia de
Ambientes Aquáticos Continentais como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Biologia de
Ambientes Aquáticos Continentais.

Rio Grande
2017

DEDICATÓRIA

A Deus, por me dar força e vida, meus pais Toribio Juan Blanco Apaza e Manuela Huanto Cerezo por aguentar minha loucura de ir adiante, a minhas irmãs Lourdes, Naydelin e meus sobrinhos Liyans e Katiely, que com seu apoio incondicional contribuíram para culminar esta grande aventura.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande (FURG), pela oportunidade de pertencer a esta grande Instituição. Também ao programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PPG-BAC) nas pessoas do corpo docente, direção e administração que me enriqueceram nesta experiência em aprender, para crescer acadêmica e científicamente.

Um agradecimento especial o meu orientador e amigo Dr. Prof. Rogério Tubino Vianna, por seu apoio durante todo o processo de minha formação e de preparação de minha dissertação, por suas contribuições e sugestões, que contribuíram grandemente para a realização do meu projeto.

Ao Dr. Renato Zacarias Silva, por me encaminhar nesse projeto, ele foi uma pessoa que sempre esteve ali pra me ajudar.

Aos meus parceiros do Laboratório de Biologia de Organismos Aquáticos (LABIPOA - FURG), que sempre estiveram nos bons e maus momentos.

A minha família que sempre apostou em cada novo projeto de vida, me dando conselhos e incentivando-me a alcançar meus objetivos profissionais.

A equipe da DIPSONG-FURG, em especial à Profa. Dra. Rosilene Maria Clementin, pelo seu profissionalismo e por estarem sempre atentas às necessidades dos mestrandos OEA.

Meus amigos da família OEA, que sempre estiveram presentes em minha vida durante este período, me mostrando o seu apreço e consideração.

Finalmente agradecer o Brasil por sua grande receptividade e oportunidade fornecida. Todas as pessoas que conheci nesta viagem foram significativas em minha vida e a partir dessas convivências cresci tanto profissionalmente como pessoalmente. Voltarei para meu país com uma mala cheia de novos conhecimentos, grandes amigos e memórias que ficarão gravadas para sempre em minha vida.

RESUMO

Sete espécies de *Odontesthes* são registradas no extremo sul do Brasil, duas delas, *Odontesthes bonariensis* e *O. argentinensis* e mais quatro outras espécies não possuem sinal filogenético para diferenciar-las. As duas espécies supracitadas despertam grande interesse econômico são de origem marinha e estão distribuídas em diferentes habitat: *O. bonariensis* ocorre nas Lagoas Mangueira (LMA) e Mirim (LMI) (água-doce) e *O. argentinensis* ocorre no Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) (euriahilas) e na região marítima (RM) e ambos os ambientes estão localizados na planície costeira. Os ectoparasitos branquiais são utilizados também como modelos ambientais, os quais têm suas patologias usadas como biomarcadores histológicos. Já os modelos de coevolução são dados a partir das interações históricas entre hospedeiro e parasito. Neste contexto, as diferenças ambientais apresentadas por estes sistemas de lagoas podem possibilitar a ocorrência de diferentes assembleias parasitárias nos peixes ao longo de diferentes habitat como na RM e no ELP. Assim, estes ambientes podem fornecer diferentes condições de infestação por ectoparasitos e mesoparasitos em *O. bonariensis* e *O. argentinensis* do sistema de lagoas do extremo sul do Rio Grande do Sul. O mesmo aspecto é esperado para algumas alterações histopatológicas nas brânquias relacionadas ao parasitismo. A Dissertação foi dividida em dois capítulos. O Capítulo I, tratou da assembleia de ectoparasitos e mesoparasitos de *Odontesthes*, no extremo sul do Brasil. Neste capítulo foram estudadas duas espécies de *Odontesthes* em diferentes habitats (LMA, LMI, ELP e RM). Foram capturadas 145 espécimes de *O. bonariensis* (LMA=100, LMI=45) e 82 *O. argentinensis* (ELP=58, RM=24); em quanto aos registros de parasitos; LMA se registrou o ectoparasito *Braga patagonica* (n=22) e mesoparasito *Artystone trysibia* (n=16), na LMI foram registradas ectoparasitos de *Gauchoergasilus euripedesi* (n=2) e *Ergasilus* sp. (n=2). No *O. argentinensis* se registraram 261 espécimes de *Ergasilus lizae* distribuídos em: ELP (149) e RM (112). A correlação de Spearman da abundância absoluta de *E. lizae* com o comprimento total (CT) de *O. argentinensis* do ELP e da RMA foi positiva média, enquanto que a correlação para *B. patagonica* e *A. trysibia* foi negativa, fraca e média, respectivamente. As comparações da prevalência (P%), abundância média (AM) e intensidade média de infecção (IMI) para *E. lizae* de *O. argentinensis* por habitat não apresentou diferença. Os índices parasitológicos relativos aos Isopoda de *O. bonariensis* na LMA para *B. patagonica* e para *A. trysibia* indicaram uma parasitose homogênea, com poucos hospedeiros parasitados. O Capítulo II, abordou sobre a histopatologia das brânquias de juvenis de *O. argentinensis* causadas por *E. lizae*. Espécimes de *E. lizae* do ELP causaram estrangulamento e erosão circular ao longo de todas as lamelas primárias de *O. argentinensis*. Também foram observadas anormalidades teciduais, necroses, hipertrofias e branquite catarral.

A resposta defensiva do hospedeiro aos danos nos tecidos foi similar a queratose. Todos esses danos histológicos são fatores importantes e que causam alterações nas trocas gasosas e na osmorregulação dos hospedeiros juvenis.

Palavras-chave: Ergasilidae, Cymothoidae, Infestação, Estuário da Lagoa dos Patos, Lagoa Mirim, Lagoa Mangueira, Peixe-rei.

ABSTRACT

Seven species of *Odontesthes* are recorded in the southern Brazil, two of them, *Odontesthes bonariensis* and *O. argentinensis* and four other species haven't a phylogenetic sign to differentiate them. The two cited species present strong economic interest, and marine origin and they are distributed in different habitats: *O. bonariensis* occurs at the Mangueira and Mirim Lagoons (freshwater) and *O. argentinensis* occurs at the Estuary of Lagoa dos Patos and the sea, comprising the coastal plain. The interactions between host fish and their parasites within these habitats provide models for ecological and evolutionary patterns. The ecological studies are based on the values of the parasitological indexes, allowing populational inferences. Gill's ectoparasites are also applied environmental models, which have their pathologies used as histological biomarkers. Already the models of coevolution are given from the historical interactions concerning to host-parasite interactions. In this context, the differences presented by these lacunar systems can allow the occurrence of different types of parasites in the fish along of different habitats in the marine region (RM) and in the Patos Lagoon estuary (ELP) which can offer different conditions of infestation by ectoparasites and mesoparasites on *O. bonariensis* and *O. argentinensis* from the lagoon system from southern Rio Grande do Sul. The same parasitological aspect is expected to some histopathological changes in the host's gills. The Dissertation was divided into two chapters. Chapter I deals with the assembly of ectoparasites and mesoparasites of *Odontesthes*, in southern Brazil. In this chapter five species of Crustaceans were recorded: *Ergasilus* sp. and *Gauchergasilus euripidesi* (Copepoda, Ergasilidae) of *O. bonariensis* from LMI. *Ergasilus lizae* (Copepoda, Ergasilidae) was reported of *O. argentinensis* from the ELP and RM. *Braga patagonica* and *Artystone trysibia* (Isopoda, Cymothoidae) of *O. bonariensis* from LAM. The absolute abundance of *E. lizae* showed a positive and mean (weak) correlation with the total length of *O. argentinensis* from ELP and RM, whereas a Spearman's correlation observed for *B. patagonica* was negative and weak and for *A. trysibia* it was negative and moderate. The comparisons of the prevalence (P%), mean abundance (MA) and mean intensity of infection for *E. lizae* of *O. argentinensis* per habitat no showed differences. The parasitological indexes relative to the Isopoda of *O. bonariensis* at LAM for *B. patagonica* and for *A. trysibia* indicated a homogeneous parasitosis, with few parasitized hosts. The Chapter II is about the gill's histopathology of juveniles of *O. argentinensis* caused by *E. lizae*. Specimens of *E. lizae* from

PLE caused narrowing and circular erosion along of the all primary lamellae of *O. argentinensis*. Tissue abnormalities as necrosis hypertrophy and catarrhal branquitis were also observed. Host's defensive response to tissue damage was similar to the keratosis. All these histological damages are important and cause gas exchange alterations and in the development of the juvenile hosts

Key-words: Assemblage, Ergasilidae, Cymothoidae, Silverside, Patos Lagoon Estuary, Mirim Lagoon, Mangueira Lagoon, .

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
INTRODUÇÃO GERAL	1
BIBLIOGRAFIA GERAL.....	5
CAPÍTULO 1.....	10
ASSEMBLEIA DE ECTOPARASITOS E MESOPARASITOS DE <i>Odontesthes</i> , NO EXTREMO SUL DO BRASIL	10
RESUMO.....	10
ABSTRACT	11
INTRODUÇÃO	12
MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS	17
Correlações de parasitos por comprimento nos diferentes habitat (ELP, RM e LMA)	18
Índices parasitológicos por habitat (LMA, ELP e RM)	18
Índices parasitológicos por classes de comprimento por habitat (LMA, ELP e RM).....	19
DISCUSSÃO	20
CAPITULO 2.....	38
HISTOPATOLOGIA BRANQUIAL EN JUVENILES DE <i>Odontesthes argentinensis</i> (Atheriniformes) PARASITADOS POR <i>Ergasilus lizae</i> (Copepoda) EN EL ESTUARIO DE LA LAGOA DOS PATOS, BRASIL	38
RESUMEN	38
ABSTRACT	39
INTRODUCCÓN	40
MATERIAL Y MÉTODOS	41
RESULTADOS	43
DISCUSIÓN	45
BIBLIOGRAFIA	50
CONCLUSÕES GERAIS	58
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	59

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1.

Figura 1. Localização das Lagoas Mangueira (LMA), Mirim (LMA), Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) e costa sul do Rio Grande do Sul, região marítima (RM). Estrela toda preta= a Barra ELP. Estrela preta e cinza = Cassino. Estrela cinza e preta= Santa Isabel. Estrela branca e cinza= A Capilha, Estrela preta e branca= Santa Victoria, Canal São Gonçalo (Seta).....32

Figura 2. Espécimes de peixes-rei. A. *Odontesthes argentinensis* do Estuário da Lagoa dos Patos e mar adjacente. B. *Odontesthes bonariensis* da Lagoa Mangueira e Lagoa Mirim. ..32

Figura 3. Crustacea parasitos de *Odontesthes* spp. **A.** *Ergasilus lizae* (Copepoda) fêmea adulta, habitus ventral, de *Odontesthes argentinensis*, no Estuário da Lagoa dos Patos e região marítima. **B.** *Braga patagonica* (Isopoda) de *Odontesthes bonariensis* da Lagoa Mangueira em visão dorsal. **C-D.** *Artystone trysibia* (Isopoda) de *Odontesthes bonariensis* da Lagoa Mangueira. C. Visão dorsal. D. Visão ventral.. Barras de escalas; A=100 µm, B = 0,5 cm, C e D = 1 cm.....33

CAPITULO 2.

Figura 1. *Ergasilus lizae* (ERG) en la branquia (BRA) de *Odontesthes argentinensis* del extremo sur de Brasil. A: Microfotografías de um parasito anclado *in toto* e *im naturae*. Segundo lugar antenas (flechas) de anclado do LAM. Escala: 04 mm. B: Parasite anclado em la base del LAM. La oblitecación de la LAM (círculo). Detalle: La segunda antenas en corte transversal (flechas). Tincion: H-E. Escala: 515 µm C: ERG en el meio de LAM. Detalle: los restos celulares das brânquias (círculo), toracópodos (flechas llenas), segunda antena derecha en corte transversal (Fecha vacia). Tinción: H-E. Escala: 400 µm. Leyenda Geral: LAM – Primera lamela pimários; ARC –arco branquial SAC - saco ovígera do ERG.55

Figura 2. *Ergasilus lizae* (ERG) en la branquia de *Odontesthes argentinensis* del sur de Brasil. A: Anclaje del parásito con la segunda antena (círculos) en el LAM. Tinción: H-E. Escala: 35µm. B: fotomicrografías ERG en el centro de la LAM causando la obliteración de las branquias. Detalle: massas de células necroticas (circulo) e o OAP del ERG. Escala: 220 µm. C: Fotomicrografías de ERG en la punta de LAM con Digenea (Metacecariae) que ocurre concomitantemente y alineado (círculos). Detalle: Segunda antena ancladode la LAM (flechas). Tinción: H-E. Escala: 310 µm. General Leyenda: ARC–arco branquial; LAM-lamela de branquia primaria; OAP–aparato oral; SAC - saco ovígero del ERG.56

Figura 3. *Ergasilus lizae* (ERG) en la branquia (BRA) de *Odontesthes argentinensis* del sur de Brasil. A: Anclaje del parásito con la segunda antena (círculo) y con el aparato oral (OAP) en el LAM con proyección del maxilipede (flecha). Mancha: H-E. Escala: 35µm. B: microfotografías de ERG en el centro de la LAM causando la obliteración de las branquias. Escala: 220 µm.57

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1

Tabela 1. Registro dos parasitos por habitat: Região marinha adjacente (RM), Estuário da Lagoa dos Patos (ELP); Lagoa Mirim (LMI); Lagoa Mangueira (LMA).	34
Tabela 2. Índices parasitológicos de Prevalência (P%), Abundância Média (AM) e Intensidade Média de Infestação (IMI) por Isopoda em <i>Odontesthes bonariensis</i> na Lagoa Mangueira.	34
Tabela 3. Índices parasitológicos de Prevalência (P%), Abundância Média (AM) e Intensidade Média de Infestação (IMI) da infestação por <i>Ergasilus lizae</i> para <i>Odontesthes argentinensis</i> do Estuário Lagoa dos Patos (ELP) e a Região marinha adjacente (RM).	34
Tabela 4. Classes de comprimento de <i>Odontesthes argentinensis</i> do Estuário da Lagoa dos Patos, com dados de média do comprimento, limites de cada classe: inferior (LI) e superior (LS), quantidade e índices parasitológicos (Prevalência - P%, Abundância Média - AM e Intensidade Média de Infestação IMI) por classe de comprimento	35
Tabela 5. Classes de comprimento de <i>Odontesthes argentinensis</i> da Regiao Maritima (RM), com dados de média do comprimento, limites de cada classe: inferior (LI) e superior (LS), quantidade e índices parasitológicos (Prevalência - P%, Abundância Média - AM e Intensidade Média de Infestação IMI) por classe de comprimento.	35
Tabela 6. Classes de comprimento de <i>Odontesthes bonariensis</i> da Lagoa Mangueira (LMA), com dados de média do comprimento, limites de cada classe: inferior (LI) e superior (LS), quantidade e índices parasitológicos (Prevalência - P%, Abundância Média - AM e Intensidade Média de Infestação IMI) por classe de comprimento.	36
Tabela 7. Registro de estudos registrando <i>E. lizae</i> , em diferentes hospedeiros no Brasil. ELP = Estuário da Lagoa dos Patos; RM = Região Maritima.	37

INTRODUÇÃO GERAL

As espécies de Atherinopsidae (Atheriniformes) compreendem 13 gêneros com 104 espécies endêmicas do continente Americano. Sendo que 20 espécies pertencem ao gênero *Odontesthes* e estão distribuídas em ambientes costeiros e águas interiores da América do Sul (Froese & Pauly, 2012). No extremo sul do Brasil sete espécies de *Odontesthes* estão presentes: *O. argentinensis*, *O. bonariensis*, *O. humensis*, *O. incisa*, *O. mirinensis*, *O. perugiae* e *O. retropinnis* (Bemvenuti, 2002; Artioli et al., 2009).

As espécies de *Odontesthes* são morfologicamente similares e conhecidas por ocorrerem-nos mesmos tipos de ambientes (Bemvenuti, 2006). Devido a esta homogeneidade morfológica e à grande sobreposição dos dados biométricos dentre as espécies desse gênero e de Atheriniformes em geral, há a possuem a tendência de formarem associações em micro-habitat, o que deixa a caracterização morfológica ainda mais difícil (Bamber & Henderson, 1988).

Para diferenciar as espécies de *Odontesthes* e suas relações evolutivas, García et al. (2014) utilizaram microssatélites e Citocromo Oxidase I (COI) em análises populacionais e filogenéticas, onde, observaram a falta de sinal filogenético para a diferenciação das espécies dentro de clados formados por (1) *O. argentinensis*, *O. perugiae*, *O. humensis* e (2) *O. bonariensis*, *O. perugiae*, *O. humensis*. Os mesmos autores indicam que os clados (1 e 2) tem um ancestral polimórfico compartilhado por essas espécies, incompleta especiação das linhagens e eventos reticulados envolvendo estes taxa. Além disso, sugerem a ocorrência de hibridismo recente dentro de cada clado.

Além do interesse científico devido às características e condições dadas sobre a sua história evolutiva, denotando o aspecto de serem bons modelos para estudos evolutivos (Beheregaray & Levy, 2000; Dyer, 2006; García et al., 2014; Campanella et al., 2015), *O. argentinensis* e *O. bonariensis*, despertam grande interesse econômico como importantes recursos para a pesca (artesanal e desportiva) e a piscicultura (marinha e dulcícola) no extremo sul do Brasil (Sampaio & Piedras, 2005; Dyer, 2006; Bento & Bemvenuti, 2008), pois são consideradas adequadas para o consumo humano (Reartes, 1995) e de fácil manejo.

Odontesthes argentinensis e *O. bonariensis* possuem origem marinha (Campanella et al., 2015) mas ocorrem em diferentes ambientes. *Odontesthes argentinensis* se distribui no Oceano Atlântico, da costa sudeste do Brasil à província de Chubut na Argentina (Beheregaray & Levy, 2000). Apesar da distribuição desta espécie ser ampla,

um estudo utilizando aloenzimas demonstrou que as populações da costa do Uruguai e Brasil formam uma única população. Os estoques de *O. argentinensis* apresentam baixa divergência genética devido à existência de fluxo gênico, que é conferido pela dinâmica de correntes que distribuem ovos e larvas de forma similar entre a costa do Uruguai e do Rio Grande do Sul (Beheregaray & Levy, 2000). No entanto, *O. bonariensis* ocorre em ambientes dulciaquícolas, com registros na Argentina (Buenos Aires) e Brasil (Sistema de Lagoa dos Patos-Mirim e Lagoa Mangueira) (Beheregaray & Levy, 2000; Dyer, 2006). Devido à ocorrência em água doce, a hipóteses sobre a origem dessa espécie em ambientes dulcícolas foram apresentadas por Dyer (2006), o que foi refutado recentemente por Campanella et al. (2015), indicando que a origem de *O. bonariensis* é marinha.

No Sistema de Lagoas (Patos-Mirim e Mangueira) e na costa adjacente ao Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) *O. argentinensis* e *O. bonariensis* possuem distribuição muito bem descritas. Ambas as espécies ocorrem simpatricamente no ELP, enquanto que nas Lagoas Mirim e Mangueira há registro somente de *O. bonariensis* e na costa marinha adjacente ao ELP, somente *O. argentinensis* é encontrado (Beheregaray & Levy, 2000).

O sistema de lagoas do sul do Rio Grande do Sul (Patos-Mirim e Mangueira) fornece dois tipos de ambientes, um parcialmente fechado em contato com o Oceano Atlântico (Sistema Patos-Mirim) e outro totalmente fechado (Lagoa Mangueira) (Calliari, 1998). A Lagoa dos Patos (LPA) está localizada em uma planície costeira, onde diversos eventos Quaternários de regressão e transgressão do mar levaram a interligações e desligamentos das Lagoas Mangueira e Mirim ao longo de milhões de anos, por meio da formação de barreiras geológicas. No Holoceno, já 325 mil anos antes do presente (maap), a LPA inicia seu isolamento dos demais corpos lacustres, exceto da Lagoa Mirim, da qual continua conectado pelo Canal São Gonçalo formando o Complexo Patos-Mirim (CPM). Porém, as condições geomorfológicas atuais do ELP foram dadas devido à formação da barreira geológica III a cerca de 120 maap (Calliari, 1997; Asmus 1998; Calliari, 1998; Tomazelli & Villwock, 2005). A Lagoa Mangueira iniciou seu isolamento a cerca de 5 maap e sem conectividade com a Lagoa Mirim (Villwock, 1987; Tomazelli & Villwock, 2005).

As populações de *O. argentinensis* do mar e do ELP tem uma divergência temporal dada entre 112-115 maap (Beheregaray & Levy, 2000), já para *O. bonariensis* não há uma hipótese de divergência entre as populações. No entanto, a distribuição de espécies congenéricas de peixes em diferentes ambientes pode ser observada historicamente

(evolutivamente) através de dados paleontológicos e populacionais, e destes associados a dados sobre a comunidade parasitológica (Brooks & MacLennan, 1993).

Os sistemas hospedeiro-parasito são modelos de interesse para a compreensão dos padrões e processos em ecologia de comunidades. Desta forma, os parasitos podem ser usados como indicadores em estudos populacionais dos seus hospedeiros através de índices parasitológicos (Bush et al., 1997; MacKenzie & Abaunza, 1998; Sanchez-Ramirez et al., 2007). Adicionalmente, o modelo pode se estender para estudos co-evolutivos, indicando processos como trocas de hospedeiros, migrações junto ao hospedeiro e processos de especiação, extinção, dentre outros (Brooks & MacLennan, 1993; Ronquist, 1995, 2003; Boeger et al., 2003).

De forma geral, os registros de parasitos em *Odontesthes* são restritos e os estudos relacionados são incipientes e escassos, tanto no Brasil, como em outros países de coocorrência. Para *O. bonariensis* do Brasil foram registrados *Artystone trysibia* (Isopoda, Cymothoidae) junto às nadadeiras ventrais de juvenis (Gonçalves, 2007) e a infecção branquial de *Chilidonella* sp. (Ciliophora) em cultivo experimental (Fernandes et al., 2011).

Em *O. bonariensis* da Argentina foram registradas cinco espécies de Digenea (*Austrodiplostomum* cf. *mordax*, *Ascocotyle* (*Phagicola*) cf. *diminuta*, *Ascocotyle* sp., *Thometrema bonariensis* e *Saccocoeloides* sp.); espécies de Nematoda (larvas de *Contracaecum* spp., *Contracaecum* sp. e *Hysterothylacium* sp.); uma de Acanthocephala (*Wolffhugelia matercula*); uma de Cestoda (*Cangatiella macdonaghi*) (Mancini et al., 2006, 2008; Drago, 2012); *Lernaea cyprinacea* (Crustacea) e a bactéria *Aeromonas hydrophyla* (Mancini et al., 2006, 2008).

Estudos de parasitos são importantes para o entendimento ecológico e evolutivo da relação hospedeiro-parasito, mas também para a atividade de cultivo, onde este conhecimento auxilia evitando perdas financeiras. No entanto, a atividade de cultivo de Atherinopsidae no Rio Grande do Sul é incipiente. Em grande parte o cultivo é experimental e centrado em *O. bonariensis* (água-doce) e *O. argentinensis* (marinho) (Costa, 2001; Sampaio & Piedras, 2005; Kütter, 2007), existindo alguns ensaios experimentais realizados com *O. humensis* (Pouey et al., 2012).

No cultivo de peixe-rei são utilizados, geralmente, ovos e matrizes provenientes do ambiente (Sampaio & Piedras, 2005), o que limita a cadeia produtiva. Estas matrizes, quando introduzidas no cultivo, sem o período de quarentena apropriado podem carrear parasitos para o meio de produção (Yanong, 2012). Isto demonstra a importância

econômica e sanitária do estudo de parasitos em peixes (Sindermann, 1990), principalmente daqueles que apresentam as brânquias parasitadas, e que podem resultar em doenças com altas taxas de mortalidade dos peixes, principalmente em atividade de cultivo (Eiras, 1994; Thatcher, 1981). Entre os parasitos branquiais mais comuns em peixes, estão os Monogenoidea e os Crustacea Copepoda e Isopoda (Thatcher, 2006).

Os Monogenoidea quando em pequenos números podem não causar danos significativos às brânquias dos peixes, porém em grandes números ou em situações de grandes densidades de hospedeiros, estes parasitos podem causar alterações estruturais, fisiológicas e comportamentais plausíveis. As modificações relacionadas aos Monogenoidea podem resultar do consumo do tecido branquial; refletindo em alteração laminar e redução da capacidade respiratória do peixe. As histopatologias descritas para as Monogenoidosis contemplam hiperplasia do epitélio branquial; hemorragias; crescimento tumoral; alteração da circulação do sangue na brânquia até a destruição completa dos filamentos branquiais (Boeger & Vianna, 2006).

Os Copepoda causam alterações semelhantes àquelas causadas pelos Monogenoidea, tais como hiperplasia, metaplasia e obliteração lamelar branquial do hospedeiro. As antenas preêmenseis dos *Ergasilidae* (Copepoda) permitem a ancoragem nos filamentos branquiais. O efeito torniquete resultante da ancoragem causa diferentes patologias como: redução da circulação sanguínea, reações inflamatórias, encapsulamento fibrótico com posterior destruição do tecido, necrose do filamento ou simplesmente a instalação de infecções secundárias pela destruição das barreiras epiteliais do tecido branquial. Adicionalmente, assim como os Monogenoidea, a redução da eficiência do tecido branquial pode causar anóxia, deficiência metabólica e até mesmo a morte do hospedeiro (Thatcher, 2006).

As brânquias são consideradas órgãos primários encarregados por diversos processos fisiológicos (respiração, osmorregulação e etc). As lesões e patologias neste órgão causadas por agentes contaminantes (industrial, urbano e da agropecuária) são utilizadas para avaliar o efeito da poluição de modo geral (química, física e biológica) (Flores-Lopez & Thomaz, 2011; Bernet et al., 1999) e estas patologias podem ser usadas como biomarcadores da qualidade ambiental histopatologicamente (Giari et al., 2007; Verján et al., 2001).

Assim, o estudo das alterações branquiais causadas por agentes patogênicos, inclusive os parasitos permite avaliar o impacto destes organismos sobre os hospedeiros, prevenindo perdas econômicas e desenvolver medidas sanitárias. Entretanto, registros de

parasitos metazoários branquiais e as lesões/histopatologias decorrentes para espécies de *Odontesthes* inexistem, principalmente para a região do ELP e todo sistemas de lagoas e costa marinha adjacente.

Hipótese

A formação geológica do complexo de lagoas Patos-Mirim e Mangueira, resultante do isolamento por barreiras arenosas oriundas de regressões e transgressões marinhas, pode ter causado o isolamento de assembleias de peixes-reis e parasitos branquiais. Com isso, cada corpo de água pode apresentar uma assembleia de parasitos branquiais em seus respectivos hospedeiros, que podem causar diferentes histopatologias.

Objetivos

Determinar e caracterizar a composição das assembleias de metazoários ectoparasitos e mesoparasitos de peixes-rei do sistema das lagoas Patos-Mirim e Mangueira e na área costeira do Atlântico Sul

Descrever as histopatologias decorrentes das alterações brânquias causadas por *Ergasilus lizae* em *Odontesthes argentinensis* no Estuário da Lagoa dos Patos no extremo sul do Brasil.

BIBLIOGRAFIA GERAL

- Artioli, L. G. S., Vieira, J. P., Garcia, A. M., Bemvenutti, M. A. 2009. Distribuição, dominância e estrutura de tamanhos da assembleia de peixes da lagoa Mangueira, sul do Brasil. *Iheringia Ser. Zool.*, 99(4): 409-418.
- Asmus, M. L. 1998. A planície costeira e a Lagoa dos Patos. In: Os ecossistemas costeiros e marinho do extremos sul do Brasil. Seeliger U. Odebrecht C. e Castello, JP. (Org.). Editora Ecoscientia.
- Bamber, R. N., Henderson, P. A. 1988. Pre-adaptive plasticity in atherinids and the estuarine seat of teleost evolution. *J. Fish Biol.* 33 (Suplemento A): 17-23.

- Beheregaray, L., Levy, J. 2000. Population genetics of the silverside *Odontesthes argentinensis* (Teleostei, Atherinopsidae), evidence for speciation in an estuary of southern Brazil. *Copeia* 2000, 441- 447.
- Bemvenuti, M. A. 2002. Diferenciação morfológica das espécies de peixes-rei, *Odontesthes* Evermann & Kendall (Osteichthyes, Atherinopsidae) no extremo sul do Brasil: morfometria multivariada. *Revta Bras. Zool.*, 19(1): 251-287.
- Bemvenuti, M. A. 2006. Silversides in South Brazil: Morphological and ecological aspects. *Biocell.* 30(1): 111-118.
- Bento, D. M., Benvenuti, M. A. 2008. Os peixes de água doce da pesca artesanal no sul da Lagoa dos Patos, RS – Subsídios ao ensino escolar, *Cadernos de Ecologia Aquática* 3 (2): 33-41
- Bernet, D. Schmidt, H., Meier, W., Bukhardt-Holm, P., Wahli, T. 1999. Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J. Fish Dis.*, 22:25-34.
- Boeger, WA, Vianna, R. T. 2006. Monogenoidea. In: Thatcher VE. Amazon Fish Parasites. Sofia: Pensoft Publishers. p. 42-116.
- Boeger, W. A., Kritsky, D. C., Pie, M. R. 2003. Context of diversification of the viviparous Gyrodactylidae (Platyhelminthes, Monogenoidea). *Zoologica Scripta* 32: 437-448.
- Brooks, D. R., McLennan, D. A. 1993. Parascript: parasites and the language of evolution. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, 429p.
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, M., Shostak, A. W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, 83 (4): 575-583.
- Calliari, L. J. 1997. Environment and biota of the Patos Lagoon estuary: geological setting. P.13-17. In: Subtropical convergence environments: the coast and sea in southwestern Atlantic. Seeliger U., Odebrecht C. e Castello, JP.(Org.).Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Calliari, L. J. 1998. O ambiente e a biota do estuário da Lagoa dos Patos. In: Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Seeliger U., Odebrecht C. e Castello, JP. (Org.). Editora Ecoscientia.

- Campanella, D., Hughes, L. C., Unmack, P. J., Bloom, D. D., PillerK, R., Ortí, G. 2015. Multi-locus fossil-calibrated phylogeny of Atheriniformes (Teleostei, Ovalentaria). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 86: 8-23.
- CONCEA, 2013. Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conceal. Brasília/DF. 54p.
- Costa, M. P. V. 2001. Organogênese, cinética digestiva e efeitos da inanição em larvas de peixe-rei marinho, *Odontesthes argentinensis* (Valenciennes, 1835) (Teleostei: Atherinopsidae). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. Fundação Universidade Federal do Rio Grande. 103 p.
- Drago, B. F. 2012. Community structure of metazoan parasites of silverside, *Odontesthes bonariensis* (Pisces, Atherinopsidae) from Argentina. *Iheringia, Série Zoologia*, Porto Alegre, 102(1):26-32.
- Dyer, B. S. 2006. Systematic revision of the South American silversides (Teleostei, Atheriniformes). *BIOCELL*, 30(1): 69-88.
- Eiras, J.C. 1994. Elementos de Ictioparasitologia. Fundação Eng. António de Almeida. 339p.
- Fernandes, M., Portelinhas, M. K. Rocha, C. B., Pouey, J.L.F.O., Piedras, S.R.N. 2011. Occurrence and control of *Chilodonella* spp. in pejerrey *Odontesthesbonariensis*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 63(3): 788-790.
- Flores-Lopez, F., Thomaz, A. T. 2011. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. *Braz. J. Biol.*, vol. 71, no. 1, p. 179-188
- Froese, R., Pauly, D. 2012. Species of *Odontesthes* in FishBase. June 2012 version García G, Ríos N, Gutiérrez V, Jorge Guerra Varela J. G., Fernández C. B., Pardo B. G., Portela P. M. 2014. Promiscuous Speciation with Gene Flow in Silverside Fish Genus *Odontesthes*. (Atheriniformes, Atherinopsidae) from South Western Atlantic Ocean Basins. 9 (8): e104659.
- Giari, L., Manera, M., Simoni, E., Dezfuli, B. S. 2007. Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium. *Chemosphere*. 67: 1171-81.
- Gonçalves, T. P. 2007. Metazoários parasitas de juvenis do peixe-rei *Odontesthes bonariensis* Cuvier & Valenciennes, 1835 em cultivo experimental. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

- Humason, G. L. 1979 Animal Tissue Techniques. 4^a Ed.
- Kabata Z. 1974. Parasitic Copepoda of British fishes. Ray Society, London.
- Kritsky, D. C., Stockwell, C. A. 2005. New species of *Gyrodactylus* (Monogenoidea, Gyrodactylidae) from the white sands pupfish, *Cyprinodon tularosa*, in New Mexico. The Southwestern Naturalist. 50 (3): 312-317.
- Kütter, M. T. 2007. Substituição do alimento vivo por ração na alimentação do peixe-rei marinho *Odontesthes argentinensis*. Dissertação de Mestre. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Animal Comparada. Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- MacKenzie, K., Abaunza, P. 1998. Parasites as biological tags for stock discrimination of marine fish: a guide to procedures and methods. Fish. Res. 38: 45-56.
- Mancini, M., Bucco, C., Salinas, V., Larriestra, A., Tanzola, R., Guagliardo, G. 2008. Seasonal variation of parasitism in pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Atheriniformes, Atherinopsidae) from la Viña reservoir (Córdoba, Argentina). Rev. Bras. Parasitol. Vet., 17(1) : 28-32.
- Mancini, M., Rodriguez, C., Prosperi, C., Salinas, V., Bucco, C. 2006. Main diseases of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) in central Argentina. Pesq. Vet. Bras., 26(4): 205-210.
- Pouey, J. L. O. F., Rocha, C. B., Tavares, R. A., Portelinha, M. K., Piedas, S. R. N. 2012. Freqüência alimentar no crescimento de alevinos de peixe-rei. Semina: Ciências Agrárias. Londrina,v.33,n. 6,p. 2423-2428.
- Reartes, J. L. 1995. El Pejerrey (*Odontesthes bonariensis*): Métodos de cría y cultivo masivo. COPESCAL Documento Ocasional. No. 9. Roma. 35p.
- Roberts, R. J. 2004. Fish Pathology. 3^a Ed. 429p.
- Ronquist, F. 1995. Reconstructing the history of host-parasite associations using generalised parsimony. Cladistics. 11: 73-89.
- Ronquist, F. 2003. Parsimony analysis of coevolving species associations. In: *Tangled trees: Phylogeny, cospeciation, and coevolution*. Page, RDM (ed). Chicago Press.
- Sampaio, L., A., Piedras, S. R. N. 2005. Cultivo do peixe-rei marinho, *Odontesthes argentinensis*, e de água doce, *Odontesthes bonariensis*. In: Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Baldisserotto B., Gomes LC. (Org).

- Sanchez-Ramirez, C., Vidal-Martinez, V., Aguirre-Macedo, M., Rodriguez-Canul, R., Gold-Bouchot, G., Sures, B. 2007. *Cichlidogyrus sclerosus* (Monogenea: Ancyrocephalinae) and its host, the nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), as bioindicators of chemical pollution. J. Parasitol. 93(5): 1097–1106.
- Sindermann, C. J. 1990. Principle Diseases of Marine Fish and Shellfish. Vol. 1. 2nd edn. San Diego: Academic Press. 521 pp.
- Thatcher, V., E., Pereira, J. JR. 2006. *Kroyeria brasiliense* sp. nov. (Copepoda, Kroyeriidae) a gill parasite of the shark, *Galeorhinus vitamineus* de Buen, in Rio Grande do Sul State, Brazil. Revista Brasileira de Zoologia, 23 (4): 1185–1187
- Thatcher, V. E. 1981. Patologia de peixes da Amazônia Brasileira, 1. Aspectos gerais. Acta Amazonica. 11 (1): p.125-140.
- Thatcher, V. E. 2006. Amazon fish parasites. Sofia-Moscow: Pensoft, 2006. 508 p.
- Tomazelli, L. J., Villwock, J. A. 2005. Mapeamento geológico de Planícies costeiras: o exemplo da costa do Rio Grande do Sul. Gravel (3): 109-115.
- Verján, N., Iregui, C. A., Rey, A. L., Donado, P. 2001. Sistematización y caracterización de las lesiones branquiales de la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) de cultivo clínicamente sana: algunas interacciones hospedador-patógeno-ambiente. AQUATIC: Revista Electrónica de Acuicultura. Tecnología e Investigación en Castellano, 15:1-25.
- Villwock, L. A. 1987. Processos costeiros e a formação das praias arenosas e campos de dunas ao longo da costa sul e sudeste brasileira. In: Anais Simpósio Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira: síntese dos conhecimentos, Cananéia, p. 380-398.
- Yanong, R. P. E. 2012. Biosecurity in Aquaculture, Part 2: Recirculating Aquaculture Systems. USDA Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication 4708.

CAPÍTULO 1

ASSEMBLEIA DE ECTOPARASITOS E MESOPARASITOS DE *Odontesthes*, NO EXTREMO SUL DO BRASIL.

Huanto B. R^{1,2}, Silva Z. R.¹, Vianna R. T^{1,2}.

1 Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos (LABIPOA), Instituto de Ciências Biológicas (ICB). Avenida Itália, Km 8, s/n, Caixa postal 474, CEP: 96203-900, Rio Grande, RS.

2 Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PPG-BAC), FURG, ICB.

RESUMO

Foram examinados 227 espécimes de peixe-rei que foram coletados no complexo de habitat aquáticos do sul do Rio Grande do Sul- Brasil, divididos em duas espécies de hospedeiros: *O. bonariensis* (n=145) na lagoa Mangueira e Mirim; *O. argentinensis* (n=82) no Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) e na Região Marítima (RM). As coletas ocorreram entre maio de 2015 a agosto de 2016. Foram encontradas um total de cinco espécies de parasitos, a Ordem Poecilostomatoida com três espécies: *Ergasilus* sp., *E. lizae* e *Gauchoergasilus euripedesi*. A Ordem Isopoda com duas espécies: *Braga patagonica* e *Artystone trysibia*, esta última registrada como Mesoparasito. As duas espécies tiveram correlação negativa entre o comprimento do hospedeiro e a abundância absoluta. No ELP e RM foi observada correlação positiva fraca. Os valores dos índices parasitológicos de P%, AM e IMI foram maiores no ELP do que na RM. Os dados obtidos neste estudo sugerem que o habitat pode influenciar nas assembleias de ectoparasitos em peixes-rei.

PALAVRAS CHAVES: Peixe-rei, Ergasilidae, Cymothoidae,

ABSTRACT

A total of 227 specimens of silversides were collected in the complex of aquatic habitat at Rio Grande do Sul-RS, divided into two host species: *O. bonariensis* (N = 145) at Mangueira and Mirim Lagoon; *O. argentinensis* (N=82) in the Lagoa dos Patos Estuary (PLE) and in the Maritime Region (MR). The collections occurred between May 2015 and August 2016. A total of five species of parasites were found, the Order Poecilostomatida with three species: *Ergasilus* sp., *E. lizae* and *Gauchoergasilus euripedesi*. The Order Isopoda with two species: *Braga patagonica* and *Artystone trysibia*, the latter registered as mesoparasite. We observed a weak correlation between the length of the hosts and the absolute abundances of *E. lizae* per habitat (ELP and RM), on the other hand, were the absolute abundance correlations for each species of Isopods were negative. The values of the parasitological indexes of P%, AM and IMI were higher in ELP than in MR. The data obtained in this study suggest that the habitat may influence the ectoparasitic assemblages in silversides.

PALAVRAS CHAVES: Assemblage, Ergasilidae, Cymothoidae.

INTRODUÇÃO

As espécies de Atherinopsidae (Atheriniformes) compreendem 13 gêneros com 104 espécies endêmicas do continente Americano. Dessas, 20 espécies pertencem à *Odontesthes* que estão distribuídas em ambientes costeiros e águas interiores da América do Sul (Froese & Pauly, 2012). No extremo sul do Brasil sete espécies de *Odontesthes* estão presentes: *O. argentinensis*, *O. bonariensis*, *O. humensis*, *O. incisa*, *O. mirinensis*, *O. perugiae* e *O. retropinnis* (Bemvenuti, 2002; Artioli et al., 2009).

As espécies de peixes-rei estão distribuídas em diferentes ambientes aquáticos, desde lacustres dulciaquícolas até o estuarino e marinho (White, 1985). Os sistemas de lagoas ligadas ou não ao mar são encontrados no extremo sul do RS, oferecendo ambientes com diferentes características: dulcícola, estuarino e marinho (Trindade et al., 2010). No município de Rio Grande dois importantes sistemas são observados, (1) o Estuário da Lagoa dos Patos, que se conecta à Lagoa Mirim, configurando um sistema parcialmente fechado e (2) a Lagoa Mangueira que é um sistema fechado (Calliari 1998). Estes ambientes contêm características distintas que podem influenciar de diferentes formas na biologia de peixes hospedeiros e seus associados (Cardon et al., 2011).

Duas espécies de peixes-rei são as mais abundantes e podem ocorrer tanto simpaticamente, quanto alopaticamente (lagoas interiores do ELP e marinho). *Odontesthes argentinensis* (Valenciennes, 1835) tem hábitos eurialinos (Chao et al., 1082), ocorre na porção baixa do estuário e na região marítima (Bemvenuti, 1990), esta espécie apresenta maior abundância no final do inverno ao inicio da primavera nos dois ambientes (estuário e no mar) (Bemvenuti, 2000). *Odontesthes argentinensis* do sul do Rio Grande do Sul é encontrado em duas populações reconhecidamente distintas (Beheregaray & Sunnucks, 2001). Uma residente do Oceano Atlântico, estendendo-se do Rio de Janeiro (Di Dálio et al., 2013) à Patagônia, e outra estuarina, residente no ELP (Bemvenuti, 1993; Beheregaray & Sunnucks, 2001; Sampaio & Piedras, 2005). As populações podem ter divergido durante o Pleistoceno, junto com a formação das lagoas costeiras do Rio Grande do Sul (Beheregaray & Sunnucks, 2001). Com base em estudos de genética molecular Beheregaray & Levy (2000) e Beheregaray & Sunnucks (2001) constataram que *O.*

argentinensis marinhos formam um clado distinto dos espécimes residentes do ELP, indicando uma “especiação incipiente” dessas duas populações.

Odontesthes bonariensis (Valenciennes, 1835) por sua vez, ocorre nos sistemas de lagoas Mirim e Mangueira. Estas lagoas foram formadas pelas barreiras geológicas devido as regressões e transgressões do mar durante o Quaternário (Calliari 1998).

A Província Costeira do Rio Grande do Sul se remonta ao Mesozóico (Villwock & Tomazelli, 1995) resultando de quatro grandes ciclos de eventos geológicos transgressivos-regressivos sucessivos. Estes eventos propiciaram a deposição de barreiras arenosas paralelas e descontínuas (barreiras I-IV) e a formação de variados habitat lagunares e estuarinos no extremo sul do RS (Villwock & Tomazelli, 1995; Buchmann, 1997; Calliari, 1998).

A barreira III isolou o sistema de lagoas Patos-Mirim há aproximadamente 120, no Pleistoceno superior, porém, foi somente na última transgressão holocênica (6-5,5 maap) que a barreira III foi moldada, seguida da deposição da barreira IV (Calliari, 1998). O sistema mais jovem, a barreira IV, está correlacionada ao máximo transgressivo ocorrido há 6 ka, é caracterizado pela Lagoa Mangueira (Buchmann, 1997). Os sistemas mais antigos, barreiras II e III isolaram a Lagoa Mangueira e propiciaram o fechamento do canal que a ligava a Lagoa Mirim e está última ao mar, convertendo a primeira em uma lagoa de água doce (Azambuja, 1978; Dillenburg et al., 2009). Entretanto, anterior ao Holoceno, o que é atualmente o banhado do Taim, seria a ligação entre a Lagoa Mirim e o mar (Abreu & Calliari, 2005).

Devido às formações das barreiras e aos eventos de transgressões-regressões do mar (Calliari, 1998) peixes de origem marinha invadiram o ambientes de água-doce, como os Atherinidae e Atherinopsidae (Reis et al., 2016), que inclui *O. argentinensis* e *O. bonariensis* que atualmente são considerados eurihalinos (Campanella et al., 2015). Características fisiológicas e aspectos evolutivos conferem aos peixes-rei capacidade para invadirem e fundarem populações nos ambientes aquáticos da planície costeira (Beheregaray & Sunnucks, 2002). O novo mundo (inclui a região Neotropical) apresenta diversos exemplos de grupos de atherinídeos ou radiação adaptativa destes, originadas de habitat de transição (Beheregaray & Levy, 2000; Beheregaray & Sunnucks, 2001; Garcia et al., 2014). Através de radiação nestes ambientes, os peixes-rei podem inclusive, apresentar diferentes parâmetros

reprodutivos e de crescimento em lagos distantes apenas 5 Km (Beheregaray & Sunnucks, 2002).

Nestes ambientes, na maioria lagunares e estuarinos, as espécies de *Odontesthes* co-ocorrem, demonstrando uma homogeneidade morfológica (Bemvenuti, 2006), o que dificulta, inclusive, a identificação destas espécies (Beheregaray & Levy, 2000).

Os registros de ectoparasitos em espécies de *Odontesthes* são restritos e os estudos são escassos e muito incipientes, tanto no Brasil, como nos países de coocorrência. Os ectoparasitos registrados em *O. bonariensis* do Brasil foram *Artystone trysibia* (Isopoda, Cymothoidae) junto às nadadeiras ventrais de juvenis (Gonçalves, 2007) e a infecção branquial por *Chilidonella* sp. (Ciliophora) em cultivo experimental (Fernandes et al., 2011). Na Argentina, *O. bonariensis* da Reserva de La Viña (Córdoba), é parasitada por *Lernaea cyprinacea* (Mancini et al., 2008).

Cantatore et al. (2012) reportam a infestação de *Caligus rogercresseyi* em *O. argentinensis* de Mar del Plata (Argentina). O mesmo hospedeiro no Mar Chiquita, também na Argentina, é parasitado por *Ergasilus* sp. e *Bomolochus globiceps* Alarcos & Etchegoin, 2010). No entanto, neste mesmo estudo, a ocorrência de *Ergasilus* sp. foi considerada accidental devido ao baixo número de indivíduos encontrados (n=2).

Crustáceos podem influenciar na preferência dos peixes por habitat devido ao seu duplo papel de recurso alimentar e parasitário (Semmens et al., 2006). Os principais grupos de crustáceos parasitos de peixes são Copepoda, Branchiura e Isopoda, sendo Copepoda os mais estudados (Eiras et al., 2006).

Entre os Copepoda, o grupo mais abundante e rico em espécies é Ergasilidae (Eiras et al., 2006), que é composto por sete gêneros que parasitam freqüentemente a cavidade branquial de teleósteos, mas com registros também em fossas nasais e nadadeiras (Malta & Varella, 1995). Sendo que apenas as fêmeas adultas de ergasilídeos parasitam os peixes (Amado et al., 1995; Malta & Varella, 1996). Esses crustáceos podem fixar-se nos filamentos branquiais através do segundo par de antenas modificadas com fortes garras terminais (Kabata 1979, 1988), mas outros mecanismos de adesão podem ocorrer, como os pleópodos (Velloso et al., 2005).

Os Isopodos são o segundo grupo de crustáceos com mais espécies parasitas de peixes conhecidas. Segundo Eiras et al. (2006), *Braga patagonica* parece ser o

Isopodo mais estudado e compreendido. Os Cymothoidae tendem a se associar com seus hospedeiros durante toda sua vida, como é o caso de *A. trysibia* (Huizinga 1972), enquanto que as espécies de outras famílias (p.e. Gnathiidae) são parasitos só em suas fases larvais (Piasecki & Avenant-Oldewage, 2008).

Portanto, no presente estudo foi descrita a composição das assembleias de metazoário ectoparasito e mesoparasitos de peixes-rei dos sistemas de lagoas Patos-Mirim e Mangueira e na área costeira marinha do Atlântico Sul no sul do Brasil. Os índices parasitológicos de prevalência, intensidade média de infecção e abundância média foram estimados por classe de comprimento do hospedeiro, por espécie de hospedeiro e por habitat.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os hospedeiros foram coletados entre maio de 2015 e agosto de 2016. As coletas foram feitas com redes de arrasto (3 cm de malha: 1,5m x 20m) nos habitat aquáticos da planície costeira: do Estuário da Lagoa dos Patos, na quarta secção Barra (*ca.* 32° 9'2.55"; 52° 6'6.97"O); Lagoa Mirim em Santa Isabel do Sul (*ca.* 32°30'32.76"S; 52°35'6.36"O; Lagoa Mangueira em Santa Vitória (*ca.* 33°22'4.08"; 53°1'34.03"O); e na região marinha no Cassino (*ca.* 32°10'59.92"S; 52° 8'44.08"O) (ver Figura 1).

Após capturados, os peixes foram anestesiados com Eugenol (110 ppm) e logo após eutanaziados por secção medular. Todos os espécimes foram pesados ($P=g$) e medidos em comprimento total ($CT=cm$) no campo. Para propósitos de comparação, os espécimes foram classificados por comprimentos e ambos CT e P estão apresentados em média e desvio padrão ($x\pm dp$) e também a amplitude de variação de cada conjunto ($AxCT$ e AxP) de medidas (=mínimo–máximo). Os comprimentos dos peixes foram classificados em Classes pela equação de Sturgers, da seguinte forma: i) foram determinados os números de intervalos de classes (k) ($k=1+33,22 \times \log n$); ii) os intervalos para cada classe de tamanho (IC) obtidas por Sturgers foram calculados baseados nos comprimentos totais [inicial (Cti) e final Ctf] com a equação $IC=Ctf-Cti/k$ (Vianna, 2001).

Os arcos branquiais foram retirados e colocados em água quente (60°C) para liberação dos parasitos (Kritsky & Stockwell, 2005) e após os parasitos foram triados no microscópio estereoscópico a partir do precipitado de cada frasco com amostras de

brânquias e os parasitos contados e identificados com microscópio Olympus CX41 (100x) com contraste de fase segundo bibliografia específica.

Os copépodos e os isópodos foram fixados em formol 5% e armazenados em álcool 70 Gl glicerinado (Humanson, 1979). Todos os parasitos foram montados inteiros ou em sequencias de apêndices locomotores do 1º ao 5º par de pereiópodos em meio de Hoyer (Thatcher, 2006). Os parasitos foram identificados através de observação direta ou por fotografias feitas em microscópio Olympus cx41 com contraste de fase (Laboratório de Histologia da FURG).

A identificação dos parasitos foi baseada em chaves de identificação de Kabatta (1979), Boxshall & Montú (1997) e El-Rashidy (1999). O material foi depositado no Laboratório de Parasitologia (LABIPOA-FURG) e “vouchers” serão depositados na Coleção helmintológica do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.

Os índices parasitológicos (Bush et al., 1997) estimados foram: i) Prevalência (P%): Número de hospedeiros infectados por uma espécie de parasito dividido pelo número total de hospedeiros examinados, expressa em percentagem (%); ii) intensidade media de infestação (IMI): Número total de parasitas/número de hospedeiros infectados; iii) Abundância media (AM): Número total de indivíduos de uma espécie de parasita de uma amostra dividido pelo número total de espécies de hospedeiros (incluindo hospedeiros infectados e não infectados). Os índices parasitológicos (P%, AM e IMI) foram estimados para os hospedeiros (*O. argentinensis* e *O. bonariensis*), considerando os valores totais em cada habitat (ELP, RM e LMA). A mesma estimativa descritiva foi realizada com os valores dos índices por classes de comprimentos dos hospedeiros.

As análises estatísticas comparando os habitat foram realizadas somente para o ELP e RM. A comparação por habitat para a LMI e a LMA não foram realizadas, por não apresentarem espécies de parasitos compartilhadas.

O índice de correlação de Spearman (Rho) foi calculado entre o comprimento total (CT) e os valores de abundância absoluta dos parasitos para o ELP e para a RM. O programa RStudio v.1.0.136, R v.2.11.1 (<https://www.rstudio.com/products/rstudio/download/>) foi utilizado para calcular o Rho e os níveis das relações foram baseados em Hernández-Sampieri & Fernández-Collado (1998). A normalidade para os valores de classes de comprimento de *O. argentinensis* foi testada pelo teste Shapiro-Wilk e os dados não apresentaram

normalidade. As classes de comprimento foram comparadas utilizando a abundância absoluta dos parasitos no ELP utilizando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, testado por Mann-Whitney, por meio do programa RStudio v.1.0.136, R v.2.11.1 (<https://www.rstudio.com/products/rstudio/download/>).

O índice de P% foi comparado pelo teste de Fisher ($p < 0,05$) e os índices de AM e IMI foram comparados pelo teste de Bootstrap ($p < 0,05$). Estes índices foram estimados a partir do número de total de parasitos (abundância absoluta) por habitat e pelo número de parasitos por classe de comprimento de *O. argentinensis* e *O. bonariensis* em cada habitat (ELP e LMA), respectivamente. Ambas as comparações foram realizadas utilizando o programa Quantitative Parasitology 3.0 (Reiczigel & Rózsa, 2005).

RESULTADOS

Durante o estudo foi coletado um total de 227 espécimes de peixes-rei, sendo *O. bonariensis* (n=145) e *O. argentinensis* (n=82) nos habitat estudados (Figura 2).

Cem espécimes de *O. bonariensis* com CT=28,3±1,7 cm; AxCT=25,0-36,3 foram coletados na LMA, enquanto que na LMI foram coletados 45 espécimes com CT=14,0±5,6 cm; AxCT=10,1-43,0.

No ELP foram coletados 58 espécimes de *O. argentinensis* com CT=13,9±2,1 cm; AxCT=11,5-22,1, enquanto que na RM foram coletados 24 espécimes com CT=8,9±5,2 cm; AxCT=4,3-25,2.

Um total de 302 parasitos foram registrados nos habitat estudados, distribuídos em três espécies de Copepoda (Poecilostomatoidea) (N total = 264) e duas de Isopoda Cymothoida) (N total = 38). Os Copepoda foram registrados nas brânquias de seus hospedeiros. *Ergasilus lizae* (Krøyer, 1863) em *O. argentinensis* da RM e do ELP e *Gauchergasilus euripedesi* e *Ergasilus* sp. em *O. bonariensis* da LMI. Os Isopoda registradas foram *Braga patagônica* (Schioedte & Meinert, 1884) (N=22) na superfície corporal de *O. bonariensis* e *Artystone trysibia* (Schioedte, 1866) (N=16) da cavidade visceral, ambos na LMA (Tabela 1 e 2). Nos espécimes de *O. bonariensis* da LMA foram coletados dois (02) espécimes de *Ergasilus* sp. e dois (02) de *Gauchergasilus euripedesi* (Montú 1980).

No ELP e na RM foi coletado somente *O. argentinensis*, os quais foram parasitados por *E. lizae* (Krøyer, 1863). No ELP foram registrados 149 espécimes de

E. lizae em 44 hospedeiros, enquanto que na RM, foram registrados 112 espécimes do mesmo parasito em 5 hospedeiros, sendo que um deles possuía 108 destes parasitos (Tabela 3).

Correlações de parasitos por comprimento nos diferentes habitat (ELP, RM e LMA)

A correlação entre o comprimento total (CT) de *O. argentinensis* e a abundância absoluta de *E. lizae* no ELP foi de $r_s=0,29$ e na RM, foi de $r_s = 0,34$. Os dois habitat apresentaram uma correlação positiva média, isso indica que o comprimento possui uma relação fraca com a abundância absoluta para *E. lizae*. Em contrapartida, esta relação para a RM está influenciada por um indivíduo hospedeiro que apresentou 108 espécimes de *E. lizae*, indicando padrões de agregação do parasito.

Por outro lado para os Isopoda, a correlação do CT de *O. bonariensis* da LMA e a abundância absoluta de *B. patagonica* foi de $r_s=-0,03$ caracterizando uma correlação negativa fraca. Para *A. trysibia* a correlação foi de $r_s=-0,21$, indicando uma correlação negativa moderada, por influência dos valores de abundância absoluta das espécies de parasitos que variaram entre 1 e 3 indivíduos.

Índices parasitológicos por habitat (LMA, ELP e RM)

Os valores dos índices parasitológicos para os Isópodos em *O. bonariensis* estão apresentados na Tabela 2. Não houve diferenças. Os valores de P% indicam que as duas espécies de Isopoda são prevalentes, mas pouco abundantes e infectantes. As maiorias dos hospedeiros apresentaram de 1 a 3 espécimes de Isopoda. Os valores de AM e IMI sugerem que o grupo parasito teve uma distribuição homogênea.

Os índices parasitológicos para *E. lizae* de *O. argentinensis* estão demonstrados na Tabela 3. Os valores de P% indicam que no ELP os hospedeiros apresentaram uma maior porcentagem do que na RM, mas não foram significativos estatisticamente. Já os valores de AM e IMI sugerem que os parasitos estavam agregados na RMA do que no ELP.

A comparação da P% pelo teste de Fisher por habitat (ELP e RM) não apresentou diferença ($p = 0,25$) (Tabela 3). A comparação dos índices de AM ($p = 0,62$) e de IMI ($p = 0,38$) por habitat (ELP e RM) não foi diferente (Teste de Bootstrap) (Tabela 3).

Índices parasitológicos por classes de comprimento por habitat (LMA, ELP e RM)

Os valores de comprimento total dos hospedeiros foram classificados segundo a regra de Sturgers (k) em sete classes no ELP, seis classes na RM (Tabelas 4 e 5) e oito classes na LMA (Tabela 6). A comparação das classes de comprimento dos hospedeiros pelo teste de kruskal-wallis não apresentou diferença ($p < 0,05$) em nenhum dos habitat, com valores de $p = 0,198$ para o ELP e de $p = 0,22$ para a RM.

No ELP, a comparação das classes de comprimento não apresentou diferença em $p < 0,05$, testada por Kruskal-Wallis, testado por Mann-Whitney. O CT que apresentou a maior abundância absoluta de *E. lizae* foi a classe 1, contendo 25 indivíduos com comprimento total médio (CTM) de 12,2 cm. No entanto, esta mesma classe obteve o segundo menor valor de IMI (2,6) e AM (1,7). Com exceção da classe 6, a qual não obteve hospedeiros, observa-se que todos os hospedeiros com LI $>14,6$ cm (i.e. Classes de comprimento 3-5 e 7) estavam 100% parasitados por *E. lizae*, e que os demais índices parasitológicos (AM e IMI) apresentam, geralmente, valores crescentes. Isto indica que hospedeiros com comprimento próximo de 14,6 cm poderá apresentar *E. lizae* no ELP (Tabela 4).

Na RM, os valores de P% e IMI indicam que pode haver um processo de distribuição agregada no modelo de *O. argentinensis* - *E. lizae*. Peixes com CTM menores possuem nenhum ou poucos parasitos (Classes de 1 a 4), enquanto que um espécime com CTM = 25,2 cm (Classe 6) hospedou 108 espécimes de *E. lizae* (Tabela 5).

Na LMA, a classe de comprimento 1 de *O. bonariensis*, com CTM de 25,9 cm apresentou os maiores valores dos índices parasitológicos, tanto para *B. patagonica* como para *A. trysibia*. Somados os valores de P% de *B. patagonica* das classes 1, 3, e 4 de *O. bonariensis* apresentam 80,5 % de hospedeiros parasitados, enquanto que a soma das P% das classes 1, 2 e 3 de *O. bonariensis* parasitado por *A. trysibia* totalizam 62,6% dos hospedeiros. Por outro lado, as classes 5, 6 e 7 não

apresentaram registros de parasitos (Tabela 6). Estes resultados indicam que os espécimes de peixes-rei de menores comprimentos (i.e. nas fases iniciais de desenvolvimento) são mais parasitados (ou parasitados desde então) do que aqueles de maiores comprimentos.

DISCUSSÃO

Assim, já que os diferentes ambientes da planície costeira do Rio Grande do Sul podem desempenhar um papel importante na especiação de peixes, pode também influenciar na composição e estruturação das assembleias de parasitos (ecto e mesoparasitos) destes hospedeiros. Segundo Von Zuben (1997), os habitat compõem um papel importante nas populações de parasitos, influenciando na sua distribuição, reprodução, condição parasitária e suscetibilidade do hospedeiros a infecção/intestação. Desta forma, pode desempenhar um papel controlador nas abundâncias dos parasitos ou na diminuição deles.

Os parasitos, portanto, também podem caracterizar e auxiliar no entendimento da dinâmica populacional e evolutiva de populações de hospedeiros de determinados locais (Ronquist, 1995, 2003; Brooks & MacLennan, 1993). No presente estudo, quatro habitat foram analisados através de um modelo hospedeiro-parasito-(Ecto/Mesoparasito-*Odontesthes* spp.) no sistema de lagoas do sul do Rio Grande do Sul (Patos-Mirim e Mangueira), que fornece dois tipos de ambientes, um parcialmente fechado em contato com o Oceano Atlântico (Sistema Patos-Mirim) e outro fechado (Lagoa Mangueira) (Calliari, 1998).

Os espécimes de *O. bonariensis* da Lagoa Mangueira apresentaram duas espécies de Isópodos, *A. trysibia* e *B. patagonica* que compõem um registro inédito desta associação em habitat selvagem..

O Mesoparasito *Artystone trysibia* apresenta uma ampla distribuição no Brasil, desde o norte (Amazonas) até o sul (planícies costeiras do RS) (Brusca, 1981), infectando diferentes espécies de hospedeiros. Nesta amplitude geográfica, várias espécies de peixes são infectadas em lagoas, rios e estuários (Junoy, 2016; Rassier et al., 2015), como *Geophagus brasiliensis* (Leigh-Sharpe, 1937) no Brasil, *G. brasiliensis*, *Crenicichla lacustris* (Lemos de Castro & Machado Filho, 1946) no Brasil, *G. brasiliensis* (Szidat, 1955) no Brasil, Paraguai e Argentina, inclindo no ELP (Rassier et al., 2015), *G. brasiliensis*, *Gymnogeophagus gymnopterus*,

Pimelodella laticeps, *Cyanocharax alburnus*, *Jenynsia multidentata*, *Pimelodus maculatus*, *Platanichthys platana* no Lago Guaíba, Porto Alegre, RS (Pugues et al., 1998),

Apesar de *A. trysibia* possuir ampla distribuição em habitat de transição, como estuários e lagoas costeiras, não foi observada no ELP e na LMI. Neste estudo, *A. trysibia* foi registrada parasitando *O. bonariensis* da LMA. Na Lagoa dos Patos, *O. bonariensis* também foi registrado previamente Beheregaray & Levy (2000) e Dyer (2006), mas apesar de no presente estudo as coletas terem sido realizadas no ELP, este hospedeiro não foi registrado. Da mesma forma, não existem registros de parasitos de *O. bonariensis* neste local. Esta associação (*A. trysibia-O. bonariensis*) pode ter sido facilitada na LMA devido a este ser um habitat fechado, resultado da formação da barreira arenosa IV, que isolou a LMA da LMI e do mar (Calliari, 1998). Ainda, outras espécies de peixes podem apresentar parasitose por *A. trysibia* na LMA, no entanto, não foram investigadas neste estudo.

A forma de infecção de *A. trysibia* nos espécimes de *O. bonariensis* da LMA observada foi em forma de um encapsulamento saculiforme intracavitário no abdômen ventral no hospedeiro. Essa forma de infecção é uma característica incomum das espécies de *Artystone* dentro de Isopoda, no entanto, isto também foi registrado para *Corydoras aeneus* (Siluriformes, Callichthyidae) por Huizinga (1972) e para *Chaetostoma dermorhynchus* (Siluriformes, Loricariidae) por Junoy (2015). Por esta característica, Huizinga (1972) indica que *A. trysibia* possui um tipo de vida endoparasitária. Entretanto, Kabata (1979) e Eiras & Castro (2016) defendem que a espécie é mesoparasito, por que mantém uma parte de seu corpo (antena, maxilípedes e os dois primeiros pares de apêndices locomotores) dentro do hospedeiro, e a parte inferior (pleópodos) estão em constante contato com o meio externo. A *Artystone trysibia* é uma espécie hermafrodita protândrica (Brusca, 1981; Thatcher, 2006) e em alguns indivíduos a determinação do sexo é difícil devido à presença de intermediários, e o parasito infecta desde a fase larval (Huizinga, 1972).

Considerando a prevalência de *A. trysibia* (16%) em *O. bonariensis* na LMA foi maior que a encontrada em *Chaetostoma. dermorhynchum* (Siluriformes, Loricariidae) do rio Tena (Equador) (6, 94%) (Junoy, 2016) e de *Petenia kraussii* (Perciformes, Cichlidae) (12, 14%) no rio Taguay (Venezuela) (Martínez & Royero, 1989). No entanto, valores de P% de *A. trysibia* foram maiores em *Aequidens pulcher* (Perciformes, Ciclidae) (29,30%) e da congénérica, *A. bolivianensis* em

Nannostomus beckfordi (Characiformes, Lebiasinidae) (82%) (Thatcher & Schindler, 1999), em relação aos valores encontrados em nosso trabalho. Os diferentes valores de P% em diferentes hospedeiros demonstram a falta de especificidade da parasitose por *A. trysibia* em peixes e corrobora a ampla gama de possíveis hospedeiros para esta espécie parasita.

Por outro lado, *B. patagonica* possui uma ampla distribuição nas bacias amazônicas e do Paraná, mas também em bacias do sudeste e nordeste (Luque et al., 2013; Tavares-Dias et al., 2015), infestando frequentemente peixes de água doce das famílias: Erythrinidae, Serrasalmidae, Characidae, Cichlidae, Cynodontidae, Curimatidae, Acestrorhynchidae e Sciaenidae (Tavares-Dias et al., 2014). Neste estudo, não somente é realizado o primeiro registro de *B. patagonica* na LMA, mas como também no extremo sul do Brasil.

Os sítios de fixação de *B. patagonica* foram observados na cavidade bucal, como a parte ventral da câmara branquial (Tavares-Dias et al., 2014), porém, em *O. bonariensis* da LMA foi observado um sítio de fixação incomum, na região dorsal do corpo, próximo das nadadeiras, também mencionado por Tavares-Dias et al. (2014).

A prevalência de *B. patagonica* de 18% em *O. bonariensis* no presente estudo são inferiores àquelas observadas em distintos hospedeiros e habitat, como o peixe marinho, *Prepilus paru* (Perciformes, Stromateidae) de 84,30% (Chagas et al., 2015); para *Pygocentrus nattereri* (Characiformes, Characidae), um peixe de água doce, com P% de *B. patagonica* de 88,89% (Carvalho et al., 2004). Segundo Tavares-Dias et al. (2014), esse parasito apresenta baixa especificidade parasitária e deste modo nossos dados corroboram os dados deste autor, indicado pelo baixo valor de prevalência e por valores de IMI entre 1 e 1,2 parasitos por peixe. Isso demonstra que este parasito possui uma distribuição não-agregada, ocorrendo em pequeno número em cada hospedeiro.

A Lagoa Mirim (LMI) é o ambiente de água doce com ligação com o ELP. Na LMI foram registradas duas espécies de *Ergasilidae*: *Ergasilus* sp. e *G. euripedesi*, ambas parasitando *O. bonariensis*.

Montú (1980) cita que *G. euripedesi* é conhecida por ser amplamente distribuída em águas estuarinas ao longo da costa do Brasil e do Rio Grande do Sul. *Gauchergasilus euripedesi* (= *Ergasilus euripedesi*) foi registrada no plâncton existente no estuário do rio Piauí (SE) no nordeste do Brasil (Araujo & Boxshall, 2001), e no ELP parasitando *G. brasiliensis* (Rassier et al., 2015).

No presente estudo foram registrados somente dois espécimes de *G. euripedesi* e dois espécimes de *Ergasilus* sp. em 100 hospedeiros, enquanto que em *G. brasiliensis* foi registrada uma P% de 32,91% (Rassier et al., 2015). Apesar de estes parasitos apresentarem baixa especificidade de hospedeiros e de serem encontrados comumente em amostras de plâncton (Montú, 1980) apresentam baixa prevalência.

A ocorrência de *G. euripedesi* na LMI pode ser explicada pela baixa salinidade, encontrada em ambientes fora do ELP. Velloso & Pereira Jr. (2010) observaram a ocorrência de *G. euripedesi* em *Micropogonias furnieri* (Perciformes, Sciaenidae) somente na área pré-límnicka da Lagoa dos Patos, fora do ELP. Os mesmos autores citam que a salinidade mais alta pode influenciar nos estágios de vida livre deste parasito, indicando que *G. euripedesi* pode ser encontrado em águas periféricas ao ELP. O mesmo pode ocorrer com *Ergasilus* sp.

No entanto, na década de 70 (1977) foi construída uma barragem com clausa neste canal. O objetivo desta construção foi impedir a entrada de água salgada durante o período de estiagem, em parte do Canal São Gonçalo e na Lagoa Mirim, bem como, garantir uma reserva de água doce binacional (Brasil-Uruguai) (CLM, 1970). O canal São Gonçalo conecta a LMI ao ELP e pode permitir que a água com alta salinidade do ELP não influencie na sobrevivência de estágios de vida livre de *G. euripedesi* no interior da LMI.

As populações de *O. argentinensis* residentes no Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) e no Mar (RM) compartilham *E. lizae*, sendo estes parasitos frequentes em peixes marinhos (Thatcher & Boeger, 1983). *Ergasilus lizae* foi registrada em várias espécies de *Mugil* (Knoff et al., 1994; Fonseca, 2003; Cavalcanti et al., 2011) em diferentes localidades do Rio de Janeiro, Pernambuco e costa do Rio Grande do Norte. No ELP, *E. lizae* foi registrado em *G. brasiliensis* (Rassier et al., 2015). Esta espécie de parasito foi registrada em *O. argentinensis* no trabalho de Gofetii et al. (*comun. pessoal*) no ELP e no RM, e em diversas outras localidades e em outros hospedeiros (Tabela 7).

Beheregaray & Sunnucks (2001) demonstram através de dados moleculares que há uma especiação incipiente ecológica ocorrendo entre as populações de *O. argentinensis* do ELP e da RM. Neste estudo, os valores de abundância absoluta e valores dos índices parastiológicos de *E. lizae* em *O. argentinensis* foram diferentes entre o ELP e RM. No ELP, os valores de P% e de IMI aumentam à medida que o comprimento do peixe aumenta. Na RM, os valores de P% e IMI indicam que pode

haver um processo de distribuição agregada no modelo de *O. argentinensis* - *E. lizae* (Golfetti et al., *comun. pessoal*). As assembleias de parasitos entre os dois habitat (ELP e RM) não foi diferente em sua composição, no entanto, foram diferentes na forma que o parasito usa as populações dos hospedeiros.

A agregação dos parasitos pode ser influenciada pela distribuição espacial do fitoplâncton, o qual determina a distribuição dos predadores (Garcia & Gianuca, 1998). No zooplâncton, é onde são encontradas as larvas de crustáceos parasitos (Montú et al., 1998) e peixes planctotróficos, como *O. argentinensis* (Bemvenuti 1990). As larvas planctônicas do parasito são influenciadas por fatores ecológicos até a infestação do hospedeiro (Bush et al., 2001; Timi et al., 2010).

Entre os fatores que podem influenciar o parasitismo no ELP e na RM, está a forma de busca de alimento de *O. argentinensis*. No mar a alimentação de *O. argentinensis* é realizada na zona de arrebentação e utilizam o zona de *surf* para forragear (Garcia & Gianuca, 1998; Bemvenuti, 1987; Bemvenuti, 1990; Bemvenuti, 2000; Golfetii et al. *comun. pessoal*). A hidrodinâmica nesta área pode influenciar na taxa de infecção de *E. lizae* nos peixes-rei.

Peixes-reis da RM, com comprimento menor de 25 cm apresentaram um ou nenhum parasito. Acima deste comprimento, um hospedeiro apresentou 108 parasitos. A agregação dos parasitos neste hospedeiro pode ser dada pela saída deste, da zona de arrebentação o que permite, maior contato com parasitos. Já no caso dos peixes menores de 25 cm, que frequentam a zona de arrebentação, ocorre que a estabilidade da nuvem (=mancha) planctônica não consegue ser mantida, desagregando os indivíduos, com isso um menor número de hospedeiros passam por essas manchas planctônicas, e um menor número de parasitos terá êxito em infestar os peixes.

No ELP, a distribuição dos parasitos demonstrou ser é mais uniforme, com P% entre 64-100% e IMI entre 2,6-11,5. Isso indica que o processo de infestação obtém maior sucesso nesta região. A mancha planctônica no ELP, ocorre em regiões rasas, as quais são protegidas e com baixa energia hidrodinâmica, o que mantém a estabilidade da mancha e permite a agregação de formas *nauplii* (Boxshall, 2005). Assim, a distribuição da forma infestante do parasito e seu contato com o hospedeiro podem ser influenciados pela hidrodinâmica do meio.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos as instituições como CNPq (Processo nº 485748/2013-4) pelo financiamento do estudo; a OEA pela bolsa de estudo a RBH; ao ICB e FURG pelas dependências e por possibilitarem as coletas; ao PPGBAC; aos colegas do Laboratorio de Biologia de Parasitos de Organismos Aquaticos (LABIPOA) e pessoalmente a todas as pessoas que fizeram o impossível em realizar este estudo.

BIBLIOGRAFIA

- Araujo, H.M.P. & Boxshall, G.A. (2001) A new species of *Acusicola* Cressey & Collette, 1970 (Copepoda: Ergasilidae) from northeastern Brazil. *Systematic Parasitology* 49, 149-157.
- Alarcos, A.J., Etchegoin, J.A., 2010. Parasite assemblages of estuarine-dependent marine fishes from Mar Chiquita coastal lagoon (Buenos Aires Province, Argentina). *Parasitology Research* 107:1083-1091
- Amado, M.A. P.M., Ho, J.S., Rocha, C.E.F. 1995. Phylogeny and biogeography of the *Ergasilidae* (Copepoda, Poecilostomatoida), with reconsideration of the taxonomic status of Vaigamidae. *Contributions to Zoology*, 65: 233.243.
- Artioli, L. G. S., Vieira, J. P., Garcia, A. M. & Bemvenutti, M. A. 2009. Distribuição, dominância e estrutura de tamanhos da assembléia de peixes da lagoa Mangueira, sul do Brasil. *Iheringia Ser. Zool.*, 99(4): 409-418.
- Asmus, M. L. 1998. A planície costeira e a Lagoa dos Patos. In: Os ecossistemas costeiros e marinho do extremos sul do Brasil. Seeliger U. Odebrecht C. e Castello, JP. (Org.). Editora Ecoscientia
- Azambuja, P. 1978. Historia das Terras e Mares do Chuí. Caxias do Sul, Universidade de Caxias do Sul; Porto Alegre, Escola Superior de Teologia São Lourenço de Brindes.
- Bento, D. M. & Benvenuti, M.A. 2008. Os peixes de água doce da pesca artesanal no sul da Lagoa dos Patos, RS – Subsídios ao ensino escolar, *Cadernos de Ecologia Aquática* 3 (2): 33-41
- Bemvenuti, M. A. 1987. Abundância, distribuição e reprodução de Peixes-rei (Atherinidae) na região estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. *Atlântica*, 9 (1), 5-32.

- Bemvenuti, M. A. 1990. Hábitos Alimentares de Peixes-rei (Atherinidae), na região estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. *Atlântica*, 12 (1), 79-102.
- Bemvenuti, M. A. 2000. Diferenciação geográfica do peixe-rei *Odontesthes argentinensis* (Atherinopsidae), no extremo sul do Brasil, através da morfometria multivariada. *Atlântica*, 22: 71-79.
- Bemvenuti, M. A. 2002. Diferenciação morfológica das espécies de peixes-rei, *Odontesthes* Evermann & Kendall (Osteichthyes, Atherinopsidae) no extremo sul do Brasil: morfometria multivariada. *Revta Bras. Zool.*, 19(1): 251-287.
- Boxshall, G. A. & Montú, M. A. 1997. Copepods parasitic on Brazilian coastal fishes: A handbook. *Nauplius*, 5 (1), 1-225.
- Boxshall, G. A. 2005. Crustacean Parasites – Copepoda. In: Rohde, K. (Ed.). *Marine Parasitology*. Csiro Publishing, 125-138.
- Brusca, R. C. 1981. A monograph on the Isopoda Cymothoidae (Crustacea) of the Eastern Pacific. *Zool. J. Linn. Soc.-Lond.* 73, 117-199
- Buchmann, F.S.C. 1997. Banhado do Taim e Lagoa Mangueira: Evolução holocênica da paleoembocadura da Lagoa Mirim, RS, Brasil. Programa de Pós-Graduação em Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Dissertação de Mestrado, 160p.
- Bush, A. O.; Lafferty, K. D.; Lotz, J. M.; Shstak, A. W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.* v. 83, n. 4, p. 575-583.,
- Bush, A. O., Fernandéz, J. C., Esch, G. W., & Seed, J. R. 2001. *Parasitism: The diversity and ecology of animal parasites*. Cambridge University Press, Londres, pág.1-556.
- Brusca, R.C., 1981. A monograph on the Isopoda Cymothoidae (Crustacea) of the Eastern Pacific. *Zool. J. Linn. Soc.-Lond.* 73, 117–199.
- Brusca, R.C. & Wilson, G.D.F. 1991. A phylogenetic analysis of the Isopoda with some classificatory recommendations. *Memoirs of the Queensland Museum* 31: 143-204 Brisbane. ISSN 0079-8835.
- Calliari L. J. 1998. O ambiente e a biota do estuário da Lagoa dos Patos. In: Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Seeliger U., Odebrecht C. e Castello, JP. (Org.). Editora Ecoscientia.

- Campanella, D., Hughes, L. C., Unmack, P. J., Bloom, D. D., PillerK, R., Ortí, G. 2015. Multi-locus fossil-calibrated phylogeny of Atheriniformes (Teleostei, Ovalentaria). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 86: 8-23.
- Cantatore, D.M.P., Braicovich, P.E., Alarcos, A.J., Lanfranchi, A.L., Rossin, M.A., Vales, D.G., Timi, J.T.. 2012. New records of parasitic copepods (Crustacea, Copepoda) from marine fishes in the Argentinean Sea. *Acta Parasitol.*, 57: 83-89.
- Cardon, M., Loot, G., Grenouillet, G., Blanchet, S. 2011. Host characteristics and environmental factors differentially drive the burden and pathogenicity of an ectoparasite: a multilevel causal analysis. *Journal of Animal Ecology* 2011, 80, 657–667. doi: 10.1111/j.1365-2656.2011.01804.x.
- Carvalho, L. N., Arruda, R. & Del-Claro, K. 2004. Host-Parasite interactions between the piranha *Pygocentrus nattereri* (Characiformes, Characidae) and Isopods and branchiurans (Crustacea) in the rio Araguaia basin, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 2(2): 93-98.
- Cavalcanti, E. T. S., Takemoto, R. M., Alves, L. C., Chellappa S., Pavanelli G. C. 2011. Ectoparasitic crustaceans on mullet, *Mugil curema* (Osteichthyes: Mugilidae) in the coastal waters of Rio Grande do Norte
- Dyer, B. S. 2006. Systematic revision of the South American silversides (Teleostei, Atheriniformes). *BIOCELL*, 30(1): 69-88
- El-Rashidy, H. H. 1999. Parasitic copepods and grey mullets. Tese de doutorado em Filosofia, Faculdade de Ciência, Universidade de Londres.
- Eiras, J.C., Takemoto, R. M., Pavanelli, G. C. 2006, Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes.2^a. Edição. EDUEM, Maringá-PR, , 199p.
- Eiras, J.C., Castro, R. 2016 Isopoda: Em Eiras J.C. Velloso A.L. & Pereira Jr. Parasitos de peixes marinhos da America do Sul. Ed; da Furg. 442p
- Fernandes, M., Portelinhas. M.K., Rocha, C.B., Pouey, J.L.F.O. Piedras, S.R.N. 2011. Occurrence and control of *Chilodonella* spp. in pejerrey *Odontesthesbonariensis*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 63(3): 788-790.
- Fonseca, F. T. B. 2003. Copépodos parasitos de peixes Mugilidae, Centropomidae, do Canal Santa Cruz e Área do Suape (Pernambuco – Brasil). Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.
- Froese, R. & Pauly, D. 2012. Species of *Odontesthes* in FishBase. June 2012 version.

- Garcia, V. M. T. & Gianuca, M. N. 1998. A Praia e a Zona de Arrebentação. In: Seeliger, U., Odebrecht, C. & Castello, J. P. (Org). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil (pp.184-188). Editora Ecoscentia.
- Gonçalves, T. P. 2007. Metazoários parasitas de juvenis do peixe-rei *Odontesthes bonariensis* Cuvier & Valenciennes, 1835 em cultivo experimental. Dissertação de Mestredo. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- Hernández-Sampieri, R., Fernández-Collado, C. 1998. Metodología de la investigación. México: McGraw-Hill.
- Humanson, G. L. 1979 Animal Tissue Techniques. Freeman. São Francisco, Estados Unidos da América.
- Huizinga, H. W. 1972. Pathobiology of *Artystone trysibia* Schioedte (Isopoda, Cymothoidae), and endoparasitic isopod of South American fresh water fishes. J.Wildlife Dis. 8, 225–232.
- Junoy, J. 2016. Parasitism of the isopod Artystone trysibia in the fish *Chaetostoma dermorphynchum* from the Tena River (Amazonian region, Ecuador). Acta Tropica 153, 36-45.
- Kabata, Z. 1974. Parasitic Copepoda of British fishes. Ray Society, London.
- Kabata, Z. 1979. Parasitic Copepoda of British Fishes. The Ray Society, London, pp. 468.
- Knoff, M., Luque, J. L., Takemoto, R. M. 1994. Parasitic copepods on *Mugil platanus* Günther 1880 (Ostheichtyes: Mugilidae) from the coast of the state of Rio de Janeiro, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 3 (1), 45-56.
- Kritsky, D. C. & Stockwell, C. A. 2005. New species of *Gyrodactylus* (Monogenoidea, Gyrodactylidae) from the white sands pupfish, *Cyprinodon tularosa*, in New Mexico. The Southwestern Naturalist. 50 (3): 312-317.
- Leigh-Sharpe, W. H. 1937. Badroulboudour splendida n.g. et sp. a new parasitic isopod from Ecuador. Parasitol 29, 191-394.
- Lemos de Castro, A., Machado Filho, J.P., 1946. *Artystone trysibia* Schioedte um crustáceo parasita de peixe de água doce do Brasil, com descrição de alótipo macho (Isopoda, Cymothoidae). Rev. Brasil Biol. 6, 407-413.
- Malta, J.C.O., Varella, A. M. B. 1996. *Ergasilus turucuyus* sp.n. (Copepoda: Ergasilidae) das brânquias de *Acestrorhynchus falcatus* (Bloch, 1794) e *A. aculeatus* (Cuvier, 1829). Rev. Bras. Zool. 13, 101-106.

- falcirostris* (Cuvier, 1819) (Characiformes: Characidae) da Amazônia Brasileira. Acta Amazonica, 26(1/2): 69-76.,
- Martinez, R., Royero, R. 1989. Nota acerca de la presencia del Isópodo *Artystone trysibia* Schioedte, 1866 (Isopoda, Cymothoidea) em peces del río Taguay, Estado Aragua, Venezuela. Acta Biol. Venezuela, 12 (3-4): 127-130
- Margolis, L., Esch, G. W., Holmes, J. C., Kuris, A. M., Schad, G. A. 1982. The use of ecological terms in parasitology (report of an ad Hoc Committee of the American Society of Parasitologists). J. Parasitol. v. 68, n. 1, p. 131-133.
- Mancini, M., Bucco, C., Salinas, V., Larriestra, A., Tanzola ,R., Guagliardo, G. 2008. Seasonal variation of parasitism in pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Atheriniformes, Atherinopsidae) from la Viña reservoir (Córdoba, Argentina). Rev. Bras. Parasitol. Vet., 17(1) : 28-32.
- Montú, M. A. 1980. Parasite copepods of Southern Brazilian Fishes. I. *Ergasilus euripedesi* n. sp. (Copepoda, Cyclopoidae). Iheringia, Series Zoology, 56, 53-62
- Paperna, I. 1975. Parasites and diseases of the grey mullets (Mugilidae) with a special reference to the Seas of the Near East. Aquaculture, 5, 65-80.
- Piasecki, W., Avenant-Olde wage, A. 2008. Diseases Caused by Crustacea. 2008 In: Eiras J., Segner, H., Wahli, T., Kapoor, B.G. (Eds). Fish Diseases. Science Publishers, Enfield, p. 1113–98.
- Pugues, S.M., Alberto, R.M., Pereira, E.H.L., Bertoletti, J.J., 1866. Diferenças morfológicas no desenvolvimento embrionário de *Artystone trysibia* Schioedte, 1866 (Crustacea, Isopoda, Cymothoidae). Rev. Brasil Biol. 58, 47–53.
- Rassier, G. L., Pesenti, T. C., Pereira Jr, J., Silva, D. S., Wendt, E. W., Monteiro, C. M., Berne, M. E. A. 2015. Metazoan parasites of *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae) in Patos lagoon, extreme south of Brazil. Jornal Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015075>. In press
- Rhode, K. 2005. Marine Parasitology. Austrália: CSIRO Publishing, Collingwood.
- Reartes, J.L. 1995. El Pejerrey (*Odontesthes bonariensis*): Métodos de cría y cultivo masivo. COPESCAL Documento Ocasional. No. 9. Roma. 35p.
- Sampaio, L. A., Piedras S.R.N. 2005. Cultivo do peixe-rei marinho, *Odontesthes argentinensis*, e de água doce, *Odontesthes bonariensis*. In: Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Baldisserotto B., Gomes LC. (Org).

- Semmens, B.X., Luke, K. E., Bush, P.G., McCoy, C.M.R., Johnson, B.C. 2006. Isopod infestation of posts pawning Nassau grouper around Little Cayman Island. *Journal of Fish Biology*, 69: 933-937.
- Szidat, L. 1955. Beitrage zur kenntnis der reliktauna de La Plata Stromsystems Arch. Hidrobiol. 51, 209-260.
- Tavares-Dias, M., Dias-Júnior, M. B. F., Florentino, A. C., Silva, L. M. A., Da Cunha, A. C. 2015. Distribution pattern of crustacean ectoparasites of freshwater fish from Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.*, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 136-147.
- Tavares-Dias M., Oliveira, M.S.B., Gonçalves, R.A., Silva, L.M.A. 2014. Ecology and seasonal variation of parasites in wild *Aequidens tetramerus*, a Cichlidae from the Amazon. *Acta Parasitologica*, 59(1): 158-164.
- Thatcher, V. E., Boeger, W. A. 1983. Patologia de peixes da Amazônia, 3, Alterações histológicas em brânquias provocadas por *Ergasilus*, *Brasergasilus* e *Acusicola* (Crustacea: Cyclopoida: Ergasilidae). *Acta Amazônica*, 13(2): 441-451.
- Tatcher, V. Schindler, I. 1999. *Artystone bolivianensis* n.sp.(Isopoda, Cymothoidea) from a Loricariid catfish of the Bolivian Amazon. *Amazoniana*, Manaus AM, 15 (3/4): 183-191.
- Thatcher, V. E. 2006. Amazon fish parasites. Sofia-Moscow: Pensoft, 2006. 508 p.
- Timi, J. T., Lanfranchi, A. L., & Luque, F. L. 2010. Similarity in parasite communities of the teleost fish *Pinguipes brasilianus* in the southwestern Atlantic: Infracommunities as a tool to detect geographical patterns *International Journal for Parasitology*, 40, 243–254
- Trindade, C. R. T., Pereira, S. A., Albertoni, E. F., Palma-Silva, C. 2010. Caracterização e importância das macrófitas aquáticas com ênfase nos ambientes límnicos do Campus Carreiros - FURG, Rio Grande, RS. *Cadernos de Ecologia Aquática* 5 (2) :1-22.
- Vianna, R. T. 2001. *Clinostomum complanatum* (Rudolphi, 1814) em *Rhandia cf. quelen* (Quoy & Gaimard, 1824), no Arroio Sarandi, Rio Grande, RS. Dissertação de Mestrado em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS.
- Villwock, J. A. 1984. Geology of the coastal province of Rio Grande do Sul, southern Brazil: a synthesis. *Pesquisas*, 16:5-49.

- White, B. N. 1985. Evolutionary relationships of the Atherinopsidae (Pisces: Atherinidae). Contributions in Science, Natural History Museum, Los Angeles Country, 368: 1-20.
- Villwock, J.A., Tomazelli, L. J. 1995. Geologia Costeira do RS. Porto Alegre. Notas Técnicas, Publicação do CECO-UFRGS N° 08, p. 27-29.
- Von Zuben, C. J. V. 1997. Implicações da agregação espacial de parasitas para dinâmica populacional na interação hospedeiro-parasita. Revista de Saúde Pública, v. 31, n. 5, p. 523-530,

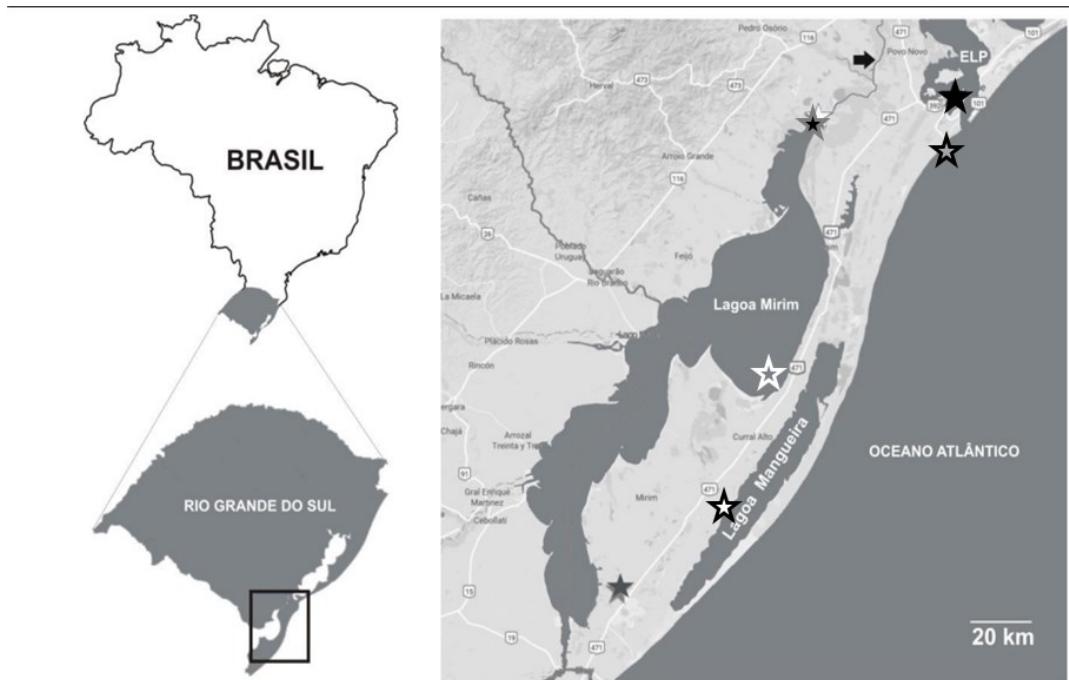


Figura 1. Localização das Lagoas Mangueira (LMA), Mirim (LMA), Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) e costa sul do Rio Grande do Sul, região marítima (RM). Estrela toda preta – a Barra ELP. Estrela preta e cinza = Cassino. Estrela cinza e preta= Santa Isabel. Estrela branca e cinza= A Capilha, Estrela preta e branca= Santa Victoria, Canal São Gonçalo (Seta).



Figura 2. Espécimes de peixes-rei. A. *Odontesthes argentinensis* do Estuário da Lagoa dos Patos e mar adjacente. B. *Odontesthes bonariensis* da Lagoa Mangueira e Lagoa Mirim.

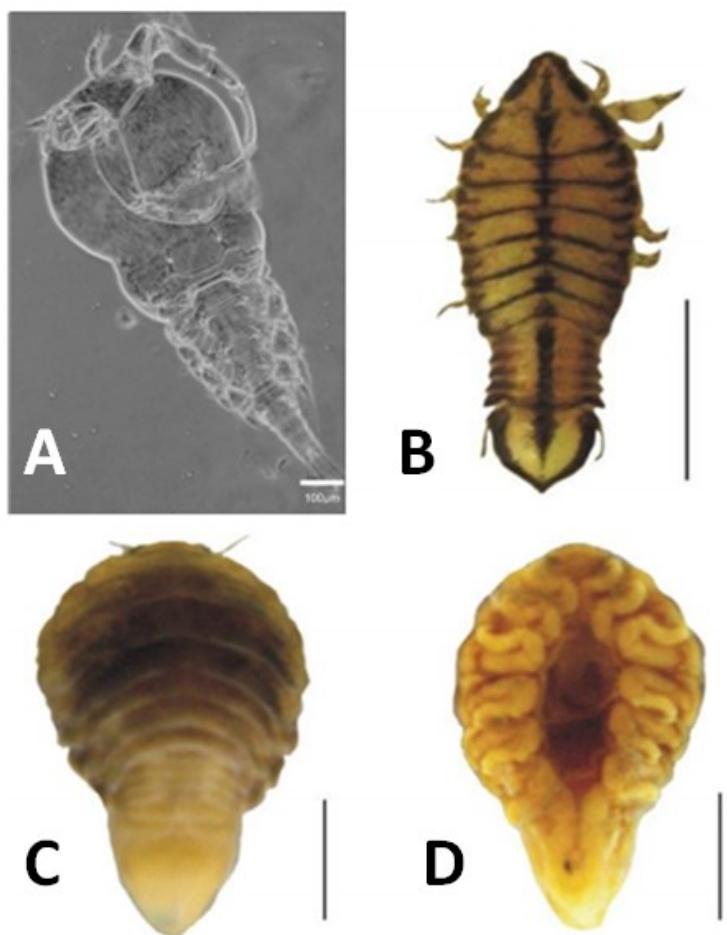


Figura 3. Crustacea parasitos de *Odontesthes* spp. **A.** *Ergasilus lizae* (Copepoda) fêmea adulta, habitus ventral, de *Odontesthes argentinensis*, no Estuário da Lagoa dos Patos e região marítima. **B.** *Braga patagonica* (Isopoda) de *Odontesthes bonariensis* da Lagoa Mangueira em visão dorsal. **C-D.** *Artystone trysibia* (Isopoda) de *Odontesthes bonariensis* da Lagoa Mangueira. C. Visão dorsal. D. Visão ventral.. Barras de escala; A=100 μ m, B = 0,5 cm, C e D = 1 cm.

Tabela 1. Registro dos parasitos por habitat: Região marinha adjacente (RM), Estuário da Lagoa dos Patos (ELP); Lagoa Mirim (LMI); Lagoa Mangueira (LMA).

PARASITOS	HOSPEDEIROS	RM	ELP	LAGOA	
				LMI	LMA
Poecilostomatoida					
Ergasilidae					
<i>Ergasilus lizae</i>	<i>O. argentinensis</i>				
<i>Ergasilu</i> sp.	<i>O. bonariensis</i>				
<i>Gauchergasilus euripedesi</i>	<i>O. bonariensis</i>				
Isopoda					
Cymothoidae					
<i>Braga patagonica</i>	<i>O. bonariensis</i>				
<i>Artystone trysibia</i>	<i>O. bonariensis</i>				

Barra negra corresponde a presença da taxa parasito em cada habitat.

Tabela 2. Índices parasitológicos de Prevalência (P%), Abundância Média (AM) e Intensidade Média de Infestação (IMI) por Isopoda em *Odontesthes bonariensis* na Lagoa Mangueira.

Espécie	N hospedeiros positivos	Parasitos	P%	AM	IMI
<i>Braga patagonica</i>	18	22	18	0,2	1,2
<i>Artystone trysibia</i>	15	16	15	0,2	1,1
Total	33	38			

Tabela 3. Índices parasitológicos de Prevalência (P%), Abundância Média (AM) e Intensidade Média de Infestação (IMI) da infestação por *Ergasilus lizae* para *Odontesthes argentinensis* do Estuário Lagoa dos Patos (ELP) e a região marinha adjacente (RM).

Habitat	N hospedeiros	N hospedeiros positivos para <i>E. lizae</i>	Parasitos	Índices parasitológicos		
				P (%)	AM	IMI
ELP	58	44	149	75,86	2,57	3,39
RM	24	5	112	20,83	4,67	22,40

Tabela 4. Classes de comprimento de *Odontesthes argentinensis* do Estuário da Lagoa dos Patos, com dados de média do comprimento, limites de cada classe: inferior (LI) e superior (LS), quantidade e índices parasitológicos (Prevalência - P%, Abundância Média - AM e Intensidade Média de Infestação IMI) por classe de comprimento.

Classes de comprimento (cm)	Intervalo		Peixes (n)	Média ±(Min-Max)	<i>E. lizae</i> (n)	P (%)	AM	IMI
	LI	LS						
1	11,5	13,0	25	12,2±0,33 (11,5-12,7)	42	64,0	1,7	2,6
2	13,1	14,5	15	13,8±0,46 (13,1-14,4)	33	66,6	2,2	3,3
3	14,6	16,0	12	15,1±0,38 (14,5-15,6)	39	100	3,3	3,9
4	16,1	17,5	2	16,1±0,15 (16,0-16,3)	9	100	4,5	4,5
5	17,6	19,0	2	18,4±0,14 (18,3-18,5)	3	100	1,5	1,5
6	19,1	20,5	0	0	0	0	0	0
7	20,6	22,0	2	21,8±0,42 (21,5-22,1)	23	100	11,5	11,5
Total			58			149		

Tabela 5. Classes de comprimento de *Odontesthes argentinensis* da Região Marítima (RM), com dados de média do comprimento, limites de cada classe: inferior (LI) e superior (LS), quantidade e índices parasitológicos (Prevalência - P%, Abundância Média - AM e Intensidade Média de Infestação IMI) por classe de comprimento.

Classes de comprimento (cm)	Intervalo		Nº de Peixe	Média ± (Min-Max)	<i>E. lizae</i> (n)	P (%)	AM	IMI
	LI	LS						
1	4,3	8,0	13	5,5±1,04 (4,3-8,0)	1	7,7	0,08	1
2	8,1	11,7	8	10,1±0,94 (8,3-11,5)	1	12,5	0,13	1
3	11,8	15,4	0	0,0	0	0	0	0
4	15,5	19,1	1	15,5	0	0	0	0
5	19,2	22,8	1	19,7	1	100	1	1
6	22,9	26,5	1	25,2	108	100	108	108
Total			24			111		

Tabela 6. Classes de comprimento de *Odontesthes bonariensis* da Lagoa Mangueira (LMA), com dados de média do comprimento, limites de cada classe: inferior (LI) e superior (LS), quantidade e índices parasitológicos (Prevalência - P%, Abundância Média - AM e Intensidade Média de Infestação IMI) por classe de comprimento.

Classes de comprimento (cm)	INTERVALO		PEIXES (n)	Media± (Min-Max)	PARASITOS		<i>B. patagonica</i>			<i>A. trysibia</i>		
	LI	LS			<i>B. patagonica</i>	<i>A. trysibia</i>	P (%)	AM	IMI	P (%)	AM	IMI
1	25	26,4	12	25,9±0,42 (25,0-26,4)	8	5	41,7	0,7	1,60	33,3	0,41	1,25
2	26,5	27,8	27	27,4±0,35 (26,5-27,8)	2	5	7,4	0,1	1	18,5	0,18	1
3	27,9	29,2	37	28,5±0,35 (27,9-29,2)	5	4	13,5	0,1	1	10,8	0,10	1
4	29,3	30,6	20	39±0,45 (29,3-30,5)	6	1	25	0,3	1,20	5	0,05	1
5	30,7	32	1	31,5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	32,1	33,4	1	32,4	0	0	0	0	0	0	0	0
7	33,5	34,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	34,9	36,3	2	36,2±36,20 (36,1-36,3)	1	1	50	0,5	1	50	0,5	1
				100			22			16		

Tabela 7. Registro de estudos registrando *E. lizae*, em diferentes hospedeiros no Brasil. ELP = Estuário da Lagoa dos Patos; RM = Região Marítima.

HOSPEDEIRO	P%	IMI	LOCALIDADE	REFERÊNCIA
<i>M. platanus</i>	21,33	6,53	Costa do Rio de Janeiro	Knoff et al (1994)
<i>M. curema</i>	13,20	6,68		
<i>M. liza</i>	25,80	4,00	Zona costeira de Penambuco	Fonseca (2003)
<i>M. trichoden</i>	30,00	3,33		
<i>M. curema</i>	2,23	-	Costa do Rio Grande do Norte	Cavalcanti et al (2011)
<i>G. brasiliensis</i>	32,91	3,19	Rio Grande do sul ELP	Rossier et al (2015)
<i>O. argentinensis</i>	22,89	3,62	Rio Grande do sul RM	Golfetii et al (<i>comun. pessoal</i>)
<i>O. argentinensis</i>	72,73	10,31	Rio Grande do sul ELP	
<i>O. argentinensis</i>	20,83	3,39	Rio Grande do sul RM	Presente estudo
<i>O. argentinensis</i>	75,86	22,40	Rio Grande do sul ELP	

CAPITULO 2.

HISTOPATOLOGIA BRANQUIAL EN JUVENILES DE *Odontesthes argentinensis* (Atheriniformes) PARASITADOS POR *Ergasilus lizae* (Copepoda) EN EL ESTUARIO DE LA LAGOA DOS PATOS, BRASIL

Huanto B. R^{1,2}, Silva Z. R.¹, Vianna R. T^{1,2}

1 Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos (LABIPOA), Instituto de Ciências Biológicas (ICB). Avenida Itália, Km 8, s/n, Caixa postal 474, CEP: 96203-900, Rio Grande, RS.

2 Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PPG-BAC), FURG, ICB.

RESUMEN

El pejerrey marino *Odonthestes argentinensis*, nativo del Rio Grande do Sul, tiene gran potencial para el cultivo. Especímenes fueron colectados en el Estuario de la Lagoa dos Patos para la descripción e caracterización de la histopatología branquial causada por *Ergasilus lizae*. Las branquias se extrajeron para extracción de material y sumetidos para el protocolo histológico de rutina y montados permanentemente en bálsamo de Canadá (Fijación: líquido de Bouin, microtomía: 7μm, coloración: Hematoxilina-Eosina). *Ergasilus lizae* produce ergasiosis y este se caracteriza por el anclaje del parásito, a lo largo de toda la lamela primaria (LAM) a través del segundo par de antenas modificadas (SEA). El cuerpo del parásito causa una depresión por la erosión en la LAM cerca del parásito con gran cantidad de restos celulares a su alrededor y asociado a grandes cantidades de moco (branquitis catarral). Otros aspectos presentados son la necrosis (de coagulación) de las células epiteliales Malpighianas (MBE), la hipertrofia de las células de moco y de cloruro, lavacuolización de las MBE, la esclerotización en las zonas de contacto hospedador-parásito (metaplasia) con las LAM. Los cambios observados en el ergasiosis indican que se trata de lesiones graves con alto potencial para la aparición de infecciones secundarias y desfuncion branquial puntual. Así la Ergasiosis puede resultar en alteraciones en la osmoregulación (cambios gaseosos y iónicos) del los juveniles del *O. argentinensis*.

Palabras claves: Anclaje de Crustacea, Clamping por antena, Hiperplasia branquial, Hipertrofia celular, Obliteración lamilar, Desorganización branquial.

ABSTRACT

The marine silverside fish *Odontesthes argentinensis*, native of Rio Grande do Sul, has great potential for cultivation. Specimens were collected in the estuary of Lagoa dos Patos for description and characterization of the *Ergasilus lizae*-related branchial histopathology. The gills were extracted for parasite and parasite anchored tissue samplings. Parasites were submitted for the *in toto* mounting in Hoyer's fluid for identification. Parasite anchored tissue samplings were submitted for the histological routine protocol for permanent mounting in Canada balsam (Fixation: Bouin's fluid, microtomy: 7 μ m, staining: Haematoxylin-Eosin). *Ergasilus lizae*-related ergasilosis was characterized by the anchoring of the parasite, along the entire primary gill lamellae (PGL) through the second pair of modified antennas (SEA) as a clamping effect. Moreover SEA's clamping effect, the Copepoda body contacta (CBC) area caused a depression due to erosion in the PGL and secondary gill lamellae (SGL). SEA's clamping in addition with the CBC resulted in large amounts of cellular debris around the lesion regions in association with large amounts of mucous (catarrhal branquitis). Other aspects presented were necrosis (of coagulation) of Malpighian branchial epithelia (MBE) cells, MBE's hypertrophic hiperplasia, hypertrophy of muciparous and chloride cells, MBE's vacuolization, CBC's area sclerotization (metaplasia). The observed changes in *E. lizae*-related ergasilosis indicate that they were severe lesions with high potential for secondary infections and punctual branchial dysfunction. Thus the *E. lizae*-related ergasilosis can result in alterations in the osmoregulation (gaseous and ionic exchanges) of the host's juveniles.

Key words: Crustacea anchoring, Clamping by antennae, Gill hyperplasia, Cellular hypertrophy, Lamellar obliteration, branchial desorganization

INTRODUCCIÓN

El parasitismo es una forma de asociación simbiótica donde un organismo parásita coevoluciona con otro u otros para asegurar los recursos adecuados para su ciclo de vida (monoxenico o heteroxenico) hasta la edad adulta (Rico-Hernandez, 2011). De esta interacción negativa (patología y enfermedades) para el hospedero puede resultar interacciones difíciles de ser evaluadas por no tener mecanismos de cómo medirlas en cuanto a la gravedad (Buchmann & Lindenstron, 2002; Rico-Hernandez, 2011). Todos los taxa de animales tienen grupos de parásitos (Hopla et al., 1994) incluso Crustacea Copepoda. Entre los Copepoda parásito hay partes de Poecilostomatoida y todos los Siphonostomatoida (Morales-Serna et al., 2012).

Copepoda parásito tienen estructuras apendiculares (p.e., cabeza, tronco, mandíbula, maxila, antenas y toracópodos) que permiten su anclaje en el hospedero. Estas estructuras de anclaje, que los caracterizan como ectoparásitos varían ampliamente en su morfología, de modo a permitir el asentamiento en el sitio adecuado del hospedero (Eiras, 1994). Ergasilidae comprende un taxón de Copépoda que usan las segundas antenas modificadas para el anclaje en las branquias de los peces hospederos. *Ergasilus lizae* (Poecilostomatoida: Ergasilidae) es comúnmente conocido para peces marinos y de estuarios, su anclaje puede causar daños tejiduales mecánicos en las branquias del hospedero debido al efecto torniquete (=clampnig efecto) de sus antenas alrededor de las lamelas branquiales (Thatcher & Boeger, 1983). Aproximadamente 130 especies de *Ergasilus* son conocidos en todo el mundo por otro lado en Brasil fueron descritas 21 especies parasitando peces de aguas dulces, costeros y estuarinos (Amado & Rocha, 1995). Algunos estudios sobre datos en las branquias de peces relacionados a los Copépoda fueron registrados por Kabata & Cousens (1977), Sutherland & Wittrock (1985) y Bennet & Bennet (2001).

Los parásitos pueden ser físicamente dañinos a sus hospederos, pueden actuar como efectivos reguladores de la población de peces, principalmente sobre larvas e juveniles (Scott, 1988; Combes, 1996). También representa un rol importante en las dolencias de los hospederos como es el orden Crustacea que presenta varias especies de parásitos (Thatcher, 2006; Dezfuli et al., 2010).

Las branquias posibilitan evaluar el efecto de la contaminación ambiental cuando son interpretadas como biomarcadores histopatológicas (Bernet et al., 1999;

Giari et al., 2007; Verján et al., 2001). Además la branquia es un órgano importante para la homeostasis en los peces como el intercambio gaseoso, trasporte iónico, excreción de desechos nitrogenados, regulación de pH (Mota Alves & Mota Camara, 1987; Perry, 1997, Vigliano et al., 2006). De modo general las branquias también son importantes para algunos procesos de alimentación de los peces, donde ellas pueden funcionar como filtros de alimentos (presas e partículas en suspensión) añadiéndola específicamente la función gustativa por la presencia de papilas gustativas, lubricación, inhibición de la proliferación de patógenos registrados como en *Odontesthes argentinensis* (Toma de la Hoz et al., 2014).

Diversas especies endémicas del extremo sur de Brasil presentan importancia económica y buena aplicabilidad en acuicultura, incluso el pejerrey marino *Odontesthes argentinensis* (Valenciennes, 1835) (Atherinopsidae). La especie posee origen marina, pero su distribución es amplia, desde la costa del sudoeste del Brasil hasta la provincia de Chubut en Argentina (Beheregaray & Levy, 2000). Pero, también es registrado en ambientes estuarinos como el estuario de la Lagoa dos Patos (Campanella et al., 2015). Varios estudios fueron realizados sobre esta especie, incluso en ámbito local, como su sistemática (Campanella et al., 2015), genética (Beheregaray & Levy, 2000; Beheregaray & Sunnucks, 2001), potencial para la acuicultura (crecimiento y alimentación) (Tesser & Sampaio, 2006), biología reproductiva (Moresco & Bemvenuti, 2006), morfología y ultraestructura de las branquias (Díaz et al., 2009), morfogenia microanatómica larval del desenvolvimiento (Valadares-Costa et al., 2009). Sin embargo estudios histopatológicos son escasos pero se puede señalar también que los estudios relacionados a los parásitos son generalmente para la ocurrencia y distribución de estos organismos.

Bajo este contexto en el presente estudio se describe la histopatología de las alteraciones branquiales que ocurren por *Ergasilus lizae* en *O. argentinensis* en el extremo sur de Brasil.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los hospedadores: Las coletas de los hospedadores *O. argentinensis* (n=19) fueron realizados, con red de arrastre, entre febrero y septiembre de 2016, en la

cuarta sección de la Barra ($32^{\circ} 9'2.55"S$; $52^{\circ} 6'6.97"O$) del Estuario de la Lagoa dos Patos (ELP), Rio Grande, Rio Grande do Sul.

Los peces capturados fueron muertos por punzón medular, refrigerados y llevados para el Laboratorio de Biología de Parásitos de Organismos Aquáticos (LABIPOA) de la Universidade Federal do Rio Grande (FURG) para la necropsia y extracción de las branquias. Antes de la necropsia los hospederos fueron medidos en longitud total (CT) (cm) y pesados (P) (g). Ambos CT y P son presentados en promedio e desviación estándar = $x \pm ds$ y también con la amplitud de variación de cada uno (AxCT y AxP = minimo -maximo).

La anatomía orofaríngea para la extracción de las branquias se guio con Vigliano et al. (2006). Las branquias fueron extraídas de la cavidad orofaríngea de los hospedadores en placas de Petri individualizadas para observación y coleta de los parásitos. Fragmentos de las branquias con los Copépoda anclados fueran sacados, *a priori*, para la imagen macroscópica *in toto* y *in naturae* (Figura 1A). Posteriormente estés fragmentos branquiales fueran sometido a la preparación histopatológica de rutina para inclusión en parafina (fijación: líquido de Bouin, microtomia: $5\mu m$, tinción: Hematoxilina-Eosina) y el montaje permanente fue en Balsamo de Canadá *sensu* Behmer et al. (1976), Roberts (1981) y Silva et al. (2014). La microtomia fue realizada con micrótomo rotativo automático Leica RM2255. Las microfotografías fueron obtenidas mediante el microscopio Olympus BH-2 equipado con una cámara digital Olympus Camedia C-5060.

Los parásitos: Fueran colectados para los procedimientos parasitológicos de rutina, para montaje permanente (medio de Hoyer sem coloração o Balsamo de Canadá con tinción con Carmin de Semichon o con Tricromico de Mallory) para su identificación. A identificación según Kabata (1979, 1988) y Boxshall & Montú (1997) para la morfología de las primeras y segundas antenas de los endopóditos y exopóditos. Fueron registradas las infrapopulaciones y posiciones de anclaje de *E. lizae* en la longitud de las lamillas branquiales.

Siglas generales de las figuras (1-3): área de contacto com el copepodo (ACC), celulas epiteliales Malpighio branquial (BEM), Comprimento total (CT), branquia (BRA), *Ergasilus lizae* (ERG), hiperplasia hipertrófica (HIP), hipertrofia (HIP) laminas branquiais primários (LAM), laminas branquiais secundarias (LAS), saco ovigero (SAC), segunda antena (SEA), oral apparatus (OAP).

RESULTADOS

Morfometria de los hospedadores: Los hospedadores fueron juveniles (CT = $15,8 \pm 2,7$ cm; AxCT = 13,0 - 18,5cm; P = $25,0 \pm 8,7$ g; AxP = 15,7 - 36,8g).

Aspectos macroscópicos: Las hembras de *Ergasilus lizae* se anclaron, principalmente por su segundas antenas (SEA), en las lamillas primarias branquiales (LAM) del hospedador. Este anclaje ocurrió a lo largo de toda la LAM, i.e., desde su base hasta su punta. Las Copépudas fueron más comúnmente observadas desde la parte basal hasta la mitad de la LAM, siendo menos frecuente en su porción distal. Estas hembras parásitas eran adultas con sacos ovígeros (SAC) bien desenvueltos presentes y fácilmente observables.

En la región de anclaje se observa el estrangulamiento de la LAM (efecto torniquete) y compresión de las lamelas secundarias branquiales (LAS) proximales. Este estrangulamiento da la LAM causa la discontinuidad del aspecto de las LAS. Este efecto torniquete en las SEA causa erosión circular perceptible en la región del estrangulamiento (Fig. 1A).

Además de la anclaje pelas SEA, bajo la región ventral o al redor del parásito hay la regresión de las LAS. En vista lateral, en esta región de erosión SEA-no-relacionada es perceptible la formación de una área cóncava, justamente debido a la regresión de las LAS. En esta “concavidad” el cuerpo del Copépodo (área del contacto com el cuerpo del copépodo – ACC) es abrigado y generalmente los SAC se presentan fuera de las concavidades (región de erosión SEA-non- relacionada) (Fig. 1A). En vista dorsal (superior) esta región de erosión SEA-no-relacionada presenta un aspecto elipsoide.

No se observaron procesos de telangiectasia durante la Ergasilosis y observaciones inmediatistas pueden confundir alteraciones globiformes presentes en estructura branquial con esta anomalía circulatoria. En este caso estas non-telangiectasias son alteraciones causadas por metacercarias de *Ascocotyle (Phagicola) longa* registradas en hilera en las LAM. Alteraciones de la coloración branquial en las zonas de anclaje también no estuvieron presentes.

Aspectos Microscópicos: Histológicamente el anclaje en toda la extensión de las LAM puede ser observada en las Figuras 1B-C y 2A-C. Pueden ser observadas en

cualquier de las regiones de anclaje del parásito diferentes anormalidades tejiduales. Las observaciones macroscópicas de la ergasiosis son confirmadas en la histopatología, o sea, el estrangulamiento (=torniquete) pelas SEA (Figs. 1B-C). Además también es posible observar que el *oral apparatus* (OAP) del parásito contribuye para los procesos histopatológicos e para la anclaje en las LAM del hospedador (Fig 2A).

Ocurren dos procesos principales observables de las alteraciones: (1) en el nivel general de las LAM e LAS y (2) en el nivel celular-tejidual de estas mismas estructuras branquiales. En el primer caso, la alteración más evidente es la erosión de los tejidos (Figs. 1B-C y 2A-C) de la LAM y su obliteración en las proximidades con el ACC (Figs. 1B-C y 2B). La erosión ocurre principalmente sobre las LAS. En estas ACC gran cantidad de restos celulares (formando masas de restos celulares) ocurrieron en las preparaciones histológicas. Estas masas celulares estuvieron depositadas en las proximidades del cuerpo del parásito (Figs. 1C y 2B). El principal componente de estas masas fue el epitelio Malpighiano branquial (EMB) (Celulas epiteliales pavimentosas simples). Tanto en los restos celulares (dentro de las masas de restos) en los tejidos dañificados de las LAS pudieron ser observadas figura de necrosis, principalmente la picnosis, caracterizada por nucleos celulares muy condensados. No presentaron cariolisis y cariorrexis. La erosion de las LAS Causo la desorganización de la arquitectura normal de las branquias (Figs. 1B-2C). En el segundo caso, en adicion a la necrosis branquial, fueron observados procesos focales anormales para las dimensiones celulares y tejiduales, tales como la hipertrofia (HPT) de las células de cloruro (células ricas en mitocondrias) y hiperplasia hipertrófica (HIP) del EMB y consecuentemente la HPT de toda la camada epitelial de la branquia anormal. La HIP del EMB fue mas evidente cuando los parásitos estuvieron anclados en las porciones medio-basales de la LAM. La HIP del EMB resulto de la obliteración de las LAS (Figs. 1B-C y 2B). La vacuolizacion del EMB fuer observado en la LAS y en la región interlamilar (Fig. 3A). las células muciparas (=células de muco, “globet cells”) presentaronse hipertrofiadas y la branquitis catarral (=hipermucogenesis: producción excesiva del muco) fueron observadas durante los procesos relacionados con la infección por *Ergasilus lizae*. La branquitis catarral permitió la aglutinación de las células necróticas branquiales en las proximidades del ACC (Figs. 1C y 2B).

Además, la erosión también genera un proceso de defensa en las branquias similar la queratosis, en el ACC. La queratosis presentose en regiones de amplio contacto con el parásito, principalmente en porciones que envolverán mas do que la anclaje pela SEA, o sea, de contacto con los toracopodos del parásito. En estas regiones de extrema atrofia de las LAS se forma una camada fuertemente acidofilica y refringente en los preparados teñidos con la H-E (Fig. 3B). En todas las branquias analizadas no fueron observados fragmentos de secuestración de las LAS, como resultado de la necrosis.

No se observaron infecciones oportunistas por otros patógenos (sepsis o micosis), pero las lesiones corresponden a romper la barrera inmune que pueden permitir infecciones oportunistas.

DISCUSIÓN

El estudio de los parásitos tiene importancia económica y sanitaria para las especies de peces, principalmente los que presentan intereses económicos (Thatcher & Boeger, 1983; Sindermann, 1990; Bennett & Bennett, 2001). Los parásitos resultan dolencias que pueden causar altas mortandades del hospedador, principalmente en actividad de cultivo y sobre las formas juveniles del hospedador (Eiras, 1994; Thatcher, 1981a). Además, los parásitos son reguladores de las poblaciones de peces, principalmente en los estoques salvajes (Scott, 1988; Comber, 1996).

La morfometria (peso y talla total) de los hospederos *O. argentinensis* del presente estudio indica que son juveniles, en comparación de individuos de Argentina que son adultos con una medidas entre 37-40 cm *sensu* Cousseau & Perrota (2000) y Grosman et al. (2001); en Brasil presenta un comprimiento entre 21,4–23,2 cm *sensu* Bemvenuti (1987). La fase juvenil fue confirmada pela ausencia de las gónadas desarrolladas en los hospedadores que corrobora Balon (1975).

La formación de una concavidad en las branquias por el cuerpo del parásito como presentado en este estudio es similar las modificaciones en la topografía de la branquia registradas por otros autores. Molnár & Székely (2004) reportan formaciones de infestaciones en las áreas en las cuales *Sinergasilus leini* parasita *Hypophthalmus molitrix* y *Hypophthalmichthys (=Aristichthys) nobilis* (Cyprinidae)

de lagos la Hungria. Estos datos muestran que el cuerpo del parásito además sus SEA también son responsables por causar alteraciones en la estructura del hospedador.

La histomorfología normal de las branquias del *O. argentinensis*, según Diaz et al. (2009), registra que las LAM y las LAS son cubiertas por el epitelio pavimentoso simples estratificado y por células muciparas. Este epitelio pavimentoso se torna estratificado en dirección a la región orofaríngea del arco branquial como ocurre en los Teleostei de modo general (Roberts, 1981). Esta histomorfología del epitelio Malpighiano branquial también fue observada en *O. bonariensis* por Toma de la Hoz et al. (2014). La misma histomorfología fue observada en el presente trabajo para las branquias de juveniles de *O. argentinensis* que también fue observado por Valadares-Costa et al. (2009). Estos mismos aspectos histológicos normales son compartidos con otras especies de Teleostei con variaciones cuantitativas especie-específicas (Roberts, 1981; Díaz, et al. 2005; Monteiro, et al. 2010).

Según Fryer (1965) hay sitios de anclaje típicos para cada-*Ergasilus* en las branquias de sus hospedadores. En el presente estudio *E. lizae* se ha demostró que su sitio de anclaje es la LAM independiente de la altura, i. e., el parásito se ancla desde la base hasta el ápice de la LAM. Los resultados de Kilian & Avenant-Oldewage (2013) para el *E. sarsi* en el *Lamprichthys tanganicanus* (Poeciliidae) demostraron que el parásito ocurre en cantidades diferentes entre las zonas dorsal, medial y ventral de los arcos branquiales e indican que no hay diferencias para las porciones distales, mediales o proximales de las LAM. El resultados de estos autores parecen ser similares las observaciones de distribución de la anclaje que ocurre para *E. lizae* en *O. argentinensis*. Diferentemente Abdel-Hady et al. (2008) registran que *E. egyptiacus* se ancla solamente en el arco branquial de *Tilapia zilli* (Perciformes: Cichidae). Otros Ergasilidae, como *Therodamas fluviatilis* se anclan profunda e exclusivamente en el arco braquial entre las bases de las LAM de *Paralichthys orbignyanus* (Pleuronectiformes) (Velloso et al., 2012). Molnár & Székely (2004) reportan que *S. lieni* se ancló solamente en los ápices de las LAM de las especies hospedadoras estudiadas [*Hypophthalmus molitrix* y *Hypophthalmichthys (=Aristichthys) nobilis*]. Pero Kasuya & Hideki (2015) registraron que *Neorgasilus japonicus* se anclan en las aletas de *Lepomis macrochirus* y *Micropterus salmoides* (Centrarchidae).

Este anclaje puede conducir alteraciones de tejidos y de células que pueden afectar la osmoregulación. Ergasilidae se alimentan de estructuras branquiales tales como el epitelio branquial (Abdel-Hady et al., 2008), de la sangre de los vasos rotos y otros componentes del arco branquial (Velloso et al., 2012), pudiendo algunas especies presentar digestión externa por enzimas que parcialmente disuelven las células epiteliales antes de estas sean ingeridas (Halisch, 1940; Kabata, 1970; Thatcher & Boeger, 1983). Los procesos de alteraciones branquiales observados en este trabajo están relacionados principalmente con: 1) estrangulamiento de las LAM pelas SEA y 2) pelo contacto del cuerpo del parásito con las superficie da LAM.

En el primero caso diversos trabajos demuestran que la estrangulación de las LAM pelas SEA es el padrón típico de anclaje (Molnár & Székely, 2004; Abdel-Hady et al., 2008; Kilian & Avenant-Oldewage, 2013). Esta anclaje por estrangulación por las SEA es responsable por causar daños a la estructura de las branquias en los peces. En esta situación hay isquemia difusa en los filamentos como fue reportado para la *T. zilli* infestadas por *E. egyptiacus* (Abdel-Hady et al., 2008). De la isquemia resulta la mala circulación sanguínea en las porciones distales de las LAM. Esta mala circulación compromete los intercambios gaseosos branquiales entre el hospedador y el medio ambiente, además entre los tejidos que componen las branquias y la sangre oxigenada. Este cuadro lleva las células, principalmente las epiteliales, a un proceso de necrose por anoxia. La necrosis (picnosis) fue observada en los preparados histológicos de este estudio principalmente en las regiones de estrangulamiento por las SEA. La necrosis indica que los cambios circulatorios negativos están presentes en la ergasilosis. La estrangulación de las LAM caracteriza la necrosis por coagulación *sensu* Thomson (1983). La ergasilosis en las branquias provoca la reacción inflamatoria por parte del hospedero que consiste en la inflación de las células del EMB, o sea la HIP. Característicamente la HIP se presentó sobre el EMB. La HIP llevo a la obliteración de las LAM, confirmando una respuesta del hospedador a la presencia del parásito (=cuerpo extraño o antígeno). Por un lado se nota que el parásito causa la regresión y desorganización de la estructura de la branquia (principalmente de la LAM) y por otro lado que el hospedero tiende a reparar el daño con la producción de nuevos e abundantes componentes tejiduales. Tales mecanismos inflamatorios de defensa relacionados a la HIP conducen a la obliteración de las LAS tal como fueran observados por Roger (1969), Thatcher &

Boegers (1983) y Molnár & Székely (2004). La HIP fue la más característica histopatología observada en la Ergasilosis causada por *E. lizae* en *O. argentinensis*.

Además lo proceso de queratogenesis (=queratinización) observado en el presente estudio, también fue observado por Molnár & Székely (2004) en la Neoergasilosis de *H. molitrix* y *H. nobilis*. En este estudio los autores reportan la ocurrencia de un tipo de cutícula en las zonas de contacto hospedador-parásito. Procesos como la queratogenesis indican que la lesión corresponde a una condición de defensa generalmente crónica (esclerotización) por parte del hospedador (Thomson, 1983). Esto significa que el parásito puede estar anclado hace mucho tiempo en el hospedador, mas también que sus efectos negativos son intensos. Por otro lado también puede tratarse de una respuesta aguda e intensa contra el parásito. Esta condición de aguda a crónica conduce a una metaplasia, o sea, la queratinización (esclerotización) de regiones de la superficie mucosa típicas de la branquia. Las superficies mucosas son desprovistas de queratinización para que los cambios gaseosos o de nutrientes se puedan dar adecuadamente y mas efectivamente (Gartner & Hiatt, 2007). Esta metaplasia significa que en estas regiones branquiales (mismo que focales) el cambio caseoso es comprometido o no ocurrirán. La esclerotización de superficies mucosas es un mecanismo de defensa por parte del hospedador extremamente desfuncionalizantes, siendo típica de procesos inflamatorios severos. Los procesos inflamatorios están sobre cinco pilares principales: la tumefacción (edema), la hipertermia (fiebre) (ausentes en peces, hasta donde se registra la literatura), hiperemia, algesia y la cicatrización (perdida de función) (Thomson, 1983). En este último pilar se encuadra el proceso de metaplasia (queratinización puntual) observada en la Ergasilosis.

Con relación el segundo caso, Kilian & Avenant-Oldewage (2013) indican que las piernas natatorias de *E. sarsi* contribuyen para la erosión y desorganización de las LAM de *L. tanganicanus*. Estés últimos autores conjuntamente con Molnár & Székely (2004) corroboran los resultados macroscópicos y microscópicos para alteraciones en la topografía de la formación de concavidad y consecuentes cambios en la topografía de las hemibranquias causadas por otras partes corporales del parásito que no solamente las SEA.

El anclaje ocurrió principalmente por la SEA, estudios indican que el *oral apparatus* también es responsable por ayudar en este proceso como lo estudio de

Molnár & Székely (2004) y fue observado también en el presente estudio. En este estudio los autores desmontan que la HIP del EMB es una respuesta contra el contacto hospedador-parásito.

La hipertrofia de las células mucíparas y su hipermucogenesis, así como la hipertrofia de las células de cloruro, también significan respuestas inflamatorias contra la actividad del parásito. La hipermucogenesis comprende una respuesta contra las capacidades irritantes de parásito sobre superficies mucosas del hospedador, como es el caso de la cavidad orofaringea. Roger (1969) indica que *E. cyprinaceus* provoca en *Notropis boleyi* (Cyprinidae) de America del Norte la hiperplasia (aumento en número) de las células muciparas branquiales para contrarrestar al parásito. Aparentemente la Ergasilosis por *E. lizae* no ocurrió la hiperplasia de las células muciparas, fue solamente visible que las células muciparas se hipertrofiaron y produjeron grandes cantidades de muco. La hipertrofia de las células de cloruro pueden indicar que la maquina fisiológica celular está invirtiendo en mecanismos de la manutención de la homeostasis. Se puede pensar la hipermucogenesis también es un factor a más de complicado para la manutención de la homeostasis. Todo los mecanismos negativos (o inadecuados) de cambios caseosos y/o iónicos branquiales pueden estar retroalimentándose. La HIP del EMB sumada con la branquitis catarral constituye un espesamiento de las fronteras de cambios entre el organismo (hospedador) y el medio ambiente. Así que cuanta más crónica es la Ergasilosis, más HIP del EMB y más branquitis catarral ocurre y más difícil se tornara los cambios branquiales. Esto aumenta gradual y retrospectivamente los cuadros de anormalidades branquiales.

En conclusión la Ergasilosis por *E. lizae* en juveniles de *O. argentinensis* constituye importante mecanismo para alteraciones branquiales, teniendo como las alteraciones características la erosión de las lamillas primarias y secundarias de las branquias, la hiperplasia hipertrófica del epitelio Malpighiano branquial, la hipertrofia de la células muciparas y consecuentemente branquitis catarral (hipermucogenesis), la hipertrofia de las células de cloruro y la queratinización (metaplasia) de las áreas de contacto hospedador-parásito, constituyéndose así lesiones graves y desfuncionalizadoras para las branquias.

BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Hady, O. K., Bayoumy, E. M., Osman, H. A.M. 2008. New copepod Ergasilid parasitic on *Tilapia zilli* form Lake Temsah with special reference to its pathological effect. Global Veterinaria 2(3): 123-129.
- Amado, M. A. P., Rocha, C. E. F. (1995). Três novas espécies de copépodes parasitas do gênero *Ergasilus* (Poecilostomatida, Ergasilidae) coletados em filamentos branquiais de peixes mugilídeos do Brasil. Nauplius, 3, 33–48.
- Balon, E. K. 1975. Terminology of intervals in fish development. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 32:1663-1670
- Beheregaray, L., Levy, J. 2000. Population genetics of the silverside *Odontesthes argentinensis* (Teleostei, Atherinopsidae), evidence for speciation in an estuary of southern Brazil. Copeia 2000, 441- 447.
- Beheregaray, L. B., Sunnucks, P. 2001. Fine-scale genetic structure, estuarine colonization and incipient speciation in the marine silverside fish *Odontesthes argentinensis*. Mol Ecol, 10: 2849- 2866.
- Behmer, O. A.; Tolosa, E. M. C., Freitas-Neto, A. G. 1976. (Eds.). Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: Edart, 1976. 256p.
- Bennet, S. M., Bennet, M. B. 2001. Gill pathology caused by infestation of adult and preadult *Dissonus manteri* Kabata (Copepoda: Dissonidae) on coral trout, *Plectropomus leopardus* (Lacépède) (Serranidae). J Fish Dis 24:523–533
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., Wahli, T. 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. Journal of Fish Diseases, 22, 25-34.
- Bemvenuti, M. A. 1987. Abundância, distribuição e reprodução de peixe-rei (Atherinidae) na zona estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Atlântica, Rio Grande, 9 (1): 5-32.
- Boxshall, G. A., Montú, M. A. 1997. Copepods parasitic on Brazilian coastal fishes: a handbook. Nauplius 5(1): 01-225.
- Buchmann, K., Lindenstron, T. 2002. Interactions between monogenean parasites and their fish hosts. International Journal for Parasitology 32. 309–319
- Campanella, D., Hughes, L. C., Unmack, P. J., Bloom, D. D., PillerK, R., Ortí, G. 2015. Multilocus fossil-calibrated phylogeny of Atheriniformes (Teleostei, Ovalentaria). Molecular Phylogenetics and Evolution. 86: 8-23.

- Combes, C. 1996. Parasites, biodiversity and ecosystem stability. *Biodiver. Conserv.* 5(8):953-962.
- Cousseau, M. B., Perrota, R. G. 2000. Peces marinos de Argentina, biología, distribución, pesca. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero. Mar del Plata, Argentina. 167 pp.
- Dezfuli, B. S., Pironi, F., Giari, L., Noga, E. J. 2010. Immunocytochemical localization of piscidin in mast cells of infected seabass gill. *Fish Shellfish Immunol*;28:476-82.
- Díaz, A. O., Castro, M. G., García, A. M., Díaz de Astarloa, J. M., Figueroa, D. E. 2009. Gross morphology and surface ultrastructure of the gills of *Odontesthes argentinensis* (Actinopterygii, Atherinopsidae) from a Southwestern Atlantic coastal lagoon. *Tissue Cell*, 41(3):193-8.
- Díaz, A. O., García, A. M., Goldemberg, A. L. 2005. Glycoconjugates in the branchial mucous cells of *Cynoscion guatucupa* (Cuvier, 1830) (Pisces: Sciaenidae). *Sci. Mar.*, 69 (4):545-53.
- Eiras, J. C. 1994. Elementos da Ictioparasitologia, Porto, Fundação Eng. Antônio de Almeida, 339p.
- Fryer, G. 1965. Crustacean parasites of African freshwater fish, mostly collected during expeditions to Lake Tanganyika, and to lakes Kivu, Edward and Albert. *Bulletin de Institute Royal des Sciences Naturelles de Belgique* 41.
- Gartner, L. P., Hiatt, J. L. 2007. Tratado de Histologia. 3^a. Edição. Editora Elsevier.
- Giari, L.; Manera, M.; Simoni, E. y Dezfuli, B. S. 2007. Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium. *Chemosphere*, 67:1171-81.
- Grosman, F., Sanzano, P., González, G., Agüería, D., Sergueña, S. 2001. Ecología reproductiva, edad, crecimiento, condición y alimentación del pejerrey *Odontesthes bonariensis* en un ambiente del SO de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Aquatic* 12:1-24
- Halisch, W. 1940. Anatomie und biologie yon *Ergasilus minor* Halisch. *Zeitschrift fur Parasitenkunde*, 11,284-330.
- Hopla, C. E., Durden, L. A., Keirans, J. E. 1994. Ectoparasites and classification. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*,13 (4), 985-1017.

- Kabata, Z., Cousens, B. 1977. Host-parasite relationship between sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* and *Salmincola californiensis* (Copepoda: Lernaeopodidae). J Fish Res Board Can 34:191–202
- Kabata, Z. 1970. Diseases of fishes, Book 1 Crustacea as enemies od Fishes. T.F.H. publ. 171p.
- Kabata, Z. 1979. Parasitic Copepoda of British fishes. London: The Ray Society. 468p.
- Kabata, Z. 1988. Copepoda and Branchiura, p. 3-127. In: Margolis, L. y Kabata, Z. (Eds.). Guide to the parasites of fishes of Canada. Part II – Crustacea. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. 101: 184p.
- Kasuya, N., Hideki, S. 2015. *Neorgasilus japponicus* (Copepoda: Ergasilidae) parasitic on two alien freshwater fishes (*Lepomis macrochirus* and *Micropterus salmoides*) in central Japan, with its new record from Gunma Prefecture. Bulletin of Gunma Museum of Natural History 19: 1-4.
- Kilian, E., Avenant-Oldewage, A. 2013. Infestation on pathological alterations by *Ergasilus sarsi* (Copepoda) on the Tanganyika killifish from Africa. Journal of Aquatic Animal Health 25: 237-242.
- Molnár, K., Székely, Cs. 2004. Occurrence and pathology of *Sinergasilus leini* (Copepoda: Ergasilidae), a parasite of the silver carp and bighead, in Hungarian ponds. Acta Veterinaria Hungarica 52(1): 51-60.
- Monteiro, S. M., Oliveira, E., Fontainhas-Fernandes, A., Sousa, M. 2010. Fine structure of the branchial epithelium in the teleost *Oreochromis niloticus*. J. Morphol, 271(5):621-33,
- Mota-Alves, M., Mota-Camara, R. G. 1987. Histologia de órgãos relacionados como a regulação iônica de peixes estuarino. Cien. Agron., Fortaleza, 18(1):pág. 51-62.
- Moresco, A., Benvenuti, M. A. 2006. Biologia reprodutiva do peixe-rei *Odontesthes argentinensis* (Valenciennes)(Atherinopsidae) da regiao marinha costeira do sul do brasil. Revista brasileira de Zoologia 23(4):1168-1174.
- Morales-Serna, N. F., Gómez, S., Pérez-Ponce de León, G. 2012. Parasitic copepods reported from Mexico. Zootaxa 3234: 43-68.
- Perry, S. F. 1997. The chloride cell: Structure and function in the gills of freshwater fishes. Annu. Rev. Physiol., v.59, p.325-347.

- Rico-Hernandez, G. 2011. Evolución de interacciones parasito-hospedero: Coevolución, selección sexual, y otras teorías propuestas. Rev. U.D.C.A Act. y Div. Cient. 14(2): 119 – 130.
- Roberts, H.A. 1981. Seed banks in the soil. Advances in Applied Biology, Cambridge, Academic Press. v.6, 55p.
- Roberts, R. J. 1981. Patología de los peces. Madrid: Mundi-Prensa Libros. 366p.
- Rogers, W. A. 1969: *Ergasilus cyprinaceus* sp. n. (Copepoda: Cyclopoida) from cyprinid fishes of Alabama, with notes on its biology and pathology. J. Parasitol. 55, 443–446.
- Sindermann, C. J. 1990. Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish. Vol. 2, Diseases of Marine Shellfish, 2nd edn. Academic Press, San Diego, California, 516 pp.
- Scott, J. 1988. The impact of infection and disease on animal populations: implications for conservation biology. Conserv. Biolo. 2(1):40-56.
- Sutherland, D. R., Wittrock, D. D. 1985. The effects of *Salmincola californiensis* (Copepoda: Lernaeopodidae) on the gills of farm-raised rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Can J Zool 63: 2893–2901.
- Silva, R. Z., Marchiori, N. C., Magalhaes, A. R. M., Cousin, J. C. B., Romano, L. A., Pereira Jr., J. 2014. Gill histopathology of Maria-da-toca *Hypseurochilus fissicornis* by metacercariae of *Bucephalus margaritae* (Digenea: Bucephalidae). J Parasit Dis. Online version: 5p. [doi: 10.1007/s12639-014-0498-3].
- Thatcher, V. E. 1981a. Os crustáceos parasitos de peixes da Amazônia Brasileira. 1. *Ergasilus bryconis* n. sp. (Copepoda: Cyclopoida) da matrinchä (*Brycon melanopterus*). Acta Amazonica 11(3): 439-444.
- Tesser, M.B., Sampaio, L. A. 2006. Criação de juvenis de peixe-rei (*Odontesthes argentinensis*) em diferentes taxas de arraçoamento. Ciencias rurales, Santa Maria, 36 (4):1278-1282.
- Thatcher, V.E. 2006. Amazon fish parasites. 2th ed. Pensoft Publishers, Sofia, Moscow, 508p.
- Thatcher, V. E., Boeger, W. A. 1983. Patologia de peixes da Amazônia, 3, Alterações histológicas em brânquias provocadas por *Ergasilus*, *Brasergasilus* e *Acusicola* (Crustacea: Cyclopoida: Ergasilidae). Acta Amazônica, 13(2): 441-451.

- Thomson, R. G. 1983. Patologia Geral Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 412p.
- Tano de la Hoz, M. F., García, A. M., Castro, M. G., Díaz, A. O. 2014. Histochemical and scanning electron microscopic approaches to gills in juveniles of *Odontesthes argentinensis* (Actinopterygii, Atherinopsidae). International Journal of Aquatic Science. Vol. 5, No. 2, 154-166.
- Valadares-Costa, M. P., Silva, R. Z., Sampaio, L. A., Cousin, J. C. B. 2009. Morfogenia larval microanatômica do peixe-rei marinho *Odontesthes argentinensis* Atheriniformes, Atherinopsidae) do Rio Grande do Sul - Brasil: entre a eclosão e o 30º dia. Biociências, Porto Alegre, v. 17, n. 1, p. 91-105.
- Verján, N.; Iregui, C. A., Rey, A. L., Donado, P. 2001. Sistematización y caracterización de las lesiones branquiales de la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) de cultivo clínicamente sana: algunas interacciones hospedador-patógeno-ambiente. AQUATIC: Revista Electrónica de Acuicultura. Tecnología e Investigación en Castellano, 15:1-25.
- Velloso, A. L., Pereira, Jr. J., Cousin, J. C. B. 2005. *Therodamas fluviatilis* (Copepoda: Ergasilidae), parasito de *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) do estuário da Lagoa dos Patos e Costa Adjacente, RS, Brasil. Bol. Inst. Pesca, v. 31, n. 1, p. 65-71.
- Vigliano, F. A., Aleman, N., Quiroga, M. I., Nieto, J. M. 2006. Ultrastructural Characterization of Gills in Juveniles of the Argentinian Silverside, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Teleostei: Atheriniformes. Anat. Histol. Embryol. 35, 76–83.

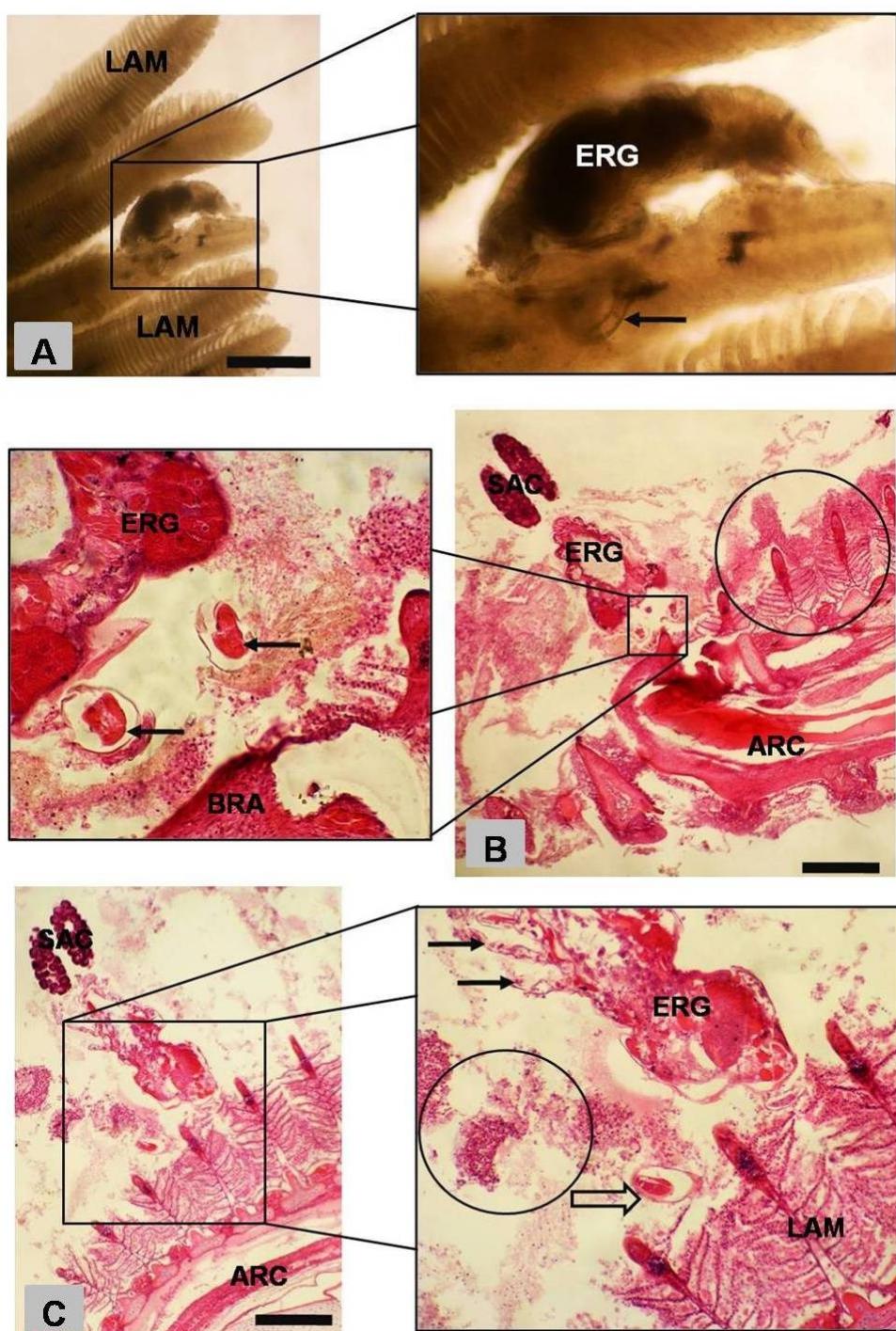


Figura 1. *Ergasilus lizae* (ERG) en la branquia (BRA) de *Odontesthes argentinensis* del extremo sur de Brasil. A: Microfotografias de um parasito anclado *in toto* e *im naturae*. Segundo lugar antenas (flechas) de anclado do LAM. Escala: 04 mm. B: Parasite anclado em la base del LAM. La oblitecación de la LAM (círculo). Detalle: La segunda antenas en corte transversal (flechas). Tincion: H-E. Escala: 515 μ m C: ERG en el meio de LAM. Detalle: los restos celulares das brânquias (círculo), toracópodos (flechas llenas), segunda antena derecha en corte transversal (Fecha vacia). Tincion: H-E. Escala: 400 μ m. Leyenda Geral: LAM – Primera lamela pimários; ARC – arco branquial SAC - saco ovígera do ERG.

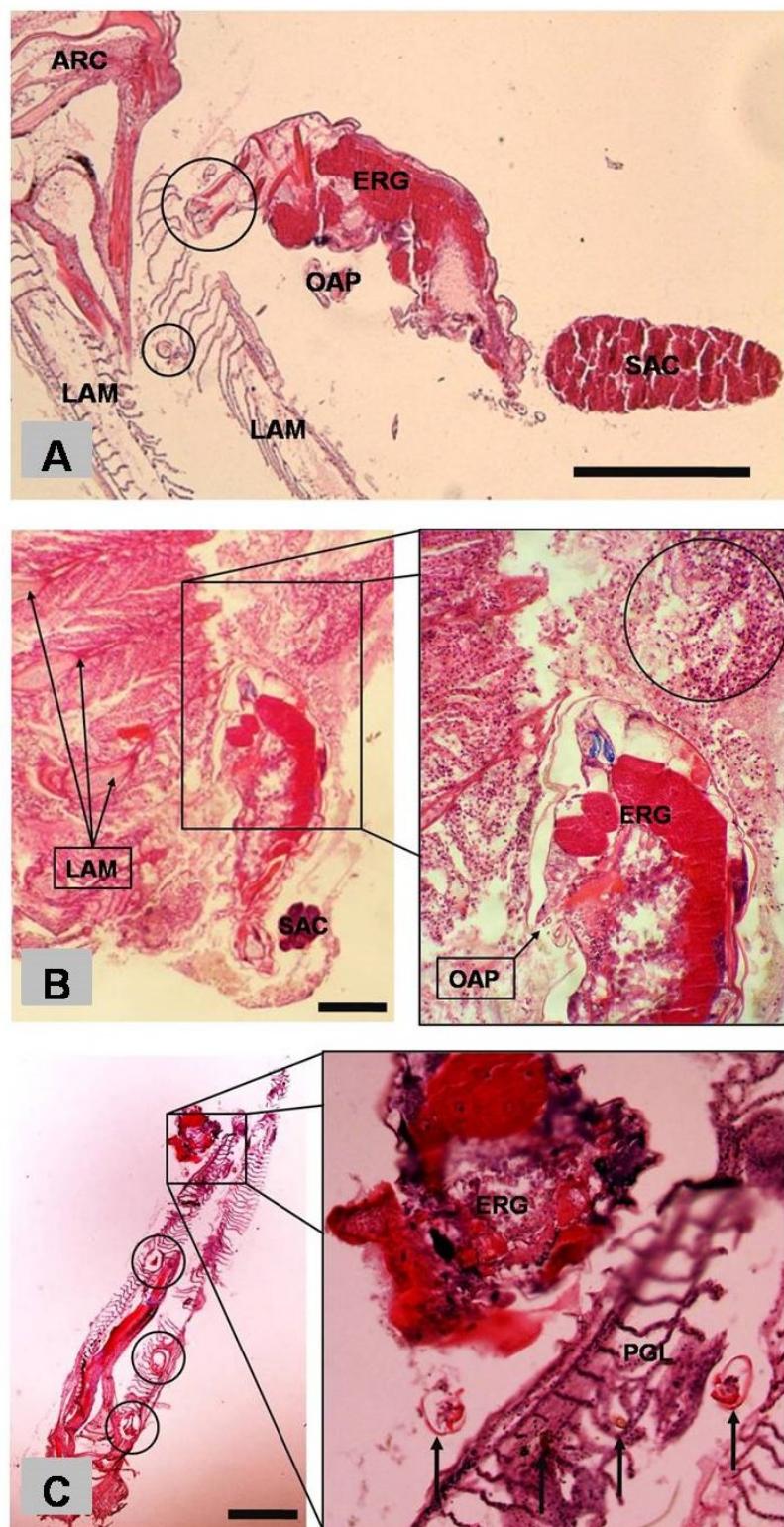


Figura 2. *Ergasilus lizae* (ERG) en la branquia de *Odontesthes argentinensis* del sur de Brasil. A: Anclaje del parásito con la segunda antena (círculos) en el LAM. Tinción: H-E. Escala: 35 μ m. B: fotomicrografías ERG en el centro de la LAM causando la obliteración de las branquias. Detalle: masas de células necróticas (circulo) e o OAP del ERG. Escala: 220 μ m. C: Fotomicrografías de ERG en la punta de LAM con Digenea (Metacecarcariae) que ocurre concomitantemente y alineado (círculos). Detalle: Segunda antena ancladode la LAM (flechas). Tinción: H-E. Escala: 310 μ m. General Leyenda: ARC—arco branquial; LAM—lamela de branquia primaria; OAP—aparato oral; SAC - saco ovígero del ERG.

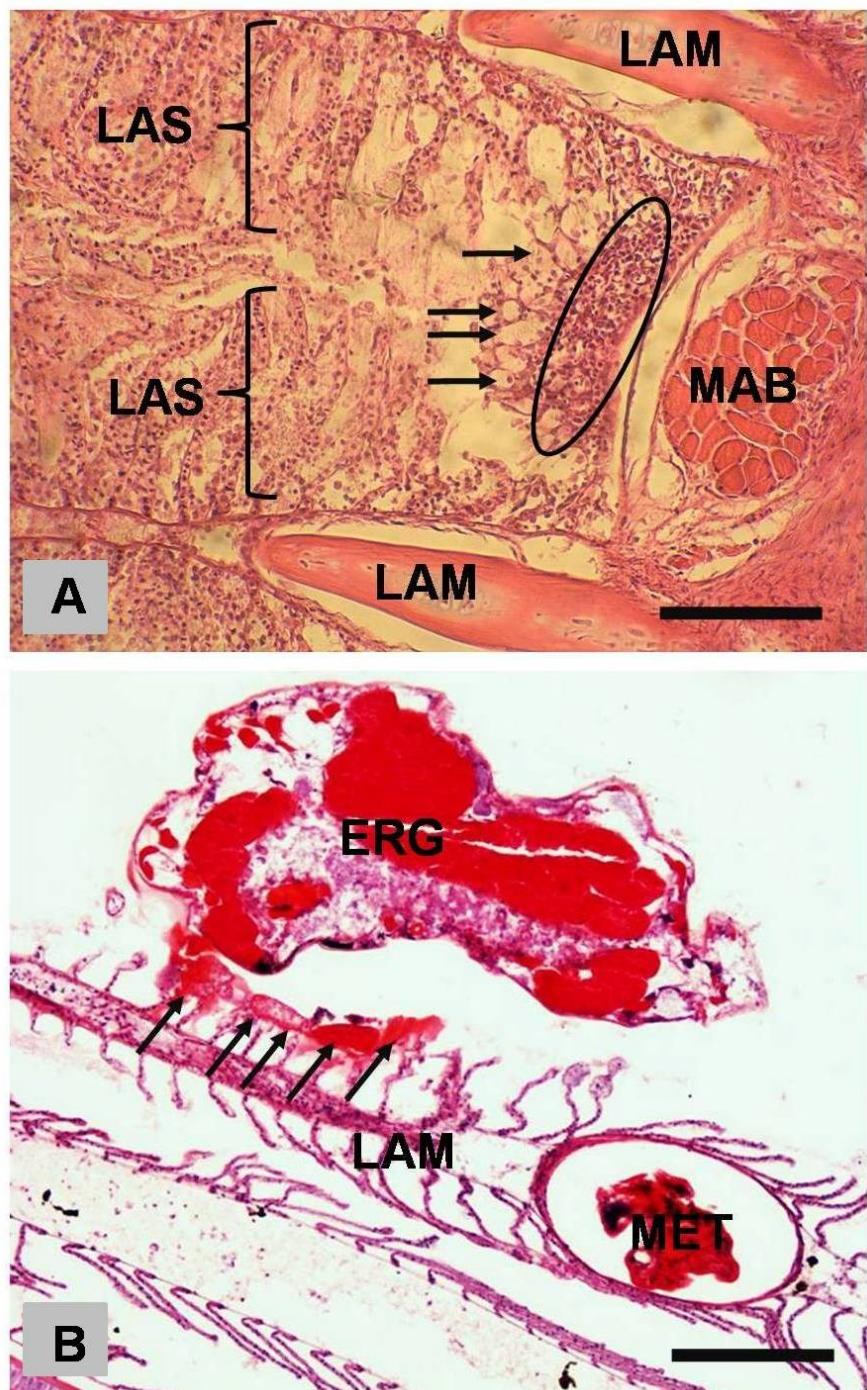


Figura 3. *Ergasilus lizae* (ERG) en la branquia (BRA) de *Odontesthes argentinensis* del sur de Brasil. A: Anclaje del parásito con la segunda antena (círculo) y con el aparato oral (OAP) en el LAM con proyección del maxilipede (flecha). Mancha: H-E. Escala: 35 μ m. B: microfotografías de ERG en el centro de la LAM causando la obliteración de las branquias. Escala: 220 μ m.

CONCLUSÕES GERAIS

Os dados deste estudo indicam que a composição das assembleias de metazoários ectoparasitos e mesoparasitos de peixes-rei do sistema de lagoas Patos-Mirim e Mangueira e na área costeira do Atlântico Sul são diferenciadas.

Odontesthes argentinensis, tanto no mar quanto no estuário da Lagoa dos Patos, é parasitado por *Ergasilus lizae*. A prevalência de *E. lizae* em *O. argentinensis* é maior no estuário da Lagoa dos Patos, do que no mar.

Odontesthes bonariensis ocorreu na Lagoa Mangueira e na Lagoa Mirim. Na lagoa Mangueira, *O. bonariensis* foi parasitado exclusivamente por duas espécies de Isopoda, *Artystone trysibia* e *Braga patagonica*. Na Lagoa Mirim, *O. bonariensis* foi parasitado somente por espécies de Ergasilidae, nomeadamente, *Gauchergasilus euripedesi* e *Ergasilus* sp.

Por outro lado, a descrição histopatológica das alterações brânquias decorrentes pela parasitose de *Ergasilus lizae*, em *Odontesthes argentinensis* no Estuário Lagoa dos Patos, causa o efeito torniquete apresentando erosão com hiperplasia hipertrófica, necrose e obliteração laminar. O hospedeiro para neutralizar essas patologias nas lamelas primárias, apresenta queratinização do tecido branquial.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Com base nos resultados apresentados neste estudo, surgiram novas perspectivas referente a distribuição dos parasitos e sobre o uso dos seus hospedeiros no complexo de Lagoas Patos-Mirim e Mangueira.

- Como *Ergasilus lizae* utiliza *Odontesthes argentinensis* nos diferentes ambientes: estuário da Lagoa dos Patos e região marítima?
- Se a parasitose de *Odontesthes bonariensis* por Isopoda na Lagoa Mangueira e por Ergasilidae na Lagoa Mirim, caracteriza um processo de co-evolução e isolamento destas assembleias (parasito-hospedeiro), ou se caracteriza uma resposta ecológica?