

## CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE MONOGENÉTICOS (PLATYHELMINTHES) PARASITOS DE PEIXES NA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ

Isadora Scorsim Arjona (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Bárbara Scorsim Arjona (coorientadora), Wagner Toshio Hasuike (PGB/UEM), Alessandra Valéria de Oliveira (DBI/UEM), Ricardo Massato Takemoto (orientador), e-mail: takemotorm@nupelia.uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Parasitologia e Helminologia de Parasitos; Genética e Genética Molecular e de microorganismos

**Palavras-chave:** Monogenea, Nova espécie, Taxonomia

### Resumo

Este estudo contempla parasitos da Classe Monogenea, os quais se caracterizam pela presença de um aparelho de fixação localizado na parte posterior do corpo, denominada de haptor, sendo a principal estrutura que ajuda na identificação das espécies. O objetivo deste trabalho foi caracterizar e descrever os monogenéticos parasitos de brânquias de *Hemiodus orthonops* da planície de inundação do alto rio Paraná que não foram identificados previamente em nível de espécie, por meio de análises morfológicas e moleculares. Os hospedeiros foram coletados junto ao projeto Pesquisa Ecológica de Longa Duração (PELD) e com base nos dados obtidos neste trabalho, foi possível dar início à descrição de uma nova espécie de Monogenea.

### Introdução

Os monogenéticos fazem parte da Classe Monogenea (Platyhelminthes). Em sua maioria são ectoparasitos, bilaterais, acelomados com corpo mole, triblásticos não segmentados; os quais apresentam ciclo de vida monoxênico com um único hospedeiro (HICKMANN, 2016).

Os representantes dessa classe apresentam uma forma alongada, ovóide e com o corpo dividido em três partes; a cabeça, também chamada de prohaptor, onde estão localizadas as glândulas adesivas, tronco e o haptor, um aparelho de fixação que é a característica morfológica principal dos monogenéticos, sendo esta uma estrutura de extrema importância para os estudos taxonômicos (EIRAS et al., 2006). Entretanto as características morfológicas utilizadas como critérios de identificação para esses animais podem gerar dúvidas quanto ao gênero, uma vez que algumas espécies foram denominadas como “*incertae sedis*” ou não possuem as características específicas do gênero (KRITSKY; THATCHER & BOEGER, 1986;)

Considerando as dificuldades de identificação, as ferramentas moleculares atuam como um bom aliado para a correta identificação dos espécimes. Com isso, o objetivo deste trabalho foi caracterizar e descrever os monogeneas parasitos de brânquias de *Hemiodus orthonops* que ainda não foram identificados em nível de espécie na planície de inundação do alto rio Paraná, por meio do uso de análises morfológicas e moleculares.

## Materiais e Métodos

Os espécimes de *Hemiodus orthonops* Eigenmann & Kennedy, 1903, foram coletados junto ao projeto Pesquisa Ecológica de Longa Duração (PELD) site 6, na planície de inundação do alto rio Paraná, e identificados conforme OTA et al. (2018). A coleta, conservação e preparação dos parasitos foi realizada conforme EIRAS et al. (2006).

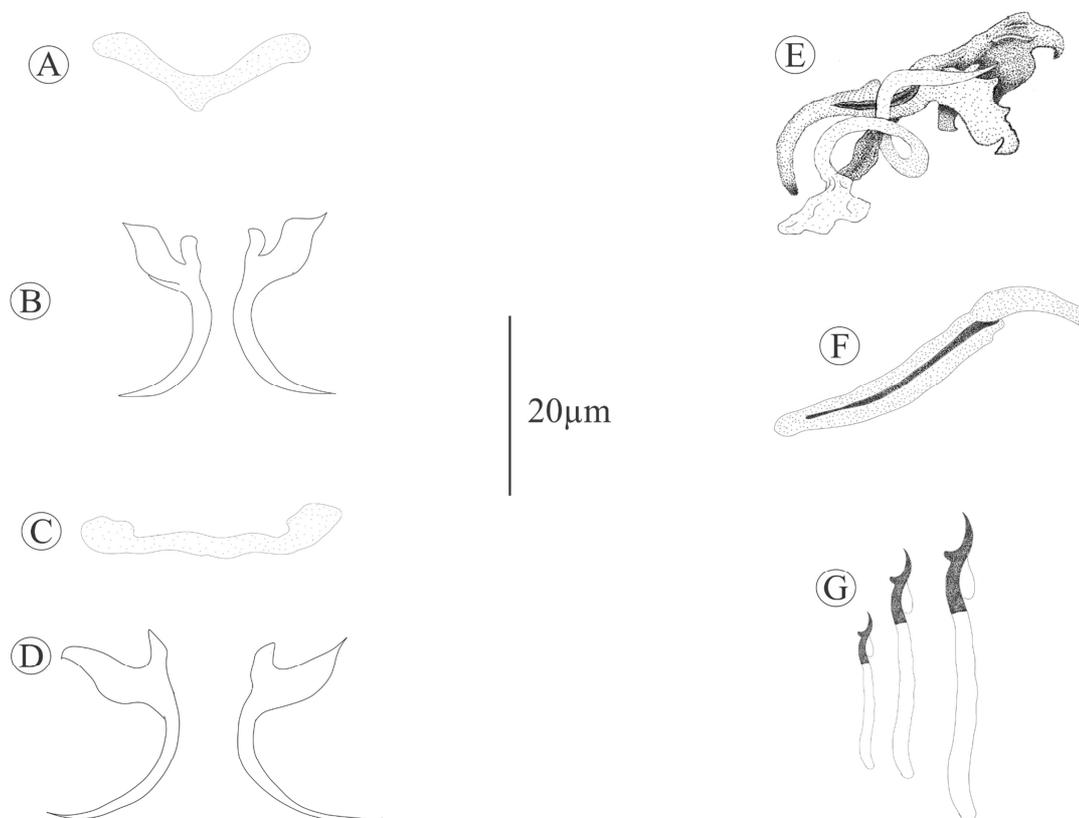
As análises morfológicas, contemplando a triagem do material, a coloração dos materiais e a montagem das lâminas, foram realizadas no laboratório de Ictioparasitologia (UEM). Os parasitos foram fotografados utilizando um microscópio Nikon Eclipse e200 equipado com tubo de desenho e contraste de fase de luz, todas as medidas dos monogenéticos foram expressas em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ).

As análises moleculares iniciaram com a extração de DNA utilizando o kit de extração em colunas QIAamp DNA Blood da Qiagen®, seguindo as instruções do fabricante. Na sequência, foram realizados testes de amplificação de fragmentos parciais da região Citocromo C Oxidase Subunidade I (COX1), DNA mitocondrial, porém sem sucesso.

## Resultados e Discussões

*Urocleidoides* foi um dos primeiros gêneros de Dactylogyridae a ser proposto, originalmente as espécies foram alocadas neste gênero, por apresentarem como caractere diagnóstico uma vagina sinistral e órgão copulador masculino (OCM) não articulado a peça acessória (MIZELLE & PRICE, 1964). Posteriormente, o gênero sofreu uma segunda emenda na diagnose por Kritsky et al. (1986) sendo adicionados mais caracteres diagnósticos na identificação, especialmente a presença de um esclerito vaginal. Embora essa característica seja bem estabelecida, ainda gera dúvidas sobre a monofilia do gênero, pois algumas espécies descritas não possuem o esclerito vaginal (KRITSKY et al. 1986)

Nos critérios utilizados neste trabalho, mantivemos como diagnóstico de gênero a presença do esclerito vaginal (Figura 1 F) estabelecido por Kritsky, Thatcher & Boeger (1986). *Urocleidoides* n. sp. se assemelha a apenas duas espécies descritas atualmente, pela presença de um filamento ligando a base do cirro e a peça acessória (Figura 1 E), porém, pode ser facilmente distinguido das demais espécies pela morfologia da peça acessória e quantidade de voltas no órgão copulador masculino. No que se refere às análises moleculares, mais testes serão realizados com o intuito de incluir os dados, os quais serão úteis para a discriminação dessa nova espécie perante as demais do gênero.



**Figura 1.** Estruturas esclerotizadas dos espécimes de *Urocleidoides* n. sp: a) Barra dorsal; B) Âncoras dorsais; C) Barra ventral; D) Âncoras dorsais; E) Complexo copulatório masculino; F) Esclerito vaginal; G) Ganchos.

## Conclusões

Após a análise dos filamentos branquiais de espécimes de *H. orthonops*, foi possível identificar, por meio da morfologia das estruturas esclerotizadas, uma nova espécie de *Urocleidoides*. Apesar do emprego de técnicas moleculares baseadas na amplificação do gene COX1, as mesmas terão que ser aprimoradas para a efetiva amplificação dos espécimes, para que possam ser publicadas futuramente em periódicos.

## Agradecimentos

Agradeço à Fundação Araucária e ao CNPq pela bolsa concedida; e aos laboratórios de Ictioparasitologia e Genética Molecular pertencentes ao Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

## Referências

EIRAS, J. C.; PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. 2. ed. rev. ampl. Maringá: Eduem. ISBN 85-7628-032-9, 2006.

HICKMAN, C. P.; ROBERTS, L. S.; KEEN, S. L. **Princípios integrados de zoologia**. 16. ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. ISBN 978-85-277-2960-4, 2016.

KRITSKY, D. C.; THATCHER, V. E.; BOEGER, W. A. Neotropical Monogenea. 8. revision of *Urocleidoides* (Dactylogyridae, Ancyrocephalinae). **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 53, n, 1, p. 1-37, 1986.

MIZELLE, J.D.; PRICE, C.E. Studies on monogenetic trematodes. XXVII. Dactylogyrid species with the proposal of *Urocleidoides* gen. n. **Journal of Parasitology**, v. 50, p. 579-584, 1964.

OTA, R. R.; DEPRÁ, G. DE C.; GRAÇA, W. J. Da.; PAVANELLI, C.S. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes: revised, annotated and updated. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 2, p. 1–111, 2018.