

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE PARASITAS DIGENÉTICOS E DE SEUS HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS DO MUNICÍPIO DE MARINGÁ, PARANÁ

Hugo de Amorim Souza (PIBIC/UEM), Mayara Destro Passere (Coorientadora),
Alessandra Valéria de Oliveira (Orientadora). E-mail: avoliveira@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/Genética Molecular e de Microorganismos

Palavras-chave: *COI*; gastrópodes; marcadores moleculares.

RESUMO

Digenéticos são parasitas com um ciclo de vida complexo, necessitando de, no mínimo, dois hospedeiros para completá-lo. Gastrópodes são comumente os hospedeiros intermediários infectados por esses parasitas digenéticos e os vertebrados, como os humanos, podem ser os hospedeiros definitivos. Tendo em vista que corpos de água urbanos são ambientes que podem ser habitats destes gastrópodes, e conseqüentemente, de digenéticos, o objetivo deste trabalho foi identificar as espécies de gastrópodes coletados em ambientes aquáticos do Parque do Japão, em Maringá/PR, utilizando o marcador molecular *COI*. Nenhum dos dez gastrópodes coletados estavam parasitados, sendo identificadas duas espécies distintas: *Pseudosuccinea columella* e *Solenomphala scalaris*. Embora não parasitados, ambas as espécies são potenciais vetores de digenéticos, fato de importância ecológica e sanitária para o parque.

INTRODUÇÃO

Os digenéticos são trematódeos parasitas que apresentam um ciclo de vida complexo, caracterizado por mudanças morfológicas e alterações entre gerações sexuais e assexuais. Além disso, necessitam de um ou mais hospedeiros intermediários e um hospedeiro definitivo para se tornarem adultos. Os humanos podem ser hospedeiros definitivos de algumas espécies de digenéticos e sua infecção pode levar a quadros muito graves (Neves *et al.*, 2016).

Os gastrópodes são invertebrados que podem atuar como hospedeiros intermediários de parasitas digenéticos. Parques urbanos são espaços que podem oferecer ambientes úmidos propícios para os gastrópodes, sendo possível encontrar digenéticos que os parasitam. Trabalhos anteriores realizados em um parque urbano da cidade de Maringá/PR encontraram gastrópodes atuando como hospedeiros intermediários de espécies de digenéticos (Ciccheto *et al.*, 2021).

Marcadores moleculares são ferramentas que estão sendo cada vez mais utilizadas na identificação de espécies. Para que esse objetivo seja atingido, uma

opção é o sequenciamento de regiões específicas do genoma, uma vez que sequências de DNA podem ser analisadas e comparadas, como o gene mitocondrial do citocromo c oxidase subunidade I (*COI*) (Hebert *et al.*, 2003).

Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi utilizar o marcador molecular *COI* para identificação de gastrópodes coletados em um parque urbano da cidade de Maringá/PR e verificar se estão atuando como possíveis hospedeiros intermediários de espécies de digenéticos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os gastrópodes foram coletados no Parque do Japão, Maringá/PR, em julho de 2024 (23° 26' 51.1" S 51° 58' 29.9" W) ($n = 10$), utilizando puçás e captura manual. As coletas foram autorizadas pelo SISBio 91665. Posteriormente, os gastrópodes foram submetidos à análise parasitológica para verificar a presença de estágios larvais de digenéticos. Amostras da região do pé dos gastrópodes foram armazenadas em tubos tipo Eppendorf de 1,5 mL com etanol absoluto. A extração de DNA foi realizada com o Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega®) e o DNA foi quantificado em espectrofotômetro.

O gene *COI* foi amplificado com os primers LCO1490 (F) e HCO2198 (R) por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1%, purificados e encaminhados para o sequenciamento em empresa privada. As sequências foram editadas utilizando o BioEdit e alinhadas pelo programa MEGA11. A ferramenta BLASTn foi utilizada para comparar as sequências obtidas com dados moleculares disponíveis no GenBank. O MEGA11 foi utilizado na construção de árvores gênicas pelo método de Máxima Verossimilhança com 1000 reamostragens de *bootstrap* e no cálculo da distância genética Kimura 2-parâmetros (K2P). Sequências presentes no GenBank mais similares com as obtidas dos espécimes coletados foram adicionadas às análises para comparação. Uma sequência de *Biomphalaria straminea* (ON714060) foi utilizada como grupo externo nas análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum dos gastrópodes analisados do Parque do Japão ($n = 10$) estava parasitado. Foram obtidas sequências *COI* de cinco gastrópodes (Figura 1). Segundo a ferramenta BLASTn, os gastrópodes 1, 2 e 3 apresentaram 100% de similaridade com *Pseudosuccinea columella*, enquanto os gastrópodes 4 e 5 foram identificados como *Solenomphala scalaris*, com valores de similaridade de 99,84% e 100%, respectivamente (Tabela 1).



Figura 1 – Gastrópodes analisados no presente estudo.

Tabela 1. Percentuais de identidade obtidos para os cinco gastrópodes analisados, por meio da ferramenta BLASTn.

Amostras	BLASTn	Perc. Ident	Acesso
Gastrópode 1	<i>Pseudosuccinea columella</i>	100,00%	MG976150
Gastrópode 2	<i>Pseudosuccinea columella</i>	100,00%	MG976150
Gastrópode 3	<i>Pseudosuccinea columella</i>	100,00%	MG976150
Gastrópode 4	<i>Solenomphala scalaris</i>	99,84%	PQ059554
Gastrópode 5	<i>Solenomphala scalaris</i>	100,00%	PQ059542

Os gastrópodes 1, 2 e 3 compartilham o mesmo haplótipo e o valor da distância K2P em comparação com as sequências mais próximas encontradas no BLASTn foi igual a zero. Na árvore gênica (Figura 2A), as sequências obtidas para os gastrópodes 1, 2 e 3 se agruparam com *P. columella*, visto que também compartilham o mesmo haplótipo que as sequências do GenBank. Essa espécie pode atuar como hospedeiro intermediário do digenético *Fasciola hepatica* que acomete humanos e outros vertebrados, causando processos inflamatórios nos fígados e ductos biliares (Neves *et al.*, 2016).

Para os gastrópodes 4 e 5, dois haplótipos diferentes foram identificados, com uma distância genética de 0,3%. Em comparação com as sequências mais próximas encontradas via BLASTn, o gastrópode 4 apresentou uma distância K2P de 0,2% com a sequência de *S. scalaris* (PQ059564), enquanto o gastrópode 5 foi idêntico a uma outra sequência de *S. scalaris* (DQ533866) com distância K2P igual a zero. Na árvore gênica (Figura 2B), os gastrópodes 4 e 5 ficaram agrupados com todas as sequências de *S. scalaris*, indicando a presença de duas linhagens genéticas distintas, assim como sugerido por Fernandes *et al.* (2025). Até o momento, essa espécie invasora já foi identificada no Brasil nos estados de Amazonas, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo (Fernandes *et al.*, 2025).

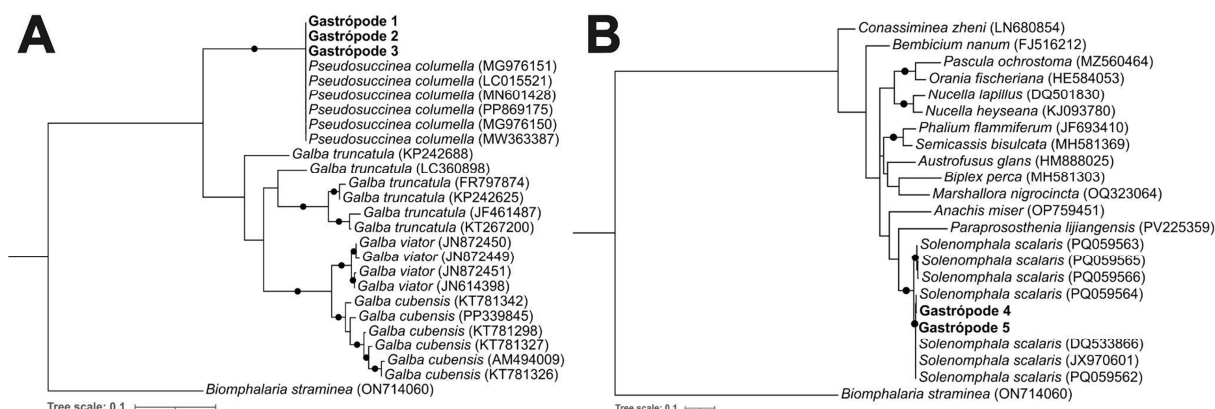


Figura 2 – Árvores gênicas construídas utilizando as sequências *COI*. As sequências obtidas no presente estudo estão em negrito. Os círculos representam valores de *bootstrap* superiores a 80%.

CONCLUSÕES

Este estudo foi o primeiro a identificar *S. scalaris* no estado do Paraná, além de ser um dos primeiros estudos envolvendo gastrópodes do Parque do Japão, Maringá/PR, registrando duas espécies diferentes. Além disso, o marcador molecular *COI* foi eficaz para a identificação correta das espécies de gastrópodes. Embora não parasitados, ambas as espécies são potenciais vetores de digenéticos, fato de importância ecológica e sanitária para o parque.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à Universidade Estadual de Maringá pela bolsa concedida, ao Parque do Japão e ao Luiz Claudio Yoshiaki Uema (*in memoriam*) pela autorização das coletas.

REFERÊNCIAS

- CICCHETO, J. R. M. *et al.* Molecular evidence of new freshwater turtle blood flukes (Digenea: Spirorchidae) in the intermediate snail host *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 in an urban aquatic ecosystem in Brazil. **Parasitology Research**, v. 120, p. 133–143, 2021.
- FERNANDES, M. R. *et al.* No longer restricted to Asia: the exotic snail *Solenomphala scalaris* (Caenogastropoda: Assimineidae) is widespread in Brazil. **Zoologia (Curitiba)**, v. 42, p. e24059, 2025.
- HEBERT, P. D. N. *et al.* Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313–321, 2003.
- NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Atheneu, 2004.