

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA  
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA

GERMANO FONSECA PRAXEDES

PATÓGENOS NO SURURU *Mytella falcata* (ORBIGNY, 1846) DO ESTUÁRIO DO RIO  
JAGUARIBE-CE, COM ESPECIAL ENFOQUE PARA O PROTOZOÁRIO DE  
DECLARAÇÃO OBRIGATÓRIA *Perkinsus*.

FORTALEZA

2010





GERMANO FONSECA PRAXEDES

PATÓGENOS NO SURURU *Mytella falcata* (ORBIGNY, 1846) DO ESTUÁRIO DO RIO  
JAGUARIBE-CE, COM ESPECIAL ENFOQUE PARA O PROTOZOÁRIO DE  
DECLARAÇÃO OBRIGATÓRIA *Perkinsus*.

Trabalho Supervisionado – Modalidade A -  
Monografia de Graduação submetida à  
Coordenação do Curso de Engenharia de  
Pesca, da Universidade Federal do Ceará,  
como requisito parcial para a obtenção do grau  
de Engenheiro de Pesca.

Orientador: Prof. Rodrigo Maggioni, PhD

FORTALEZA  
2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

P91p Praxedes, Germano Fonseca.  
Patógenos no sururu *Mytella falcata* (Orbigny, 1846) do estuário do rio Jaguaribe-CE, com especial enfoque para o protozoário de declaração obrigatória *Perkinsus* / Germano Fonseca Praxedes. – 2010. 26 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2010.  
Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni.

1. Histopatologia. 2. Bivalve. 3. RFTM. I. Título.

CDD 639.2

---



GERMANO FONSECA PRAXEDES

PATÓGENOS NO SURURU *Mytella falcata* (ORBIGNY, 1846) DO ESTUÁRIO DO RIO  
JAGUARIBE-CE, COM ESPECIAL ENFOQUE PARA O PROTOZOÁRIO DE  
DECLARAÇÃO OBRIGATÓRIA *Perkinsus*.

Monografia submetida à Coordenação do Curso de Graduação em Engenharia de Pesca, da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Engenheiro  
de Pesca.

Aprovada em: 30 / 11 / 10

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Rodrigo Maggioni, PhD (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Profa. Cristina de Almeida Rocha-Barreira.  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Profa. Dr. Rachel Costa Sabry.  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE

## AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre guiar meu caminho, pela sua misericórdia e amor sem fim. Por todas as graças alcançadas, em especial pelos amigos que me confiaste.

Aos meus pais Luis e Fátima, pelo amor e apoio incondicional e as lutas enfrentadas para poderem oferecer o melhor que podiam.

Aos meus irmãos Elano, Eline, Aline e Germana que me ajudaram a crescer como ser humano.

À Professora Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira pela acolhida e oportunidade de estagiar no Grupo de Estudo de Moluscos Bivalves – GEMB e posteriormente no Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos – CEDECAM e pelas condições oferecidas para a realização deste trabalho.

Ao Professor Rodrigo Maggioni, pela sua orientação e dedicação durante a realização desta pesquisa. Pelos seus conselhos que me ajudaram a crescer como profissional.

À Professora Rachel Sabry, por ter me ajudado na escolha da área de pesquisa, por todo apoio, esforço, preocupação e conhecimentos repassados. Meu Obrigado!

À Professora Rosemeiry Melo, pela atenção, carinho e orientações.

À Rivanda, Maria de Aquino e ao Sr. Dedé pela ajuda durante as coletas dos animais para a presente pesquisa.

Aos amigos do CEDECAM e do Grupo de Estudo de Moluscos Bivalves – GEMB, por todos os momentos que passamos juntos, pelas preocupações e alegrias que tivemos.

A minha grande amiga Lidiane Romão, por toda a sua dedicação, companheirismo e amizade devotada, estando sempre do meu lado em todas as atividades desse projeto muito deste trabalho foi possível graças a sua ajuda.

As minhas amigas Tarciana e Rayza, pois juntos conseguimos superar muitos obstáculos.

Ao Programa de Educação Tutorial, não apenas pela concessão da bolsa, mas por todo o aprendizado e amizades formadas, em especial pela amizade do Regi.

À Cândida e João, por toda a atenção e conhecimentos repassados e a todos do Laboratório de Biologia Molecular – PCR/CEDECAM, ao Felipe e Aline pela ajuda nas coletas e momentos descontraídos.

Ao Tális, por todo o seu apoio e motivação.

Ao Instituto Social Maria Teles – ISMART por todo auxílio e dedicação no meu desenvolvimento pessoal. Obrigado!

## RESUMO

A exploração do bivalve *Mytella falcata*, nos estuários do Ceará é realizada pela população ribeirinha e apresenta caráter socioeconômico importante. Esta espécie pode ser afetada por diversos patógenos os quais podem causar mortalidades massivas. A presença de protozoários do gênero *Perkinsus* é preocupante, pois estes são responsáveis por grandes perdas em populações de bivalves. O objetivo do presente trabalho foi investigar a ocorrência de patógenos em *M. falcata* do Estuário do Rio Jaguaribe, Ceará, com ênfase no protozoário *Perkinsus*. As coletas mensais foram realizadas no período março a julho de 2010, totalizando 600 animais (150/coleta). Para o diagnóstico patológico as técnicas utilizadas foram exames macroscópicos, cultivo de tecidos em meio líquido de tioglicolato (RFTM) e histologia. Os animais foram medidos, pesados, abertos e os tecidos do reto e brânquia incubados em RFTM para verificar a presença de *Perkinsus*. Para a histologia foi feito um corte transversal, contendo manto, gônada, brânquias e glândula digestiva. Após procedimentos histológicos, cortes de 5 µm foram corados por Hematoxilina e Eosina. O diagnóstico dos patógenos foi realizado em microscopia óptica. As análises macroscópicas não evidenciaram organismos incrustantes e alterações nos tecidos dos animais. Os resultados do RFTM detectaram pela primeira vez a presença de hipnósporos de *Perkinsus* sp. infectando o sururu *M. falcata* do estuário do Rio Jaguaribe. A maior prevalência de *Perkinsus* sp. observada pelo RFTM foi de 36% (54/150) no mês de julho. As análises histológicas confirmaram a ocorrência de trofozoítos de *Perkinsus* sp. infectando os tecidos conjuntivos da brânquia, manto e em torno da glândula digestiva com prevalências de até 40% (12/30). Também foram observadas colônias de bactérias do tipo rickettsia na brânquia e na glândula digestiva em baixa prevalência e o metazoário do gênero *Tylocephalum* infestando diversos tecidos dos animais. Até o momento nenhum dos patógenos detectados em *Mytella falcata* do Estuário do Rio Jaguaribe representa risco à saúde desse bivalve, uma vez que foram detectados com baixa intensidade. No entanto, esse banco natural precisa ser monitorado levando-se em consideração que o protozoário *Perkinsus* sp. representa risco às populações de moluscos.

Palavras-chave: Histopatologia. Bivalve. RFTM.

## ABSTRACT

The exploitation of bivalve *Mytella falcata* in the estuaries of Ceará by the local population has an important socio-economic aspect. This species can be affected by various pathogens which can cause massive mortality. The presence of protozoa from the genus *Perkinsus* is worrisome because they are responsible for severe losses in bivalve populations. The aim of this study was to investigate the occurrence of pathogens in *M. falcata* from Jaguaribe River estuary, Ceará, with emphasis on protozoan *Perkinsus*. The monthly collections were conducted during March-July 2010, totaling 600 animals (150/coleta). For the pathological diagnosis the techniques used were macroscopic examination, tissue culture in liquid thioglycolate (RFTM) and histology. The animals were weighed, measured and opened, and rectum and gill tissues were incubated in RFTM to verify the presence of *Perkinsus*. For histology a cross-section was made, containing mantle, gonads, gills and digestive gland. After histological procedures, sections of 5 µm were stained with hematoxylin and eosin. The diagnosis of the pathogens was achieved by optical microscopy. Macroscopic analysis showed no fouling organisms and changes in the tissues of animals. The results of RFTM presented here detected for the first time the presence of hypnospores of *Perkinsus* sp. infecting mussels *M. falcata* from Jaguaribe River estuary. The higher prevalence of *Perkinsus* sp. observed was 36% (54/150) in July. Histological analysis confirmed the presence of trophozoites of *Perkinsus* sp. infecting the gill tissue, mantle and around the digestive gland with prevalence rates of up to 40% (12/30). In addition to that, rickettsia-like bacteria were observed in gill and digestive gland, in low prevalence, and metazoan from the genus *Tylocephalum* infesting many of the sampled animals. So far none of the pathogens detected in *Mytella falcata* from Jaguaribe River estuary seems to represent a health risk for that bivalve, since they were detected in low intensity. However, considering that the protozoan *Perkinsus* sp. represents a serious threat to shellfish populations, the local banks should be continuously monitored.

Keywords: Histopathology. Bivalve. *RFTM*.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Localização do Estuário do Rio Jaguaribe – Fortim - CE, em destaque o local de coleta (imagem modificada do site Google Earth, acesso em Novembro de 2010). 15
- FIGURA 2 - Hipnospóros de *Perkinsus* sp. (seta) no interior dos tecidos branquiais de *Mytella falcata* após incubação em meio líquido de tioglicolato de Ray (RFTM) e corados com Lugol. Barra = 100 µm. 20
- FIGURA 3 - Cortes histológicos de *Mytella falcata* do Estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. Colônia de bactéria de tipo rickettsia no tecido branquial (A) e na glândula digestiva (B). Seta indicando colônia de bactéria. Barra = 50 µm 22
- FIGURA 4 - Cortes histológicos de *Mytella falcata* do Estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. Trofozoíto de *Perkinsus* sp. infectando o tecido conjuntivo da brânquia (seta). Barra = 10 µm. 22
- FIGURA 5 - Cortes histológicos de *Mytella falcata* do Estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. Larva de cestódeo do gênero *Tylocephalum* em torno da glândula digestiva (A) e no tecido branquial (B). As setas mostram infiltração de hemócitos. Barra = 50 µm. 23

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Tabela 1 – Altura (cm) e pesos médios (g) dos sururus <i>Mytella falcata</i> coletados no estuário do Rio Jaguaribe entre março e julho de 2010.	19
TABELA 2 - Prevalência (%) de <i>Perkinsus</i> sp. por ensaios de RFTM em <i>Mytella falcata</i> coletado no Estuário do Rio Jaguaribe entre março e julho de 2010.	20
TABELA 3 - Prevalência (%) dos patógenos detectados em <i>Mytella falcata</i> no estuário do Rio Jaguaribe entre março e julho de 2010 através dos cortes histológicos.	21

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>1.1 Taxonomia, distribuição e biologia da espécie</b> .....	14
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	15
<b>2.1 Área de estudo</b> .....	15
<b>2.2 Coletas das amostras</b> .....	16
<b>2.3 Biometria</b> .....	16
<b>2.4 Detecção de <i>Perkinsus</i> sp. por ensaios de RFTM</b> .....	17
<b>2.5 Histologia</b> .....	17
<b>3 RESULTADOS</b> .....	19
<b>3.1 Biometria</b> .....	19
<b>3.2 Análises macroscópicas</b> .....	19
<b>3.3 Diagnóstico de <i>Perkinsus</i> sp. por ensaios de <i>RFTM</i></b> .....	20
<b>3.4 Análises Histológicas</b> .....	21
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	27
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	28
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	29

**PATÓGENOS NO SURURU *Mytella falcata* (ORBIGNY, 1846) DO ESTUÁRIO DO RIO JAGUARIBE–CE, COM ESPECIAL ENFOQUE PARA O PROTOZOÁRIO DE DECLARAÇÃO OBRIGATÓRIA *Perkinsus*.**

**GERMANO FONSECA PRAXEDES**

## **1 INTRODUÇÃO**

No Brasil, as espécies de moluscos bivalves da família Mytilidae que possuem interesse econômico são: *Perna perna* (Linnaeus, 1758), *Mytilus edulis platensis* (Orbigny, 1846), *Mytella falcata* (Orbigny, 1842) e *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819). Entre essas espécies *M. falcata* é encontrado do Amapá até Santa Catarina (HENRIQUES, 2004).

No Estado do Ceará *M. faclata* é conhecido como sururu, sendo intensamente explorado pelas populações que vivem no entorno dos estuários, servindo como fonte de alimento e também como produto de comercialização, gerando renda para as famílias ribeirinhas.

Nos últimos anos o consumo e a comercialização de moluscos bivalves no país vêm aumentando por diversos fatores, entre eles está o aumento da produção (da SILVA, 2008). No entanto, em muitos países, o efeito negativo do desenvolvimento socioeconômico, causado pelas enfermidades, tem afetado a produção mundial de moluscos e se tornado um entrave da sustentabilidade e crescimento do setor (OIE, 2009).

Uma das principais causas de surtos de enfermidades nos moluscos é devido à transferência de moluscos vivos (OIE, 2009). A intensificação dos cultivos também aumenta o risco de surgimento de agentes patogênicos os quais podem comprometer o sucesso da atividade. A expansão das doenças em bivalves pode ser explicada, em parte, pelas condições em que os animais são submetidos aos cultivos como, por exemplo, as elevadas densidades de cultivo que causam estresse aos animais deixando-os mais suscetíveis ao ataque de patógenos, podendo inclusive levá-los a morte (da SILVA, 2008).

No mundo, estudos sobre patógenos em moluscos bivalves de interesse comercial são bem conhecidos (BOWER; MCGLADDERY; PRICE, 1994). No Brasil, ainda são poucos

os estudos sobre patologias em bivalves. Até o presente momento, foram registrados para os moluscos da costa brasileira: bactéria do tipo rickettsia, protozoários dos gêneros *Trichodina*, *Nematopsis*, *Ancistrocoma*, *Sphenophrya* e *Steinhausia*. Entre os metazoários há registros de *Polydora* sp., *Bucephalus* sp., *Tylocephalum* sp. e de larvas de metazoários não identificadas.

Nenhum dos patógenos acima descritos é de declaração obrigatória à Organização Mundial para Saúde Animal (OIE) que no seu código sanitário para os animais aquáticos cita como patógenos de declaração obrigatória os protozoários das espécies *Bonamia ostreae* e *B. exitiosa*; *Marteilia refringens*, *Perkinsus marinus* e *P. olsenii*, a bactéria *Xenohaliotis californiensis* e o vírus tipo Herpes (OIE, 2009).

*Perkinsus* sp., responsável pela enfermidade conhecida como Perkinsiose, pode causar mortalidades massivas em muitas espécies de bivalves (VILLALBA *et al.*, 2004). A perkinsiose foi primeiramente denominada doença Dermo, e a espécie detectada foi *P. marinus*, na ostra americana *Crassostrea virginica*. A perkinsiose tem sido reportada como causadora de elevadas mortalidades, provocando grandes perdas econômicas no hemisfério norte (VILLALBA *et al.*, 2004), sendo identificada como a principal causa de mortalidade em ostras *C. virginica*, desde 1940 (KAROLUS *et al.*, 2000).

No Brasil, o primeiro registro de um protozoário do gênero *Perkinsus* foi feito por Sabry *et al.* (2009) quando estudaram a ostra *Crassostrea rhizophorae* do Estuário do Rio Pacoti, Ceará. Posteriormente, *Perkinsus* sp. também foi detectado em *Crassostrea brasiliensis* de Sergipe por Mendonça *et al.* (2010) em prevalências elevadas de até 82%. No entanto, ainda não se conhece qual a espécie de *Perkinsus* que infecta as ostras dessas duas regiões do Brasil.

No Estado do Ceará, estudos sobre o estado de saúde de moluscos bivalves, incluindo o sururu *Mytella falcata*, são escassos. Entre os trabalhos voltados para o diagnóstico de patologias nessa espécie de bivalve está o realizado por Sabry *et al.* (2006).

Desta forma, levando-se em conta a importância socioeconômica dos moluscos bivalves para as comunidades ribeirinhas e o risco que os patógenos podem causar às populações naturais e cultivadas, o presente trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência de patógenos no surru *Mytella falcata* do estuário do Rio Jaguaribe, Ceará, com ênfase no protozoário *Perkinsus*.

## 1.1 Taxonomia, distribuição e biologia da espécie

Segundo Marques (1998), a espécie *Mytella falcata* possui a seguinte classificação sistemática:

Filo: *Mollusca*

Classe: *Bivalvia*

Subclasse: *Pteriomorphia*

Superordem: *Mytilida*

Ordem: *Mytiloidea*

Família: *Mytilidae*

Gênero: *Mytella*

Espécie: *Mytella falcata* (Orbigny, 1846)

O bivalve *M. falcata* vive semi-enterrados em fundos de vasa preta rico em matéria orgânica, preso a substratos duros, apresentando charneira denteada e retrator anterior colocado posteriormente em relação ao umbo e pode alcançar até 50 mm de altura de concha (BOFFI, 1979). Segundo estudo de Pereira e Graça Lopes (1995) a salinidade de 15 é considerada ótima para a espécie em estudo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Área de estudo

O Estado do Ceará apresenta uma Zona costeira com 573 km de costa e uma área que correspondente a 14,38% da superfície do mesmo abrigando cerca de 50% da população. Dentre as 11 bacias hidrográficas do Estado, a do Jaguaribe destaca-se pela capacidade de armazenamento de água, aproximadamente 54% do recurso no estado. O estuário do Rio, localizado no litoral Leste, ocupa uma área de 641.216 m<sup>2</sup>, com extensão de 36 km e percorre os municípios de Fortim, Aracati e Itaiçaba (IPECE, 2007; PAULA; MORAIS; PINHEIRO, 2006). Nesse estuário a atividade de extração do sururu ocorre de modo expressivo nos bancos naturais e é realizada pelas *marisqueiras* como são chamadas as mulheres que vivem no entorno das áreas estuarinas e que coletam os moluscos (Figura 2).

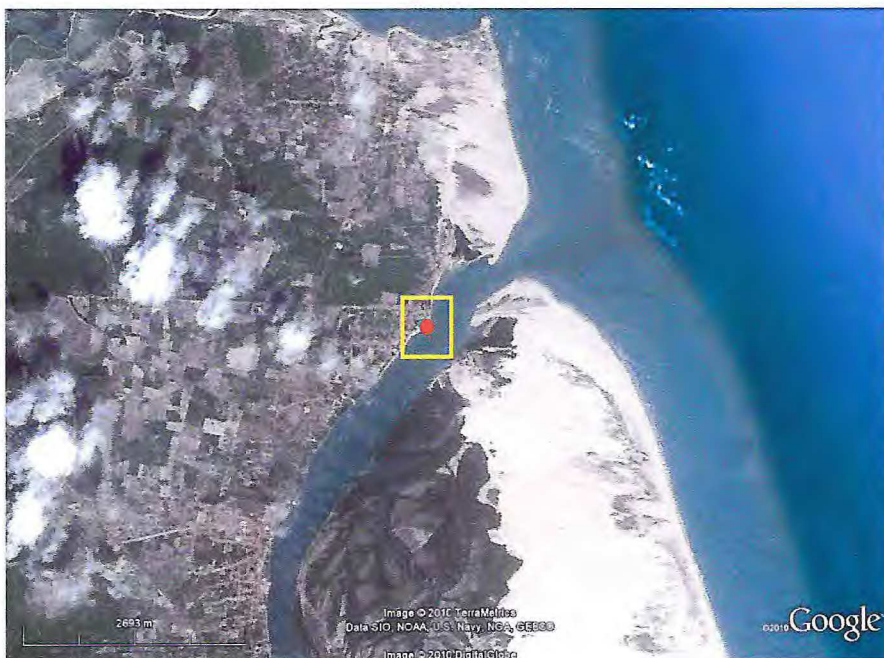


Figura 1 - Localização do Estuário do Rio Jaguaribe – Fortim - CE, em destaque o local de coleta (imagem modificada do site Google Earth, acesso em Novembro de 2010).

## 2.2 Coletas das amostras

Exemplares de sururus ( $N_{\text{total}} = 600$ ) da espécie *Mytella falcata* foram coletados no estuário do Rio Jaguaribe, na localidade do Canto da Barra em Fortim-CE, entre março e julho de 2010. A coleta foi feita diretamente do fundo lamoso durante a baixamar de sizígia e a cada mês foram amostrados 150 animais. No dia da coleta, foi medida a temperatura e salinidade da água do local com auxílio de termômetro e refratômetro, respectivamente. Os valores de temperatura e salinidade não foram relacionados com a ocorrência ou não de patógenos. Após as coletas os animais foram acondicionados em caixas plásticas e transportados até o Laboratório do Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos - CEDECAM no Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR/UFC.

No laboratório, os mexilhões eram mantidos em tanques com água do mar e aeração artificial com sistema de esterilização por ultravioleta por um período três dias até o início dos procedimentos laboratoriais.

## 2.3 Biometria

No laboratório, foi realizada a biometria dos sururus com um paquímetro, seguindo as recomendações propostas por Galtsoff (1964) que considera o maior eixo como altura, pesados e examinados externamente quanto à presença de incrustantes nas valvas. Posteriormente, os animais foram abertos para observações macroscópicas da massa visceral quanto à ocorrência de alterações nos tecidos.

Para os estudos histopatológicos, foram utilizadas as técnicas: cultivo dos tecidos em meio líquido de tioglicolato (*Ray's fluid thioglycollate medium* – RFTM), específica para detecção de protozoários do gênero *Perkinsus* (OIE, 2009) e a histologia as quais serão descritas a seguir.

A biometria não teve como objetivo a comparação com a prevalência de patógenos, apenas para verificar o tamanho dos animais que estavam sendo submetidos às análises histológicas

## 2.4 Detecção de *Perkinsus* sp. por ensaios de RFTM.

De cada animal coletado ( $N_{\text{total}} = 600$ ), o reto e duas demibrânquias foram retirados e incubados em meio líquido de tioglicolato por sete dias a temperatura ambiente, no escuro, acrescido de 100 U/ml de penicilina/estreptomicina e 100 U/ml de Nistatina. Após a incubação, os fragmentos de tecidos foram macerados sobre uma lâmina de vidro e, em seguida, adicionados Lugol a 3 %. A preparação foi coberta com uma lamínula e deixada em repouso por 10 minutos, sendo posteriormente examinada (OIE, 2009). O diagnóstico para *Perkinsus* foi realizado por microscopia óptica.

A intensidade de infecção por *Perkinsus* em *Mytella falcata* foi avaliada de acordo com a escala modificada de Mackin (Ray, 1954) onde:

0 = sem infecção: hipnospóros não foram observados após minuciosa observação de toda a lâmina em aumento (10x);

1 = infecção muito leve: até 10 hipnospóros observados em toda a lâmina em aumento (10x);

2 = infecção leve: de 11 a 100 hipnospóros observados em toda a lâmina em aumento (10x);

3 = infecção moderada: pelo menos 40 hipnospóros observados em cada um dos 10 campos do microscópio (40x) espalhados por toda a preparação;

4 = infecção avançada: mais de 40 hipnospóros observados em cada um dos 10 campos do microscópio (40x) espalhados pelo tecido.

## 2.5 Histologia

De cada 150 animais coletados, apenas 30 foram processados para histologia. Para esta técnica foi retirada uma seção transversal da massa visceral amostrando-se brânquias, glândula digestiva e gônadas seguindo as recomendações de Howard *et al.* (2004). Os tecidos foram fixados em solução de Davidson marinho (OIE, 2009) por um período de 24h em temperatura ambiente e mantidos em álcool 70%. Posteriormente, os tecidos foram desidratados em uma série alcoólica, diafanizados em xilol e incluídos em parafina histológica. Cortes de 5  $\mu\text{m}$  de espessura foram feitos em micrótomo manual e corados com

### 3 RESULTADOS

A temperatura e a salinidade da água do Estuário do Rio Pacoti nas datas das coletas variaram de 28,5 a 31,7°C, e de 15 (em março) a 35 (em julho), respectivamente. Sendo que a salinidade variou em ordem crescente ao longo do período estudado.

#### 3.1 Biometria

Os valores médios de altura da concha e peso dos animais amostrados variaram de 4,1 cm a 5,8 cm, e de 4,0 g e 11,2 g, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 – Altura (cm) e pesos médios (g) dos sururus *Mytella falcata* coletados no estuário do Rio Jaguaribe entre março e julho de 2010.

Medidas	Meses				Média
	Março	Abril	Maior	Julho	
Altura (cm)	4,7 ± 0,3	4,4 ± 0,2	4,6 ± 0,2	5,0 ± 0,2	4,7 ± 0,3
Peso (g)	5,9 ± 1,0	4,7 ± 0,5	5,8 ± 0,9	7,7 ± 1,1	6,0 ± 1,4

#### 3.2 Análises macroscópicas

As análises macroscópicas realizadas nas valvas dos sururus não evidenciaram organismos incrustantes e também não foi verificada a ocorrência de alterações nos tecidos dos animais como por exemplo furos na massa visceral, ruptura nas brânquias e abscessos e/ou pústulas.

### 3.3 Diagnóstico de *Perkinsus* sp. por ensaios de RFTM

Os ensaios de cultivo em meio líquido de tioglicolato evidenciaram a presença de hipnospóros de *Perkinsus*. As células do protozoário eram esféricas, tinham tamanhos variando de 29 a 55  $\mu\text{m}$  de diâmetro e na maioria das vezes se coraram fortemente de preto-azulado pelo Lugol (Figura 2). A intensidade de infecção na maior parte dos animais foi muito leve, variando de 1 até 10 células do patógeno em cada lâmina analisada. A maior prevalência de *Perkinsus* foi de 36% no mês de julho (Tabela 2).

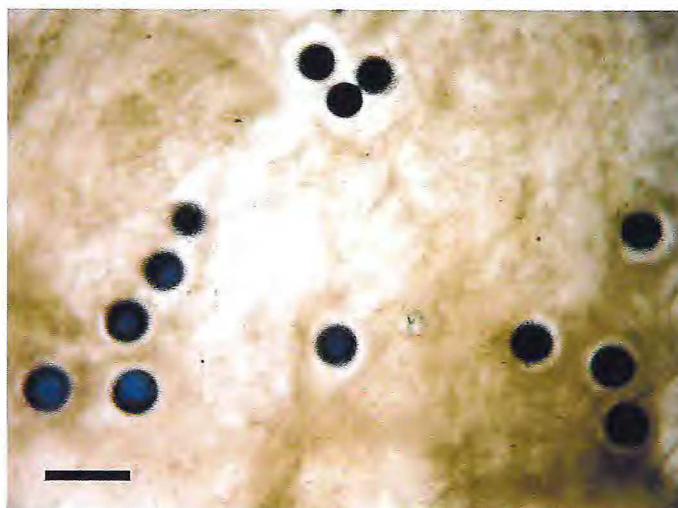


Figura 2 - Hipnospóros de *Perkinsus* sp. (seta) no interior dos tecidos branquiais de *Mytella falcata* após incubação em meio líquido de tioglicolato de Ray (RFTM) e corados com Lugol. Barra = 100  $\mu\text{m}$ .

Tabela 2 – Prevalência (%) de *Perkinsus* sp. por ensaios de RFTM em *Mytella falcata* coletado no Estuário do Rio Jaguaribe entre março e julho de 2010.

Meses/2010	Prevalência (%) de <i>Perkinsus</i>
Março	22,7% (34/150)
Abril	28 % (42/150)
Maio	16,7% (25/150)
Julho	36,0% (54/150)

### 3.4 Análises Histológicas

As análises histológicas evidenciaram a presença de bactérias do tipo rickettsia, protozoários do gênero *Perkinsus* e metazoários do gênero *Tylocephalum* (Tabela 3).

Bactérias do tipo rickettsia foram observadas no epitélio dos túbulos digestivos e na brânquia de alguns animais. As colônias bacterianas apresentaram caráter basófilo, formatos ovais e esféricos, com tamanhos variando de 12,5 a 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Figura 3). A maior prevalência foi de 3,3% observada em abril e em julho (Tabela 3). A intensidade da infecção foi baixa sendo encontradas de 1 a 4 colônias/cortes histológicos. Não foram observados danos e a reação de defesa do hospedeiro foi evidenciada por reação hemocitária.

Tabela 3- Prevalência (%) dos patógenos detectados em *Mytella falcata* no estuário do Rio Jaguaribe entre março e julho de 2010 através dos cortes histológicos.

Patógenos	Prevalência (%) mensal			
	Março	Abril	Maió	Julho
Rickettsia	-	3,3	3,3	-
<i>Perkinsus</i> sp.	6,7	23	10	40
<i>Tylocephalum</i>	96,7	53,3	43,3	60

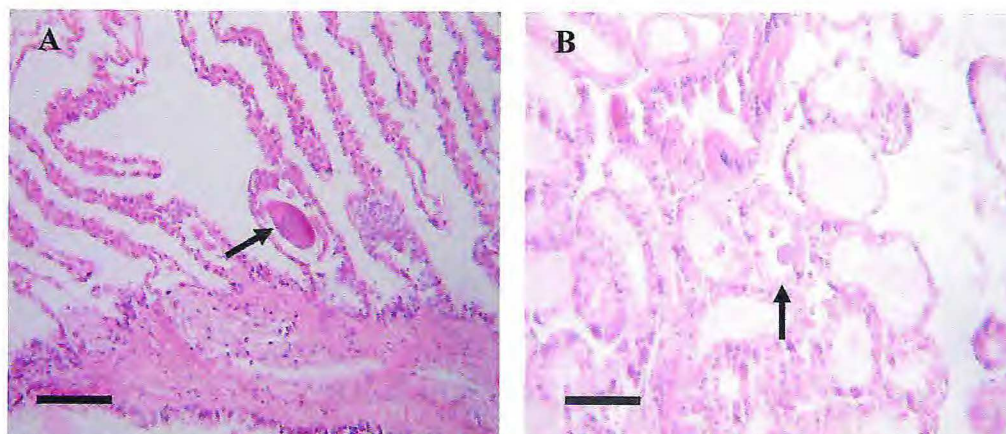


Figura 3 – Cortes histológicos de *Mytella falcata* do Estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. Colônia de bactéria de tipo rickettsia no tecido branquial (A) e na glândula digestiva (B). Seta indicando colônia de bactéria. Barra = 50  $\mu\text{m}$

Protozoários do gênero *Perkinsus* sp. foram detectados infectando os tecidos conjuntivos da brânquia, manto e em torno da glândula digestiva, confirmando os resultados encontrados pela técnica de cultivo em meio líquido de tioglicolato. Os trofozoítos de *Perkinsus* apresentaram a forma típica anelada medindo em média 3  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com um grande vacúolo excêntrico (Figura 4). A maior prevalência desse patógeno foi de 40% observada no mês de julho (Tabela 3). A intensidade de infecção foi baixa sendo observados até 4 células do patógeno por secção histológica.

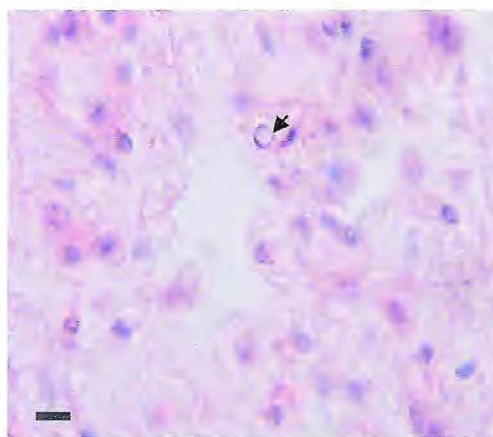


Figura 4 - Cortes histológicos de *Mytella falcata* do Estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. Trofozoíto de *Perkinsus* sp. infectando o tecido conjuntivo da brânquia (seta). Barra = 10  $\mu\text{m}$ .

Metazoários do gênero *Tylocephalum* foram observados no tecido conjuntivo do manto, brânquias, gônadas e em torno da glândula digestiva (Figura 5). As larvas do parasita estavam encapsuladas por uma camada de células fibrosas e infiltração de hemócitos. O tamanho médio dos parasitas variou de 75 a 200  $\mu\text{m}$  em seu maior diâmetro. A intensidade de infestação foi de 1 a 10 parasitas/corte histológico. Além do encapsulamento não foi observado danos nos tecidos dos hospedeiros.

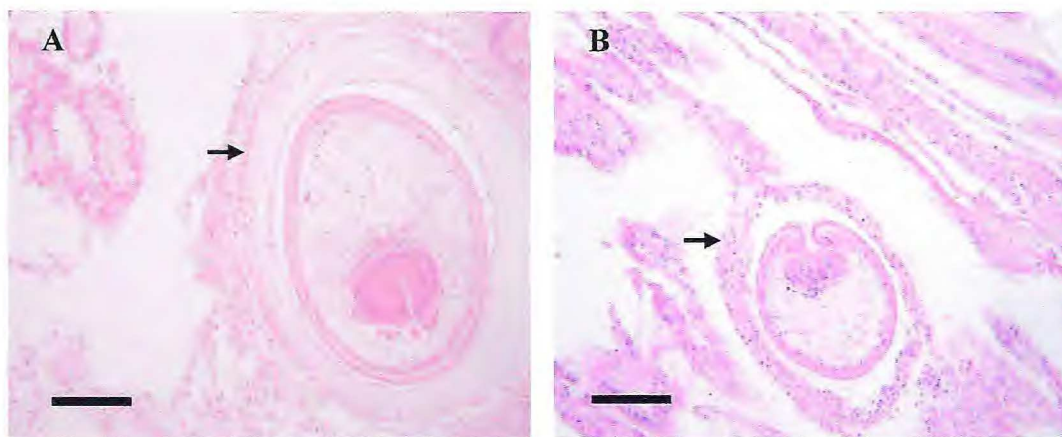


Figura 5 - Cortes histológicos de *Mytella falcata* do Estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. Larva de cestódeo do gênero *Tylocephalum* em torno da glândula digestiva (A) e no tecido branquial (B). As setas mostram infiltração de hemócitos. Barra = 50  $\mu\text{m}$ .

## 4 DISCUSSÃO

A temperatura da água do local medida no dia da coleta não apresentou variações relevantes. No entanto, a variação na faixa de salinidade pode ser atribuída às variações diárias ocasionadas pelo ciclo de maré juntamente com as chuvas que ocorrem em meados do primeiro semestre na região (FUNCEME, 2010). Os patógenos encontrados no presente estudo não podem ser relacionados a essa variação nos valores de salinidade uma vez que as coletas foram coletas pontuais e em apenas quatro meses do ano. Porém fatores ambientais como salinidade e temperatura podem estar correlacionados ao surgimento de enfermidades nos organismos aquáticos (BAUTISTA, 1989).

No presente trabalho, os ensaios de cultivo em meio líquido de tioglicolato evidenciaram hipnospóros de *Perkinsus* sp. infectando tecido da brânquia e reto de *Mytella falcata* em moderada prevalência de até 36%. As prevalências de *Perkinsus* registradas através do RFTM foram maiores em relação às encontradas por Sabry et al. (2009) para a ostra de mangue *Crassostrea rhizophorae* do estuário do Rio Pacoti – CE, (6,7%) e menores que as registradas por Mendonça et al. (2010) para *Crassostrea brasiliiana* (até 82%). No entanto, as intensidades de infecções por *Perkinsus* sp. observadas no presente estudo foram semelhantes as encontradas por Sabry et al. (2009).

As análises histológicas confirmaram a presença de células de *Perkinsus* nos animais positivos em RFTM. As células desse patógeno não causaram alteração nos tecidos infectados. Em ostras *C. rhizophorae* infectadas por *Perkinsus* não foram observadas alterações na estrutura normal do tecido epitelial e conjuntivo (SABRY et al. 2009). Em *Tagelus plebeius* da Baía de Delaware, infectado por *Perkinsus chesapeaki* também não foram observadas lesões nos tecidos (BUSHEK et al. 2008). Ao contrário, elevadas infecções por *Perkinsus marinus* em ostras *Crassostrea corteziensis* do México, causaram destruição dos tecidos das brânquias e também da gônada (CÁCERES-MARTÍNEZ et al., 2008). Recentemente no bivalve *Ruditapes decussatus* da Espanha infectado por *Perkinsus olseni* foi observado infiltração de hemócitos nos tecidos infectados (ELANDALOUSSI et al., 2009). As prevalências de infecção por *Perkinsus* sp. em *Mytella falcata* do presente estudo atingiram 40%, sendo superior às observadas em *C. rhizophorae* do estuário do Rio Pacoti –

CE (até 10%) (Sabry *et al.*, 2009) e no bivalve *Pitar rostrata* do Uruguai (22%) infectado por *Perkinsus olseni* (CREMONTE, BALSEIRO E FIGUERAS, 2005).

Bactérias do tipo rickettsia podem ocorrer em diversos moluscos bivalves, possuindo uma distribuição global, apresentando uma baixa intensidade e geralmente a sua presença não está associada a doenças (BOWER; MCGLADDERY; PRICE, 1994). No entanto, em elevadas intensidades de infecção podem causar mortalidades em moluscos (GULKA; CHANG, 1984; VILLALBA *et al.*, 1999). No presente trabalho, as bactérias do tipo rickettsia estavam em baixa prevalência e intensidade de infecção e não causaram danos aos tecidos dos animais infectados. Bactérias também foram observadas em baixa prevalência e intensidade de infecção sem causar danos aparentes em outras espécies de bivalves como em *Crassostrea gigas* cultivadas em Santa Catarina (PONTINHA, 2009) e em *Mytella guyanensis* na Bahia (BOHES *et al.*, 2010; CEUTA, 2010). Porém, a presença de colônias maiores ocasionou a ruptura dos tubos digestivos de *Pitar rostrata* (CREMONTE; BALSEIRO; FIGUERAS, 2005) e reações inflamatórias, danos aos órgãos infectados e mortalidade no bivalve *Venerupis rhomboides* da Espanha, como foi relatado por Villalba *et al.* (1999).

Metazoários do gênero *Tylocephalum* parasitam diversos bivalves marinhos (LAUCKNER, 1983) ocorrendo na glândula digestiva e gônadas e a resposta de defesa contra esse parasita pode variar de acordo com a espécie hospedeira. A presença de *Tylocephalum* sp. em *Mytella falcata* aparentemente não causou danos a nenhum dos órgãos e tecidos infestados. Neste estudo, o parasita foi observado em mais tecidos (tecido conjuntivo do manto, brânquia, glândula digestiva e gônadas) quando comparado a outros bivalves. Em *Anomalocardia brasiliensis* de Santa Catarina o parasita ocorreu apenas na glândula digestiva (BOEHS, *et al.*, 2004); em *Anomalocardia brasiliensis* e *Iphigenia brasiliensis* na Bahia, ocorreram próximos à glândula digestiva e na gônada (BOEHS *et al.*, 2010) e em ostras *C. gigas* e *C. rhizophorae* parasitas foram visualizados somente na glândula digestiva (SABRY; MAGALHÃES, 2005). Em *C. rhizophorae* dos estuários do Rio Jaguaribe e Rio Pacoti, CE, esse parasita também só foi observado na glândula digestiva (SABRY 2007; ROMÃO *et al.*, 2010) e em *M. guyanensis* na Bahia, apenas no tecido conjuntivo do manto (CEUTA, 2010). Em nenhum desses casos houve prejuízos aos organismos parasitados. Nos animais desse estudo, em alguns casos foi evidenciada a degradação da parede da cápsula fibrosa que envolvia os metacestóides, caracterizando o início do processo de destruição e absorção dos mesmos. Este processo também foi observado em *C. rhizophorae* cultivada em Santa

## REFERÊNCIAS

- BAUTISTA, C. **Moluscos: tecnología de cultivo**. Madrid: Ediciones MUNDI-PRENSA. p. 167, 1989.
- BOEHS, G. *et al.* Parasites of three commercially exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira River (Ilhéus, Bahia, Brazil). **J. Invertebr. Pathol.**, Ilhéus, v. 103, p.43-47, 2010.
- BOEHS, G.; MAGALHÃES, A. R. M. Simbiontes associados com *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na Ilha de Santa Catarina e região continental adjacente, Santa Catarina. Brasil. **Rev. Bras. Zool.**, Santa Catarina, v. 21, n. 4, p. 865–869, dez. 2004.
- BOFFI, A. V. **Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico**. São Paulo: Editora HUCITEC. 182p. 1979.
- BOWER, S. M.; MCGLADDERY, S. E.; PRICE, I. M. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. **Annu. Rev. Fish Dis.**, v. 4, p. 1–199, 1994.
- BUSH, A. O. *et al.* Parasitology meets ecology on its terms: Margolis *et al.* revisited. **J. Parasitol.**, v. 83, p. 575–583, 1997.
- BUSHEK, D., LANDAU, B., SCARPA, E. *Perkinsus chesapeaki* in stout razor clams *Tagelus plebeius* from Delaware Bay. **Dis. Aquat. Org.**, v. 78, p. 243–247, 2008.
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J. *et al.* *Perkinsus marinus* in pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* from Nayarit, Pacific Coast of México. **J. Invertebr. Pathol.**, v. 99, p. 66–73, 2008.
- CEARÁ. Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. **Avaliação da Previsão e Estação Chuvosa de 2008**. Fortaleza, 2008. Disponível em:  
<<http://portal.funceme.br/plone/tempoClima/boletins/boletimQuadraChuvosa/previsaoFMA2010.pdf>.>  
> Acesso em 4 de novembro de 2010.
- CEARÁ. Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. Ceará em Mapas: Informações georreferenciadas e espacializadas para os 184 municípios cearenses. Disponível

em: <<http://www2.ipece.ce.gov.br/atlas/capitulo1/11.htm>> Acesso em 28 de outubro de 2010.

CEUTA, L. O. **Parasitos e histopatologia do marisco-do-mangue, *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mytilidae), da Baía de Camamu (Bahia)**. 2010 51 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Aquáticos Tropicais - Ecologia) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2010.

CREMONTE, F.; FIGUERAS, A.; BURRESON, E. A histopathological survey of some commercially exploited bivalve molluscs in northern Patagonia, Argentina. **Aquaculture**, v. 249, p.23–33, 2005.

da SILVA, P. M. Diagnostico de doenças de moluscos marinho: uma prática para o bom desenvolvimento da maricultura. **Panor. Aquic.**, Rio de Janeiro, n. 117, p. 22-27, mai/jun. 2008.

ELANDALOUSSI L. M. *et al.* First record of *Perkinsus olseni*, a protozoan parasite infecting the commercial clam *Ruditapes decussates* in Spanish Mediterranean waters. **J. Invertebr. Pathol.**, v. 100, p.50–53, 2009.

GALTSOFF, P. S. The American oyster *Crassostrea virginica*. **Fish. Bull.**, v. 64, p. 1-480, 1694.

GULKA, G.; CHANG, P. W. Pathogenicity and infectivity of a rickettsia-like organism in the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. **J. Fish. Dis.** v. 8, p. 309-318, 1984.

HENRIQUES, M.B., Resistência do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) proveniente de bancos naturais da baixada santista, a variações de temperatura, salinidade, tempo de exposição ao ar e determinação da incidência de parasitismo. 2004. 113 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2004.

HOWARD, D. W. *et al.* Histological techniques for marine bivalve mollusks and crustaceans. **NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS**, Oxford., v. 5, p. 1-218, 2004.

KAROLUS, J. *et al.* Prevalence of *Perkinsus marinus* (Dermo) in *Crassostrea virginica* along the Connecticut shoreline. **Aquaculture**, v.183, p. 215-221, 2000.

LAUCKNER, G. Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: Kinne, O. (Ed.), Diseases of Marine Animals. **Biologische Anstalt Helgoland**, Hamburg, p. 477–879, 1983.

MARQUES, H.L.A. **Criação Comercial de Mexilhões**. São Paulo: Ed. Nobel, (1998), 111p.

MENDOÇA, R. *et al.* Primeiro registro de *Perkinsus sp.* infectando ostras *Crassostrea brasiliiana* no Estuário do Rio São Francisco, Brasil. . In: **ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 11., Campinas, 2010. Resumos...** Campinas: SP, 2006.

OIE, General Information. **Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals de 2009**. Disponível em: [http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/a\\_summry.htm](http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/a_summry.htm) Acesso em 7 novembro de 2010.

PAULA, D. P; MORAIS, J. O; PINHEIRO, L. S. Análise geoambiental do estuário do Rio Jaguaribe-ce: tensores naturais e antrópicos. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE GEOMORFOLOGIA,6., 2006, Goiânia.**Anais...** Goiânia, 2006.

PEREIRA, O M.; GRAÇA LOPES, R. Fixação de sementes de *Mytella falcata* (Sururu) em coletores artificiais no canal de Bertiooga, estuário de Santos, Estado de São Paulo, Brasil. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 165-173, jan./jun. 1995.

PONTINHA, V. de A. **Diagnóstico da saúde da ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) cultivada em Florianópolis/SC**. 2009. 53 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

RAY, S. M. **Biological studies of *Dermocystidium marinum*, a fungus parasite of oysters**. Rice Institute pamphlet (Monogr Biol Spec Ser Iss), Rice Institute, Washington, DC. 1954.

ROMÃO, L. S. *et al.* Investigação de parasitas na ostra-de- mangue *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia, Ostreidae) do Estuário do Rio Pacoti, Ceará, CONGRESSO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA, 3., Rio Grande , 17 a 21 de maio de 2010. p. 85-87.

SABRY, R. C.; GESTEIRA, T. C. V.; BOEHS, G. First record of parasitism in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) at Jaguaribe River estuary – Ceará, Brazil. **Braz. J. Biol.** v. 67, n. 4, p. 755–758, nov. 2007.

SABRY, R. C.; MAGALHÃES, A. R. M. Parasitas em ostras de cultivo (*Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootecol.** v. 57, supl. 2, p. 194–203, 2005.

SABRY, R. C.; ROSA, R. D.; MAGALHÃES, A. R. M.; BARRACCO, M. A.; GESTEIRA, T. C. V. First report of *Perkinsus* sp. infecting mangrove oysters *Crassostrea rhizophorae* from the Brazilian coast. **Dis. Aquat. Org.**, v. 88, p. 13-23. 2009

SABRY, R.C., GESTEIRA, T.C.V., ASSIS, C.P., SILVEIRA, F.F. Ocorrência de parasitismo no sururu *Mytella falcata* (Orbigny, 1846), do Estuário do Rio Jaguaribe – CE. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 9., Maceió, 2006. **Resumos...** Maceió: AL, 2006, p. 88.

VILLALBA, A. *et al.* Branchial rickettsia-like infection associated with clam *Venerupis rhomboides* mortality. **Dis. Aquat. Org.**, v. 36, p. 53–60, 1999.

VILLALBA, A. *Perkinsus mediterraneus* n. sp. a protistan parasite of the European flat oyster *Ostrea edulis* (L.) from the Coast of Balearic Islands, Mediterranean Sea. **Dis. Aquat. Org.**, v. 58, n. 2-3, p. 231-244, 2004.