

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA

**IDENTIFICAÇÃO E CICLO DE VIDA DE *Bucephalus margaritae* OZAKI
E ISHIBASHI, 1934 (DIGENEA, BUCEPHALIDAE) DO LITORAL DE
SANTA CATARINA, BRASIL**

NATALIA DA COSTA MARCHIORI

FLORIANÓPOLIS - SC
2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA

**IDENTIFICAÇÃO E CICLO DE VIDA DE *Bucephalus margaritae* OZAKI
E ISHIBASHI, 1934 (DIGENEA, BUCEPHALIDAE) DO LITORAL DE
SANTA CATARINA, BRASIL**

NATALIA DA COSTA MARCHIORI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

Orientadora: Prof^a. Dra. Aimê Rachel Magenta Magalhães

Co-Orientador: Prof. Dr. Joaber Pereira Jr.

Florianópolis – SC
2008

MARCHIORI, Natalia Costa

Identificação e ciclo de vida de *Bucephalus margaritae* Ozaki e Ishibashi, 1934 (Digenea: Bucephalidae) do litoral de Santa Catarina, Brasil. - 2008
n. de f. 41: tabs., grafs.

Orientadora: Dra. Aimê Rachel Magenta Magalhães – Universidade federal de santa catarina.

Co-Orientador: Dr. Joaber Pereira Junior – Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

Dissertação - Universidade Federal de Santa Catarina, Curso de mestrado em Aqüicultura.
2008.

1. *Bucephalus*, 2. *Perna perna*, 3. ciclo de vida, 4. parasito, 5. Blenniidae, 6. metacercária, 7. cercária.

**Identificação e ciclo de vida de *Bucephalus margaritae*
Ozaki e Ishibashi, 1934 (Digenea: Bucephalidae) do litoral
de Santa Catarina, Brasil.**

Por

NATALIA DA COSTA MARCHIORI

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura.

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dra. Aimê Rachel Magenta Magalhães - *Orientadora*

Dr. Maurício Laterça Martins

Dra. Sônia Buck

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Aimê Rachel Magenta Magalhães, por todos os ensinamentos e pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Joaber Pereira Jr., grande amigo, pai, educador; pelas horas dispensadas desde a minha graduação até o presente estudo e por todo o incentivo e dedicação doados no decorrer do trabalho.

Aos amigos Keka, Mauricio Laterça Martins, Giselle Speck, Gabriela Jerônimo, Juliana, Lucas Alvarenga Leite, Rafael Alves, Rafael Costa, Jackson, Itamar: pelo carinho, respeito, auxílio, companhia e sugestões importantes para a realização do trabalho.

A professora Zenilda, por disponibilizar seu laboratório à tentativa de utilizar microscopia eletrônica de varredura neste trabalho.

A CAPES, pelo auxílio concedido através de uma bolsa de Mestrado.

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização do trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	10
CAPÍTULO 1	
IDENTIFICAÇÃO E CICLO DE VIDA DE <i>BUCEPHALUS MARGARITAE</i> OZAKI E ISHIBASHI, 1934 (DIGENEA, BUCEPHALIDAE) DO LITORAL DE SANTA CATARINA, BRASIL.....	15
Abstract.....	16
Resumo.....	16
Introdução.....	16
Material e métodos.....	17
Resultados.....	18
Discussão.....	23
Agradecimentos.....	25
Referências.....	25
CAPÍTULO 2	
DESENVOLVIMENTO DE METACERCÁRIAS DE <i>BUCEPHALUS MARGARITAE</i> OZAKI & ISHIBASHI, 1934 (TREMATODA, BUCEPHALIDAE) EM <i>HYPLEUROCHILUS FISSICORNIS</i> (QUOY & GAIMARD), 1824 (BLENNIIDAE) DO LITORAL DE SANTA CATARINA, BRASIL.....	28
Resumo.....	29
Abstract.....	29
Introdução.....	31
Material e métodos.....	31
Resultados e Discussão.....	31
Agradecimentos.....	36
Referências.....	36
CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	39

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

FIGURA 1 - Mexilhão parasitado por esporocistos (*) de *Bucephalus* sp..... 11

CAPÍTULO 1

FIGURA 1 - *Bucephalus margaritae* do Estado de Santa Catarina. A- Cercária. B- Região posterior em detalhe. C- Adulto, visão ventral. D- Tentáculo do adulto..... 19

FIGURA 2 - Figura 2. *Bucephalus margaritae* do Estado de Santa Catarina. A- Adulto. B- Ovo. Esporocisto. D- Cercária. E- Metacercária com dois dias de vida. F- Cisto de metacercária adulto..... 21

FIGURA 3 - Figura 3. *Bucephalus margaritae* do Estado de Santa Catarina. Projeções do tentáculo A- Metacercária. B-Adulto..... 22

CAPÍTULO 2

FIGURA 1 - Cistos e metacercária de *Bucephalus margaritae* do Estado de Santa Catarina. A. Cisto (c) incluído no filamento branquial. B. Cisto formado pelo parasito 24 horas após o início da exposição. C. Metacercária com um dia de vida. D. Cisto maduro..... 33

FIGURA 2 - Metacercária de *Bucephalus margaritae* com três dias de vida. b. Boca. f. Faringe. i. Intestino. r. Rincus..... 33

FIGURA 3 - Desenvolvimento larval de *Bucephalus margaritae* do Estado de Santa Catarina. A- Metacercária com onze dias de vida. t. Tentáculo em desenvolvimento. B- Metacercária em estágio avançado. T. Tentáculo..... 34

FIGURA 4 - Número de metacercárias obtidas em *Hypoleurochilus fissicornis* infectados (vermelho) e controle (azul)..... 34

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1 - Observações do comportamento e desenvolvimento das larvas ao longo de 17 dias.....	32
---	----

RESUMO

A bucefalose, ou enfermidade laranja, é considerada a principal parasitose do mexilhão *Perna perna*. É causada por um Bucephalidae, de complexo ciclo de vida, envolvendo três hospedeiros, entre eles moluscos e peixes. Com o objetivo de contribuir para o conhecimento da bucefalose em mexilhões de cultivo, foi realizada a identificação da espécie deste parasito e investigado o seu ciclo de vida. Estudos experimentais e coletas mensais na área de estudo permitiram identificar e caracterizar o ciclo de vida de *Bucephalus margaritae*. Antes da necrópsia, os hospedeiros foram fotografados, medidos e observados em estereomicroscópio. Larvas e adultos do parasita foram fixados em formol 5%, corados com tricrômico de Gômori, clarificados em creosoto e montados em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá. As cercárias ocorrem nos esporocistos, que têm a forma de filamentos alaranjados e ramificados no primeiro hospedeiro intermediário, o mexilhão *P. perna*. O tempo de sobrevivência da maioria das cercárias foi de aproximadamente 48 horas, podendo alcançar 72 horas. As metacercárias encistam nas brânquias e cavidade branquial do segundo hospedeiro intermediário, o blenídeo *Hyleurochilus fissicornis*. O hospedeiro definitivo *Menticirrhus americanus* é infectado quando ingere blenídeos com metacercárias. Os elevados índices parasitológicos de *B. margaritae* sugerem que *M. americanus* e *H. fissicornis* sejam os principais hospedeiros definitivo e intermediário, respectivamente, deste trematódeo. *H. fissicornis* é um novo segundo hospedeiro intermediário registrado para a espécie.

Palavras-chave: *Bucephalus margaritae*; *Hyleurochilus fissicornis*, ciclo de vida; enfermidade laranja; *Perna perna*;

ABSTRACT

The orange disease is considered the main parasitosis of *Perna perna* mussel. It is caused by a bucephalid (Trematoda) of complex life-cycle, involving three hosts, among them molluscs and fishes. With the aim of contributing to the knowledge of the orange disease in cultured mussels, it was investigated the parasite life-cycle. Experimental studies and monthly samples on the studied area allowed the identification and characterization of *Bucephalus margaritae* life-cycle. Before necropsy, the animals were photographed, measured and observed in stereomicroscope. Larvae and adults of *B. margaritae* were fixed in formaline 5%, stained with Gomori's tricomic, clarified in creosote and mounted in Canada balsam. The cercariae occur in the sporocysts, which has the form of an orange and ramified filaments in the first intermediate host, the *P. perna* mussel. The survival of most cercariae was about 48 hours, **surviving** up to 72 hours in a few cases. The metacercariae encyst in the gills and gill cavity of the second intermediate host, the blenniid *Hypleurochilus fissicornis*. The definitive host *Menticirrhus americanus* is infected ingesting blenniids parasitized with metacercariae. The high parasitological indexes of *B. margaritae* suggests that *M. americanus* and *H. fissicornis* acts as the main definitive and intermediate hosts, respectively, of the trematode. *H. fissicornis* is a new second intermediate host to the species.

Key-words: *Bucephalus margaritae*; *Hypleurochilus fissicornis*, life-cycle; orange disease, *Perna perna*.

INTRODUÇÃO

A produção de moluscos marinhos em Santa Catarina é uma atividade econômica em crescimento, colocando o Estado em primeiro lugar na produção nacional destes animais (POLI, 1998; PAULILO, 2002). O cultivo de moluscos, praticamente inexpressivo até meados da década de 90, alcançou produção de 19 mil toneladas em 2003 e encerrou 2005 com uma contribuição à aquicultura nacional de cerca de 15 mil toneladas (KUBITZA, 2007).

Uma das espécies produzidas em larga escala no Estado é o mexilhão nativo *Perna perna* (Linné, 1758), cuja produção no ano de 2006 firmou-se em 11.604,5 toneladas, apresentando uma queda de 5,15% na produção em relação ao ano anterior (OLIVEIRA NETO, 2005). Esta atividade apresenta forte impacto sócio-econômico no Estado sendo alternativa de renda aos pescadores artesanais, frente ao declínio da pesca (GARCIA, 2005).

O sucesso da mitilicultura pode ser justificado tanto na facilidade de manejo da espécie devido a sua rusticidade, quanto na participação das comunidades pesqueiras e, principalmente, por se tratar de uma espécie nativa que se reproduz naturalmente. Uma vez que se alimentam de partículas existentes na água do mar, os custos para o investimento dessa atividade são reduzidos, não sendo necessários o uso de alimentação artificial, nem a produção de larvas em laboratórios sofisticados.

No entanto, nos últimos anos, estudos da Universidade Federal de Santa Catarina com *Perna perna* de cultivo e estoques naturais, demonstraram problemas de saúde animal frente a parasitose causada por um platielminte bucefalídeo (Trematoda). Trematódeos são organismos comuns em mexilhões (BOWER, 1992) e nos estágios de esporocisto e cercária, são os parasitas mais frequentes e importantes nos bivalves marinhos, podendo causar um sério impacto na mitilicultura (SILVA *et al.*, 2002).

A bucefalose, ou “enfermidade laranja” nos mexilhões, é causada por espécies de *Bucephalus* (Bucephalidae). Essa enfermidade, determinada por esporocistos e cercárias do parasito, não é específica de mitilídeos. *Bucephalus* sp. já foi observado na ostra americana *Crassostrea virginica* por WINSTEAD *et al.* (2004), em *C. brasiliiana* por GALVÃO *et al.* (2000), na vieira *Pecten fumatus* e nos bivalves *Chlamys (Mimachlamys) asperrima* por HEASMAN *et al.* (1996), *Pinctada radiata* por KHAMDAN (1998), *Paphia aurea* por ORECCHIA *et al.* (1998) e *Dreissena polymorpha* por BATURO (1977) e LARUELLE *et al.* (2002).

Esses parasitos lesam severamente os tecidos reprodutivos do hospedeiro, inviabilizando sua gametogênese, levando-o à castração (COUSTAU *et al.*, 1993; CALVO-UGARTEBURU e MCQUAID, 1998) e, possivelmente à morte (LAUCKNER, 1983; PRINCEP *et al.*, 1996; MAGALHÃES, 1998).

Macroscopicamente, a bucefalose no mexilhão é caracterizada pelo desenvolvimento dos esporocistos, sacos ovais que se apresentam na forma de filamentos ramificados com dilatações de cor alaranjada e que possuem em seu interior numerosas células germinativas que permanecem não diferenciadas. Em infestações intensas (Figura 1), o manto adquire uma tonalidade laranja intensa, tornando impossível a identificação macroscópica do sexo do hospedeiro. Muitas vezes os danos

causados são tão severos, que mesmo a identificação microscópica do sexo é inviabilizada (MAGALHÃES, 1998).

COSTA (2008) analisando a bucefalose no mexilhão *Perna perna* em diferentes pontos da Ilha de Santa Catarina reportou prevalências de até 70%. GALVÃO *et al.* (2000) em estudos com *Crassostrea brasiliana* no estuário de Cananéia, SP, alertaram para o provável dano gametogênico de *Bucephalus* sp. nas gônadas das ostras devido à utilização de reservas da mesma. Estudando a incidência de *Bucephalus haimeanus* em *Ostrea edulis*, PRINCEP *et al.*, (1996) mostraram que as ramificações dos esporocistos são responsáveis pela obstrução dos túbulos da glândula digestiva, o que impede o fluxo de compostos nutritivos e assim provoca sérias alterações morfológicas, ou mesmo a morte do hospedeiro.

Alterações histopatológicas provocadas pelo parasito em seu hospedeiro incluem forte regressão gonádica (MAGALHÃES, 1998), elevação do consumo de nutrientes (infestação inicial) e lipídeos (infestação elevada), redução das reservas do hospedeiro (MAGALHÃES, 1998) e infiltração por hemócitos em hospedeiros severamente infestados (SILVA *et al.*, 2002).

Dessa forma, o desconhecimento da espécie e dos hospedeiros envolvidos no ciclo de vida do parasito representa um entrave à atuação em minimizar a bucefalose em mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral de Santa Catarina.

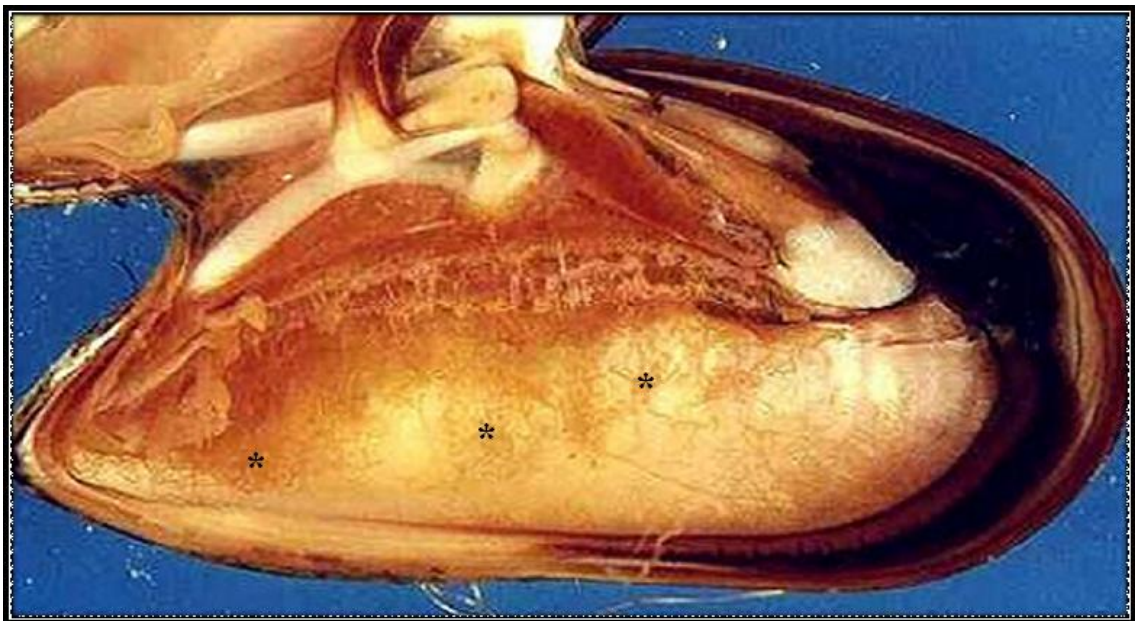


Figura 1: Mexilhão parasitado por esporocistos (*) de *Bucephalus* sp. (Magalhães, 1998).

Segundo PODVYASNAYA *et al.* (2004), os bucefalídeos são particularmente interessantes por possuírem um número de características estruturais que os diferem de todos os outros trematódeos digenéticos. Hermafroditas, possuem a boca rodeada por uma ventosa aproximadamente no centro do corpo e a extremidade anterior modificada em um rincus, órgão de adesão ao hospedeiro que abriga um número variável de tentáculos. Espécimes adultos são parasitos de peixes, tanto marinhos quanto dulcícolas. Alcançam em torno de um milímetro de comprimento e vivem no intestino anterior e cecos pilóricos de peixes carnívoros.

Como a maioria dos Trematoda, o ciclo de vida destes helmintos é complexo, incluindo três hospedeiros. Os ovos, resultantes da fecundação ocorrida no interior do hospedeiro definitivo, um peixe carnívoro, são numerosos e eliminados ao meio externo junto com as fezes de seu hospedeiro. De cada ovo eclode uma larva móvel, ciliada e que não se alimenta, chamada miracídio, que nada livremente ao encontro de um potencial primeiro hospedeiro, um molusco bivalve, onde perde a epiderme ciliada tornando-se um esporocisto. A forma ramificada e com dilatações do esporocisto que se estendem pelos tecidos do hospedeiro é característica de *Bucephalidae*. O esporocisto, por sua vez, migra através dos vasos sanguíneos, tecidos e outros órgãos em direção à glândula digestiva, local apontado por muitos autores como primário no processo de infestação deste parasito (CHENG E BURTON, 1965; CHENG, 1978). Apesar da glândula digestiva ser a localização mais freqüente para o início do desenvolvimento da larva, sua presença também é observada nas gônadas, manto, espaços linfáticos que rodeiam o intestino, câmaras branquiais e outras (CHENG, 1978; MAGALHÃES, 1998). Uma vez estabelecido nesses locais, o esporocisto aumenta de tamanho e se desenvolve até a forma madura. Dentro do esporocisto, que normalmente é grande e oco, existem células germinativas. Estas células aumentam seu número mediante sucessivas divisões mitóticas e se transformam em esferas germinativas, cada uma aumentando de tamanho e se diferenciando em cercárias. Estas se desenvolvem dentro do esporocisto, sem o estágio de rédia e, de acordo com um estímulo favorável à sua transmissão, abandonam o molusco à procura de um segundo hospedeiro intermediário, um peixe. As cercárias aderem-se às superfícies externas do seu hospedeiro e sua penetração, pela região apical, é facilitada por duas longas caudas, as quais dão o nome de furcocercária às larvas com esse padrão morfológico.

KHAMDAN (1998), estudando a incidência de *Bucephalus* sp. na ostra perliífera *Pinctada radiata*, não relaciona a ocorrência do parasito com algum padrão sazonal ou eventos de desova. ROHDE (2005) acredita que a emissão das cercárias possui uma periodicidade independente do envolvimento do molusco no processo. Segundo ABDALLAH e MAAMOURI (2005), a emissão das cercárias ocorre diurnamente sendo provavelmente favorecida pelo aumento da temperatura. Já BATURO (1977) registra a emissão contínua das cercárias, com maior atividade observada ao anoitecer e à mudanças bruscas de temperatura da água.

Segundo ABDALLAH E MAAMOURI (2005), o local preferencial de penetração da larva *Bucephalus labracis* no peixe *Atherina boyeri* é a base da nadadeira caudal, apesar de todas as superfícies agirem como porta de entrada. Durante o processo de migração, que dura aproximadamente 24 horas, o parasito alimenta-se ativamente dos tecidos de seu hospedeiro, e se encerra com o encistamento da larva. Uma vez encistadas, as cercárias transformam-se em metacercárias, o estado larval final dos trematódeos.

KVACH (2003) registra metacercárias de *Bucephalus marinum* em duas espécies de peixes blenídeos em Odessa Bay no Mar Negro: *Parablennius zvonimiri* e *Aidablennius sphyinx*. ABDALLAH E MAAMOURI (2002) encontraram metacercárias de *Bucephalus anguillae* encistadas na musculatura da nadadeira caudal do ciprinodontídeo *Aphanius fasciatus* e em *Atherina boyeri*, em lagos do nordeste da Tunísia. Também na musculatura da nadadeira caudal foram identificadas metacercárias de *Bucephalus polymorphus* em *Knipowitshia caucasica* do Lago Egirdir, Turquia

(DILER E YILDIRIM, 2003). Já PEREIRA JR. *et al.* (1996) reportaram metacercárias de *Bucephalus varicus* (= *B. margaritae* cf. KOHN *et al.* (2007)) encistadas nas brânquias da corvina *Micropogonias furnieri* do sul do Brasil. HIGGINS *et al.* (1977) identificaram cistos de metacercárias de *Bucephalus haimeanus* no fígado de *Pomatoshistus microps*, com elevadas concentrações ao redor da bexiga natatória e vasos sanguíneos. ABDALLAH E MAAMOURI (2005) acreditam que elevadas concentrações do parasito em seu hospedeiro possam dificultar a movimentação do peixe, tornando-o mais vulnerável à predação pelo hospedeiro final. OGAWA *et al.* (2004) identificaram duas espécies de metacercárias em altas densidades localizadas na pele, olhos e nadadeiras, principalmente a caudal, de *Zacco platypus* e *Squalidus chankaensis*. Além disso, estes peixes apresentaram lesões hemorrágicas nos mesmos locais ocupados pelas larvas, além de nadarem erraticamente.

BATURO (1978) e DILER E YILDIRIM (2003) reportaram doenças causadas por metacercárias de bucefalídeos na Europa. Segundo KINLELIN *et al.* (*apud* OGAWA *et al.*, 2004) metacercárias de *Bucephalus polymorphus* são responsáveis por mortalidades em massa de peixes ciprinídeos. Os peixes severamente infectados apresentaram natação anormal e hemorragias em grandes áreas incluindo a cabeça, olhos, nadadeiras, brânquias e órgãos viscerais, como fígado e rins (OGAWA *et al.*, 2004). Entre as alterações patológicas descritas, BATURO (1980) inclui danos de ação mecânica, devido à penetração das cercárias no corpo do hospedeiro, alterações causadas pela ação das glândulas proteolíticas do parasito, hemorragias, edemas dos órgãos e tecidos, extravasamento extensivo de sangue e necrose do órgão hospedeiro.

Quando o segundo hospedeiro intermediário é ingerido pelo hospedeiro definitivo, um peixe carnívoro, a metacercária desencista no intestino do hospedeiro e, gradualmente, transforma-se em adulto, encerrando seu ciclo. ABDALLAH E MAAMOURI (2005) concluíram que, em apenas dez dias, *Bucephalus labracis* completa seu desenvolvimento, atingindo a maturidade sexual, com consequente formação de ovos em seu hospedeiro.

Segundo KOHN *et al.* (2007) que reuniu informações sobre os Trematoda da América do Sul, quatro espécies de *Bucephalus* estão registradas para peixes na América do Sul. *Bucephalus gorgon* (Linton, 1905) Eckmann 1932 foi reportado em *Seriola lalandi* no Chile e em *Caranx hippos* da Colômbia. *Bucephalus urophyci* Szidat, 1961 na abrótea *Urophycis brasiliensis* da Argentina. No Brasil, são registradas duas espécies, *Bucephalus solitarius* Kohn, 1966 em *Caranx crysos* e *Bucephalus margaritae* Ozaki e Ishibashi 1934, em *C. crysos*, *C. latus* (LUQUE *et al.*, 2000; LUQUE e ALVES, 2001), *Chloroscombrus crysurus* (AMATO, 1982), *Menticirrhus americanus* (KOHN, 1968; AMATO, 1982), *Menticirrhus littoralis* (AMATO, 1982), *Urophycis brasiliensis* (PEREIRA JR. *et al.*, 1996; ALVES *et al.*, 2004), *Micropogonias furnieri* (PEREIRA JR. *et al.*, 1996), *Oligoplites palometa*, *O. saliens* e *O. saurus* (TAKEMOTO *et al.*, 1995; 1996)

Apesar de freqüentemente encontrados em diversas famílias de peixes, alguns autores apontam as espécies de peixes carangídeos como principais hospedeiros de *B. margaritae* (AMATO, 1982; BRAY, 1984; NAHHAS *et al.*, 2006). Cosmopolita, *B. margaritae* está registrada ao longo do Atlântico (KOHN, 1968; AMATO, 1982; PEREIRA JR. *et al.*, 1996; ALVES *et al.*, 2004), na costa do Kuwait do Golfo da Arábia (NAHHAS *et al.*, 2006), na costa do Golfo de Bengal (MADHAVI, 1974 *apud* AMATO, 1982), e Japão (YAMAGUTI, 1942 *apud* AMATO, 1982).

Alguns estudos envolvendo o ciclo de vida de bucefalídeos já foram realizados. ABDALLAH E MAAMOURI (2002) estudando o ciclo evolutivo de *Bucephalus anguillae* identificaram as fases de cercária, metacercária e adulto nos respectivos hospedeiros: *Abra tenuis*, *Aphanius fasciatus* e *Anguilla anguilla*. Esses mesmos autores, em 2005, registraram o ciclo de *Bucephalus labracis* no bivalve *Tapes decussatus* e nos peixes *Atherina boyeri* e *Dicentrarchus labrax*. MATTHEWS (1973) concluiu o ciclo de *Bucephalus haimeanus* reconhecendo as seguintes espécies atuando como hospedeiras: o bivalve *Cardium edule* e os peixes *Pomatoschistus microps* e *Morone labrax*.

O presente estudo tem como objetivo principal contribuir para o conhecimento da bucefalose, principal enfermidade presente em mexilhões no Brasil. Para tanto, foi realizada a identificação da espécie de *Bucephalus* causadora da enfermidade laranja e estabelecido o ciclo de vida do parasito, com reconhecimento de espécies utilizadas em seu ciclo de vida, na região do Sambaqui, Florianópolis/SC e a descrição dos estágios de desenvolvimento do trematódeo em seus hospedeiros. Eventuais estratégias de controle objetivando minimizar a ocorrência da enfermidade da bucefalose em mexilhões de cultivo também foram discutidas.

Este trabalho está dividido em dois capítulos: o primeiro, "Identificação e ciclo de vida de *Bucephalus margaritae* Ozaki e Ishibashi, 1934 (Digenea, Bucephalidae) do litoral de Santa Catarina, Brasil" está redigido sob as normas da revista "Aquaculture" e o segundo capítulo, "Desenvolvimento de metacercárias de *Bucephalus margaritae* Ozaki & Ishibashi, 1934 (Trematoda, Bucephalidae) em *Hyleurochilus fissicornis* (Quoy & Gaimard), 1824 (Blenniidae) do litoral de Santa Catarina, Brasil" está redigido dentro das normas do "Boletim do Instituto de Pesca".

CAPÍTULO 1

Identificação e ciclo de vida de *Bucephalus margaritae* Ozaki e Ishibashi, 1934 (Digenea, Bucephalidae) do litoral de Santa Catarina, Brasil

Natalia da Costa Marchiori ^{a,*}, Aimê Rachel Magenta Magalhães ^b, Joaber Pereira Junior ^c

^{a,b}Laboratório de Diagnóstico e Patologia em Aqüicultura, Depto. de Aqüicultura, CCA, UFSC,
Rodovia Ademar Gonzaga, 1346 - 88040 – 900, Itacorubi, Florianópolis, SC.

^c Lab. de Parasitos de Organismos Aquáticos –Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Cx.

Postal 474 – Rio Grande RS.

* Correspondência: Tel.: (48) 3721 9358

E-mail: namarchiori@gmail.com (N. Marchiori)

Identificação e ciclo de vida de *Bucephalus margaritae* Ozaki e Ishibashi, 1934 (Digenea, Bucephalidae) do litoral de Santa Catarina, Brasil

ABSTRACT

The orange disease is considered the main parasitosis of *Perna perna* mussel. It is caused by a bucephalid (Trematoda) of complex life-cycle, involving three hosts, among them molluscs and fishes. With the aim of contributing to the knowledge of the orange disease in culture mussels, it was investigated the parasite life-cycle. Experimental studies and monthly samples on the study area allowed identifying and characterizing *Bucephalus margaritae* life-cycle. Before necropsy, the animals were photographed, measured and observed in stereomicroscope. Larvae and adults of *B. margaritae* were fixed in formaline 5%, stained with Gomori's tricomic, clarified in creosote and mounted in Canadá Balsam. The cercariae occurs in the sporocysts, which has the form of an orange and ramified filaments in the first intermediate host, the *P. perna* mussel. The survival of most cercariae was about 48 hours, surviving up to 72 hours in a few cases. The metacercariae encysts in the gills and gill cavity of the second intermediate host, the blenniid *H. fissicornis*. The definitive host *Menticirrhus americanus* is infected ingesting blenniids parasitized with metacercariae. The high parasitological indexes of *B. margaritae* suggests that *M. americanus* and *H. fissicornis* acts as the main definitive and intermediate hosts, respectively, of the trematode. *Hypleurochilus fissicornis* is a new second intermediate host to the species.

Key-words: *Bucephalus margaritae*; *Hypleurochilus fissicornis*, life-cycle; orange disease, *Perna perna*.

RESUMO

A bucefalose, ou enfermidade laranja, é considerada a principal parasitose do mexilhão *Perna perna*. É causada por um Bucephalidae, de complexo ciclo de vida, envolvendo três hospedeiros, entre eles moluscos e peixes. Com o objetivo de contribuir para o conhecimento da bucefalose em mexilhões de cultivo, foi realizada a identificação da espécie causadora e investigado o ciclo de vida deste parasito. Estudos experimentais e coletas mensais na área de estudo permitiram identificar e caracterizar o ciclo de vida de *Bucephalus margaritae*. Antes da necrópsia, os hospedeiros foram fotografados, medidos e observados em estereomicroscópio. Larvas e adultos do parasita foram fixados em formol 5%, corados com tricrômico de Gômori, clarificados em creosoto e montados em lâminas permanentes com Bálsamo do Canadá. As cercárias ocorrem nos esporocistos, que tem a forma de filamentos alaranjados e ramificados no primeiro hospedeiro intermediário, o mexilhão *P. perna*. O tempo de sobrevivência da maioria das cercárias foi de aproximadamente 48 horas, podendo alcançar até 72 horas. As metacercárias encistam nas brânquias e cavidade branquial do segundo hospedeiro intermediário, o Blenídeo *H. fissicornis*. O hospedeiro definitivo *Menticirrhus americanus* é infectado quando ingere blenídeos com metacercárias. Os elevados índices parasitológicos de *B. margaritae* sugerem que *M. americanus* e *H. fissicornis* sejam os principais hospedeiros definitivo e intermediário, respectivamente, deste trematódeo. *Hypleurochilus fissicornis* é um novo segundo intermediário hospedeiro registrado para a espécie.

Palavras-chave: *Bucephalus margaritae*; *Hypleurochilus fissicornis*, ciclo de vida; enfermidade laranja; *Perna perna*;

1. INTRODUÇÃO

Larvas de *Bucephalus* sp. têm sido registradas no mexilhão *Perna perna* do litoral de Santa Catarina (Magalhães, 1998). Podendo causar severo impacto na miticultura e produção comercial devido ao seu elevado grau de patogenicidade (Silva *et al.*, 2002), a bucefalose, ou enfermidade laranja, é capaz de destruir os tecidos reprodutivos de seu hospedeiro, inviabilizando sua gametogênese, levando-o à castração (Calvo-Ugarteburu e McQuaid, 1998; Coustau *et al.*, 1993) e,

possivelmente à morte (Lauckner, 1983; Princep *et al.*, 1996; Magalhães, 1998). Algumas espécies de *Bucephalus* já tiveram seu ciclo de vida estudado (Matthews, 1973; Taskinen *et al.* 1991; Abdallah e Maamouri 2002; 2005). No Brasil, duas espécies de *Bucephalus* são reportadas, *B. solitarius* Kohn, 1966, no peixe *Caranx crysos* e *B. margaritae* Ozaki e Ishibashi, 1934, registrado em dez espécies de peixes como hospedeiros definitivos (Kohn *et al.*, 2007). Com o objetivo de contribuir para o conhecimento da bucefalose foi estabelecido o ciclo de vida de *B. margaritae*, com reconhecimento das espécies utilizadas como hospedeiras na região do Sambaqui, Florianópolis/SC e a descrição dos estágios de desenvolvimento do trematódeo em seus hospedeiros. Formas de minimizar o impacto da enfermidade nos cultivos do primeiro hospedeiro intermediário, o mexilhão *Perna perna* também são abordadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. *Localidade.* Ponta do Sambaqui está situada na Baía Norte da Ilha de Santa Catarina, Florianópolis (27° 29' S, 48° 33' W) e abriga os cultivos de *Perna perna* do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O sistema de cultivo é em espinhel.

2.2. *Observações em hospedeiros naturalmente infectados.* Amostras de 30 mexilhões *P. perna* foram coletadas mensalmente, entre novembro de 2006 a novembro de 2007, dos cultivos experimentais da UFSC. Os animais foram dissecados e examinados para estágios larvais do bucefalídeo. O peixe “Maria-da-toca” *Hypleurochilus fissicornis* (n = 51) foi coletado junto às cordas de mexilhões cultivados. Os peixes foram examinados em estereomicroscópio para a obtenção de metacercárias. Estas, quando presentes, foram desencistadas com o auxílio de agulhas histológicas ou aplicando uma leve pressão no cisto. Entre novembro de 2006 a julho de 2007, potenciais hospedeiros do trematódeo adulto forma coletados para investigação da presença de trematódeos bucefalídeos adultos do trato digestório. Isso foi verificado para os peixes *Trichiurus lepturus* (n= 5), *Dicentrarchus labrax* (n= 7), *Arius herzbergii* (n= 10), *Archosargus rhomboidalis* (n= 9), *Mycteroperia bonaci* (n= 1), *Spheroides testudineus* (n= 5), *Micropogonias furnieri* (n= 11), *Menticirrhus americanus* (n= 32), *Balistes capriscus* (n= 8), *Epinephelus gigas* (n= 1). Para todas as espécies de peixes parasitados foram calculados os Índices de prevalência, intensidade de infecção (IM) e abundância média, de acordo com Bush *et al.* (1997).

2.3 *Morfologia.* A morfologia de adultos e de metacercárias foi estudada em espécimes fixados em formol 5%. Os animais fixados foram lavados em água destilada, corados com tricrômico de Gômori, clarificados em creosoto e montados em bálsamo do Canadá. Observações em cercárias foram feitas em espécimes vivos. Esporocistos foram rompidos com o auxílio de agulhas histológicas para a liberação das larvas. Os caracteres morfológicos, medidos com auxílio de câmara clara nos helmintos, estão em micrômetros. As relações das medidas de alguns caracteres com o comprimento

total (CT) foram obtidas dividindo-as por seu comprimento total e são apresentadas na seguinte ordem: média, \pm desvio-padrão e valores mínimo e máximo entre parênteses.

2.4. *Observações da longevidade da cercária.* Foram obtidas 100 cercárias pelo rompimento dos esporocistos em mexilhões *P. perna* e mantidas juntas em placas de Petri, à temperatura ambiente (20-23 °C) e sua sobrevivência monitorada por até 72 horas.

2.5. *Observações no segundo hospedeiro intermediário infectado experimentalmente* Espécimes de Maria-da-Toca *H. fissicornis* foram separados em dois aquários, um exposto a mexilhões infectados por cercárias de *B. margaritae* (n=15) e o outro atuando como controle (n=15). Duas repetições de sete animais para cada aquário foram realizadas. A temperatura e salinidade foram controladas e mantidas constantes a 20 °C e 34 ‰, respectivamente. O período de exposição foi de 24 horas.

2.6. *Observações em hospedeiros definitivos infectados experimentalmente.* Dez “pamos” *Trachinotus goodei* foram coletados na localidade da Barra da Lagoa (27° 34` S, 48° 33` W) no lado leste da Ilha de Santa Catarina. Os animais foram alimentados com brânquias de blenídeo infectado e, 16 dias após, necropsiados para bucefalídeos adultos no trato digestivo.

3. RESULTADOS

3.1. *Ciclo de vida de Bucephalus margaritae na região do Sambaqui, Baía Norte da Ilha de Santa Catarina*

3.1.1. Esporocisto (Figura 1C)

De 360 mexilhões coletados, 21,6% estavam parasitados por esporocistos do helminto.

Os esporocistos são ramificados, com dilatações e ocorrem no manto, gônadas e glândula digestiva do mexilhão *Perna perna*, contendo cercárias em diferentes estágios de desenvolvimento.

3.1.2. Cercária (Figuras 1 D, 2 A)

Após liberadas dos esporocistos, em poucos minutos as larvas foram encontradas no fundo da placa de Petri, por meio de contrações do corpo, incluindo movimentos rotatórios em torno de seu próprio eixo e da furca. O tempo de sobrevivência da maioria das cercárias foi de aproximadamente 48 horas. Porém, com 72 horas, a 23° C e luminosidade moderada, 30% das larvas ainda foram observadas **apresentando algum movimento** na placa de Petri. Na ausência do segundo hospedeiro intermediário, não ocorreu o processo de encistamento das larvas.

Descrição baseada em 20 espécimes: Corpo pequeno e fino, $288,33 \pm 45,06$ (220 – 360) de comprimento e $0,197 \pm 0,060$ (20 – 90) de largura, levemente achatado dorso-ventralmente e com superfície espinhosa. O rincus, $0,258 \pm 0,040$ (50 – 100) de comprimento e $0,108 \pm 0,026$ (20 – 40) de largura, possui forma de bulbo e contém numerosas células glandulares. A boca, em forma de uma pequena fenda, está situada próxima ao centro do corpo da larva e é fortemente muscular. A faringe é curta e o intestino possui forma de saco irregular, $0,329 \pm 0,110$ (60 – 120). O sistema reprodutivo não foi evidenciado ou visível. A furca é caracterizada por duas projeções longas que, quando estendidas, superam em até 9,5 vezes o tamanho do corpo da larva, com pregas transversais em toda a superfície e terminando em uma pequena ventosa que rodeia os poros excretores.

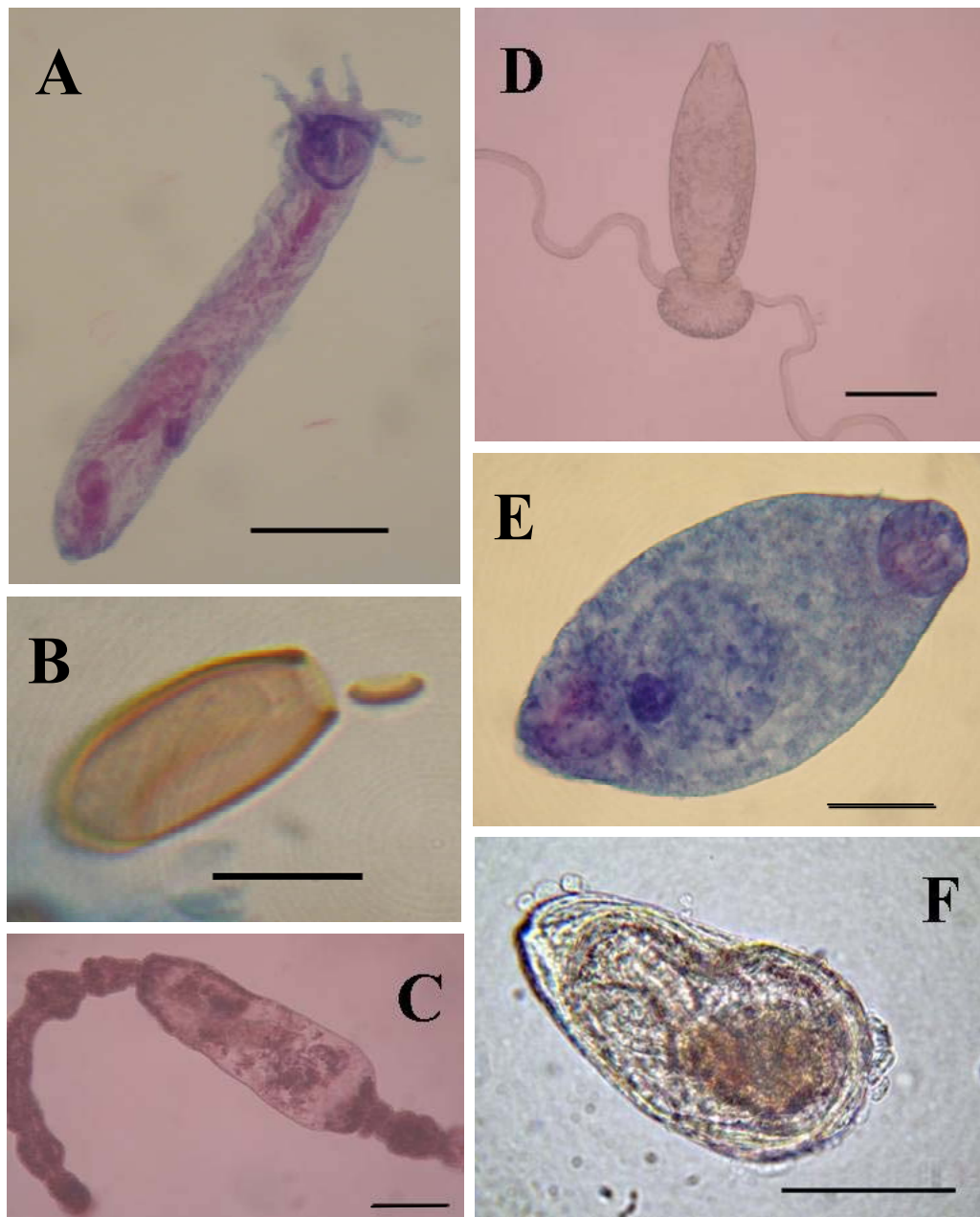


Figura 1. *Bucephalus margaritae* do estado de Santa Catarina. **A-** Adulto. Barra: 100 μ m. **B-** Ovo. Barra: 10 μ m. **C-** Esporocisto. Barra: 100 μ m. **D-** Cercária. Barra: 100 μ m. **E-** Metacercária com três dias de vida. Barra: 30 μ m. **F-** Cisto de metacercária adulto. Barra: 20 μ m.

3.1.3. *Metacercária* (Figura 1 E)

Metacercárias encistadas de *Bucephalus margaritae* foram encontradas na cavidade branquial do blenídeo, incluindo os filamentos e, principalmente, a base do arco branquial. A prevalência de animais infectados por metacercárias foi de 75%, a intensidade de infecção variou de 2 a 352 larvas por hospedeiro e a abundância média de 68,14. Os blenídeos são facilmente encontrados entre os mexilhões cultivados em cordas suspensas, ou até mesmo dentro de suas valvas, comumente utilizadas para a desova do peixe.

Os cistos são ovóides, com 43.75 ± 5 (30 – 60) μm de comprimento e 28.75 ± 3.31 (22.5 – 40) μm de largura, compostos por duas membranas: a interna e mais fina secretada pelas células cistogênicas do parasito e a cápsula mais espessa, possivelmente formada pelo hospedeiro. Metacercária, $181,6 \pm 14,21$ (160 – 200) μm de comprimento e $71,8 \pm 16,94$ (45 – 90) μm de largura (n= 15). Corpo recoberto por finos espinhos. Rincus composto por sete tentáculos com duas projeções cada, a maior basal e, a menor, distal. (Figura 3 A). A boca está localizada no centro do corpo e a faringe é curta. A vesícula excretora está situada no terço posterior do corpo. Gônadas muito pouco desenvolvidas.

3.1.4. *Adulto* (Figuras 1 C, 2 A)

Formas adultas de *Bucephalus margaritae* foram encontradas no intestino e cecos pilóricos do “papa-terra” (n = 32) *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758).

Sumário taxonômico de Bucephalus margaritae Ozaki e Ishibashi, 1934

Sinônimos: *Prosorhynchus margaritae* Ozaki e Ishibashi, 1934; *Bucephalus polymorphus* von Baer em Nagaty (1937); *B. varicus* Manter, 1940; *B. pseudovaricus* Velásquez, 1959; *B. retractilis* Yamaguti, 1959; *B. carangoides* Yamaguti, 1970; *B. ulua* Yamaguti, 1970. Dados de Nahhas *et al.*, 2006.

Hospedeiros: *Menticirrhus americanus* (Sciaenidae).

Outros peixes hospedeiros: a) segundo Nahhas *et al.*, 2006, *Atropus atropos* (Bloch & Schneider, 1801); *Scomberoides commersonianus* Lacépède, 1801; *Carangoides malabaricus* (Bloch & Schneider, 1801) (Carangidae); *Gerres filamentosus* Cuvier, 1829 (Gerreidae); *Sphyraena jello* Cuvier, 1829 (Sphyraenidae); b) segundo Luque *et al.*, 2000, Luque & Alves, 2001 e Kohn *et al.*, 2007, os carangídeos *Caranx crysos* (Mitchill, 1815), *Caranx hippos* (L.) e *Caranx latus* Agassiz, 1831; c) segundo Amato, 1982; Fernandes *et al apud* Kohn *et al.*, 2007., 1985, *Chloroscombrus crysurus* (Linnaeus, 1766) (Carangidae); d) em Kohn, 1968; Amato, 1982; Chaves & Luque, 1998 e Kohn *et al.*, 2007, o Scianidae *Menticirrhus americanus* Linnaeus, 1758; e) em Amato, 1982 e Kohn *et al.*, 2007, *Menticirrhus littoralis* (Holbrook, 1860) (Sciaenidae); f) em Pereira Jr. *et al.*, 1996 e Kohn *et al.*, 2007, *Micropogonias furnieri* Desmarest, 1823 (Sciaenidae); g) em Takemoto *et al.*, 1995; 1996 e Kohn *et al.*, 2007, *Oligoplites palometa*

Cuvier, 1833 e *Oligoplites saurus* (Bloch & Schneider, 1801) (Carangidae); h) em Takemoto et al., 1995 e Kohn et al., 2007, *Oligoplites saliens* (Bloch, 1793) (Carangidae); i) em Alves et al., 2004 e Kohn et al., 2007, *Urophycis brasiliensis* (Kaup, 1858) (Gadidae). j) segundo Bray, 1984, os carangídeos *Carangoides hedlandensis* (Whitley, 1934), *Caranx sem* Cuvier, 1833 e *Caranx sexfasciatus* Quoy & Gaimard, 1825; k) em Bray, 1984, o carangídeo *Caranx ignobilis* (Forsskal, 1775).

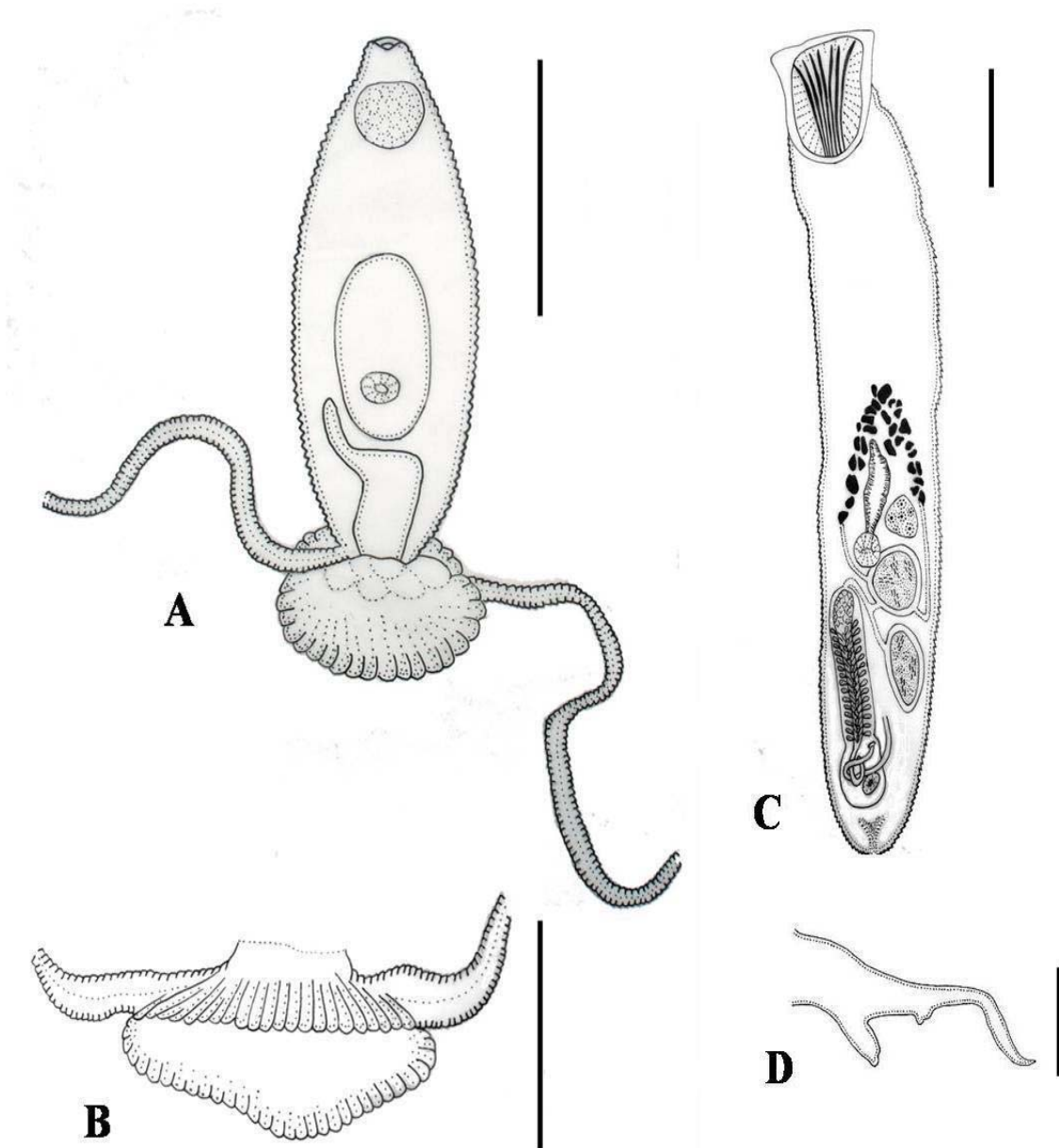


Figura 2. *Bucephalus margaritae* do estado de Santa Catarina. **A**- Cercária. Barra: 100 μ m. **B**- Região posterior em detalhe. Barra: 10 μ m. **C**- Adulto, visão ventral. Barra: 100 μ m. **D**- Tentáculo do adulto. Barra: 10 μ m.

Localidade: Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC (27° 29' S, 48° 33' W)

Locais de infecção nos peixes: intestino e cecos pilóricos.

Níveis de infecção: prevalência de 93%; intensidade média de infecção, $27,68 \pm 29,54$.

Descrição dos espécimes estudados: (Baseada em 10 espécimes): Corpo alongado, com $513,72 \pm 131,79$ (323 – 814) μm de comprimento por $0,158 \pm 0,047$ (52 – 164) μm de largura. Cutícula espinhosa, com pequenos espinhos em toda a extensão do corpo. Rincus apical em forma de funil com fundo côncavo, com sete tentáculos marginais, retráteis, telescópicos (Figuras 2 D, 3), afilados em sua extremidade e com duas projeções, uma proximal e outra distal (Figura 3). A proximal, com 12,5 de comprimento, forma um ângulo aproximado de 90° com o eixo do tentáculo, com extremidade obtusa. A distal, discreta, com extremidade aguda e 2,5 de comprimento sendo cinco vezes menor que a proximal. Ventosa oral pós-equatorial, circular, muscular, $0,661 \pm 0,053$ (220 – 546) da extremidade anterior inclui a boca em forma de fenda horizontal no centro. Faringe pequena, com $0,021 \pm 0,014$ (6 – 16) de largura. Vitelárias numerosas, em massas arredondadas, distribuídas na região mediana equatorial e lateralmente em dois campos convergentes, com 14 a 19 em cada lado. O intestino é simples, em forma de saco, projetado anteriormente preenchendo o espaço entre as vitelárias. O ovário, globular, pré-testicular e pré-faringeano é menor que os testículos, com $0,059 \pm 0,022$ (22 – 44) de comprimento por $0,103 \pm 0,094$ (30 – 114) de largura. Glândula de Mehlis e canal de Laurer não evidenciados. Alças uterinas ultrapassam o limite anterior dos campos vitelínicos e, posteriormente, alcançam a extremidade posterior do corpo. Ovos numerosos, ovóides e operculados, com $21,5 \pm 4,602$ (14 – 28) de comprimento por $9 \pm 4,348$ (4 – 19) de largura. Dois testículos, localizados posteriormente à ventosa oral um após o outro envolvidos por uma cápsula espessa (não incluídas nas medidas), globulares, com $0,08 \pm 0,019$ (34 – 64) de comprimento por $0,052 \pm 0,013$ (20 – 44) de largura (anterior) e $0,071 \pm 0,046$ (22 – 82) de comprimento por $0,075 \pm 0,037$ (28 – 76) de largura (posterior). De cada testículo, surge um vaso eferente, unidos anteriormente, formando um vaso deferente comum que se abre no saco do cirro. Saco do cirro alongado, localizado no terço posterior do corpo, iniciando ao nível do primeiro testículo com $0,0206 \pm 0,035$ (78 – 200) de comprimento. Abriga a vesícula seminal circular, a pars prostática com numerosas pequenas células prostáticas e o átrio genital, que inclui o cirro, digitiforme e sinuoso e o poro genital rodeado por musculatura discreta. Porção final do útero, sinuosa, envolve parcialmente o cirro no interior do átrio genital. Poro excretor terminal.

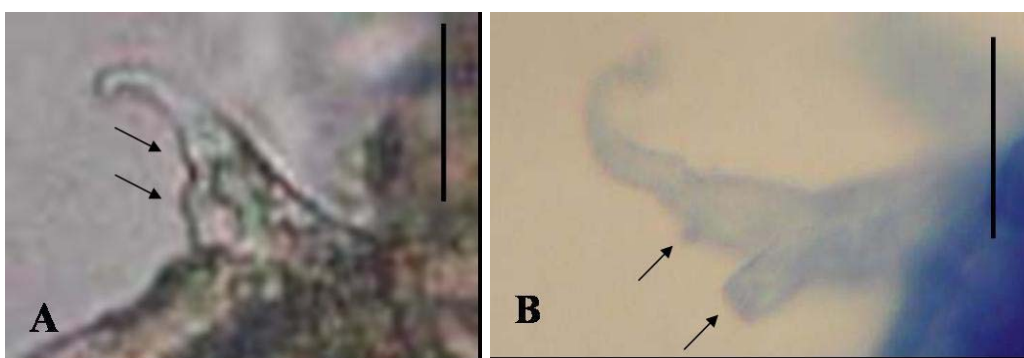


Figura 3. *Bucephalus margaritae*. Projeções do tentáculo **A** - Metacercária. **B** - Adulto. Barra: 10 μm .

3.2. Observações em infecções experimentais.

Hypleurochilus fissicornis infectados experimentalmente (n= 30) foram necropsiados para obtenção das formas larvais. As metacercárias foram encontradas encistadas na cavidade branquial do hospedeiro. O local de maior concentração de cistos foi na base dos arcos branquiais e filamentos.

Trachinotus goodei infectados experimentalmente foram necropsiados para obtenção das formas adultas. Não foram registrados espécimes adultos de *B. margaritae* em nenhum desses peixes examinados.

4. DISCUSSÃO

A bucefalose é considerada a enfermidade parasitária de maior importância para o cultivo de *Perna perna* (Bower *et al.*, 1994; Cochôa, 2005). Muitos dos danos provocados por este parasito ao hospedeiro são conhecidos (Magalhães, 1998; Silva *et al.*, 2002). Não foram encontrados estudos relativos ao comprometimento dos aspectos organolépticos dos animais infectados ou sobre a perda de massa que o mexilhão sofre com a invasão dos esporocistos do parasito sobre os seus tecidos, muito embora sejam muito prováveis.

Os elevados índices parasitológicos registrados nos peixes *H. fissicornis* e *M. americanus* nesse estudo sugerem que as populações destas espécies atuem como os principais hospedeiros intermediário e definitivo, respectivamente, no ciclo de vida do helminto no litoral de Santa Catarina. Além de se alimentar ativamente dos tecidos do mexilhão *Perna perna*, primeiro hospedeiro intermediário, o blenídeo *H. fissicornis* utiliza as valvas do molusco como local para desova. Isso é um dado importante para a mitilicultura local, já que o seu nicho está integrado a esta atividade.

No Brasil, *M. americanus* é hospedeiro definitivo comum para adultos de *B. margaritae* (= *B. varicus*) (Kohn, 1968; Amato, 1982; Chaves e Luque, 1998; Kohn *et al.*, 2007). No litoral de Santa Catarina, Amato (1982) registrou *B. varicus* (= *B. margaritae*) em *M. americanus* com medidas e descrição muito próximas das encontradas no presente estudo. Este trabalho registra, pela primeira vez, o blenídeo *Hypleurochilus fissicornis* hospedando cistos de metacercárias de *B. margaritae*, devendo ser considerado um novo hospedeiro.

Conforme Nahhas *et al.* (2006), o caráter diagnóstico de maior relevância para *B. margaritae* é a presença de sete tentáculos, cada um com duas projeções: uma grande, basal e outra pequena, distal. Segundo Spakulová *et al.* (2002), doze espécies de *Bucephalus* possuem um rincus rodeado por sete tentáculos com duas projeções. *Bucephalus priacanthi* Manter, 1940, *B. scorpaenae* Manter, 1940 e *B. varicus* Manter, 1940 (= *B. margaritae*) são descritos de peixes marinhos da Flórida e Brasil, para *B. varicus*. *B. elegans* Woodhead, 1930 é relatado para peixes dulcícolas dos Estados Unidos; *B. fragilis* Velásquez, 1959 e *B. uranoscopi* Yamaguti, 1934 são descritos de peixes marinhos das Filipinas e Japão e *B. anguillae* em *Anguilla Anguilla* do mar Adriático. *B. minimus* (Stossich, 1887), *B. blanchardi* (Stossich, 1898) e *B. labracis* Paggi e Orecchia, 1965 foram descritos de *Dicentrarchus labrax* do mar Mediterrâneo. *B. minimus* foi transferido por Yamaguti (1971) para *Bucephalopsis*

Yamaguti, 1971. Bartoli *et al.*, (2005) reportam *B. gorgon* (Linton, 1905) Eckmann, 1932 de carangídeos do Oeste Mediterrâneo também contendo sete tentáculos em seu rincus. No entanto, além de registrarem a presença de 11-14 papilas aproximadamente na base dos 7 tentáculos, essa espécie não apresenta a pequena projeção distal, característica de *B. margaritae*. Além disso, a única espécie das citadas acima que claramente apresenta o ovário em posição pré-faringeal é a *B. margaritae* (= *B. varicus*) (Spakulová *et al.*, 2002).

Outro caráter diagnóstico que varia em *B. margaritae* é o tamanho do ovo. Nahhas *et al.*, (2006) registraram ovos de *B. margaritae* com 13-20 µm de comprimento e 10-18 µm de largura. No Brasil, Amato (1982) descreveu ovos de *B. varicus* (= *B. margaritae*) com 18-20 e 10-12; Kohn (1968) estudando *B. margaritae* (= *B. varicus*) coletados por Lauro Travassos em 1921 em divertículo esofágico de *M. americanus* registrou ovos com 21-27 e 11-12. Takemoto *et al.*, (1995) estudando a fauna de trematódeos em *Oligoplites palometa*, *O. saurus* e *O. saliens* registraram ovos de *B. varicus* com 16-20 e 9-11. Nahhas *et al.* (2006) afirmaram que as médias das medidas dos ovos de *B. margaritae* encontradas na literatura foi de 14-27 e 10-13, valores muito próximos dos encontrados nesse estudo.

Uma revisão histórica de *B. margaritae* (= *B. varicus*) e sua relação com *B. polymorphus* Von Baer of Nagaty, 1827 é discutido em Bray (1984). Apesar da semelhança morfológica entre *Bucephalus polymorphus* e *Bucephalus margaritae*, levando alguns autores a apontarem as duas espécies como sinônimas (Nahhas *et al.*, 2006; Nasir & Gomes, 1977 *apud* Kohn *et al.*, 2007; Bray, 1984), algumas diferenças com relação à ecologia das larvas são evidentes. Parasito de peixes dulcícolas (Schuster *et al.*, 2001; Diler e Yildirim, 2003), *B. polymorphus* é registrado por Baturo (1977) encistado na musculatura e nadadeiras dos seus hospedeiros, diferentemente dos registros para *B. margaritae*, até então sempre localizado nas brânquias de hospedeiros marinhos. Estudos futuros poderão comprovar se as espécies são, de fato, sinônimas.

Abdallah e Maamouri (2005) concluíram que, em apenas dez dias, *Bucephalus labracis* completou seu desenvolvimento, atingindo a maturidade sexual, com conseqüente formação de ovos em seu hospedeiro final. Os hospedeiros definitivos infectados experimentalmente nesse estudo foram necropsiados no 16º dia após a infecção. No entanto, assim como em Taskinen *et al.* (1991), não foram registradas as formas adultas do helminto neste período.

Uma forma de evitar que o verme adulto desove nas cordas de cultivo seria introduzir as cordas em balsas no interior de tanques-rede que impeçam a entrada deste peixe. No entanto, Cochôa (2005), avaliando perdas de mexilhões *Perna perna* cultivados em tanques-rede, por parasitismo e predação e alertaram para um provável menor investimento em bisso por parte dos mexilhões neste tratamento. Isso é provável devido a possível diminuição do impacto das correntes e marés no interior dos tanques-rede, ocasionando despencamento das cordas, conforme verificado pela autora.

Outra alternativa de interrupção do ciclo do helminto pode ser a transferência dos cultivos de *P. perna* para águas "offshore". Buck *et al.*, (2005) concluíram que mexilhões cultivados em mar aberto apresentaram redução significativa na infecção parasitária por trematódeos, além de maior crescimento do molusco. Visto que o segundo hospedeiro intermediário mais comum, *H. fissicornis*, é

habitante de águas pouco profundas, o ciclo de vida do bucefalídeo pode se tornar incompleto em mar aberto e com isso resultar em índices de infecção muito baixos.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela concessão de auxílio e bolsa de Mestrado. Os autores agradecem também a Maurício Laterça Martins por disponibilizar gentilmente seu laboratório e a Jackson e Itamar, do Laboratório de Moluscos Marinhos da UFSC pela colaboração na captura dos animais.

REFERÊNCIAS

- Abdallah, L. B-G, Maamouri, F., 2002. Cycle évolutif de *Bucephalus anguillae* Spakulová. Macko, Berrilli & Dezfuli. 2002 (Digenea, Bucephalidae) parasite de *Anguilla anguilla* (L.). Systematic Parasitology 53, 207-217.
- Abdallah, L. B-G, Maamouri, F., 2005. The life cycle of *Bucephalus labracis* Paggi and Orecchia, 1965 (Digenea, Bucephalidae), a parasite of *Dicentrarchus labrax* in Tunisia. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 25 (6), 297.
- Alves, D. R.; Paraguassu, A. R.; Luque, J. L. Metazoários parasitas da Abrótea, *Urophycis brasiliensis* (Kaup, 1858), (Osteichthyes: Phycidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ver. Bras. Parasitol. Vet.**, v.13, n.1, p. 49-55, 2004.
- Amato, J. F. R., 1982. Digenetic trematodes of percoid fishes of Florianópolis, Southern Brazil – Bucephalidae. Rev. Brasil. Biol. 42 (4), 667-680.
- Bartoli, P., Rodney, A.B., Gibson, D. A., 2005. Three poorly known and rarely reported bucephalid species (Digenea) in fishes from the Western Mediterranean. Systematic Parasitology 62, 135-149.
- Baturo, B. 1977. *Bucephalus polymorphus* Baer, 1827 and *Rhipidocotyle illense* (Ziegler, 1883) (Trematoda, Bucephalidae): morphology and biology of developmental stages. Acta Parasitologica Polonica 24 (20), 203-220.
- Bower, S. M., Mcgladdery, S. E., Price, I. M., 1994. Synopsis of infection diseases and parasites of commercially exploited shellfish. Annu. Rev. Fish Dis. 4, 1-199
- Bray, R. A., 1984. Some helminth parasites of marine fishes and cephalopods of South Africa: Aspidogastrea and the digenean families Bucephalidae, Haplosporididae, Mesometridae and Fellodistomidae. Journal of Natural History 18, 271-292.
- Buck, B. H., Thieltges, D. W., Walter, U., Nehls, G., Rosenthal, H., 2005. Inshore-offshore comparison of parasite infestation in *Mytilus edulis*: implications for open ocean aquaculture. J. Appl. Ichthyol. 21, 107 – 113.
- Bush, A. O., Latterftty, K.D., Lotz, J.M. e Shostak, A. W., 1997. Parasitology meets ecology on terms: Margolis et al. Revisited. Journal of Parasitology 83 (4), 575- 583.
- Calvo-Ugarteburu, G., McQuaid, C. D., 1998. Parasitism and invasive species: effects of digenetic trematodes on mussels. Mar. Ecol. Progr. Ser. 169, 143-163
- Chaves, N. D., Luque, J. L., 1998. Trematódeos digenéticos parasitos de *Menticirrhus americanus* (Osteichthyes: Sciaenidae) no litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. Parasitología al día 22, 1-2.
- Cochôa, A. R., 2005. Perdas de sementes de mexilhão *Perna perna* (L., 1758), cultivado na Baía Norte – Ilha de Santa Catarina/SC. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

- Coustau, C., Combes, C., Maillard, C., Renaud, F., Delay, B., 1993. *Proserhynchus squamatus* (Trematoda) parasitoses in *Mytilus edulis*-*Mytilus galloprovincialis* complex: specificity and host-parasite relationships. *Pathology in marine science*. Academic Press, San Diego. pp. 291-298.
- Diler, O., Yildirim, U. 2003. Metacercáriae of *Bucephalus polymorphus* Baer, 1827 described in *Knipowitschia caucasica* in Egirdir Lake, Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists [Bull. Eur.Assoc. Fish Pathol.]* 23 (4), 201-204.
- Kohn, A., 1968. Ocorrência de *Bucephalus varicus* Manter, 1940 (Trematoda, Bucephaliformes) na Baía de Guanabara. *Atas Soc Biol* 11, 165-168.
- Kohn, A., Fernades, B. M. M., Cohen, S. C., 2007. South American trematodes parasites of fishes. Ed. Fundação Instituto Oswaldo Cruz e Conselho Nacional de Pesquisas. Rio de Janeiro, p. 318.
- Lauckner, G., 1983. Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: Kinne, O. (Ed.), *Diseases of marine animals, Introduction Bivalvia to Scaphopoda* vol. 2. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg. pp. 477-961
- Luque, J. L.; Alves, D. R.; Sabas, C. S. Metazoários parasitos do xaréu *Caranx hippos* (Linnaeus, 1766) e do xerelete *Caranx latus* Agassiz, 1831 (Osteichthyes: Carangidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Contribuições Avulsas Sobre a História Natural do Brasil, Seropédica**, v. 25, p. 1-17, 2000.
- Luque, J. L.; Alves, D. R. Ecologia das comunidades de metazoários parasitos do xaréu, *Caranx hippos* (Linnaeus) e do xerelete, *Caranx latus* Agassiz (Osteichthys, Carangidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Bras. Zool.**, n. 18, p. 399-410, 2001.
- Magalhães, A. R. M., 1998. Efeito da parasitose por Trematoda Bucephalidae na reprodução, composição bioquímica e índice de condição de mexilhões *Perna perna* (L.). São Paulo, Tese (Doutorado em Fisiologia Animal) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p. 185.
- Matthews, R. A., 1973. The life-cycle of *Bucephalus haimeanus* Lacaze-Duthiers, 1854 from *Cardium edule* L. *Parasitology* 67 (3), 341-350.
- Nahas, F. M., Sey, O., Nakahara, G., 2006. Digenetic trematodes of marine fishes from the Arabian Gulf off the coast of Kuwait. Family Bucephalidae Poche, 1907, and the description of a new species. *Helminthologia* 43 (3), 147-157.
- Pereira JR., J.; Robaldo, R.B.; Souto-Raiter, V. M. M. 1996. Um possível ciclo de vida de *Bucephalus varicus* Manter, 1940 (Trematoda: Bucephalidae) no Rio Grande do Sul. *Comun Mus Cienc PUCRGS Ser Zool*, 9: 31-36.
- Princep, M., Bigas, M., Durfort, M., 1996. Incidence of *Bucephalus haimeanus* (Lacaze-Duthiers, 1854) (Trematoda, Digenea) in the digestive gland of *Ostrea edulis* Linne. Original Title Incidencia de *Bucephalus haimeanus* (Lacaze-Duthiers, 1854) (Trematoda, Digenea) en el hepatopancreas de *Ostrea edulis* Linne. Unitat de Biologia Cel·lular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Spain 14 (2), 211-220.
- Schuster, R., Wanjek, K., Schein, E., 2001. Investigations on the occurrence of muscle metacercáriae in the roach (*Rutilus rutilus*) from Berlin waters. A contribution of the food hygienic importance of indigenous freshwater fish. *Archiv fur Lebensmittelhygiene*. Hannover. (Arch. Lebensmittelhyg.) 52 (4-5), 102-104.
- Silva, P. M., Magalhães, A. R. M., Barracco, M. A., 2002. Effects of *Bucephalus* sp. (Trematoda: Bucephalidae) on *Perna perna* mussels from a culture station in Ratones Grande Island, Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology* (79), 154-162.
- Spakulová, M., Macko, J. K., Berrilli, F., Dezfuli, B. S., 2002. Description of *Bucephalus anguillae* n. sp. (Trematoda: Bucephalidae), a parasite of the eel *Anguilla anguilla* (Anguillidae) from a brackish water lagoon of the Adriatic sea. *Journal of Parasitology* 88(2), 382-387.

Taskinen, J., Tellervo Valtonen, E., Gibson, D. I., 1991. Studies on Bucephalid digeneans parasitizing molluscs in fishes in Finland I. Ecological data and experimental studies. *Systematic Parasitology* 19, 81-94.

Takemoto, R. N., Amato, J. F. R., Luque, J. L., 1995. Trematódeos digenéticos parasitos de *Oligoplites* (Osteichthys, Carangidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro. *Brasil. Rev. UNIMAR* 17, 253-267.

Takemoto, R. N.; Amato, J. F. R.; Luque, J. L. 1996. Comparative analyses of the metazoan parasite communities of leatherjackets *Oligoplites palometa*, *O. saurus* and *O. saliens* (Osteichthys, Carangidae) from Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Rev. Bras. Biol.**, v. 56, p. 639- 650,

Yamaguti, S. 1971. Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates. Parts 1& 2. Keigaku Publishing Company Tokyo, Japan, 1, 047 pp.

CAPÍTULO 2

DESENVOLVIMENTO DE METACERCÁRIAS DE *Bucephalus margaritae* OZAKI & ISHIBASHI, 1934 (TREMATODA, BUCEPHALIDAE) EM *Hypleurochilus fissicornis* (QUOY & GAIMARD), 1824 (BLENNIIDAE) DO LITORAL DE SANTA CATARINA, BRASIL*

Natalia da Costa MARCHIORI¹, Aimê Rachel Magenta MAGALHÃES¹ e Joaber PEREIRA JR².

* apoio CAPES

1. **Laboratório de Diagnóstico e Patologia em Aqüicultura, Depto. de Aqüicultura, CCA, UFSC;** namarchiori@gmail.com; rachel@cca.ufsc.br
2. Lab. de Parasitologia de Organismos Aquáticos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande - FURG – RS, Brasil; ictiopar@yahoo.com.br;

DESENVOLVIMENTO DE METACERCÁRIAS DE *Bucephalus margaritae* OZAKI & ISHIBASHI, 1934 (TREMATODA, BUCEPHALIDAE) EM *Hypoleurochilus fissicornis* (QUOY & GAIMARD), 1824 (BLENNIIDAE) DO LITORAL DE SANTA CATARINA, BRASIL

Natalia da Costa MARCHIORI¹, Aimê Rachel Magenta MAGALHÃES² e Joaber PEREIRA JR³.

RESUMO

O desenvolvimento de metacercárias de *Bucephalus margaritae* foi observado em laboratório. Espécimes de *Hypoleurochilus fissicornis*, popularmente conhecido como Maria-da-Toca, foram expostos por 24 horas à cercárias do bucefalídeo e mantidos sob condições de temperatura e salinidade controladas. Cinco horas após o início da exposição, numerosas cercárias desprovidas de furca e não encistadas foram encontradas nas brânquias do hospedeiro. Um dia após, as metacercárias são envolvidas por uma membrana transparente e delgada. O rincus, muitas células de reserva e pequenos corpos glandulares já são visíveis. Três dias após, são registrados o orifício no centro do rincus circular, a vesícula excretora no terço posterior do corpo, a boca e a faringe. Em cinco dias, um segundo envoltório em torno do cisto é observado. No nono dia, as larvas apresentam movimentações no interior do cisto e no 10º dia, os tentáculos ainda pequenos e arredondados são visualizados. No 17º dia um pronunciado aumento do tamanho do rincus é observado. Foi constatado durante o estudo que o peixe *H. fissicornis* é um ativo predador do mexilhão *Perna perna*, primeiro hospedeiro intermediário de *B. margaritae*. Isso sugere que a infecção via bucal pode ter sido favorecida, uma vez que a mordida do peixe facilita o rompimento dos esporocistos presentes no bivalve, com conseqüente liberação de cercárias. Foi evidenciado que *H. fissicornis* é um importante vetor na transmissão da bucefalose nos cultivos de *P. perna* no litoral do Estado de Santa Catarina.

Palavras-Chave: *Bucephalus*; metacercária; Blenniidae; desenvolvimento; cercária

***Bucephalus margaritae* OZAKI & ISHIBASHI, 1934 (TREMATODA, BUCEPHALIDAE) METACERCARIAE DEVELOPMENT IN *Hypoleurochilus fissicornis* (QUOY & GAIMARD), 1824 (BLENNIIDAE) FROM SANTA CATARINA COASTAL WATERS, BRAZIL**

ABSTRACT

The development of *Bucephalus margaritae* metacercariae was observed in laboratory. Specimens of *Hypoleurochilus fissicornis* were exposed to bucephalid cercariae up to 24 hours and maintained under controlled temperature and salinity. Five hours after the beginning of exposition, numerous cercariae without furcae and not encysted were found in the host gills. A day later, the metacercariae are involved by a transparent and thin membrane. The rinchus, lots of reserve cells and small glandular bodies are already visible. Three days later, it was registered an opening in the center of the rinchus, the excretory vesicle in the posterior third posterior of the body, the mouth and pharynx. Five days later, a second envoltory layer around the cyst was observed. Nine days after, the larvae presents movements inside the cyst and in the day 10, the tentacles, still small and roundy, are visible. On the 17º day, an outstanding increasing of the rinchus was observed. It was evidenced during the study that the fish *H. fissicornis* is an active predator of *Perna perna* mussel, first intermediate host of *B.*

margaritae. This date suggests that the infection by mouth might be favored, once the fish bite facilitates the rupture of esporocysts with consequent **cercariae** releasing. *H. fissicornis* is an important vector in the bucephalid transmission on *P. perna* cultures from the coast of Santa Catarina, Brazil.

Key-Words: *Bucephalus*; metacercáriae; Blenniidae; development; cercariae

* CAPES

¹ Mestrado/ Departamento de Aquicultura/ CAPES

² NUDPAQ/ CCA/ UFSC

³ Lab. de Ictioparasitologia, PPG Aqüicultura FURG – RS, Brasil.

Endereço 1: Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aqüicultura, CCA Rod. SC 404, Km 3 – CEP 88040 – 900 – Florianópolis, SC, Brasil – e-mail: namarchiori@gmail.com

INTRODUÇÃO

Bucephalus margaritae Ozaki e Ishibashi, 1934 (Bucephalidae) tem como característica diagnóstica a presença de sete tentáculos em seu rincus, cada um com duas projeções (NAHHAS *et al.*, 2006). É uma espécie cosmopolita, com ciclo complexo e sua fase de metacercária é encontrada encistada em peixes carnívoros (PEREIRA JR. *et al.*, 1996). A penetração de cercárias das espécies de *Bucephalus* pode ocorrer em qualquer ponto do corpo do peixe embora alguns autores (TASKINEN *et al.*, 1991) sugiram que os cistos possam ter localizações definidas conforme a espécie.

Blenídeos são hospedeiros comuns de *Bucephalus* spp. (KVACH, 2003), sendo que *Hypleurochilus fissicornis* (Quoy & Gaimard), 1824 (Blenniidae) é parasitado por metacercárias de *B. margaritae* junto aos cultivos de *Perna perna* (Linnaeus, 1758) (Mytilidae) na Ilha de Santa Catarina, Brasil. O objetivo deste trabalho é descrever o desenvolvimento da metacercária de *B. margaritae* nos tecidos de *H. fissicornis* da Ilha de Santa Catarina, infestados em laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Hypleurochilus fissicornis (n=30) com comprimento total entre 2,5 e 9,1 cm foram coletados junto às cordas suspensas de mexilhões *P. perna*, no cultivo experimental do laboratório de moluscos marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) na localidade de Sambaqui, baía norte da Ilha de Santa Catarina (27° 29' S, 48° 33' W) entre agosto e outubro de 2007. Os animais utilizados foram mantidos sob condições de laboratório à temperatura de 20° C e salinidade de 34 ‰ e separados em dois aquários: um exposto a mexilhões infestados por cercárias de *B. margaritae* por 24 horas e o outro mantido como controle. Duas repetições de sete animais para cada aquário foram realizadas. Dois peixes de cada um dos aquários foram necropsiados após 5 horas, 1, 3, 5, 7, 11 e 17 dias a partir do início da exposição (TE = tempo após o início da exposição). Os números de cistos encontrados em cada aquário estão apresentados na seguinte ordem: média, desvio-padrão ±, valor mínimo e máximo entre parênteses. As larvas foram desencistadas com o auxílio de agulhas histológicas, analisadas vivas e após fixadas em formol 5%, coradas com tricrômico de Gômori, clarificadas em creosoto e montadas em bálsamo de Canadá. Os animais foram fotografados em microscópio óptico e suas estruturas diagnósticas indicadas por setas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o experimento, os blenídeos se alimentaram ativamente do primeiro hospedeiro intermediário, o mexilhão *Perna perna*.

As furcocercárias penetram o hospedeiro via opercular e via bucal, fixando-se na cavidade branquial, incluindo os filamentos (Figura 1, A) e, principalmente, a base do arco branquial (Tabela 1).

Tabela 1. Observações do comportamento e desenvolvimento das larvas ao longo de 17 dias após o início da exposição. TE = tempo de exposição.

TE	Características	Figura
5 horas	Larvas em processo de adesão, sem furcas e não encistadas.	
24 horas	Presença de uma membrana transparente muito fina. Larvas facilmente liberadas do cisto.	Figura 1B
24 horas	Cistos numerosos, pequenos, claros e com pouca aderência à brânquia. Larva com células grandes de reserva e inúmeras outras menores glandulares, principalmente no intestino.	Figura 1C
3 dias	O rincus, circular, apresenta um pequeno orifício em seu centro. Boca e faringe desenvolvidos e intestino sacular com células grandes de reserva em seu interior. Vesícula excretora no terço posterior do corpo.	Figura 2
5 dias	Cistos maiores, escurecidos, com dois envoltórios, o segundo produzido pelo hospedeiro. Rincus tende ao contorno piriforme.	Figura 1D
9 dias	Larvas com movimentação no interior do cisto.	
11 dias	Aumento considerável de tamanho da larva.	Figura 3A
14 dias	Tentáculos desenvolvidos, apresentando duas projeções, uma distal grande e outra basal, discreta. Finos espinhos que recobrem todo o corpo da larva são visualizados.	
17 dias	Pronunciado aumento de tamanho do rincus.	

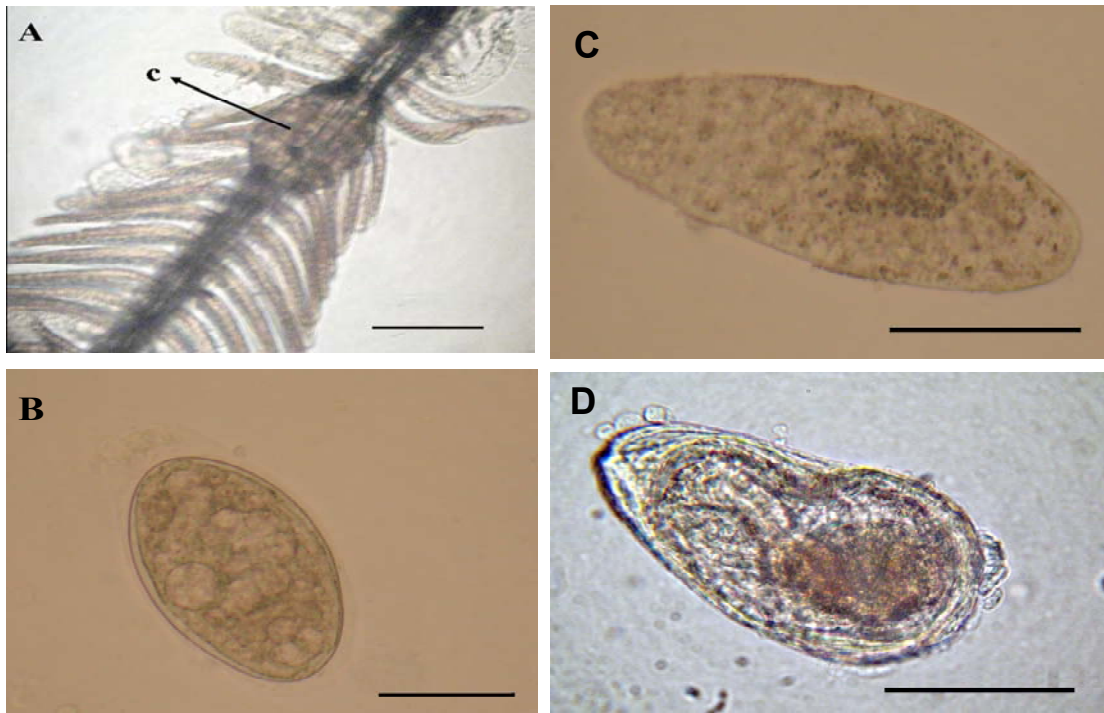


Figura 1. Cistos e metacercária de *Bucephalus margaritae*. **A.** Cisto (c) incluído no filamento branquial. Barra: 100 μm **B.** Cisto formado pelo parasito 24 horas. Barra: 30 μm TE. **C.** Metacercária com um dia de vida. Barra: 50. **D.** Cisto maduro. Barra: 20 μm .

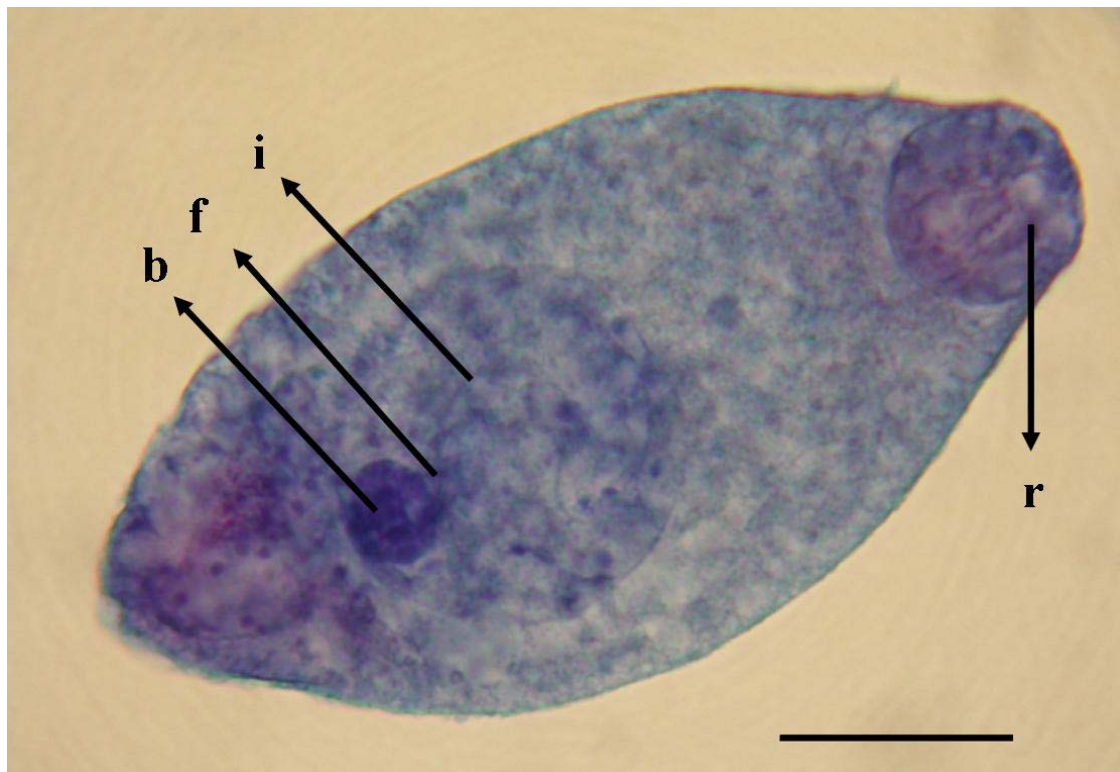


Figura 2. Metacercária de *Bucephalus margaritae* com três dias de vida. **b.** Boca. **f.** Faringe. **i.** Intestino. **r.** Rincus. Barra= 30 μm .

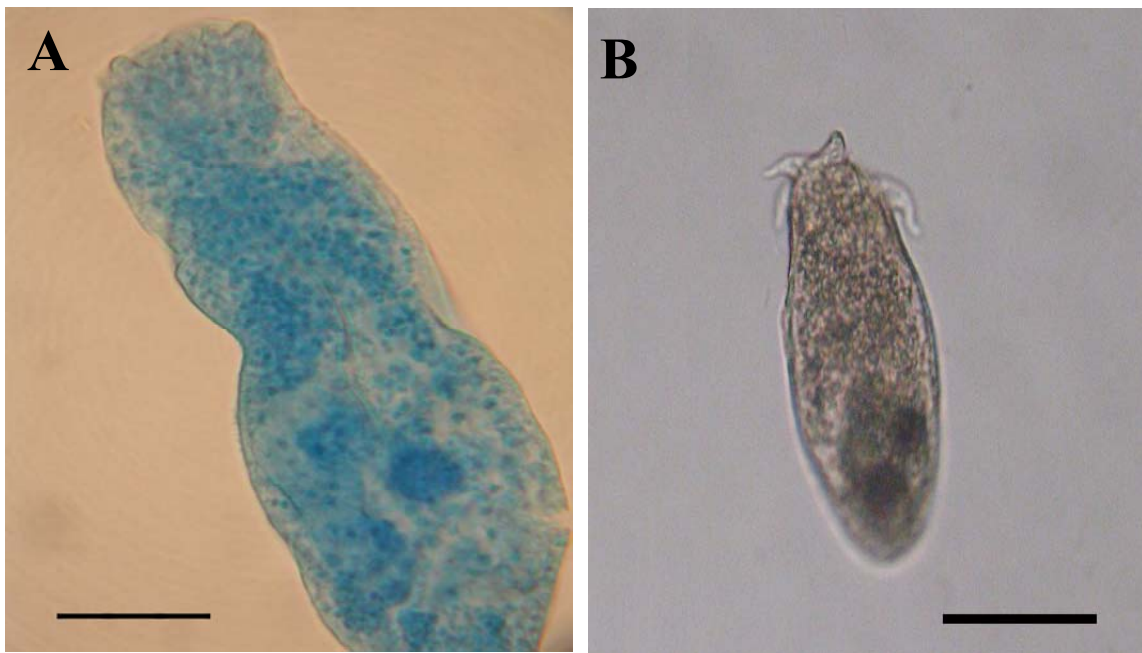


Figura 3. Desenvolvimento larval de *Bucephalus margaritae*. **A.** Metacercária com onze dias de vida. t. Tentáculo em desenvolvimento. Barra: 30 μ m. **B.** Metacercária em estágio avançado. t. Tentáculo. Barra= 50 μ m.

Nos dois primeiros dias após o início da exposição dos peixes aos *P. perna* infestados, a intensidade de infecção por metacercárias encistadas em blenídeos experimentalmente infestados foi elevada, com média de 136 cistos por peixe $\pm 117,24$ (25-332), diferentemente dos animais controle $8,28 \pm 13,43$, (1-41). A partir do sexto dia, uma tendência de equivalência no número de cistos entre ambos os aquários é percebida (Figura 2).

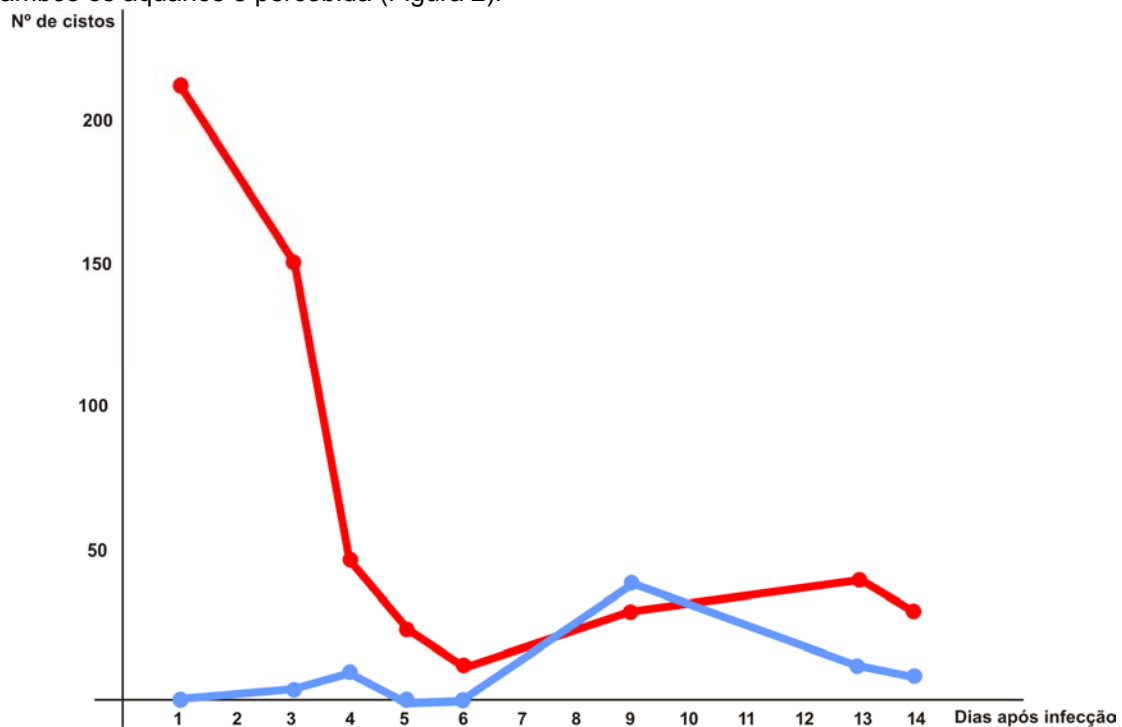


Figura 4. Número de metacercárias obtidas em *Hyleurochilus fissicornis* infectados (vermelho) e controle (azul).

Como nos estudos de ABDALLAH e MAAMOURI (2005) com *Bucephalus labracis*, o período para o início do encistamento da larva de *B. margaritae* foi de aproximadamente 24 horas após a penetração em seu hospedeiro. O rincus de *B. labracis*, no entanto, é visualizado no quarto dia de vida, enquanto nesse estudo é visualizado com um dia de vida, aproximadamente. BATURO (1977) distingue três fases no desenvolvimento da metacercária de *Bucephalus polymorphus*. A primeira, iniciada com a entrada da larva em seu hospedeiro até o começo do seu encistamento, é caracterizada por um aumento no seu corpo e intestino, corroborando as observações do presente estudo, incluindo a presença de numerosas células glandulares no intestino da larva, o que o torna mais escurecido durante este período.

Alguns estudos relatam localizações específicas dos cistos das metacercárias, o que varia nas diversas espécies de *Bucephalus*. A musculatura de *Atherina boyeri*, *Aphanius fasciatus* e *Knipowitshia caucasica* é usada por cistos de metacercárias de *B. anguillae*, *B. labracis* e *B. polymorphus* respectivamente (ABDALLAH e MAAMOURI, 2002; 2005; DILER e YILDIRIM, 2003). *Bucephalus margaritae* (= *Bucephalus varicus*), encistam nas brânquias de *Micropogonias furnieri* (PEREIRA JR. *et al.*, 1996), como observado nesse estudo. Metacercárias de *B. haimeanus* encistam no fígado de *Pomatoshistus microps* com altas concentrações ao redor da vesícula gasosa e vasos sanguíneos (HIGGINS *et al.*, 1977). TASKINEN *et al.* (1991) infectou experimentalmente *Rutilus rutilus* com duas espécies de cercárias que foram nomeadas tipo A (semelhantes a *B. polymorphus* descrita por BATURO (1977)) e a outra tipo B, (semelhante a *Rhipidocotyle illense*, (Ziegler, 1883) também descrita por BATURO (1977)). Os autores registraram metacercárias em diversas áreas do corpo do peixe, como musculatura, pedúnculo caudal, nadadeiras e cavidade branquial. Porém, 99% das metacercárias registradas por TASKINEN *et al.* (1991) estavam localizadas nas nadadeiras, especialmente na base da cauda. Na espécie tipo B, 96,7% das metacercárias estavam localizadas ao redor do arco branquial. BATURO (1977) *apud* TASKINEN *et al.* (1991), sugerem que locais diferentes de penetração da cercária podem estar relacionados com a morfologia da larva.

Alternativamente, o comportamento do peixe pode estar relacionado com o parasitismo por Bucephalidae. A participação de mitilideos na dieta de blenideos foi reportada por MAZÉ *et al.* (1999). Esses autores mostram que *Lipophrys pholis* (L.) (Blenniidae) predam preferencialmente mitilideos e que a abundância dos moluscos determina a frequência de aparecimento no peixe.

Como pode ser observado durante o experimento conduzido nesse estudo, *H. fissicornis* é um ativo predador de *Perna perna*. Dessa forma, embora as cercárias de Trematoda em geral procurem ativamente seus hospedeiros após abandonarem seu hospedeiro molusco, a liberação das larvas de *B. margaritae* é facilitada pelo rompimento dos esporocistos pela mordida do peixe. Isso favorece a infecção via oral, com conseqüente fixação das larvas na base dos arcos branquiais, evidenciando a importância de *H. fissicornis* no processo de infecção de *P. perna* por *B. margaritae* no litoral do Estado de Santa Catarina.

Hemorragias, necrose e edemas nas brânquias são algumas das patologias provocadas por metacercárias de bucefalídeos em seus hospedeiros peixes (BATURO, 1980; OGAWA *et al.*, 2004).

Nos hospedeiros examinados nesse estudo não foram observadas evidências macroscópicas de patologias como essas. É possível que estudos histológicos possam mostrar alterações teciduais.

Como pode ser observado neste estudo, após nove dias, os peixes expostos aos mexilhões infestados registraram número menor de cistos do que os do controle. A severa diminuição da intensidade de infecção apresentada pelos blenídeos após as primeiras 24 horas podem sugerir que os hospedeiros já sensibilizados apresentam maior resistência à infecção por novas metacercárias, com diminuição da taxa de estabelecimento do parasito e aumento na resistência adquirida do hospedeiro frente à parasitose, semelhante ao descrito por KARVONEN *et al.* (2004).

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão de auxílio e bolsa de Mestrado. Os autores agradecem também a Maurício Laterça Martins por disponibilizar gentilmente seu laboratório e a Jackson e Itamar ARRUMAR (UFSC) pela colaboração na captura dos animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, L. B-G, MAAMOURI, F., 2002. Cycle évolutif de *Bucephalus anguillae* Spakulová. Macko, Berrilli & Dezfuli. 2002 (Digenea, Bucephalidae) parasite de *Anguilla anguilla* (L.). *Systematic Parasitology*, 53: 207-217.
- ABDALLAH, L. B-G, MAAMOURI, F., 2005. The life cycle of *Bucephalus labracis* Paggi and Orecchia, 1965 (Digenea, Bucephalidae), a parasite of *Dicentrarchus labrax* in Tunisia. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 25 (6): 297.
- BATURO, B. 1977. *Bucephalus polymorphus* Baer, 1827 and *Rhipidocotyle illense* (Ziegler, 1883) (Trematoda, Bucephalidae): morphology and biology of developmental stages. *Acta Parasitologica Polonica*, 24 (20): 203-220.
- BATURO, B. 1980. Pathological changes in cyprinid fry infected by *Bucephalus polymorphus* Baer, 1827 and *Rhipidocotyle illensis* (Ziegler, 1883) metacercariae (Trematoda, Bucephalidae). *Acta Parasitol. Pol.*, 27(15-28): 241-246.
- DILER, O. e YILDIRIM, U. 2003. Metacercariae of *Bucephalus polymorphus* Baer, 1827 described in *Knipowitschia caucasica* in Egirdir Lake, Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists [Bull. Eur.Assoc. Fish Pathol.]*, 23 (4): 201-204.
- HIGGINS, J. C.; WRIGHT, D. E.; MATTHEWS, R. A. 1977. The ultrastructure and histochemistry of the cyst wall of *Bucephalus haimeanus* (Lacaze-Duthiers, 1854. *Parasitology*, 75 (2): 207-214.
- HIGGINS, J. C.; WRIGHT, D. E.; MATTHEWS, R. A. The ultrastructure and histochemistry of the cyst wall of *Bucephalus haimeanus* (Lacaze-Duthiers, 1854. **Parasitology**, v. 75, n. 2, p. 207-214, 1977.
- KARVONEN, A.; SEPPALA, O.; VALTONEN, E. T. 2004. Parasite resistance and avoidance behaviour in preventing eyefluke infections in fish. *Parasitology*, 124: 159-164.
- KVACH, Y. 2003. Helminthes of recently established two blenny fishes (Blenniidae) from the Odessa Bay (Black Sea). *Vestnik zoologii [Vestn. Zool.]*, 37 (6): 64.
- MAZÉ, R. A.; DOMINGUEZ, J.; PEREZ-CARDENAL, D. 1999. Diet of *Lipophrys pholis* (L.) (Teleostei: Blenniidae) in Cantabrian coastal waters (Spain). *Acta Oecologica*, 20 (4): 435-448.

NAHHAS, F. M.; SEY, O.; NAKAHARA, G. 2006. Digenetic trematodes of marine fishes from the Arabian Gulf off the coast of Kuwait. Family Bucephalidae Poche, 1907, and the description of a new species. *Helminthologia*, 43 (3): 147-157.

OGAWA, K.; NAGATSUGAWA, T.; YASUZAKI, M. 2004. Heavy metacercarial infections of cyprinid fishes in Uji River. *Fisheries Science*, 70: 132-140.

PEREIRA JR., J.; ROBALDO, R.B.; SOUTO-RAITER, V. M. M. 1996. Um possível ciclo de vida de *Bucephalus varicus* Manter, 1940 (Trematoda: Bucephalidae) no Rio Grande do Sul. *Comun Mus Cienc PUCRGS Ser Zool*, 9: 31-36.

TASKINEN, J.; TELLERVO VALTONEN, E.; GIBSON, D. I. 1991. Studies on Bucephalid digeneans parasitizing molluscs in fishes in Finland I. Ecological data and experimental studies. *Systematic Parasitology*, 19: 81-94.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A bucefalose é atualmente considerada a enfermidade mais importante em mexilhões *Perna perna*. Animais parasitados cultivados com vistas à comercialização podem ter seus aspectos organolépticos comprometidos pela parasitose. Estudos futuros envolvendo o impacto econômico da doença poderão ressaltar ainda mais sobre a enfermidade, envolvendo formas mais seguras de erradicá-la. Uma alternativa sugerida neste trabalho como forma de diminuir a presença do parasito em mexilhões de cultivo seria a transferência dos mesmos para áreas mais distantes da costa, devidamente sinalizadas, que pode ser avaliada em trabalhos futuros.

A presença de patógenos causadores de enfermidades graves indica a importância que deve ser dada à identificação de parasitos. No entanto, *Bucephalus* apresenta sistemática e descrições muito confusas, incluindo inúmeras sinonímias e necessidade de uma revisão consistente do gênero, a fim de assegurar resultados mais precisos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

- ABDALLAH, L. B-G, MAAMOURI, F., 2002. Cycle évolutif de *Bucephalus anguillae* Spakulová. Macko, Berrilli & Dezfuli. 2002 (Digenea, Bucephalidae) parasite de *Anguilla anguilla* (L.). *Systematic Parasitology*, 53: 207-217.
- ABDALLAH, L. B-G, MAAMOURI, F., 2005. The life cycle of *Bucephalus labracis* Paggi and Orecchia, 1965 (Digenea, Bucephalidae), a parasite of *Dicentrarchus labrax* in Tunisia. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 25 (6): 297.
- ALVES, D. R.; PARAGUASSÚ, A. R.; LUQUE, J. L. Metazoários parasitas da Abrótea, *Urophycis brasiliensis* (Kaup, 1858), (Ostheichyces: Phycidae) do litoral do estado do Rio e Janeiro, Brasil. **Ver. Bras. Parasitol. Vet.**, v.13, n.1, p. 49-55, 2004.
- AMATO, J. F. R. Digenetic trematodes of percoid fishes of Florianópolis, Southern Brazil – Bucephalidae. **Rev. Brasil. Biol.**, v. 42, n. 4, p. 667-680, 1982.
- BATURO, B. *Bucephalus polymorphus* Baer, 1827 and *Rhipidocotyle illense* (Ziegler, 1883) (Trematoda, Bucephalidae): morphology and biology of developmental stages. **Acta Parasitologica Polonica**, v. 24, n. 20, p. 203-220, 1977.
- BATURO, B. Larval Bucephalosis in artificially heated lakes of the Konin region, Poland. **Acta Parasitol. Pol.**, v. 25, p.307-321, 1978.
- BATURO, B. Pathological changes in cyprinid fry infected by *Bucephalus polymorphus* Baer, 1827 and *Rhipidocotyle illensis* (Ziegler, 1883) metacercáriae (Trematoda, Bucephalidae). **Acta Parasitol. Pol.**, v. 27, p. 241-246, 1980.
- BOWER, S. M. **Diseases and parasites of mussels**. In: Gosling, E. (ed), *The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture*. Elsevier, Amsterdam, p. 543-563, 1992.
- BRAY, R. A. Some helminth parasites of marine fishes and cephalopods of South Africa: Aspidogastrea and the digenean families Bucephalidae, Haplosporididae, Mesometridae and Fellodistomidae. **Journal of Natural History**, v. 18, p. 271-292, 1984.
- CALVO-UGARTEBURU, G.; MCQUAID, C. D. Parasitism and invasive species: effects of digenetic trematodes on mussels. **Mar. Ecol. Progr. Ser.**, v. 169, p. 143-163, 1998.
- CHENG, T. C.; BURTON, R. W. Relationships between *Bucephalus* sp. and *Crassostrea virginica*: Histopathology and Sites of Infection. **Cheasepeake Science**, v. 6, n.1, p. 3-16, 1965.
- CHENG, T. C. **Parasitologia General**. 2 ed, Madrid: Editorial AC, 1978.
- COSTA, R. L. **Parasitas de mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) cultivados nas Baías Norte e Sul/SC**. Dissertação de mestrado, Florianópolis, SC, 2008.
- COUSTAU, C.; COMBES, C.; MAILLARD, C.; RENAUD, F.; DELAY, B. *Proserhynchus squamatus* (Trematoda) parasitoses in *Mytilus edulis-Mytilus galloprovincialis* complex: specificity and host-parasite relationships. In: Perkins, F. O., Cheng, T. C. (Eds.). **Pathology in marine science**, p. 291-298, 1993.
- DILER, O.; YILDIRIM, U. Metacercáriae of *Bucephalus polymorphus* Baer, 1827 described in *Knipowitschia caucasica* in Egridir Lake, Turkey. **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists [Bull. Eur.Assoc. Fish Pathol.]**, v. 23, n. 4, p. 201-204, 2003.
- GALVÃO, M. S. N.; PEREIRA, O. M.; MACHADO, I. C.; HENRIQUE, M. B. Aspectos reprodutivos da ostra *Crassostrea brasiliiana* de manguezais do estuário de Cananéia, SP (25°S; 48°W). **B. Inst. Pesca**, v. 26, n. 2, p. 147-162, 2000.

GARCIA, P. **Enfermidades de notificação obrigatória em moluscos marinhos: protocolos para identificação e viabilidade de execução**. Dissertação de Mestrado. Florianópolis, SC, 2005.

HEASMAN, M. P.; O'CONNOR, W. A.; FRAZER, A. W. J. Digenean (Bucephalidae) infections in commercial scallops, *Pecten fumatus* Reeve, and doughboy scallops, *Chlamys (Mimachlamys) asperrima* (Lamarck) in Jervis Bay, New South Wales. **Journal of Fish Diseases [J. FISH DIS.]**, v. 19, n. 5, p. 333-339, 1996.

HIGGINS, J. C.; WRIGHT, D. E.; MATTHEWS, R. A. The ultrastructure and histochemistry of the cyst wall of *Bucephalus haimeanus* (Lacaze-Duthiers, 1854). **Parasitology**, v. 75, n. 2, p. 207-214, 1977.

KHAMDAN, S. A. A. Occurrence of *Bucephalus* sp. trematode in the gonad of the pearl oyster, *Pinctada radiata*. **Environment International [Environ. Int.]**, v. 24, n. 1-2, p. 117-120, 1998.

KOHN, A. Ocorrência de *Bucephalus varicus* Manter, 1940 (Trematoda, Bucephaliformes) na Baía de Guanabara. **Atas Soc Biol Rio de Janeiro**, v. 11, p. 165-166, 1968.

KOHN, A.; FERNANDES, B. M. M.; COHEN, S. C. **South American trematodes parasites of fishes**. Ed. Fundação Instituto Oswaldo Cruz e Conselho Nacional de Pesquisas. R. de Janeiro, p. 318, 2007.

KUBITZA, F. "O mar está prá peixe...prá peixe cultivado". **Panorama da Aquicultura**, v. 17, n.100, p. 14-23, 2007.

KVACH, Y. Helminthes of recently established two blenny fishes (Blennidae) from the Odessa Bay (Black Sea). **Vestnik zoologii [Vestn. Zool.]**, v. 37, n. 6, p. 64, 2003.

LAUCKNER, G. Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: Kinne, O. (ed.). **Diseases of Marine Animals**, v. 2, p. 477- 961, 1983.

LARUELLE, F.; MOLLOY, D. P.; ROITMAN, V. A. Histological Analysis Of Trematodes In *Dreissena polymorpha*: Their Location, Pathogenicity, And Distinguishing Morphological Characteristics. **Journal of Parasitology [J. Parasitol.]**, v. 88, n. 5, p. 856-863, 2002.

LUQUE, J. L.; ALVES, D. R.; SABAS, C. S. Metazoários parasitos do xaréu *Caranx hippos* (Linnaeus, 1766) e do xerelete *Caranx latus* Agassiz, 1831 (Osteichthyes: Carangidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Contribuições Avulsas Sobre a História Natural do Brasil, Seropédica**, v. 25, p. 1-17, 2000.

LUQUE, J. L.; ALVES, D. R. Ecologia das comunidades de metazoários parasitos do xaréu, *Caranx hippos* (Linnaeus) e do xerelete, *Caranx latus* Agassiz (Osteichthys, Carangidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Bras. Zool.**, n. 18, p. 399- 410, 2001.

MAGALHÃES, A. R. M. **Efeito da parasitose por Trematoda Bucephalidae na reprodução, composição bioquímica e índice de condição do mexilhão *Perna perna* (L.)** São Paulo: 185 p. Tese de doutoramento. Instituto de Biociências, USP, 1998.

MATTHEWS, R. A. The life-cycle of *Bucephalus haimeanus* Lacaze-Duthiers, 1854 from *Cardium edule* L. **Parasitology**, v. 67, n. 3, p. 341-350, 1973.

NAHHAS, F. M.; SEY, O.; NAKAHARA, G. Digenetic trematodes of marine fishes from the Arabian Gulf off the coast of Kuwait. Family Bucephalidae Poche, 1907, and the description of a new species. **Helminthologia**, v. 43, n. 3, p. 147-157, 2006.

OGAWA, K.; NAGATSUGAWA, T.; YASUZAKI, M. Heavy metacercarial infections of cyprinid fishes in Uji River. **Fisheries Science**, v. 70, p. 132-140, 2004.

OGAWA, K.; NAGATSUGAWA, T.; YASUZAKI, M. 2004. Heavy metacercarial infections of cyprinid fishes in Uji River. **Fisheries Science**, 70: 132-140.

OLIVEIRA NETO, F. M. **Diagnóstico do cultivo de moluscos em Santa Catarina**. Florianópolis: EPAGRI, 2005.

ORECCHIA, P.; BERRILLI, F.; DE LIBERATO, C.; DI CAVE, D.; POLENTA, R.; FROGLIA, C. Proceedings Investigations on Fisheries and Aquaculture within the Framework of Law Number 41/82. Part 2: Aquaculture. **Biologia marina mediterranea [Biol. Mar. Mediterr.]**, v. 5, n. 3, p. 1572-1579, 1998.

PAULILO, M. I. S. **Maricultura e território em Santa Catarina – Brasil**. Cadernos de Pesquisa – PPGSP – UFSC, v. 31, n. 4, 2002.

PEREIRA JR. J.; ROBALDO, R. B.; SOUTO-RAITER, V.M.M. Um possível ciclo de vida de *Bucephalus varicus* Manter, 1940 (Trematoda: Bucephalidae) no Rio Grande do Sul. **Comun Mus Cienc PUCRGS Ser Zool**, v. 9, p. 31-36, 1996.

PODVYAZNAYA, I. M.; GALAKTIONOV, K. V.; IRWIN, W. B. An ultrastructural study of excretory system development in the cercariae of *Proisorhynchus gracilescens* (Rudolphi, 1819) and *Proisorhynchus squamatus* Odhner, 1905 (Digenea: Bucephalidae). **Parasitology**, v. 129, p. 165-179, 2004.

POLI, C. R. **Situação atual do cultivo de moluscos marinhos em Santa Catarina**. Florianópolis: Blue Water Aquaculture LTDA. Disponível em: www.dwa.com.br, 1998.

PRINCEP, M.; BIGAS, M.; DURFORT, M. Incidence of *Bucephalus haimeanus* (Lacaze-Duthiers, 1854) (Trematoda, Digenea) in the digestive gland of *Ostrea edulis* Linne. **Iberus [Iberus]**, v. 14, n. 2, p. 211-220, 1996.

ROHDE, K. **Marine Parasitology**. CSIRO. 2005.

SILVA, P. M.; MAGALHÃES, A. R. M.; BARRACCO, M. A. Effects of *Bucephalus sp.* (Trematoda: Bucephalidae) on *Perna perna* mussels from a culture station in Ratones Grande Island, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 79, p. 154-162, 2002

TAKEMOTO, R. N.; AMATO, J. F. R.; LUQUE, J. L. Trematódeos digenéticos parasitos de *Oligoplites* (Osteichthys, Carangidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro. Brasil. **Rev. UNIMAR**, v. 17, p. 253–267, 1995.

TAKEMOTO, R. N.; AMATO, J. F. R.; LUQUE, J. L. Comparative analyses of the metazoan parasite communities of leatherjackets *Oligoplites palometa*, *O. saurus* and *O. saliens* (Osteichthys, Carangidae) from Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Rev. Bras. Biol.**, v. 56, p. 639- 650, 1996.

WINSTEAD, J. T.; VOLETY, A. K.; TOLLEY, S. G. Parasitic and symbiotic fauna in oysters (*Crassostrea virginica*) collected from the Caloosahatchee River and estuary in Florida. **Journal of Shellfish Research [J. Shellfish Res.]**, v. 23, n. 3, p. 831-840, 2004.