

EFEITOS DO PARASITISMO SOBRE A ESTRUTURA BRANQUIAL DE *Leporinus macrocephalus* GARAVELLO E BRITSK, 1988 (ANASTOMIDAE) E *Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1887 (OSTEICHTHYES: CHARACIDAE)

SERGIO H.C. SCHALCH¹; FLÁVIO R. DE MORAES²; JULIETA R.E. DE MORAES²

ABSTRACT:- SCHALCH, S.H.C; MORAES, F.R.DE; MORAES, J.R.E. DE. [Effects of parasitism on gill structure of *Leporinus macrocephalus* Garavello and Britsk, 1988 (Anastomidae) and *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae).] Efeitos do parasitismo sobre a estrutura branquial de *Leporinus macrocephalus* Garavello e Britsk, 1988 (Anastomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 3, p. 110-115, 2006. Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, Via Prof. Paulo Donato Castellane, km 05, Jaboticabal SP, 14884.900 e Centro de Aqüicultura, Unesp, Via Prof. Paulo Donato Castellane, km 05, Jaboticabal SP, 14884.900, Brazil. E-mail: fruas@fcav.unesp.br

This work described the lesions caused in different species of fish by gill parasites from fee-fishing at Guariba, State of São Paulo. The research was developed from april, 1997 to march to 1999, seeking to verified the kind tissues lesions from fish. Of these, forty and seven were *Leporinus macrocephalus* and fifty and five *Piaractus mesopotamicus*. About 87.2% of the *L. macrocephalus*, and 58.1% of the *P. mesopotamicus* were sponged by several species of parasites. The parasite most abundant in *L. macrocephalus* was *Piscinoodinium pillulare*, while monogenean, *Trichodina* sp and myxosporidian infected *P. mesopotamicus*. Severe gill lesions have been observed in *L. macrocephalus* and *P. mesopotamicus* caused by monogenean, *P. pillulare* e *Trichodina* sp. parasitism, such as interstitial hemorrhage, sub-epithelium edema, inflammation, epitelial hiperplasy in filaments and lamina, proliferation of mucosal cells and laminar fusion.

KEY WORDS: Fish, parasite, circulatory disturbs, inflammation, hiperplasy.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo descrever os danos causados à estrutura tecidual das brânquias de *Leporinus macrocephalus* e *Piaractus mesopotamicus* pelos parasitos mais freqüentes em pesqueiros comerciais do tipo pesque-pague, no município de Guariba, São Paulo. Os peixes foram coletados durante o período de abril de 1997 a março de 1999,

totalizando quarenta e sete piauços *L. macrocephalus* e cinquenta e cinco pacus *P. mesopotamicus*. Cerca de 87,2 % dos piauços e 58,1% dos pacus estavam parasitados por diversas espécies de parasitos. O parasito mais abundante em *L. macrocephalus* foi *Piscinoodinium pillulare* enquanto monogenóides, *Trichodina* sp e myxosporídeos infectaram *P. mesopotamicus*. Nestas espécies havia severas lesões branquiais como congestão, telangiectasia, hemorragia intersticial, edema sub-epitelial, hiperplasia epitelial e de células mucosas e reação inflamatória moderada, localizadas nos filamentos e lamelas sendo freqüente a fusão lamelar.

PALAVRAS-CHAVE: Peixe, parasito, alterações circulatórias, inflamação, hiperplasia.

INTRODUÇÃO

No Estado de São Paulo foram identificadas várias espécies de parasitos capazes de produzir danos ao tecido branquial, tais como *Ichthyophthirius multifiliis*, *Trichodina* sp.,

¹Centro de Aqüicultura, Unesp, Via Prof. Paulo Donato Castellane, km 05, Jaboticabal SP, 14884.900 e Pólo Regional do Noroeste Paulista, Apta Regional, Km 4 + 6 terra, Estrada Municipal Votuporanga-Floreale, Votuporanga-SP, 15500.000. Pesquisador Apta Regional, Bolsista Fapesp proc. n° 00/05249-7.

²Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, Via Prof. Paulo Donato Castellane, km 05, Jaboticabal SP, 14884.900 e Centro de Aqüicultura, Unesp, Via Prof. Paulo Donato Castellane, km 05, Jaboticabal SP, 14884.900. Pesquisador do CNPq. Autor para correspondência, E-mail: fruas@fcav.unesp.br // sschalch@aptaaregional.sp.gov.br

Chilodonella sp., *Henneguya* sp., *Dolops* sp., *Lernaea cyprinacea*, Monogenea, Nematóides e Ergasilídeo (CECCARELLI et al., 1990; FIGUEIRA; CECCARELLI, 1991; MARTINS; ROMERO, 1996, MARTINS et al., 2000; 2002). Esses elementos estão normalmente presentes no ambiente ou no organismo dos peixes e quando há ruptura do equilíbrio da relação ambiente-parasito-hospedeiro ocorrem surtos de enfermidades (MARTINS et al., 2000; 2002).

As brânquias exercem função respiratória e são responsáveis pela manutenção do equilíbrio iônico e osmótico dos peixes e sua integridade é fundamental para manter essas funções (OSLON, 1991; ROBERTS, 2001).

As causas de lesões em brânquias incluem agentes químicos, físicos e biológicos que variam desde poluentes ambientais até agentes biológicos diversos. Esses agentes induzem reações do organismo que se caracterizam como distúrbios circulatórios, proliferativos, inflamatórios e degenerativos. Incluem congestão, telangiectasia, hemorragia e edema; hiperplasia epitelial e de células mucosas, inflamação e necrose (MEYERS & HENDRICKS, 1985; ROBERTS, 2001).

Martins e Romero (1996) observaram em Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e híbrido Tambacu (macho de *P. mesopotamicus* x fêmea de *Colossoma macropomum*) parasitados por *Henneguya piaractus*, que as brânquias apresentavam cistos de coloração escura de 0,1 a 0,9 mm de diâmetro dispersos pelas lamelas. Os cistos eram circundados por células epiteliais hiperplásicas que ficam achatadas enquanto os plasmódios crescem, havendo aderências entre lamelas adjacentes, congestão de sinusóides e edema sub-epitelial. Petéquias e inflamação também são comuns neste tipo de parasitismo (MARTINS et al., 1997). Estas lesões causam redução da área de contato entre a superfície branquial e a água, diminuindo a eficiência respiratória. Isto explica a letargia e aglomeração dos animais próximos à entrada de água onde há abundância de oxigênio (MARTINS et al., 1997).

A ocorrência de *Piscinoodinium pilulare* no Brasil foi registrada e descrita pela primeira vez por Martins et al. (2001), sendo constatada sua falta de especificidade parasitária, que favorece infestações maciças, com alta taxa de mortalidade devido ao comprometimento branquial. As brânquias apresentavam-se hemorrágicas, com severa hiperplasia do epitélio de revestimento e de células mucosas e presença infiltrado inflamatório mononuclear nos filamentos. Tais lesões estavam acompanhadas de grande número de trofontes localizados entre as lamelas, fixados ou não ao epitélio.

O presente trabalho teve por objetivo descrever as alterações histopatológicas em peixes de pesque-pague da região de Guariba-SP parasitados por diferentes espécies de parasitos.

MATERIALE MÉTODOS

Os peixes examinados foram colhidos em pesque-pague do município de Guariba, São Paulo, localizado a 21°15'22"

Latitude S e 48°18'58" Longitude W, com altitude de 595 metros.

Os peixes foram capturados com auxílio de vara de pescar e após o sacrifício por comoção cerebral foram examinados de acordo com a técnica de rotina do Grupo de Extensão e Pesquisa em Ictiopatologia (GEPI/CNPq) do Centro de Aquicultura da Unesp (Caunesp). O exame externo foi realizado observando-se a superfície corporal, nadadeiras, brânquias e opérculos, bem como do raspado de muco sob estereomicroscópio para a pesquisa de parasitos. As brânquias foram examinadas em conjunto e individualmente, investigando-se a presença de eventuais alterações de tamanho, consistência, coloração, presença de fluidos, assim como de parasitos, com auxílio de microscopia de luz. Após essas observações foi realizado o exame interno por meio de dissecação. Os órgãos internos foram examinados em conjunto e individualmente, as alterações presentes anotadas e fragmentos colhidos, fixados em formalina tamponada a 10% e processados segundo as técnicas histológicas usuais para obtenção de cortes semi-seriados em parafina, com 6,0 mm de espessura. As secções obtidas foram coradas pela hematoxilina-eosina, ácido periódico de Shiff (PAS) e/ou tricrômio de Masson, dependendo da necessidade e as lâminas examinadas sob microscopia de luz (MICHALANY, 1990).

A pesquisa parasitológica foi realizada sob microscopia de luz sendo a colheita de parasitos realizada de acordo com as recomendações de Amato et al. (1991). A identificação seguiu as orientações Thatcher (1991).

RESULTADOS

Os peixes capturados apresentavam-se apáticos, nadando na superfície dos viveiros, próximos à entrada de água. As brânquias dos piauçus em geral apresentavam excesso de muco, coloração vermelha e intensa, petéquias, áreas pardacentas, irregulares e de tamanhos variados. Ao exame microscópico diagnosticou-se marcada infestação pelo dinoflagelado *P. pillulare*, em forma de cistos brancos com ponto escuro no seu interior, localizados na base dos filamentos e nos espaços inter-lamelares. Os rizocistos do protozoário estavam fixados no epitélio branquial, havendo necrose das células comprometidas e fusão laminar. Havia pequena quantidade de *Trichodina* sp. Nas áreas agredidas havia hiperplasia epitelial e mucosa nas lamelas, congestão, hemorragia intersticial pequenos edemas sub-epiteliais e necrose (Figura 1).

Nos exemplares de pacu também foi observado excesso de muco nas brânquias e a presença de plasmódios de *H. piaractus* localizados na parte central do filamento. Vários monogenóides apresentavam-se dispersos entre as lamelas. Nesse caso havia hiperplasia epitelial e mucosa. No local onde havia alta infestação por *Trichodina* sp., ocorreu fusão da lamela secundária e destruição das lamelas secundárias (Figura 2).

Os parasitos observados no exame histopatológico foram os mesmos diagnosticados nos exames parasitológicos.

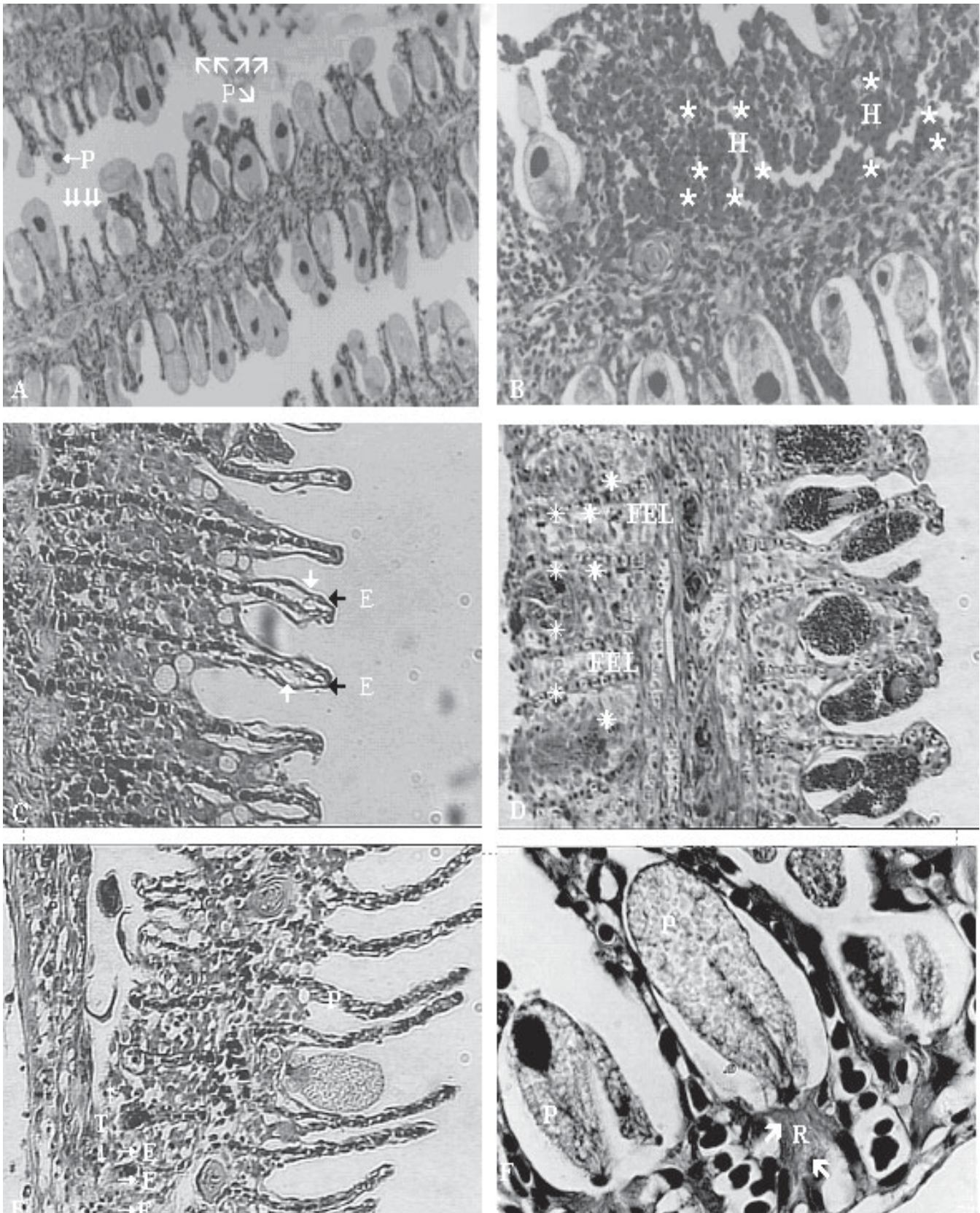


Figura 1. Brânquias de *Leporinus macrocephalus* (A), *Piscinoodinium pillulare* (P) agredindo o tecido branquial; (B) hemorragia intersticial (H); (C) edema subepitelial nos filamentos e lamela (E) ; (D) fusão do epitélio laminar(F)* ; (E) *Trichodina* sp. e edema, *P. pillulare*(P) ; (F) *P. pillulare* e seus rizocistos (R), localizados na base dos filamentos branquiais. (A) -PAS, x 227 ; (B) - PAS, x 455x ; (C,D e E) -HE, x 200x ; (F) -HE, x 910x.

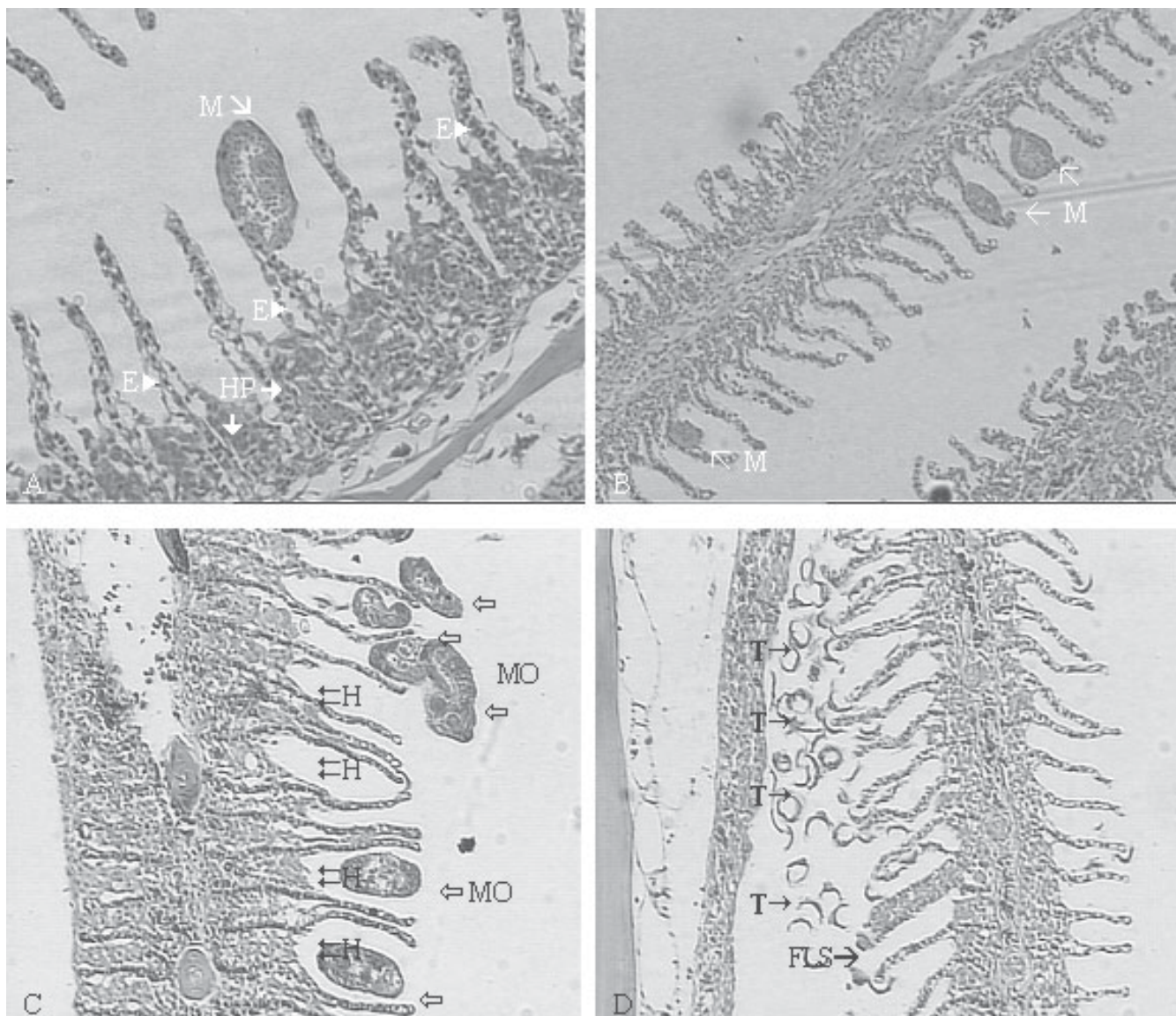


Figura 2. Brânquias de *Piaractus mesopotamicus*. (A) myxosporídeos(M) ; edemas subepiteliais(E), hiperplasia parcial das lamelas(HP) ; (B) myxosporídeos (M); monogenéticos (MO), hiperplasia (H) ; (D) grande quantidade de *Trichodina* sp. agredindo as lamelas (T), e fusão das lamelas (FLS). A HE, 200x ; B,C e D – HE, x 100x.

DISCUSSÃO

Os peixes capturados apresentavam-se apáticos, nadando na superfície, próximos à entrada de água dos viveiros revelando a necessidade de oxigênio, como relatado por Noga (1996).

Peixes portadores de infecção por monogenóides e outros parasitos branquiais, apresentam como resposta a essa agressão hiperplasia do epitélio e de células mucosas, sendo que as últimas condicionam o aumento da produção de muco. Este atua como elemento de defesa graças à suas propriedades anti-microbianas pela ação de lisozimas, anti-corpos e ácidos graxos de baixo peso molecular (NOGA, 1996; ROBERTS, 2001). A produção de muco aumentada combinada com a secreção das glândulas cefálicas, provoca redução na capacidade respiratória do hospedeiro (THATCHER ; BRITES-NETO, 1994).

De um lote de *L. macrocephalus* apresentando sinais indicativos de asfixia, 27 exemplares morreram. Nas brânquias foi diagnosticada a infestação por *H. leporinicola* (Myxozoa: Myxobolidae), sendo o parasitismo associado à marcada hiperplasia epitelial com preenchimento dos espaços interlamelares, congestão e teleangiectasia sinusoidal, corroborando observações anteriores de Martins et al. (1999). Em *P. mesopotamicus* mantidos em condições semelhantes, Eiras et al. (1999) diagnosticaram a presença de *Dactylogyrus* sp. nas brânquias e moderada infestação por *Trichodina* sp., além de cistos de myxosporídeos, associados ao aumento da produção de muco. Similarmente, a presença de *H. piaractus* causa extensa hiperplasia epitelial com fusão das lamelas (MARTINS; SOUZA, 1997; MARTINS et al., 1997) como na presente observação.

Ao exame histopatológico das brânquias de *P. mesopotamicus*, observou-se hemorragia intersticial, infiltrado inflamatório mononuclear, fibroblastos envolvendo os cistos de mixosporídeos e hiperplasia das células basais e mucosas. Nestas observações destacam-se a elevada infestação por *P. pillulare*, associadas a *Trichodina* sp.; mixosporídeos e monogenóides *Anacanthorus penilabiatu*s (BÖEGER et al., 1995).

Martins e Romero (1996) relataram que *Ichthyophthirius multifiliis* ocorre 28% em Tambaquis, 19,1% em Tambaquis e, em 7,2% de pacus conviventes no mesmo viveiro. O exame histopatológico das brânquias revelou trofontes aderidos na base das lamelas, recobertos por uma camada de tecido epitelial, apresentando restos de células semi-digeridas e vacúolos com resquícios celulares no seu citoplasma. Como resposta do hospedeiro, ocorreu o encapsulamento do protozoário por células epiteliais hiperplásicas. Esse tipo de resposta também foi observado por Martins et al. (1997) em pacus parasitados por *Henneguya* sp. Em casos mais severos ocorreram inflamação e necrose.

Neste trabalho, não se observou infestação por *I. multifiliis* e as lesões causadas pelos parasitos foram observadas nas brânquias de Piauçus e Pacus. Estes últimos eram portadores de *Trichodina* sp., apresentaram hiperplasia epitelial e mucosa, excesso de muco e necrose nos casos mais graves. Para se alimentarem tricodinídeos fazem movimentos rotatórios e sucção de células epiteliais causando hiperplasia, necrose da epiderme e a erosão de nadadeiras (ROGERS; GAINES, 1975) e comprometem a estrutura e a função dos filamentos branquiais, como observado neste estudo.

Nos exemplares de *P. mesopotamicus* havia plasmódios de *H. piaractus* nas brânquias, localizados na parte central do filamento. Havia exemplares de *A. penilabiatu*s, cistos de *Henneguya* sp, *Trichodina* sp. dispersos entre as lamelas, associados à hiperplasia epitelial e mucosa, fusão laminar, edema sub-epitelial. Segundo Tavares-Dias et al. (2002) em *P. mesopotamicus* infestados por monogenóides, as lesões variam de acordo com o grau de infecção. Em peixes com poucos parasitos, a hiperplasia das células basais e mucosas é discreta a moderada, associada ou não ao processo congestivo. Nas infecções severas ocorre marcada hiperplasia das células basais e mucosas, aumento da produção de muco, associada a transtornos circulatórios como congestão, telangiectasia e hemorragia intersticial, sinais similares aos observados neste trabalho, nos exemplares de *L. macrocephalus* intensamente parasitado por *P. pillulare*. A elevada infestação por esse dinoflagelado estava relacionada com necrose das células de implantação dos rizocistos, hiperplasia epitelial e mucosa, aumento da produção de muco, hemorragia intersticial e edema sub-epitelial.

Apesar da diversidade de ações dos diferentes elementos agressores, neste caso, diferentes espécies de parasitos, as respostas do tecido branquial são relativamente limitadas e padronizadas. Então alterações hiperplásicas, hemodinâmicas, inflamatórias e degenerativa estão comumen-

te presentes nas brânquias como respostas inespecíficas do hospedeiro à agressão, independentemente do tipo de agente agressor.

Agradecimentos: Os autores são gratos a Francisca de Assis Ardissom e Maria Ines Yamazaki de Campos, pelo auxílio no preparo das lâminas para histopatologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMATO, J.R.F.; BOEGER, W.A.; AMATO, S.B. *Protocolos para laboratórios – Coleta e processamento de parasitas e pescados*. 1ª Ed. Itaguaí: Imprensa Universitária da UFRRJ, 1991. 81p.
- BOEGER, W.A.; HUSACK, W.S.; MARTINS, M.L. Neotropical monogenoidea. 25. *Anacanthorus penilabiatu*s n. sp. (Dactylogyridae: Anacanthorinae) from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), cultivated in the State of São Paulo, Brazil. *Memoria Instituto Osvaldo Cruz*, v. 90, n. 6, p. 699-701, 1995.
- CECCARELLI, P.S.; FIGUEIRA, L.B.; FERRAZ DE LIMA, C.B.L.; OLIVEIRA, C.A. Observações sobre a ocorrência de parasitas no CEPTA entre 1983 e 1990. *Boletim Técnico do CEPTA – Pirassununga-SP*, v. 3, 1990. p. 43-54.
- EIRAS, J.C.; PAVANELLI, G.C.; TAKEMOTO, R.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. Gill histopathology of *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Serrasalimidae) infected by *Henneguya piaractus* Martins and Souza, 1997 (Myxozoa: Myxobolidae). *Reviews in Parasitology*, v. 59, n. 3-4, p. 117-120, 1999.
- FIGUEIRA, L.B.; CECCARELLI, P.S. Observações sobre a presença de ectoparasitas em pisciculturas tropicais do interior (CEPTA- região) entre janeiro e junho de 1991. *Boletim Técnico do CEPTA*, Pirassununga-SP, v. 4, n. 1, p. 57-65, 1991.
- MARTINS, M.L.; ROMERO, N.G. Efectus del parasitismo sobre el tegido branquial en peces cultivados : Estudio parasitológico e histopatológico. *Revista Brasileira de Zootologia*, v. 13, n.2, p. 489-500, 1996.
- MARTINS, M.L.; SOUZA, V.N. *Henneguya piaractus* n.s.p. (Myxozoa : Myxobolidae) Parasito de Brânquias de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae), no Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 57, n. 2, p. 239-245, 1997.
- MARTINS, M.L.; SOUZA, V.N.; MORAES, F.R.; MORAES, J.R.E.; COSTA, A.J.; ROCHA, U.F. Pathology and behavioral effects associated with *Henneguya* sp. (Myxozoa: Myxobolidae) infections of captive pacu *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 28, p. 297-300, 1997.
- MARTINS, M.L.; SOUZA, V.N.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Infecção branquial de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Osteichthyes: Anostomidae) por *Henneguya leporinicola* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae). Descrição, histopatologia e tratamento. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 59, n. 3, p. 527-534, 1999.

- MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.Y.; ONAKA, E.M.; SCHALCH, S.H.C.; SILVA, E.D.; NOMURA, D.T.; SILVA, C.A.H. Parasitic infections in cultivated brazilian freshwater fishes. A survey of diagnosed cases. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 9, n. 1, p. 23-28, 2000.
- MARTINS, M.L.; MORAES, J.R.E.; SCHALCH, S.H.C.; MORAES, F.R. *Piscinoodinium pillulare* Schäperclaus 1954 (Dinoflagellida) infection in cultivated fish from Northeast region of São Paulo State, Brazil. Parasitological and pathological aspects. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 61, n. 4, p. 1-6, 2001.
- MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R.; BOZZO, F.R.; PAIVA, A.M.F.C.; ADRIANO, G. Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the state of São Paulo, Brazil. *Acta Scientiarum*, v. 24 n. 4, p. 981-985, 2002.
- MEYERS, T.R.; HENDRICKS, J.D. Histopathology. In: RANG, G.M.; PETROCELLI, S.R. (eds), *Fundamentals of Aquatic Toxicology Methods and Applications*. Washington: Hemisphere Publishing Corp, 1985. p.283-331.
- OSLON, K.R. Vasculature of the fish gill: Anatomical correlates of physiological functions. *Journal of Electron Microscopy Technique*, v. 19, p. 389-405, 1991.
- MICHALANY, J. *Técnica histológica em anatomia patológica* - com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico. 2a ed., São Paulo: Michalany 1990, 247p.
- NOGA, E.J. *Fish Disease*. Diagnosis and Treatment. St. Louis: Mosby, 1996. 367p.
- ROBERTS, R.J. *Fish Pathology*. 3th ed London: W.B. Saunders, 2001. 472p.
- ROGERS, W.A.; GAINS J.L., *Lesions of protozoan diseases in fish*. In: RIBELIN, W.E.; G. MIGAKI. (eds), *Pathology of fishes*. Madison: University of Wisconsin Press, v.3, 1975. 117-141p.
- TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L.; SCHALCH, S.H.; ONAKA, E.M.; QUINTANA, C.I.F.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Alterações hematológicas e histopatológicas em Pacus *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) tratados com sulfato de cobre(CuSO₄). *Acta Scientiarum*, v. 24 n. 2, p. 547-554, 2002.
- THATCHER, V.E. Amazon fish parasites. *Amazoniana*, v. 11, n. 3-4, p. 263-572, 1991.
- THATCHER, V.E.; BRITES-NETO, J. Diagnóstico prevenção e tratamento de enfermidades de peixes neotropicais de água doce. *Revista Brasileira Medicina Veterinária*, v. 16, n. 3, p. 111-128, 1994.

Recebido em 07 de dezembro de 2005.

Aceito para publicação em 04 de julho de 2006.