

**TESTES DE LETALIDADE DE PEIXES DA ESPÉCIE *Rhamdia quelen* SUBMETIDOS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EXTRATO DE ACÍCULAS DE *Pinus elliottii***

**JULIANA HÖSEL DE CARVALHO<sup>1\*</sup>, ROBIMAR PEREIRA DA SILVA<sup>1</sup>,  
ALEXANDRE MANOEL DOS SANTOS<sup>1</sup>, LUISA CAZAROLLI<sup>1</sup>, SILVIA ROMÃO<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul

\*Autor para correspondência: Juliana Hösel de Carvalho (julianahcarvalho@hotmail.com)

## **1 Introdução**

O sucesso de uma piscicultura depende fortemente da condição sanitária. O microcrustáceo *Lernaea cyprinacea*, ectoparasita de peixes, causa prejuízos a produção, sendo a espécie *Rhamdia quelen* susceptível à infestação. Este parasito, quando fixa-se nas nadadeiras, olhos, boca e tegumento do hospedeiro além da ação direta proporcionando lesões, letargia e natação errática, também age indiretamente, funcionando como vetor de doenças secundárias causadas por bactérias e vírus (PAVANELLI et al., 2008). Embora identificados recomendações para tratamentos com produtos químicos utilizados na agricultura e pecuária, são poucos os produtos licenciados, efetivos no combate à lernaea para uso em piscicultura. Desta forma, alguns autores vêm recomendando o extrato de acículas de *Pinus elliottii* como procedimento terapêutico no combate deste parasita (CASACA, 2000). Porém ainda não existem estudos que indiquem os possíveis efeitos tóxicos e margens de segurança para o uso deste extrato em diferentes espécies de peixes.

## **2 Objetivo**

O objetivo deste trabalho foi estimar a concentração letal média (CL-50) de extratos de *P. Elliottii*, em *R. quelen* e identificar alterações histológicas em brânquias, fígados e rins de peixes sobreviventes dos ensaios.

## **3 Metodologia**

Juvenis da espécie *R. quelen* de aproximadamente 3 gramas foram alocados em 5 aquários de 30 litros, 12 animais por aquário, em temperatura de 24°C, pelo período de uma semana, com alimentação comercial e troca de 30% da água diária. Os extratos de *P. elliottii*, em concentração 0,8; 1,1; 1,2; 2,2 g/l foram preparados com imersão de macerados em água pelo período de 24 horas. Os extratos foram introduzidas nos aquários e estes foram acompanhados por 24 horas, em intervalos de 6 horas, verificando a presença de peixes mortos. Ao término deste período, os animais foram eutanasiados em eugenol 100 mg/l para coleta de brânquias, fígado e rim, para realização das análises histológicas. O total de mortos nas diferentes concentrações testadas foram utilizados para estimativa da CL-50 por análise de Probit. Para proceder as análises histológicas, os órgãos coletados passaram por uma sequência de procedimentos de desidratação, com diferentes séries alcoólicas, diafanização em xilol e inclusão em parafina, para posteriormente realizar os cortes em micrótomo, coloração das lâminas com hematoxilina e eosina e análise ao microscópio.

#### **4 Resultados e Discussão**

A partir do número de mortes nas diferentes concentrações testadas, a CL-50 estimada foi de 963 mg/l (figura 1). A dose de tratamento recomendada como eficiente para o combate a lernaea é de 20 mg/L que corresponde a 8 Kg/m<sup>3</sup>, portanto a CL-50 foi 48 vezes maior que a concentração de tratamento. Além disso, a sobrevivência de 100% dos animais foi encontrada em tratamento com 800 mg/L do extrato, demonstrando que a concentração de tratamento recomendada para pisciculturas parece segura para a sobrevivência dos animais.

Analisando lâminas de brânquias, fígado e rim, observou-se alterações drásticas nos órgãos dos animais sobreviventes aos ensaio. Em brânquias de animais controle observou-se estrutura histológica característica de peixes, com lamelas respiratórias formadas de espaço sanguíneo sustentado por células pilares e recoberto por uma camada fina de tecido epitelial simples pavimentoso. Em animais tratados observou-se uma desorganização na estrutura branquial (figura 2 A e B). As lamelas branquiais aumentaram de espessura e algumas romperam. Houve hipertrofia das células epiteliais e desorganização das células pilares, aumentando a distância entre a água e a corrente sanguínea, o que certamente dificulta as trocas gasosas, principal função da estrutura. Estas condições causam redução da passagem de

oxigênio para o sangue e tendem a levar o animal a óbito em poucas horas (BALDISSEROTTO, 2013).

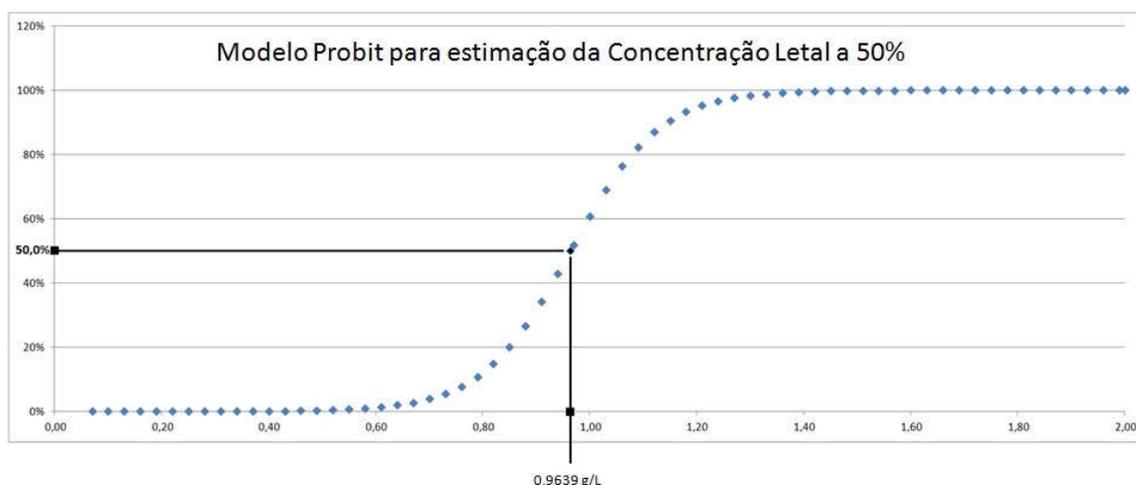
Na estrutura dos rins dos animais controle foram identificados conjuntos de glomérulos e túbulos renais mergulhados em tecido hematopoiético. Nos animais submetidos às diferentes concentrações dos extratos foram observadas regiões tubulares com degeneração celular apresentando citoplasma pálido, vacuolizados e núcleos picnóticos. Foram observadas hemorragias no interior dos túbulos e restos de reações inflamatórias, definidas como hemociderina, assim como glomérulos dilatados (figura 2 C e D).

No fígado dos animais controle foram observados hepatócitos intercalados a sinusóides. Em animais tratados a principal alteração encontrada foi grumos de coloração marrom indicando vesículas de fagocitose de células fagocitárias, evento característico de distúrbios hematológicos (figura 2 E e F).

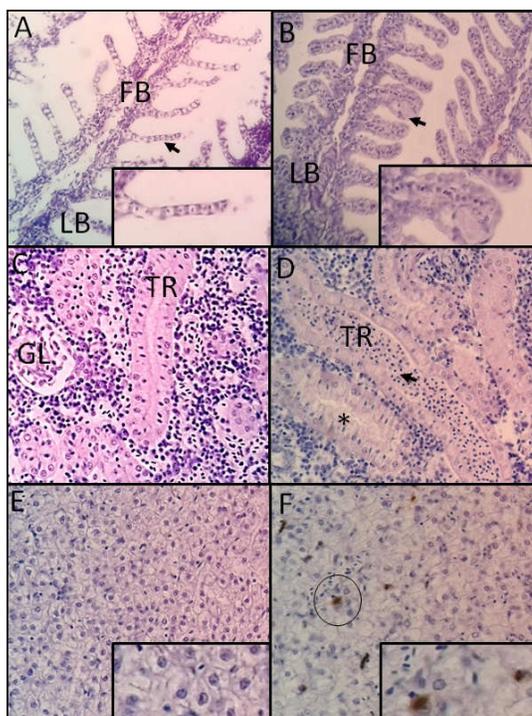
## 5 Conclusão

Na avaliação dos resultados conclui-se que o pinus é tóxico para os peixes da espécie *Rhamdia quelen*, tendo a CL-50 de 0,9639 g/l de extrato aquoso. Os órgãos brânquia, fígado e rins são afetados pelo extrato. Como a dose recomendada no tratamento corresponde a 20 mg/l, e a CL-50 foi 48 vezes maior, considera-se que a faixa de concentração do tratamento é segura, porém são necessárias análises fisiológicas dos animais tratados para confirmar esta informação.

**Figura 1.** Gráfico da estimação da CL-50 de extrato de *P. elliottii* em *R. quelen*.



**Figura 2.** Alterações histológicas de brânquias, fígado e rim de animais tratados com 2,2 g/l de extrato de pinus. Brânquias: (A) controle, (B) tratamento, seta: lamela respiratória, FB: filamento branquial, LB: lamela branquial; Rim: (C) controle, (D) tratamento, TR: túbulo renal, GL: glomérulo, seta: interior do túbulo renal hemorrágico, asterisco: degeneração celular; Fígado: (E) controle, (F) tratamento, círculo: vesículas de fagocitose. Ampliação 400x, destaques 800x.



**Palavras-chave:** Piscicultura; parasita; jundiá; pinheiro.

**Fonte de Financiamento:** UFFS

#### Referências

BALDISSEROTTO, Bernardo. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 3 ed. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2013.

CASACA J. M. e TOMAZELLI JR. O. Tratamento de Lerneoses no Oeste de Santa Catarina. **Resumos do VI Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos e II Encontro Latino-Americano de Patologistas de Organismos Aquáticos**. Florianópolis, 03 a 06 de outubro de 2.000. p. 207.

PAVANELLI, Gilberto C.; TAKEMOTO, Ricardo M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3 ed. Maringá: Eduem, 2008.

#### Dados adicionais

Número do Processo (SGPD): 23205.001093/2016-64 – Estudante voluntário: FO 202/SEP – LS/UFFS/2016