

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Biologia

RUBENS RISCALA MADI

“Utilização dos helmintos parasitos de *Geophagus
brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Cichlidae;
Perciformes) como indicadores ambientais.”

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato (a) <u>RUBENS RISCALA MADI</u> e aprovada pela Comissão Julgadora. <u>Marlene Tiduko Ueta</u>

Tese apresentada ao Instituto de Biologia,
da Universidade Estadual de Campinas
(UNICAMP), como requisito para a
obtenção do título de Doutor em
Parasitologia.

ORIENTADORA: PROFA. DRA. MARLENE TIDUKO UETA

Campinas

2005

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T17UNICAMP
	M265u
V	EX.
TOMBO BC/	
PROC.	36-P-0008615
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$11,00
DATA	25-07-05
Nº CPD	

64984

Bit. ID 359415

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

M265u

Madi, Rubens Riscala

Utilização dos helmintos parasitas de *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Cichlidae; Perciformes) como indicadores ambientais / Rubens Riscala Madi. -- Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientadora: Marlene Tiduko Ueta.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Indicadores ambientais. 2. Helminto. 3. Peixe. 4. Epidemiologia – Índices. 5. Índices faunísticos. I. Rubens Riscala Madi. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

(rcdet/ib)

Título em inglês: The use of helminthes parasites of *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Cichlidae; Perciformes) as environmental indicators.

Palavras-chave em inglês: environmental indicators, helminths, fish, epidemiologic indices, faunistics indices.

Área de concentração: Parasitologia.

Titulação: Doutorado.

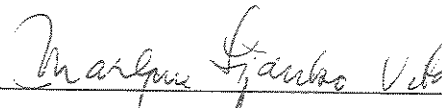
Banca examinadora: Marlene Tiduko Ueta, Nelson da Silva Cordeiro, Luiza Ishikawa Ferreira, Ricardo Massato Takemoto, Edson Aparecido Adriano.

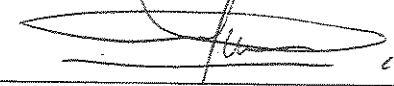
Data da defesa: 25/05/2005.

Campinas, 25 de maio de 2005.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Drª. Marlene Tiduko Ueta (Orientadora)





Prof. Dr. Nelson da Silva Cordeiro

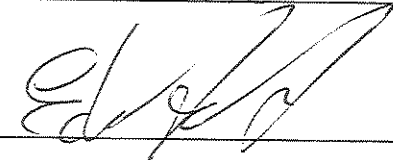
Profª. Drª. Luiza Ishikawa Ferreira



Prof. Dr. Ricardo Massato Takemoto



Prof. Dr. Edson Aparecido Adriano



Profª. Drª. Silmara Marques Allegretti

Prof. Dr. Francisco Borba Ribeiro Neto

200515504

ESTELA,
LUCAS e
LUÍZA

dedico a vocês por suportarem e compreenderem minhas
ausências físicas e mentais no decorrer deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à **Profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta** pela orientação, apoio e amizade sempre presentes.

Agradeço também ao **Departamento de Parasitologia**, Instituto de Biologia, Unicamp, ao **Grupo de Pesquisa em Ecossistemas Aquáticos Sujeitos a Impactos Ambientais**, da Pontifícia Universidade Católica de Campinas e à **Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo**, instituições sem as quais este trabalho não se realizaria.

Aos membros da banca examinadora **Profa. Dra. Luiza Ishikawa Ferreira**, **Dr. Ricardo Massato Tekemoto**, **Prof. Dr. Nelson da Silva Cordeiro**, **Prof. Dr. Edson Aparecido Adriano**, **Profa. Dra. Silmara Marques Allegretti** e **Prof. Dr. Francisco Borba Ribeiro Neto** pelas correções e sugestões.

Foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho as participações de **João Batista Alves de Oliveira** e **Maurício Solera Rodrigues da Silva** no apoio em campo e laboratório, do **Prof. Dr. Arício Xavier Linhares** no auxílio estatístico, de **Patrícia Jacqueline Thyssen** e **Tatyana Sacchi Carmona Rodrigueiro** nas discussões sobre os índices faunísticos, de **Maria Isabel Müller**, **Tarsila Ferraz Frezza** e **Karen Bazan Simionatto** na dedicação e paciência no trabalho dos plânctons, de **Verônica de Carvalho Magalhães** e **Thiago de Carvalho Moretti** nas traduções e correções dos "abstracts".

E não menos importantes foram as colaborações dos funcionários da Sabesp nos reservatórios do Jaguari e Juqueri, em especial à bióloga **Débora Maria Ciarelli**, dos bolsistas e estagiários do GPEASIA/Puccamp entre 2000 e 2003 destacando **Michelle Viviane Sá dos Santos**, **Diego Fernandes Alarcon**, **Andrew Patrick Brunini**, **Vitor Maros de Borobia** e **Paula Gadioli Alberto**, dos funcionários do Laboratório de Zoologia, Ecologia e Botânica da Faculdade de Ciências Biológicas, Puccamp e dos amigos do Departamento de Parasitologia **Ivo Gonçalves Pereira**, **Marina Bragatto Vasconcelos**, **Nilson Branco**, **Andrea da Silva Martinelli**, **Cirene Alves de Lima** e **Geraldo Nascimento**.

A todos os meus mais sinceros e profundos agradecimentos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUÇÃO.....	1
Determinação de bio-indicadores.....	2
<i>Geophagus brasiliensis</i>	6
OBJETIVOS.....	9
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
Áreas de Estudo.....	10
Reservatório do Jaguari.....	10
Reservatório do Juqueri.....	14
Coletas.....	19
RESULTADOS.....	20
Utilização de metacercárias de <i>Clinostomum</i> sp. (Trematoda; Clinostomidae) de <i>Geophagus brasiliensis</i> (Pisces; Cichlidae) como indicadores ambientais.....	21
Resumo.....	21
Abstract.....	21
Introdução.....	22
Materiais e Métodos.....	23
Resultados.....	24
Discussão e Conclusão.....	27
Referências Bibliográficas.....	31
O papel de Ancyrocephalinae (Monogenea; Dactylogyridae), parasito de <i>Geophagus brasiliensis</i> (Pisces; Cichlidae), como indicador ambiental.....	33
Resumo.....	33
Abstract.....	33
Introdução.....	34
Materiais e Métodos.....	35
Resultados.....	37
Discussão e Conclusão.....	39
Referências Bibliográficas.....	42
Viabilidade do uso do parasitismo por Metacestódeos (Platyhelminthes; Cestoda) e <i>Procamallanus peraccrattus</i> (Nematoda; Camallanidae) de <i>Geophagus brasiliensis</i> (Pisces; Cichlidae), como indicadores ambientais.....	45
Resumo.....	45

Abstract.....	45
Introdução.....	46
Materiais e Métodos.....	47
Resultados.....	48
Discussão e Conclusão.....	55
Referências Bibliográficas.....	58
Índices ecológicos, epidemiológicos e parasitismo de peixes como ferramentas de análise ambiental.....	61
Resumo.....	61
Abstract.....	61
Introdução.....	62
Materiais e Métodos.....	63
Resultados.....	69
Discussão e Conclusão.....	79
Referências Bibliográficas.....	87
CONCLUSÃO.....	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92
ANEXO I - Gráficos de precipitação diária no município de Vargem, SP, nos anos de 2001 e 2002.....	97
ANEXO II - Copepods naturally infected by metacestodes in a Reservoir in São Paulo State, Brazil.....	98
ANEXO III – Índices de diversidade e similaridade dos parasitos de <i>Geophagus brasiliensis</i> nos reservatórios do Jaguari e Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002.....	110

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Geophagus brasiliensis</i>	7
Cadeia de relações tróficas de <i>Geophagus brasiliensis</i>	8
Reservatório do Jaguari e respectivos pontos de coleta.....	11
Reservatório do Juqueri e respectivos pontos de coleta.....	15
Imagem de satélite do Sistema Cantareira.....	18
Disposição das redes a partir da margem do reservatório.....	19

Metacercárias de <i>Clinostomum</i> sp. (pontos pretos) na superfície do corpo e nadadeiras de <i>Geophagus brasiliensis</i>	25
Varição da prevalência e da intensidade média de infecção de metacercária de <i>Clinostomum</i> sp. em <i>Geophagus brasiliensis</i> nos reservatórios do Jaguari e do Juqueri, entre novembro de 2001 e setembro de 2002.....	25
Intensidade média de infecção por metacercária de <i>Clinostomum</i> sp. por pontos de coleta no reservatório do Juqueri.....	26
Perfil do Sistema Cantareira.....	35
Ancyrocephalinae parasito de brânquias de <i>Geophagus brasiliensis</i>	37
Varição da prevalência e da intensidade média de infecção de Ancyrocephalinae em <i>G. brasiliensis</i> nos reservatórios do Juqueri e Jaguari entre setembro de 2001 e setembro de 2002. - tracejado: variação no índice de armazenamento do Sistema Cantareira entre setembro de 2001 e setembro de 2002.....	38
Aglomerado de metacestódeos de Proteocephallidea.....	49
Varição da taxa de prevalência das larvas de proteocefalídeo em <i>G. brasiliensis</i> nos reservatórios do Juqueri e Jaguari entre novembro de 2001 e setembro de 2002.....	50
Metacestódeo de Cyclophyllidea.....	51
Varição da prevalência e da intensidade média de infecção das larvas de ciclofilídeos em <i>G. brasiliensis</i> nos reservatórios do Juqueri e Jaguari entre janeiro e setembro de 2002.....	52
<i>Procamallanus peraccuratus</i>	53
Varição da prevalência e da intensidade média de infecção por <i>Procamallanus peraccuratus</i> em <i>G. brasiliensis</i> no reservatório do Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002.....	54
Varição da prevalência dos parasitos encontrados em <i>Geophagus brasiliensis</i> nos reservatórios do Jaguari e do Juqueri, entre setembro de 2001 e setembro de 2002. a) Ancyrocephalinae; b) <i>Contracaecum</i> sp.; c) Metacercária de <i>Clinostomum</i> sp.; d) <i>Procamallanus peraccuratus</i> ; e) metacestódeo de Cyclophyllidea; f) metacestódeo de Proteocephallidea.....	70
Varição da intensidade média de infecção dos parasitos encontrados em <i>Geophagus brasiliensis</i> nos reservatórios do Jaguari e do Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002. a) Ancyrocephalinae; b) <i>Contracaecum</i> sp.; c) Metacercária de <i>Clinostomum</i> sp.; d) <i>Procamallanus peraccuratus</i> ; e) metacestódeo de Cyclophyllidea.....	71
Varição por coleta dos índices de diversidade dos helmintos parasitos de <i>Geophagus brasiliensis</i> nos reservatórios do Jaguari (a) e Juqueri (b), entre setembro de 2001 e setembro de 2002.....	72
Coefficientes de associação pareada – reservatório do Jaguari e Juqueri. anc – Ancyrocephalinae; csp – <i>Contracaecum</i> sp.; cyc – Cyclophyllidea; met – metacercária; ppe – <i>Procamallanus peraccuratus</i> ; pro – Proteocephallidea.....	73
 ÍNDICE DE PRANCHAS	
Reservatório do Jaguari, Vargem, SP.....	12

Reservatório do Juqueri, Mairiporã, SP.....	16
---	----

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS

Helmintos parasitos encontrados em <i>Geophagus brasiliensis</i>	8
Correlação entre a prevalência, a intensidade média de infecção por - metacercária de <i>Clinostomum</i> sp. e parâmetros biológicos de <i>Geophagus brasiliensis</i> e os parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri.....	27
Correlação entre a prevalência, a intensidade média de infecção por Ancyrocephalinae, parâmetros biológicos de <i>Geophagus brasiliensis</i> e parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri.....	39
Porcentagem de <i>Geophagus brasiliensis</i> parasitados por metacestódeos de Proteocephalidea, por categorias de intensidade média de infecção.....	49
Correlação entre a prevalência por metacestódeo Proteocephallidea, parâmetros biológicos de <i>Geophagus brasiliensis</i> e parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri.....	50
Correlação entre a prevalência, a intensidade média de infecção por metacestódeo Cyclophyllidea, parâmetros biológicos de <i>Geophagus brasiliensis</i> e parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri.....	53
Correlação entre a prevalência, a intensidade média de infecção por <i>Procamallanus peraccratus</i> , parâmetros biológicos de <i>Geophagus brasiliensis</i> e parâmetros ambientais no reservatório do Juqueri.....	55
Prevalência e intensidade média de infecção dos helmintos parasitos de <i>Geophagus brasiliensis</i> nos reservatórios do Jaguari e Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002. P – nível de significância – Teste de comparação de médias de Duncan.....	74
Resultados do teste de comparação múltipla de médias de Duncan entre variações por coleta das prevalências e intensidades médias de infecção dos helmintos parasitos de <i>Geophagus brasiliensis</i> nos reservatórios do Jaguari e Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002.....	74
Teste de comparação múltipla de médias de Duncan entre os pontos de coleta para prevalências e intensidades médias e infecção por metacercária de <i>Clinostomum</i> sp. de <i>Geophagus brasiliensis</i> nos reservatórios do Jaguari e Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002.....	75
Teste “U” de Mann-Whitney entre as variações das prevalências e intensidades médias de infecção dos helmintos parasitos encontrados em <i>Geophagus brasiliensis</i> entre os reservatórios do Jaguari e do Juqueri, de setembro de 2001 a setembro de 2002.....	75
Correlação linear de Pearson (r) entre as prevalências dos helmintos parasitos de <i>Geophagus brasiliensis</i> estudados, os parâmetros biológicos do peixe hospedeiro (peso e comprimento) e os parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri, entre setembro de 2001 e setembro de 2002.....	77
Correlação linear de Pearson (r) entre as intensidades médias de infecção dos helmintos parasitos de <i>Geophagus brasiliensis</i> estudados, os parâmetros biológicos do peixe hospedeiro (peso e comprimento) e os parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri, entre setembro de 2001 e setembro de 2002.....	78

RESUMO

Alguns parasitos de peixes podem ser utilizados como indicadores da qualidade e saúde ambiental. Por fazerem parte de uma complexa cadeia de relações os hospedeiros intermediários e paratênicos, geralmente pequenos e delicados, variam seus níveis populacionais conforme o tipo de poluente refletindo em alterações do parasitismo em peixes. A escolha de uma espécie de peixe como bio-indicador é fator fundamental para a correta utilização dessa ferramenta de análise ambiental.

Neste trabalho foram comparados os parasitismos do peixe *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae, Perciformes) em dois reservatórios com diferentes níveis de influência antrópica e eutrofização. Foram verificados os helmintos parasitos cavitários, teciduais e de brânquias. Foram calculados os índices de diversidade de Simpson e de Shannon, o índice de uniformidade de Hill, os coeficientes de associação de Jaccard, de Dice e de Ochiai e as variações nas taxas de prevalência e intensidade média de infecção. Para o modelo adotado, os índices que melhor refletiram a influência do tipo de ambiente e as variações ocasionadas dentro destes ambientes foram a prevalência e a intensidade média de infecção. Os resultados obtidos com os índices de associação demonstraram a independência das relações entre os helmintos parasitos encontrados. Através dos cálculos das prevalências e intensidades médias de infecção os parasitos podem ser utilizados como indicadores de alterações ambientais (metacercárias de *Clinostomum* sp. e Ancyrocephalinae) e indicadores faunísticos em ambientes distintos (metacestódeos de Proteocephalidea e Cyclophyllidea e o nematódeo *Procamallanus peraccuratus*). Foram encontradas também larvas de *Contracaecum* sp. cujos resultados não foram suficientes para uma conclusão sobre o seu papel como indicador ambiental.

ABSTRACT

Some parasites of fishes can be utilized as indicators of water quality and environmental health. As intermediate and paratenic hosts, generally small and delicate, belonging to a complex relationship chain, they must vary their population in accordance to the variety of pollutant, reflects in alteration of parasitism in fishes. The choice of the fish specie as bio-indicator is a essential factor to a correct utilization as tool of environmental analysis.

In this work, it was compared the parasitism of *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae, Perciformes) in two reservoir with different levels os antropic influence and eutrophication. The cavities, tissular and gill helminths parasites were verified. The Simpson's and Shannon's diversity indices, the Hill's evenness index, the Jaccard's, Dice's and Ochiai's interespecific association indices and the variations in prevalence and mean intensity of infection were calculated. To the model adopted the indices that better reflected the influence of environmental type and the variations that occurred inside the environment were the prevalence and intensity of infection. The interespecific association indices demonstrate the independence of relations among the helminths parasites. Through the estimate of prevalence and mean intensity of infection indices, the parasites can be utilized as indicators of environmental changes (metacercariae of *Clinostomum* sp. and Ancyrocephalinae) and faunistics indicators of distincts environments (metacestodes of Proteocephalidea and Cyclophyllidea and the nematode *Procamallanus peraccuratus*). Larvae of *Contracaecum* sp. were also found, whose resulting were not sufficient to a conclusion about its function as environmental indicator.

INTRODUÇÃO

O grau de diversidade biológica é frequentemente utilizado como um indicador da saúde do sistema ecológico. É de consenso geral que qualquer distúrbio no habitat demonstra uma alteração na diversidade. Essa visão pode ser aplicada para analisar a biodiversidade de uma comunidade parasitária. A diversidade parasitária em peixes hospedeiros é, por essa razão, diretamente dependente do grau de diversidade do habitat e pode ser empregado como um monitor altamente sensível para detectar as alterações na biodiversidade, que caracterizam os habitats afetados pela poluição (D'AMELIO & GERASI, 1997; GELNAR *et al.*, 1997).

Vários estudos têm demonstrado os efeitos negativos de descarga de efluentes sobre os peixes. Alguns marcadores são utilizados para avaliar a extensão desses efeitos nos peixes: alterações no metabolismo de carboidratos (ANDERSSON *et al.*, 1988), níveis de enzimas hepáticas desintoxicantes (PORTER *et al.*, 1989; MCMASTER *et al.*, 1991; BRUMLEY *et al.*, 1998), alterações histopatológicas (BARKER *et al.*, 1994; KHAN *et al.*, 1994), atividades de enzimas metabólicas das brânquias (GAGNON & HOLDWAY, 1999), alterações no nível de acetilcolinesterase muscular (PAYNE *et al.*, 1996) e na prevalência e/ou intensidade dos parasitos (KHAN & THULIN, 1991; MACKENZIE *et al.*, 1995; KHAN & PAYNE, 1997).

Os parasitos são indicativos de muitos aspectos da biologia de seus hospedeiros, incluindo dieta, migração, "recrutamento", desagregação de população e filogenia. Parasitos com ciclos de vida complexos tem a sua transmissão dependente da presença de uma variedade de hospedeiros intermediários invertebrados ou vertebrados, hospedeiros paratênicos e definitivos dentro do ecossistema (ANDERSON, 1988). A transmissão freqüentemente ocorre pela relação predador-presa, por isso os parasitos

dependem, e são indicativos, de interações tróficas e de estruturas de cadeia alimentar.

Tendo os parasitos como indicadores da biologia do hospedeiro, de contaminantes ambientais e estrutura de cadeia alimentar, a comunidade parasitária de peixes pode ser um bom demonstrativo de estresse ambiental e biodiversidade (CHUBB, 1980 e 1982; OVERSTREET, 1997). Bons indicadores podem ser excepcionalmente sensíveis às modificações ambientais, e as alterações significativas no número de indivíduos nas populações podem ser utilizadas como um alerta das condições deteriorantes, antes da maioria dos organismos menos sensíveis serem seriamente afetados (MACKENZIE *et al.*, 1995)

Os estágios de vida-livre dos parasitos, assim como os hospedeiros intermediários invertebrados, componentes do zooplâncton, são geralmente pequenos e delicados e podem ser sensíveis às condições ambientais.

Determinação de bio-indicadores

Quando um peixe hospedeiro é apropriadamente selecionado a análise de seus parasitos oferece um econômico, proveitoso e confiável indicador ou monitor das condições de saúde ambiental. Os valores dessas informações aumentam quando corroboradas por outras técnicas não parasitológicas (OVERSTREET, 1997). A utilização de parasitos de peixes como indicadores de contaminação ambiental torna-se uma área de pesquisa complexa por causa da dificuldade de associar os níveis de população parasitária com poluição, sem considerar um grande número de fatores abióticos e bióticos que possam provavelmente estar envolvidos (MACKENZIE *et al.*, 1995)

Além disso, diferentes contaminantes antropogênicos atuam de distintas maneiras em relação ao hospedeiro, ao parasito, e entre eles, assim como são influenciados por condições ambientais. Os valores totais para todas as

espécies parasitas, infectando um determinado hospedeiro indicador, não precisam ser necessariamente agrupados conjuntamente. Por exemplo, a prevalência de uma determinada espécie parasita pode indicar a salubridade ou a insalubridade ambiental, sem necessariamente ser dependente da prevalência de outra espécie parasita. Essa infecção, e a época escolhida para a coleta e exame, pode indicar o estado crônico ou agudo da saúde ambiental. Para esse tipo de análise o hospedeiro indicador deve ser aquele que tenha um espectro de dispersão restrito, que possa ser infectado por numerosas espécies de parasitos, muitos dos quais presentes em uma variada gama de hospedeiros e possa ser prontamente amostrado.

De acordo com OVERSTREET (1997) e SURES (2004) os critérios utilizados para selecionar um peixe hospedeiro são:

- A. **Peixe com restrito “home range”.** Peixes que possuam uma área pequena ou bem definida na qual passem a maior parte do tempo, pois em peixes migradores ou sem localização definida dificilmente se apontará o local onde se adquiriu o parasitismo.
- B. **Peixe capaz de servir como hospedeiro para um número relativamente grande de espécies parasitas.** Preferencialmente que albergam parasitos que, em seu ciclo de vida, possuam uma variedade grande de hospedeiros.
- C. **Peixe comum, abundante e de fácil amostragem.** Peixes de fácil identificação e de ampla distribuição territorial facilitam a comparação entre diversas áreas.
- D. **Peixe com tamanho relativamente pequeno.** Peixes menores tornam o processo de coleta dos parasitos menos trabalhoso que efetuar buscas em peixe de tamanho grande, pois esses demandam muito tempo para exame e apresentam maiores dificuldades para a obtenção de dados histológicos.

Ainda segundo OVERSTREET (1997), os requisitos para um parasito ser considerado indicador em local contaminado são:

- I. **Riqueza de parasitos heteroxênicos, de preferência com mais de um hospedeiro intermediário e/ou paratênico em seu ciclo.** Parasitos heteroxênicos freqüentemente ocorrem em baixo número em ambientes contaminados. Isso ocorre porque os contaminantes reduzem ou eliminam outros hospedeiros, intermediários ou finais, do ciclo destes parasitos ou porque os contaminantes tem efeito tóxico diretamente sobre o parasito.
- II. **Informações biológicas e epidemiológicas sobre os ciclos para indicar biodiversidade.** Essa ferramenta requer conhecimento adicional sobre a “história de vida” do parasito. Valores de prevalência e intensidade média de infecção de um parasito específico em diferentes localizações demonstram as diferentes “naturezas” desses habitats em termo de invertebrados de vida-livre e hospedeiros vertebrados.
- III. **Informações epidemiológicas sobre os parasitos que se reproduzem no hospedeiro (internos e externos).** Esta e a próxima ferramenta se referem a dados obtidos para o parasito em ambiente altamente contaminado. A razão para a alta intensidade de infecção pode envolver uma diminuição da resistência ou imunidade do hospedeiro, aumento na fonte de nutrição para o parasito ou interação com outros agentes microbianos infectantes.
- IV. **Alterações histopatológicas relativas à infecção por parasitos e do estresse de contaminação.** Os contaminantes podem trazer diminuição na resistência do hospedeiro, permitindo ao parasito se reproduzir e prosperar. Alterações histopatológicas, como necroses ou outro tipo de alteração, provocadas por queda na resistência, servem como fonte nutricional para os parasitos se reproduzirem. Isso ocorre, na maioria das

vezes, com protozoários histozóicos e menos freqüentemente com parasitos externos e internos.

A utilização das quatro abordagens relatadas acima em amostragens simples (apenas um ponto amostrado) deve ser feita em locais cuidadosamente selecionados onde se possa comparar as alterações no parasitismo e outros dados como mudanças na qualidade da água ou efluentes bem como mudanças no tempo. O local precisa ser previamente bem estudado e sua “rotina de base” conhecida, isto é, como atua o parasitismo em condições normais sem a presença ou alterações drásticas dos efluentes. Para essa determinação ser mais precisa, amostras de jovens e adultos dos peixes hospedeiros devem ser capturadas pelo menos periodicamente, para serem examinados e assim estimar quando um parasito específico foi ou não foi adquirido.

Muitos fatores complicadores envolvendo os parasitos indicadores, como local de coleta, flutuações sazonais, variedade de efluente, são interrelacionados ou associados com os critérios estabelecidos para um bom modelo de peixe hospedeiro (OVERSTREET, 1997; DICK, 1998; SCHLENK, 1999). Para evitar que esses fatores influenciem os resultados de análise de qualidade ambiental deve-se utilizar um ou mais locais de referência apropriado para comparação. Podem ser geralmente na mesma área, utilizando sempre o mesmo modelo de peixe hospedeiro e, se possível, os mesmos fatores para comparação (profundidade, salinidade, vegetação). As flutuações sazonais naturais de um determinado parasito também podem influenciar na leitura dos dados, especialmente quando o parasito é de vida curta e a biota está sendo avaliada. Se apenas uma coleta for planejada é ideal que seja no período sazonal em que a abundância do parasito esteja alta no local de referência escolhido. Efluentes antropogenicamente aquecidos podem aumentar a produção de estágios infectantes para o peixe quando comparado a uma área normalmente não aquecida. As condições ambientais atípicas ou extremas

como inundação, furacão, congelamento atípico, extenso período de chuvas ou secas podem produzir dados enganosos, especialmente quando comparados com dados obtidos ano-a-ano ou em longo prazo. O efeito de algumas substâncias tóxicas em um peixe podem aumentar, ou de outra maneira influenciar, na presença de um parasito específico, e vice-versa. Os interrelacionamentos entre parasitos podem produzir o aumento ou a diminuição de indivíduos ou de espécies. E finalmente, se o peixe hospedeiro possui uma vasta dispersão poderá adquirir ou perder algumas espécies de parasitos distante dos locais de amostragem (OVERSTREET, 1997).

A escolha de épocas adequadas para coletas mostra-se importante para retificar muitos dos problemas potenciais, resultantes dos fatores relacionados às condições ambientais. Como indicado anteriormente, pontos envolvendo critérios de hospedeiro também podem ser uma fonte de erros e dados corrompidos. Os principais pontos determinantes para parasitos indicadores podem ser a ausência de certas espécies, a presença ou variações na intensidade de outras e ainda a resposta patológica para alguns parasitos.

***Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard 1824) (Perciformes, Cichlidae)**

Baseado nos critérios estabelecidos anteriormente, foi selecionado para análise o peixe *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard 1824) (Perciformes, Cichlidae) (Figura 1) que é de ampla distribuição no território nacional, ocorrendo em águas interiores desde a bacia Amazônica e Orinoco até o Rio de La Plata. É muito abundante em rios e lagos na costa sudeste do Brasil, do Espírito Santo ao Rio Grande do Sul, até o Uruguai (GUIMARÃES, 1930a e 1930b; MAGALHÃES, 1931; AXELROD & SCHULTZ, 1955). Esse peixe é popularmente conhecido como caraúna, acaraua, acará, cará, acará-ferreira, e papa-terra, sendo esse último nome derivado do hábito de procurar comida no fundo do rio ou do lago.



Figura 1 - *Geophagus brasiliensis*

É peixe de importância comercial, vinculada ao aquarismo sendo uma espécie muito conhecida nesse meio (FROESE & PAULY, 2004) e não está na lista de animais ameaçados de extinção (IUCN, 2004).

Estudos realizados por vários autores sobre a biologia e hábitos alimentares, mostram que são peixes encontrados em locais de remansos, próximos ao fundo e se alimentam de lodos, algas e artrópodes, preferencialmente microcrustáceos e insetos (NOMURA & CARVALHO, 1972; UIEDA, 1984; COSTA, 1987; HÖFLING *et al*, 2001). WEINZETTL & JURBERG (1990) utilizaram *G. brasiliensis* como predador de *Biomphalaria tenagophila*, molusco transmissor da esquistossomose, em experimentos de controle biológico obtendo resultados satisfatórios. Nesse mesmo estudo, em análise de conteúdo estomacal de *G. brasiliensis* capturados em ambiente natural, foram encontrados moluscos de água doce do gênero *Littoridina*.

Esta espécie de peixe faz parte de uma cadeia de relações tróficas relativamente complexa, servindo de fonte alimentar para aves e mamíferos aquáticos assim como para outros peixes (Figura 2), atuando possivelmente

como hospedeiro intermediário e paratênico de várias espécies de helmintos parasitos (Quadro 1).

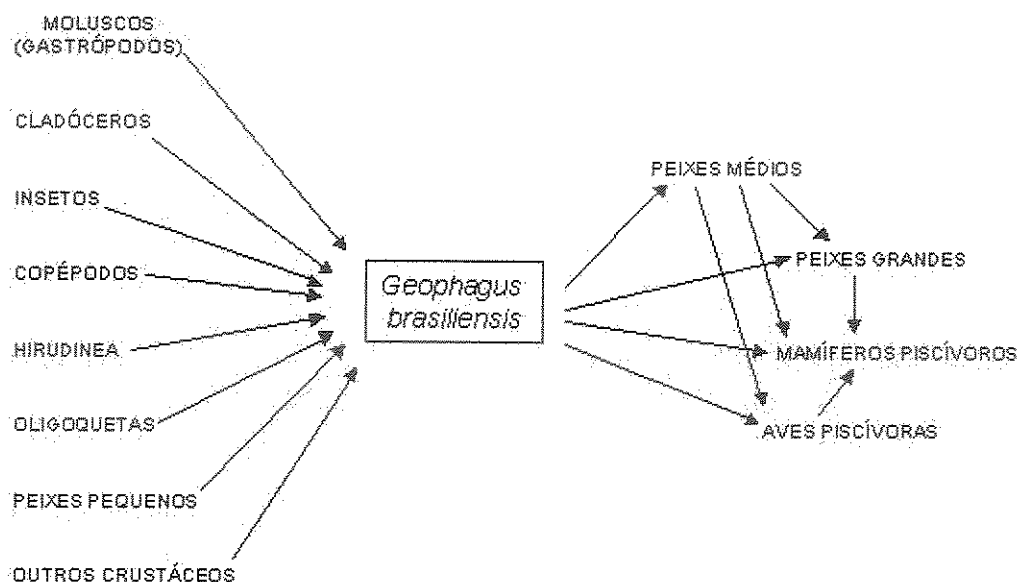


Figura 2 – Cadeia de relações tróficas de *Geophagus brasiliensis*

Quadro 1 – Helmintos parasitos encontrados em *Geophagus brasiliensis*

Parasito	Classe	Local	Referência
<i>Cosmoxynemoides aguirrei</i>	Nematoda	Intestino	Vicente <i>et al.</i> , 1985
<i>Procamallanus peraccuratus</i>	Nematoda	Intestino	Pinto & Noronha, 1976
<i>Contracaecum</i> sp. – larva L3	Nematoda	Cavidade do corpo	Kohn <i>et al.</i> , 1988
<i>Proteocephalus gibsoni</i>	Cestoda	Intestino	Rego <i>et al.</i> , 1999
Formas larvais de Proteocephalidea	Cestoda	Cavidade do corpo	Visualização pessoal
Formas larvais de Cyclophyllidea	Cestoda	Vesícula biliar	Visualização pessoal
<i>Gyrodactylus geophagensis</i>	Monogenea	Superfície do corpo	Boerger & Popazoglo, 1995
<i>Sciadicleithrum</i> sp.	Monogenea	Brânquias	Bellay <i>et al.</i> , 2004
Ancyrocephalinae	Monogenea	Brânquias	Visualização pessoal
Metacercária de <i>Clinostomum</i> sp.	Trematoda	Superfície do corpo	Visualização pessoal
<i>Crassicutis cichlasomae</i>	Trematoda	Intestino	Fernandes & Kohn, 2001

OBJETIVOS

Os objetivos gerais desse trabalho são:

- caracterizar o parasitismo do *Geophagus brasiliensis* em dois reservatórios com distintos níveis de influência antrópica e eutrofização;
- determinar a prevalência e a intensidade das infecções por helmintos parasitos mais comumente encontrados;
- verificar a possibilidade da utilização dos helmintos parasitos de *Geophagus brasiliensis* como indicadores de alteração ambiental;
- avaliar índices epidemiológicos, de diversidade e testes estatísticos na busca de um parâmetro simples que possibilite a utilização do parasitismo de *Geophagus brasiliensis* como indicador ambiental.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido em colaboração com o “Grupo de Pesquisa em Ecossistemas Aquáticos Sujeitos a Impactos Ambientais” da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (Processo IBAMA/MMA nº 02027.010578/01-65, Autorização IBAMA nº 011/2002 de 18 de fevereiro de 2002), dentro do projeto “Estudo da comunidade biológica dos reservatórios de Jaguari e Paiva Castro, Sistema Cantareira da SABESP”.

Áreas de estudo

1 - Reservatório do Jaguari (Figura 3 e Prancha 1)

O reservatório do Jaguari localiza-se na região sudeste do Estado de São Paulo, próximo a divisa do Estado de Minas Gerais (22°53'20" S e 46°24'49" W), a uma altitude de 845 m, e é resultante do represamento do rio Jaguari, bacia do rio Piracicaba.

Possui 6,893 km² de área e 34,245 km de perímetro, com uma profundidade média de 35m. O reservatório está margeado por propriedades rurais com vegetações rasteiras e raras manchas de vegetação arbórea. Possui apenas dois aportes de água: o próprio rio Jaguari e o ribeirão do Lopo. Pode ser considerado oligomesotrófico (SALAS & MARTINO, 1991) ou predominantemente eutrófico, com algumas ocorrências de águas oligotróficas (RIBEIRO NETO, 2003). Os valores médios anuais da temperatura da água variaram entre 18,8 e 27,0°C, o pH entre 5,05 e 7,20, o oxigênio dissolvido entre 7,4 e 9,4 mg/L, a turbidez entre 2,0 e 27,0 NTUs e a condutividade entre 23,0 e 32,0 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$. O clima da região é caracterizado como sub-tropical com períodos quentes e úmidos (outubro a abril), alternando com períodos frios e secos (maio a setembro).

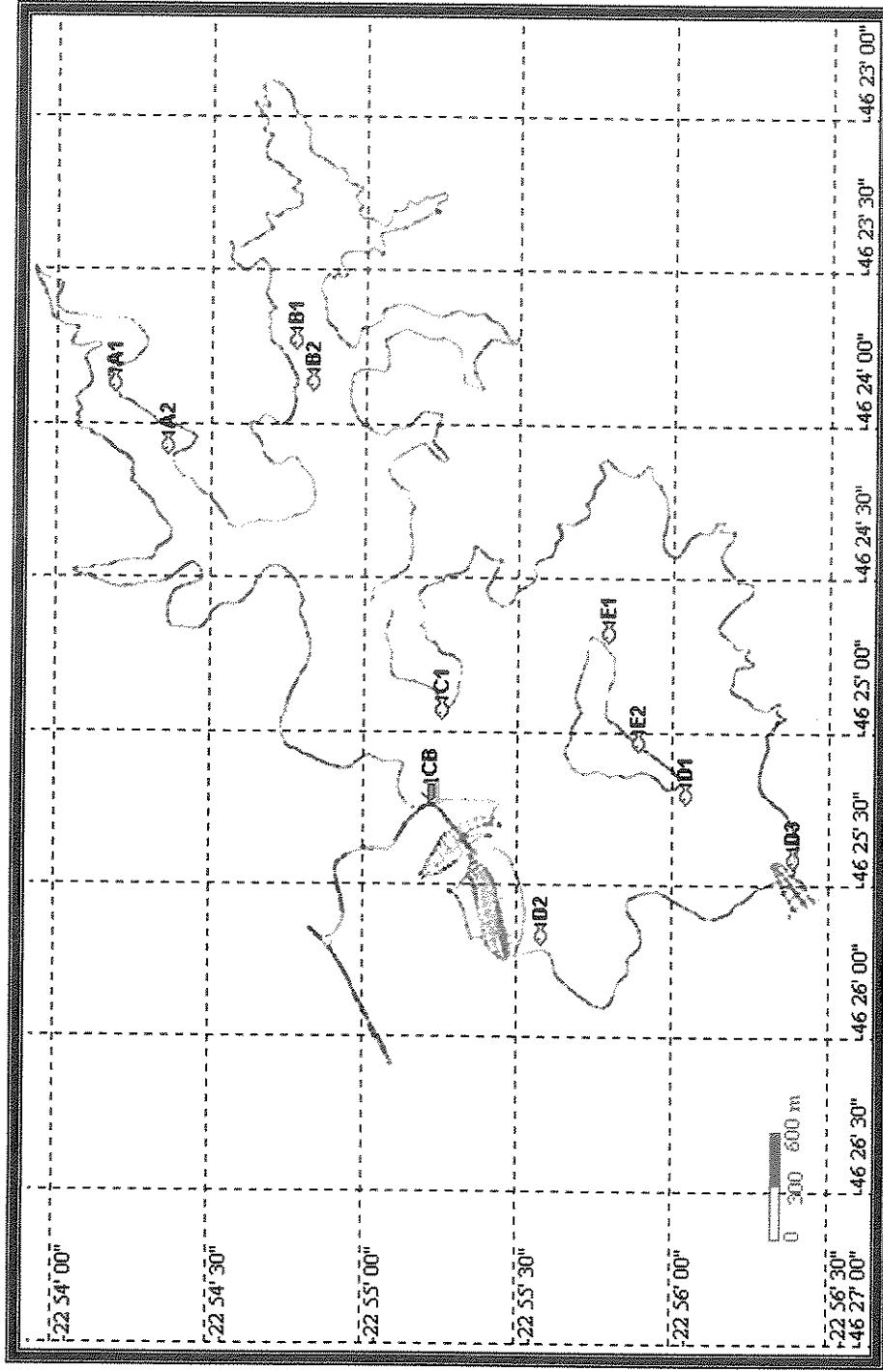
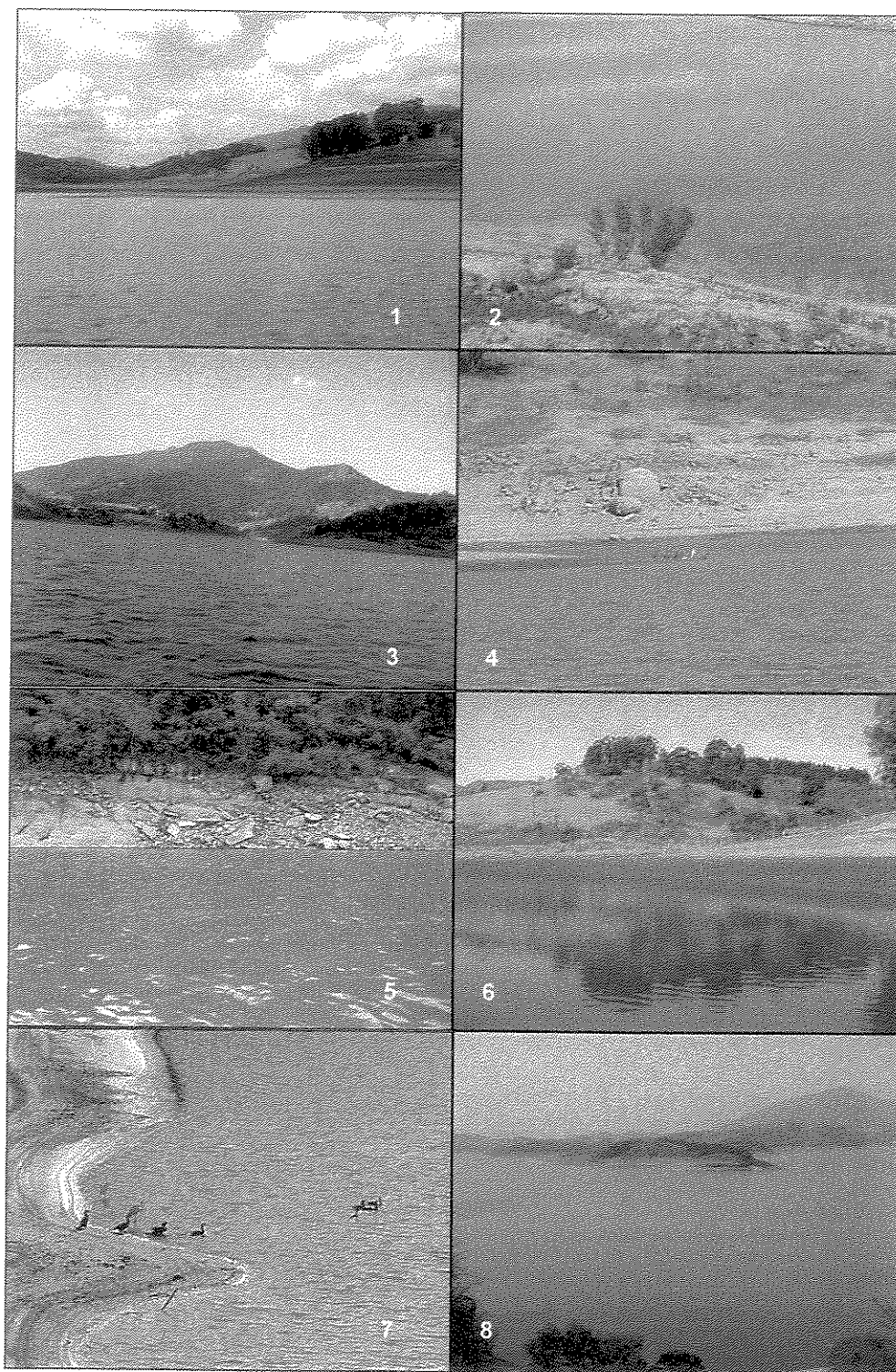


Figura 3 – Reservatório do Jaguari e respectivos pontos de coleta (CB – casa de barcos)..



Prancha 1 – Reservatório do Jaguari, Vargem, SP (legendas na próxima página; fotos Rubens R. Madi).

Vistas do reservatório do Jaguari nos setores estudados:

- 1 – margem do reservatório entre os setores B (à esquerda da foto) e C;
- 2 – terra e areia em suspensão a partir da margem entre os setores C (à esquerda da foto) e D;
- 3 – setor B;
- 4 – areia e pedras das margens defronte ao ponto E1;
- 5 – paredão rochoso do ponto E2 na ilha;
- 6 – deslocamento da linha d'água na margem do ponto A2;
- 7 – margem de areia próximo à casa de barcos – setor C;
- 8 – vista geral do corpo do reservatório e da ilha à partir do ponto D3.

2 - Reservatório do Juqueri (Figura 4 e Prancha 2)

Localiza-se na região sudeste do Estado de São Paulo (23°19'07" S, 46°35'12" W), a uma altitude de 745 m, e é resultante do represamento do rio Juqueri, bacia do Alto Tietê.

Possui 3,490 km² de área, 28,772 km de perímetro e uma profundidade média de 12 m. Inicia-se no centro urbano do Município de Mairiporã, estendendo-se por 9,5 km até ultrapassar o limite municipal com Franco da Rocha. O início do reservatório é assoreado (setor A - profundidade média de 0,8 m), apresentando várias manchas de macrófitas (*Eichhornia* sp. e *Echinochloa* sp.), e a medida que se afasta da cidade a profundidade vai aumentando. À margem esquerda está a rodovia SP-23 (Mairiporã-Franco da Rocha) e caracteriza-se por vegetações rasteiras, alguns pontos com arbustos e outros com pinheiros e eucaliptos. A margem direita apresenta grandes trechos de mata preservada, com algumas residências relativamente integradas à vegetação e outras construídas muito próximas à água. Possui vários aportes de água e de dejetos antrópicos. Pode ser classificado entre mesotrófico e eutrófico (SALAS & MARTINO, 1991) ou predominantemente eutrófico, variando de mesotrófico a hipereutrófico (RIBEIRO NETO, 2003). Os valores médios anuais da temperatura da água variaram entre 20,2 e 26,9°C, o pH entre 5,70 e 8,24, o oxigênio dissolvido entre 6,26 e 8,90 mg/L, a turbidez entre 5,0 e 270,0 NTUs e a condutividade entre 27,0 e 44,0 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$.

Para este trabalho o reservatório do Jaguari foi considerado oligomesotrófico e o do Juqueri eutrófico.

Ambos os reservatórios foram criados para a captação de água para abastecimento e pertencem ao Sistema Cantareira sob administração da Sabesp (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo). Distam aproximadamente 100 km um do outro e estão interligados por túneis e canais entre os reservatórios do Jacareí, Cachoeira e Atibainha (Figura 5).

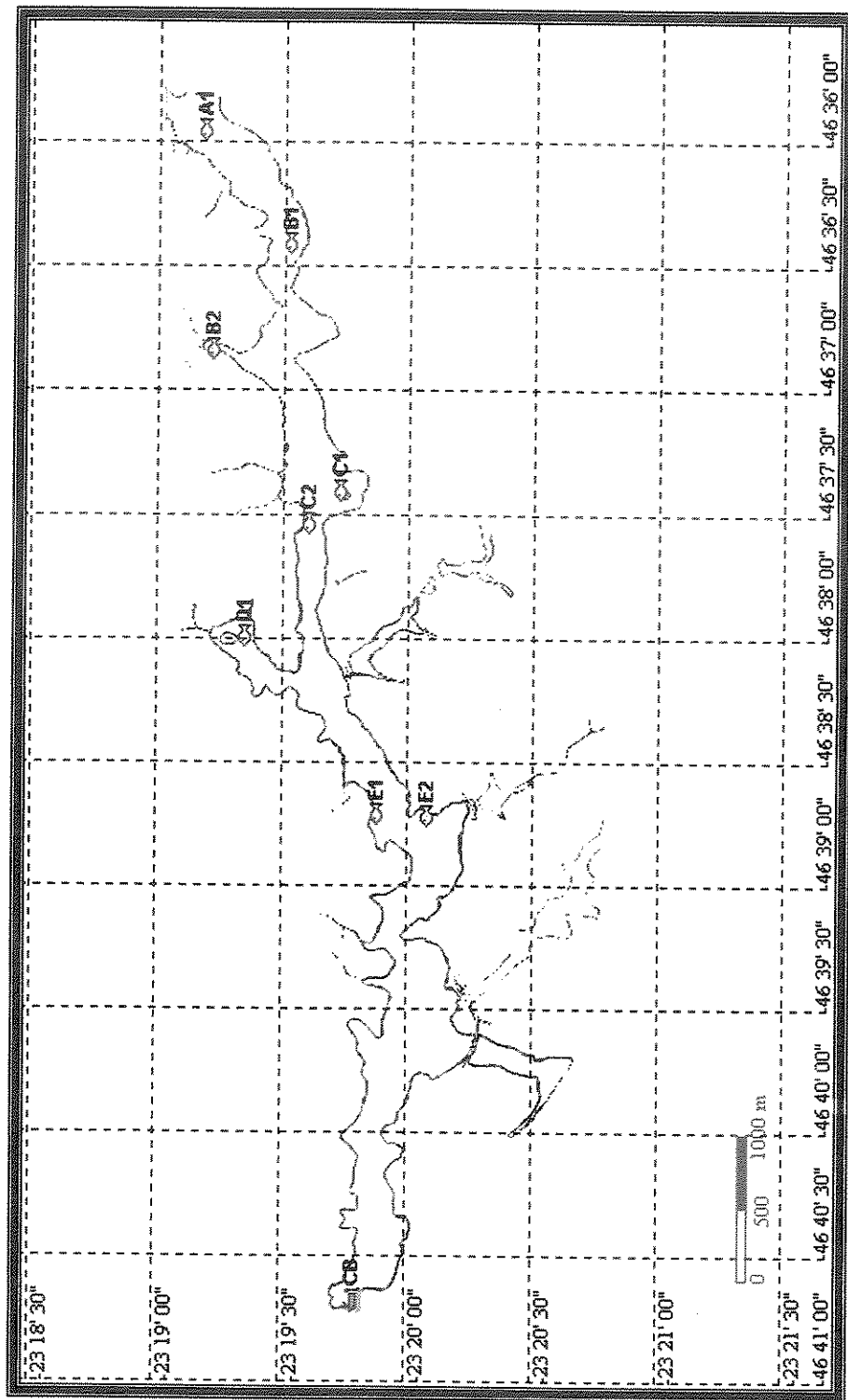
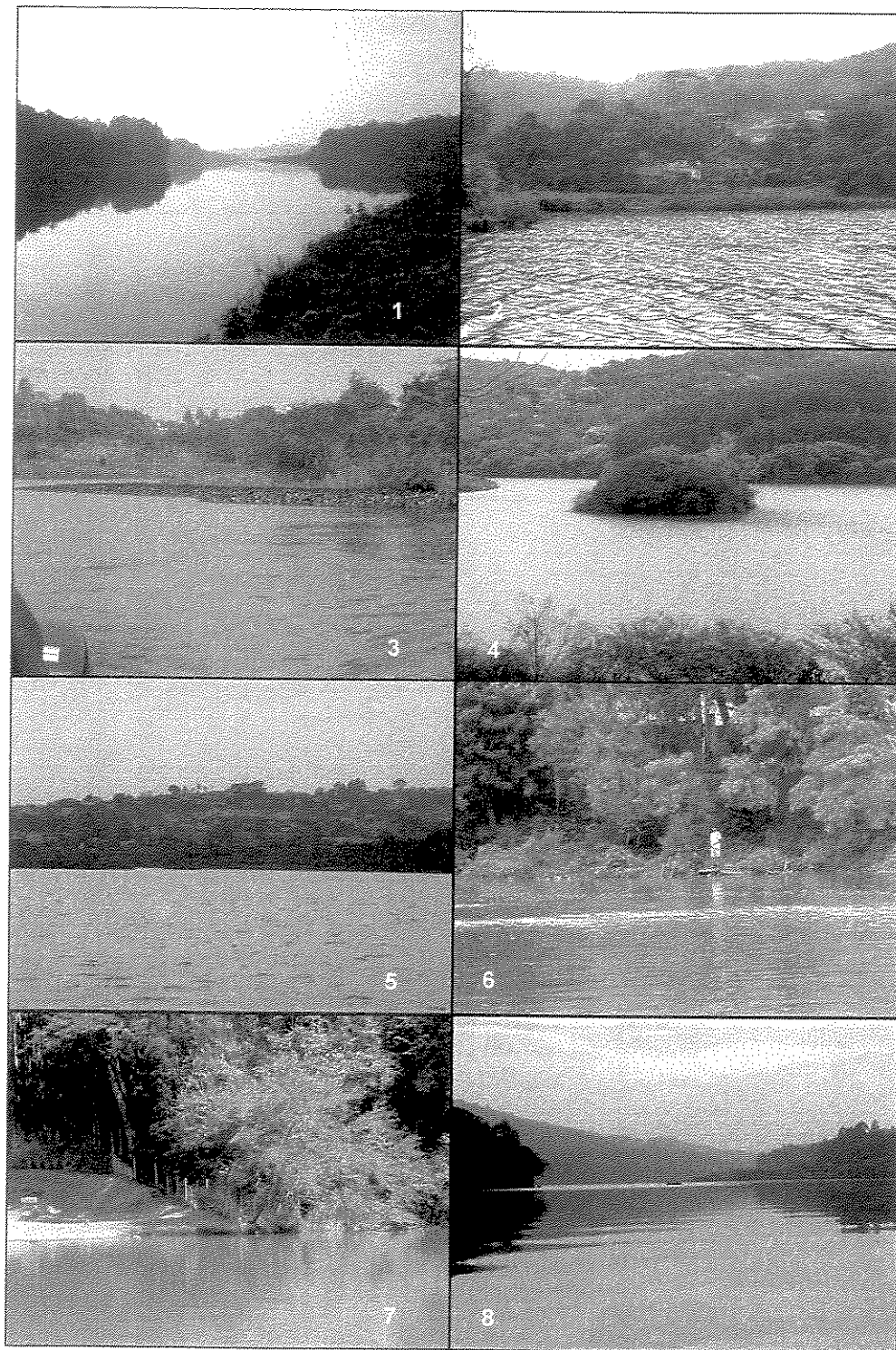


Figura 4 – Reservatório do Juqueri e respectivos pontos de coleta (CB – casa de barcos).



Prancha 2 – Reservatório do Juqueri, Mairiporã, SP (legendas na próxima página; fotos Rubens R. Madi).

Vistas do reservatório do Juqueri nos setores estudados:

- 1 – vista geral do reservatório à partir da casa de barcos (barragem);
- 2 – área de remanso, ponto D1;
- 3 – setor A, região assoreada e com manchas de *Eichhornia* sp.;
- 4 – vista geral do setor C;
- 5 – região entre o setor A (à esquerda da foto) e B, tendo ao fundo o município de Mairiporã, margeando o reservatório;
- 6 – uso do reservatório para fins de lazer pela população dos municípios de Mairiporã e Franco da Rocha;
- 7 – área de remanso, ponto B2;
- 8 – vista geral do setor E em direção à montante.



Figura 5 - Imagem de Satélite do Sistema Cantareira (1) Reservatório do Jaguarí; (2) Reservatório do Jacaré; (3) Reservatório de Cachoeira; (4) Reservatório do Atibainha e (5) Reservatório do Juqueri. (Fonte: a partir de MIRANDA, E. E. de; COUTINHO, A. C. (Coord.). "Brasil Visto do Espaço." Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2004. Disponível em: <http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br>).

Coletas

Para as coletas, bimensais, entre setembro de 2001 e setembro de 2002, os reservatórios foram divididos em setores onde foram determinados os pontos de coleta. Foram utilizadas redes de espera de 10 m de comprimento por 1,5 m de altura e com malhas de 15, 20 e 40 milímetros entre nós, respectivamente a partir da margem, dispostas lateralmente uma a outra (Figura 6). A quarta rede, de 70 mm, não foi considerada para este trabalho. As redes foram estendidas no período da tarde e recolhidas na manhã seguinte. Todos os pontos de coletas foram fixados com a utilização de um receptor GPS, para diminuir a margem de erro na recolocação das redes.

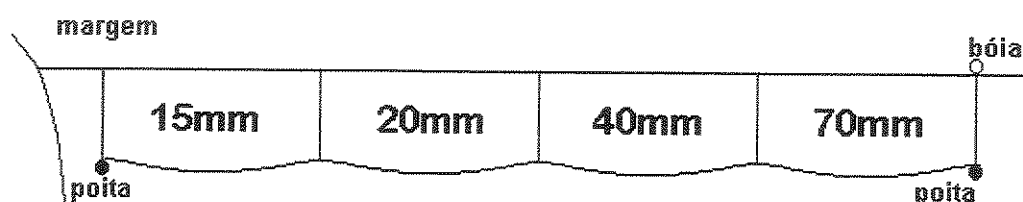


Figura 6 – Disposição das redes a partir da margem do reservatório.

Foram medidas temperatura, taxa de oxigênio dissolvido, pH, turbidez e condutividade da água (1,5 m) de todos os pontos de coleta, utilizando-se equipamentos de multianálise de água. A avaliação da transparência da água foi realizada utilizando-se um disco de Secchi de 20 cm de diâmetro.

Os exemplares de *Geophagus brasiliensis* coletados foram pesados e medidos (comprimento total).

As coletas e processamentos dos helmintos encontrados, assim como os cálculos dos índices epidemiológicos e de diversidade e as análises estatísticas estão descritos com detalhes nos capítulos seguintes.

RESULTADOS

Os resultados obtidos foram divididos em quatro capítulos.

Utilização de metacercárias de *Clinostomum* sp. (Trematoda; Clinostomidae) de *Geophagus brasiliensis* (Pisces; Cichlidae) como indicadores ambientais.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos comparar as variações na prevalência e na intensidade de infecção por *Clinostomum* sp. em *Geophagus brasiliensis*, em dois reservatórios de caracterizações tróficas distintas (reservatórios do Juqueri - eutrófico - e do Jaguari - oligomesotrófico) e verificar a viabilidade da utilização deste parasito como indicador ambiental. Através dos resultados de intensidade média de infecção obtidos pôde-se constatar a diferença nos níveis de eutrofização entre ambientes dentro do mesmo reservatório (áreas de remanso x corpo do reservatório), apresentando maior intensidade de infecção em ambientes mais eutróficos, concluindo-se que este parasito pode atuar como indicador de tipos de ambientes em relação à eutrofização.

ABSTRACT

The aims of this work was to compare the variations in prevalence and intensity of infection caused by metacercariae of *Clinostomum* sp. in *Geophagus brasiliensis*, in two reservoirs of distinct trophic characterization (reservoirs of Juqueri – eutrophic – and Jaguari – oligomesotrophic) and verify the viability of the utilization of this parasite as environmental indicator. Through the obtained results of mean intensity of infection the difference in levels of eutrophication among environments can be noted, inside the same reservoir (backwater areas x reservoir main part), showing higher intensity of infection in environments more eutrophics, conducting the authors to the conclusion that this parasite can act as indicator of types of environments in relation to eutrophication.

INTRODUÇÃO

A utilização do parasitismo como indicador ambiental necessita da correta escolha do peixe hospedeiro para as coletas de dados. Para este trabalho foi selecionado *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae; Perciformes) segundo critérios elaborados por OVERSTREET (1997) e corroborados por SURES (2004).

Entre os estudos neste sentido podem ser destacados os trabalhos enfocando o papel das metacercárias de trematódeos (CHUBB, 1979; KHAN & THULIN, 1991; DZIKOWSKI *et al.*, 2003; WETZEL & SHREVE, 2003; OGAWA *et al.*, 2004).

As metacercárias causam, em peixes, a chamada doença dos pontos pretos, amarelos ou brancos conforme a espécie presente. Sendo um parasito que se aloja na musculatura e nos órgãos em geral, pode causar grandes perdas em criação interferindo na qualidade e no aspecto da carne do pescado ou causando a morte do peixe, sendo assim uma doença de importância econômica (PAVANELLI *et al.*, 2002; VIANNA *et al.*, 2003).

Peixes albergando metacercárias, além de atuarem como expressivos indicadores de ambientes, podem se constituir em preocupação na área de saúde humana pelo potencial zoonótico, se ingeridos crus ou mal cozidos (KITAGAWA *et al.*, 2003).

Um dos trematódeos presentes em diversas partes do mundo é o *Clinostomum* sp. que, na fase larval, parasita peixes de água doce e, na fase adulta, aves aquáticas (DIAS *et al.*, 2003).

Este trabalho teve por objetivos comparar as variações na prevalência e na intensidade de infecção por *Clinostomum* sp. em *Geophagus brasiliensis*, em dois reservatórios de caracterizações tróficas distintas e verificar a viabilidade da utilização deste parasito como indicador ambiental.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas coletas bimensais entre novembro de 2001 e setembro de 2002 nos reservatórios do Jaguari (22°53'20" S e 46°24'49" W, altitude 845 m - oligomesotrófico) e do Juqueri (23°19'07" S, 46°35'12" W, altitude 745 m - eutrófico). Ambos os reservatórios foram criados para a captação de água para abastecimento e pertencem ao Sistema Cantareira sob administração da Sabesp (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo). Cada reservatório foi dividido em setores onde foram determinados os pontos de coleta.

Os peixes foram capturados utilizando-se redes de espera de malhagens variadas colocadas, à partir da margem, ao entardecer e retiradas na manhã do dia seguinte.

Foram medidas temperatura, taxa de oxigênio dissolvido, pH, turbidez e condutividade da água de todos os pontos de coleta, utilizando-se equipamentos de multianálise de água. A avaliação da transparência da água foi realizada utilizando-se um disco de Secchi de 20 cm de diâmetro.

Os exemplares de *Geophagus brasiliensis* coletados foram pesados, medidos (comprimento total), e observada, em microscópio estereoscópico, a superfície externa do peixe, incluindo as nadadeiras para a pesquisa e contagem de metacercárias. Alguns exemplares de metacercária foram isolados, o cisto arreventado e a larva fixada em líquido de Railliet-Henry. Em seguida realizou-se a coloração por carmin clorídrico (LANGERON, 1949).

Os cálculos da prevalência e intensidade média de infecção foram realizados a partir das definições apresentadas por BUSH *et al.* (1997).

Para as análises estatísticas dos dados obtidos, foi realizado o teste de comparação múltipla de médias de Duncan entre as prevalências totais e as intensidades médias de infecção entre os reservatórios, a comparação entre as variações das prevalências e das intensidades médias de infecção nas coletas,

em cada reservatório e a comparação entre as intensidades média de infecção em cada ponto de coleta, em cada reservatório; teste "U" de Mann-Whitney com aproximação normal para a comparação das variações das prevalências e das intensidades médias de infecção entre as coletas e entre os reservatórios e o teste de correlação linear de Pearson relacionando as prevalências, as intensidades de infecção, os parâmetros biológicos do peixe hospedeiro (peso e comprimento) e os parâmetros ambientais.

Os dados de intensidade média de infecção foram logaritimizados para as análises. Todos os testes foram aplicados com intervalo de confiança igual a 5%. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico SAS (SAS Inc., 1996). Para as análises de variância foi utilizado o procedimento PROC GLM e para a correlação foi utilizado o procedimento PROC CORR. O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi realizado com o auxílio do programa BioStat 2.0 (AYRES *et al.*, 2000).

RESULTADOS

Foram examinados 475 exemplares de *Geophagus brasiliensis*, sendo 247 do reservatório do Jaguari e 228 do reservatório do Juqueri.

As metacercárias de *Clinostomum* sp. (Figura 1) foram encontradas na superfície do corpo e nas nadadeiras de 16,60% dos peixes examinados no reservatório do Jaguari, com intensidade média de infecção de 11,34 ($\pm 22,30$) larvas/peixe, e em 85,09% dos peixes, com 14,83 ($\pm 20,88$) larvas/peixe, no reservatório do Juqueri. A prevalência total apresentou diferença significativa entre os reservatórios ($P < 0,0001$), ao contrário do que ocorreu com a intensidade média de infecção ($P = 0,3386$).

A variação bimensal da prevalência entre os reservatórios (Figura 2a) demonstrou diferença significativa [$Z(U) = 2,6112$ e $P = 0,0090$], porém o mesmo

não ocorreu para a variação bimensal da intensidade de infecção [$Z(U)=1,5667$ e $P=0,1172$] (Figura 2b).

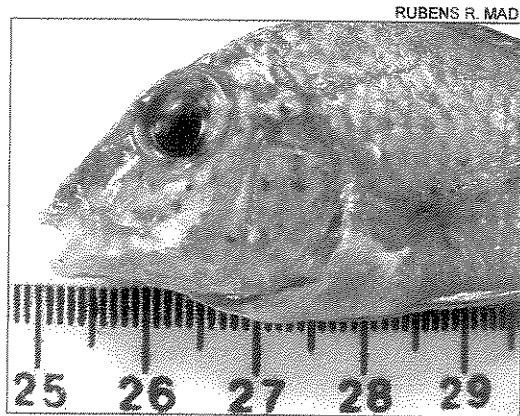


Figura 1 – Metacercárias de *Clinostomum* sp. (pontos pretos) na superfície do corpo e nadadeiras de *Geophagus brasiliensis*.

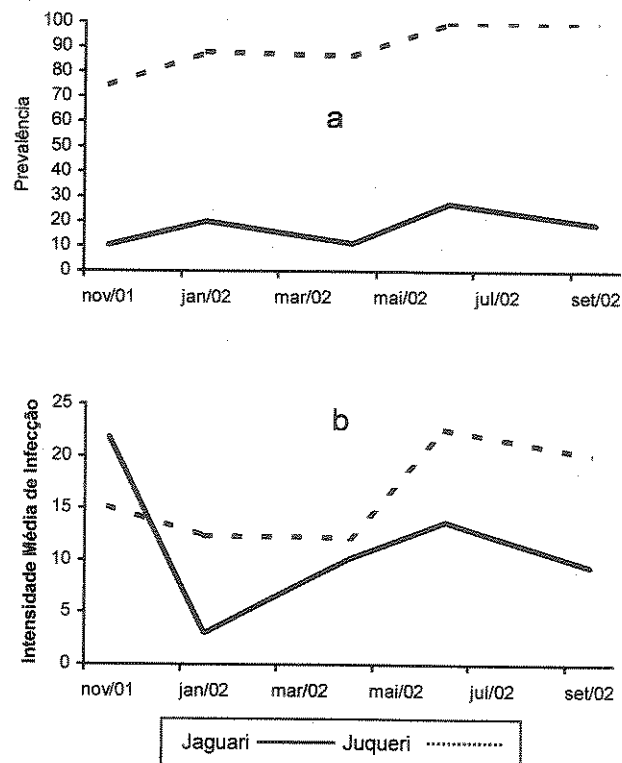


Figura 2 – Variação da prevalência (a) e da intensidade média de infecção (b) de metacercária de *Clinostomum* sp. em *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguari e do Juqueri, entre novembro de 2001 e setembro de 2002.

A variação da prevalência entre as coletas, dentro de cada reservatório, foi significativa no reservatório do Juqueri ($P=0,0064$) e não foi no Jaguari ($P=0,1177$) (Figura 2a). A variação da intensidade média de infecção entre as coletas, também em cada reservatório, foi significativa em ambos, sendo $P=0,0296$ para o reservatório do Jaguari e $P=0,0006$ para o Juqueri (Figura 2b).

No reservatório do Juqueri a intensidade média de infecção evidenciou diferença significativa entre os pontos de coleta ($P<0,0001$), destacando-se os pontos D1 e B2 que apresentaram as maiores intensidades médias de infecção por metacercárias 29,4 e 20,8 larvas/peixe respectivamente (Figura 3).

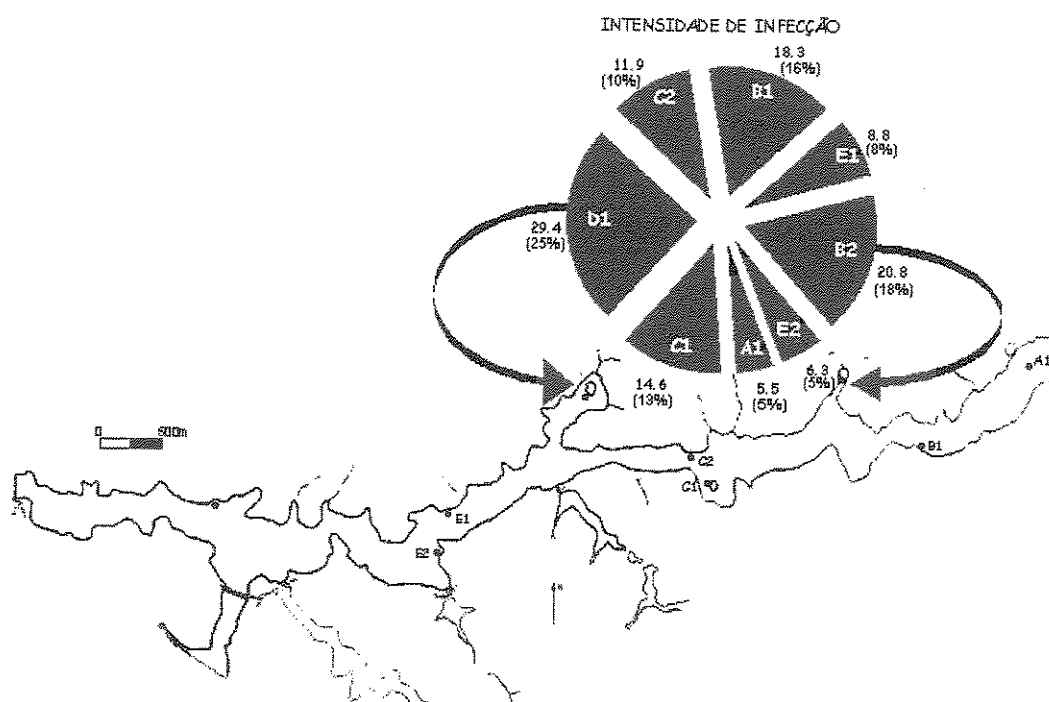


Figura 3 – Intensidade média de infecção por metacercária de *Clinostomum* sp. por pontos de coleta no reservatório do Juqueri. Em destaque os pontos que diferiram significativamente dos demais. Os dados do gráfico estão expressos em número médio de larvas/peixe e em parênteses a proporção em relação ao total da infecção.

Não foi significativa a diferença entre as intensidades médias de infecção por ponto de coleta no reservatório do Jaguari ($P=0,7863$).

Os resultados do teste de correlação de Pearson entre a prevalência, a intensidade média de infecção e os dados de parâmetros biológicos e ambientais estão expostos na Tabela 1, onde pode-se observar a correlação significativa para peso e comprimento em relação à prevalência no reservatório do Jaguari e em relação à intensidade de infecção no reservatório do Juqueri.

Tabela 1 – Correlação entre a prevalência, a intensidade média de infecção por - metacercária de *Clinostomum* sp. e parâmetros biológicos de *Geophagus brasiliensis* e os parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri.

	Reserv.	Peso	Comp	Secchi	T	PH	OD	Turb	Cond
Prevalência	Jaguari	0,36243*	0,35006	0,13728	-0,14412	-0,04955	0,19850	-0,02373	-0,04461
		0,0019**	0,0028	0,2536	0,2305	0,6816	0,0970	0,8443	0,7118
	Juqueri	0,20094	0,20520	-0,18924	-0,16335	-0,09446	0,31839	0,09641	0,12042
		0,1304	0,1223	0,1548	0,2205	0,4806	0,0149	0,4716	0,3679
Intensidade Média de Infecção	Jaguari	0,01850	0,17317	0,01956	0,10796	-0,08182	-0,31538	-0,00213	-0,16740
		0,9458	0,5213	0,9427	0,6906	0,7632	0,2341	0,9938	0,5355
	Juqueri	0,47589	0,50014	0,14713	-0,16387	-0,27916	0,31167	-0,27664	-0,26043
		0,0004	0,0002	0,3029	0,2505	0,0473	0,0260	0,0494	0,0649

Reserv. – reservatório; T – temperatura, OD – oxigênio dissolvido; Turb. – turbidez; Cond. – condutividade.

*r – coeficiente de correlação; **P – nível de significância

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

VALTONEN *et al.* (1997), em estudo sobre os efeitos da poluição e eutrofização em lagos na Finlândia, sugerem que a poluição afeta a prevalência e a abundância dos digenéticos, refletidas pela escassez de moluscos hospedeiros intermediários. OGAWA *et al.* (2004) relatam uma infecção maciça por metacercárias em peixes ciprinídeos no rio Uji (Japão), atribuindo essa epizootia à introdução acidental de moluscos hospedeiros intermediários.

A utilização de metacercárias como sentinelas para alterações limnológicas foi realizada por DZIKOWSKI *et al.* (2003) no lago Kinneret, Israel. Estes autores estudaram a variação na riqueza e diversidade de várias

espécies de metacercárias parasitas de três ciclídeos (*Tilapia zillii*, *Oreochromis aureus* e *Sarotherodon galilaeus*), comparando as coletas realizadas entre 1999 e 2001 com as realizadas entre 1982 e 1984. As variações das espécies de metacercárias encontradas foram atribuídas às mudanças ocorridas nas populações de moluscos que atuam como hospedeiros intermediários entre os períodos amostrados.

A prevalência maior de metacercárias no reservatório do Juqueri corrobora os achados de MÖLLER-BUCHNER (1981) e HIRSHFIELD *et al.* (1983), que afirmam que a presença das larvas de trematódeos - metacercárias - caracterizam um ambiente eutrofizado e com elevada produção primária líquida.

As altas intensidades médias de infecção por metacercária encontradas no reservatório do Juqueri coincidem com áreas de remanso e deságue de tributários na represa (Figura 3 - pontos B2 e D1). Nesses locais a quantidade de dejetos orgânicos é naturalmente maior, pois os riachos ao desaguardarem na represa encontram um ambiente lântico e a velocidade necessária para carrear os dejetos, e outros materiais em suspensão, decrescem consideravelmente ocorrendo então a sedimentação desse material e a alta concentração de nutrientes nas áreas de remanso. A elevada concentração de nutrientes promove o desenvolvimento de macrófitas e outros tipos de vegetação. Esses locais tornam-se ideais para a criação de invertebrados e, neste caso, moluscos hospedeiros intermediários do trematódeo (LEMLY & ESCH, 1985).

O reservatório do Jaguari não apresenta nenhuma área semelhante à descrita anteriormente, talvez por isso que tanto a intensidade média de infecção quanto a prevalência não apresentaram diferenças significativas entre os pontos de coleta, inclusive mantendo-se mais baixo nos dois índices em relação ao reservatório do Juqueri. Apenas um espécime de *Geophagus brasiliensis* coletado no reservatório do Jaguari (ponto D3) apresentou

intensidade média de infecção igual a 125 larvas/peixe, enquanto que a média geral para esse reservatório foi de 11,34 larvas/peixe.

A presença do hospedeiro definitivo também pode ser considerado um fator que afeta as variações nas intensidades das infecções. HUGGHINS (1957 *apud* CHUBB, 1979) relata o virtual desaparecimento da infecção de *Hysteromorpha triloba* (Trematoda) em moluscos *Gyraulus hirsutus* no lago Oakwood, EUA, devido ao abandono do local de nidificação pelo *Phalacrocorax auritus*, ave piscívora hospedeira definitiva deste trematódeo. Em observação de uma pequena população urbana do molusco *Cerithides californica*, isolada em um mangue circundado por uma movimentada rodovia, LAFFERTY (1993) reportou a ausência de aves aquáticas e a não infecção dos moluscos comparado com a prevalência de 25% encontrada no mangue adjacente, sugerindo que distúrbios ambientais afetam a prevalência de digêneas.

Nos locais de maior intensidade de infecção no reservatório do Juqueri (áreas de remanso), aves piscívoras, como garças (*Casmerodius albus* e *Egretta thula*), martins-pescadores (*Ceryle torquata* e *Chloroceryle americana*), biguás (*Phalacrocorax brasilianus*), biguatingas (*Anhinga anhinga*), estiveram sempre presentes em qualquer época do ano, diferentemente do que ocorreu no corpo do reservatório onde as aves espalhavam-se ao longo das margens.

Em relação à correlação positiva entre o peso e o comprimento de *Geophagus brasiliensis* e sua prevalência e intensidade de infecção por metacercária é proposto por CHUBB (1979), em estudos de aquisição e acumulação de parasitos somáticos de "vida-longa", que a idade é um componente relevante. A idade do peixe está diretamente relacionada com a quantidade de metacercárias incorporadas, pois há um tempo maior de exposição ao parasito. No presente trabalho não foi determinada a idade dos peixes.

Em revisão sobre a ocorrência sazonal de helmintos de peixes de água doce, CHUBB (1979) diz que alguns autores acreditam que a variação da

intensidade média de infecção de metacercária de trematódeos nos peixes e nas aves, está condicionada à temperatura ambiental, alterando seus índices de uma estação para outra. KHAN & THULIN (1991) afirmam que a intensidade do trematódeo strigeídeo *Ornithodiplostomum ptychocheilus*, o qual infecta cérebros e olhos, é maior em peixes que vivem em águas aquecidas por descarga térmica do que em outros coletados à temperatura ambiente. Conforme os dados apresentados na Tabela 1, não se pôde ratificar os resultados obtidos pelos autores acima citados, pois a temperatura não apresentou correlação significativa com a prevalência ou a intensidade de infecção

O reservatório do Juqueri apresenta um gradiente de concentração de material em suspensão sendo a montante do reservatório, uma região rasa e assoreada, com maior quantidade de material em suspensão decrescendo ao longo do reservatório, variando entre 270 NTUs (montante) e 5,0 NTUs (jusante). Apesar da turbidez e do oxigênio dissolvido apresentarem um nível de significância abaixo de 5%, os coeficientes de correlação foram muito baixos para se afirmar que estes fatores estão incisivamente influenciando na variação da prevalência e da intensidade de infecção.

Tendo em vista a diferença de níveis de eutrofização dentro do mesmo reservatório, reproduzidas na intensidade média de infecção por larvas de *Clinostomum* sp. em *Geophagus brasiliensis* nos diferentes pontos de coleta, e a diferença das prevalências entre os reservatórios, pode-se sugerir que as metacercárias atuaram como indicadores de tipos de ambientes em relação à eutrofização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayres, M.; Ayres Jr., M.; Ayres, D.L. & Santos, A.S. 2000. **BioEstat 2.0. Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas.** Sociedade Civil Mamirauá/MCT-CNPQ. Belém. xii+ 272 p.
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M. & Shostak, A.W. 1997. Parasitology meet ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. **J. Parasitol.** v. 83, n. 4, p. 575-583.
- Chubb, J.C. 1979. Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part II. Trematoda. **Adv. Parasitol.** v. 17, p. 141-313.
- Dias, M.L.G.G.; Eiras, J.C.; Machado, M.H.; Souza, G.T.R. & Pavanelli, G.C. 2003. The life cycle of *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1814 (Digenea, Clinostomidae) on the floodplain of the high Paraná river. **Parasitol. Res.** v. 89, p. 506-508.
- Dzikowski, R.; Diamant, A. & Paperna, I. 2003. Trematode metacercariae of fish as sentinels for a changing limnological environment. **Dis. Aquat. Org.** v. 55, n. 2, p. 145-150.
- Hirshfield, M.F.; Morin, R.P. & Hepner, D.J. 1983. Increased prevalence of larval *Eustrogyliodes* (Nematoda) in the mummichog, *Fundulus heteroclitus* (L.) from the discharge canal of power plant in the Chesapeake Bay. **J. Fish Biol.** v. 23, p. 135-142.
- Khan, R.A. & Thulin, J. 1991. Influence of pollution on parasites of aquatic animals. **Adv. Parasitol.** v.30, p. 201-238.
- Kitagawa, N.; Oda, M.; Totoki, T.; Washizaki, S.; Oda, M. & Kifune, T. 2003. Lidocaine spray used to capture a live *Clinostomum* parasite causing human laryngitis. **Am. J. Otolaryngol.** v. 24, p. 341-343.
- Lafferty, K.D. 1993. The marine snail, *Cerithidea californica*, matures at smaller sizes where parasitism is high. **Oikos.** v. 68, p. 3-11.
- Langeron, M. 1949. **Précis de microscopie.** 3 Vols. Brodard & Taupin, Paris. 1430p.
- Lemly, D.A. & Esch, G.W. 1985. Black-spotted caused by *Uvulifer ambloplitis* (Trematoda) among juvenile Centrarchids in the Piedmont area of North Carolina. **Proc. Helminthol. Soc. Wash.** v. 52, n. 1, p. 30-35.
- Möller-Buchner, V.J. 1981. Untersuchungen zum Parasitenbefall von *Pomatochistus microps* (Gobiidae, Pisces) in der Unterelbe. **Arch. für Hydrobiol.** v. 61, suppl., p. 59-83.
- Ogawa, K.; Nakatsugawa, T. & Yasuzaki, M. 2004. Heavy metacercarial infections of cyprinid fishes in Uji River. **Fish. Sci.** v. 70, n. 1, p. 132-140.

- Overstreet, R.M. 1997. Parasitological data as monitors of environmental health. **Parassitologia** v.39, p. 169-175.
- Pavanelli, G.C.; Eiras, J.C. & Takemoto, R.M. 2002. **Doenças de Peixes. Profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 2ª edição. EDUEM, Maringá. 305 p.
- SAS Institute Incorporation., 1996. **SAS User's Guide: Statistics**. Release 6.12. North Caroline, Cory. 1098p.
- Sures, B. 2004. Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. **Trends Parasitol.** v. 20, n. 4, p. 170-177.
- Valtonen, E.T.; Holmes, J.C. & Koskivaara, M. 1997. Eutrophication, pollution and fragmentation: effects on the parasite communities in roach and perch in four lakes in Central Finland. **Parassitologia** v. 39, p. 233-236.
- Vianna, R.T.; Pereira Jr., J. & Brandão, D.A. 2003. Ontogenic variation of metacercariae of *Clinostomum complanatum* (Rudolphi, 1814) (Digenea: Clinostomidae). **Comun. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS** v.16, n. 2, p. 223-243.
- Wetzel, E.J. & Shreve, E.W. 2003. The influence of habitat on the distribution and abundance of metacercariae of *Macrovestibulum obtusicaudum* (Pronocephalidae) in a small Indiana stream. **J. Parasitol.** v. 89, n. 5, p. 1088-1090.

**O papel de Ancyrocephalinae (Monogenea; Dactylogyridae),
parasito de *Geophagus brasiliensis* (Pisces; Cichlidae), como
indicador ambiental.**

RESUMO

Tendo por objetivo o estudo da variação do parasitismo por Ancyrocephalinae em *Geophagus brasiliensis* comparando-se dois reservatórios de caracterizações tróficas distintas (reservatórios do Juqueri - eutrófico - e do Jaguari - oligomesotrófico), foram medidas as taxas de prevalência e intensidade média de infecção bimensalmente ao longo de um ano. Os resultados demonstraram que a prevalência e a intensidade de infecção desses parasitos estão relacionadas às variações do nível de material em suspensão na água.

ABSTRACT

The objective to study the variation of parasitism by Ancyrocephalinae in *Geophagus brasiliensis* comparing two reservoirs of distinct trophic characterizations (reservoirs of Juqueri – eutrophic – and Jaguari – oligomesotrophic) the prevalence and mean intensity of infection were measured, bimensally, within one year. The results showed that the prevalence and intensity of infection of this parasite is related to changes in the water materials in suspension levels

INTRODUÇÃO

O conceito filogenético corrente considera as monogêneas como uma das classes do filo Platyhelminthes. Os membros da classe Monogenea são ectoparasitos de brânquias, pele e orifícios de peixes e menos freqüentemente do trato esofágico e vesícula (CHUBB, 1977; EUZET & COMBES, 1998). Calcula-se que há mais de 3000 espécies de monogêneas parasitas de peixes (EIRAS, 1994), muitas das quais específicas para determinada espécie hospedeira (BAKKE *et al.*, 2002).

Por possuírem ciclo direto as monogêneas estão entre as patogenias mais importantes para a piscicultura, provocando mortalidade em criações intensivas com grande concentração de peixes, principalmente por atacarem órgãos vitais, como as brânquias (PAVANELLI *et al.*, 2002). Como sinais patogênicos pode-se citar intensa produção de muco, hiperplasia epitelial e fusão das lamelas branquiais dificultando o funcionamento normal das brânquias (SKINNER, 1982; EIRAS, 1994).

A utilização de monogêneas como indicadores de alterações ambientais é citado por MACKENZIE *et al.* (1995) em revisão de parasitas como indicadores de qualidade de água. Estes autores afirmam que baixo nível de poluição pode produzir um efeito hormético em alguns ectoparasitas, aumentando a reprodução e causando um aumento marcante nas populações parasitas. Em análise do uso de parasitos de peixes como biomarcadores, LAFFERTY (1997) afirma que os ectoparasitos são os que melhor respondem positivamente às alterações ambientais.

Para este trabalho foi selecionado *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae; Perciformes) segundo critérios elaborados por OVERSTREET (1997) e corroborados por SURES (2004). Teve por objetivos comparar as variações na prevalência e na intensidade de infecção por monogêneas Ancyrocephalinae

em dois reservatórios de caracterizações tróficas distintas e verificar a viabilidade da utilização deste parasito como indicador ambiental.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas coletas bimensais entre setembro de 2001 e setembro de 2002 nos reservatórios do Juqueri ($23^{\circ}19'07''$ S, $46^{\circ}35'12''$ W, altitude 745 m - eutrófico) e do Jaguari ($22^{\circ}53'20''$ S e $46^{\circ}24'49''$ W, altitude 845 m - oligomesotrófico). Os reservatórios foram divididos em setores onde foram determinados os pontos de coleta.

Ambos os reservatórios foram criados para a captação de água para abastecimento e pertencem ao Sistema Cantareira sob administração da Sabesp (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo). Distam aproximadamente 100 km um do outro e estão interligados por túneis e canais entre os reservatórios do Jacaré, Cachoeira e Atibainha (Figura 1).

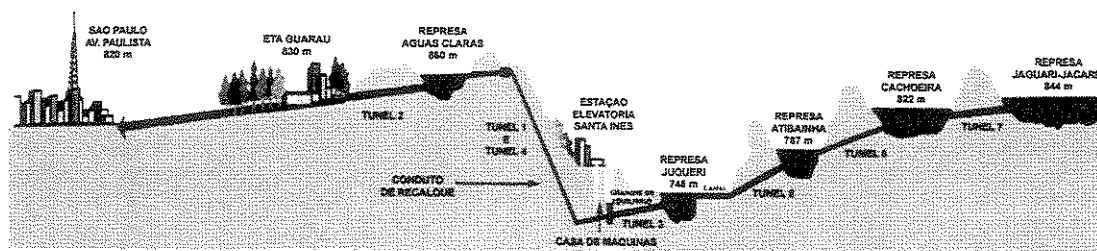


Figura 1 - Perfil do Sistema Cantareira (fonte: Sabesp)

Os peixes foram capturados utilizando-se redes de espera de malhagens variadas colocadas a partir da margem ao entardecer e retiradas na manhã do dia seguinte.

Foram medidas temperatura, taxa de oxigênio dissolvido, pH, turbidez e condutividade da água de todos os pontos de coleta, utilizando-se

equipamentos de multianálise de água. A avaliação da transparência da água foi realizada utilizando-se um disco de Secchi de 20 cm de diâmetro.

Os exemplares de *Geophagus brasiliensis* coletados foram pesados e medidos (comprimento total).

Para a pesquisa de monogêneas as brânquias foram isoladas inteiras e mergulhadas em frascos com solução de formol 1:4000 por uma hora, com agitações vigorosas em intervalos regulares. Em seguida a solução foi colocada em placa de Petri pequena e as monogêneas presentes foram contadas e fixadas em formol 5%. Alguns exemplares foram corados pelo Tricrômico de Gomori e outros foram montados em meio de Hoyer (PUTZ & HOFFMAN, 1963; KRITSKY *et al.*, 1995; POPAZOGLO, 1997; EIRAS *et al.*, 2000)

Os cálculos da prevalência e intensidade média de infecção foram realizados a partir das definições apresentadas por BUSH *et al.* (1997).

Para as análises estatísticas dos dados obtidos, foi realizado o teste de comparação múltipla de médias de Duncan entre as prevalências totais e as intensidades médias de infecção entre os reservatórios e a comparação entre as variações das prevalências e das intensidades médias de infecção nas coletas, em cada reservatório; teste "U" de Mann-Whitney com aproximação normal para a comparação das variações das prevalências e das intensidades médias de infecção entre as coletas e entre os reservatórios e o teste de correlação linear de Pearson relacionando a prevalência, a intensidade média de infecção, os parâmetros biológicos do peixe hospedeiro (peso e comprimento) e os parâmetros ambientais.

Os dados de intensidade média de infecção foram logaritimizados para as análises. Todos os testes foram aplicados com intervalo de confiança igual a 5%. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico SAS (SAS Inc., 1996). Para as análises de variância foi utilizado o procedimento PROC GLM e para a correlação foi utilizado o procedimento PROC

CORR. O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi realizado com o auxílio do programa BioStat 2.0 (AYRES *et al.*, 2000).

As médias dos índices de armazenamento do Sistema Cantareira foram obtidos em www.sabesp.com.br, consultado durante o período estudado.

RESULTADOS

Foram examinados 550 exemplares de *Geophagus brasiliensis*, sendo 280 do reservatório do Jaguari e 270 do reservatório do Juqueri.

Monogenóides pertencentes à subfamília Ancyrocephalinae (Figura 2) foram encontrados nas brânquias de *Geophagus brasiliensis* em 76,79% dos exemplares examinados no reservatório de Jaguari, com média de 5,51 ($\pm 6,35$) vermes/peixe e em 82,22% no reservatório do Juqueri, apresentando em média 6,02 ($\pm 6,52$) vermes/peixe.

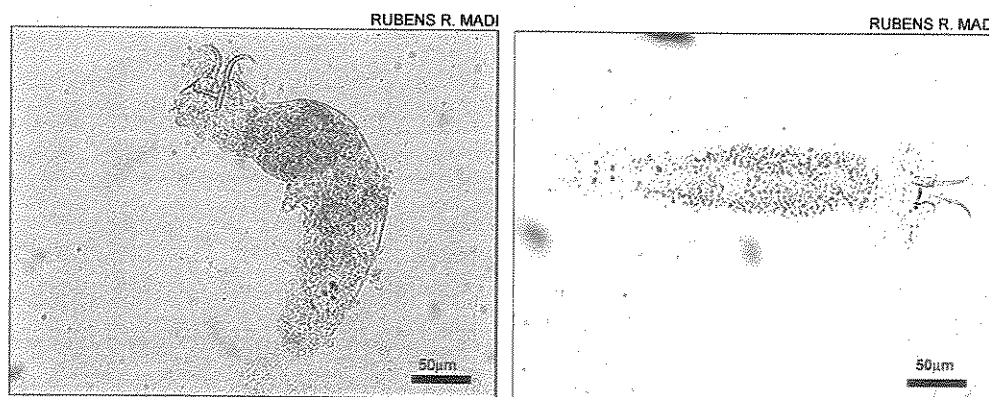


Figura 2 – Ancyrocephalinae parasito de brânquias de *Geophagus brasiliensis*.

A prevalência total e a intensidade média de infecção não mostraram diferenças significativas entre os reservatórios do Jaguari e do Juqueri ($P=0,1151$ e $P=0,0746$ respectivamente).

Ainda comparando os reservatórios, porém levando-se em consideração a variação entre as coletas, o teste "U" de Mann-Whitney demonstrou que não

houve diferenças na variação da prevalência [$Z(U)=0,9608$ e $P=0,3367$] (Figura 3a) nem na variação da intensidade média de infecção [$Z(U)=1,4412$ e $P=0,1495$] (Figura 3b). Porém analisando a variação entre as coletas, dentro de cada reservatório, a prevalência foi significativa tanto no reservatório do Jaguari quanto no Juqueri ($P<0,0001$ em ambos os reservatórios - teste de Duncan). O mesmo ocorreu para a variação na intensidade média de infecção, por reservatório, sendo $P=0,0007$ para o reservatório do Jaguari e $P=0,0008$ para o Juqueri, também pelo teste de Duncan.

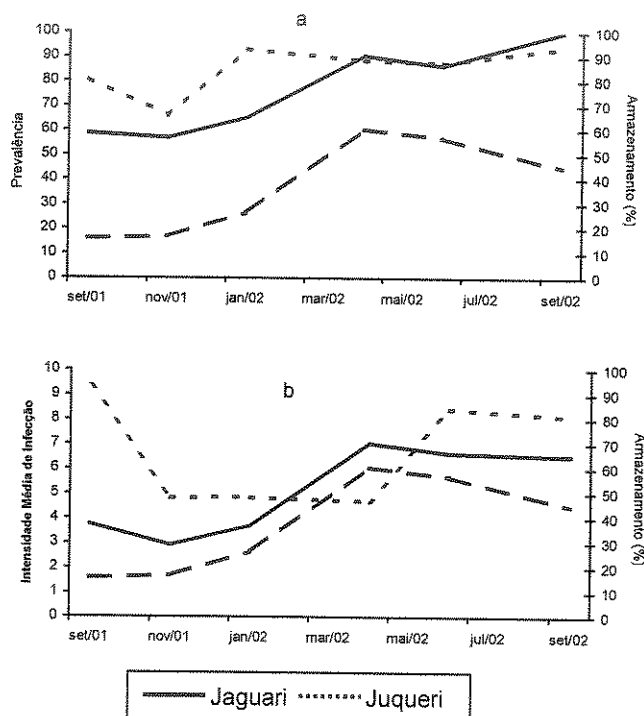


Figura 3 - Variação da prevalência (a) e da intensidade média de infecção (b) de Ancyrocephalinae em *G. brasiliensis* nos reservatórios do Juqueri e Jaguari entre setembro de 2001 e setembro de 2002. - tracejado: variação no índice de armazenamento do Sistema Cantareira entre setembro de 2001 e setembro de 2002.

Os resultados do teste de correlação de Pearson entre a prevalência, a intensidade média de infecção e os dados de parâmetros biológicos e ambientais estão expostos na tabela 1.

Tabela 1 – Correlação entre a prevalência, a intensidade média de infecção por Ancyrocephalinae, parâmetros biológicos de *Geophagus brasiliensis* e parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri.

	Reserv.	Peso	Comp	Secchi	T	pH	OD	Turb	Cond
Prevalência	Jaguari	0,11892* 0,3233**	0,06976 0,5632	0,05818 0,6299	0,05074 0,6743	-0,05655 0,6395	-0,23474 0,0488	-0,11221 0,3515	0,04614 0,7024
	Juqueri	-0,23652 0,0738	-0,23643 0,0740	0,18879 0,1558	0,07988 0,5511	-0,03201 0,8115	-0,15375 0,2492	-0,12393 0,3540	-0,07359 0,5830
Intensidade Média de Infecção	Jaguari	0,38266 0,0021	0,11449 0,3756	0,02473 0,8487	-0,01119 0,9312	0,00292 0,9820	0,28360 0,0255	0,03384 0,7940	-0,10340 0,4239
	Juqueri	-0,12252 0,3917	-0,14167 0,3214	0,31907 0,0225	-0,24558 0,0824	-0,35966 0,0095	0,18560 0,1923	-0,26952 0,0558	-0,41376 0,0025

Reserv. – reservatório; T – temperatura, OD – oxigênio dissolvido; Turb. – turbidez; Cond. – condutividade.

*r – coeficiente de correlação; **P – nível de significância

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os resultados da correlação entre os índices epidemiológicos, os parâmetros biológicos e ambientais não demonstraram relação significativa, ao contrário do encontrado por MARCOGLIESE & CONE (1996) que, trabalhando com a distribuição e abundância de parasitas de enguia (*Anguilla rostrata*) nos Estados Unidos, constataram a influência do pH na abundância de *Pseudodactylogyrus anguilla*, monogênea parasita de brânquias. CHUBB (1977), em revisão de estudos da variação sazonal de monogêneas, afirma que a temperatura exerce grande influência na variação populacional de várias espécies deste parasita em regiões climáticas denominadas por ele como subtropicais úmidas. Este autor, porém cita estudos realizados apenas no hemisfério Norte, mais especificamente no sudeste dos Estados Unidos.

Em ambientes eutrofizados ou com níveis de turbidez elevados devido ao aumento de material em suspensão na água ou poluição, em diferentes graus, há uma maior probabilidade de ocorrer irritação nos filamentos branquiais dos peixes aumentando assim a susceptibilidade aos parasitos como as monogêneas (SKINNER, 1982). KHAN & KICENIUK (1988) também sugerem que a irritação das brânquias por frações hidrossolúveis de óleo, resultando em hiperplasia das células epiteliais acompanhado por excessiva secreção de muco e coagulação, talvez produza um habitat que contribua para a infestação e reprodução dos parasitos. MOLES & WADE (2001) em observação experimental reportaram que a exposição do peixe *Ammodytes hexapterus* ao sedimento contaminado por óleo cru (PHC) por 90 dias, reduz a atividade fagocítica e foi associada com um aumento significativo na abundância e prevalência de *Gyrodactylus* sp., em relação ao grupo controle. Estes autores concluíram que as concentrações de PHC foram suficientes para deprimir o sistema imune do peixe provocando um aumento do parasitismo.

VALTONEN *et al.* (1997) estudaram a influência da fragmentação sobre a comunidade parasitária de peixes em lagos com diferentes características eutróficas e níveis de poluição. Quando comparado um lago oligotrófico e despoluído com outros dois eutrofizados e poluídos, encontraram altas prevalências de *Dactylogyrus* sp. nos lagos poluídos, atribuídas por estes autores como decorrentes da queda de imunidade do peixe hospedeiro devido à poluição química. DAS & SHRIVASTAVA (1984) associaram a grande mortalidade de *Puntius* sp. (Cyprinidae) no lago Naini Tal, na Índia, ao aumento da infecção por *Dactylogyrus longicirrus*, *Trichodina* sp. e *Chilonodella* sp. nas brânquias, por consequência da poluição por resíduos industriais, esgoto doméstico, detergentes e areia resultante da erosão do solo. Alterações no parasitismo, comparando duas áreas com níveis de qualidade da água diferentes, foi estudado por SKINNER (1982) na Flórida. No estudo em questão foram encontradas altas taxas de infecção por monogêneas em peixes

coletados no local onde a qualidade da água era inferior, e os peixes apresentavam as brânquias com excessiva produção de muco, hiperplasia epitelial, fusão das lamelas e filamentos branquiais e aneurisma. Em contraste, na área onde a água apresentava boa qualidade foram encontradas infecções leves e pouca ou nenhuma variação anormal do tecido branquial dos hospedeiros. Isso levou o autor a concluir que os poluentes na água atuam como um fator irritante, estressando o peixe e produzindo alterações físicas e fisiológicas as quais reduzem a resistência à infestação por monogêneas.

Em vista disso, era de se esperar que a prevalência de Ancyrocephalinae em *Geophagus brasiliensis* no reservatório do Juqueri (eutrófico e “poluído”) fosse significativamente maior que no reservatório do Jaguari (oligomesotrófico e despoluído). O fato de não haver diferença estatística na prevalência dos parasitos deste grupo entre os reservatórios (Figura 3a) e a elevação da intensidade de infecção no reservatório do Jaguari (Figura 3b), pode ser explicada pela estiagem ocorrida em meados de 2001 (Anexo I). O reservatório do Jaguari reduziu expressivamente sua capacidade de armazenamento permanecendo assim até aproximadamente o mês de novembro do mesmo ano, quando começaram efetivamente as chuvas na região (linha tracejada na Figuras 3a e 3b e Anexo I). Durante a época de chuvas ocorreu um fluxo maior de terra, e outras cargas difusas (plantas, sementes, fertilizantes, defensivos agrícolas, etc), arrastadas pelas enxurradas, provenientes das propriedades às margens do reservatório, que fez com que, nesse período, houvesse um aumento do nível de material em suspensão na água. Ao mesmo tempo, enquanto ocorria a elevação do nível de água no reservatório do Jaguari, os reservatórios subsequentes do Sistema Cantareira receberam as águas provenientes das próprias bacias de drenagem, sem grandes alterações nos seus níveis de armazenamento. O reservatório do Juqueri recebendo em pouco tempo um volume de água relativamente alto do reservatório do Atibainha (que possui características oligotróficas de acordo com SALAS & MARTINO, 1991),

provavelmente alterou sutilmente o seu grau de eutrofização, afetando a intensidade média de infecção por Ancyrocephalinae presentes em *Geophagus brasiliensis*. Com o final da estação de chuvas, a intensidade média de infecção, que depois de diminuir estava estabilizada, tornou a aumentar voltando quase ao índice obtido no início do trabalho (Figura 3b).

Apesar das medidas dos índices epidemiológicos neste trabalho terem sido realizadas em condições atípicas, as mudanças ocorridas no índice de armazenamento do Sistema Cantareira, refletidas na prevalência e na intensidade média de infecção por Ancyrocephalinae em *Geophagus brasiliensis*, leva a supor que este parasita atue como indicador de alteração ambiental. No entanto, para confirmar a importância deste parasito como indicador ambiental, coletas contínuas devem ser realizadas em períodos de estabilização do nível do reservatório após as estiagens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayres, M.; Ayres Jr., M.; Ayres, D.L. & Santos, A.S. 2000. **BioEstat 2.0. Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas.** Sociedade Civil Mamirauá/MCT-CNPQ. Belém. xii+ 272 p.
- Bakke, T.A.; Harris, P.D. & Cable, J. 2002. Host specificity dynamics: observations on gyrodactilid monogeneans. **Int. J. Parasitol.** v. 32, p. 231-308.
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M. & Shostak, A.W. 1997. Parasitology meet ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. **J. Parasitol.** v.83, n. 4, p. 575-583.
- Chubb, J.C. 1977. Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part I. Monogenea. **Adv. Parasitol.** v. 15, p. 133-199.
- Das, M.C. & Shrivastava, A.K. 1984. Fish mortality in Naimi Tal Lake (India) due to pollution and parasitism. **Hydrobiol. J.** v. 20, p. 60-64.
- Eiras, J. C. 1994. **Elementos de Ictioparasitologia.** Ed. Fundação Eng. Antônio Almeida, Porto. 339p.

- Eiras, J.C.; Takemoto, R.M. & Pavanelli, G.C. 2000. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. Editora Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 173p.
- Euzet, L. & Combes, C. The selection of habitats among the monogenea. **Int. J. Parasitol.** v. 28, p.1645-1652.
- Khan, R.A. & Kiceniuk, J.W. 1988. Effect of petroleum aromatic hydrocarbons on monogenoids parasitizing Atlantic cod, *Gadus morhua* L. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** v. 41, p. 94-100.
- Kritsky, D.C.; Boerger, W.A. & Popazoglo, F. 1995. Neotropical Monogenoidea. 22. Variation in *Scleroductus* species (Gyrodactylidea, Gyrodactylidae) from Siluriform fishes of southeastern Brazil. **J. Helminthol. Soc. Was.** v. 62, n. 1, p. 53-56.
- Lafferty, K.D. 1997. Environmental parasitology: what can parasites tell us about human impacts on the environment? **Parasitol. Today.** v. 13, n. 7, p. 251-255.
- Mackenzie, K.; Willians, H.H.; Willians, B.; McVicar, A.H. & Siddal, R. 1995. Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. **Adv. Parasitol.** v.35, p. 85-144.
- Marcogliese, D.J. & Cone, D.K. 1996. On the distribution and abundance of eel parasites in Nova Scotia: influence of pH. **J. Parasitol.** v. 82, n. 3, p. 389-399.
- Moles, A. & Wade, T.L. 2001. Parasitism and phagocytic function among sand lance *Ammodytes hexapterus* Pallas exposed to crude oil –laden sediments. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** v. 66, n. 1, p. 528-535.
- Overstreet, R.M. 1997. Parasitological data as monitors of environmental health. **Parassitologia** v.39, p. 169-175.
- Pavanelli, G.C.; Eiras, J.C. & Takemoto, R.M. 2002. **Doenças de Peixes. Profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 2ª Edição. EDUEM, Maringá. 305 p.
- Popazoglo, F. 1997. **Monogenoidea (Platyhelminthes) de *Corydoras* spp. (Siluriformes, Callichthyidae) e avaliação da sua utilidade na discriminação de espécies simpátricas de seus hospedeiros**. 52 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Putz, R.E. & Hoffman, G.L. 1963. Two new *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea) from cyprinid fishes with synopsis of those found on North American fishes. **J. Parasitol.** v. 49, p. 559
- Salas, H.J. & Martino, P. 1991. A simplified phosphorus trophic state model for warm-water tropical lakes. **Water Res.** v. 25, n. 3, p. 341-350.

- SAS Institute Incorporation., 1996. **SAS User's Guide: Statistics**. Release 6.12. North Caroline, Cory. 1098p.
- Skinner, R.H. 1982. The interrelation of water quality, gill parasites, and gill pathology of some fishes from south Biscayne Bay, Florida. **Fish. Bull.** v. 80, f. 2, p. 269-280.
- Sures, B. 2004. Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. **Trends Parasitol.** v. 20, n. 4, p. 170-177.
- Valtonen, E.T.; Holmes, J.C. & Koskivaara, M. 1997. Eutrophication, pollution and fragmentation: effects on the parasite communities in roach and perch in four lakes in Central Finland. **Parassitologia** v. 39, p. 233-236.

Viabilidade do uso do parasitismo por Metacestódeos (Platyhelminthes; Cestoda) e *Procamallanus peraccurattus* (Nematoda; Camallanidae) de *Geophagus brasiliensis* (Pisces; Cichlidae), como indicadores ambientais.

RESUMO

Em estudos de parasitismo de peixes os cestódeos e os nematódeos geralmente são considerados apenas como componentes da infracomunidade parasitária. Neste trabalho é estudada a viabilidade do parasitismo destes dois grupos em *Geophagus brasiliensis* como indicador ambiental. Para tanto foram comparados dois reservatórios de caracterizações tróficas distintas e a variação do parasitismo ao longo de um ano. Dos três parasitos estudados – metacestódeo de Proteocephalidea, metacestódeo de Cyclophyllidea e *Procamallanus peraccurattus* – apenas os cestódeos atuaram como indicadores faunísticos da comunidade zooplânctônica dos reservatórios. Quanto ao nematódeo *P. peraccurattus* são necessários maiores estudos em relação à sua prevalência em copépodos hospedeiros intermediários no ambiente natural para inferir sobre o seu papel como indicador ambiental.

ABSTRACT

In studies of fishes parasitism, the cestodes and the nematodes generally are considered only as components of parasitic infracommunity. In this work the viability of parasitism of these two groups in *Geophagus brasiliensis* as environmental indicator. Is studied two reservoirs of distinct trophic characterization and the variation of parasitism within one year were compared. From three studied parasites – metacestodes of Proteocephalidea and Cyclophyllidea and *Procamallanus peraccuratus* (Nematoda) – only the cestodes act as faunistics indicator of zooplanktonic community of reservoirs.

The nematode *P. peraccuratus* more studies are necessary in relation to its prevalence in intermediate host copepods in natural environment, to infer its function as environmental indicators.

INTRODUÇÃO

Em estudos da utilização de parasitos como indicadores ambientais, os cestódeos e nematódeos presentes nos peixes geralmente são levados em consideração no cômputo geral da comunidade parasitária, para efeito nos cálculos dos índices de diversidade (MARCOGLIESE & CONE, 1996; BROEG *et al.*, 1999; DIAMANT *et al.*, 1999; SCHMIDT *et al.*, 2003).

De acordo com LAFFERTY (1997), uma análise do uso de parasitas como bioindicadores revelou que os ectoparasitos são o grupo mais utilizado uma vez que respondem diretamente às alterações ambientais. Apesar disso, parasitos com ciclo de vida heteroxênicos também podem ser considerados na utilização como indicadores ambientais, por dependerem, em alguma parte do ciclo, de estágios de vida-livre e de organismos pequenos e delicados sensíveis às condições ambientais (MACKENZIE *et al.*, 1995). Estes mesmos autores relatam que estudos experimentais e de campo sugerem que a exposição à poluentes derivados do petróleo reduzem a prevalência e a intensidade de infecção de parasitos intestinais, ocorrendo porém um aumento nos parasitas de brânquias.

Este trabalho teve por objetivo estudar a viabilidade da utilização do parasitismo por metacestódeos e nematódeos adultos em *Geophagus brasiliensis* como indicadores ambientais, baseado nos critérios elaborados por OVERSTREET (1997), corroborado por SURES (2004).

MATERIAL E MÉTODOS

Para as coletas, bimensais, entre setembro de 2001 e setembro de 2002, os reservatórios foram divididos em setores onde foram determinados os pontos de coleta. Foram utilizadas redes de espera de 10 m de comprimento por 1,5 m de altura e com malhas de 15, 20 e 40 milímetros entre nós, respectivamente a partir da margem, dispostas lateralmente uma a outra. As redes foram estendidas no período da tarde e recolhidas na manhã seguinte. Todos os pontos de coletas foram fixados com a utilização de um receptor GPS, para diminuir a margem de erro na recolocação das redes.

Foram medidas temperatura, taxa de oxigênio dissolvido, pH, turbidez e condutividade da água de todos os pontos de coleta, utilizando-se equipamentos de multianálise de água. A avaliação da transparência da água foi realizada utilizando-se um disco de Secchi de 20 cm de diâmetro.

Os exemplares de *Geophagus brasiliensis* coletados foram pesados e medidos (comprimento total).

As larvas de cestódeos encontradas foram comprimidas entre duas lâminas e conservadas em líquido de Railliet-Henry, e posteriormente coradas por carmin clorídrico (LANGERON, 1949).

Os nematódeos foram mortos em solução salina 0,15M quente e conservados em solução de álcool 80% glicerinado a 10% (EIRAS *et al.*, 2000). Posteriormente os nematódeos coletados foram clarificados pelo lactofenol (FAGERHOLM, 1979).

Para identificação dos cestódeos foram utilizadas as chaves elaboradas por SCHMIDT (1986), KHALIL *et al.* (1994) e REGO *et al.* (1999) e para o nematódeo foram utilizadas as chaves elaboradas por VICENTE *et al.* (1985), MORAVEC (1998) e VICENTE & PINTO (1999).

Os cálculos da taxa de prevalência e intensidade média de infecção foram realizados a partir das definições apresentadas por BUSH *et al.* (1997).

Para as análises estatísticas dos dados obtidos, foi realizado o teste de comparação múltipla de médias de Duncan entre as prevalências totais e as intensidades médias de infecção entre os reservatórios e a comparação entre as variações das prevalências e das intensidades médias de infecção nas coletas, em cada reservatório; teste “U” de Mann-Whitney com aproximação normal para a comparação das variações das prevalências e das intensidades médias de infecção entre as coletas e entre os reservatórios e o teste de correlação linear de Pearson relacionando as prevalências, as intensidades médias de infecção, os parâmetros biológicos do peixe hospedeiro (peso e comprimento) e os parâmetros ambientais.

Os dados de intensidade média de infecção foram logaritimizados para as análises. Todos os testes foram aplicados com intervalo de confiança igual a 5%. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico SAS (SAS Inc., 1996). Para as análises de variância foi utilizado o procedimento PROC GLM e para a correlação foi utilizado o procedimento PROC CORR. O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi realizado com o auxílio do programa BioStat 2.0 (AYRES *et al.*, 2000).

RESULTADOS

Metacestódeos Proteocephalidea (Figura 1)

As larvas deste parasita situavam-se na cavidade geral dos *Geophagus brasiliensis* examinados, intimamente associados aos órgãos internos como fígado, pâncreas, gônadas, parede intestinal. A grande quantidade de indivíduos encontrados não permitiu que fosse feita a contagem, categorizando-se os dados em intervalos estimados de “até 500”, “entre 500 e 1000” e “mais

de 1000" (Tabela 1). Por essa razão, a análise da intensidade média de infecção não foi realizada.

Foram examinados 476 exemplares de *Geophagus brasiliensis* (229 do Jaguari e 247 do Juqueri) entre novembro de 2001 e setembro de 2002, sendo que as larvas de proteocefalídeos apresentaram uma prevalência geral de 9,31% no reservatório do Jaguari e 79,91% no Juqueri, apresentando diferença significativa entre os reservatórios pelo teste de Duncan ($P < 0,0001$).

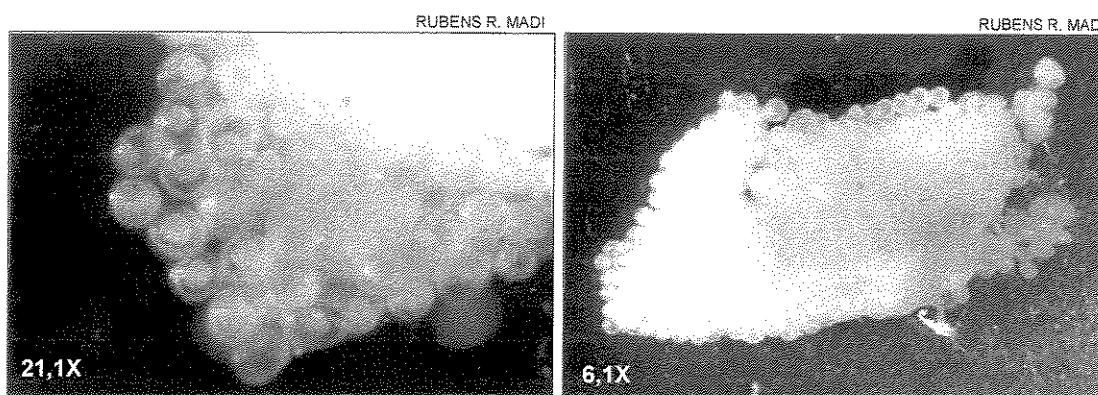


Figura 1 – Aglomerado de metacestódeos de Proteocephallidea.

Tabela 1 – Porcentagem de *Geophagus brasiliensis* parasitados por metacestódeos de Proteocephalidea, por categorias de intensidade média de infecção.

	Categorias		
	Até 500	Entre 500 e 1000	Mais de 1000
Jaguari	96,65%	-	4,35%
Juqueri	80,33%	15,84%	3,83%

A variação na prevalência entre as coletas (Figura 2), entre reservatórios, apresentou diferença significativa [$Z(U)=2,6112$ e $P=0,0090$], assim como a variação da prevalência em cada reservatório ($P<0,0001$ em ambos os reservatórios).

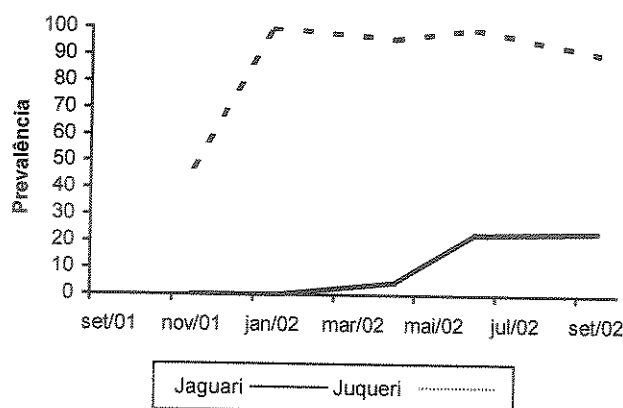


Figura 2 - Variação da taxa de prevalência das larvas de proteocefalídeo em *G. brasiliensis* nos reservatórios do Juqueri e Jaguari entre novembro de 2001 e setembro de 2002.

Na Tabela 2 estão expressos os resultados do teste de correlação de Pearson entre a prevalência e os dados de parâmetros ambientais, onde apenas a temperatura mostrou correlação negativa significativa no reservatório do Jaguari, apesar do baixo coeficiente de correlação (r).

Tabela 2 - Correlação entre a prevalência por metacestódeo Proteocephallidea, parâmetros biológicos de *Geophagus brasiliensis* e parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri.

	Reserv	Peso	Comp	Secchi	T	pH	OD	Turb	Turbf	Cond
Prevalência	Jaguari	-0,09210* 0,4449**	-0,04662 0,6995	0,14123 0,2401	-0,26439 0,0259	-0,16644 0,1654	0,18128 0,1303	-0,02334 0,8468	-0,17959 0,1340	-0,07576 0,5301
	Juqueri	0,13140 0,3255	0,14222 0,2869	-0,16843 0,2063	-0,10500 0,4328	0,04159 0,7566	0,19251 0,1477	0,15283 0,2521	0,14817 0,2670	0,06968 0,6033

Reserv. – reservatório; T – temperatura, OD – oxigênio dissolvido; Turb. – turbidez; Cond. – condutividade.
* r – coeficiente de correlação, **P – nível de significância

Metacestódeos Cyclophyllidea

Larvas de ciclofilídeos (Figura 3) foram encontradas na vesícula biliar de 39,15%, com 2,96 larvas/peixe no reservatório do Jaguari e 4,67%, com 1,14 larvas/peixe no Juqueri do total de *Geophagus brasiliensis* examinados (n=339, sendo 189 do Jaguari e 150 do Juqueri), entre janeiro e setembro de 2002, apresentando diferença significativa entre as prevalências totais, entre os reservatórios ($P < 0,0001$), mas não na intensidade média de infecção ($P = 0,1208$).

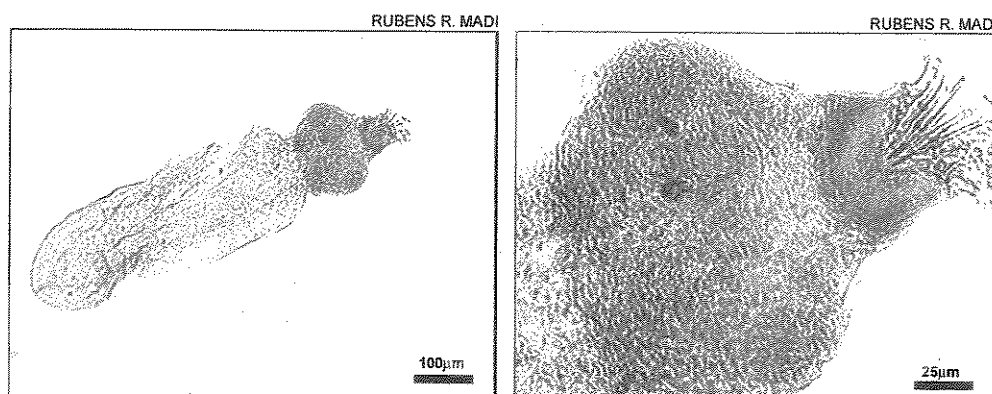


Figura 3 - Metacestódeo de Cyclophyllidea.

As variações da prevalência e intensidade média de infecção (Figuras 4a e 4b) entre amostras dos reservatórios do Jaguari e Juqueri apresentaram resultados significativos, sendo $Z(U)=2,1651$ e $P=0,0304$ e $Z(U)=2,3094$ e $P=0,0209$, respectivamente.

A variação da prevalência dentro de cada reservatório, foi significativa no Jaguari ($P=0,0094$) e não no Juqueri ($P=0,8421$). O contrário ocorreu para a variação da intensidade média de infecção, não sendo as diferenças

significativas no reservatório do Jaguari ($P=0,1954$) e significativas no Juqueri ($P=0,0084$).

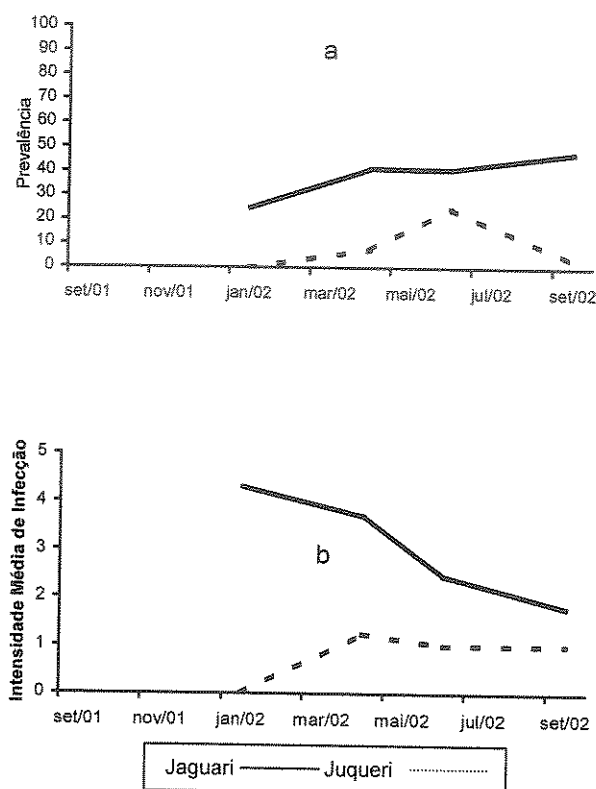


Figura 4 - Variação da prevalência (a) e da intensidade média de infecção (b) das larvas de ciclofílideos em *G. brasiliensis* nos reservatórios do Juqueri e Jaguari entre janeiro e setembro de 2002.

Os resultados do teste de correlação de Pearson entre a prevalência, a intensidade média de infecção e os dados de parâmetros ambientais estão expostos na Tabela 3, onde pode-se notar que apenas o Oxigênio dissolvido (OD) e a turbidez (Turb) apresentaram correlação negativa significativa apesar do coeficiente de correlação ser baixo.

Tabela 3 - Correlação entre a prevalência, a intensidade média de infecção por metacestódeo Cyclophyllidea, parâmetros biológicos de *Geophagus brasiliensis* e parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri.

	Reserv.	Peso	Comp	Secchi	T	pH	OD	Turb	Turbf	Cond
Prevalência	Jaguari	0,11859* 0,3246**	0,19256 0,1076	0,08959 0,4575	0,02352 0,8456	0,01625 0,8930	-0,23925 0,0445	-0,26416 0,0260	-0,06825 0,5717	-0,20866 0,0808
	Juqueri	-0,02314 0,8631	-0,05809 0,6649	-0,00885 0,9474	-0,16098 0,2274	-0,10879 0,4163	0,24475 0,0641	0,08975 0,5028	0,12032 0,3683	0,05565 0,6782
Intensidade Média de Infecção	Jaguari	0,26478 0,1574	0,15742 0,4061	-0,19085 0,3124	0,00706 0,9704	0,18265 0,3340	0,19968 0,2901	0,28622 0,1252	0,08610 0,6510	0,08485 0,6558
	Juqueri	0,10314 0,8689	0,06661 0,9153	-0,40825 0,4950	<-0,00000 ~1,0000	0,20989 0,7347	-0,02475 0,9685	0,46414 0,4310	0,43383 0,4655	0,38851 0,5181

Reserv. – reservatório; T – temperatura, OD – oxigênio dissolvido; Turb. – turbidez; Cond. – condutividade.

*r – coeficiente de correlação, **P – nível de significância

Procamallanus peraccuratus

O nematódeo *Procamallanus peraccuratus* (Figura 5) foi encontrado apenas no reservatório do Juqueri parasitando o intestino de *Geophagus brasiliensis*, entre setembro de 2001 e setembro de 2002. Esse parasito apresentou a prevalência total de 63,33% dos peixes examinados (n=270) e intensidade média de infecção de 2,19 vermes/peixe. Nenhum peixe examinado no reservatório do Jaguari (n=281) apresentou este helminto.

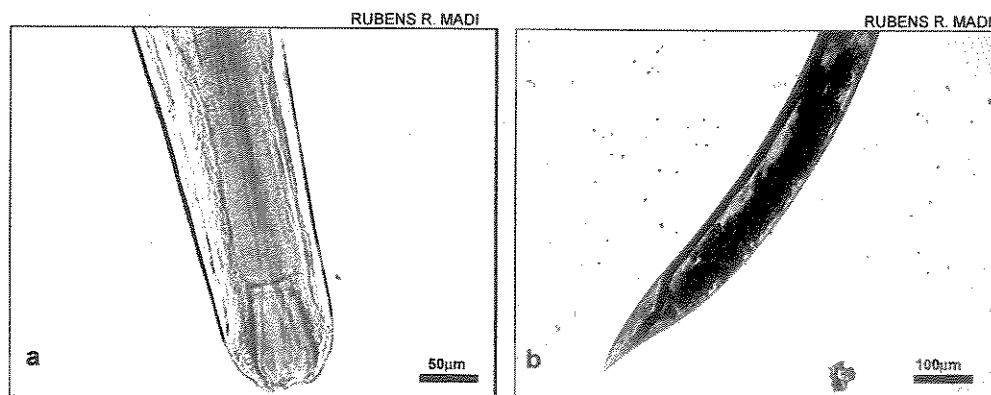


Figura 5 - *Procamallanus peraccuratus*: (a) porção anterior; (b) porção posterior

O teste de comparação de médias de Duncan mostrou que a variação da prevalência entre as coletas (Figura 6a) apresentou diferenças significativas ($P=0,0271$), enquanto que a variação da intensidade média de infecção não apresentou diferença entre as coletas ($P=0,1108$) (Figura 6b).

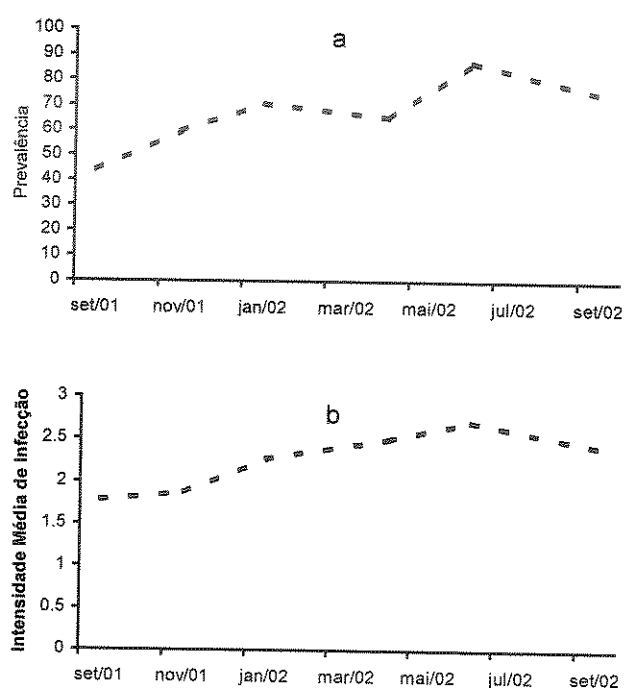


Figura 6 - Variação da prevalência (a) e da intensidade média de infecção (b) por *Procamallanus peraccuratus* em *G. brasiliensis* no reservatório do Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002.

Os resultados do teste de correlação de Pearson entre a prevalência, a intensidade média de infecção e os dados de parâmetros ambientais estão expostos na tabela 4.

Tabela 4 - Correlação entre a prevalência, a intensidade média de infecção por *Procamallanus peraccuratus*, parâmetros biológicos de *Geophagus brasiliensis* e parâmetros ambientais no reservatório do Juqueri.

	Peso	Comp	Secchi	T	PH	OD	Turb	Turbf	Cond
Prevalência	0,26108* 0,0478**	0,20693 0,1191	-0,02170 0,8716	-0,10202 0,4460	-0,19907 0,1341	0,17504 0,1888	-0,09657 0,4708	-0,04348 0,7459	-0,06811 0,6115
Intensidade Média de Infecção	0,29026 0,0731	0,26858 0,0983	-0,08750 0,5963	-0,24491 0,1329	0,02525 0,8787	0,26675 0,1007	-0,04080 0,8052	0,04179 0,8006	-0,04405 0,7900

T – temperatura, OD – oxigênio dissolvido; Turb. – turbidez; Cond. – condutividade.

*r – coeficiente de correlação, **P – nível de significância

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A ordem Cyclophyllidea é a maior ordem dos cestódeos e todas as espécies são, em fase adulta, parasitos de vertebrados terrestres e semi-aquáticos. A ordem Proteocephalidea é encontrada em animais associados com ambientes de água doce (peixes, anfíbios, répteis e mamíferos) e utilizam preferencialmente copépodos como hospedeiros intermediários (REGO, 1994; SCHOLZ, 1999; CAÑEDA-GUZMÁN *et al.*, 2001).

Os peixes coletados no reservatório do Juqueri apresentaram uma elevada taxa de prevalência para larvas de proteocefalídeos. A mesma larva apresentou baixa taxa de prevalência no reservatório do Jaguari. Outra larva de cestódeo, um ciclofílideo, presente na vesícula biliar dos peixes hospedeiros, apresentou taxa de prevalência maior no reservatório do Jaguari do que no do Juqueri. Uma das hipóteses levantadas para justificar essas variações foi o do tipo de copépodo hospedeiro intermediário encontrado nos reservatórios. Foi então realizado um trabalho em que se pesquisou quais as espécies de copépodos estavam atuando como potenciais hospedeiros intermediários em ambos os reservatórios (Anexo II). No referido trabalho foi constatado que apesar dos copépodos da sub-ordem Cyclopoida predominarem em ambos os reservatórios (62,03% do total de copépodos coletados no reservatório do

Jaguari e 75,28% no Juqueri) apenas indivíduos da sub-ordem Calanoida, mais precisamente o gênero *Notodiaptomus*, foram encontrados positivos para cestódeos no reservatório do Juqueri. Os cestódeos encontrados nos copépodos eram tanto proteocefalídeos quanto ciclofilídeos, porém a prevalência de proteocefalídeos foi maior. A quantidade de copépodos coletados no reservatório do Jaguari foi maior do que no Juqueri (3123 copépodos sendo 772 calanoidas e 2351 ciclopoidas no Jaguari e 551 copépodos sendo 194 calanoidas e 317 ciclopoidas no Juqueri) e no entanto no reservatório do Jaguari foi encontrado apenas um copépodo ciclopóida supostamente positivo.

DUPONT & GABRION (1987) discutem a possibilidade de ocorrer especificidade na relação copépodo-procercóide, baseado na susceptibilidade do copépodo à infecção e no sucesso ou falha, em diferentes níveis, na invasão e desenvolvimento do procercóide. Nos resultados obtidos experimentalmente estes autores demonstraram haver diferenças significativas entre as infecções por *Bothriocephalus claviceps* (Cestoda), parasito de enguia, em cinco espécies de copépodos.

Pelos resultados obtidos pode-se supor que as diferentes taxas de prevalência dependem das variadas espécies de copépodos presentes nos reservatórios. Sendo assim, inferimos que o parasitismo por larvas de cestódeos está atuando como indicador faunístico em ambos os reservatórios.

O nematódeo *Procamallanus peraccuratus* é descrito principalmente como parasito de peixes da família Cichlidae, nas bacias dos rios Paraná e Uruguay (MORAVEC *et al.*, 1993).

O ciclo deste gênero de nematódeo se inicia quando as larvas, liberadas ao meio aquático pela fêmea vivípara, nadam para o fundo e com movimentos semelhantes à uma mola helicoidal atraem a atenção dos copépodos que os ingerem. O peixe adquire o parasitismo através da ingestão do copépodo parasitado (BASHIRULLAH & AHMED, 1976; FUSCO, 1980).

A presença de *Procamallanus peraccuratus* apenas no reservatório do Juqueri se deve provavelmente à introdução do peixe *Cichla* sp. (Cichlidae) com finalidades esportivas e de lazer, fato que não ocorreu até o final do período estudado no reservatório do Jaguari. Ocorrências esporádicas deste parasito foram descritas em outros reservatórios abrigados por hospedeiros não convencionais (KOHN *et al.*, 1988).

GHIRALDELLI *et al.* (2004) realizaram infecção experimental de helmintos do gênero *Camallanus* em copépodos *Notodiptomus*. A infecção foi bem sucedida apresentando bons índices de parasitismo. A presença de *Notodiptomus* sp. no reservatório do Juqueri, aliada à presença de peixes do gênero *Cichla*, pode ser uma das razões da presença de *Procamallanus peraccuratus*.

FURTADO & TAN (1973 *apud* CHUBB, 1982) estudaram a infecção por várias espécies de *Procamallanus* em *Clarias* sp., desde a Malásia ao Egito, concluindo que além de estar relacionada com as estações secas, a variação na infecção também depende da variação da composição da dieta do peixe hospedeiro.

CHUBB (1982) afirma que a temperatura é um dos mais importantes fatores que influenciam a taxa de desenvolvimento dos Camallanidae. Este autor relata ainda que durante os meses de verão o tempo necessário para o desenvolvimento de *Procamallanus* diminui, e a abundância de zooplâncton disponível durante esse período providencia ótimas condições de distribuição destes nematódeos. Curiosamente os maiores picos apresentados na prevalência e na intensidade de infecção de *Procamallanus peraccuratus* no reservatório do Juqueri ocorreram nos meses considerados mais frios e secos (maio e julho). Porém, na região leste do Estado de São Paulo o clima subtropical define apenas duas estações apresentando um período seco no inverno (aproximadamente entre maio e agosto) e um período chuvoso no verão (aproximadamente entre setembro e abril), corroborando assim os

resultados obtidos por FURTADO & TAN (*op. cit.*) em relação ao desenvolvimento deste nematódeo em estações secas.

Os resultados obtidos não permitem uma avaliação apropriada quanto à importância deste nematódeo como indicador ambiental, embora as larvas de cestódeos possam indicar “riqueza” de microcrustáceos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayres, M.; Ayres Jr., M.; Ayres, D.L. & Santos, A.S. 2000. **BioEstat 2.0. Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas.** Sociedade Civil Mamirauá/MCT-CNPQ. Belém. xii+ 272 p.
- Bashirullah, A.K.M. & Ahmed, B. 1976. Larval development of *Spirocamallanus intestinecolus* (Bashirullah, 1973) Bashirullah, 1974 in copepods. **Riv. Parassitol.** v. 37, p. 303-311
- Broeg, K.; Zander, S.; Diamant, A.; Körting, W.; Krüner, G.; Paperna, I. & Westernhagen, H.v. 1999. The use of fish metabolic, pathological and parasitological indices in pollution monitoring. I. North Sea. **Helgol. Mar. Res.** v. 53, p. 171-194.
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M. & Shostak, A.W. 1997. Parasitology meet ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. **J. Parasitol.** v.83, n. 4, p. 575-583.
- Cañeda-Guzman, I.C.; de Chambrier, A. & Scholz, T. 2001. *Thaumasioscolex didelphidis* n. gen., n. sp. (Eucestoda: Proteocephalidae) from the black-eared opossum *Didelphis marsupialis* from Mexico, the first proteocephalidean tapeworm from a mammal. **J. Parasitol.** v. 87, n. 3, p. 639-646.
- Diamant, A.; Banet, A.; Paperna, I.; Westernhagen, H.v.; Broeg, K.; Krüner, G.; Körting, W. & Zander, S. 1999. The use of fish metabolic, pathological and parasitological indices in pollution monitoring. II. The Red Sea and Mediterranean. **Helgol. Mar. Res.** v. 53, p. 195-208.
- Dupont, F. & Gabrion, C. 1987. The concept of specificity in the proceroid-copepod system: *Bothriocephalus claviceps* (Cestoda) a parasite of the eel (*Anguilla anguilla*). **Parasitol. Res.** v. 73, p. 151-158.

- Eiras, J.C.; Takemoto, R.M. & Pavanelli, G.C. 2000. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. Editora Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 173p.
- Fagerholm, H.P. 1979. Nematode length and preservatives, with a method for determining the length of live specimens. **J. Parasitol.** v. 65, f.2, p. 334-335.
- Furtado, J.I. & Tan, K.L. 1973 *apud* Chubb, J.C. 1982. Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part IV. Adult Cestoda, Nematoda and Acanthocephala. **Adv. Parasitol.** v. 20, p. 1-292.
- Fusco, A.C. 1980. Larval development of *Spirocamallanus cricotus* (Nematoda: Camallanidae). **Proc. Helminthol. Soc. Wash.** v. 47, f.1, p. 63-71.
- Ghiraldelli, L.; Martins, M.L.; Francisco, C.J.; Fabiana, G. & Onaka, E.M., 2004. Infecção experimental de *Notodiptomus* sp. (Crustacea: Calanoida) por *Camallanus maculatus* (Nematoda: Camallanidae). **Resumos VIII Enbrapoa**, Laguna, p. 22.
- Khalil, L.F.; Jones, A. & Bray, R.A. 1994. **Keys to the cestodes parasites of vertebrates**. CAB International, Cambridge. 751p.
- Kohn, A.; Fernandes, B.M.M.; Pipolo, H.V. & Godoy, M.P. 1988. Helminths parasites of fishes from the hydroelectric plants of Eletrosul (Brazil). II. Reservatórios de Salto Osório e de Salto Santiago, basin of the Iguaçu. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v. 83, n. 3, p. 299-303.
- Lafferty, K.D. 1997. Environmental parasitology: what can parasites tell us about human impacts on the environment? **Parasitol. Today.** v. 13, n. 7, p. 251-255.
- Langeron, M. 1949. **Précis de microscopie**. 3 Vols. Brodard & Taupin, Paris. 1430p.
- Mackenzie, K.; Williams, H.H.; Williams, B.; McVicar, A.H. & Siddal, R. 1995. Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. **Adv. Parasitol.** v.35, p. 85-144.
- Marcogliese, D.J. & Cone, D.K. 1996. On the distribution and abundance of eel parasites in Nova Scotia: influence of pH. **J. Parasitol.** v. 82, n. 3, p. 389-399.
- Moravec, F. 1998. **Nematodes of freshwater fishes of the Neotropical region**. Academia, Praga, 464p.
- Moravec, F.; Kohn, A. & Fernandes, B.M.M. 1993. Nematodes parasites of fishes of the Paraná River, Brazil. Part 3. Camallanoidea and Dracunculoidea. **Folia Parasitol.** v. 40, p. 211-229.
- Overstreet, R.M. 1997. Parasitological data as monitors of environmental health. **Parassitologia** v.39, p. 169-175.

- Rego, A.A. 1994. Order Proteocephalidea Mola, 1928. *In*: Khalil, L.F.; Jones, A.; Bray, R.A. ed. **Key to Cestode Parasites of Vertebrates**. CAB International, Wallingford, pp. 257-293.
- Rego, A.A.; Chubb, J.C. & Pavanelli, G.C. 1999. Cestodes in South American freshwater teleost fishes: keys to genera and a brief description of species. **Revta. Bras. Zool.** v. 16, n. 2, p. 299-367.
- SAS Institute Incorporation., 1996. **SAS User's Guide: Statistics**. Release 6.12. North Caroline, Cory. 1098p.
- Schmidt, V.; Zander, S.; Körting, W. & Steinhagen, D. 2003. Parasites of flounder *Platichthys flesus* (L.) from the German Bight, North Sea, and their potential use in ecosystem monitoring. B. Community structure and fish parasite biodiversity. **Helgol. Mar. Res.** v. 57, p. 252-261.
- Schmidt, G.D. 1986 **Handbook of tapeworm identification**. CRC Press, Boca Raton. 675p.
- Scholz, T. 1999. Life cycles of species of *Proteocephalus*, parasites of fishes in the Palearctic Region: a review. **J. Helminthol.** v. 73, p.1-19.
- Sures, B. 2004. Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. **Trends Parasitol.** v. 20, n. 4, p. 170-177.
- Vicente, J.J. & Pinto, R.M. 1999. Nematóides do Brasil. Nematóides de peixes. Atualização: 1985-1998. **Revta. Bras. Zool.** v. 16, n. 3, p. 561-610.
- Vicente, J.J.; Rodrigues, H.O. & Gomes, D.C. 1985. Nematóides do Brasil 1ª parte: Nematóides de peixes. **Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro** v.25, p. 1-79.

Índices ecológicos, epidemiológicos e parasitismo de peixes como ferramentas de análise ambiental.

RESUMO

Neste trabalho são testados alguns índices comparando o parasitismo por helmintos de *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae, Perciformes) em dois ambientes de distintas caracterizações tróficas. Foram calculados os índices de diversidade de Shannon e de Simpson, o índice de uniformidade de Hill, os coeficientes de associação de Jaccard, de Dice e de Ochiai e as variações nas prevalências e intensidades médias de infecção. No presente modelo os índices que melhor refletiram a influência do tipo de ambiente (eutrófico/oligomesotrófico) e as variações intra-ambientes sobre os parasitas de *Geophagus brasiliensis* foram a prevalência e a intensidade média de infecção. Os resultados dos coeficientes de associação demonstraram a independência das relações entre os diferentes helmintos encontrados. Os índices de diversidade não demonstraram variação na infracomunidade parasitária de *Geophagus brasiliensis* durante o período estudado.

ABSTRACT

In this work some indices are tested comparing the parasitism by helminths of *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae, Perciformes) in two environments of distincts trophic characterization. The Shannon's and Simpson's diversity indices, the Hill's evenness index, the Jaccard's, Dice's and Ochiai's interespecifics association indices, the variations in the prevalence and mean intensity of infection were calculated. In this present model, the indices that better reflected the influence of environmental type (eutrophic/oligomesotrophic) and variations intra-environment were the prevalence and

mean intensity of infection. The interespecific association indices demonstrate the independence of relations among the helminths parasites. The diversity indices didn't show any variation in parasitary infracommunity of *Geophagus brasiliensis* along the studied year.

INTRODUÇÃO

O grau de diversidade biológica é freqüentemente utilizado como um indicador da saúde do sistema ecológico. É de consenso geral que qualquer distúrbio no habitat ocasiona uma alteração na fauna e na flora do ambiente. Essa visão pode ser aplicada para analisar a biodiversidade de uma comunidade parasitária. A frequência de espécies parasitas em peixes hospedeiros é, por essa razão, diretamente dependente do grau de diversidade do habitat e pode ser empregado como um monitor altamente sensível para detectar as alterações na biodiversidade, que caracterizam os habitats afetados pela poluição.

Levantamentos de riscos ecológicos baseados na diversidade de comunidades biológicas trazem uma abordagem relevante e avançada na análise de ecossistemas impactados. Entretanto, devido à complexidade e variedade dos dados obtidos através destes índices, a análise ambiental deve ser complementada por tratamentos estatísticos, pois as análises de diversidade integram uma variedade de espécies com diferentes susceptibilidades ao stress as quais podem produzir alterações difíceis de identificar (DUSEK *et al.*, 1998).

Vários autores citados em revisões sobre parasitas de peixes associados à poluição, utilizam a prevalência e a intensidade de infecção parasitária como índices de alteração e qualidade ambiental, tanto em ecossistemas marinhos como de água doce (KHAN & THULIN, 1991; MACKENZIE *et al.*, 1995; SURES, 2004). Esses índices utilizados em conjunto com outros biomarcadores

(funcionais ou morfológicos) tornam-se uma ferramenta que facilita a interpretação das variações ambientais naturais, distinguindo-os dos efeitos causados por poluição (BROEG *et al.*, 1999)

No Brasil não existem relatos da utilização do parasitismo de peixes como indicadores ambientais.

Este trabalho teve por objetivos (1) verificar a possibilidade da utilização como indicadores de alteração ambiental os helmintos parasitos de *Geophagus brasiliensis*, peixe hospedeiro selecionado segundo critérios elaborados por OVERSTREET (1997) e corroborados por SURES (2004), e ainda (2) avaliar diversos índices epidemiológicos e de diversidade e alguns testes estatísticos na busca de uma ferramenta simples para a utilização da análise do parasitismo de *Geophagus brasiliensis* como indicador ambiental.

MATERIAIS E MÉTODO

Foram realizadas coletas bimensais entre setembro de 2001 e setembro de 2002 nos reservatórios do Jaguari (22°53'20" S e 46°24'49" W, altitude 845 m - oligomesotrófico) e do Juqueri (23°19'07" S, 46°35'12" W, altitude 745 m - eutrófico).

Ambos os reservatórios foram criados para a captação de água para abastecimento e pertencem ao Sistema Cantareira sob administração da Sabesp (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo). Distam-se aproximadamente 100 km um do outro e estão interligados por túneis e canais entre os reservatórios do Jacareí, Cachoeira e Atibainha.

Para as coletas, os reservatórios foram divididos em quatro setores onde foram determinados os pontos de coleta. Foram utilizadas redes de espera de 10 m de comprimento por 1,5 m de altura e com malhas de 15, 20 e 40 milímetros, respectivamente a partir da margem, dispostas lateralmente uma a outra. As redes foram estendidas no período da tarde e recolhidas na manhã

seguinte. Todos os pontos de coletas foram fixados com a utilização de um receptor GPS, para diminuir a margem de erro na recolocação das redes.

Foram medidas temperatura, taxa de oxigênio dissolvido, pH, turbidez e condutividade da água de todos os pontos de coleta, utilizando-se equipamentos de multianálise de água. A avaliação da transparência da água foi realizada utilizando-se um disco de Secchi de 20 cm de diâmetro.

Os exemplares de *Geophagus brasiliensis* coletados foram pesados e medidos (comprimento total).

Os parasitos foram coletados e processados utilizando-se as técnicas adequadas para cada grupo de helmintos.

Índices Epidemiológicos

Os cálculos da prevalência (P) e da intensidade média de infecção (IMI) foram realizados a partir das definições apresentadas por BUSH *et al.* (1997), e são dados por:

$$P = \frac{NP}{NE} \times 100$$

onde NP é o número de peixes infectados por uma determinada espécie de parasito e NE é o número total de peixes examinados;

$$IMI = \frac{Nsp1}{NPsp1}$$

onde Nsp1 é o número de indivíduos de uma determinada espécie parasita e NPsp1 é o número de peixes infectados por essa espécie.

Índices de Diversidade

Foram calculados os índices de diversidade de Simpson e de Shannon e o índice de uniformidade de Hill, utilizando-se a soma dos indivíduos de uma determinada espécie parasita encontrada em cada mês de coleta (LUDWIG & REYNOLDS, 1988; MAGURRAN, 1988).

O índice de Simpson (λ) varia de 0 a 1 e dá a probabilidade de dois indivíduos coletados ao acaso em uma população pertencerem à mesma espécie. Se a probabilidade desses indivíduos pertencerem à mesma espécie for alta, então a diversidade da comunidade pode ser considerada baixa. O índice de Simpson é dado por:

$$\lambda = \sum_{i=1}^S \frac{n_i(n_i-1)}{n(n-1)}$$

O índice de Shannon (H') está relacionado com a riqueza e a distribuição das espécies em uma amostra. Este índice se eleva conforme aumenta o número de espécies presentes na amostra e a distribuição das espécies torna-se uniforme. $H'=0$ se apenas uma espécie ocorre na amostra e H' é máximo quando todas as espécies são representadas pelo mesmo número de indivíduos, isto é, em perfeita distribuição uniforme de abundância. É baseado na abundância proporcional das espécies contidas na amostra. O índice de Shannon é dado por:

$$H' = -\sum_{i=1}^S [(n_i/n) \log(n_i/n)]$$

O índice de uniformidade calculado é conhecido como razão modificada de Hill e é dado por:

$$E = \frac{(1/\lambda) - 1}{e^H - 1}$$

onde “e” é o algarismo neperiano (base do logaritmo natural) equivalente a 2,718. A razão modificada de Hill tende a zero quando uma espécie torna-se dominante em uma comunidade.

Coeficientes de Associação

Os coeficientes de associação foram calculados para testar as associações entre todos os pares de helmintos encontrados em *Geophagus brasiliensis* em cada um dos reservatórios, com o objetivo de verificar a independência de associação entre as espécies parasitas. Foram calculados os coeficientes de associação de Jaccard, Dice e Ochiai (JANSON & VEGELIUS, 1981; LUDWIG & REYNOLDS, 1988; POULIN & VALTONEN, 2001).

Para todos os coeficientes foram considerados os seguintes critérios:

- sp1 e sp2 = as duas espécies em associação;
- a = número de peixes em que ocorrem ambas as espécies concomitantemente;
- b = número de peixes em que ocorre a sp1 e não a sp2;
- c = número de peixes em que ocorre a sp2 e não a sp1.

O índice de Jaccard é a proporção do número de peixes onde ambas as espécies ocorrem e o número total de peixes em que pelo menos uma das espécies ocorre, e é dado por:

$$r_J = \frac{a}{a+b+c}$$

O índice de Dice é baseado na média harmônica de $\frac{A}{a+b}$ e de $\frac{a}{a+c}$

e foi calculado por:

$$r_D = \frac{2a}{2a+b+c}$$

O índice de Ochiai é baseado na média geométrica de $\frac{a}{a+b}$ e de $\frac{a}{a+c}$ e foi calculado por:

$$r_O = \frac{a}{\sqrt{a+b} \sqrt{a+c}}$$

Todos os índices variam o coeficiente de associação entre 0 (sem associação) e 1 (associação total).

Análises Estatísticas

Para as análises estatísticas dos dados obtidos, foram realizados os seguintes testes:

Teste de comparação múltipla de médias de Duncan;

- comparação entre as prevalências totais e as intensidades médias de infecção entre os reservatórios;
- comparação entre as variações das prevalências e das intensidades médias de infecção nas coletas, em cada reservatório;
- comparação entre as intensidades média de infecção em cada ponto de coleta, em cada reservatório.

A aplicação do teste de Duncan é bem mais trabalhosa do que o teste de Tukey, mas se chega a resultados mais detalhados e discrimina com mais facilidade entre os tratamentos, isto é, o teste de Duncan indica resultados significativos em casos em que o teste de Tukey não permite obter significação estatística (PIMENTEL-GOMES, 2000).

Teste “U” de Mann-Whitney

- comparação entre as variações das prevalências e das intensidades médias de infecção nas coletas, entre os reservatórios.

O teste não paramétrico “U” de Mann-Whitney é utilizado para simples comparação de duas médias que apresentam sequência dos dados relevantes muito longas e amostragem supostamente aleatorizada. O teste baseia-se no ranqueamento da frequência dos dados e da soma dos ranques, onde se obtém a cifra estatística “U” (BOX *et al.*, 1978). Para esse teste foi realizada a aproximação normal.

Teste de correlação linear de Pearson

- relação entre as prevalências, as intensidades médias de infecção, os parâmetros biológicos do peixe hospedeiro (peso e comprimento) e os parâmetros ambientais.

A idéia é não utilizar esses dados na análise ambiental, mas foram realizadas com o intuito de demonstrar que a população dessa espécie de peixe pode agir como um só organismo em relação ao parasitismo.

Na correlação linear de Pearson não é correto dizer que a correlação é “fraca” ou “forte” baseada no valor de r , e sim no valor de P . O quadrado de r indica o quanto (em porcentagem) um determinado fator está influenciando na correlação, por isso pode-se dizer que se o r é baixo este fator pode estar exercendo muito pouca influência, apesar do valor significativo de P .

Os dados de intensidade média de infecção foram logaritimizados para as análises. Todos os testes foram aplicados com intervalo de confiança igual a 5%. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico SAS (SAS Inc., 1996). Para as análises de variância foi utilizado o

procedimento PROC GLM e para a correlação foi utilizado o procedimento PROC CORR. O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi realizado com o auxílio do programa BioStat 2.0 (AYRES *et al.*, 2000).

RESULTADOS

Índices Epidemiológicos

Foram examinados 551 exemplares de *Geophagus brasiliensis*, sendo 270 do reservatório do Jaguari e 281 do reservatório do Juqueri. Os peixes mediram em média 9,09 cm ($\pm 1,38$) de comprimento e 9,75 g ($\pm 1,26$) de peso. Foram coletadas larvas de *Contracaecum* sp. e adultos de *Procamallanus peraccuratus* (Nematoda), na cavidade geral e no intestino respectivamente, além de exemplares da subfamília Ancyrocephalinae (Monogenea) nas brânquias, metacercárias de *Clinostomum* sp. (Trematoda) na superfície externa do corpo e metacestódeos de Proteocephalidea e Cyclophyllidea (Cestoda) na cavidade geral e vesícula biliar respectivamente.

Os gráficos das variações ao longo do período de coleta na prevalência dos parasitos estudados estão demonstrados na Figura 1 (a-f).

Os gráficos das variações na intensidade média de infecção dos parasitos estudados estão demonstrados na Figura 2 (a-e). Em relação aos metacestódeos Proteocephalidea, a grande quantidade de larvas formando aglomerações compactas dificultou a contagem, optando-se pela categorização dos dados em intervalos estimados de “até 500”, “entre 500 e 1000” e “mais de 1000”. Por essa razão, a análise estatística da intensidade média de infecção deste parasito não foi realizada.

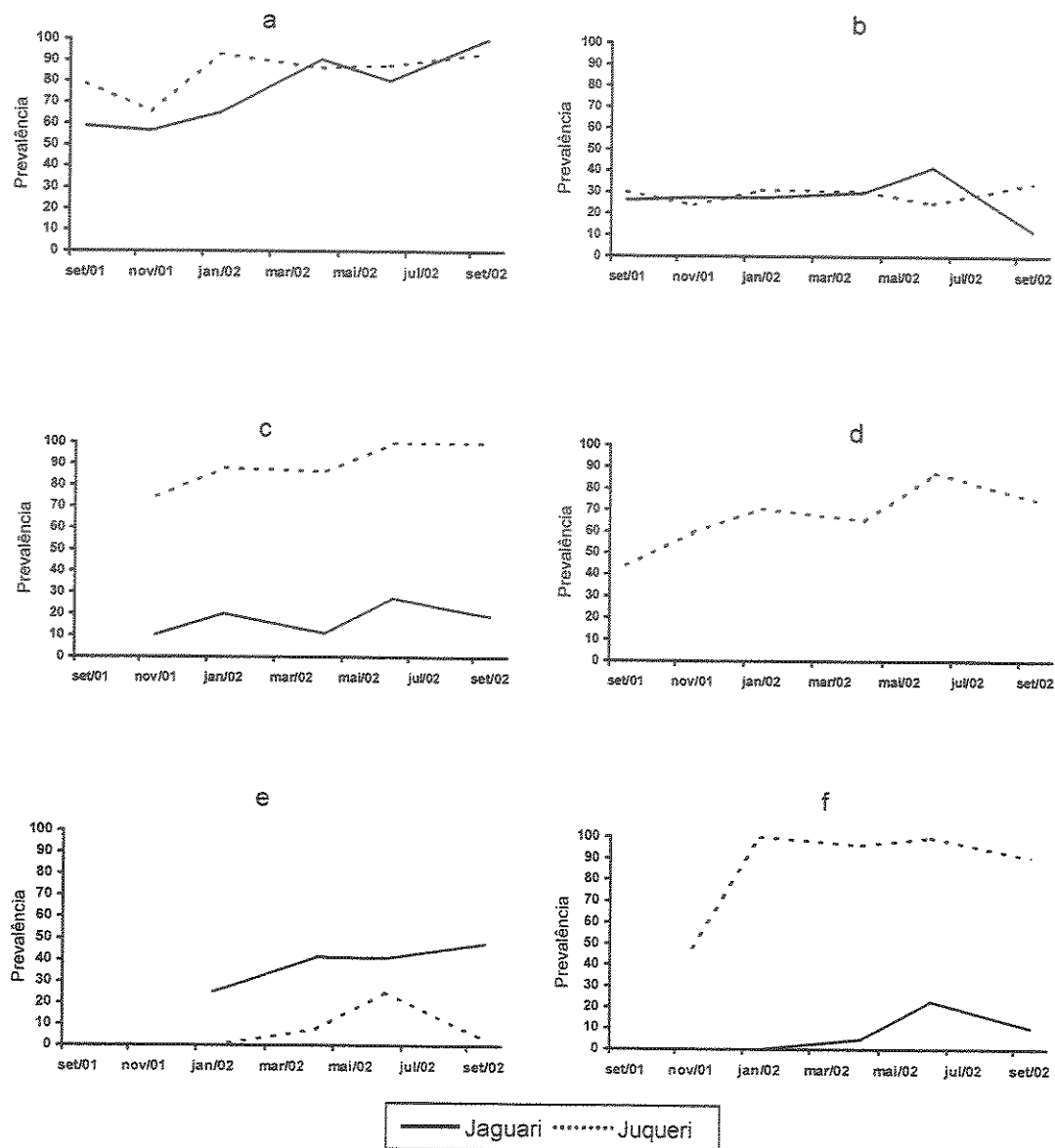


Figura 1 – Variação da prevalência dos parasitos encontrados em *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguarí e do Juqueri, entre setembro de 2001 e setembro de 2002. a) Ancyrocephalinae; b) *Contracaecum* sp.; c) Metacercária de *Clinostomum* sp.; d) *Procamallanus peraccuratus*; e) metacestódeo de Cyclophyllidea; f) metacestódeo de Proteocephalidea.

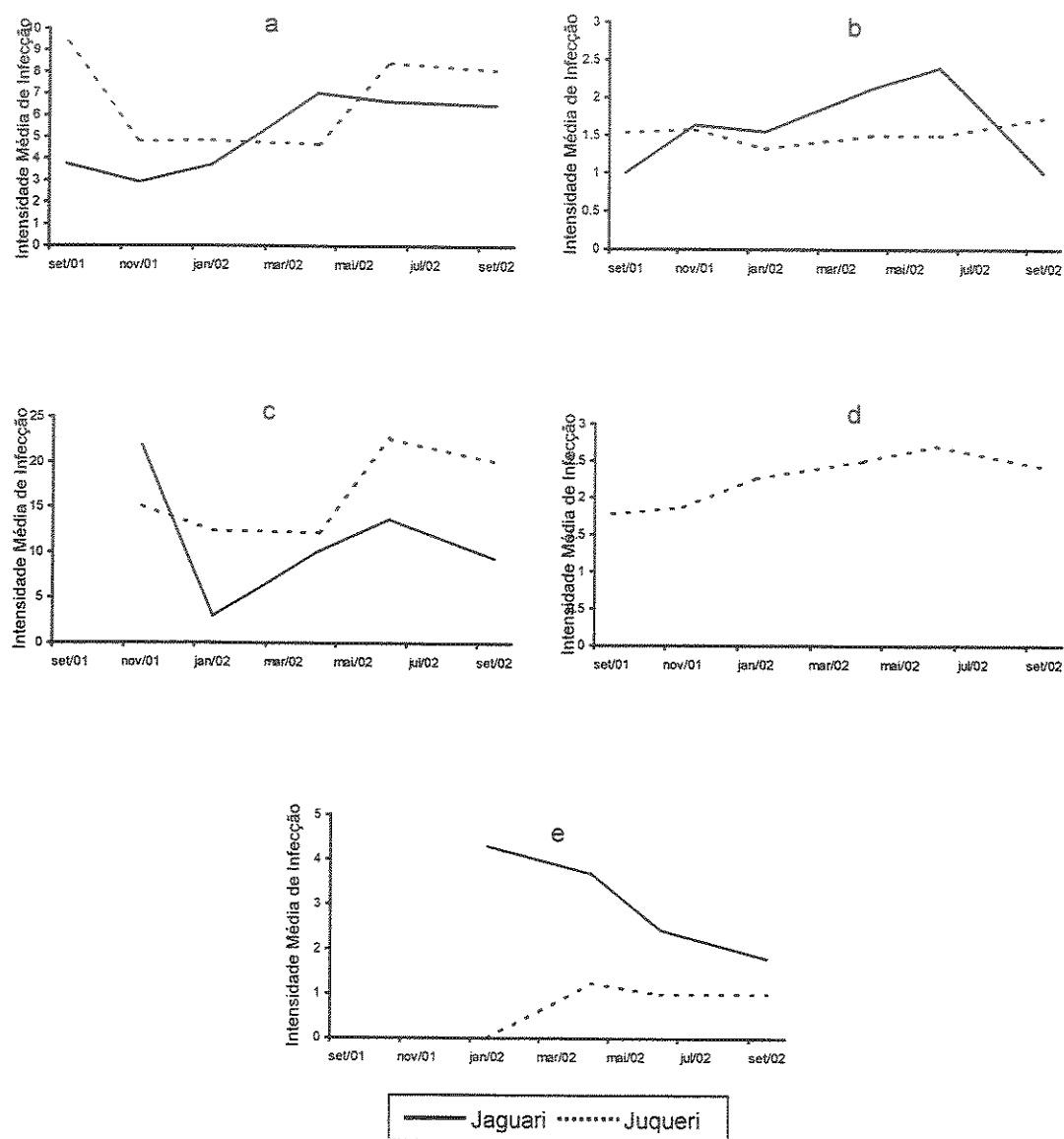


Figura 2 – Variação da intensidade média de infecção dos parasitos encontrados em *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguari e do Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002. a) Ancyrocephalinae; b) *Contracaecum* sp.; c) Metacercária de *Clinostomum* sp.; d) *Procamallanus peraccuratus*; e) metacestódeo de Cyclophyllidae.

Índices de Diversidade

As variações dos índices de diversidade dos helmintos parasitos encontrados em *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguari e do Juqueri estão demonstrados nos gráficos da Figura 3.

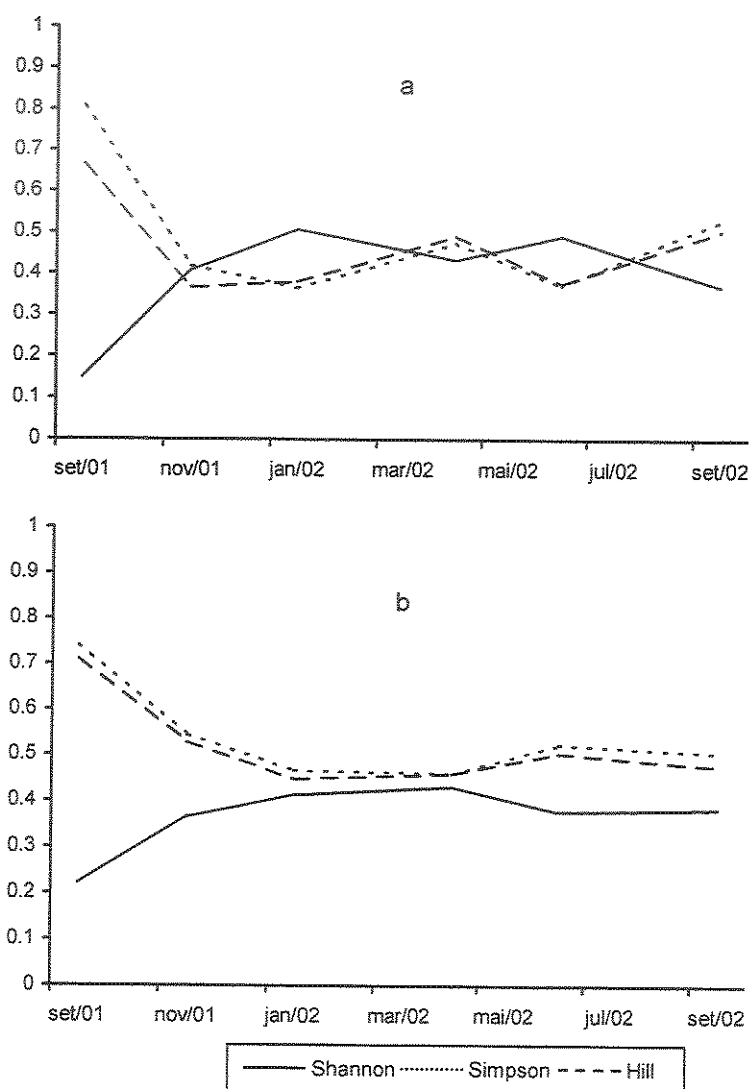


Figura 3 - Variação por coleta dos índices de diversidade dos helmintos parasitos de *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguari (a) e Juqueri (b), entre setembro de 2001 e setembro de 2002.

Coeficientes de Associação

Os coeficientes de associação pareada de Jaccard, Dice e Ochiai entre os helmintos parasitos encontrados em *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguari e do Juqueri estão expostos na Figura 4.

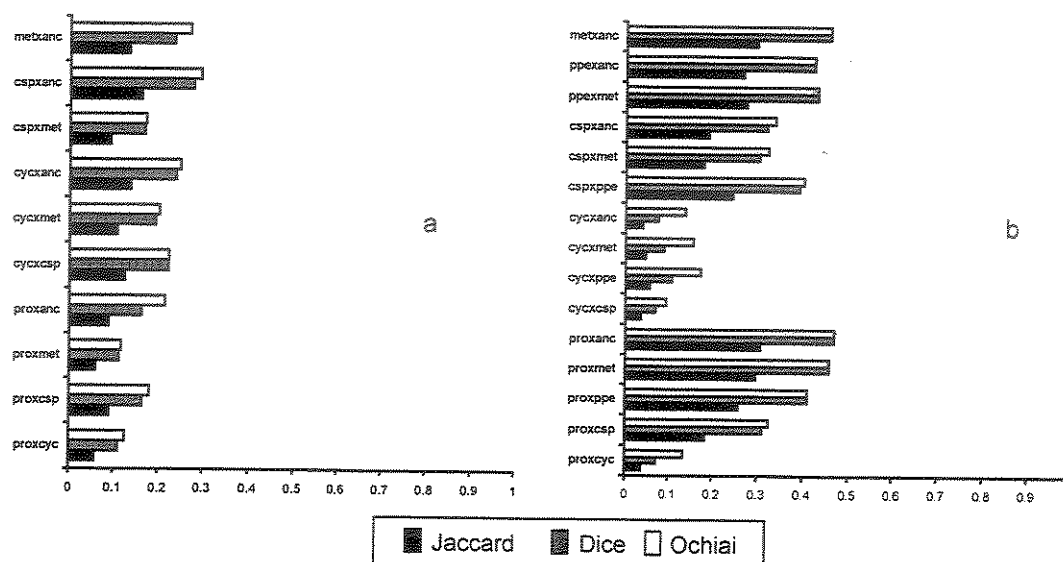


Figura 4 - Coeficientes de associação pareada – reservatório do Jaguari (a) e Juqueri (b). anc – Ancyrocephalinae; csp – *Contracaecum* sp.; cyc – Cyclophyllidea; met – metacercária; ppe – *Procamallanus peraccuratus*; pro – Proteocephalidea

Análises Estatísticas

Teste de comparação múltipla de médias de Duncan

Foi aplicado o teste de comparação entre as prevalências totais e as intensidades médias de infecção de cada helminto parasito verificando a diferença do parasitismo em *Geophagus brasiliensis* entre os reservatórios. Os resultados do teste, assim como os índices epidemiológicos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Prevalência e Intensidade média de Infecção dos helmintos parasitos de *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguari e Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002. P – nível de significância – Teste de comparação de médias de Duncan.

	Prevalência			Intensidade Média de Infecção		
	Jaguari	Juqueri	P	Jaguari	Juqueri	P
Ancyrocephalinae	76,79% (± 42,30)	82,22% (± 38,30)	0,1151	5,51 (± 6,35)	6,02 (± 6,52)	0,0746
Metacercária <i>Clinostomum</i> sp.	16,60% (± 37,28)	85,09% (± 35,70)	<0,0001	11,34 (± 22,30)	14,83 (± 20,88)	0,3386
<i>Procamallanus peraccruratus</i>	0,0%	63,33% (± 48,28)	-	0	2,19 (± 1,58)	-
Metacestódeo Cyclophyllidea	39,15% (± 48,94)	4,67% (± 21,16)	<0,0001	2,96 (± 3,05)	1,14 (± 0,38)	0,1208
Metacestódeo Proteocephalidea	9,31% (± 29,12)	79,91% (± 40,15)	<0,0001	-	-	-
<i>Contracaecum</i> sp.	27,76% (± 44,86)	29,26% (± 45,88)	0,6970	1,79 (± 1,36)	1,52 (± 0,77)	0,1929

Foi também aplicado o teste de comparação das prevalências e das intensidades médias de infecção entre as coletas, dentro de cada reservatório, para testar a diferença nas variações mensais destes índices. Os resultados do teste estão expostos na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados do teste de comparação múltipla de médias de Duncan entre variações por coleta das prevalências e intensidades médias de infecção dos helmintos parasitas de *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguari e Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002.

	Reservatório	Anc	Met	Ppe	Cyc	Pro	Csp
Prevalência	Jaguari	<0,0001	0,1177	-	0,1954	<0,0001	0,1006
	Juqueri	<0,0001	0,0064	0,0271	0,0084	<0,0001	0,8683
Intensidade Média de Infecção	Jaguari	0,0007	0,0144	-	0,0094	-	0,0353
	Juqueri	0,0002	0,0006	0,1108	0,8421	-	0,8384

Anc – Ancyrocephalinae; Met – Metacercária *Clinostomum* sp.; Ppe – *Procamallanus peraccruratus*; Cyc – Metacestódeo Cyclophyllidea; Pro – Metacestódeo Proteocephalidea; Csp – *Contracaecum* sp.

O teste de comparação múltipla de médias de Duncan foi ainda aplicado entre as prevalências e entre as intensidades médias de infecção entre os pontos de coleta, dentro de cada reservatório para metacercárias de *Clinostomum* sp., para testar a diferenciação da infecção entre os "micro-ambientes" dentro dos reservatórios (Tabela 3).

Tabela 3 – Teste de comparação múltipla de médias de Duncan entre os pontos de coleta para prevalências e intensidades médias de infecção por metacercária de *Clinostomum* sp. de *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguari e Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002.

	Prevalência		Intensidade Média de Infecção	
	Jaguari	Juqueri	Jaguari	Juqueri
metacercária de <i>Clinostomum</i> sp.	0,0384	0,2995	0,7863	<0,0001

Teste "U" de Mann-Whitney

Foi aplicado o teste não paramétrico "U" de Mann-Whitney para a comparação entre as variações das prevalências e das intensidades médias de infecção entre as coletas e entre os reservatórios (Tabela 4).

Tabela 4 – Teste "U" de Mann-Whitney entre as variações das prevalências e intensidades médias de infecção dos helmintos parasitos encontrados em *Geophagus brasiliensis* entre os reservatórios do Jaguari e do Juqueri, de setembro de 2001 a setembro de 2002.

	Prevalência		Intensidade Média de Infecção	
	Z(U)	P	Z(U)	P
Ancyrocephalinae	0,9608	0,3367	1,4412	0,1495
Metacercária <i>Clinostomum</i> sp.	2,6112	0,0090	1,5667	0,1172
<i>Procamallanus peraccuratus</i>	-	-	-	-
Metacestódeo Cyclophyllidea	2,1651	0,0304	2,3094	0,0209
Metacestódeo Proteocephalidea	2,6112	0,0090	-	-
<i>Contracaecum</i> sp.	0,6405	0,5218	0,6405	0,5218

Z(U) – aproximação normal; P – nível de significância.

Teste de correlação linear de Pearson.

O teste de correlação linear de Pearson teve por objetivo medir a influência de alguns parâmetros biológicos (peso e comprimento do peixe hospedeiro) e ambientais na prevalência e na intensidade média de infecção dos parasitos de *Geophagus brasiliensis* estudados. Os resultados das correlações estão expostos nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Correlação linear de Pearson (*r*) entre as prevalências dos helmintos parasitos de *Geophagus brasiliensis* estudados, os parâmetros biológicos do peixe hospedeiro (peso e comprimento) e os parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri, entre setembro de 2001 e setembro de 2002.

Res	Peso		Comp		Secchi		T		PH		OD		Turb		Cond		
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	R	P	r	P	r	P	
Ancyrocephalinae	Jaguari	0,11892	0,3233	0,06976	0,5632	0,05818	0,6299	0,05074	0,6743	-0,05655	0,6395	-0,23474	0,0488	-0,11221	0,3515	0,04614	0,7024
	Juqueri	-0,23652	0,0738	-0,23643	0,0740	0,18879	0,1558	0,07988	0,5511	-0,03201	0,8115	-0,15375	0,2492	-0,12393	0,3540	-0,07359	0,5830
Metacercária <i>Clinostomum</i> sp.	Jaguari	0,36243	0,0019	0,35006	0,0028	0,13728	0,2536	-0,14412	0,2305	-0,04955	0,6816	0,19850	0,0970	-0,02373	0,8443	-0,04461	0,7118
	Juqueri	0,20094	0,1304	0,20520	0,1223	-0,18924	0,1548	-0,16335	0,2205	-0,09446	0,4806	0,31839	0,0149	0,09641	0,4716	0,12042	0,3679
<i>Procamallanus</i> <i>peracuratus</i>	Juqueri	0,26108	0,0478	0,20693	0,1191	-0,02170	0,8716	-0,10202	0,4460	-0,19907	0,1341	0,17504	0,1888	-0,09657	0,4708	-0,06811	0,6115
	Jaguari	0,11859	0,3246	0,19256	0,1076	0,08959	0,4575	0,02352	0,8456	0,01625	0,8930	-0,23925	0,0445	-0,26416	0,0260	-0,20866	0,0808
Cyclophyllidea	Juqueri	-0,02314	0,8631	-0,05809	0,6649	-0,00885	0,9474	-0,16098	0,2274	-0,10879	0,4163	0,24475	0,0641	0,08975	0,5028	0,05565	0,6782
	Jaguari	-0,09210	0,4449	-0,04662	0,6995	0,14123	0,2401	-0,26439	0,0259	-0,16644	0,1654	0,18128	0,1303	-0,02334	0,8468	-0,07576	0,5301
Proteocephallidea	Juqueri	0,13140	0,3255	0,14222	0,2869	-0,16843	0,2063	-0,10500	0,4328	0,04159	0,7566	0,19251	0,1477	0,15283	0,2521	0,06968	0,6033
	Jaguari	0,19114	0,1103	0,23556	0,0480	0,14719	0,2206	-0,10520	0,3826	-0,10121	0,4010	-0,06779	0,5743	-0,05572	0,6444	0,06550	0,5873
<i>Contracaecum</i> sp	Juqueri	0,26768	0,0422	0,25966	0,0490	0,01447	0,9142	0,09036	0,4999	0,10817	0,4190	-0,18480	0,1649	-0,10198	0,4462	-0,01756	0,8959

r – coeficiente de correlação; P – nível de significância

r – coeficiente de correlação; P – nível de significância

Tabela 6 - Correlação linear de Pearson (*r*) entre as intensidades médias de infecção dos helmintos parasitos de *Geophagus brasiliensis* estudados, os parâmetros biológicos do peixe hospedeiro (peso e comprimento) e os parâmetros ambientais nos reservatórios do Jaguari e Juqueri, entre setembro de 2001 e setembro de 2002.

Res	Peso		Comp		Secchi		T		PH		OD		Turb		Cond		
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	
Ancyrocephalinae	Jaguari	0,38266	0,0021	0,11449	0,3756	0,02473	0,8487	-0,01119	0,9312	0,00292	0,9820	0,28360	0,0255	0,03384	0,7940	-0,10340	0,4239
	Juqueri	-0,12252	0,3917	-0,14167	0,3214	0,31907	0,0225	-0,24558	0,0824	-0,35966	0,0095	0,18560	0,1923	-0,26952	0,0558	-0,41376	0,0025
Metacercária <i>Clinostomum</i> sp.	Jaguari	0,01850	0,9458	0,17317	0,5213	0,01956	0,9427	0,10796	0,6906	-0,08182	0,7632	-0,31538	0,2341	-0,00213	0,9938	-0,16740	0,5355
	Juqueri	0,47589	0,0004	0,50014	0,0002	0,14713	0,3029	-0,16387	0,2505	-0,27916	0,0473	0,31167	0,0260	-0,27664	0,0494	-0,26043	0,0649
<i>Procammallanus</i> <i>peracuratus</i>	Juqueri	0,29026	0,0731	0,26858	0,0983	-0,08750	0,5963	-0,24491	0,1329	0,02525	0,8787	0,28675	0,1007	-0,04080	0,8052	-0,04405	0,7900
	Jaguari	0,26478	0,1574	0,15742	0,4061	-0,19085	0,3124	0,00706	0,9704	0,18265	0,3340	0,19968	0,2901	0,28622	0,1252	0,08485	0,6558
Cyclophyllidea	Juqueri	0,10314	0,8689	0,06661	0,9153	-0,40825	0,4950	<-0,00000	-1,0000	0,20989	0,7347	-0,02475	0,9685	0,46414	0,4310	0,38851	0,5181
	Jaguari	0,52916	0,0045	0,38946	0,0446	0,02060	0,9188	-0,03406	0,8661	0,05378	0,7899	-0,06661	0,7413	0,01913	0,9245	0,02605	0,8974
<i>Contracaecum</i> sp	Juqueri	-0,12145	0,6424	-0,17328	0,5060	0,18740	0,4714	0,02965	0,9101	0,23181	0,3706	-0,19112	0,4625	-0,16495	0,5270	-0,12409	0,6351

r -- coeficiente de correlação; P -- nível de significância

r – coeficiente de correlação; P – nível de significância

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os coeficientes de associação foram calculados para demonstrar o grau de relação entre as espécies de helmintos parasitos encontradas em *Geophagus brasiliensis*. A constatação da independência da relação entre os helmintos estudados viabiliza a utilização de uma espécie de helminto como ferramenta de análise ambiental, sem interferência de outra espécie de helminto parasito concomitante no peixe hospedeiro. Estes coeficientes são artifícios matemáticos, sem significado estatístico.

No texto de BUSH *et al.* (1997) é dito que diversidade é o conceito que descreve a composição de uma comunidade em termos de número de espécies presentes e algum fator que pese a igualdade relativa da distribuição de cada espécie. É definido na prática por um índice particular de diversidade escolhido para descrevê-la.

Várias maneiras que definem e medem a diversidade foram propostas, mas deve ser enfatizado que a diversidade é uma simples estatística no qual o número de espécies (riqueza) e a uniformidade são confundidas, portanto alguma ambiguidade nesse sentido é inevitável. Riqueza de espécies é o número de espécies presentes em uma amostra. Uniformidade é uma medida de disparidade no número de indivíduos que representam cada espécie. Comunidades com alta riqueza de espécies, uniformidade ou ambos são consideradas geralmente mais diversas que comunidades com baixa riqueza de espécie, igualdade ou ambos. Entretanto, porque a diversidade é frequentemente descrita por um simples conjunto de dados acreditamos que muita informação é perdida, limitando os tipos de comparação que se possa fazer (PIELOU, 1977).

BUSH *et al.* (op. cit.) afirmam ainda que:

"A variedade de índices que foram desenvolvidos para quantificar o conceito de diversidade é a evidência sutil, ainda que importante, das variações de opinião existentes entre os pesquisadores no que eles consideram ser o conceito. A contribuição de cada espécie pode ser medida equitativamente sem considerar o número de indivíduos de cada espécie encontrada e em algumas vezes considerando o número de indivíduos. Em último caso, importância relativamente grande pode ser dada para espécies mais comuns (com o índice de Simpson) ou para as espécies raras (com o índice de Shannon). Visões tradicionais de diversidade consideram um indivíduo de uma espécie sendo de igual importância que um indivíduo de qualquer outra espécie. O conceito de diversidade é aplicado em qualquer escala apropriada para o nível organizacional da comunidade estudada, quer seja infra-, componente ou supracomunidade. Diferentes tipos de diversidade são reconhecidos na literatura ecológica e reflete o conceito sendo aplicado a uma coleção como um todo ou a padrões de alteração na diversidade ao longo de um gradiente ou dentro de uma região definida".

As medidas de diversidade mostram as variações que ocorrem na comunidade quando esta se comporta como um único elemento, não destacando nenhuma espécie individualmente. Por esse fato sua utilização como ferramenta de análise ambiental, em relação à parasitos de peixes, deve ser cuidadosamente observada e discutida.

KREBS (1999) alerta para o uso correto das medidas de diversidade em estudos da comunidade. Pesquisadores raramente fazem medidas de diversidade entre os níveis tróficos e poucos aplicam as medidas nas comunidades como um todo. KREBS (*op.cit.*) diz ainda que a atenção do pesquisador deve estar voltada para qual a questão ou hipótese que se está querendo testar utilizando-se as medidas de diversidade. Outra questão levantada por este autor é o quanto da comunidade deve ser incluído na amostra.

Muitos estudos de diversidade optam por uma contagem simples de riqueza de espécies porém o índice de Shannon é o mais utilizado, principalmente em estudo de diversidade estrutural (MAGURRAN, 1988).

Metodologias “top-down”, que avaliam, em nível macro, os impactos ambientais por meio de medição da alteração da organização estrutural e funcional das comunidades biológicas ou dos ecossistemas (BUSS *et al.*, 2003), demonstram ser mais viáveis como um caminho rápido e prático para o manejo de ecossistemas. De acordo com MOULTON (1998) as metodologias “top-down” são mais vantajosas para a análise da qualidade ambiental por avaliarem eficientemente: a perda real da diversidade de espécies, em vez de avaliarem os efeitos indiretos de agentes estressores; o efeito sinérgico das alterações antropogênicas ocorridas na bacia hidrográfica; qualidade da água por métodos relativamente simples e de baixo custo; o impacto de espécies exóticas sobre a fauna e flora local; e a integridade ecológica dos ecossistemas aquáticos.

GREEN (1979) sugeriu que índices de diversidade são meios inapropriados para medir os efeitos da poluição, porque a diversidade depende de outros fatores além da poluição. A observação que a diversidade aumenta com a diminuição da poluição não prova automaticamente que um responda diretamente ao outro. Em exemplo citado por MAGURRAN (1988) um lago oligotrófico recebendo cargas moderadas de fosfatos e nitratos pode aumentar o número de espécies, sem que isso signifique uma melhora na qualidade da água.

Índices de diversidade são mais proveitosos quando utilizados em trabalhos de monitoramento a longo prazo, isto é, coletas de parasitos por, pelo menos, dois anos (BUSH *et al.*, 1997). O período abrangido neste trabalho pode não ter sido suficiente para os índices de diversidade demonstrarem variações no parasitismo relacionadas às alterações ambientais ao longo dos meses de coleta, nem diferenças entre os reservatórios, não indicando a sua utilização como ferramenta de análise ambiental a curto prazo.

Por outro lado, MARCOGLIESE & CONE (1996) relataram alterações nos índices de Shannon e de Hill na comunidade parasitária de *Anguilla rostrata*, quando ocorreram mudanças no pH em rios da Nova Scotia (Canadá)

entre 1989 e 1993. BROEG *et al.* (1999), trabalhando com *Platichthys flesus* na Alemanha, demonstraram que a diversidade de espécies parasitárias foi significativamente maior em peixes capturados próximos aos sítios de referência e significativamente menor em peixes coletados no estuário poluído do rio Elbe, durante os anos de 1995 a 1997. Posteriormente SCHMIDT *et al.* (2003) acrescentaram novas observações ao monitoramento realizado por BROEG *et al.* (1999) no estuário do rio Elbe, totalizando cinco anos de amostragens. SCHMIDT *et al.* (2003) constataram que as medidas de diversidade e riqueza demonstraram uma alteração gradual quando considerado o parasitismo de *P. flesus* em dois períodos de três anos (1995-1997 e 1997-2000).

Como dito por vários autores, o ciclo de alguns parasitos depende de organismos pequenos e delicados e a mínima variação ambiental atinge esses organismos, refletindo sobre o parasitismo dos peixes. A escolha de qual parasito que apresenta condições de ser utilizado como ferramenta de análise ambiental é complexa. Alguns autores dizem que quanto mais complexo o ciclo de vida do parasito e quanto mais ele se utiliza de hospedeiros intermediários invertebrados melhor será sua resposta na alteração ambiental (MACKENZIE *et al.*, 1995; MARCOGLIESE & CONE, 1997; SCHMIDT *et al.*, 2003).

Outros, porém dizem que os ectoparasitos são os melhores indicadores pois estão em contato direto com o ambiente e conseqüentemente respondem mais rapidamente às alterações ocorridas no meio (LAFFERTY, 1997; DUSEK *et al.*, 1998; BROEG *et al.*, 1999; KHAN, 2004). Neste trabalho o parasito que melhor respondeu às alterações da turbidez foi Ancyrocephalinae que, além de possuir ciclo direto, é considerado um ectoparasito espécie-específico. Existem alguns trabalhos relatando alterações na intensidade média de infecção por monogêneas quando o peixe se encontra em ambientes poluídos, associando o aumento da intensidade da infecção com a irritação e excessiva produção de

muco nas brânquias, além da queda da resistência imunológica do peixe (SKINNER, 1982; KHAN & KICENIUK, 1988).

Em contraste, as larvas metacercárias de trematódeo caracterizaram um ambiente mais eutrofizado. As altas prevalências e intensidades médias de infecção por metacercária encontradas no reservatório do Juqueri coincidem com áreas de remanso e deságue de tributários na represa. Nesses ambientes a quantidade de dejetos orgânicos é naturalmente maior, pois os riachos ao desaguiarem na represa encontram um ambiente lântico e a velocidade necessária para carrear os dejetos, e outros materiais em suspensão, decrescem consideravelmente ocorrendo então a sedimentação desse material e a alta concentração de nutrientes na área de remanso. A elevada concentração de nutrientes faz com que desenvolvam macrófitas e outros tipos de vegetação. Esses locais tornam-se ideais para a criação de moluscos hospedeiros intermediários. O reservatório do Jaguari não apresenta nenhuma área semelhante à descrita anteriormente, talvez por isso que tanto a intensidade média de infecção quanto a prevalência não apresentaram diferenças estatísticas entre os pontos de coleta, inclusive mantendo-se mais baixa nos dois quesitos em relação ao reservatório do Juqueri.

GELNAR *et al.* (1997) dizem que o monitoramento biológico dos parasitos de peixes em relação à distúrbios ambientais é baseado na avaliação da composição e estrutura da comunidade parasitária como indicadores sensíveis de estresse direto (endoparasito) ou indireto (ectoparasito) no ecossistema aquático como um todo.

Um fato intrigante foi a inversão dos índices epidemiológicos ocorrida entre as larvas de cestódeos nos dois reservatórios (Figuras 1e e 1f). O reservatório do Juqueri apresentou uma elevada prevalência de larvas de proteocefalídeos. A mesma larva demonstrou baixa prevalência no reservatório do Jaguari. Outra larva de cestódeo, um ciclofilídeo encontrado na vesícula

biliar dos peixes hospedeiros, apresentou prevalência e intensidade média de infecção maior no reservatório do Jaguari comparado com o Juqueri. Uma das hipóteses levantadas foi o do tipo de copépodo hospedeiro intermediário encontrado nos reservatórios. Foi então realizado um trabalho em que se pesquisou quais as espécies de copépodos estavam atuando como potenciais hospedeiros intermediários em ambos os reservatórios (Anexo II). Os resultados mostraram que, apesar dos copépodos da sub-ordem Cyclopoida predominarem em ambos os reservatórios (62,03% do total de copépodos coletados no reservatório do Jaguari e 75,28% no Juqueri), apenas copépodos do grupo calanoida, mais precisamente o gênero *Notodiaptomus*, foram encontrados positivos para cestódeos no reservatório do Juqueri. Os cestódeos encontrados nos copépodos eram tanto proteocefalídeos quanto ciclofílídeos, porém a prevalência de proteocefalídeos foi maior. A quantidade de copépodos coletados no reservatório do Jaguari foi maior do que no Juqueri (3123 copépodos sendo 772 calanoidas e 2351 ciclopoidas no Jaguari e 551 copépodos sendo 194 calanoidas e 317 ciclopoidas no Juqueri) e no entanto no reservatório do Jaguari foi encontrado apenas um copépodo ciclopoida supostamente positivo. Curiosamente em uma das coletas realizadas à noite no reservatório do Jaguari, a quantidade de copépodos calanoida coletados foi muito alta e no entanto não foi encontrado nenhum indivíduo positivo. Existem relatos relacionados às alterações no comportamento de copépodos parasitados e os resultados obtidos no trabalho de plânctons corroborou isso, pois os indivíduos que estavam positivos foram coletados durante o dia na margem do reservatório e, segundo os estudos de comportamento do zooplâncton (migração vertical), nesse horário eles deveriam estar em uma camada mais funda da região limnética, vindo para a superfície apenas durante a noite (LUCAS & MERINFELD, 1967; ARCIFA *et al.*, 1992; ESTEVES, 1998)

As larvas de *Contracaecum* sp. não apresentaram nenhuma diferença entre os reservatório nem dentro dos reservatórios. A prevalência e a

intensidade média de infecção foram semelhantes nos dois reservatórios. Como é um parasito de aves aquáticas migradoras (*Phalacrocorax brasilianum* – biguá) era de se esperar que houvesse uma distribuição homogênea dentro dos reservatórios. A disseminação do parasito nesse caso é rápida pois não ocorre a especificidade de hospedeiro sendo qualquer peixe, zooplânctófago ou piscívoro, hospedeiro intermediário ou paratênico. A infecção foi distribuída equitativamente ao longo de ambos os reservatórios, apesar de não terem aparecido copépodos parasitados com as larvas dos nematóides, tanto de *Contracaecum* sp. quanto de *Procamallanus peraccuratus*. A prevalência de *Contracaecum* sp. foi realmente mais baixa do que a das larvas de proteocefalídeos

GHIRALDELLI *et al.* (2004) realizaram infecção experimental de helmintos do gênero *Camallanus* em copépodos *Notodiptomus* sp. A infecção foi bem sucedida apresentando bons índices de parasitismo. Talvez isso ajude a explicar a razão pelo qual se encontra a espécie do Camallanidae *Procamallanus peraccuratus* no reservatório do Juqueri e não no Jaguari, uma vez que o gênero de copépodo utilizado para a infecção experimental é o mesmo que foi encontrado parasitado por larvas de Proteocephalidea em maior prevalência no Juqueri. Porém, como não foram encontrados copépodos parasitados por larvas de nematódeos, fica difícil e delicado afirmar que este parasita pode ser utilizado como indicador da mesma maneira que para os cestódeos.

Outra hipótese é que esta espécie de parasita pode ter sido introduzida no reservatório do Juqueri junto com os peixes exóticos da família Cichlidae. É uma suposição que precisa ser confirmada com o encontro desse mesmo parasita em peixes do gênero *Cichla* presentes no reservatório.

GELNAR *et al.* (1997) elaboram quatro propostas com grande prioridade para as pesquisas na utilização de parasitas de peixes como indicadores:

- 1 – esforço deve ser devotado à padronização de métodos de amostragem das comunidades de parasitos de peixes em ambientes diferentes;
- 2 – pesquisas focadas em flutuações naturais (sazonais) da comunidade de parasitos de peixes, sobre um leque de fatores ambientais, onde os biólogos possam avaliar mais sensivelmente o significado das variações causadas por perturbações;
- 3 – manipulação experimental com controle próprio e número efetivo de réplicas para testar hipóteses ainda não fundamentadas. As mais práticas e realizáveis manipulações experimentais são aquelas que melhoram o habitat ou a qualidade da água e são aplicadas para melhorar a integridade biótica das comunidades aquáticas incluindo os parasitos;
- 4 – a necessidade de criação de projetos complexos e multidisciplinares e a colaboração muito próxima entre parasitologistas de peixes, ecotoxicologistas ambientais e especialistas ambientais (principalmente químicos).

RABINOVICH (1980) diz que não há um índice perfeito que detecte as características do arranjo (ajuste) em todos os casos; a única maneira de selecionar o índice mais apropriado é quando se tem certo conhecimento geral sobre a disposição dos organismos, e uma idéia da variabilidade entre as áreas a comparar em relação ao número e tamanho das amostras e da densidade média.

PLATT *et al.* (1984) alertam contra o uso de apenas uma espécie como indicador. Estes autores notaram que a abundância de organismos pode variar de acordo com outros fatores além da poluição, o que também pode ocorrer com espécies sensíveis à poluentes. Também foi observado que muitos grupos, incluindo os nematódeos, podem não ser candidatos à espécie indicadora.

Para o monitoramento em curto prazo (máximo 1 ano) é recomendável a utilização de índices epidemiológicos como a prevalência e a intensidade de infecção. Os índices de diversidade (Shannon, Simpson e Hill) não se mostraram adequados para monitoramento ambiental para o período estudado (um ano).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersson, T.; Forlin, L.; Hardig, J. & Larsson, A. 1988. Physiological disturbances in fish living in coastal water polluted with bleached kraft pulp mill effluents. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** v. 45, p. 1525-1536.
- Arcifa, M.S.; Gomes, E.A.T. & Meschiatti, A.J. 1992. Composition and fluctuations of the zooplankton of a tropical Brazilian reservoir. **Arch. Hydrobiol.** v. 123, n. 4, p. 479-495.
- Ayres, M.; Ayres Jr., M.; Ayres, D.L. & Santos, A.S. 2000. **BioEstat 2.0. Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas.** Sociedade Civil Mamirauá/MCT-CNPQ. Belém. xii+ 272 p.
- Barker, D.E; Khan, R.A.; Lee, E.M.; Hooper, R.G. & Ryan, K. 1994. Anomalies in sculpins (*Myoxocephalus* spp.) sampled near a pulp and paper mill. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** v. 26, p. 491-496.
- Box, G.E.P.; Hunter, W.G. & Hunter, J.S. 1978. **Estatistics for experimenters.** John Wiley & Sons. New York. 653p.
- Broeg, K.; Zander, S.; Diamant, A.; Körting, W.; Krüner, G.; Paperna, I. & Westernhagen, H.V. 1999. The use of fish metabolic, pathological and parasitological indices in pollution monitoring. I. North Sea. **Helgol. Mar. Res.** v. 53, p. 171-194.
- Brumley, C.M.; Haritos, V.S.; Ahokas, J.T. & Holdway, D.A. 1998. The effects of exposure duration and feeding status on fish bile metabolites: implications for biomonitoring. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 39, p. 147-153.
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M. & Shostak, A.W. 1997. Parasitology meet ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. **J. Parasitol.** v.83, n. 4, p. 575-583.
- Buss, D.F.; Baptista, D.F. & Nessimian, J.L. 2003. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cad. Saúde Pública.** v. 19, n.2, p. 465-473.

- D'Amelio, S. & Gerasi, L. 1997. Evaluation of environmental deterioration by analysing fish parasite biodiversity and community structure. **Parassitologia**. v. 39, p. 237-241.
- Diamant, A.; Banet, A.; Paperna, I.; Westernhagen, H.v.; Broeg, K.; Krüner, G.; Körting, W. & Zander, S. 1999. The use of fish metabolic, pathological and parasitological indices in pollution monitoring. II. The Red Sea and Mediterranean. **Helgol. Mar. Res.** v. 53, p. 195-208.
- Dusek, L.; Gelnar, M. & Sebelová, S. 1998. Biodiversity of parasites in a freshwater environment with respect to pollution: metazoan parasites of chub (*Leuciscus cephalus* L.) as a model for statistical evaluation. **Int. J. Parasitol.** v. 28, p. 1555-1571.
- Esteves, F.A. 1998. **Fundamentos de Limnologia**. 2ª edição. Ed. Interamericana. Rio de Janeiro. 602p.
- Gagnon, M.M. & Holdway, D.A. 1999. Metabolic enzyme activities in fish gills as biomarkers of exposure to petroleum hydrocarbons. **Ecotoxícol. Environ. Saf.** v. 44, p. 92-99.
- Gelnar, M.; Sebelová, S. Dusek, L.; Koubková, B., Jurajda, P. & Zahradková, S. 1997. Biodiversity of parasites in freshwater environment in relation to pollution. **Parassitologia**. v. 39, p. 189-199.
- Ghirdelli, L.; Martins, M.L.; Francisco, C.J.; Fabiana, G. & Onaka, E.M., 2004. Infecção experimental de *Notodiaptomus* sp. (Crustacea: Calanoida) por *Camallanus maculatus* (Nematoda: Camallanidae). In: Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 8.; 2004, Laguna, SC. **Resumos**. Laguna: ABRAPOA, 2004, p. 22.
- Green, R.H. 1979. **Sampling design and statistical method for environmental biologists**. Wiley-Interscience Pub. New York. 257p.
- Janson, S. & Vegelius, J. 1981. Measures of ecological association. **Oecologia**. v. 49, p. 371-376.
- Khan, R.A. 2004. Parasites of fish as biomarkers of environmental degradation: a field study. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** v. 72, p. 394-400.
- Khan, R.A.; Barker, D.E.; Hooper, R.G.; Lee, E.M.; Ryan, K. & Nag, K. 1994. Histopathology in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) living in adjacent to a pulp and paper mill. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** v. 26, p. 95-102.
- Khan, R.A. & Kiceniuk, J.W. 1988. Effect of petroleum aromatic hydrocarbons on monogenoids parasitizing Atlantic cod, *Gadus morhua* L. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** v. 41, p. 94-100.

- Khan, R.A. & Payne, J.F. 1997. A multidisciplinary approach using several biomarkers, including a parasite, as indicators of pollution: a case history from a paper mill in Newfoundland. **Parassitologia** v. 39, p. 183-188.
- Khan, R. A. & Thulin, J. 1991. Influence of pollution on parasites of aquatic animals. **Adv. Parasitol.** v.30, p. 201-238.
- Krebs, C.J. 1999. **Ecological methodology**. 2nd ed. Addison-Wesley Educ. Publ. Menlo Park. 581p.
- Lafferty, K.D. 1997. Environmental parasitology: what can parasites tell us about human impacts on the environment? **Parasitol. Today** v. 13, n. 7, p. 251-255.
- Lucas, L.V. & Merinfeld, E.G. 1967. Nota preliminar sobre o plancton do lago Monte Alegre. **Cienc. Cult.** v. 19, n. 2, p. 436.
- Ludwig, J.A. & Reynolds, J.F. 1988. **Statistical ecology: a primer on methods and computing**. John Wiley & Sons Inc. New York. 316+xvii p.
- Mackenzie, K.; Willians, H. H.; Willians, B.; McVicar, A. H. & Siddal, R. 1995. Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. **Adv. Parasitol.** v.35, p. 85-144.
- Magurran, A.E. 1988 **Ecological diversity and its measurement**. Princenton Univ. Press. Princenton. 179p.
- Marcogliese, D.J. & Cone, D.K. 1996. On the distribution and abundance of eel parasites in Nova Scotia: influence of pH. **J. Parasitol.** v. 82, n. 3, p. 389-399.
- McMaster, M.E.; Van Der Kraak, G.J.; Portt, C.B.; Munkittrick, K.R.; Sibley, P.K.; Smith, I.R. & Dixon, D.G. 1991. Changes in hepatic mixed-function oxygenase (MFO) activity, plasma sterol levels and age at maturity of a white sucker (*Catostomus commersoni*) population exposed to bleached kraft mill effluent. **Aquat. Toxicol.** v. 21, p. 199-218
- Moulton, T.P. 1998. Saúde e integridade do ecossistema e o papel dos insetos aquáticos. *In*: Nessimian, J.L. & Carvalho, A.L. Org. **Ecologia de insetos aquáticos**. Ed. UFRJ, Rio de Janeiro. p. 281-298.
- Overstreet, R.M. 1997. Parasitological data as monitors of environmental health. **Parassitologia** v.39, p. 169-175.
- Payne, J.F.; Mathieu, A. Melvin, W. & Fancy, L.L. 1996 Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. **Mar. Pollut. Bull.** v. 32, p. 225-231.
- Pielou, E.C. 1977. **Mathematical ecology**. John Wiley & Sons. New York. 385p.

- Pimentel-Gomes, F. 2000. **Curso de estatística experimental**. 14^a edição. F. Pimentel-Gomes Editora, Piracicaba. 477p.
- Platt, H.M.; Shaw, K.M. & Lambhead, P.J.D. 1984. Nematode species abundance patterns and their use in the detection of environmental perturbations. **Hydrobiologia** v. 118, p. 59-66.
- Porter, E.L.; Payne, J.F.; Kiceniuk, J.; Faney, L. & Melvin, W. 1989. Assessment of the potential for mixed-function oxygenase enzyme induction in the extrahepatic tissues of cunners (*Tautoglabrus adspersus*) during reproduction. **Mar. Environ. Res.** v. 28, p. 117-121.
- Poulin, R. & Valtonen, E.T. 2001. Interspecific association among larval helminths in fish. **Int. J. Parasitol.** v. 31, p. 1589-1596.
- Rabinovich, J.E. 1980 **Introducción a la ecología de poblaciones animales** Compañía Editorial Continental. México DF. 313p.
- SAS Institute Incorporation., 1996. **SAS User's Guide: Statistics**. Release 6.12. North Caroline, Cory. 1098p.
- Schmidt, V.; Zander, S.; Körting, W. & Steinhagen, D. 2003. Parasites of the flounder *Platichthys flesus* (L.) from the German Bight, North Sea, and their potential use in ecosystem monitoring. **Helgol. Mar. Res.** v. 57, p. 236-251.
- Skinner, R.H. 1982. The interrelation of water quality, gill parasites, and gill pathology of some fishes from south Biscayne Bay, Florida. **Fish. Bull.** v. 80, f. 2, p. 269-280.
- Sures, B. 2004. Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. **Trends Parasitol.** v. 20, n. 4, p. 170-177.
- Walther, B.A.; Cotgreave, P.; Price, R.D.; Gregory, R.D. & Clayton, D.H. 1995. Sampling effort and parasite species richness. **Parasitol. Today** v. 11, n. 8, p. 306-310.

CONCLUSÕES GERAIS

- A prevalência de metacercárias de *Clinostomum* sp. demonstrou ser indicador de ambientes em relação à eutrofização, enquanto que a intensidade média de infecção deste mesmo parasito foi o índice que melhor refletiu as diferenças pontuais no reservatório eutrofizado.
- O papel do monogenóide Ancyrocephalinae como indicador ambiental não pôde ser totalmente elucidado, já que as leituras dos índices epidemiológicos refletiram as condições atípicas do reservatório (longo período de estiagem seguido de chuvas). Mesmo assim estes índices mostraram as variações que ocorreram no ambiente durante a coleta de dados, demonstrando a potencialidade deste parasita como indicador de alterações ambientais.
- O parasitismo por metacestódeos atuou como indicador faunístico, pois as diferentes prevalências encontradas aparentemente dependeram das variadas espécies de invertebrados hospedeiros intermediários, planctônicos e/ou bentônicos - especialmente copépodos, presentes nos reservatórios.
- Os índices epidemiológicos encontrados para o nematódeo *Procamallanus peraccurattus* e para as larvas de *Contracaecum* sp. não permitiram uma avaliação apropriada quanto à importância destes parasitos como indicadores ambientais.
- Os índices de diversidade (Shannon, Simpson e Hill) não se mostraram adequados para o monitoramento durante o período estudado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, R.C. 1988. Nematode transmission patterns. **J. Parasitol.** v. 74, n. 1, p. 30-45.
- Andersson, T.; Forlin, L.; Hardig, J. & Larsson, A. 1988. Physiological disturbances in fish living in coastal water polluted with bleached kraft pulp mill effluents. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** v. 45, p. 1525-1536.
- Axelrod, H.R. & Schultz, L.P. 1955. **Handbook of tropical aquarium fishes.** McGraw-Hill Book, New York, 634 p.
- Barker, D.E; Khan, R.A.; Lee, E.M.; Hooper, R.G. & Ryan, K. 1994. Anomalies in sculpins (*Myoxocephalus* spp.) sampled near a pulp and paper mill. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** v. 26, p. 491-496.
- Bellay, S; Takemoto, R.M.; Lizama, M.A.P., Tevernari, F.C., Guidelli, G.M. & Pavanelli, G.C. 2004. Monogenea parasitas de brânquias de *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Perciformes, Cichlidae) em reservatórios do Estado do Paraná, Brasil. *In*: Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 8.; 2004, Laguna, SC. **Resumos.** Laguna: ABRAPOA, 2004, p. 50.
- Boerger, W.A. & Popazoglo, F. 1995. Neotropical Monogenoidea. 23. Two new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae) from a cichlid and an erythrinid fish of southeastern Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** v. 90, p. 689-694.
- Brumley, C.M.; Haritos, V.S.; Ahokas, J.T. & Holdway, D.A. 1998. The effects of exposure duration and feeding status on fish bile metabolites: implications for biomonitoring. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 39, p. 147-153.
- Chubb, J.C. 1980. Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part III. Larval Cestoda and Nematoda. **Adv. Parasitol.** v. 18, p. 1-120.
- Chubb, J.C. 1982. Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part IV. Adult Cestoda, Nematoda and Acanthocephala. **Adv. Parasitol.** v. 20, p. 1-292.
- Costa, W.J.E.M. 1987. Feeding habits of a fish community in a tropical coastal stream, Rio Mato Grosso, Brazil. **Stud. on Neotrop. Fauna and Environment** v. 22, n. 3, p. 145-153.

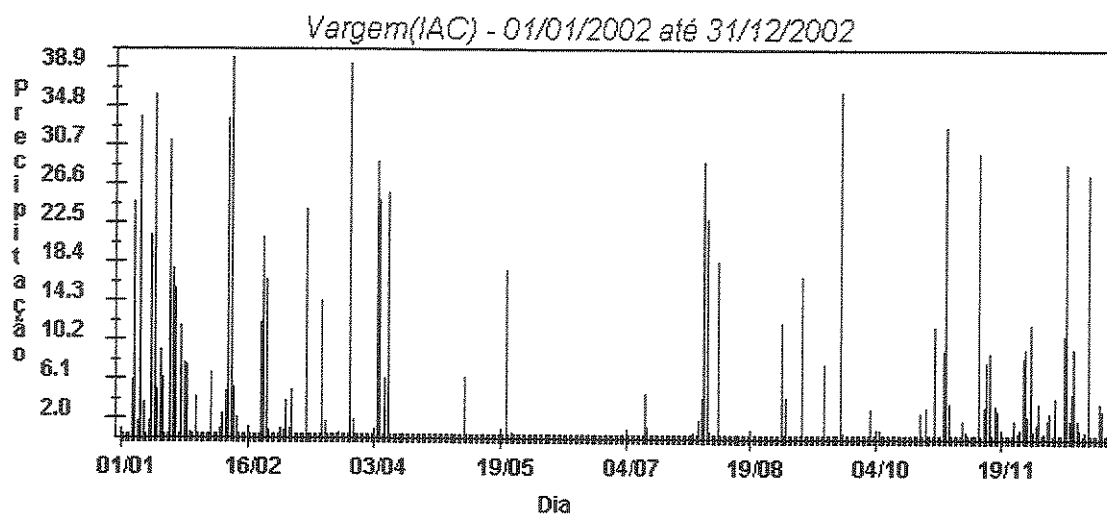
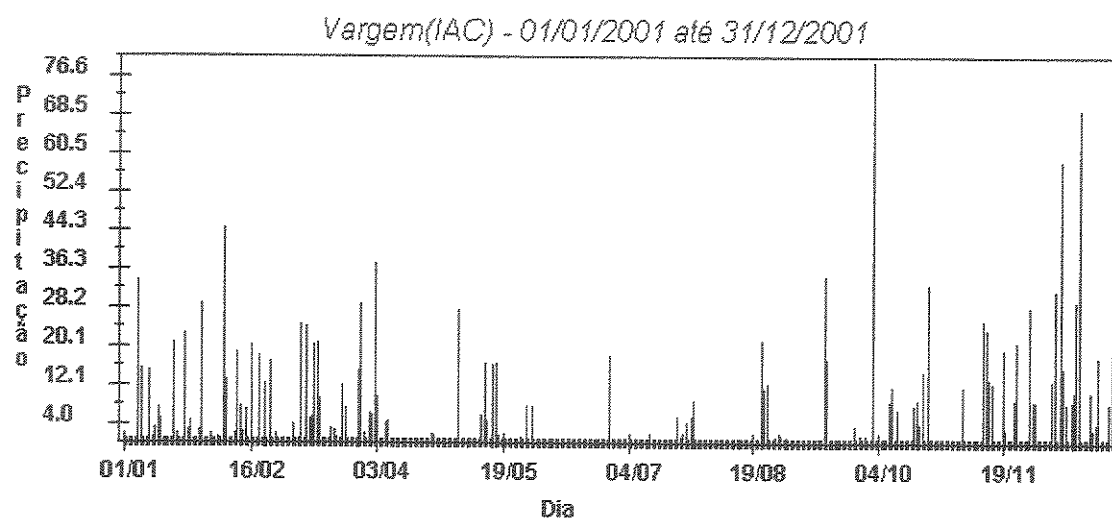
- D'Amelio, S. & Gerasi, L. 1997. Evaluation of environmental deterioration by analysing fish parasite biodiversity and community structure. **Parassitologia** v. 39, p. 237-241.
- Dick, T.A. 1998. Fish parasites as indicators of freshwater ecosystem stability and change. **Parasitol. Int.** v. 47, suppl., p. 43.
- Fernandes, B.M.M. & Kohn, A. 2001. On some trematodes parasites of fishes from Paraná River. **Braz. J. Biol.** v. 61, f. 3, p. 461-466.
- Froese, R. & Pauly, D. Editors. 2004. **FishBase. World Wide Web electronic publication.** <www.fishbase.org>. Downloaded on november 2004
- Gagnon, M.M. & Holdway, D.A. 1999. Metabolic enzyme activities in fish gills as biomarkers of exposure to petroleum hydrocarbons. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 44, p. 92-99.
- Gelnar, M.; Sebelová, S.; Dusek, L.; Koubková, B., Jurajda, P & Zahradková, S. 1997 Biodiversity of parasites in freshwater environment in relation to pollution. **Parassitologia** v. 39, p. 189-199.
- Guimarães, J.R. 1930a. O acará *Geophagus brasiliensis*, Quoy & Gaimard. **Rev. Ind. Anim.** v. 6, p. 658-662.
- Guimarães, J.R. 1930b. O acará *Geophagus brasiliensis*, Quoy & Gaimard. Notas sobre sua evolução. **Bol. Agr.** v. 31, p. 1329-1339.
- Höfling, J.C.; Ferreira, L.I.; Ribeiro Neto, F.B.; Santos, M.V.S. & Martins, T. 2001. Alimentação de *Apareiodon affinis* e *Geophagus brasiliensis* na represa de Jaguari-Jacareí, SP, Brasil. **Bioikos** v.15, n.1, p. 7-10.
- IUCN 2004. **2004 IUCN Red List of Threatened Species.** <www.redlist.org>. Downloaded on november 2004.
- Khan, R.A. & Thulin, J. 1991. Influence of pollution on parasites of aquatic animals. **Adv. Parasitol.** v.30, p. 201-238.
- Khan, R.A. & Payne, J.F. 1997. A multidisciplinary approach using several biomarkers, including a parasite, as indicators of pollution: a case history from a paper mill in Newfoundland. **Parassitologia** v. 39, p. 183-188.
- Khan, R.A.; Barker, D.E.; Hooper, R.G.; Lee, E.M.; Ryan, K. & Nag, K. 1994. Histopathology in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) living in adjacent to a pulp and paper mill. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** v. 26, p. 95-102.

- Kohn, A.; Fernandes, B.M.M.; Pipolo, H.V. & Godoy, M.P. 1988. Helminthos parasitos de peixes das usinas hidrelétricas da Eletrosul (Brasil). II. Reservatórios de Salto Osório e de Salto Santiago, bacia do rio Iguaçu. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v. 83, n. 3, p. 299-303.
- Mackenzie, K.; Willians, H.H.; Willians, B.; McVicar, A.H. & Siddal, R. 1995. Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. **Adv. Parasitol.** v.35, p. 85-144.
- Magalhães, A.C. 1931. Classificação de famílias de peixes fluviais. *In* **Monografia brasileira de peixes fluviais**. Graphicars-Romiti Lanzara & Zanin, São Paulo, 260 p.
- McMaster, M.E.; Van Der Kraak, G.J.; Portt, C.B.; Munkittrick, K.R.; Sibley, P.K.; Smith, I.R. & Dixon, D.G. 1991. Changes in hepatic mixed-function oxygenase (MFO) activity, plasma sterol levels and age at maturity of a white sucker (*Catostomus commersoni*) population exposed to bleached kraft mill effluent. **Aquat. Toxicol.** v. 21, p. 199-218.
- Nomura, H. & Carvalho, S. C. de 1972. Biologia e número de rastros do acará, *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces, Cichlidae). **Revta. Brasil. Biol.** v. 32, f. 2, p. 169-176.
- Overstreet, R.M. 1997. Parasitological data as monitors of environmental health. **Parassitologia** v.39, p. 169-175.
- Payne, J.F.; Mathieu, A. Melvin, W. & Fancy, L.L. 1996 Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. **Mar. Pollut. Bull.** v. 32, p. 225-231.
- Pinto, R.M. & Noronha, D. 1976. *Procamallanus* brasileiros (Nematoda, Camallanoidea): considerações finais, com chave para determinação das espécies. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v. 74, n. 3-4, p. 323-339.
- Porter, E.L.; Payne, J.F.; Kiceniuk, J.; Faney, L. & Melvin, W. 1989. Assessment of the potential for mixed-function oxygenase enzyme induction in the extrahepatic tissues of cunners (*Tautoglabrus adspersus*) during reproduction. **Mar. Environ. Res.** v. 28, p. 117-121.
- Rego, A.A.; Chubb, J.C. & Pavanelli, G.C. 1999. Cestodes in South American freshwater teleost fishes: keys to genera and a brief description of species. **Revta. Bras. Zool.** v. 16, n. 2, p. 299-367.

- Ribeiro Neto, F.B. (coord). 2003. Estudo da comunidade biológica dos reservatórios de Jaguari e Paiva Castro, Sistema Cantareira da SABESP **Relatório Técnico**. CD-ROM
- Salas, H.J. & Martino, P. 1991. A simplified phosphorus trophic state model for warm-water tropical lakes. **Water Res.** v. 25, n. 3, p. 341-350.
- Schlenk, D. 1999. Necessity of defining biomarkers for use in ecological risk assessment. **Mar. Pollut. Bull.** v. 39, n. 1-12, p. 48-53.
- Sures, B. 2004. Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. **Trends Parasitol.** v. 20, n. 4, p. 170-177.
- Uieda, V.S. 1984. Ocorrência e distribuição dos peixes em um riacho de água doce. **Revta. Brasil. Biol.** v. 44, n. 2, p. 203-213.
- Vicente, J.J.; Rodrigues, H.O. & Gomes, D.C. 1985. Nematóides do Brasil 1ª parte: Nematóides de peixes. **Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro** v. 25, p. 1-79.
- Weinzettl, M. & Jurberg, P. 1990. Biological control of *Biomphalaria tenagophilla* (Mollusca, Planorbidae), a schistosomiasis vector, using the fish *Geophagus brasiliensis* (Pisces, Cichlidae) in the laboratory or in a seminatural environment. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v. 85, n. 1, p. 35-38.

ANEXOS

ANEXO I



Gráficos de precipitação diária no município de Vargem, SP, nos anos de 2001 e 2002. Fonte: www.agritempo.gov.br/agroclima/plotpesq?uf=SP

ANEXO II

Title: Copepods naturally infected by metacestodes in a reservoir in São Paulo State, Brazil.

Authors: Rubens Riscala Madi*, Marlene Tiduko Ueta*, Tarsila Ferraz Frezza**, Maria Isabel Müller**, Karen Bazan Simionatto**

*Departamento de Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6109, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brazil.

**Programa Especial de Treinamento - Grupo de Pesquisas em Ecossistemas Aquáticos Sujeitos à Impactos Ambientais, Faculdade de Ciências Biológicas, PUC-Campinas. Av. John Boyd Dunlop, s/n, Jd. Ipaussurama, CEP 13059-900, Campinas, SP, Brazil.

corresponding author: Rubens R. Madi

Departamento de Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6109, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brazil.

Fax number: +55 19 32893124

e-mail: rmadi@unicamp.br

ABSTRACT

One hundred and ninety four copepods of the suborder Calanoida and 317 copepods of the suborder Cyclopoida were collected in the Juqueri reservoir, in the state of São Paulo, from January to August, 2003. Only the genus *Notodiaptomus* were found to be infected and contained two distinct forms of metacestodes, denominated Pro 1 (order Proteocephalidea - 2.58% and 61 larvae/copepod) and Pro 2 (order Cyclophyllidea – 0.52% and 1 larvae/copepod). The positive copepods were collected at the margins of the reservoir during the day. This finding suggest that parasitism may lead to a change in the behavior of the copepods.

Key words: copepods, Calanoida, metacestodes, Cyclophyllidea, Proteocephalidea

INTRODUCTION

As part of the diet of various fish species, the component of zooplankton can be important carriers of parasites by acting as intermediate hosts between helminths and fishes. The order Cyclophyllidea is the largest order of cestodes and, in the adult phase, all species are parasites of terrestrial or semi-aquatic vertebrates, except of fishes for which there are few reported cases of parasitism. These cestodes may also develop in a variety of invertebrate hosts. The order Proteocephalidea is found only in animals associated with freshwater environments (fishes, amphibians and reptiles) [1], and preferably use copepods as intermediate hosts [2].

Following the ingestion of cyclophyllidean and proteocephalidean eggs by copepods, the oncosphere eclodes and crosses the intestinal wall to lodge in the hemocele of these crustaceans. Within this cavity, the oncosphere develops into a proceroid. The ingestion of an infected copepod by a fish can results in the development of an adult cestode in the intestinal lumen of the fish. If the proceroid larva crosses the intestinal wall, it can develops into a plerocercoid and may encapsulate in the peritoneal cavity of the fish and become an adult worm only after the fish has been consumed by the definitive host [2].

Very little is known about the dynamics of parasite transmission to hosts by zooplankton [3]. In Brazil, most studies involving freshwater zooplankton has been limited to faunal surveys, population ecology and species taxonomy/descriptions, with only a few investigations dealing with the importance of zooplankton in parasitism in fishes [4, 5].

The aim of this study was to identify the components of microcrustacean plankton that could act as potential intermediate hosts of cestode parasites of fishes.

MATERIAL AND METHODS

Copepods were collected from the Juqueri reservoir (23°19'07" S, 46°35'12" W), in the Alto Tiete basin, in the southeastern region of the state of São Paulo, from January to August 2003. The reservoir is eutrophic and has an area of 3.490 km², a perimeter of 28.772 km and an average depth of approximately 12 m. The reservoir starts within the urban perimeter of the municipality of Mariporã and extend 9.5 km to enter the municipality of Franco da Rocha. Initially, the reservoir is shallow with an average depth of 0.8 m and many macrophytic sites but gradually becomes deeper farther from the town. The left shore, which is bordered by the highway SP-23 (Mariporã – Franco da Rocha), has sparse vegetation consisting of scattered shrubs, pine trees and eucalypts. The right shore has large stretches of preserved forest containing some residences, with others built very near the water. This shore receives many tributaries and small rivers, as well as raw sewage.

Copepods were collected in the limnetic region of the reservoir, by vertical hauls with a 154 µm mesh net, 90 cm long and a mouth diameter of 30 cm, starting at a standard depth of 20 m. From about 1,400 L of filtered water, a final sample of approximately 250 mL was obtained. Twenty-five milliliters of this sample was added to 2 mL of 0.7% carbonated water prior to the analysis for copepods [5].

Copepods were collected in the border region of the reservoir using a 20 L bucket and the water collected was poured into a conical net approximately 140 L of

water was filtered. The final samples were concentrated to 250 mL and were processed as described for the vertical hauls.

The specimens collected were placed in petri dishes and observed with a stereomicroscope and then classified as Cladocera, Calanoida and Cyclopoida prior to examination by light microscopy in a thin layer of water on a glass slide. The specimens found to be infected by parasites were identified and dissected in order to isolate and count the parasites.

The prevalence and intensity of infection were calculated as described by Bush *et al.* [6], with slight modifications.

RESULTS

A total of 194 calanoid copepods (58 from the limnetic zone and 136 from the border zone), 317 cyclopoid copepods (165 from the limnetic zone and 152 from the border zone) and 4,240 cladocerans (1,319 from the limnetic zone and 2,921 from the border zone) were examined. Two morphologically distinct forms of metacestodes, designated by Pro 1 and Pro 2, parasitized *Notodiaptomus* sp. copepods (Calanoida), but only in samples collected from the border zone of the reservoir in the months of April and May (autumn). No other copepods were infected. The prevalence of infection was 2.58% for Pro 1, and 0.52% for Pro 2, indicating that a total of 3.1% of the copepods were infected.

Pro 1 metacestodes (Figure 1, A and B) were oval shaped and averaged 70.98 μm (± 4.33 SD) long and 58.75 μm (± 4.56 SD) wide, with no cercomer; all occurred free in the copepod hemocoel. There were no traces of a primary lacuna. The scolex was

invaginated and showed four suckers, with one apical sucker, as characteristic of order Proteocephalidea. The mean intensity of infection was 61 larvae/copepod.

Pro 2 metacestodes (Figure 1, C and D) were a circular to slightly oval in shape and measured $196.89 \times 189.67 \mu\text{m}$, and were located between the second and third thoracic segments. There was no indication of a primary lacuna or cercomer. The scolex was invaginated, with four suckers and a set of hooks that averaged $26.11 \mu\text{m}$ in length. The mean intensity of infection was 1 larva/copepod. These metacestode were considered to belong to the order Cyclophyllidea.

DISCUSSION

According to Freeman [7] the absence or presence of a cercomer is an important phylogenetic parameter because it suggests that the proteocephalids and cyclophilids originated from primitive proteocephalids. Freeman [7] referred to the branch of metacestods with a cercomer as “caudate” and those without a cercomer as “acaudate”. In some cestodes, a definite cavity appears during metacestode ontogeny. The presence of this cavity, or “primary lacuna” indicates a more advanced form of development. Jarecka [1970 apud 8] defined the developmental types as “cystosonic” when the metacestode showed a primary lacuna and “gymnosonic” when there was no lacuna. Both Pro 1 and Pro 2 metacestodes are “gymnosonic” and “acaudate”. Marcogliese [3] reported that the prevalence of copepod infection by cestods ranged from 0.01% to 1%. Falavigna *et al.* [5] found that only 0.3% of *Termocyclops minuta*, *Mesocyclops* sp. and *Paracyclops* sp. were infected with merocercoids of proteocephalids, a fish parasite found in the upper Paraná river floodplain. Hanzelová and Gerdeaux [9] recorded a

natural infection rate of 0.21% for *Cyclops absorum* infected with *Proteocephallus longicollis* in Lake Annecy, France. Rusinek *et al.* [10] found that 0.13% of *Proteocephalus* sp. were naturally infected by *Epischura* sp. (Calanoida) in Lake Baikal, Russia. Marcogliese and Esch [11], reported that the prevalence of *Bothriocephalus acheilognathi* varied from 0.6% in *Mesocyclops* to 7.1% in *Tropocyclops*, in Lake Belevs, in the United States. The total prevalence found in the present study (3.1%) thus differed from that in the foregoing reports.

The maintenance and transmission of cestodes in invertebrate intermediate hosts involves a few individuals in each population, it means, it such that infected forms may occur in aggregates [12]. Such aggregations may be part of the transmission strategy of the Proteocephalidea, since they do not have any “free” life stages in their life cycle, thus, the recruitment of eggs is closely associated with dispersion by water [13]. Dupont and Gabrion [14] affirmed that random distributions or aggregates of parasites depended on the susceptibilities of copepods hosts. Using experimental infection, Wedekind [15] showed that the probability of a copepod being re-infected increased according to the number of parasites administered. This increased probability probably reflects the fact that the greater the exposure to parasites, the lower will be the resistance of the immunological infected system against infection. The intensity of infection seen in copepods infected by proteocephalid metacestodes in this study confirmed the hypothesis that the dispersion of cestodes of this order involves the formation of aggregates.

The infection of copepods by metacestodes involves three critical steps [16]: 1) ingestion of the parasite by the copepod, 2) passage of the parasite larvae through the intestinal wall, and 3) development of the parasite larvae in the general cavity of the copepod. During the latter period, the immune system of the host may eliminate the parasite from the body cavity. These authors noted that during the developmental phase some parasites died and that immature copepods had a greater tendency to be infected, although they also died more easily than the adults. Van Der Veen [17] stated that immature copepods had greater locomotor activity and ingested more parasites than adult copepods. Pasternak *et al.* [18] reported increased copepod mortality after 3 weeks of infection and noted that this was inversely related to the low prevalence of infection. In contrast, fish, the second intermediate host in the life cycle of the parasites studied, had a high prevalence. Thus, Madi and Ueta [19], working in the same reservoir as studied here, found that 79.91%, of *Geophagus brasiliensis*, (Cichlidae), were infected with the larvae plerocercoid of cestodes.

Some helminths can alter the behavior of their hosts, and cause the infected copepods to aggregate and/or to have difficulty in swimming. Such changes may facilitate their predation by fishes [20].

The difficulties in escaping to predation may be related to the effects of the parasites on the nervous system of infected copepods. As a result, there may be a decrease in foraging behaviour [21]. Some copepods show photophily when they are parasitized by cestode larvae [20]. Such alterations in behavior could explain the finding of infected copepods in shallow water at the edge of the reservoir during the day.

Further studies are needed to investigate the importance of copepods as intermediate hosts of cestodes. In addition, the relationship between the feeding behavior of *G. brasiliensis*, a shallow water fish, and its high prevalence of infection by cestodes, perhaps involving benthic microcrustaceans and harpacticoids, needs to be examined.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Sílvia Maria Cagliarani Casanova of the Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, for identifying the copepods, and Maurício Solera Rodrigues da Silva and João Batista Alves de Oliveira, for help in the laboratory and in the field.

REFERENCES

- [1] Rego AA. Order Proteocephalidea Mola, 1928. In: Khalil LF, Jones A, Bray RA editors. Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates. Wallingford: CAB International. 1994: 257-293.
- [2] Scholz, T. Life cycles of species of *Proteocephalus*, parasites of fishes in the Palearctic Region: a review. J. Helminthol. 1999; 73: 1-19.
- [3] Marcogliese DJ. The role of zooplankton in the transmission of helminth parasites to fish. Rev. Fish Biol. Fisher. 1995; 5: 336-371.
- [4] Pereira C, Vianna Dias M, Azevedo P. Biologia do nematóide *Procamallanus cearensis* n. sp. Arch. Inst. Biol. 1936; 7: 209-226.
- [5] Falavigna DLM, Velho LFM, Pavanelli GC. Proteocephalidean larvae (Cestoda) in naturally infected cyclopoid copepods of the upper Paraná river floodplain, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 2003; 98: 69-72.

- [6] Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.* 1997; 83: 575-583.
- [7] Freeman RS. Ontogeny of cestodes and its bearing on their phylogeny and systematics. *Adv. Parasitol.* 1973; 11: 481-557.
- [8] Ubelaker JE. Metacestodes: morphology and development. In: Arme C, Pappas PW. *Biology of Eucestoda*, Vol. 1. London: Academic Press. 1983: 139-176.
- [9] Hanzelová V, Gerdeaux D. Seasonal occurrence of the tapeworm *Proteocephalus longicollis* and its transmission from copepod intermediate host to fish. *Parasitol. Res.* 2003; 91: 130-136.
- [10] Rusinek OT, Bakina MP, Nikolskii AV. Natural infection of the calanoid crustacean *Epischura baicalensis* by procercoids of *Proteocephalus* sp. in Listvenichnyi Bay, Lake Baikal. *J. Helminthol.* 1996; 70: 237-247.
- [11] Marcogliese DJ, Esch GW. Experimental and natural infection of planktonic and benthic copepods by the Asian tapeworm, *Bothriocephalus acheilognathi*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 1989; 56: 151-155.
- [12] Roberts LS, Janovy Jr. J. *Foundations of Parasitology*. 5th edition Dubuque: WCB Publishers. 1996.
- [13] Esch GW. The population and community ecology of cestodes. In: Arme, C, Pappas, PW. *Biology of Eucestoda*, Vol. 1. London: Academic Press. 1983: 81-137.
- [14] Dupont F, Gabrion C. The concept of specificity in the procercoid-copepod system: *Bothriocephalus claviceps* (Cestoda) a parasite of the eel (*Anguilla anguilla*). *Parasitol. Res.* 1987; 73: 151-158.

- [15] Wedekind C. The infectivity, growth, and virulence of the cestode *Schistocephalus solidus* in its first intermediate host, the copepod *Macrocyclus albidus*. *Parasitology* 1997; 115: 317-324.
- [16] Van der Veen IT, Kurtz J. To avoid or eliminate: cestode infections in copepods. *Parasitology* 2002; 124: 465-474.
- [17] Van der Veen IT. Is body size or activity of copepods related to ingestion of parasite larvae? *Parasitology* 2003; 126: 173-178.
- [18] Pasternak AF, Pulkkinen K, Mikheev VN, Hasu T, Valtonen ET. Factors affecting abundance of *Triaenophorus* infection in *Cyclops strenuus*, and parasite-induced changes in host fitness. *Int. J. Parasitol.* 1999; 29: 1793-1801.
- [19] Madi RR, Ueta MT. Estudo comparativo dos metazoários parasitas de *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae, Perciforme) em dois reservatórios no estado de São Paulo. *Resumos III Elapoa, VII Enbrapoa, Foz do Iguaçu.* 2002: 137.
- [20] Pulkkinen K, Pasternak AF, Hasu T, Valtonen ET. Effect of *Triaenophorus crassus* (Cestoda) infection on behavior and susceptibility to predation of the first intermediate host *Cyclops strenuus* (Copepoda). *J. Parasitol.* 2000; 86: 664-670.
- [21] Franz K, Kurtz J. Altered host behaviour: manipulation or energy depletion in tapeworm-infected copepods? *Parasitology* 2002; 125: 187-196.

FIGURE LEGENDS

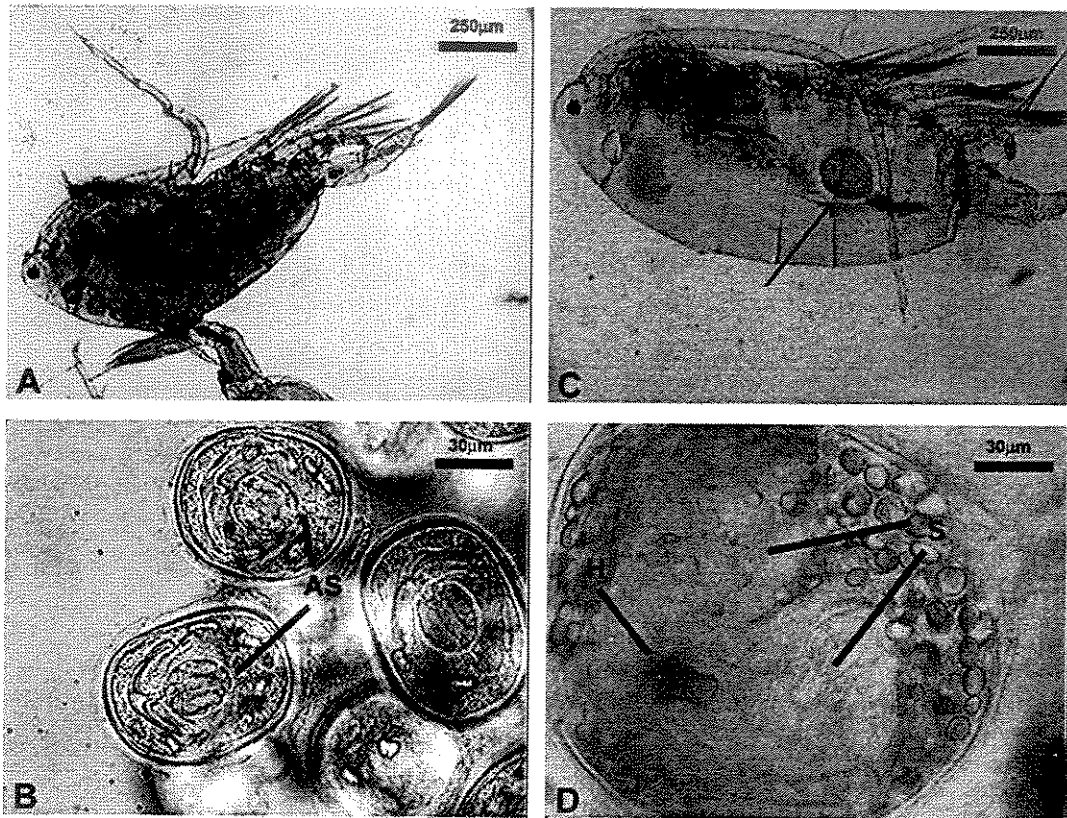
Figure 1: a) Localization of Pro 1 larvae in copepod.

b) Pro 1 larvae.

c) Localization of Pro 2 larvae.

d) Pro 2 larvae.

AS –apical sucker, H – hooks; S – suckers.



ANEXO III

Índices de diversidade e similaridade dos parasitas de *Geophagus brasiliensis* nos reservatórios do Jaguari e Juqueri entre setembro de 2001 e setembro de 2002.

Coletas		Shannon		Simpson		Hill	
		Jaguari	Juqueri	Jaguari	Juqueri	Jaguari	Juqueri
2001	Setembro	0,1479	0,2211	0,8064	0,7422	0,6637	0,7127
	Novembro	0,4092	0,3646	0,4204	0,5461	0,3667	0,5294
2002	Janeiro	0,5076	0,4137	0,3647	0,4662	0,3796	0,4475
	Abril	0,4329	0,4311	0,4764	0,4601	0,4929	0,4593
	Junho	0,4929	0,3782	0,3710	0,5236	0,3758	0,5052
	Setembro	0,3696	0,3826	0,5313	0,5055	0,5067	0,4763