



Neoechinorhynchus curemai (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) como indicador de impactos ambientais no rio do Peixe, estado de São Paulo, Brasil

Neoechinorhynchus curemai (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) as an indicator of environmental impacts in the Peixe River, São Paulo State, Brazil

Vanessa Doro Abdallah^{1,3,*}; Lucas Aparecido Rosa Leite²; Rodney Kozłowski de Azevedo¹

¹Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais, Centro Universitário CESMAC, Maceió, Brasil.

²Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, Brasil.

³Bolsista de Produtividade em Pesquisa 2 do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

*Autora correspondente: Vanessa D. Abdallah (vanessa.abdallah@cesmac.edu.br)

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 01 de fevereiro de 2019; Aceito em: 15 de julho de 2019; publicado em 01 de 10 de 2019. Copyright© Autor, 2019.

RESUMO: Nas últimas décadas os parasitos têm chamado muita atenção dos pesquisadores, sendo considerados como bons bioindicadores, já que exibem respostas diferentes frente ao estresse causado por alterações antrópicas. O objetivo do presente trabalho foi de analisar se o acantocéfalo parasito *Neoechinorhynchus curemai*, parasito de *Prochilodus lineatus*, reflete as condições ambientais de dois locais do rio do Peixe, localizado no estado de São Paulo. Sessenta espécimes de *P. lineatus* foram coletados entre janeiro e julho de 2012, em dois locais do rio: foz com o rio Tietê e na Lagoa Cabeça-de-Boi, com características ambientais e limnológicas diferentes. Foi realizada a análise físico-química da água e aplicada a técnica de Ressonância de Spin Eletrônico (ESR) para avaliar a captação de metais pelos parasitos. Os resultados da análise físico-química da água mostram que o trecho da foz do rio pode ser considerado uma área que sofre mais com as ações antropogênicas já que ali a prevalência e abundância de *N. curemai* foram mais baixas que as observadas na lagoa Cabeça-de-Boi. No espectro do ESR foi possível observar a presença de dois metais nos parasitos analisados: cobre e manganês. Foram determinadas as concentrações de 2,13 µg/g e 1,3 µg/g de Mn e 120 µg/g e 85 µg/g de Cu, nos espécimes coletados da foz e da lagoa, respectivamente, indicando uma maior concentração de centros paramagnéticos nas amostras de parasitos coletados de peixes obtidos da foz ($p < 0,05$). Com isso, é possível concluir que os acantocéfalos podem ser considerados bons indicadores de impactos ambientais uma vez que os organismos coletados de áreas consideradas como mais poluentes mostram uma maior concentração de metais e menor valores de prevalência e abundância médias.

PALAVRAS-CHAVE: Bioindicador, Endoparasito, Peixe, Poluição, Ressonância de Spin Eletrônico.

ABSTRACT: In recent decades parasites have attracted a lot of attention from researchers and are considered to be good bioindicators, as they exhibit different responses to the stress caused by anthropogenic changes. The objective of the present work was to analyze if the acanthocephalus parasite *Neoechinorhynchus curemai*, *Prochilodus lineatus* parasite, reflects the environmental conditions of two sites of the Peixe river, located in the state of São Paulo. Sixty specimens of *P. lineatus* were collected between January and July 2012, in two locations of the river: mouth with the Tietê river and in the Head of Boi Lagoon, with different environmental and limnological characteristics. The physicochemical analysis of the water was performed and the Electronic Spin Resonance (ESR) technique was applied to evaluate the metal uptake by the parasites. The results of the physicochemical analysis of the water show that the mouth of the river can be considered an area that suffers the most from anthropogenic actions, since there the prevalence and abundance of *N. curemai* were lower than those observed in the Head Lake. de-ox. In the ESR spectrum it was possible to observe the presence of two metals in the analyzed parasites: copper and manganese. The concentrations of 2.13 µg / g and 1.3 µg / g of Mn and 120 µg / g and 85 µg / g of Cu were determined in the specimens collected from the mouth and the lagoon, respectively, indicating a higher concentration of paramagnetic centers in the parasite samples collected from fish obtained from the mouth ($p < 0.05$). Thus, it is possible to conclude that acanthocephalus can be considered as good indicators of environmental impacts since organisms collected from areas considered to be more polluting show a higher concentration of metals and lower average prevalence and abundance.

KEYWORDS: Bioindicator, Endoparasite, Fish, Pollution, Electronic Spin Resonance.

INTRODUÇÃO

De acordo com Nachev (2010), qualquer contaminação física ou química pode influenciar diretamente e causar mudanças na estrutura e função dos ecossistemas com potenciais consequências globais. Diante disso, o monitoramento ecológico é designado para estudar as mudanças e alteração que podem ser causadas nesses ecossistemas. Além disso, existem componentes desses ecossistemas que requerem maior quantidade de estudos científicos, como é o caso dos parasitos de peixes, que são comumente ignorados e representam uma parte essencial da biodiversidade.

Página | 765

Os organismos que são capazes de acumular substâncias tóxicas em seus órgãos e/ou tecidos advindas do ambiente em que eles vivem podem atuar como bioindicadores e prover informações a respeito da contaminação ambiental (MARCOGLIESE; PRICE, 1997). Bons indicadores são aqueles organismos capazes de responder mais rapidamente que outros às mudanças no ambiente, funcionando como verdadeiras sentinelas (LAFFERTY, 1997, 1998; SURES, 1999; SURES, 2003). Nesse contexto destacam os parasitos, uma vez que eles mostram não somente a saúde de seus hospedeiros, mas o ambiente em geral e conseqüentemente a comunidade como um todo.

Bons exemplos de parasitos bioindicadores são os acantocéfalos, que habitam o intestino de seus hospedeiros, e que através de suas funções metabólicas podem acumular grandes quantidades de metais pesados em seus tecidos quando comparado aos tecidos de seus hospedeiros e até mesmo o ambiente (SURES et al., 2017). De acordo com Sures (2001, 2017), estudos experimentais mostram que acantocéfalos do intestino de peixes possuem uma alta concentração de metais em seus tecidos devido à rápida absorção que permanece em níveis constantes nesses organismos, demonstrando que as concentrações de metais em parasitos adultos são uma rápida reflexão da possível exposição ambiental dos seus hospedeiros. Além disso, os poluentes podem influenciar e impactar diretamente na ocorrência e distribuição dos parasitos (SURES, 2008).

A Ressonância de Spin Eletrônico (ESR) é uma técnica específica que detecta substâncias com spin eletrônico diferente de zero. Dentre as classes de substâncias com essas características, destacam-se os radicais livres e os metais de transição, como o manganês, ferro e cobre, que são muito úteis em problemas como os apresentados no presente estudo (BAFFA et al., 1986).

Esse estudo teve por objetivo avaliar a acumulação de metais no acantocéfalo parasito *Neoechinorhynchus curemai* (Noronha, 1973) coletados do curimatá, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837), provenientes de dois locais do rio do Peixe, com diferentes características físico-químicas.

MATERIAL DE MÉTODOS

LOCAIS DE AMOSTRAGEM E COLETA DOS HOSPEDEIROS

Sessenta espécimes de *P. lineatus* foram coletados entre janeiro e julho de 2012 de dois diferentes locais no rio do Peixe, sendo 30 espécimes em cada ponto de coleta.

O rio do Peixe é um tributário da bacia do médio rio Tietê, São Paulo, Brasil, cuja nascente está localizada no município de Torre de Pedra, no mesmo estado, e sua bacia de drenagem corresponde a uma área de 584 km² (CARAMASCHI, 1986).

Para o presente estudo, foram selecionados dois pontos diferentes, baseados em diferentes características ambientais e limnológicas. O primeiro ponto de coleta é conhecido como Lagoa da Cabeça-de-Boi (22°49'50.7" S - 048°06'37.0" O) e o segundo a foz do rio (22°49'14.2" S - 048°05'03.0" O). A lagoa Cabeça-de-Boi é uma lagoa marginal conectada ao canal principal do rio. O entorno apresenta áreas remanescentes de vegetação ripária e gramíneas. A foz corresponde à uma área de transição, onde o rio do Peixe deságua no rio Tietê, rio acima da barragem de Barra Bonita. Apresenta bancos de plantas aquáticas e gramíneas. Nas áreas adjacentes, há o cultivo de monoculturas de cana-de-açúcar e laranja, bovinocultura e alta abundância de aves aquáticas. Há ainda a presença de muito lixo no leito do rio. Com relação às condições limnológicas, a área é atualmente classificada como hipereutrófica, com um rápido crescimento em biomassa de macrófitas e populações de algas (PAES, 2010).

A coleta de peixes foi conduzida utilizando redes de espera com malhas de tamanhos variáveis (3-14 cm) e entrenós alternados. Para excluir a influência da sazonalidade no parasitismo, todas as amostragens foram feitas nos dois locais sempre nos mesmos dias.

QUALIDADE DA ÁGUA

Para estabelecer a caracterização limnológica nos locais estudados, foram coletadas amostras de água nos mesmos pontos onde as redes foram colocadas. *In situ* as seguintes características foram analisadas: transparência, utilizando um disco de Secchi, oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade elétrica e pH, obtidos através de um multi-sensor Horiba. Também foram coletadas amostras de água utilizando garrafa de Van Dorn e posteriormente analisadas as concentrações de fósforo total, amônia, nitrito e nitrato (GOLTERMAN et al., 1978).

ANÁLISES ESTATÍSTICA E PARASITOLÓGICA

Após a remoção dos órgãos dos peixes, eles foram lavados e o conteúdo peneirado. Os acantocéfalos coletados foram colocados em água destilada e refrigerados para que a probóscide fosse extrovertida. Os espécimes foram conservados em álcool 70% e posteriormente corados com carmalumen de Mayer e montados em bálsamo do Canadá.

A prevalência, abundância e intensidade médias foram calculadas de acordo com Bush et al. (1997). Os efeitos dos parâmetros físico-químicos e a concentração dos centros paramagnéticos em ambos os trechos foram avaliados utilizando o test *t* de Student com transformação logarítmica dos dados ($x + 1$). O teste chi-quadrado foi usado para testar diferenças significativas na prevalência nos dois locais estudados (ZAR, 1999).

Espécimes voucher foram depositados na Coleção Helmintológica do Instituto de Biociências de Botucatu, estado de São Paulo, Brasil.

RESSONÂNCIA DE SPIN ELETRÔNICO

Inicialmente uma quantidade de parasitos coletados da lagoa e da foz do rio foram secos em temperatura ambiente e pesados. Subsequentemente, cada amostra foi colocada em um tubo de quartzo de 4mm para a aquisição do espectro em um espectrômetro Jeol

FA200 X-Band. As condições de medição foram centradas no campo 339.5mT, com modulação de frequência em 100kHz, potência de micro-ondas em 5mW, largura do scan 500mT e frequência de micro-ondas em 8,92Ghz. As medições foram conduzidas em temperatura de nitrogênio líquido (77K) usando um frasco de quartzo. Para identificar as espécies paramagnéticas presentes no espectro, foi usado um simulador espectral com o software Jeol.

Para quantificar a concentração de manganês nas amostras de parasitos, uma solução de espectro de 1mM MnCl₂ foi registrado e comparado com o espectro obtidos nos parasitos. Similarmente, uma solução de 1mM de CuSO₂ adicionada de alanina (1:2) foi usado para obter o espectro de cobre e sua quantificação.

RESULTADOS

O acantocéfalo *N. curemai* foi encontrado parasitando o intestino de *P. lineatus*. Na lagoa Cabeça-de-Boi, os valores de prevalência e abundância foram maiores que aqueles encontrados na foz do rio (Tabela 1 e 2).

Houve diferença significativa entre as concentrações de nitrato ($p=0,023$), nitrito ($p=0,015$) e condutividade elétrica ($p=0,025$) entre a foz do rio do Peixe e a lagoa. Os maiores valores foram obtidos na foz (Tabela 3).

A figura 1A mostra o espectro do ESR das amostras da lagoa e da foz normalizados pela massa das amostras. É possível notar uma pequena diferença na amplitude espectral. A medição da linha central pico a pico mostra valores de 1900 e 2200 (em unidades arbitrárias), para amostras de parasitos encontradas na lagoa e na foz, respectivamente, indicando uma alta concentração de centros paramagnéticos nas amostras da foz. A figura 2B mostra a análise do espectro através da simulação espectral. Através desse processo, foi possível determinar que o espectro dos parasitos consiste essencialmente de manganês ($g_{iso}=2.0096$ and $A_{iso}=9.8mT$) e cobre, com simetria axial ($g_{//}=2.2320$, $A_{//}=18.6mT$, $g_{\perp}=2.0450$, $A_{\perp}=1mT$). Os espectros desses metais foram sobrepostos por um radical livre amplo ($g_{iso}=2.0460$). O íon ferro com fator espectroscópico na região $g=4$ (*) também está presente. A concentração de manganês é 1,3 μ g/g e 2,13 μ g/g na lagoa e na foz, respectivamente e a concentração de cobre é 85 e 120 μ g/g na lagoa e na foz.

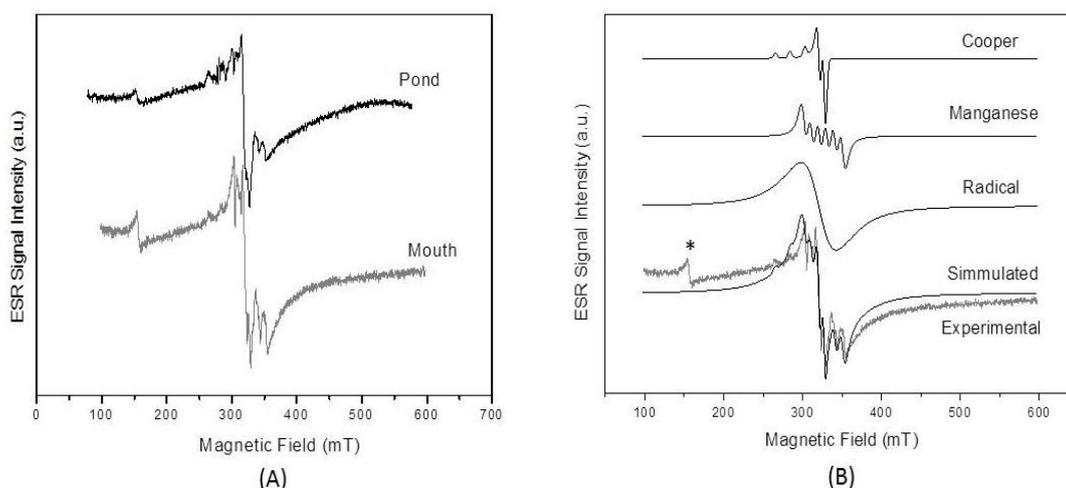


Figura 1: (A) Espectro ESR de *Neoechinorhynchus curemai* coletados da lagoa e da foz do rio do Peixe, registrado à 77K. (B) Forma espectro experimental e simulada da amostra de parasitos coletados da foz e os componentes cobre, manganês e um radical livre. Íons de ferros (*) também estão presentes.

Tabela 1: Prevalência, intensidade e abundância médias de *Neoechinorhynchus curemai* (Noronha, 1973) coletados de *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) em dois pontos do rio do Peixe, médio rio Tietê, São Paulo, Brazil.

Parasito	Prevalência (%)		Abundância média ± DP		Intensidade média ± DP	
	Foz	Lagoa	Foz	Lagoa	Foz	Lagoa
	<i>Neoechinorhynchus curemai</i>	50	100	10.8±2.2	14.8±1.1	21.6±4.4

Tabela 2: Valores dos testes Chi-quadrado χ^2 e t de Student para comparações de prevalência e abundância das espécies parasitárias componentes de *Neoechinorhynchus curemai* (Noronha, 1973) coletados de *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) em duas localidades do rio do Peixe, médio rio Tietê, São Paulo, Brazil.

Parasito	χ^2	t
<i>Neoechinorhynchus curemai</i>	4,80*	-21,0*

Pf = prevalência na foz; Pl = prevalência na lagoa; Af = abundância na foz; Al = abundância da lagoa.

Tabela 3: Caracterização ambiental dos pontos amostrados no curso baixo do rio do Peixe, município de Anhembi (SP), sobre influência da represa de Barra Bonita (médio Tietê), durante o período de coleta.

Parâmetros	Lagoa	Foz
Amônia (mg/L)	0,023	0,028
Nitrato (mg/L)	0,017	0,043
Nitrito (mg/L)	0,0008	0,001
Fósforo total (mg/L)	0,034	0,029
Oxigênio dissolvido (mg/L)	8,63 ± 0,64 (4,30-14,10)	7,78 ± 0,50 (3,80-12,40)
Condutividade elétrica (µS/cm)	12,96 ± 0,92 (8,60-20,80)	34,80 ± 4,15 (9,50-66,40)
Transparência do disco de Secchi (m)	0,64 ± 0,07 (0,22-1,10)	0,59 ± 0,09 (0,10-1,15)
Ph	6,19 ± 0,39 (2,50 – 7,60)	5,83 ± 0,47 (1,50-7,36)
Temperatura	23,38 ± 0,95 (17,60-27,33)	24,36 ± 0,77 (19,80-28,86)

DISCUSSÃO

Os resultados da análise físico-química da água mostram que a foz do rio do Peixe pode ser considerada uma área que sofre mais com ações de origem antropogênica quando comparada à lagoa Cabeça-de-Boi (Tabela 2). Esses resultados podem ser relacionados com o fato de que esse ponto já sofre influência do rio Tietê e por outros impactos que já foram previamente explanados. Paes (2010) também encontrou diferenças significativas entre as variáveis limnológicas em dois pontos de coleta, com altos valores de nutrientes, condutividade elétrica e material suspenso (majoritariamente de origem orgânica) e valores reduzidos de clareza da água e oxigênio dissolvido na foz quando comparados com a lagoa Cabeça-de-Boi, mostrando grande impactos na qualidade da água do rio do Peixe devido à contaminação e poluição da água do rio Tietê.

Os valores mais altos de prevalência e abundância do acantocéfalo *N. curemai* foram obtidos no ponto considerado como o menos afetado. Galli et al. (1998) também obtiveram resultados similares para o acantocéfalo *Pomphorhynchus laevis* (Müller, 1776) na Itália, onde esses parasitos foram restritos à ambientes que são pouco ou não são poluídos. De acordo com Sures (2008) para os parasitos que tem ciclo de vida indireto,

condições ambientais precisam ser favoráveis para todos os hospedeiros envolvidos no ciclo (intermediários e finais).

A contaminação de ambientes aquáticos por manganês e sua disponibilidade é amplamente associada com ações antropogênicas. Esse metal pode ser encontrado em resíduos de mineração, assim também como em esgoto doméstico e resíduos produzidos por indústria de celulose (CEOLIN, 2010).

Os fatores-g e características espectrais encontradas no presente estudo estão de acordo com aqueles encontrados por Taiwo et al. (2000), que também usou a ESR na espécie *Necator americanus*, com a detecção do íon cobre. No presente estudo, esse metal está associado com o manganês. Nesse caso, a deconvolução espectral através da simulação é de fundamental importância, uma vez que as linhas espectrais estão sobrepostas, resultando em um espectro complexo. Nós também verificamos a presença do íon ferro (Fe^{3+}) e uma linha ampla sobreposta de Cu^{2+} e Mn^{2+} . A intensidade do espectro, que é a composição de Cu^{2+} e Mn^{2+} nos espectros, é levemente maior em espécimes de *N. curemai* coletados na foz. Esses metais são presentes em metaloproteínas e enzimas e podem ser derivados também da contaminação do ambiente. Vários metais podem ser tóxicos para os peixes e outros organismos aquáticos, incluindo mercúrio, cádmio, cobre, cromo, níquel, alumínio, manganês e zinco. Esses metais podem ser encontrados em baixas concentrações, no entanto, a presença desses micropoluentes na água é motivo de preocupação devido a ocorrência de fenômenos como a bioconcentração e biomagnificação (MATOS, 2001). Águas acidificadas geralmente possuem concentrações maiores de metais em formas solúveis, que são mais perigosas devido à maior biodisponibilidade (MACEDO, 2004), que pode explicar a maior concentração de metais na foz do rio do Peixe, cujo o pH é menor e, portanto, mais ácido, que o obtido na lagoa Cabeça-de-Boi.

O sítio de infecção do parasito no hospedeiro pode influenciar diretamente a acumulação de metais, uma vez que sua disponibilidade está diretamente relacionada às rotas de absorção de cada órgão parasitados. As brânquias do peixe são responsáveis por vários processos fisiológicos e se torna o principal sítio de absorção destes metais, que são posteriormente transportados pelo sistema circulatório até o fígado do peixe, onde está conectado aos complexos da bile e excretado no intestino. Ali, esses metais se tornam disponíveis para os parasitos localizados no intestino, que terão um maior acesso

a esses compostos quando comparados a parasitos localizados em outros órgãos do hospedeiro (NACHEV et al., 2013).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que o acantocéfalo *N. curemai* teve os valores de prevalência e abundância e das concentrações dos íons Mn e Cu variáveis nos dois pontos do rio do Peixe analisados, mostrando que esses organismos são sensíveis às alterações do ambiente e podendo ser utilizados como indicadores do status da qualidade do ecossistema.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer à FAPESP (2012/23655-0), CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., Shostak, A. W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology* 83, 575-583.
2. Caramaschi, E. P., 1986. Distribuição da ictiofauna de riachos das Bacias do Tietê e do Paranapanema, junto ao divisor de águas (Botucatu, SP). 1986. (Thesis), Brazil: Universidade Federal de São Carlos.
3. Ceolin, D., 2010. *Efeitos da exposição crônica do manganês sobre camundongos machos adultos*. (Dissertation), Brazil: Universidade Federal de Viçosa.
4. Conama, “Resolução no 357/2005”. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente. Brasília, 2005.
5. Galli, P., Mariniello, L., Crosa, G., Ortis, M., Occhipinti, A., D'Amelio, S. 1998. Populations of *Acanthocephalus anguillae* and *Pomphorhynchus laevis* in Rivers with different pollution levels. *Journal of Helminthology*, 72, 331-335.

6. Golterman, H. L., Clymo, R. S., Ohnstad, R., 1978. Methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Archiv für Hydrobiologie* 14, 14-36.
7. Marcogliese, D. J., Price, J., 1997. The paradox of parasites. *Global Biodiversity* 7, 7-15.
8. Nachev, M., 2010. Bioindication capacity of fish parasites for the assessment of water quality in the Danube River (Thesis). Germany: Universität Duisburg-Essen.
9. Nachev, M., Schertzinger, G., Sures, B., 2013. Comparison of the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis* and larval nematodes of the genus *Eustrongylides* sp. infecting barbel (*Barbus barbus*). *Parasites & Vectors* 6, 1-8.
10. Paes, V. J. K., 2010. *A ictiofauna do rio do Peixe sob a influência da represa de Barra Bonita (SP): índices ecológicos e condições limnológicas. (Thesis). Brazil: Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho.*
11. Sures, B., 2001. The use of parasites as bioindicators of heavy metals in aquatic ecosystems: a review. *Aquatic Ecology* 35, 245-255.
12. Sures, B., 2005. Effects of pollution on parasites, and use of parasites in pollution monitoring, in K. Rohe (Ed.), *Marine Parasitology*. CSIRO Publishing, Collingwood, pp. 421-425.
13. Sures, B., 2008. Environmental Parasitology. Interactions between parasites and pollutants in the aquatic environment. *Parasite* 15, 434-438.
14. Taiwo, F. A., Brophy, P. M., Pritchard, D. I., Brown, A., Wardlaw, A., Patterson, L. H., 2000. Comparative metal content profiling of parasitic helminths by electron paramagnetic resonance spectrometry: significance for metalloprotein content. *International Journal for Parasitology* 30, 29-33.
15. Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. New Jersey, Prentice-Hall.