

DETERMINAÇÃO DE PADRÃO MORFOLÓGICO DE BRÂNQUIAS DE PACU (*Piaractus mesopotamicus*)

Luiz Fernando de Souza Alves^{1*}; Taiany Miranda Saravy²; Grace Alessandra Araújo Baldo³; Andréa Maria de Araújo Gabriel⁴; Fabiana Cavichiolo⁴

SAP 14316 Data envio: 07/06/2016 Data do aceite: 21/02/2017
Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 16, n. 2, abr./jun., p. 206-210, 2017

RESUMO - Para que sejam realizadas avaliações patológicas ou reconhecimento de alterações na morfologia das brânquias de pacu é necessário o conhecimento de um padrão morfológico normal, sendo este então o objetivo de tal estudo. Foram coletados 20 animais (*Piaractus mesopotamicus*), provenientes de ambientes de cultivo da região da Grande Dourados, com comprimento total médio de 35 cm e 750 g. Durante a coleta os animais foram anestesiados com benzocaína, eutanasiados e dissecados para avaliação macroscópica dos órgãos “*in situ*”. As brânquias foram fixadas em solução de Bouin e coradas pelo método usual Hematoxilina/Eosina e pela técnica de azul de alcian + PAS (ácido periódico de Schiff). Macroscopicamente observou-se que as brânquias apresentavam coloração vermelho vivo brilhante, localizadas internamente, protegidas pelos opérculos, com inúmeros rastros espaçados, filamentos e lamelas secundárias. Sob microscopia de luz foi possível identificar as artérias branquiais, estrutura cartilaginosa, células pilares, epitélio respiratório e células mucosas. Concluiu-se que esta espécie possui estrutura branquial muito semelhante à de outros teleósteos de água doce, porém, mais estudos tornam-se necessários para comparar esta estrutura em todas as fases da sua vida e épocas do ano.

Palavras-chave: histologia, morfologia branquial, teleósteos.

DETERMINATION OF THE MORPHOLOGICAL PATTERN OF PACU'S (*Piaractus mesopotamicus*) GILLS

ABSTRACT - In order to carry out pathological evaluations or recognition of changes in the morphology of pacu gills, it is necessary to know a regular morphological pattern, which is the purpose of this study. Twenty animals (*Piaractus mesopotamicus*) were collected from cultivated environments of the “Grande Dourados” region, Mato Grosso do Sul State, Brazil, with an average total length of 35 cm and 750 g. During collection, the animals were anesthetized with benzocaine, euthanized and dissected for macroscopic evaluation of the organs “*in situ*”. The gills were fixed in Bouin's solution and stained by the usual Hematoxylin/Eosin method and the alcian blue + PAS technique (Schiff periodic acid). Macroscopically it was observed that the gills were bright red, internally located, protected by the opercula, with numerous spaced traces, filaments and secondary lamellae. Under the light microscopy it was possible to identify the gill's arteries, cartilaginous structure, pillar cells, respiratory epithelium and mucous cells. We conclude that this species has a gill structure very similar to that of other freshwater teleosts, but more studies are necessary to compare this structure in all phases of its life and different times of the year.

Key words: histology, gill morphology, teleosts.

INTRODUÇÃO

O pacu (*Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1987), conhecido como “pantaneiro”, é uma espécie onívora, nativa da Bacia do Rio da Prata, ocorrendo principalmente nos rios Paraná e Paraguai e seus afluentes (PROENÇA; BITTENCOURT, 1994). Segundo dados do Boletim Estatístico do Ministério da Pesca e Aquicultura (2011), esta é a quinta espécie de peixe mais produzida no Brasil, com uma produção de 21.689,3 toneladas, ficando

atrás apenas da tilápia-do-Nilo, tambaqui, tambacu e carpa. O pacu se destaca pelas suas características zootécnicas, como a rusticidade de manejo em diferentes sistemas de produção e ótima conversão alimentar (JOMORI, 2005; BRAZ, 2007).

A brânquia é um órgão polivalente responsável por realizar as trocas gasosas, regulação iônica, equilíbrio ácido-base, e excreção de resíduos nitrogenados pelos peixes (EVANS et al., 2005). A qualidade de ambientes de

¹Zootecnista, Mestre, Universidade Estadual de Maringá, UEM, Departamento de Zootecnia, Av. Colombo 5790, Jardim Universitário, CEP 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. E-mail: luizferzoo@hotmail.com. Autor para correspondência

²Zootecnista, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Rodovia Dourados-Itahum, Cidade Universitária, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. E-mail: taianymiranda@msn.com

³Zootecnista, Mestre, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho, Fazenda Experimental Lageado, CEP 18618-000, Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: graaraujo20@hotmail.com

⁴Docentes do Curso de Zootecnia, Dra., UFGD. E-mail: andregabriel@ufgd.edu.br; fabianacavichiolo@ufgd.edu.br

água doce pode variar, tornando a água desde quase pura até com alta concentração de íons, fazendo com que os tipos de células epiteliais branquial dos peixes apresentem adaptações morfológicas e funcionais, permitindo assim, estas espécies viverem em tais ambientes (FERNANDES; PERNA-MARTINS, 2001a).

As células clorídricas ocupam uma pequena fração da superfície epitelial exposta ao ambiente. Suas funções estão relacionadas à regulação iônica, balanço ácido-básico e redução de transferências gasosas (PERRY, 1997). Fatores ambientais podem influenciar seu número, tamanho, forma e estrutura (JAGOE; HAINES, 1997).

Várias patologias podem afetar as brânquias. Entretanto, não é encontrado na literatura estudos utilizando o pacu na fase adulta, onde se tornam necessárias pesquisas envolvendo esta espécie. Martins (1994) trabalhando com alevinos de pacu, observou frequentes deformações e distorções nos filamentos branquiais e presença de infiltrado inflamatório na porção apical dos filamentos, devido a algumas patologias. As alterações mais comumente encontradas e já descritas por diversos pesquisadores são elevação epitelial, que se trata de uma elevação do epitélio lamelar; hiperplasia, proliferação de células podendo causar a fusão das células dos filamentos e lamelas e telangectasias que consistem em um extravasamento de sangue no interior da lamela (GARCIA-SANTOS et al., 2007; LUPI et al., 2007; CAMARGO; MARTINEZ, 2007; CAMPAGNA et al., 2008; VELLOSO et al., 2012; CANTANHÊDE, 2014).

Diante deste contexto, objetivou-se analisar o padrão morfológico das brânquias de pacu (*P. mesopotamicus*), de modo a descrever os aspectos histológicos branquiais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Morfofisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD. Para a avaliação morfológica das brânquias de pacu (*P. mesopotamicus*), foram utilizados 20 indivíduos adultos provenientes de cultivo na região da Grande Dourados, MS, com peso médio de 750 g e 35 cm de comprimento total. Depois de capturados, estes, foram anestesiados com benzocaína (1 g 10 L⁻¹ de água) (ROUBACH; GOMES, 2001), pesados (g) e medidos para obtenção do comprimento total (cm), eutanasiados por secção da medula espinhal, conforme indicação do anexo I da resolução nº 714 de 20 de junho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

Após a eutanásia foi realizado uma observação externa sobre a morfologia e as condições de saúde dos animais. Os peixes foram necropsiados e feita uma observação detalhada dos órgãos “*in situ*”. Depois de retiradas as brânquias, as mesmas foram observadas

separadamente quanto aos aspectos macroscópicos e então encaminhadas para o processamento histológico.

As brânquias foram fixadas em solução de Bouin aquoso por aproximadamente 12 h e transferidos para álcool 70% para conservação até a emblocagem, em que esta consiste em uma desidratação por passagens em álcool de graduação crescente (70% até 100%), uma diafanização em xilol e impregnação em parafina.

As lâminas foram confeccionadas a partir de cortes transversais com espessura de 5 µm obtidos de micrótomo rotativo e coradas pelo método usual Hematoxilina/Eosina para a avaliação quanto às alterações branquiais e pela técnica de azul de alcian + PAS (ácido periódico de Schiff) para a evidênciação das células de muco. Após a coloração, as lâminas foram preparadas com bálsamo de Piermount e lamínula, técnica utilizada para lâminas permanentes.

A análise das lâminas foi feita através de descrição das características observadas por microscopia de luz e utilização de um sistema computadorizado de captura e análise de imagens Motic DMB 5-5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Macroscopicamente as brânquias apresentaram coloração avermelhada brilhante, localizadas internamente e protegidas pelos opérculos. Ao analisá-las, observou-se que cranialmente as brânquias possuem inúmeros rastros espaçados e curtos que funcionam como uma espécie de filtro. Caudalmente apresentou-se diversos filamentos primários que, por sua vez, dividiam-se em filamentos ou lamelas secundárias (Figura 1.1), que representam a superfície funcional respiratória. Estas características apresentam-se de acordo com as observadas por Schmidt-Nielsen (2002) e Randall (2000) que descreveram também que as células constituintes das lamelas são geralmente de três tipos: células pilares (Figura 1.2), que atuam como colunas, são controladoras do fluxo de outras células no interior da lamela e evitam o abaulamento pela alta pressão sanguínea; células do epitélio respiratório, responsáveis pelas trocas; e hemácias, que circulam constantemente no interior das lamelas.

Através das análises histológicas, observou-se que os rastros são formados por um eixo cartilaginoso e revestidos por um epitélio estratificado com presença de corpúsculos gustativos e células mucosas semelhantes à *Mugil cephalus* e *Fundulus heteroclitus* em um trabalho feito por Hossler e Merchant (1983). Os arcos apresentaram-se em estrutura cartilaginosa (Figura 2.1), tecido conjuntivo e artérias branquiais (Figura 2.3). Nos filamentos também se observou a presença de uma estrutura cartilaginosa, sendo estes revestidos por epitélio branquial multilamelar, com células mucosas. Dados semelhantes foram observados nas brânquias de *Steindachnerina brevipinna*, por Lima et al. (2009).

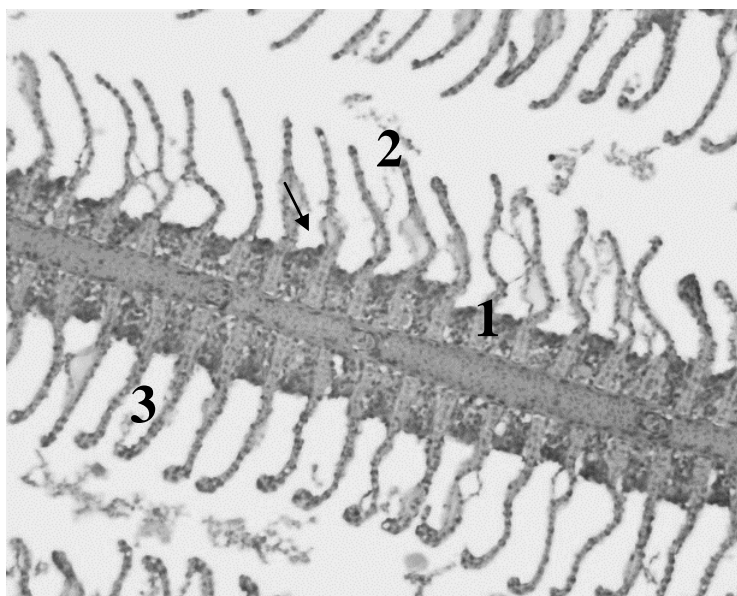


FIGURA 1 - Filamento branquial. Lamelas (1); células pilares (2); suporte cartilaginoso (3). HE 10x.

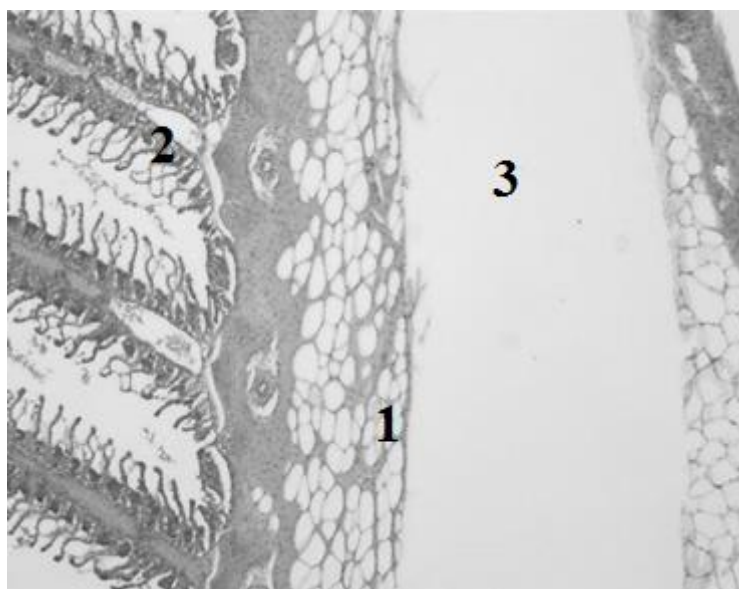


FIGURA 2 - Componentes histológicos do arco branquial. Estrutura cartilaginosa (1); filamento branquial (2); artéria branquial (3). Coloração HE.

Nas lâminas submetidas à coloração de alcian-blue+PAS pôde-se observar a presença de numerosas células de muco bem próximas à base das lamelas secundárias. Estas características apresentam-se de acordo com as observadas por Andrew e Hickman (1974), Stoskopf (1993) e Takashima e Hibiya (1995), Rezende et al. (2013), porém, estes autores relataram também a presença de algumas células clorídricas em teleósteos, principalmente quando submetidas à águas estuarinas (salobras). Entretanto, no presente experimento, não foi realizada coloração específica para identificação das mesmas. Segundo Fernandes e Perna-Martins (2001b) a produção de muco faz parte do mecanismo de defesa dos peixes. O muco possui substâncias que impedem o

crescimento e a permanência de diversos parasitas em sua superfície externa e a proliferação de bactérias e fungos, mas pouco ainda se sabe sobre este efeito (ALVES et al., 2008). Estas células mucosas (Figura 3.1) também fazem parte no processo de osmorregulação e diminuem o atrito do peixe com a água.

Segundo Evans (1999), o epitélio respiratório (Figura 3.3) é constituído por células pavimentosas ou respiratórias e células mucosas. As pavimentosas constituem a maior parte da superfície branquial, sendo de aparência semelhante a impressões digitais devido às suas cristas dispostas circularmente. Estas cristas ampliam a superfície celular, conseqüentemente aumentando a transferência gasosa.

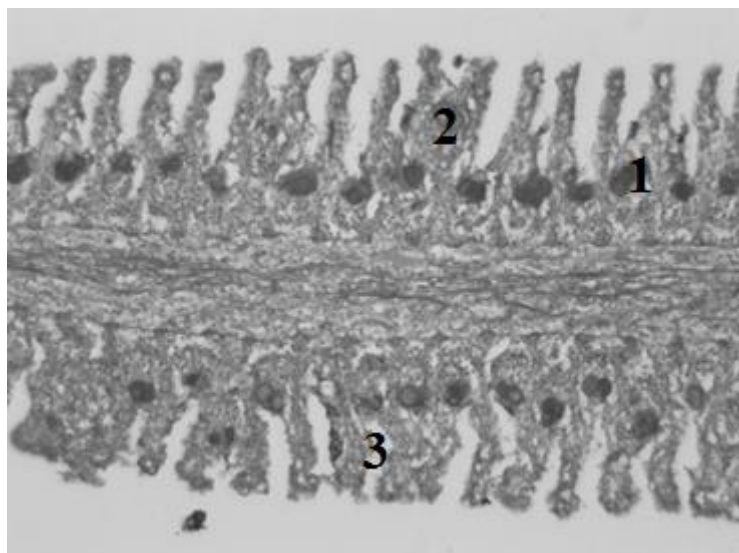


FIGURA 3 - Filamento branquial. Célula mucosa (1); espaço para passagem de água (2); epitélio respiratório (3). Alcian blue + PAS (10x).

Nos animais avaliados não foram diagnosticadas alterações significativas nas brânquias, apenas algumas isoladas e de grau leve, pois os animais utilizados para análise morfológica estavam saudáveis e provenientes de ambientes ideais de cultivo.

CONCLUSÕES

O pacu (*P. mesopotamicus*) possui estrutura branquial muito semelhante à de outros teleosteos de água doce com quatro pares de arcos branquiais e filamentos bem desenvolvidos. Devido ao grande interesse econômico e nutricional que a espécie apresenta, mais estudos tornam-se necessários para comparar esta estrutura em todas as fases da sua vida.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelas bolsas concedidas e à FUNDECT-MS, pelo apoio financeiro, no desenvolvimento do trabalho.

COMITÊ DE ÉTICA

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da FCA/UFGD para a avaliação sob o protocolo nº 307/08, sendo os estudos realizados de acordo com as normas éticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L.F.A.; ALVES, S.B.; OLIVEIRA, L.G.; JONSSON, C.M. Efeito do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (Deuteromycetes) para *Astyanax scabripinnis* (Jenyns, 1842) (Pisces: Characidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.75, n.4, p.471-479, out./dez. 2008.

ANDREW, W.; HICKMAN, C.P. *Histology of the vertebrates: a comparative text*. C.V. Mosby Company, St. Louis, Missouri, USA, 1974. 439p.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. *Boletim estatístico da pesca e aquicultura*. Brasília: MPA, 2011. 60p.

BRAZ, M. Sistema de produção de pacu em cativeiro. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, São Paulo, 2007. *Anais...* São Paulo: ABRACOA, 2007. Disponível em: <<http://www.abracoa.com.br/0308/PACU.pdf>>. Acesso em: 03 set. 2014.

CAMARGO, M.M.P.; MARTINEZ, C.B.R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*, Porto Alegre, v.5, n.3, set. 2007.

CAMPAGNA, A.F.; FRACACIO, R.; RODRIGUES, B.K.; ELER, M.N.; VERANI, N.F.; ESPINDOLA, E.L.G. Analyses of the sediment toxicity of Monjolinho River, São Carlos, São Paulo State, Brazil, using survey, growth and gill morphology of two fish species (*Danio rerio* and *Poecilia reticulata*). *Brazilian Archives Biology and Technology*, Curitiba, v.51, n.1, fev. 2008.

CANTANHÊDE, S.M.; MEDEIROS, A.M.; FERREIRA, F.S.; FERREIRA, J.R.C.; ALVES, L.M.C.; CUTRIM, M.V.J.; SANTOS, D.M.S. Uso de biomarcador histopatológico em brânquias de *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1972) na avaliação da qualidade da água do Parque Ecológico Laguna da Jansen, São Luís - MA. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, n.2, p.593-601, 2014.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002. **Normas reguladoras de procedimentos relativos à eutanásia em animais**. Disponível em: <http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/resolucoes/resolucao_714.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2014.

EVANS, D.H. The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives*, v.71, p.47-58, 1999.

EVANS, D.H.; PIERMARINI, P.M.; CHOE, K.P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiology Review*, v.85, p.97-177, 2005.

FERNANDES, M.N.; PERNA-MARTINS, S.A. Epithelial gill cells in the armored catfish, *Hypostomus cf. plecostomus* (Loricariidae). *Revista Brasileira de Biologia*, São Carlos, v.61, n.1, fev. 2001.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S.M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.2, p.376-381, 2007.

HOSSLER, F.E.; MERCHANT, L.H. Morphology of taste buds on the gill arches of the mullet *Mugil cephalus*, and the killifish *Fundulus heteroclitus*. *American Journal of Anatomy*, v.166, p.299-312, 1983.

JAGOE, H.C.; HAINES, T.A. Changes in gill morphology of Atlantic salmon (*Salmo salar*) molts due to the addition of acid and aluminum to stream water. *Environmental Pollution*, Great Britain, v.97, n.1-2, p.137-146, 1997.

JOMORI, R.K.; CARNEIRO, D.J.; MARTINS, M.I.E.G.; PORTELLA, M.C. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. *Aquaculture*, v.243, p.175-183, 2005.

Determinação de padrão morfológico...

ALVES, L. F. S. et al. (2017)

- LIMA, F.B.; BRACCINI, M.C.; DÍAZ, A.O.; PINHEIRO JR, C.; GUIMARÃES, A.C.G. Morfologia das brânquias de *Steindachnerina brevipinna* (Eigenmann & Eigenmann, 1889) (Characiformes, Curimatidae). **Revista Biotemas**, v.22, n.1, p.87-92, 2009.
- LUPI, C.; NHACARINI, N.I.; MAZON, A.F.; RIGOLIN DE SÁ, O. Avaliação da poluição ambiental através das alterações morfológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilapia) nos córregos Retiro, consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. **Revista Fafibe On Line**, Bebedouro, v.3, p.1-6, 2007.
- MARTINS, M.L. Efeitos da suplementação de ácido ascórbico (vitamina C) avaliados através do desempenho e de aspectos anátomo-patológicos em alevinos de *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). 76p. 1994. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 1994.
- PERRY, S.F. The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v.59, p.325-347, 1997.
- PROENÇA, E.C.M.; BITTENCOURT, P.R.L. **Manual de piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA, 1994. 195p.
- RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. **Fisiologia animal: mecanismos e adaptações**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.512-516.
- REZENDE, K.F.O.; SANTOS, R.M.; SANTOS, R.M.; SHIMADA, J.C.B.; SILVA, J.R.M.C.; MUNIZ, C.A.S.D. Histopatologia das brânquias de Tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*, provenientes da represa Billings, área de proteção ambiental Bororé-Colônia. **Atas de Saúde Ambiental - ASA**, v.1, n.1, p.57-68, 2013.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. Uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aquicultura**, v.11, n.66, p.37-40, 2001.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente**. 5. ed. São Paulo: Santos, 2002. p.20-21.
- STOKOPF, M.K. **Fish medicine**. Philadelphia, Saunders. 1993. 915p.
- TAKASHIMA, F., HIBIYA, T. (Edd). **An atlas of fish histology. normal and pathological features**. 2nd Edd. Tokio: Kodanska; Stuttgard, New York: Gustav Fisher Verlag, 68-71: Stuttgard; New York: Gustav Fisher Verlag, 1995. p.195.
- VELLOSO, A.L.; ALMEIDA, F.M.; COUSIN, J.C.B.; PEREIRA JR, J. Histopatologia de brânquias de *Paralichthys orbignyanus* (teleostei: Paralichthyidae) parasitado por *Therodamas fluviatilis* (copepoda: Ergasilidae). **Atlântica**, Rio Grande, v.34, n.1, p.47-52, 2012.