

HISTOLOGIA DE DEFORMIDADES VERTEBRAIS EM *Cyanocharax alburnus* (HENSEL, 1870) (OSTARIOPHYSI: CHARACIDAE) DO LAGO GUAÍBA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Fábio Flores-Lopes

Bolsista CNPq, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43435, Bloco IV CEP 90540-000, Porto Alegre, RS, email: fabioflores5@hotmail.com, tel: 33167727 fax: 33167696

Luiz Roberto Malabarba

Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43435, Bloco IV CEP 90540-000, Porto Alegre, RS, email: malabarba@ufrgs.br, tel: 33167719 e Museu de Ciências e Tecnologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6681, Cx. P. 1429, CEP 90619-900, Porto Alegre, RS, email: malabarba@pucrs.br, tel: 33203500 ramal 4413

Edson Henrique Lopes Pereira

Museu de Ciências e Tecnologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6681, Cx. P. 1429, CEP 90619-900, Porto Alegre, RS, email: edsonhlp@pucrs.br, tel: 33203500 ramal 4413

José Francisco Pezzi da Silva

Museu de Ciências e Tecnologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6681, Cx. P. 1429, CEP 90619-900, Porto Alegre, RS, email: pezzi@pucrs.br, tel: 33203500 ramal 4413

Área temática do Trabalho: Biologia e Ecologia

Trabalho Publicado na revista Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS volume 15, número 1. A referência do trabalho é:

Flores-Lopes, F.; Malabarba, L.R.; Silva, J.F.P. da & Pereira, E.H.L. 2002. Histologia de deformidades vertebrais em *Astyanax alburnus* (Hensel, 1870) (Ostariophysi: Characidae) do lago Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. *Comum. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS, Sér. Zool.*, Porto Alegre, V. 15, n. 1, p 137 – 155

O trabalho já foi apresentado nos seguintes congressos:

FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L.R.; PEREIRA, E.H.L. e SILVA, J.F.P. da Alterações histológicas das estruturas esqueléticas de *Astyanax alburnus* (Hensel, 1870), do rio Guaíba – RS – Brasil. In: XXIII Congresso Brasileiro de Zoologia, Cuiabá – MT, 13 a 18 de fevereiro de 2000

FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L.R.; PEREIRA, E.H.L. e SILVA, J.F.P. da Alterações histológicas das estruturas esqueléticas de *Astyanax alburnus* (Hensel, 1870) (OSTARIOPHYSI: CHARACIDAE) do rio Guaíba, RS, Brasil. In: XIV Encontro Brasileiro de Ictiologia, São Leopoldo – RS, 7 a 11 de Janeiro de 2001

HISTOLOGIA DE DEFORMIDADES VERTEBRAIS EM *Astyanax alburnus* (HENSEL, 1870) (OSTARIOPHYSI: CHARACIDAE) DO LAGO GUAÍBA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Fábio Flores-Lopes¹, Luiz R. Malabarba^{1,2}, José F. Pezzi da Silva² e Edson H. L. Pereira²

1- Bolsista CNPq, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43435, Bloco IV CEP 90540-000, Porto Alegre, RS, email: fabiologo5@hotmail.com; 2 – Museu de Ciências e Tecnologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6681, Cx. P. 1429, CEP 90619-900, Porto Alegre, email: malabarba@puccs.br

Resumo

A análise histológica dos exemplares de *Cyanocharax alburnus* com torção na coluna teve como objetivo contribuir para a compreensão dos agentes causadores de anomalias morfológicas em populações naturais de peixes do lago Guaíba. Tanto indivíduos normais como anômalos apresentavam infecção por metacercárias de parasitas trematódeos digenéticos, provavelmente de alguma espécie da ordem Strigeatoidea. Foram observadas metacercárias na musculatura, junto ao fígado, pâncreas, intestino e no rim, sendo que a maioria se localizava na coluna vertebral. Trinta e nove exemplares com deformidade da coluna vertebral foram analisados, sendo observada uma infiltração de células leucocitárias, macrofágicas e processos de degeneração celular nos locais de deformidade. As observações nos permitiram ainda constatar que os indivíduos com cifolordose apresentavam uma alta intensidade de parasitas trematódeos digenéticos, sendo que mais da metade desses organismos localizavam-se na coluna vertebral. A análise estatística demonstrou que a elevada frequência de deformidades vertebrais em exemplares de *Cyanocharax alburnus* do lago Guaíba está associada a uma alta intensidade de infecção de parasitas trematódeos digenéticos na coluna vertebral.

Palavras-chave: Histologia, Deformidade vertebral e Trematódeos digenéticos.

Introdução

Anomalias esqueléticas, particularmente aquelas da coluna vertebral, são comumente observadas em peixes (Sindermann, 1990), podendo manifestar-se como flexões dorso-ventrais (lordose), laterais (escoliose) ou curvatura espinhal para cima (cifose) (Bengtsson *et al.*, 1985). Autores como Sindermann (1990) e Bengtsson *et al.* (1985) tem salientado que malformações esqueléticas podem ser causadas por fatores de origem genética e autores como Lindesjö & Thulin (1992), Toften & Jobling (1996), Mercer *et al.* (1997) tem relatado que as anomalias poderiam ser estimuladas por uma variedade de fatores ambientais. Este trabalho teve como objetivos caracterizar a ocorrência espacial e temporal de cifolordose em *Cyanocharax alburnus* (= *Astyanax alburnus*) no lago Guaíba, e descrever histologicamente as anomalias e alterações encontradas na estrutura das vértebras e coluna vertebral.

Material e Métodos

Para estudo, foram utilizadas amostras de *Astyanax alburnus* tomadas em seis pontos do lago Guaíba (Fig. 1): (I) Saco da Alemoa, (II) Ponta da Cadeia, (III) Foz do arroio Celupa, (IV) Praia da Alegria, (V) Ponta da Figueira e (VI) Barra do Ribeiro, como descrito em Flores-Lopes *et al.* (2001). As amostragens foram tomadas com redes de arrasto do tipo picaré, de acordo com Malabarba & Reis (1987), e em seguida fixadas em campo em formol 10 % para posterior triagem e análise morfológica e histológica em laboratório. Exemplares coletados na laguna dos Patos, em Viamão, nos dois primeiros períodos de um ano de amostragem foram utilizados como amostras comparativas. Espécimes com cifolordose foram selecionados para análise histológica. Espécimes normais foram utilizados como padrão em

comparação com os indivíduos anômalos. Para a análise histológica, os exemplares foram descalcificados com ácido Tricloroacético a 5 %, por um período de 24 a 36 horas. Foi retirada a musculatura de um dos lados do peixe e os exemplares impregnados e incluídos em parafina. Os cortes foram realizados em micrótomo, com uma espessura de 7 micrômetros. Para coloração foram adotadas as técnicas de Hematoxilina e Eosina (HE) e de Cajal-Gallego (Mendoza *et al.*, 1994, Beçak & Paulete, 1976).

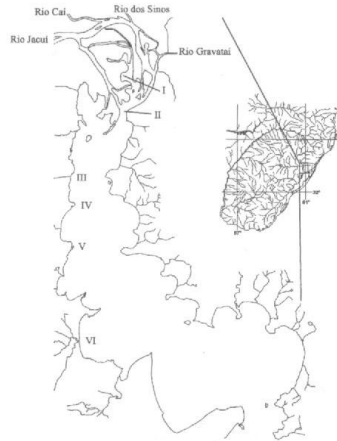


Figura 1 – Bacias hidrográficas do sul do Brasil e Uruguai e, em detalhe, o lago Guaíba e principais tributários com as localidades amostradas: Saco da Alemoa (I), Ponta da Cadeia (II), Foz do arroio Celupa (III), Praia da Alegria (IV), Ponta da Figueira (V) e Barra do Ribeiro (VI) (Flores-Lopes *et al.*, 2001).

Resultados

Astyanax alburnus foi a espécie mais abundante capturada durante os períodos de amostragem, sendo analisados 20214 exemplares. A incidência observada de displasias na coluna vertebral (cifose e lordose) foi elevada (102 ex., 0,505% do total de todas as amostras), em índices não igualados pelas demais espécies. A análise estatística destas frequências revelaram uma não casualidade na ocorrência de cifolordose entre os pontos amostrados (Tabela 1), com frequências acima do esperado nos pontos IV, V e VI e uma frequência acima do esperado desta anomalia na população do lago Guaíba em relação a amostras controle.

Tabela 1. Teste do Qui-Quadrado simples para as frequências de cifolordose observadas em *Astyanax alburnus* nos diferentes pontos amostrados (GL = 5, χ^2 tab. = 11,07 para alfa = 0,05; f_i = frequência observada na amostra; F_i = frequência esperada na amostra). O valor calculado de Qui-Quadrado demonstra a não casualidade entre as frequências observadas e os pontos amostrados.

LOCAL	1992				1993-94				1995-96			
	N	f_i	F_i	χ^2	N	f_i	F_i	χ^2	N	f_i	F_i	χ^2
I	877	0	10,00	10,00	2117	4	15,00	8,20	1934	0	4,10	4,10
II	726	0	8,60	8,60	720	1	5,20	3,30	2114	2	4,50	1,40
III	238	1	2,80	1,20	398	1	2,80	1,20	1009	0	2,10	2,10
IV	122	4	1,50	4,50	322	1	2,30	0,70	754	1	1,60	0,20
V	470	11	5,60	5,20	919	14	6,60	8,40	2331	13	4,90	13,00
VI	676	21	8	21,00	1251	20	9,00	14,00	3236	8	6,80	0,20
Total	3109			50,5	5727			35,8	11378			21

A coluna vertebral de *Astyanax alburnus* é semelhante a descrita para outros Characiformes. Em indivíduos normais, a coluna vertebral apresenta-se retilínea. Dezesesseis dos vinte indivíduos normais analisados histologicamente apresentavam uma prevalência de infecção por metacercárias de trematódeos digenéticos, provavelmente da ordem Strigeatoíida. A maior parte dos parasitas encontrava-se localizada na coluna vertebral, além do rim, musculatura, junto ao fígado, pâncreas e intestino, sendo mais freqüentes no rim.

Dos trinta e nove exemplares com deformidade da coluna vertebral analisados, trinta e dois exemplares apresentavam deformidade no pedúnculo caudal (82,05%); doze exemplares (30,76%) apresentavam deformidade somente na região do pedúnculo caudal; vinte (51,28%) no pedúnculo caudal e região caudal; e sete (17,94%) só na região caudal. Nos indivíduos com curvatura no pedúnculo caudal, pôde-se observar que as vértebras encontravam-se modificadas e pressionando a medula espinhal. As zigapófizes, geralmente as neurais, da região com cifordose, mostravam um desenvolvimento bastante pronunciado, com uma camada de tecido conjuntivo frouxo envolvendo-as interna e externamente. Nos exemplares infectados observou-se uma maior quantidade de tecido conjuntivo frouxo preenchendo os espaços entre as metacercárias e a coluna vertebral, infiltração de células leucocitárias e macrofágicas e processos de degeneração celular.

Os resultados obtidos para “Intensidade média de Infecção Estimada”, “Intensidade média de Infecção Estimada na Coluna” e “Intensidade média de Infecção Estimada na Curvatura da Coluna” assim como as comparações estatísticas entre elas são demonstradas nas tabelas 2, 3 e 4.

Tabela 2. Dados de infecção por intervalo de classe de Comprimento Padrão (mm) em indivíduos normais de *Astyanax alburnus* do lago Guaíba (n= número de indivíduos examinados por ponto de coleta; os valores correspondem a contagem total de parasitas nos indivíduos examinados e a média por espécime, entre parênteses; médias mais elevadas em negrito).

CP (mm)	n	Intensidade de Infecção Estimada	Intensidade de Infecção Estimada na Coluna
26 – 34	8	120 (15,0)	50 (6,3)
34 – 42	9	91 (10,1)	39 (4,3)
42 – 50	3	19 (6,3)	17 (5,7)
Total	20	230	106

Tabela 3. Dados de infecção por intervalo de classe de Comprimento Padrão (mm) em exemplares anômalos de *Astyanax alburnus* do lago Guaíba (n= número de indivíduos examinados por ponto de coleta; os valores correspondem a contagem total de parasitas nos indivíduos examinados e a média por espécime, entre parênteses; médias mais elevadas em negrito).

CP (mm)	n	Intensidade de Infecção Estimada	Intensidade de Infecção Estimada na Coluna	Intensidade de Infecção Estimada na Curvatura da Coluna
18 – 26	7	95 (13,6)	51 (7,3)	44 (6,3)
26 – 34	15	579 (38,6)	322 (21,5)	263 (17,5)
34 – 42	14	842 (60,1)	500 (35,7)	364 (26,0)
42 – 50	3	210 (70,0)	93 (31,0)	69 (23,0)
Total	39	1726	966	740

Tabela 4. Dados de Infecção por parasitas em exemplares normais e exemplares com cifolordose por ponto de coleta. (*¹) 2 exemplares não apresentavam infecção por parasitas; (*²) 4 exemplares não apresentaram infecção por parasitas.

Pontos de coleta	n	Indivíduos normais		n	Exemplares com cifolordose		
		∑ Intensidade de Infecção Estimada	∑ Intensidade de Infecção Estimada na Coluna		∑ Intensidade de Infecção Estimada	∑ Intensidade de Infecção Estimada na Coluna	∑ Intensidade de Infecção Estimada Curvatura Coluna
I	5 ^{*1}	15	0	3	0	0	0
II	4 ^{*1}	7	0	1	0	0	0
III	-	-	-	1	85	73	46
V	7	149	82	16 ^{*2}	556	326	265
VI	4	59	20	18	1085	567	429
Total	20	230	102	39	1726	966	740

Discussão

A análise histológica realizada permitiu constatar uma alta intensidade de trematódeos digenéticos, provavelmente pertencentes a ordem Strigeatoiida, nos indivíduos com cifolordose, sendo que mais da metade desses organismos localizavam-se na coluna vertebral.

Os resultados obtidos pela análise estatística da frequência de parasitas em indivíduos anômalos e em indivíduos sadios permitiu verificar que a elevada frequência de cifolordose observada nas localidades de Praia da Alegria (IV), Ponta da Figueira (V) e Barra do Ribeiro (VI) está associada à alta intensidade de trematódeos digenéticos, que encontraram nos pontos V e VI, durante o período de estudo, condições extremamente favoráveis para completar o seu ciclo de vida, sendo desta forma, provavelmente, os principais responsáveis pelas deformidades vertebrais observadas em exemplares de *Astyanax alburnus* do lago Guaíba.

Wells & Cowan (1982) também observaram que as deformidades vertebrais podem aumentar muito abruptamente quando populações naturais de peixe estão sujeitas a altas infecções por parasitas. De acordo com Rohde (1984), uma distinta capsula originária do hospedeiro é formada, onde a mais interna consiste de infiltrados de macrófagos. Estes relatos concordam com o que foi observado em *Astyanax alburnus*, cujas metacercárias encontravam-se circundadas por tecido conjuntivo, células leucocitárias e macrofágicas.

Cada espécie de parasito parece ter, segundo Larue (1951), sua localização “preferida”, onde podem usualmente ser encontrados. A análise realizada, nos possibilitou verificar uma predileção destes trematódeos digenéticos pelo encistamento junto à coluna vertebral. Bengtsson *et al.* (1988) relataram que a ocorrência desses danos vertebrais aumenta com o tamanho do peixe e que a relação entre a frequência de deformidades e o tamanho parece estar ligada com a idade. Neste estudo, observou-se uma frequência mais elevada de anomalias em indivíduos maiores, ao contrário do que se poderia observar se as anomalias surgissem nos estágios iniciais de desenvolvimento.

Apesar das evidências, não pode ser descartada a possibilidade de que, em função de apresentar uma deformidade esquelética, os exemplares de *Astyanax alburnus* encontravam-se mais suscetíveis à infecção por trematódeos digenéticos. É importante notar, entretanto, que os pontos onde observaram-se as maiores frequências de cifolordose (V e VI) apresentaram igualmente as maiores infecções por parasitas, tanto em indivíduos normais como anômalos.

Agradecimentos

As coletas foram realizadas com auxílio da RIOCELL S.A.

Referências Bibliográficas

- Beçak, W. & Paulete, J. 1976. Técnicas de Citologia e Histologia. Vol. 2. Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, 263p.
- Bengtsson, B. E., Bengtsson, A. & Himberg, M. 1985. Fish deformities and Pollution in some Swedish waters. *Ambio*, 14: 32-35.
- Bengtsson, A., Bengtsson, B. E. & Lithner, G. 1988. Vertebral defects in Fourhorn sculpin, *Myoxocephalus quadricornis* L., exposed to heavy metal pollution in the Gulf of Bothnia. *J. Fish Biol.*, 33: 517-529.
- Flores-Lopes, F., Malabarba, L. R., Pereira, Edson H. L. P. & Silva, J. F. P. 2001. Alterações histológicas em placas ósseas do peixe cascudo *Rineloricaria strigilata* (Hensel) (Teleostei, Loricariidae) e sua frequência no lago Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revta. bras. Zool.*, 18(3):699-709.
- Larue, G. R. 1951. Host-parasite relations among the digenetic trematodes. *J. Parasit.*, 37(4): 333-342.
- Lindesjøo, E. & Thulin, J. 1992. A skeletal deformity of Northern Pike (*Esox lucius*) related to Pulp Mill effluents. *Can. J. Fish. Aquatc. Sci.*, 49: 166-172.
- Malabarba, L. R. & Reis, R. E. 1987. Manual de Técnicas para a preparação de Coleções Zoológicas. Nº 36 – Peixes. Sociedade Brasileira de Zoologia, Campinas, 14p.
- Mendoza, D. A., Mendonça, V. O. & Laurino, L. B. 1994. Fundamentos de Patologia Óssea. São Paulo, Fundação BYK, 203p.
- Mercer, I. R. G., Barker, D. E. & Khan, R. A. 1997. Stress-Related changes in Cunner, *Tautoglabrus adspersus*, living near a Paper Mill. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58: 442-447.
- Rhode, K. 1984. Diseases caused by metazoans: Helminths. In: Diseases of Marine Animals, V. 4; part 1 – Pisces. Edited By Kinne, O. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, pp. 193-320.
- Sindermann, C. J. 1990. Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish, V. 1. 2nd Ed., Academic Press, 521p.
- Toften, H. & Jobling, M. 1996. Development of spinal deformities in Atlantic salmon and Arctic charr fed diets supplemented with oxytetracycline. *J. Fish Biol.*, 49: 668-677.
- Wells, D. E. & Cowan, A. A. 1982. Vertebral dysplasia in Salmonids caused by the herbicide Trifluralin. *Environ. Poll.*, 29: 249 – 260.

