



HISTOLOGIA DA BRÂNQUIA DE *LUCINA PECTINATA* (MOLLUSCA: BIVALVIA): CONSIDERAÇÕES SOBRE PARASITISMO EM UMA POPULAÇÃO TROPICAL.

L. M. B. M. Santana¹

C. A. Rocha - Barreira¹

1 - Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Laboratório de Zoobentos. Av. da Abolição 3207, Praia do Meireles 60165 - 081, Fortaleza, CE, Brasil. Fone: (85)33667008 - lgisantana@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Moluscos são os principais hospedeiros de larvas de trematóides e ambos estão bem adaptados entre si (Lauckner, 1983). Entretanto, metacercárias de trematóides são capazes de gerar uma grande variedade de respostas fisiológicas, bioquímicas, morfológicas e comportamentais em seus hospedeiros (Kinne, 1983), contribuindo para o acometimento de enfermidades e diminuição das populações naturais.

Lucina pectinata (Gmelin, 1791), conhecida popularmente como “lambreta” ou “sarnambi”, é uma das espécies de bivalves comumente exploradas para complementação alimentar e fonte de renda no litoral brasileiro. Suas brânquias chamam a atenção pela simbiose com uma bactéria quimioautotrófica capaz de oxidar compostos de enxofre (Frenkiel *et al.*, 1996; Lechère *et al.*, 2006) possibilitando sua presença em ambientes anóxicos. Embora possua importância econômica, a escassez de trabalhos sobre infestações parasitárias para esta espécie dificulta a compreensão da situação patológica de seus bancos naturais.

O índice de condição é uma medida auxiliar empregada para expressar as condições de saúde dos bivalves relacionando a massa visceral e a massa da concha dos indivíduos (Valdez-Domingos *et al.*, 2007). Quanto maior a proporção de massa visceral em relação à concha, melhores são as condições gerais de saúde do organismo avaliado.

Em latitudes tropicais, padrões de sazonalidade são menos pronunciados devido a maior estabilidade nas características climáticas. No Ceará, região nordeste do Brasil, o clima é geralmente marcado por um período de intensa pluviosidade seguido de um período mais seco. As chuvas mais significativas ocorrem entre os meses de dezembro a maio, podendo se estender até julho dependendo das condições oceânicas e atmosféricas atuantes. Nas regiões estuarinas, o aumento do fluxo de água doce nos rios em decorrência das precipitações aliado aos constantes fluxos diários de maré altera consideravelmente a salinidade do ambiente, o que pode refletir nas condições de saúde dos organismos favore-

cendo sua suscetibilidade a patógenos.

Análise histológica é uma técnica bastante utilizada para determinar mais precisamente a localização da infestação por trematóides nos órgãos dos hospedeiros, seus efeitos nos tecidos do hospedeiro, e a extensão das reações de defesa do hospedeiro (Laruelle *et al.*, 2002).

OBJETIVOS

Analisar histologicamente as brânquias do bivalve *Lucina pectinata* coletados no estuário do rio Ceará, Fortaleza-CE, a fim de observar a presença de parasitas, correlacionando a infestação parasitária ao índice de condição dos animais e aos dados pluviométricos do local (período seco e chuvoso).

MATERIAL E MÉTODOS

Coletas

Exemplares de *Lucina pectinata* foram coletados no estuário do rio Ceará (S 03°42'07,5"; W 038°35'43,8") entre os meses de abril a outubro de 2008, durante a baixa-mar de sizígia empregando-se pá de jardinagem para escavar o sedimento até a profundidade aproximada de 20 cm. Capturaram-se manualmente todos os indivíduos encontrados ao acaso no local, independente do tamanho. Após coletados, os indivíduos foram transportados em sacos plásticos contendo água do estuário até o Laboratório de Zoobentos, do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, onde a análise foi imediatamente efetuada.

Os dados de precipitação pluviométrica mensal, referentes ao período de estudo, foram obtidos na Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME).

Processamento do material coletado

No Laboratório, procedeu-se à análise de cada indivíduo com as medições do comprimento anterior-posterior, altura (ventro-dorsal) e largura, empregando-se paquímetro de precisão 0,05mm, e pesagens do animal completo, somente da massa visceral e somente das conchas, com balança de

precisão. Para a dissecação, as valvas foram abertas introduzindo - se bisturi para seccionar o músculo adutor seguindo - se a remoção da massa visceral. A relação entre a massa total da parte mole do corpo do animal e a massa da concha foi calculada para determinar o Índice de Condição (IC) de cada indivíduo, segundo Valdez - Domingos *et al.*, (2007), empregando - se a equação: $IC = (PMVT/PC) \times 100$, na qual PMVT = peso da massa visceral total, em gramas, PC = peso da concha, em gramas.

As brânquias dos organismos foram fixadas em solução de Bouin salino por 6 horas, para a preservação das estruturas, e, então, transferidas e mantidas em álcool 70% até o processamento histológico de rotina passando por uma série de desidratação em álcool e diafanização em xilol, até a inclusão em parafina. Seções transversais foram realizadas em micrótomo manual com 5 μ m de espessura, submetidas aos corantes Hematoxilina de Harris - Eosina (HE) e analisadas ao microscópio óptico Standard 25, Zeiss. A ocorrência de parasitas foi quantificada empregando - se uma escala numérica desenvolvida neste estudo, atribuindo - se os valores 0, 1, 2 ou 3, para nenhuma, pouca, moderada ou intensa ocorrência de parasitas, respectivamente. Ao final, foram calculadas as médias desses valores para cada mês amostrado.

Análise dos dados

Os dados foram analisados estatisticamente empregando - se o teste não paramétrico Mann - Whitney U para comparar os períodos seco e chuvoso de todas as biometrias (tamanhos e pesos) e os índices de condição e de infestação por parasitas. Além disso, usou - se a correlação de Spearman entre todos os dados a fim de verificar existência de relação entre os mesmos. Ambos os testes foram executados pelo programa Statsoft Statistica 7.0, com nível de significância $p < 0,05$.

RESULTADOS

As médias de precipitações mensais, em mm, segundo dados da FUNCEME, foram abril (367.1); maio (137.2); junho (56.4); julho (5.4); agosto (12.7); setembro (0.0) e outubro (1.3). Para este estudo, os meses de abril a junho foram considerados período chuvoso e os meses de julho a outubro, agrupados como período seco. O relatório de precipitação da FUNCEME exibe, no período de 01/01/2008 a 31/05/2008, a média histórica normal e percentual em relação a normal por posto pluviométrico. O posto mais próximo ao local de coleta (distância de aproximadamente 10 Km) apresentou percentual de 14,1 mm de chuva acima do normal.

No total, 155 animais foram coletados, sendo 66 no período chuvoso (20 em abril e maio, 26 em junho) e 89 no período seco (10 em julho, 23 em agosto, 24 em setembro e 32 em outubro).

O cálculo do índice de condição dos animais coletados apresentou os seguintes valores mensais (média \pm desvio padrão): maio (35 \pm 10); junho (34 \pm 12); julho (39 \pm 16); agosto (37 \pm 11); setembro (34 \pm 8) e outubro (37 \pm 7). Infelizmente este índice não pode ser calculado para o mês de abril devido a erros na medição. Todas as médias

biométricas (comprimento, altura, largura, peso do animal completo, peso somente da massa visceral e peso das conchas) foram significativamente maiores no período chuvoso ($n=66$) em relação aos meses do período seco ($n=89$) (Teste Mann - Whitney U, $p < 0,05$). Entretanto, o índice de condição não foi significativamente diferente ($U=1767,0$, $p=0,195$) comparando - se os dois períodos.

As brânquias de *Lucina pectinata* são grandes e recobrem a massa visceral do animal em ambos os lados. Apresentam três regiões distintas estrutural e funcionalmente chamadas zona de filamento ctenidial, zona de transição e zona de bacteriócitos (Distel & Felbeck, 1987; Frenkiel *et al.*, 1996), sendo esta última região caracterizada pela presença da bactéria simbiote (Frenkiel *et al.*, 1996; Lechaire *et al.*, 2006). A análise microscópica das brânquias evidenciou a presença de esporocistos de trematóides em diferentes estágios em 9% dos animais do período chuvoso e 3% dos animais do período seco. Em todos os casos os esporocistos estavam localizados preferencialmente logo após a zona de transição, no início da região dos bacteriócitos. Somente um animal no mês de abril teve o tecido branquial completamente destruído devido à elevada infestação pelos esporocistos. Um animal no mês de abril e um em junho apresentou parasita em frente aos filamentos, representando 3% dos indivíduos do período chuvoso. Nos esporocistos, as cercarias apareceram tipicamente em vários estágios de desenvolvimento, indicando sua produção assíncrona, uma vez que as cercarias são liberadas na água por longos períodos de tempo (Laruelle *et al.*, 2002). O fato do banco de *Lucina pectinata* no estuário do rio Ceará não se localizar permanentemente submerso, ou seja, torna - se constantemente exposto nos horários de maré baixa, pode produzir períodos menores de exposição aos parasitas. Aguirre - Macedo & Kennedy (1999) relatam que ostras mexicanas *Crassostrea virginica* podem ter apresentado comunidades de metazoários parasitas mais ricas por estarem sempre embaixo d'água e, portanto, expostas por maior tempo aos parasitas.

Cistos no tecido branquial, tanto basófilos quanto acidófilos, estiveram presentes em 71% dos animais no período chuvoso e em 80% no período seco por toda zona de bacteriócitos. Embora de natureza desconhecida sua ocorrência foi atribuída a parasitas. Foram observados ainda hipertrofia das células dos filamentos e dos bacteriócitos (80%; 82%), grânulos acidófilos (36%; 40%), grânulos amarelados extracelulares (17%; 1%), grânulos amarelados intracelulares (0%; 2%) e infiltração por hemócitos (17%; 9%) (Os valores em parênteses representam, respectivamente, os períodos chuvoso e seco).

O índice de infestação foi significativamente maior no período chuvoso ($n=89$, $U=2461,5$, $p=0,03$). Entretanto, as médias mensais variaram entre 0,65 e 1,2 significando pouco infectadas. Este índice não apresentou correlação significativa com nenhuma das biometrias realizadas (comprimento: $r=0,0075$, $p=0,93$; altura: $r=0,0026$, $p=0,97$; largura: $r=-0,0095$, $p=0,91$; peso do animal completo: $r=-0,001$, $p=0,89$; peso somente da massa visceral: $r=0,0011$, $p=0,99$; e peso das conchas: $r=-0,053$, $p=0,54$) e nem com o índice de condição dos animais ($r=0,157$, $p=0,07$). Infestações nas brânquias e no manto têm sido relatadas em estágios avançados de infecção. As gônadas são conhecidas como

o primeiro órgão afetado pela proliferação de esporocistos, os quais podem causar castração e debilitação dos bivalves (Cheng & Burton, 1965; Laruelle *et al.*, 2002). Em infestações mais intensas, os esporocistos, aparentemente usando somente passagens de tecido conjuntivo, emergem das gônadas para outras regiões do corpo, como glândula digestiva, brânquias e manto (Laruelle *et al.*, 1999). As gônadas dos animais coletados neste estudo ainda estão sendo processadas para análise posterior.

A maior infestação observada no período de chuvas pode estar relacionada com uma possível debilitação dos animais em função da diminuição da salinidade do estuário.

As características de ambientes tropicais são consideradas potencializadoras do número de espécies e da densidade de parasitas nos hospedeiros. Portanto, ostras de latitudes tropicais tendem a apresentar comunidades de parasitas mais ricas do que de regiões temperadas, como observado para infracomunidades de *C. virginica* no México (Aguirre - Macedo & Kennedy, 1999). Entretanto, os mesmos autores sugerem que pequenas comunidades de parasitas metazoários pode ser relacionadas a características fisiológicas específicas associadas a mecanismos de respostas do hospedeiro contra os parasitas helmintos. Esta resposta do bivalve hospedeiro contra os parasitas parece ser o principal fator estruturador da comunidade de parasitas metazoários das ostras. Assim, somente as espécies capazes de superar tais respostas do hospedeiro tornam - se estabelecidas (Aguirre - Macedo & Kennedy, 1999).

CONCLUSÃO

A histologia das brânquias de *Lucina pectinata* foi uma ferramenta eficiente para evidenciar a presença de parasitas. Os animais coletados no período de maior pluviosidade apresentaram - se maiores e mais infectados pelos parasitas em relação aos meses de seca, provavelmente devido à baixa salinidade do estuário durante as chuvas. Porém, a infestação em ambos os períodos foi baixa e o índice de condição dos animais foi similar entre todos os indivíduos, sugerindo que a presença dos parasitas não está prejudicando a saúde da população estudada.

Agradecimentos

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela concessão de bolsa de pós - graduação.

REFERÊNCIAS

- Aguirre - Macedo, M. L.; Kennedy, C. R. 1999. Patterns in metazoan parasite communities of some oyster species. *Journal of Helminthology*, 73: 283 - 288.
- Cheng, T. C.; Burton, R. W. 1965. Relationships between *Bucephalus* sp and *Crassostrea virginica*: Histopathology and sites of Infection. *Chesapeake Science*, 6 (1): 3 - 16.
- Distel, D. L.; Felbeck, H. 1987. Endosymbiosis in the lucinid clams *Lucinoma aequizonata*, *Lucinoma annulata* and *Lucina floridana*: a reexamination of the functional morphology of the gills as bacteria - bearing organs. *Marine Biology*, 96: 79 - 86.
- Frenkiel, L.; Gros, O.; Moueza, M. 1996. Gill structure in *Lucina pectinata* (Bivalvia: Lucinidae) with reference to hemoglobin in bivalves with symbiotic sulphur - oxidizing bacteria. *Marine Biology*, 125: 511 - 524.
- FUNCEME. Fundação Cearense de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.funceme.br>>. Acesso em: 05 mai. 2009.
- Kinne, O. 1983. Diseases of marine animals. Volume II: Introduction bivalvia to scaphopoda. Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland. 1028p.
- Lauckner, G. 1983. Diseases of Mollusca: bivalvia diseases of marine animals. In: Kinne, O. (Ed.), Introduction Bivalvia to Scaphopoda, vol 2. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg: 477 - 977.
- Laruelle, F.; Molloy, D. P.; Fokin, S. I.; Ovcharenko, M. A. 1999. Histological analysis of mantle - cavity ciliates in *Dreissena polymorpha*: Their location, symbiotic relationship, and distinguishing morphological characteristics. *Journal of Shellfish Research*, 18: 251-257.
- Laruelle F.; Molloy, D. P.; Roitman, V. A. 2002. Histological analysis of trematodes in *Dreissena polymorpha*: their location, pathogenicity and distinguishing morphological characteristics. *The Journal of Parasitology*, 88 (5): 856 - 863.
- Lechaire, J. P.; Frébourg, G.; Gaill, F.; Gros, G. 2006. In situ localization of sulphur in the thioautotrophic symbiotic model *Lucina pectinata* (Gmelin, 1791) by cryo - EFTEM microanalysis. *Biology of the Cell*, 98: 163-170.
- Valdez - Domingos, F. X.; Azevedo, M.; Silva, M.D.; Randi, M.A.F.; Freire, C.A.; Silva De Assis, H.C.; Oliveira Ribeiro, C.A. 2007. Multibiomarker assessment of three Brazilian estuaries using oysters as bioindicators. *Environmental Research*, 105: 350-363.