



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**MORFOLOGIA DO TUBO DIGESTÓRIO E DIVERSIDADE DE
ENDOPARASITOS INTESTINAIS EM *Rhytiodus microlepis* (CHARACIFORMES:
ANOSTOMIDAE): SAZONALIDADE NA RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO
EM UM LAGO DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA CENTRAL**

LORENA VIEIRA DE MATOS

Manaus, Amazonas

Maior - 2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**MORFOLOGIA DO TUBO DIGESTÓRIO E DIVERSIDADE DE
ENDOPARASITOS INTESTINAIS EM *Rhytiodus microlepis* (CHARACIFORMES:
ANOSTOMIDAE): SAZONALIDADE NA RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO
EM UM LAGO DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA CENTRAL**

Discente: Lorena Vieira de Matos

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Menin

Coorientadores: Prof. Dra. Grazyelle Sebreński da Silva

Prof. Dr. José Celso de Oliveira Malta

Agência Financiadora: Capes

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia.

* Pesquisa autorizada: CEUA/UFAM, Protocolo Número 018/2019

Manaus, Amazonas

Maio – 2019

LORENA VIEIRA DE MATOS

**MORFOLOGIA DO TUBO DIGESTÓRIO E DIVERSIDADE DE ENDOPARASITOS
INTESTINAIS EM *Rhytiodus microlepis* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE):
SAZONALIDADE NA RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO EM UM LAGO DE
VÁRZEA DA AMAZÔNIA CENTRAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia.

APROVADA EM: 18 / 06 / 2019

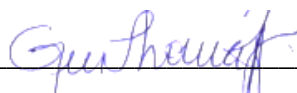
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Grazyelle Sebreński da Silva



Profa. Dra. Marcela dos Santos Magalhães



Profa. Dra. Gabriela Tomás Jerônimo

FICHA CATALOGRÁFICA

M433m Matos, Lorena Vieira de
Morfologia do tubo digestório e diversidade de endoparasitos
intestinais em *Rhytiodus microlepis* (Characiformes: Anostomidae):
sazonalidade na relação parasito-hospedeiro em um lago de várzea
da Amazônia Central / Lorena Vieira de Matos. 2019
86 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Marcelo Menin
Orientador: Grazyelle Sebreński da Silva
Coorientador: José Celso de Oliveira Malta
Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Universidade Federal do
Amazonas.

1. morfohistoquímica. 2. tubo digestório. 3. endohelmintos. 4.
histopatologia semiquantitativa. 5. sazonalidade. I. Menin, Marcelo
II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

*Aos meus pais
Suely e Edson*

*À minha avó
Antônia (in memoriam)*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder discernimento, motivação e foco nos momentos decisivos para a concretização deste estudo.

Aos meus pais Suely e Edson por estarem ao meu lado dando todo apoio desde o início da minha trajetória como estudante.

Ao professor Marcelo Menin pelo aceite em me orientar.

Em especial a professora Maria Inês Braga de Oliveira (minha mãe acadêmica) pela amizade, parceria em todos os momentos, pelas palavras de motivação, por todo suporte no delineamento, estruturação em alguns pontos da escrita e análises estatísticas.

Aos meus coorientadores: professora Grazyelle Sebreński pelo aceite em me orientar, pelas valiosas sugestões, enorme paciência e por sempre acreditar na minha capacidade de trabalho; Ao professor José Celso de Oliveira Malta por ter sido o primeiro a compactuar com as minhas ideias (ainda que remotas) para o esqueleto deste trabalho, por todo o apoio financeiro e prático em toda as etapas de campo, pelas conversas bem humoradas e cafezinhos com a turma do Laboratório de Parasitologia de Peixes do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

Aos meus amigos universitários Maria Tereza Vasconcelos, Bianca Serra, Daniel Silva, Lídia Aguiar, Matheus Gomes, Milla Rayssa e Suzane Moraes por todo apoio moral, suporte em algumas etapas práticas de laboratório, pelas cotinhas dos cafés no porão do ICB e por me emprestarem seus ouvidos para ouvir pacientemente todos os meus desabafos nesta cansativa jornada.

As irmãs que a vida me deu Tayná Moura e Isabela Ferreira, que mesmo a 4.000km+ de distância sempre se mantiveram presentes. Pela amizade, incentivo, por ouvirem pacientemente meus desabafos e pelos puxões de orelha. Amo vocês!

As alunas do Laboratório de Parasitologia de Peixes, Marília Rodrigues, Amine Eakafaz, e em especial a Amanda Karen Silva de Souza, que foi imprescindível nas etapas de coleta em campo, disponibilizando seu tempo e esforço para nos deslocar e realizar as despescas na área de estudo, enfrentando o sol a pino, a chuva e o cansaço.

As mais que amigas: *friends!* Mayara Silveira, Barbara Amorim e Thays Ruas, por estarem comigo desde a graduação até os dias de hoje, pela amizade, apoio e conselhos. Juntas e *shallow now!*

A jornalista Estefânia Mesquita que me deu uns toques na estruturação e concordâncias verbais nos ajustes finais da escrita deste trabalho.

Ao doutor Daniel Porto Brito do Laboratório de Parasitologia de Peixes pelas dicas de técnicas de coloração e montagem das lâminas de endoparasitos intestinais.

A professora Gabriela Tomás Jerônimo pela cordialidade, sugestões e paciência em me ajudar na compreensão da histologia de metacercárias no intestino.

Ao Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular (LEEM) (INPA) pela infraestrutura e suporte fornecido para algumas etapas do processamento histológico.

Ao secretário do Programa de Pós-graduação em Zoologia, o Gil, pela paciência e suporte em todas as etapas burocráticas ao longo de todo o mestrado.

E por fim, a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram indiretamente para que eu chegasse até aqui.

Gratidão!

“Eu gosto de animais e mais ainda dos esquisitos e invulgares, até dos que parecem feios por serem indispostos. Os bichos só são feios se não entendermos seus padrões de beleza. Um pouco como as pessoas. Ser feio é complexo e pode ser apenas um problema de quem observa.”

Valter Hugo Mãe

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a fauna de endoparasitos intestinais em *Rhytiodus microlepis* e as relações desta com fatores bioecológicos. No primeiro capítulo as características anatômicas, histológicas e histoquímicas do tubo digestório da referida espécie foram descritas, com a finalidade de fornecer base para as análises do segundo capítulo. No geral o tubo digestório de *R. microlepis* é semelhante ao de outros peixes teleósteos e consiste em esôfago, estômago e intestino. No entanto, peculiaridades foram observadas, como a camada muscular intestinal, que se organiza em três túnicas musculares: muscular longitudinal interna, muscular circular interna e muscular longitudinal externa, configuração esta nunca relatada para peixes teleósteos anteriormente. A análise histoquímica revelou que o esôfago, a região pilórica do estômago e o intestino reagiram positivamente a todos os métodos histoquímicos empregados, com exceção das regiões cárdica e fúndica do estômago que reagiram positivamente somente ao PAS e PAS+AB 2.5. O segundo capítulo teve como finalidade estudar a fauna de endoparasitos de *R. microlepis* durante as estações de cheia e seca da região do lago Catalão, Iranduba, Amazonas, Brasil, correlacionando os níveis de infecção com a distribuição, a densidade dos endoparasitos, e o grau de patogenicidade destes. Dos indivíduos analisados, 100% estavam parasitados por metacercárias de Digenea e 94,7% pelo acantocéfalo da espécie *Octospiniferoides incognita*. Ambos os táxons de endoparasitos ocorreram na cheia e seca, no entanto, a intensidade e abundância de metacercárias de Digenea foi significativamente maior na estação seca. Com relação a distribuição dos parasitos, ambas as espécies ocorreram ao longo do tubo, sendo que as metacercárias de Digenea tem clara preferência pelas porções mais iniciais e o acantocéfalo *O. incognita* pelas porções intermediárias do intestino. As metacercárias foram registradas em alta frequência na camada mucosa (região da lâmina própria), enquanto que os acantocéfalos foram mais frequentes no lúmen. Os valores do índice de alteração histopatológica para o órgão foram significativamente maiores na seca do que na cheia. Considerando os aspectos avaliados neste estudo, a histologia foi uma ferramenta efetiva para conhecer as características morfológicas do tubo digestório de *R. microlepis* com aplicabilidade para inferir sobre os padrões de distribuição dos endoparasitos intestinais encontrados, as respostas do hospedeiro a estas infestações e ainda como ambos respondem as oscilações que ocorrem no nível das águas do lago Catalão.

Palavras-chave: morfohistoquímica; tubo digestório; endohelminhos; histopatologia semiquantitativa; sazonalidade

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the intestinal endoparasite fauna in *Rhytiodus microlepis* and its relationship with bioecological factors. In the first chapter the anatomical, histological and histochemical characteristics of the *R. microlepis* digestive tract were described in order to provide the basis for the analyzes of the second chapter. In general the digestive tract of the species is similar to that of other teleost fishes and consists of esophagus, stomach and intestine. However, peculiarities were observed, such as the muscular layer of the intestine, which is organized into three muscular tunics: internal longitudinal muscle, internal circular muscle and external longitudinal muscle, a configuration that has never been previously reported for teleost fishes. Histochemical analysis revealed that the esophagus, the pyloric region of the stomach and the intestine reacted positively to all histochemical methods employed, except for the cardiac and fundic regions of the stomach, which reacted positively only to PAS and PAS + AB 2.5. The second chapter aimed to study the *R. microlepis* endoparasite fauna during flood and dry seasons in the region of lake Catalão, Iranduba, Amazonas, Brazil, correlating infection levels with distribution, endoparasite density, and degree of pathogenicity. Of the individuals analyzed, 100% were parasitized by Digenea metacercariae and 94.7% by the acanthocephalan *Octospiniferoides incognita*. Both endoparasites taxa occurred during flood and dry season; however, Digenea metacercaria intensity and abundance was significantly higher during the dry season. Regarding the distribution of parasites, both species occurred along the tube, with the Digenea metacercariae having a clear preference for the earliest portions and the acanthocephalan *O. incognita* for the intermediate portions of the intestine. Metacercariae were recorded at high frequency in the mucosal layer (lamina propria region), while the acanthocephalan were more frequent in the lumen. The histopathological alteration index values for the organ were significantly higher in drought than in flood. Considering the aspects evaluated in this study, histology was an effective tool to know the morphological characteristics of the *R. microlepis* digestive tract with applicability to infer the distribution patterns of intestinal endoparasites found, the host responses to these infestations and also as both respond to swings that occur at the water level of Catalão lake.

Keywords: morphohistochemistry; digestive tube; endohelminths; semiquantitative histopathology; seasonality

LISTA DE TABELAS

Capítulo I: MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO TUBO DIGESTÓRIO DO ARACU-BANANA *Rhytiodus microlepis* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): UM PEIXE HERBÍVORO DE LAGO DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA CENTRAL

Tabela 1. Estatística descritiva dos dados biométricos dos exemplares de <i>Rhytiodus microlepis</i> coletados no lago Catalão, Amazonas, Brasil.....	51
Tabela 2. Estatística descritiva do tubo digestório dos exemplares de <i>Rhytiodus microlepis</i> coletados no lago Catalão, Amazonas, Brasil.....	52
Tabela 3. Intensidade das reações histoquímicas ao longo do tubo digestório dos exemplares de <i>Rhytiodus microlepis</i> coletados no lago Catalão, Amazonas, Brasil.....	53

Capítulo II: ENDOHELMINTOS INTESTINAIS DE *Rhytiodus microlepis* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): DISTRIBUIÇÃO, HISTOPATOLOGIA E RELAÇÕES COM O CICLO HIDROLÓGICO

Tabela 1. Índices parasitários dos endoparasitos encontrados em espécimes de <i>Rhytiodus microlepis</i> coletados no lago Catalão, Amazonas, Brasil. HE: hospedeiros examinados; NTP: número total de parasitos. Prevalência (P), intensidade média (IM), abundância média (AM), amplitude (AMP), máximo (MÁX), mínimo (MÍN), espécie central (EC) de acordo com a classificação de Bush e Holmes (1986).....	80
Tabela 2. Classificação e frequência de ocorrência (%) dos danos registrados no intestino de <i>R. microlepis</i> nas estações de cheia e seca.....	81
Tabela 3. Valores médios do índice de alteração histopatológica (IAH) das camadas intestinais de <i>R. microlepis</i> (n=12). Amplitude (AMP), máximo (MÁX), mínimo (MÍN).....	82

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I: MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO TUBO DIGESTÓRIO DO ARACU-BANANA *Rhytiodus microlepis* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): UM PEIXE HERBÍVORO DE LAGO DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA CENTRAL

- Figura 1. Anatomia do tubo digestório de um exemplar adulto de *Rhytiodus microlepis* coletado no lago Catalão, Amazonas, Brasil. A – visão ventral e B – anatomia externa das alças intestinais com delimitação das diferentes porções que compõem o tubo digestório. Barra de escala: 2cm.....54
- Figura 2. Macroscopia das diferentes porções do tubo digestório de *Rhytiodus microlepis*. A – Esôfago com pregas longitudinais anastomosadas ; B – Transição do esôfago para a região cárdica do estômago delimitada por um esfíncter (setas); C – Pregas longitudinais espessadas da mucosa cárdica do estômago; D – Transição da região cárdica (C) para a região fúndica (F) do estômago; E – Esfíncter pilórico (setas) marcando a transição da região fúndica (F) para a região pilórica (P) do estômago; F – Pregas da região pilórica; G – Mucosa intestinal com pregas transversais; H – Reto.....55
- Figura 3. Histologia do tubo digestório de *Rhytiodus microlepis*. A – Esôfago com pregas revestidas por epitélio pseudoestratificado mucoso e epitélio estratificado pavimentoso com botões gustativos na região de contato com o bolo alimentar (asterisco) (em maior detalhe na figura 3B), Submucosa constituída por tecido adiposo (S) e camada muscular (M) composta por tecido muscular esquelético); C – Transição do esôfago para a região cárdica do estômago com mudança abrupta de um epitélio pseudoestratificado para um epitélio cilíndrico simples (seta) E formação das glândulas gástricas (GG), submucosa (S); D – Região cárdica do estômago com glândulas gástricas (GG); E – Região fúndica com glândulas gástricas reduzidas (G), muscular (M); F – Região pilórica do estômago com pregas na mucosa revestidas por epitélio cilíndrico mucoso; G – Mucosa intestinal (MUC), Submucosa (S) e Muscular constituída por três subcamadas (M); H – Região do reto com vilosidades ausentes e mucosa revestida por epitélio pavimentoso estratificado com enterócitos e células mucosas abundantes; Submucosa (S) e camada muscular (M); (P) cavidade peritoneal, (L) lúmen.....56
- Figura 4. Estrutura histológica da mucosa intestinal de *Rhytiodus microlepis*. Células caliciformes (asteriscos), tipo celular II (cabeças de seta), lâmina própria (LP).....57
- Figura 5. Reações histoquímicas do tubo digestório de *Rhytiodus microlepis*. A, B, C e D – Esôfago; E, F, G e H – Região cárdica; I, J, K e L – fúndica; M, N, O e P – Região pilórica do estômago.....58
- Figura 6. Reações histoquímicas do intestino de *Rhytiodus microlepis*. A, B, C e D – Segmentos

iniciais e intermediários; E, F, G e H – Reto.....59

Capítulo II: ENDOHELMINTOS INTESTINAIS DE *Rhytidus microlepis* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): DISTRIBUIÇÃO, HISTOPATOLOGIA E RELAÇÕES COM O CICLO HIDROLÓGICO

- Figura 1. Endoparasitos encontrados no intestino de *Rhytidus microlepis* do lago Catalão, Amazonas, Brasil. A – Acantocéfalo da espécie *Octospiniferoides incognita*; B – Espécime não identificado de Digenea com órgãos sexuais visíveis. Ventosa oral (VO), testículo (T), útero (U).....83
- Figura 2. Frequência de ocorrência dos endoparasitos intestinais encontrados no intestino de *Rhytidus microlepis* coletados no lago Catalão, Amazonas, Brasil.....84
- Figura 3. Valores medianos da intensidade parasitária entre as diferentes porções intestinais para Acanthocephala (Kruskal-Wallis (38) = 56,84; $p < 0,0001$) e Digenea (Kruskal-Wallis (12) = 49,34; $p < 0,0001$). Letras diferentes indicam diferenças significativas das densidades entre as porções ($p < 0,05$).....85
- Figura 4. Frequência de ocorrência dos dois táxons de endoparasitos nos sítios de infecção do intestino de *Rhytidus microlepis*. Mucosa (m), submucosa (sm), muscular (mu), serosa (s), cavidade peritoneal (cp), lúmen (lu).....86
- Figura 5. Histopatologia do intestino de *Rhytidus microlepis* ocasionadas por metacercárias de Digenea e *Octospiniferoides incognita* (Acanthocephala). A – Sítios de infecção ocupados por metacercárias (asteriscos) nas quatro camadas intestinais; B – *O. incognita* (P) e metacercária de Digenea (M) co-ocorrendo na mesma região. C – Metacercárias ocupando a lâmina própria ocasionando hipertrofia do vilos, abrasão (setas) e focos de necrose (cabeças de seta) adjacentes aos cistos; D – Hiperplasia e hipertrofia de células caliciformes (cabeças de seta), muco no lúmen (estrela), fibrose (asterisco); E – Detalhe de um granuloma fibroso ao redor de uma metacercária (estrela); F – Metassoma de fêmea de *O. incognita* causando compressão dos vilos (asteriscos); G – Descamação do vilos (seta) e H – Infiltração leucocitária com numerosos linfócitos, mastócitos e células eosinofílicas gigantes (asteriscos).....87
- Figura 6. Valores médios do índice de Alteração Histopatológica (IAH) obtidos da análise semiquantitativa das alterações no intestino de *Rhytidus microlepis* coletados nas estações de cheia e seca do lago Catalão, Amazonas, Brasil. (Test-t (12) = 3,194; $p = 0,0096$).....88

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	16
1.1 Interação parasito-hospedeiro.....	16
Endoparasitos intestinais em peixes de água doce: principais filos e patogenias associadas.....	17
1.1.1 Filo Platyhelminthes.....	18
1.1.1.1 Subclasse Digenea.....	18
1.1.1.2 Subclasse Eucestoda.....	19
1.1.2 Filo Nematoda.....	19
1.1.3 Filo Acanthocephala.....	20
1.2 Aracu-banana <i>Rhytiodus microlepis</i> Knerr, 1858.....	20
2. OBJETIVOS.....	22
2.1 Objetivo geral.....	22
2.2 Objetivos específicos.....	22
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
Capítulo I: MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO TUBO DIGESTÓRIO DO ARACU-BANANA <i>Rhytiodus microlepis</i> (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): UM PEIXE HERBÍVORO DE LAGO DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA CENTRAL.....	30
Resumo.....	32
Abstract.....	33
1. Introdução.....	34
2. Material e métodos.....	34
3. Resultados.....	35
3.1 Anatomia e macroscopia.....	35
3.2 Histologia.....	36
3.3 Histoquímica.....	37
4. Discussão.....	38
4.1 Anatomia e macroscopia.....	38
4.2 Histologia.....	39

4.3 Histoquímica.....	41
5. Referências bibliográficas	43
Capítulo II: ENDOHELMINTOS INTESTINAIS DE <i>Rhytidus microlepis</i> (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): DISTRIBUIÇÃO, HISTOPATOLOGIA E RELAÇÕES COM O CICLO HIDROLÓGICO.....	60
Resumo.....	62
Abstract.....	63
1. Introdução.....	64
2. Material e métodos.....	65
3. Resultados.....	66
3.1 Índices parasitários, distribuição espacial e densidade de parasitos nas alças intestinais.....	66
3.2 Sítios de infecção, histopatologia qualitativa e IAH.....	67
4. Discussão.....	68
4.1 Índices parasitários e relações com o período hidrológico.....	68
4.2 Distribuição espacial dos parasitos no intestino e densidade.....	70
4.3 Sítios de infecção.....	70
4.4 Histopatologia e IAH.....	71
5. Referências bibliográficas.....	73
CONCLUSÕES GERAIS.....	89

1. INTRODUÇÃO GERAL

Na região Amazônica, que abriga a maior bacia hidrográfica do mundo, com aproximadamente 7 milhões de Km² (Irion et al. 1997), os característicos rios de águas brancas (Sioli, 1950), com pH próximo ao neutro e de cor turva a barrenta por conta da elevada carga de sedimentos, destacam-se pela presença das planícies de inundação também conhecidas como várzeas. Estas são áreas periodicamente alagadas pelo transbordamento lateral dos rios e lagos, causadas pela precipitação direta, afloramento do lençol freático, e degelo dos Andes (Junk et al. 1989; Affonso, 2012). O aporte anual de sedimentos dos rios Solimões/Amazonas, a forte correnteza e a variação sazonal no nível das águas reguladas pelo pulso de inundação, são os principais fenômenos responsáveis pelo desenvolvimento da várzea (Irion et al. 1997; Junk et al. 1997). Esses fenômenos permitem a renovação periódica da água, nutrientes do solo e organismos entre o rio e a planície de inundação, desencadeando um efeito preponderante sobre a produtividade do sistema como um todo (Marlier, 1967; Junk, 1970; Goulding et al. 1996; Melack e Forsberg, 2001).

A ictiofauna do ecossistema amazônico é bem adaptada a essas variações temporais no nível dos rios, e sincroniza seus eventos biológicos em torno da sazonalidade, seja para aproveitar as condições favoráveis ou suportar as desfavoráveis (Ramalho et al. 2009; Moreira, 2017). Quando as águas estão altas, grande parte da região é inundada, e quase todos os lagos ficam conectados entre si com o rio, fazendo com que os peixes fiquem dispersos nos tributários onde o alimento é abundante. Durante a seca, quando o nível da água baixa, muitos peixes passam a viver em um espaço mais restrito, aumentando a densidade populacional. A disponibilidade de alimento para a maioria dos peixes diminui drasticamente, com exceção de espécies predadoras onde a chance de encontro com uma presa aumenta (Fink e Fink, 1978; Araújo-Lima e Goulding, 1997; Goulding et al. 2003). Esse dinamismo no ecossistema amazônico permitiu com que as várzeas fossem consideradas habitats que possuem a maior e mais diversificada fauna de peixes de água doce do mundo (Reis et al. 2003) e correspondente à enorme diversidade ictiofaunística na Amazônia espera-se também uma grande diversidade de parasitos (Malta, 1981).

1.1 Interação parasito-hospedeiro-ambiente

Todos os parasitos - organismos estrutural e fisiologicamente adaptados aos seus hospedeiros, e metabolicamente dependente destes (Thatcher, 2006; Poulin, 2007) - evoluíram a partir de ancestrais de vida livre, em sua maioria predadores, que emergiram antes mesmo dos primeiros vertebrados. O aparecimento dos peixes, os primeiros vertebrados a surgir, propiciou numerosos novos nichos para os grupos de parasitos explorarem (Thatcher, 2006). Os peixes portanto, acabaram tendo uma maior quantidade e variedade de parasitos do que qualquer outra classe de

vertebrados, porque viveram um longo período de tempo em estreita associação com as formas parasitárias (Poulin, 2004).

Recentemente inclusos na avaliação da biodiversidade, os parasitos são um componente ambiental importante, pois possuem papel chave nos ecossistemas, onde exercem forte pressão seletiva sobre suas populações hospedeiras, atuando na regulação da abundância ou densidade destas, sendo responsáveis por estabilizar cadeias tróficas e estruturar comunidades animais (Poulin e Morand, 2004; Luque e Poulin, 2007).

A interação entre hospedeiro e parasito é uma relação complexa, às vezes difícil de ser interpretada em consequência do número de variáveis que podem mudar esse balanço. Fatores como a posição do peixe na cadeia alimentar, sexo, idade, tamanho corporal, comportamento, respostas imunológicas e teciduais (Azevedo et al. 2011; Silva et al. 2011; Khan, 2012; Gonçalves et al. 2014), e ainda fatores abióticos, como a sazonalidade, podem exercer influência nessa associação (Neves et al. 2013; Tavares-Dias et al. 2014).

Em regiões tropicais as comunidades de parasitos de peixes podem ser afetadas de forma diferenciada (Vital et al. 2011; Tavares-Dias et al. 2014; Dias e Tavares-Dias, 2015) e as variações na dinâmica hidrológica amazônica podem ocasionar alterações na estrutura e composição da fauna de parasitos (Malta, 1982; Kadlec et al. 2003; Vasconcelos e Tavares-Dias, 2014). No entanto, poucos estudos foram desenvolvidos visando avaliar a influência dos períodos sazonais na vazão dos rios sobre infecções parasitárias, tanto ocasionadas por ectoparasitos (Malta e Varella, 1983; Carvalho et al. 2010; Morey, 2017) como por endoparasitos (Vital et al. 2011; Santana et al. 2017).

O entendimento do regime sazonal sobre o parasitismo colabora na explicação de como parasito e hospedeiro se relacionam e como e quando se devem acionar medidas de controle parasitário (Silva, 2012). A detecção e compreensão da dinâmica temporal das populações e comunidades parasitárias em peixes naturalmente infectados, podem dar subsídios para a utilização desse conhecimento em condições de cultivo (Carvalho et al. 2010). Além disso, também permite ponderar sobre os riscos que mudanças antropogênicas e climáticas podem trazer na propagação de doenças sazonais (Altizer et al. 2006).

1.2 Endoparasitos intestinais em peixes de água doce: principais filos e as patogenias associadas

Em peixes neotropicais, a diversidade de habitats e hábitos alimentares é refletida nas características morfofuncionais do trato digestório, pelo fato de ocuparem diferentes posições na cadeia alimentar, e nos peixes, assim como em outros vertebrados, o trato digestório representa uma rota primária para a infecção parasitária (Ringo et al. 2007). Os endoparasitos são amplamente citados como marcadores biológicos e indicadores do estado de saúde dos ecossistemas aquáticos (Williams et al. 1992; Mackenzie et al. 1995; Oliveira et al. 2015; Morey,

2017; Palm et al. 2011; Kleinertz et al. 2014; Kleinertz e Palm, 2015) e como indicadores do impacto da introdução de espécies exóticas parasitadas em habitats diferentes de sua origem, podendo resultar em efeitos deletérios que vão de declínio populacional até destruição de espécies nativas (Dove e Ernst, 1998). Os endoparasitos são representados por diversos filos como Platyhelminthes (Subclasses Trematoda e Cestoda), Nematoda e Acanthocephala (Thatcher, 2006).

1.2.1 Filo Platyhelminthes

Os Platyhelminthes são animais invertebrados, triblásticos, acelomados, de simetria bilateral, conhecidos como “vermes achatados” devido ao achatamento dorsoventral do corpo e ausência de segmentos. Apresentam formas de vida livre, no entanto a maioria é representada por espécies parasitas. Dentro do filo Platyhelminthes está incluída a classe Monogenea (ectoparasitos) e as subclasses Digenea e Eucestoda (esses dois últimos representados por endoparasitos) (Thatcher, 2006).

1.2.1.1 Subclasse Digenea

As espécies de Digenea são hermafroditas com exceção de algumas formas que habitam o sangue (Schistosomatidae) e alguns invasores de tecido encontrados em peixes marinhos (Didymozoidae). Todas as espécies relatadas até agora de peixes de água doce neotropicais têm macho funcional e sistemas de órgãos femininos em cada indivíduo. Embora consideradas como "flatworms", nem todas as espécies são dorso-ventralmente achatadas. Alguns são de forma plana e foliar, mas outros podem ser cilíndricos, esféricos ou piriformes. O corpo geralmente tem uma ventosa oral e uma ventral (o acetábulo), e superfície externa (tegumento) que pode ser provida de espinhos. (Thatcher, 1993; Thatcher 2006).

O ciclo de vida é heterógeno e necessitam de pelo menos um hospedeiro intermediário (quase sempre moluscos) para completar o ciclo. As fases do ciclo de vida incluem ovo, miracídeo, esporocisto, rédia, cercária, metacercária e adulto. Em peixes, os estágios larvais encontram-se frequentemente encistados na musculatura, olhos, gônadas, sistema nervoso e recobrimo órgãos da cavidade celomática. Quando na forma adulta também podem ser encontrados no intestino (Thatcher, 1993; Thatcher 2006).

A patogenicidade desses indivíduos em peixes é bem mais pronunciada quando o peixe atua como hospedeiro intermediário, pois as larvas de metacercárias são bem mais agressivas para o hospedeiro do que as formas adultas (Takemoto et al. 2004; Pavanelli et al. 2008). A penetração das cercárias na superfície corporal, nadadeiras, cavidade bucofaríngea e brânquias, bem como migração das larvas até os olhos podem causar lesões e hemorragias em vários tecidos. Exoftalmia, deslocamento da retina, opacidade do cristalino, cegueira e até mortalidade dos hospedeiros podem ser observadas em altas taxas de infecção (Iwashita e Maciel, 2013).

Quando encontrados no intestino, o local de infecção desses parasitos é restrito quase que inteiramente ao lúmen, mucosa, ou tecidos epiteliais, portanto, os principais danos associados a presença dos Digenea são a destruição do epitélio mucoso que recobre as vilosidades, com subsequente necrose e degeneração (Dezfuli et al. 1997; Mladineo, 2006).

1.2.1.2 Subclasse Eucestoda

Os Eucestoda são endoparasitos hermafroditas conhecidos popularmente como tênias, frequentemente parasitos intestinais de peixes quando na fase adulta (Eiras et al. 2010). Morfologicamente esses parasitos são divididos em três regiões principais: o escólex, onde são localizados os órgãos de fixação situados na extremidade anterior do parasito; o “pescoço” que é uma região não segmentada indiferenciada e o estróbilo, que é um conjunto de segmentos ou proglotes nos quais se repetem os órgãos sexuais femininos e masculinos (Thatcher, 2006; Eiras et al. 2010).

O ciclo de vida desses parasitos é heteróxico e oscila dependendo das famílias. Os ovos são liberados para o ambiente juntamente com as fezes do hospedeiro definitivo e após a eclosão, ocorre a liberação das larvas ciliadas (coracídios) que nessa fase estão prontas para infectar o hospedeiro intermediário (normalmente um copepoda). No hospedeiro intermediário o coracídio se diferencia em procercóide (primeira fase larval). Quando o peixe ingere o copepoda contendo as larvas procercóides, pode se tornar um hospedeiro intermediário paratênico ou definitivo (Iwashita e Maciel, 2013).

A patologia provocada pelos Eucestoda nos peixes pode variar dependendo da espécie de parasito e de hospedeiro, do local da parasitose e da intensidade da infecção. Os adultos que se localizam no intestino podem ocasionar perfuração da parede intestinal, lesões na superfície e em profundidade na camada serosa, com destruição tecidual, oclusão parcial ou total do intestino, além de causar descamação e necrose da parede intestinal (Takemoto et al. 2004; Pavanelli et al. 2008).

1.1.2 Filo Nematoda

As espécies de Nematoda têm simetria bilateral, corpo alongado com formato tubular cilíndrico, extremidades geralmente afiliadas e corpo coberto por cutícula. Possuem sexos separados (dióicos) e dimorfismo sexual, onde as fêmeas possuem uma cauda simples, e o macho é geralmente menor e possui uma cauda recurvada ou espiralada (Pavanelli et al. 2000). O tubo digestório é completo, composto por boca e ânus. A coloração é branco-avermelhada, ou translúcida a olho nu (Moravec e Thatcher, 1997; Moravec, 1998; Fischer et al. 2003; Vicentin et al. 2011; Neves et al. 2013).

O ciclo de vida dos Nematoda é heteróxico podendo ser mais ou menos complexo envolvendo vários hospedeiros intermediários (invertebrados como crustáceos, oligoquetas e

larvas de insetos) e definitivos (peixes, aves ou mamíferos). Em peixes de água doce ocorrem tanto na fase adulta como em estágio larval podendo parasitar praticamente todos os órgãos. Normalmente, as larvas são encontradas encistadas no músculo, fígado, cavidade celomática, superfície das vísceras e ainda no intestino (Moravec, 1998).

Os nematódeos apesar de ser considerado o grupo mais diversificado de endoparasitos de peixes, em ambientes naturais, são considerados pouco patogênicos (Luque, 2004). No entanto outros fatores podem influenciar na patogenicidade desse parasito, como a espécie envolvida, os órgãos parasitados e número de parasitos. Em infecções maciças é possível verificar obstrução total da luz intestinal. Normalmente como resposta por parte do hospedeiro edema, necrose, inflamação localizada e granulomas são observados. (Moravec, 1998; Takemoto et al. 2004).

1.1.3 Filo Acanthocephala

Os acantocéfalos são helmintos parasitos intestinais obrigatórios e possuem um grande sucesso adaptativo podendo parasitar todas as classes de vertebrados, em particular de peixes teleosteos de água doce (Eiras, 1994; Jerônimo et al. 2017). O ciclo de vida compreende um artrópode como hospedeiro intermediário e um vertebrado como hospedeiro definitivo (Nickol, 2006; Brusca e Brusca, 2007). Morfologicamente, tem o corpo dividido em duas partes: o metassoma (ou tronco) e o pressoma (constituído pela probóscide e o pescoço), esta última sendo uma estrutura retrátil provida de ganchos, usada para fixação dos parasitos na parede intestinal do hospedeiro definitivo podendo provocar lesões profundas na mucosa e hemorragias (Thatcher, 1991; Eiras et al. 2010). Esses parasitos não apresentam tubo digestório e absorvem o alimento ingerido pelo hospedeiro definitivo através do tegumento (Brusca e Brusca, 2007).

A patogenicidade dos acantocéfalos é associada a dois fatores principais, a densidade de vermes na luz intestinal, e a profundidade de penetração da probóscide dos parasitos nos tecidos do hospedeiro (Tarachewski, 2000). Numa escala global, diversos trabalhos relatando a patogenia dos acantocéfalos em peixes de ambiente natural têm sido documentada (Martins et al. 2001; Dezfuli et al. 2002; Dezfuli et al. 2008; Sanil et al. 2010; Melo et al. 2014; Bosi e Dezfuli, 2015; Dezfuli et al. 2015). Os autores descrevem alterações significantes como descamação do epitélio intestinal, hiperplasia e hipertrofia de células caliciformes, infiltração leucocitária e em alguns casos, necrose foi observada onde a penetração da probóscide dos parasitos atingiu todas as camadas do intestino.

1.2 Aracu-banana *Rhytidus microlepis* Knerr, 1858

A família Anostomidae abrange 12 gêneros e 138 espécies amplamente distribuídas na América Central e América do Sul (Garavello e Britski, 2003). Nesta família estão inclusos os peixes conhecidos popularmente como aracus, que ocorrem comumente em águas brancas,

sobretudo lagos (Santos et al. 2006). Algumas espécies têm importância para a pesca, aquicultura, e potencial para aquariorfilia (Agostinho, 1994; Froese e Pauly, 2005).

O *Rhytiodus microlepis* Knerr, 1858 (Characiformes: Anostomidae) (Figura 1) é um peixe de hábito alimentar herbívoro com dieta composta por algas, raízes, folhas e caule de plantas (Santos, 1981). Dentre os aracus, é a espécie de maior porte comercializada nos mercados pesqueiros da Região Amazônica (Santos et al. 2006).

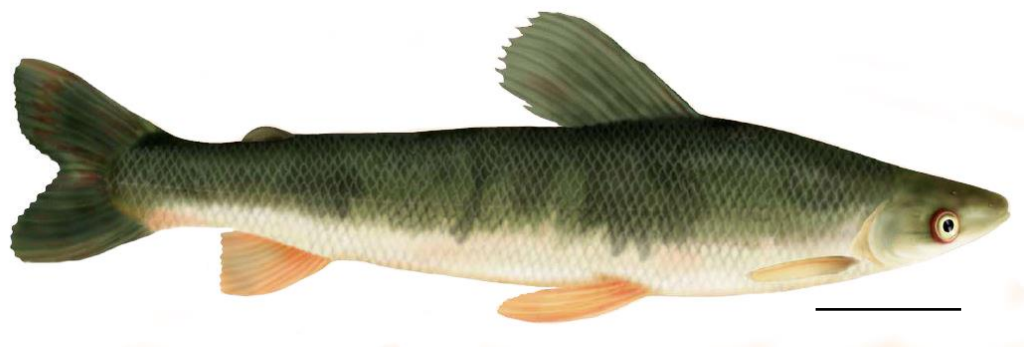


Figura 1 – Exemplar adulto de *Rhytiodus microlepis*. Santos et al. (2006). Barra de escala: 5cm.

A diversidade de endoparasitos metazoários da família Anostomidae tem sido razoavelmente documentada (Lopes, 2010; Pavanelli et al. 2004; Guidelli et al. 2006; Oliveira et al. 2016), incluindo um estudo recente da fauna de parasitos metazoários de *R. microlepis* realizado por Silva de Souza et al. (2017). Na literatura, não há estudo da morfologia do tubo digestório desta espécie e tampouco registro das possíveis associações entre a ocorrência, a distribuição e patogenicidade dos endoparasitos que possivelmente podem ser influenciadas pelas as variações sazonais no nível das águas.

Do ponto de vista metodológico, a taxonomia e a sistemática de parasitos de peixes são ferramentas essenciais na elaboração de inventários faunísticos, que possibilitam conhecer a diversidade e biogeografia de populações parasitárias (Marcogliese, 2003). Já os índices parasitológicos, podem ser aplicados para inferir a respeito da composição e estrutura de infracomunidades parasitárias em peixes de ambiente natural, e ainda embasar estudos aplicados em ecologia parasitária como manejo ambiental, integridade biótica e conservação de bacias (Luque e Poulin, 2007). Ainda neste contexto, a histopatologia, expressa na forma de índices indicadores da funcionalidade do órgão parasitado, podem ser ferramentas usadas para revelar de forma mais intrínseca as respostas teciduais e celulares do hospedeiro às infecções parasitárias. Todas essas ferramentas podem ampliar o conhecimento sobre a relação parasito-hospedeiro-ambiente, bem como as distintas estratégias usadas pelos parasitos (Eiras et al. 2006; Azevedo et al. 2011; Silva et al. 2011).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Avaliar a fauna de endoparasitos intestinais em *Rhytiodus microlepis* e as relações desta com fatores bioecológicos

2.2 Específicos

- Descrever as características anatômicas, histológicas e histoquímicas do tubo digestório de *Rhytiodus microlepis*, com a finalidade de fornecer base para as análises do segundo capítulo
- Estudar a diversidade das espécies de metazoários endoparasitos intestinais em *R. microlepis*
- Determinar a prevalência, intensidade média e abundância das espécies de endoparasitos intestinais de *R. microlepis* nos períodos de cheia e seca
- Analisar a densidade e distribuição dos endoparasitos ao longo do tubo intestinal de *R. microlepis*
- Verificar o grau de patogenicidade dos endoparasitos intestinais sobre o hospedeiro nos períodos de cheia e seca

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Affonso AG (2012) Relação Entre Parâmetros Ambientais e a densidade de pirarucu nos lagos de várzea de Mamirauá: uma análise multi-sensor. Tese de doutorado, Sensoriamento Remoto, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 147p
- Agostinho AA (1994) Pesquisas, monitoramento e manejo da fauna aquática em empreendimentos hidrelétricos. In: Comase; Eletrobrás. Seminário sobre Fauna Aquática e o Setor Elétrico Brasileiro. Rio de Janeiro 38-58
- Altizer S, Dobson A, Hosseini P, Hudson P, Hascual M, Rohani P (2006) Seasonality and dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters* 9:467-484
- Araujo-Lima C, Goulding M (1997) So fruitful a fish: Ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui. Columbia University Press
- Azevedo RK, Abdallah VD, Luque JL (2011) Biodiversity of fish parasites from Guandu River, southeastern Brazil: an ecological approach. *Neotropical Helminthology* 5(2): 185-199
- Bosi G, Dezfuli BS (2015) Responses of *Squalius cephalus* intestinal mucous cells to *Pomphorhynchus laevis*. *Parasitol Int* (64):167-172
- Brusca RC, Brusca GJ (2007) Invertebrados. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro
- Carvalho AR, Tavares LER, Luque JL (2010) Variação sazonal dos metazoários parasitos de *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae) no Rio Gandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Scientiarum Biological Sciences, Maringá*, 32 (2): 159-167
- Dezfuli BS, Manera M, Onestini S, Rossi R (1997) Histopathology of the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. associated with digenetic trematodes: a light and electron microscopic study. *Journal of Fish Diseases* 20:317-322
- Dezfuli BS, Giari L, Simoni E, Bosi G, Manera M (2002) Histopathology, immunohistochemistry and ultrastructure of the intestine of *Leuciscus cephalus* (L.) naturally infected with *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *Journal of Fish Diseases* 25:7-14
- Dezfuli BS, Giovinazzo G, Lui A, Giari L (2008) Inflammatory response to *Dentitruncus truttae* (Acanthocephala) in the intestine of brown trout. *Fish & Shellfish Immunology* 24:726-733
- Dezfuli BS, Manera M, Giari L, DePasquale JA, Bosi G (2015) Occurrence of immune cells in the intestinal wall of *Squalius cephalus* infected with *Pomphorhynchus laevis*. *Fish Shellfish Immunology* 47:556-564
- Dias MKR, Tavares-Dias M (2015) Seasonality affects the parasitism levels in two fish species in the eastern Amazon region. *Journal of Applied Ichthyology* 31:1049-1055
- Dove ADM, Ernest I (1998) Concurrent invaders - four exotic species of Monogenea now established on exotic freshwater fishes in Australia. *International Journal for Parasitology* 28:1755-1764
- Eiras JC (1994) Elementos de ictioparasitologia. Porto: Fundação Eng. Antônio de Almeida,

339pp

- Eiras JC, Takemoto RM, Pavanelli GC (2006) Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes. 2ª ed. Maringá: Eduem: 199pp
- Eiras JC, Takemoto RM, Pavanelli GC (2010) Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil. Maringá, PR: Ed.Clichetec: NUPELIA. 333pp
- Fink WI, Fink SV (1978) A Amazônia Central e seus peixes. Acta Amazônica 8: 19-42
- Fischer C, Malta JCO, Varella AMB (2003) A fauna de parasitas do tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae) do médio Rio Solimões, estado do Amazonas (AM) e do baixo Rio Amazonas, estado do Pará (PA), e seu potencial como indicadores biológicos. Acta Amazônica 33: 651-662
- Froese R, Pauly D (2005) Fishbase: World Wide Web electronic publication. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>
- Garavello JC, Britski HA (2003) Family Anostomidae (Headstanders). In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris Jr and Carl J. Checklist of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: Editora Universitária da PUCRS 71-84p
- Gonçalves RA, Oliveira MSB, Santos EF, Tavares-Dias M (2014) Aspectos ecológicos da comunidade de parasitos em duas espécies de Loricariidae da bacia Igarapé Fortaleza, estado do Amapá, Brasil. Biota Amazônia, Macapá, 4(1):15-21
- Goulding M, Smith NJH, Mahar DJ (1996) Flood of fortune. Ecology and economy along the Amazon, New York
- Goulding M, Barthem R, Ferreira E (2003) The Smithsonian atlas of the Amazon. Princeton Editorial Associate, Inc Hong Kong. 253p
- Guidelli G, Tavechio WLG, Takemoto RM, Pavanelli GC (2006) Fauna parasitária de *Leporinus lacustris* e *Leporinus friderici* (Characiformes, Anostomidae) da planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil. Acta Sci Biol Sci 28: 281-290
- Irion G, Junk WJ, Mello JASN (1997) The large Central Amazonian river floodplains near Manaus: Geological, climatological, hydrological and geomorfological aspects. In: The Central Amazon Floodplain: Ecology of a Pulsing System. Ecological Studies. Max - Planck. Institut Für limnologie
- Iwashita MKP, Maciel PO (2013) Princípios básicos de sanidade de peixes. In: Rodrigues APO, Lima AF, Alves AL, Rosa DK, Torati LS, Santos VRV. Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos. Embrapa, Brasília-DF, 248p
- Jerônimo GT, Pádua SB, Belo MA, Chagas EC, Taboga SR, Maciel PO, Martins ML (2017) *Neoechinorhynchus buttnerae* (Acanthocephala) infection in farmed *Colossoma macropomum*: A pathological approach. Aquaculture 469:124-127
- Junk WJ (1970) Investigations on the ecology and production biology of the floating meadows (Paspalo-Echinochloetum) on the Middle Amazon, Part 1: the floating vegetation and its

ecology

- Junk WJ, Bayley PB, Sparks RE (1989) The Flood pulse concept in riverfloodplain systems. In: D. P. Dodge (ed.). Proceedings of international Large River Symposium. Canadian Special Publication Fishery Aquatic Science 106: 110-127
- Junk WJ (1997) General Aspects of floodplain ecology with special reference to amazonian floodplains. p. 3-17. The Central Amazon Floodplain. Ecology of a pulsing System. Ecological Studies 126:528
- Junk WJ, Soares MQM, Saint-Paul U (1997) The fishes. p. 385-408. In: Junk, W.J. (Ed.) The Central Amazon floodplain, ecology of a pulsing system, ecological studies. 126, Springer, Berlin, Alemanha
- Kadlec D, Šimková A, Jarkovský J, Gelnar M (2003) Parasite communities of freshwater fish under flood conditions. Parasitology Research 89: 272-283
- Khan RA (2012) Host-parasite interactions in some fish species. Journal of Parasitology Research 2012:7
- Kleinertz S, Palm HW (2015) Parasites of the grouper fish *Epinephelus coioides* (Serranidae) as potential environmental indicators in Indonesian coastal ecosystems. Journal of Helminthology 89:86-99
- Kleinertz S, Damriyasa M, Hagen W, Theisen S, Palm HW (2014) An environmental assessment of the parasite fauna of the reef-associated grouper *Epinephelus areolatus* from Indonesian waters. Journal of Helminthology 88: 50-63
- Lopes MS (2010) Ocorrência e estudo taxonômico de Acanthocephala parasitos de peixes provenientes do reservatório da usina hidrelétrica de itaipu binacional e do seu habitat natural, rio Paraná. Dissertação de mestrado em Microbiologia e Parasitologia Aplicada, Universidade Federal Fluminense, 100p
- Luque JL (2004) Parasitologia de peixes marinhos na América do Sul: estado atual e perspectivas. In: Sanidade de Organismos Aquáticos. ed. Ranzani-Paiva MJT, Takemoto RM and Lizama MAP, 199-215
- Luque JL, Poulin R (2007) Metazoan parasite species richness in Neotropical fishes: hotspots and the geography of biodiversity. Parasitology 134(6):865-878
- Mackenzie K, Williams HH, Williams B, Mcvicar AH, Siddal R (1995) Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. Adv Parasitol 35:85-144
- Malta JCO (1981) Os crustáceos branquíuros e suas interpelações com os peixes do lago Janauacá, Amazonas, Brasil. Tese de mestrado, INPA/FUA. Manaus. 88p
- Malta JCO (1982) Os argúlídeos (Crustácea: Branchiura) da Amazônia Brasileira, Aspectos da ecologia de *Dolops geayi* (Bouvier, 1897) e *Argulus juparaensis* (Castro, 1950). Acta Amazônica 12(4):701-705

- Marcogliese DJ (2003) Food webs and biodiversity: are parasites the missing link? *Journal of Parasitology* 89:106-113
- Marlier G (1967) Ecological studies on some lakes of the Amazon Valley. *Amazoniana* 1(2):91-115
- Martins ML, Moraes FR, Fujimoto RY, Onaka EM, Quintana CIF (2001) Prevalence and histopathology of *Neoechinorhynchus curemai* Noronha, 1973 (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) in *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836 from Volta Grande Reservoir, MG, Brazil. *Brazil J Biol* 61(3):517-522
- Melack JM, Forsberg BR (2001) Biogeochemistry of Amazon floodplain lakes and associated wetlands. In: McClain ME, Victoria RL, Richey JE (Eds) *The biogeochemistry of the Amazon Basin*. Oxford University Press, Oxford 235-274p
- Melo FTV, Rodrigues RAR, Giese EG, Gardner SL, Santos JN (2014) Histopathologic aspects in *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1940) induced by *Neoechinorhynchus veropesoi*, metacestodes and anisakidae juveniles. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 23(2):224-230
- Mladineo I (2006) Histopathology of five species of *Didymocystis* spp. (Digenea: Didymozoidae) in Cage-reared Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus thynnus*). *Veterinary Research Communications* 30:475-484
- Moravec F (1998) *Nematodes of Freshwater Fish of the Neotropical Region*. Academia. Praga.
- Moravec F, Thatcher VE (1997) *Raphidascaroides brasiliensis* n. sp. (Nematoda: Anisakidae), an intestinal parasite of the thorny catfish *Pterodoras granulosus* from Amazonia. Brazil. *Systematic Parasitology* 38:65-71
- Moreira AC (2017) Composição e estrutura da infracomunidade de metazoários da sardinha-papuda *Tripurtheus angulatus* (Spix e Agassiz, 1829) do lago Catalão, Rio Solimões, Amazônia Brasileira. Dissertação de Mestrado, Biologia de Água Doce e Pesca Interior, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 84p
- Morey GAM (2017) Diversidade dos metazoários parasitos de peixes carnívoros: *Serrasalmus altispinis* (Merckx, Jégu e Santos, 2000); *Rhaphiodon vulpinis* (Spix e Spix, 1829) e *Acestrorhynchus falcatus* (Bloch, 1974) de lagos de várzea da Amazônia. Tese de Doutorado, Biologia de Água Doce e Pesca Interior, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 249p
- Müller GCK, Greinert JA, Silvafilho HH (2005) Frequência de parasitas intestinais em felinos mantidos em zoológicos, *Arq Bras Med Vet Zootec* 57: 559-561
- Neves LR, Pereira FB, Tavares-Dias M, Luque JL (2013) Seasonal influence on the parasite fauna of a wild population of *Astronatus ocellatus* (Perciformes: Cichlidae) from the Brazilian Amazon. *Journal of Parasitology* 99(4):718-721
- Nickol BB (2006) Phylum Acanthocephala. In: Woo PTK (ed) *Fish diseases and disorders*, second

- edition: protozoan and metazoan infections, vol I. CAB International, Wallingford, 444-465
- Oliveira SRKS, Bezerra MVP, Belo MAA (2015) Estudo da endofauna parasitária do tambaqui, *Colossoma macropomum*, em pisciculturas do Vale do Jamari, estado de Rondônia. Enciclopédia Biosfera 11:21-1026
- Oliveira MSB, Gonçalves RA, Ferreira DO, Pinheiro DA, Neves LR, Dias MKR, Tavares-Dias M (2016) Parasitos metazoários de duas populações de *Leporinus friderici* (Characiformes, Anostomidae) do sistema do rio Amazonas no Brasil. Anais do XIV Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos. Florianópolis, SC
- Palm HW, Kleinertz S, Rueckert S (2011) Parasite diversity as an indicator of environmental change? An example from tropical grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) mariculture in Indonesia. Parasitology 138:1793-1803
- Pavanelli GC, Eiras JC, Takemoto RM (2000) Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Eduem, Maringá
- Pavanelli GC, Machado MH, Takemoto RM, Guidelli GM, Lizama MLAP (2004) Helminth fauna of fishes: diversity and ecological aspects. In: Thomaz SM, Agostinho AA, Hahn NS (Eds.) The Upper Paraná river and its Floodplain: Physical aspects. Ecology and conservation 309-329
- Pavanelli GC, Eiras JC, Takemoto RM (2008) Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Maringá-PR: EDUEM
- Poulin R (2004) Parasites and neutral theory of biodiversity. Ecography 27:1
- Poulin R (2007) Evolutionary ecology of parasite communities in vertebrates. Ecology Monog 65:283-302
- Poulin R (2010) Latitudinal gradients in parasite diversity: bridging the gap between temperate and tropical areas. Neotropical Helminthology 4(2):69-177
- Poulin R, Morand S (2004) Parasite biodiversity. Smithsonian Institution, Washington DC, 376p
- Ramalho EE, Macedo J, Vieira TM, Valsecchi J, Calvimontes J, Marmontel M, Queiroz HL (2009) Ciclo hidrológico nos ambientes de várzea da reserva de desenvolvimento sustentável Mamirauá – Médio Rio Solimões, período de 1990 a 2008. UAKARI. 5.1:61-87
- Reis RE, Kullander SO, Ferraris Jr CJ (2003) Checklist of the freshwater fishes of the South and Central America. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 742p
- Ringo E, Myklebust R, Mayhew TM, Olsen RE (2007) Bacterial translocation and pathogenesis in the digestive tract of larvae and fry. Aquaculture 268:251-264
- Rio-Zaragoza OBD, Fajer-Avila EJ, Almazán-Rueda P (2010) Haematological and gill responses to an experimental infection of dactylogyrid monogeneans on the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Aquaculture Research 41(11): 1592-1601
- Sanil NK, Asokan PK, John L, Vijayan KK (2010) Pathological manifestations of the acanthocephalan parasite, *Tenuiproboscis* sp. in the mangrove red snapper (*Lutjanus*

- argentimaculatus*) (Forsskål, 1775), a candidate species for aquaculture from Southern India. *Aquaculture* 310:259-266
- Santana HP, Anjos CS, Morais AM, Malta JCO (2017) Nematode larvae with zoonotic importance found in peacock bass *Cichla monoculus* (Spix & Agassiz, 1831) from floodplain lakes in Central Amazon. *Revista Brasileira de Zoociências* 18(2):71-76
- Santos GM (1981) Estudos de alimentação e hábitos alimentares de *Schizodon fasciatus* Agassiz, 1829, *Rhytiodus microlepis* Kner, 1859 e *Rhytiodus argenteofuscus* Kner, 1859, do lago Janauacá – AM. (Osteichthyes, Characoidei, Anostomidae). *Acta Amazonica* 11(2):267-283
- Santos GM, Ferreira EJG, Zuanon JAS (2006) Peixes comerciais de Manaus. Ibama/AM, Pro Várzea. 2ª edição. 144pp
- Shah AW, Muni P, Mir SH, Sarwar SG, Yousuf AR (2009) Impact of helminth parasitism on fish haematology of Anchar Lake, Kashmir. *Pakistan Journal of Nutrition* 8(1):42-45
- Silva RZ (2012) Acantocefaloses e nematodíase gastrointestinal em *Arctocephalus australis* (Mammalia: Pinnipedia): existe diferença entre gênero sexual, condição sexual, histopatologia e sazonalidade? Tese de Doutorado, Oceanografia Biológica, Universidade Federal do Rio Grande, 220p
- Silva de Souza AK, Porto DBP, Silva EAS, Malta JCO (2017) Parasites of *Rhytiodus microlepis* Kner, 1859 (Characiformes: Anostomidae) collected in lakes of the amazonian flood plain. *Neotropical Helminthology* 11(1):37-43
- Silva AMQ, Tavares-Dias M, Fernandes JS (2011) Helminthes parasitizing *Semaprochilodus insignis* Jardine, 1841 (Osteichthyes: Prochilodontidae) from the Central Amazonia (Brazil) and their relationship with the host. *Neotropical Helminthology* 5:225-233
- Sioli H (1950) Das Wasser in Amazonasgebiet. *Forschung u. Fortschritte*, Berlin, 26:274-280
- Takemoto RM, Lizama M, Guidelli G, Pavanelli GC (2004). Parasitos de peixes de águas continentais. In: Ranzani-Paiva MJT, Takemoto RM, Lizama M. (Org) de Los. A sanidade de organismos aquáticos. Editora São Paulo, 177-198p
- Tarachewski H (2000) Host-parasite interactions in Acanthocephala: a morphological approach. *Adv Parasitol* 46:1-179
- Tavares-Dias M, Oliveira MSB, Gonçalves RA, Silva LMA (2014) Ecology and seasonal variation of parasites in wild *Aequidens tetramerus*, a Cichlidae from the Amazon. *Acta Parasitologica*, 54: 158-164
- Thatcher VE (1991) Amazon fish parasites. *Amazoniana*, Plön, 11: 263-572
- Thatcher VE (1993) Trematódeos Neotropicais. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas, Brasil. 553p
- Thatcher VE (2006) Amazon Fish Parasites. 2. ed. Sofia-Moscow: Pensoft Publishers.
- Vasconcelos HCG, Tavares-Dias M (2014) Influência da sazonalidade na infestação de *Ergasilus turucuyus* (Copepoda: Ergasilidae) em *Acestrorhynchus falcirostris* e *Hemiodus*

- unimaculatus* (Osteichthyes: Characiformes) do Reservatório Coaracy Nunes, estado do Amapá, Brasil. *Biota Amazônica* 4:106-110
- Vicentin W, Vieira KRI, Costa FES, Takemoto RM, Tavares LER, Paiva F (2011) Metazoan endoparasites of *Serrasalmus marginatus* (Characiformes: Serrasalminae) in the Negro River, Pantanal, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 20(1):61-63
- Vital JF, Varella AMB, Porto DB, Malta JCO (2011) Sazonalidade da fauna de metazoários de *Pygocentrus nattereri* (Kner, 1858) no lago Piranha (Amazonas, Brasil) e a avaliação de seu potencial como indicadora da saúde do ambiente. *Biota Neotrop* 11:1-7
- Williams HH, Mackenzie K, McCarthy AM (1992) Parasites as biological of the population biology, migrations, diet, and phylogenetics of fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 2:144-176

CAPÍTULO I

**MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO TUBO DIGESTÓRIO DO ARACU-BANANA
Rhytiodus microlepis (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): UM PEIXE HERBÍVORO
DE LAGO DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA CENTRAL**

MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO TUBO DIGESTÓRIO DO ARACU-BANANA *Rhytiodus microlepis* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): UM PEIXE HERBÍVORO DE LAGO DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA CENTRAL

Lorena Vieira de Matos^{1 2}, Maria Inês Braga de Oliveira¹, Lídia Aguiar da Silva³, Maria Tereza Vasconcelos de Souza¹, José Celso de Oliveira Malta⁴, Grazyelle Sebreński da Silva¹

¹Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo Octávio Jordão Ramos 3000, 60077-000 Manaus, AM, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Zoologia, Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo Octávio Jordão Ramos 3000, 60077-000 Manaus, AM, Brasil.

³Laboratório de Ecotoxicologia Aquática na Amazônia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo 2936, Manaus, AM, Brasil.

⁴Laboratório de Parasitologia de Peixes, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo 2936, Manaus, AM, Brasil.

Autor correspondente:

L. V. de Matos, Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo Octávio Jordão Ramos 3000, 60077-000 Manaus, AM, Brasil.
e-mail: loh.bio@hotmail.com.

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo descrever as características morfológicas e histoquímicas do trato digestório do aracu-banana, *Rhytidodus microlepis*, do lago Catalão, Amazonas, Brasil. O tubo digestório de *R. microlepis* consiste em esôfago, estômago e intestino. A mucosa do esôfago é revestida por um epitélio mucoso pseudoestratificado com células pavimentosas e botões gustativos; A submucosa é composta por tecido adiposo, e a camada muscular é formada por músculo esquelético. O estômago possui regiões cárdica, fúndica e pilórica; As regiões cárdica e fúndica são glandulares e possuem a mucosa revestida por epitélio cúbico simples; A região pilórica é desprovida de glândulas, com epitélio cilíndrico simples mucoso. O intestino contém de 43 a 65 cecos pilóricos e a mucosa revestida por epitélio cilíndrico simples e células caliciformes. A submucosa consiste em um tecido conjuntivo frouxo com agregados de fibroblastos; A camada muscular tem a mesma configuração do esôfago ao estômago e se organiza em duas túnicas: a muscular circular interna e a camada longitudinal externa, diferente do observado no intestino, onde esta se organiza em três túnicas musculares: muscular longitudinal interna, muscular circular interna e muscular longitudinal externa. A camada serosa é igual em toda a extensão do tubo sendo formada por um epitélio pavimentoso simples. A análise histoquímica revelou que o esôfago, a região pilórica do estômago e o intestino reagiram positivamente a todos os métodos histoquímicos empregados, com exceção das regiões cárdica e fúndica do estômago que reagiram positivamente somente ao PAS e PAS+AB 2.5. Este é o primeiro trabalho que descreve as características morfológicas e histoquímicas do tubo digestório de *R. microlepis*

Palavras-chave: morfohistoquímica; tubo digestório; anostomidae; herbívoro

Abstract

This study aimed to describe the morphological and histochemical characteristics of the digestive tract of aracu-banana, *Rhytiodus microlepis*, from Catalão Lake, Amazonas, Brazil. *R. microlepis* digestive tract consists of esophagus, stomach and intestine. The esophageal mucosa is lined with a pseudostratified mucosal epithelium with pavement cells and taste buds; The submucosa is composed of adipose tissue, and the muscular layer is formed by skeletal muscle. The stomach has cardiac, fundic and pyloric regions; The cardiac and fundic regions are glandular and have the mucosa lined by simple cubic epithelium; The pyloric region is devoid of glands, with mucous simple cylindrical epithelium. The intestine contains from 43 to 65 pyloric caeca and the mucosa lined with simple cylindrical epithelium and goblet cells. The submucosa consists of a loose connective tissue with fibroblast aggregates; The muscular layer has the same configuration of the esophagus to the stomach and is organized into two tunics: the inner circular muscle and the outer longitudinal layer, different from that observed in the intestine, where it is organized into three muscular tunics: inner longitudinal muscle, inner circular muscle and external longitudinal muscle. The serous layer is equal over the entire length of the tube and is formed by a simple paved epithelium. Histochemical analysis revealed that the esophagus, the pyloric region of the stomach and the intestine reacted positively to all histochemical methods employed, except for the cardiac and fundic regions of the stomach, which reacted positively only to PAS and PAS + AB 2.5. This is the first paper describing the morphological and histochemical characteristics of the *R. microlepis* digestive tract

Keywords: morphohistochemistry; digestive tube; anostomidae; herbivorous

1. Introdução

O trato digestivo dos teleósteos exibe uma marcada diversidade morfológica e funcional, de modo que evoluíram para garantir uma efetiva ingestão, digestão e absorção de nutrientes. Levando em consideração a variedade de estratégias alimentares exibidas pelos peixes, a caracterização da morfologia e histoquímica do trato digestório é fundamental para entender não somente seus hábitos alimentares, mas também os traços anatômicos e morfofisiológicos do tubo digestório (Pezzato et al. 2004; Canan et al. 2012; Cornick et al. 2015), e muitos estudos com essa abordagem tem sido focados principalmente em teleósteos de hábito alimentar carnívoro (Ghosh et al. 2015; Köprüciü e Yaman, 2016; Moawad et al. 2016; Purushothaman et al. 2016; Andrade et al. 2017; Mello et al. 2017; Rodrigues e Cargnin-Ferreira, 2017; Kalhor et al. 2018; Phrompanya et al. 2019) e onívoro (Beltran et al. 2013; Germano et al. 2014; Hopperdietzel et al. 2014; Costa et al. 2015; Aruho et al. 2016; Mori, 2016; Kasozi et al. 2017; De Oliveira et al. 2019).

A família Anostomidae abrange 12 gêneros e 138 espécies amplamente distribuídas na América Central e América do Sul (Garavello e Britski, 2003). Nesta família estão inclusos os peixes conhecidos popularmente como aracus, que ocorrem comumente em águas brancas, sobretudo lagos (Santos et al. 2006). Algumas espécies têm importância para a pesca, aquicultura, e potencial para aquariofilia (Agostinho, 1994; Froese e Pauly, 2005). Uma variedade de hábitos alimentares é encontrada dentro dos representantes desta família (Guisande et al. 2012), no entanto, estudos acerca da morfologia do tubo digestório são limitados (Albrecht et al. 2001; Rodrigues et al. 2008; Costa et al. 2015; Chedid, 2016), especialmente para anostomídeos herbívoros (Dos Santos et al. 2015).

O *Rhytiodus microlepis* (Characiformes: Anostomidae) é um peixe de hábito alimentar herbívoro com dieta composta por algas, raízes, folhas e caule de plantas (Santos, 1981). Dentre os aracus, é a espécie de maior porte comercializada nos mercados pesqueiros da Região Amazônica (Santos et al. 2006). Apesar da sua relevância comercial dentro do grupo, a maioria dos estudos são direcionados para representantes onívoros. Assim, o presente estudo descreve pela primeira vez as características anatômicas, histológicas e histoquímicas do tubo digestório de *R. microlepis* e espera contribuir para o conhecimento de aspectos morfofuncionais da digestão em peixes neotropicais herbívoros.

2. Material e Métodos

Trinta e oito adultos de *R. microlepis* (comprimento padrão $18,5 \pm 3,5$ cm e peso corporal $106,7 \pm 124,7$ g) (Tabela 1) foram coletados no lago Catalão ($3^{\circ}10'04''S$ e $59^{\circ}54'45''W$), Amazonas (Brasil) entre os meses de Julho e Setembro de 2018 (Licença SISBIO: 62845/ CEUA-UFAM: 018/2019). Após a captura, os animais foram anestesiados, sacrificados por secção espinal (CONCEA, 2018), e em seguida tiveram o comprimento padrão (cm) e peso corporal (g)

registrados. O tubo digestório foi removido da cavidade celomática, fixado em formol 10% tamponado por um período de 24 horas e transferido para álcool 70% para análise anatômica e morfométrica.

Em 38 exemplares de *R. microlepis*, o comprimento de cada órgão do tubo digestório foi medido para o cálculo do coeficiente intestinal (CI): $CO=CI/SL$, de acordo com Angelescu e Gneri (1949), e os cecos pilóricos foram quantificados (Tabela 2). Para a caracterização anatômica o tubo digestório foi dissecado em lupa para observação do padrão de pregas na mucosa. Para a histologia e histoquímica, fragmentos do esôfago, estômago e intestino foram submetidos a desidratação em crescentes concentrações de álcool (70%, 80%, 95%, 100%), diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina aquecida a 60°C. Cortes nas espessuras de 5µm foram realizados e corados com H&E (Bancroft and Gamble, 2002), ácido periódico de Schiff (PAS) e alcian blue (pH 1.0 e 2.5) (Pinky et al. 2008). As análises da anatomia e macroscopia do tubo digestório foram realizadas usando um estereomicroscópio modelo Leica EZ4. Os cortes histológicos foram observados e fotografados em um fotomicroscópio Leica equipado com um software de captura de imagem (Laz Leica).

3. Resultados

3.1 Anatomia e macroscopia

A cavidade celomática de *R. microlepis* é alongada, sendo ovalada cranialmente e levemente comprimida no sentido caudal. Os órgãos que compõem o tubo digestório encontram-se em sua maioria no terço anterior deste, sendo estes: esôfago, estômago (região cranial, média e caudal), e intestino: porções 1 (região cranial e média), 4 (região média e caudal), 5 e 6 (região cranial). O terço médio é ocupado pela região média do estômago, pelas porções 1 (região caudal), 2,3,4 (região cranial e média) e 6 (região média) do intestino. O terço posterior é ocupado pelas porções 6 (região caudal) e 7 (Figura 1).

O tubo digestório de *R. microlepis* consiste em três regiões anatômicas distintas: esôfago, estômago e intestino. O esôfago ($8,6 \pm 1,3$ mm), correspondente a 3,5% do tubo digestório, apresenta-se como um órgão tubular curto e retilíneo, interligado cranialmente a cavidade bucofaríngea e distalmente ao estômago; macroscopicamente finas pregas longitudinais anastomosadas se projetam da mucosa para o lúmen e se tornam unificadas na transição do esôfago para o estômago (Figura 2A, B). O estômago ($61,4 \pm 9,1$ mm), correspondente a 24,8% do tubo digestório, é sifonal em forma de “U” com três regiões distintas: cárdica, fúndica e pilórica. Macroscopicamente a região cárdica apresenta pregas longitudinais calibrosas, que desaparecem na transição para a região fúndica (Figura 2 C, D). A região pilórica é marcada pela presença de um esfíncter muscular e pregas longitudinais mais elevadas e espessas do que a região cárdica (Figura E, F). O intestino (coeficiente intestinal: $1,05 \pm 0,11$) ($177 \pm 40,3$ mm), correspondente a 71,7% do tubo digestório, é marcado pela presença de cecos pilóricos ($52,1 \pm$

5,1). Não foram observadas diferenças estruturais na macroscopia das pregas ao longo do tubo intestinal, onde estas estão organizadas em um arranjo transversal (Figura 2G), com exceção da porção 7 (reto) onde as padrão muda para uma disposição oblíqua nas laterais em relação ao intestino com treliças na região do centro (Figura 2H).

Com base nas características anatômicas e macroscópicas observadas, a delimitação do tubo digestório de *R. microlepis* foi realizada levando em consideração a macroscopia das pregas na mucosa e o padrão de enovelamento das alças do intestino, Sendo delimitado por esôfago, estômago (com três regiões macroscópicas distintas e intestino diferenciado em sete segmentos (P1: cecos pilóricos; P2: retilíneo; P3: enovelado em formato de “U”; P4: retilíneo; P5: enovelado em formato de “U”; P6: retilíneo e P7: também retilíneo).

3.2 Histologia

Em *R. microlepis* o esôfago tem a mucosa constituída por dobras longitudinais sinuosas que se projetam para o lúmen, e na região basal algumas formam pequenas invaginações (Figura 3A). As pregas são compostas por duas faces: a face mais apical que entra em contato com o lúmen e é revestida por um epitélio pavimentoso estratificado, com botões gustativos (Figura 3B); e outra face mais posterior, que é revestida por um epitélio mucoso pseudoestratificado sem botões gustativos aparentes e células pavimentosas presentes no ápice; a submucosa em toda a extensão esofágica é constituída por tecido adiposo. A camada muscular é uma túnica singular de tecido muscular esquelético e a camada serosa se mantém pavimentosa em toda a extensão do tubo digestório. Na transição do esôfago para a região cárdica do estômago, o epitélio da mucosa muda abruptamente de pseudoestratificado mucoso para um epitélio cilíndrico simples com o aparecimento de glândulas gástricas (GG) (Figura 3C). Neste ponto a submucosa passa a ser constituída de tecido conjuntivo frouxo e a camada muscular gradativamente vai mudando de tecido muscular esquelético para tecido muscular liso. À medida que se distancia da porção cranial da região cárdica, as glândulas gástricas visualmente se tornam mais aumentadas de tamanho e a submucosa apresenta-se bastante vascularizada (Figura 3D). A camada muscular também muda passando a ser constituída de duas túnicas musculares, onde a camada muscular longitudinal externa começa a aparecer de forma mais sutil. Na região fúndica do estômago, as GG visualmente tornam-se reduzidas e a camada muscular circular interna se torna mais espessa (Figura 3E). Conforme se progride para a região pilórica as GG vão diminuindo até desaparecerem e a mucosa passa a ser recoberta por projeções similares a pregas que são revestidas por um epitélio cilíndrico mucoso (Figura 3F). A submucosa se espessa e regride a medida em que essas projeções vão se formando na mucosa e a camada muscular circular interna torna-se bem espessada; Na histologia intestinal diferenças visuais aparentes na mucosa também não foram observadas corroborando com as observações realizadas anteriormente na macroscopia das pregas, com exceção da região do reto (Figura 3G, H). Nas seis primeiras porções, a mucosa

consiste em vilosidades revestidas por um epitélio cilíndrico simples constituído por células epiteliais cilíndricas (enterócitos) intercaladas com dois tipos celulares diferentes (células caliciformes e tipo celular não identificado, que rotulamos de tipo celular II), sustentadas pela lâmina própria composta por uma rede de vasos sanguíneos e linfáticos, células musculares lisas, fibroblastos e glóbulos brancos (Figura 4). A submucosa é constituída por tecido conjuntivo denso que contém agregados de fibroblastos, e é bem vascularizada, com vasos sanguíneos, linfáticos e agregados de glóbulos brancos. A muscular é organizada em três túnicas diferentes: muscular longitudinal interna, muscular circular interna e muscular longitudinal externa. Na sétima porção (reto) as vilosidades desaparecem, e a mucosa passa a ser revestida por um epitélio pseudoestratificado com enterócitos e células mucosas abundantes. A submucosa nitidamente torna-se mais espessada e a camada muscular é constituída por duas túnicas: muscular circular interna e longitudinal externa.

3.3 Histoquímica

As análises histoquímicas detectaram que o tubo digestório de *R. microlepis* apresenta quatro tipos celulares produzindo mucossubstâncias, sendo estes: células mucosas, células epiteliais, células caliciformes e o tipo celular II (Tabela 3) (Figuras 5 e 6).

No esôfago as células caliciformes reagiram positivamente as quatro técnicas histoquímicas empregadas PAS, AB 1.0, AB 2.5 e PAS + AB 2.5 indicando produção de mucossubstâncias neutras e ácidas, no entanto as reações foram mais fortemente positivas ao AB 2.5, o que indica a predominância de mucossubstâncias ácidas do tipo carboxilada. No estômago apenas o ápice das células epiteliais que revestem a mucosa das regiões cárdica e fúndica mostraram reação positiva, que ficou restrita ao PAS sinalizando exclusiva produção de mucossubstâncias neutras. Na região pilórica houve reação positiva aos três métodos, no entanto, as células mucosas reagiram fortemente ao PAS. No intestino as células caliciformes foram positivas para todos os métodos histoquímicos empregados, e o tipo celular II reagiu apenas ao PAS. A porção inicial (P1) reagiu fortemente ao PAS, AB 2.5 e PAS + 2.5 indicando nessa região a produção de mucinas neutras e ácidas sulfatadas. Não foram observadas diferenças na intensidade de reação ao PAS nas porções P2, P3, P4, P5 e P6 que se mantiveram moderadas. Ainda nessas porções do intestino (P2-P6) a reação mais forte foi ao AB 2.5 indicando uma alta concentração de mucossubstâncias ácidas carboxiladas nessas regiões. No reto (P7) foi observada forte reação a todos os métodos histoquímicos constatando tanto a produção de mucinas neutras quanto a de mucinas ácidas sulfatadas e carboxiladas.

4. Discussão

4.1 Anatomia e macroscopia

A morfologia do trato digestivo dos peixes é bem diversificada e evoluiu para garantir que a ingestão, digestão e absorção fossem adaptadas aos diferentes requerimentos alimentares das espécies (Pezzato et al. 2004). Em teleósteos, o esôfago é responsável por conectar a cavidade bucofaríngea ao estômago, no caso de peixes gástricos, e usualmente é descrito como um órgão tubular curto, retilíneo e muscular (Albrecht et al. 2001; Montenegro et al. 2012). Em peixes herbívoros como *Schizodon knerii* (Dos Santos et al. 2015) o padrão de pregas da mucosa esofágica é semelhante ao encontrado em *R. microlepis* e outras espécies de peixe com certa tendência a herbivoria (Pessoa et al. 2013; Rodrigues et al. 2008; Albrecht et al. 2001), indicando ajustes na distensão do esôfago com a finalidade de facilitar a passagem de grandes quantidades de alimento ingerido (Dos Santos et al. 2015).

Dois grupos principais de peixes podem ser diferenciados com base na presença ou ausência de estômago (gástricos ou agástricos respectivamente). Os estômagos podem ser classificados de acordo com a sua forma anatômica que pode ser reta (I), sifonal (U ou J) ou cecal (Y) (Suyehiro, 1942; Ray e Ringø, 2014). Em *R. microlepis* o estômago tem formato de “U” com três regiões macroscópicas que são facilmente observadas por conta da diferenciação nas pregas da mucosa estomacal. Esse mesmo formato de estômago é considerado comum em salmonídeos (Ray e Ringø, 2014) e é relatado para *Mystus cavasius* (Ghosh et al. 2015) *Schizodon knerii* (Dos Santos et al. 2015) e *Prochilodus lineatus* (Moraes et al. 1997). Segundo Wilson e Castro (2010) estômagos sifonais em formato de U ou J são mais comuns entre os osteíctes e elasmobrânquios, e essa configuração pode ajudar a aumentar o tempo de permanência do alimento no estômago garantindo melhor eficiência na digestão realizada pelas enzimas gástricas (Moawad et al. 2016). Considerando as características anatômicas e macroscópicas das pregas da mucosa do estômago, as regiões cárdica e fúndica são responsáveis pela recepção e armazenamento do alimento, enquanto que a região pilórica é responsável pelo esvaziamento gástrico (Menin e Nimura, 1993).

O intestino dos peixes é um órgão tubular que apresenta numerosas variações específicas quanto ao padrão de enovelamento das alças e comprimento (Nikolsky, 1963). Em *R. microlepis* o intestino é relativamente longo com coeficiente intestinal (CI) de $1,05 \pm 0,11$ compatível com de peixes herbívoros que varia de 0,8 a 15,0 (Bértin, 1958; Xiong et al. 2011). Uma explicação funcional para o intestino longo dos peixes herbívoros é que alguns componentes da dieta demoram a ser digeridos e requerem um tempo maior e uma exposição mais extensa no tubo intestinal (Albrecht et al. 2001). A presença de pregas no intestino está relacionada com a dilatação do tubo, retardamento do trânsito intestinal auxiliando na digestão e aumento da área de absorção de nutrientes (Cao e Wang, 2009; Løkka et al. 2013) que pode ainda ser potencializada com a presença de cecos pilóricos associados (Hossain e Dutta, 1996; Albrecht et al. 2001). Rust (2002) afirma que os cecos são tipicamente ausentes ou muito reduzidos em espécies onívoras e

herbívoras, no entanto, em *R. microlepis* a média de cecos pilóricos foi de 52,1 por peixe, semelhante ao relatado por Santos (1980) para a mesma espécie-alvo deste estudo. Na literatura há vários registros da presença de cecos pilóricos em espécies de hábito alimentar herbívoro (Albrecht et al. 2001; Dos Santos et al. 2015) e onívoro (Seixas-Filho et al. 2000; Albrecht et al. 2001; Rodrigues et al. 2008; Aguiar et al. 2018; De Oliveira et al. 2019), evidenciando uma grande discussão em torno da presença ou ausência de cecos pilóricos em peixes, que aparentemente não tem relação direta com o hábito alimentar das espécies (Khanna, 1961; Mohsin, 1962) uma vez que eles podem ou não estar presentes em espécies herbívoras, carnívoras e onívoras (Mohsin, 1962). Em *R. microlepis* o intestino apresentou pregas transversais em toda sua extensão com exceção do reto, padrão este também relatado para espécie herbívora *Schizodon knerii* (Dos Santos et al. 2015). A fim de atender às exigências metabólicas quando as demandas energéticas são altas ou a qualidade da dieta é baixa, os herbívoros podem depender de alterações morfológicas no intestino que aumentam a capacidade deste órgão, e geralmente eles apresentam uma estrutura mecânica e química mais onerosa devido as paredes ricas em celulose que protegem as células de plantas e algas, permitindo o processamento eficiente de maiores quantidades de material alimentar e minimizando a perda de eficiência da assimilação energética (Derting e Bogue, 1993; Saha et al. 2006).

4.2 Histologia

A organização histológica do tubo digestório de *R. microlepis* é muito similar ao padrão descrito para muitas espécies de peixes (Faccioli et al. 2014; Dos Santos et al. 2015; Rodrigues e Cargin-Ferreira, 2017; De Oliveira et al. 2019) e obedece a arquitetura básica das camadas histológicas que compõem o tubo digestório: mucosa, submucosa, muscular e serosa (Díaz et al. 2006), no entanto algumas características bem peculiares foram observadas em alguns órgãos como o esôfago e intestino.

A mucosa do esôfago de *R. microlepis* é complexa e apresenta dobras longitudinais que são revestidas por duas faces. A face que entra em contato mais direto com o lúmen é composta por um epitélio de células pavimentosas estratificadas com botões gustativos; e a outra face constituída por um epitélio pseudoestratificado. Na literatura há registro de uma configuração semelhante para *Larimichthys crocea* (Kalhor et al. 2018) onde os autores descrevem a mucosa esofágica constituída de um epitélio escamoso (zona frontal) e epitélio colunar estratificado (zona posterior das dobras). Células epiteliais presentes na mucosa esofágica são responsáveis pela proteção da superfície epitelial contra abrasões mecânicas e por ancorar mucinas secretadas pelas células mucosas, formando assim uma superfície epitelial lubrificada para facilitar passagem de alimento (Arellano et al. 2001; El Hafez et al. 2013; Faccioli et al. 2014).

Botões gustativos são estruturas comuns encontradas em vários teleósteos (Xiong et al. 2011; Hopperdietzel et al. 2014; Borman et al. 2015; Dos Santos et al. 2015; Santos et al. 2015; Aruho

et al. 2016; Wołczuk et al. 2018) e quando presentes no esôfago são associados a seleção final do alimento e direcionamento deste para o estômago (Oliveira-Ribeiro e Fanta, 2000). Em *R. microlepis* a presença de botões gustativos, associada a uma parede muscular esquelética é sugerida na literatura como um indicador de atividade peristáltica e antiperistáltica, em caso de rejeição alimentar (Wołczuk et al. 2015) e como essas atividades requerem um considerável gasto energético isso justifica uma submucosa constituída de tecido adiposo que provê a reserva energética necessária que tais ações mecânicas demandam neste órgão.

O estômago em peixes gástricos é usualmente delimitado em três regiões: cárdica, fúndica e pilórica (Xiong et al. 2011; Faccioli et al. 2014) e no estômago de *R. microlepis* essas regiões aparecem bem definidas macro e histologicamente, semelhante a outras espécies de Anostomidae como *Leporinus friderici*, *L. taeniofasciatus* (Albrecht et al. 2001) e *Schizodon knerii* (Dos Santos et al. 2015).

Em muitos peixes teleósteos as regiões cárdica e fúndica apresentam glândulas gástricas tubulares na lâmina própria que vão diminuindo de tamanho até desaparecerem por completo na região pilórica (De Oliveira et al. 2019). Esse arranjo corresponde ao resultados encontrados em *R. microlepis* e tem sido bem relatado na literatura para muitas outras espécies de teleósteos (Yang et al. 2010; Xiong et al. 2011; Faccioli et al. 2014; Dos Santos et al. 2015; Ghosh et al. 2015; Moawad et al. 2016; Kalhor et al. 2017). As células oxínticas que compõem as glândulas gástricas tem a função de produzir ácido clorídrico e pepsinogênio. A pepsina é a principal enzima proteolítica dos peixes e possui alta afinidade pelo substrato, cerca de 150 vezes mais do que a pepsina dos estômagos de mamíferos (Halver, 1972; Hopher, 1988). Segundo De Oliveira et al. (2019) a presença de glândulas apenas nas regiões cárdica e fúndica do estômago indicam que o processamento de alimentos nessas regiões requer uma maior demanda de secreção, diferente da região pilórica que é aglandular, onde Freire (2015) justifica que a funcionalidade dessa região é triturar e facilitar o esvaziamento gástrico com a expulsão do bolo alimentar para o intestino anterior, e por isso a musculatura nesse ponto é bem mais desenvolvida (Santos et al. 2007). Assim como em *R. microlepis* o espessamento da camada muscular na região pilórica também foi relatado para outros Characiformes como *Schizodon knerii* (Dos Santos et al. 2015); *Colossoma macropomum* (Mori, 2016) e *Piaractus brachypomus* (De Oliveira et al. 2019).

Histologicamente variações na altura dos vilos da mucosa ao longo do intestino dos peixes são relatadas para espécies de hábito alimentar carnívoro como *Larimichthys crocea* (Kalhor et al. 2018), *Arapaima gigas* (Rodrigues e Cargnin-Ferreira, 2017) e onívoro como *Amatitlania nigrofasciata* (Hopperdietzel et al. 2014), *Colossoma macropomum* (Mori, 2016) e *Piaractus brachypomus* (De Oliveira et al. 2019). Na mucosa intestinal de *R. microlepis* não foram observadas mudanças na altura das vilosidades em toda a extensão do tubo intestinal, com exceção do reto. Este padrão foi igualmente observado por Dos Santos et al. (2015) na espécie também herbívora *Schizodon knerii*. Um padrão elaborado de vilosidades potencializa a

capacidade secretora e absorptiva dos nutrientes ingeridos (Rotta, 2003). Altos níveis de fibra na dieta afetam o tempo de digestão alimentar como também a taxa de trânsito gastrointestinal (Lanna et al. 2004), dessa forma um padrão mais elaborado de dobras na mucosa intestinal permite um processamento adicional de itens relativamente difíceis de digerir como areia, lodo e celulose (Horn, 1997; Moraes et al. 1997; Clements e Raubenheimer, 2005).

A organização da túnica muscular no intestino de peixes usualmente consiste em duas camadas de músculo liso: circular interna e longitudinal externa (Khojasteh, 2012) e esse padrão é ratificado na literatura para muitos teleósteos (Albrecht et al. 2001; Carassón et al. 2006; Santos et al. 2007; Cao e Wang, 2009; Hernández et al. 2009; Raji e Norouzi, 2010; Xiong et al. 2011; Silva et al. 2012; Hopperdietzel et al. 2014; Dos Santos et al. 2015; Rodrigues e Cargin-Ferreira, 2017; Nascimento et al. 2018; De Oliveira et al. 2019; Phrompanya et al. 2019). No entanto, variações foram observadas em *Steindachnerina notonota* (Silva et al. 2005) e *Stegastes fuscus* (Canan et al. 2012) onde os autores constataram apenas a camada muscular circular interna em algumas regiões do intestino. Em *R. microlepis* a túnica muscular é composta por três camadas de músculo liso. É a primeira vez que esse tipo de arranjo é registrado para peixes. Essa configuração é semelhante a observada na musculatura de pro-ventrículos e ventrículos de aves (Catroxo et al. 2009; Ogunkoya e Cook, 2009; Kadhim et al. 2011), onde a túnica muscular compreende três orientações de músculo liso: uma longitudinal interna, uma circular média e longitudinal externa. Em aves herbívoras a função desses órgãos é triturar a ingesta para diminuir o tamanho de partículas de alimentos muito rígidos (Duke, 1986). A dieta de *R. microlepis* é composta de raízes, caule de capins, folhas e flores (Santos, 1981) todos materiais de difícil absorção. Uma justificativa funcional para a túnica muscular ser reforçada nessa região é a intensificação da atividade peristáltica afim de promover a absorção de nutrientes, água e íons de uma maneira mais eficaz.

4.3 Histoquímica

A mucosa que reveste o tubo digestório dos peixes possui células que secretam mucossubstâncias diferenciadas de acordo com a composição de seus monossacarídeos podendo ser classificadas em neutras e ácidas não sulfatadas (sialomucinas) e sulfatadas (sulfomucinas) (Deplancke e Gaskins, 2001), e no trato digestório dos peixes podem variar de acordo com as espécies, idade e regiões do trato (Grau et al. 1992; Sarasquete et al. 2001; Phrompanya et al. 2019).

Na literatura há registro da produção de mucinas neutras e ácidas no esôfago de diferentes ordens de teleósteos como Siluriformes (Faccioli et al. 2014; Mello et al. 2017; Phrompanya et al. 2019), Perciformes (Carassón et al. 2006; Díaz et al. 2008; Kalhor et al. 2018) e Characiformes (Arellano et al. 2001; Lekness, 2015; De Oliveira et al. 2019). A mucosa do esôfago de *R. microlepis* reagiu positivamente a todos os métodos histoquímicos empregados (PAS, AB pH 1.0 e 2.5), porém a intensidade de reação foi mais forte ao AB 2.5 indicando que

nessa região predominam mucinas ácidas carboxiladas, semelhante ao descrito por Phrompanya et al. (2019) para um híbrido de *catfish* (*Clarias batrachus* X *Clarias gariepinus*) e por De Oliveira et al. (2019) para *Piaractus brachypomus*. As mucinas neutras e ácidas têm como papel comum promover a lubrificação da mucosa reduzindo o atrito nas paredes do esôfago evitando danos mecânicos durante a alimentação (Díaz et al. 2008; Abidi e Parwez, 2015). Além disso mucossubstâncias neutras nessa região indicam pré-ingestão gástrica (Cao e Wang, 2009) e no caso das sialomucinas, que foi o tipo mais proeminente nos resultados para *R. microlepis*, evidenciam atividade inibidora a adesão de bactérias na mucosa (Bosi et al. 2005).

As células que revestem a mucosa gástrica são capazes de produzir mucossubstâncias neutras e ácidas em seu ápice, e diversos estudos mostram que existem variações na produção dessas mucinas de acordo com a região do estômago (Hernández et al. 2009; Faccioli et al. 2014; Lekness, 2015; Kalhoro et al. 2018; De Oliveira et al. 2019). Na literatura, a produção de mucossubstâncias neutras têm sido comumente observada nas regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago de algumas espécies de peixes (Cao e Wang, 2009; Raji e Norouzi, 2010; Cardoso et al. 2015; Dos Santos et al. 2015; Purushothaman et al. 2016; Kalhoro et al. 2017; De Oliveira et al. 2019), e em alguns, a produção de mucossubstâncias ácidas se restringe apenas a região pilórica conforme visto em *Schizodon knerii* (Dos Santos et al. 2015), *Lates calcarifer* (Purushothaman et al. 2016) e *Piaractus brachypomus* (De Oliveira et al. 2019). Essa assertiva entra em conformidade com as análises histoquímicas realizadas em *R. microlepis*. A presença de mucinas neutras no estômago promove a absorção e transporte de macromoléculas na membrana plasmática, atuam como tampão na acidez do conteúdo estomacal, absorvem glicídios e ácidos graxos e em conjunto com as mucinas ácidas promovem a proteção da mucosa contra danos mecânicos (Murray et al. 1996; Petrincic et al. 2005; Zdravko et al. 2005).

Na mucosa intestinal de *R. microlepis* foram constatados dois tipos celulares reagindo positivamente aos métodos histoquímicos empregados. Mori (2016) estudando a histoquímica do intestino de *Colossoma macropomum* observou que além das células calciformes, células “rodlet” manifestaram reação positiva ao Reativo de Schiff (PAS). No epitélio intestinal de *R. microlepis* observamos um tipo celular que, morfologicamente, é semelhante as células “rodlet” e que são relatadas no intestino de algumas famílias de teleósteos como Salmonidae, Cyprinidae, Gadidae, Labridae e Serrasalmidae (Nordi et al. 2015; De Oliveira et al. 2019), no entanto são necessários estudos posteriores com microscopia eletrônica de varredura para tal confirmação. Não houveram diferenças qualitativas discrepantes no intestino de *R. microlepis* e mucinas neutras e ácidas ocorreram ao longo de todo o tubo intestinal similar aos achados para outras espécies (Hernández et al. 2009; Hopperdietzel et al. 2014; Cardoso et al. 2015). Mucinas neutras são importantes para lubrificação, absorção e transporte de macromoléculas, as ácidas são frequentemente associadas a proteção contra agentes patogênicos (Arellano et al. 1999; Nehaus et al. 2007; Abidi e Parwez, 2015; Matos et al. 2017) e quando produzidas no intestino posterior

facilitam a eliminação de resíduos alimentares (Shi et al. 2007).

Pela primeira vez as características anatômicas, histológicas e histoquímicas do tubo digestório de *R. microlepis* foram descritas. Nossos resultados apontam que a morfologia geral do trato alimentar é semelhante à de outros peixes herbívoros, entretanto características únicas foram constatadas como a túnica muscular do intestino composta por três camadas de músculo liso. Este estudo visa contribuir com o conhecimento de aspectos morfofuncionais da digestão em peixes neotropicais herbívoros.

5. Referências bibliográficas

- Abidi S, Parwez I (2015) Histomorphology of oesophagus and histochemical characterization of oesophageal mucin of the catfish *Heteropneustes fossilis*. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies 3(1):199-204
- Agostinho AA (1994) Pesquisas, monitoramento e manejo da fauna aquática em empreendimentos hidrelétricos. In: Comase; Eletrobrás. Seminário sobre Fauna Aquática e o Setor Elétrico Brasileiro. Rio de Janeiro. 38-58p
- Aguiar LS, Oliveira MIB, Matos LV, Gomes ALS, Costa JI, Silva GS (2018) Distribution of the acanthocephalan *Neoechinorhynchus buttnerae* and semiquantitative analysis of histopathological damage in the intestine of tambaqui (*Colossoma macropomum*). Parasitology Research DOI: 10.0.1007/s00436-018-5840-8
- Albrecht MP, Ferreira MF, Caramaschi EP (2001) Anatomical features and histology of the digestive tract of two related neotropical omnivorous fishes (Characiformes:Anostomidae). J Fish Biol 58:419-430
- Andrade IM, Guimarães JP, Rotundo MM, Mari RB (2017) Morphology of the digestive tract of the Whitemouth croacker *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Perciformes: Sciaenidae). Acta Zoologica (Stockholm) 98:136-143
- Angeluscu V, Gneri FS (1949) Adaptaciones del aparato digestivo al regime alimentício en algunos peces del rio Uruguay y del rio de La Plata. Rvta Inst Nac Invest Ciênc Nat 1:161-281
- Arellano JM, Storch V, Sarasquete C (1999) Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. Ecotoxicology and Environmental Safety 44:62-72
- Arellano JM, Storch v, Sarasquete C (2001) Histological and histochemical observations in the stomach of the Senegal sole, *Solea senegalensis*. Histology and Histopathology 16:511-521
- Aruho C, Namulawa V, Kato CD, Kisekka M, Rutaisire J, Bugenyi F (2016) Histo-morphological description of the digestive system of the Rippon Barbel *Barbus altianals* (Boulenger 1900): A potential species for culture. Uganda Journal of Agricultural Sciences 17(2):197-217

- Bancroft JD, Gamble M (2002) Theory and practice of histological techniques, 5th edn. Churchill Livingstone Publishers, Edinburgh, London, UK. pp. 85-107
- Beltran LG, Santana DV, Verdugo HM, Gómez-Ramirez E, Giraldo HH (2013) Descripción anatómica e histológica del tracto digestivo de Nicuro *Pimelodus blochii* (Valenciennes, 1840). *Orinoquia* 17(1): 102-110
- Bértin L (1958) Appareil digestif. In: Grassé PP. Paris Masson. *Traité de zoologie* 13: 1248-1302
- Borman M, Ara I, Kamrujjaman M, Nabi MR (2015) Histo-morphology of the alimentary canal in two freshwater snakehead fish *Channa punctata* and *Channa striata*. *Journal of Fisheries* DOI: 10.17017/jfish.v3i3.2015.80
- Bosi G, Shinn AP, Giari L, Simoni E, Pironi F, Dezfuli BS (2005) Changes in the neutomodulators of the diffuse endocrine system of the alimentary canal of farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), naturally infected with *Eubothrium crassum* (Cestoda). *Journal of Fish Diseases* 28 (12): 703-711
- Canan B, Nascimento WS, Silva NB, Chellappa S (2012) Morphohistology of the digestive tract of the damselfish *Stegastes fuscus* (Osteichthyes: Pomacentridae). *The Scientific Journal* DOI: 10.1100/2012/787316
- Cao XJ, Wang WM (2009) Histology and mucin histochemistry of the digestive tract of yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. *Anatomia Histologia Embryologia* 38: 254-261
- Carrassón M, Grau A, Dopazo LR, Crespo S (2006) A histological, histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of *Dentex dentex* (Pisces, Sparidae). *Histology and Histopathology* 21: 579-593
- Cardoso NN, Firmiano EMS, Gomes ID, Nascimento AA, Sales A, Araújo FG (2015) Histochemical and immunohistochemical study on endocrine cells (5HT, GAS, and SST) of the gastrointestinal tract of a teleost, the characin *Astyanax bimaculatus*. *Acta Histochemica* 117: 595-604
- Catroxo MHB, Lima MAI, Cappellaro CEM (1997) Histological aspects of the stomach (proventriculus and gizzard) of the red-capped cardinal (*Paroaria gularis gularis*). *Rev Chil Anat* 15:19-27
- Chedid RA (2016) Estudos morfológicos, histoquímicos e ultraestruturais do tubo digestivo de três espécies do gênero *Leporinus* (Characiformes, Anostomidae). Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 107p
- Clements KD, Raubenheimer D (2005) Feeding and nutrition. In: *The Physiology of Fishes* (eds D.H. Evans and J.B. Claiborne), CRC Press, Boca Raton, 47-82pp
- Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). (2018). Diretriz da prática de eutanásia em animais incluídos em atividades de ensino ou de pesquisa científica. Retrieved from: <https://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arqui>

- vos/legislacao/resolucoes_normativas/Resolucao-Normativa-n-37-Diretriz-da-Pratica-de-Eutanasia_site-concea.pdf
- Cornick S, Tawiah A, Chadee K (2015) Roles and regulation of the mucus barrier in the gut. *Tissues Barriers*, 3(3):1-2
- Costa GM, Oliveira LC, Lima M, Karsburg, IV, Schuingues CO (2015) Aspectos morfológicos do estômago de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), Tambaqui. *Enciclopédia Biosfera* 11(22): 2844-2851
- De Oliveira MIB, De Matos LV, Da Silva LA, Chagas EC, Da Silva GS, Gomes ALS (2019) The digestive tube of *Piaractus brachypomus*: gross morphology, histology/histochemistry of the mucosal layer and the effects of parasitism by *Neoechinorhynchus* sp. *Journal of Fish Biology* DOI: 10.1111/jbf.13934
- Deplancke B, Gaskin ER (2001) Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *American Journal of Clinical Nutrition* 73(6):1131-1141
- Derting TL, Borgue BA (1993) Responses of the gut to moderate energy demands in a small herbivore (*Microtus pennsylvanicus*). *Journal of Mammalogy* 74(1):59-68
- Díaz AO, Escalante AH, García AM, Goldemberg AL (2006) Histology and histochemistry of the pharyngeal cavity and oesophagus of the silverside *Odontesthes bonariensis* (Cuvier and Valenciennes). *Anatomia Histologia Embryologia* 35:42-46
- Díaz AO, García AM, Goldemberg AL (2008) Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: A histochemical study. *Acta Histochemica* 110:76-85
- Dos Santos ML, Arantes FP, Santiago KB, Dos Santos JE (2015) Morphological characteristics of the digestive tract of *Schizodon knerii* (Steindachner, 1875), (Characiformes: Anostomidae): An anatomical, histological and histochemical study. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 87: 867-878
- Duke GE (1986) Alimentary canal: anatomy, regulation of feeding and motility. In: Sturkie PD, editor. *Avian physiology*. 4th ed. New York: Springer-Verlag 269-301p
- El Hafez EAA, Mokhtar DM, Abou-Elhamd AS, Hassan AHS (2013) Comparative histomorphological studies on oesophagus of catfish and grass carp. *J Histol* 1-10
- Faccioli CK, Chedid RA, Amaral AC, Vincentini IBF, Vicentini CA (2014) Morphology and histochemistry of the digestive tract in carnivorous freshwater *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes: Pimelodidae). *Micron*, 64:10-19
- Freire GMMS (2015) Caracterização morfológica do trato digestório de *Cichlasoma orientale* (Osteichthyes: Cichlidae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 82p
- Froese R, Pauly D (2005) Fishbase: World Wide Web electronic publication. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. version (11/2005)
- Garavello JC, Britski HA (2003) Family Anostomidae (Headstanders). In: Reis RE, Kullander

- SO, Ferraris Jr and Carl J. Checklist of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: Editora Universitária da PUCRS 71-84p
- Germano RM, Stabille, Mari RB, Pereira JNB, Faglioni JRS, Miranda Neto H (2013) Morphological characteristics of the *Pterodoras granulosus* digestive tube (Valenciennes, 1821) (Osteichthyes, Doradidae). Acta Zool DOI: 10.1111/azo.12016
- Ghosh SK, Chakrabarti P (2015) Histological, surface ultrastructural, and histochemical study of the stomach of red piranha, *Pygocentrus nattereri* (Kner). Archives of Polish Fisheries 23: 205-215
- Grau A, Crespo S, Sarasquete MC, Gonzales de Canales ML (1992) The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili* Risso: a light and scanning electron microscope study. J Fish Biol 41:287-303
- Guisande C, Pelayo-Villamil P, Vera M, Manjarrés-Hernández A, Carvalho MR, Vari RP, Jiménez LF, Fernández C, Martínez P, Prieto-Piraquive E, Granado-Lorencio C, Duque SR (2012) Ecological factors and diversification among neotropical characiforms. International Journal of Ecology DOI: 10.1155/2012/610419
- Halver JE (1988) Fish Nutrition. Academic Press: New York 256-321p
- Hepher B (1988) Nutrition of pond fishes. Academic Press: Cambridge, England 406p
- Hernández DR, Pérez Ganeselli M, Domitrovic HA (2009) Morphology, histology and histochemistry of the digestive system of South American catfish (*Rhamdia quelen*). International Journal of Morphology 27(1):105-111
- Hopperdietzel C, Hirschberg RM, Hünigen H, Wolter J, Richardson K, Plendl J (2014) Gross morphology and histology of the alimentary tract of the convict cichlid *Amatitlania nigrofasciata*. Journal of Fish Biology 85(5):1707-1725
- Horn MH (1997) Feeding and digestion. In: The Physiology of Fishes (ed. D.H. Evans), CRC Press, Boca Raton L 43-6pp
- Hossain AM, Dutta HM (1996) Phylogeny, ontogeny, structure and function of digestive tract appendages (caeca) in teleost fish. In: Fish Morphology: Horizon of New Research (eds J.S. data Munshi and H.H. Dutta), Bulkema, Brookfield, VT 59-76pp
- Kadhim KK, Zuki ABZ, Noordin MM, Babjee SMA (2011) Histomorphology of the stomach, proventriculus and ventriculus of the red jungle fowl. Anatomia Histologia Embryologia DOI: 10.1111/j.1439-0264.2010.01058.x
- Kalhor H, Tong S, Wang L, Hua Y, Volatiana JA, Shao Q (2017) Gross anatomical and histomorphological features of the *Acanthopagrus schlegelii* digestive tract (Bleeker 1854) Perciformes, Sparidae. Acta Zoologica DOI: 10.1111/azo.12225
- Kalhor H, Tong S, Wang L, Hua Y, Volatiana JA, Shao Q (2018) Morphological study of the gastrointestinal tract of *Larimichthys crocea* (Acanthopterygii: Perciformes). Zoologia DOI: 10.3897/zoologia.35.e25171

- Kasozi N, Degu GI, Mukalazi J, Kato CD, Kisekka M, Wadunde AO, Kityo G, Namulawa VT (2017) Histomorphological description of the digestive system of pebbly fish, *Alestes baremoze* (Joannis, 1835). The Scientific World Journal DOI: 10.1155/2017/8591249
- Khanna SS (1961) Alimentary canal in some teleostean fishes. Journal of the Zoological Society of India 13:206-219
- Khojasteh SMB (2012) The morphology of the post-gastric alimentary canal in teleost fishes: a brief review. International Journal of Aquatic Science 3-2
- Köprücü S, Yaman M (2016) Histological and histochemical characterization of the digestive tract of European catfish (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758). Celular and Molecular Biology DOI: 10.14715/cmb/2016.62.13.1
- Lanna EAT, Pezzato LE, Cecon PR, Furuya W, Bonfim MAD (2004) Apparent digestibility and gastrointestinal transit in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L) in function of the dietary crude fiber. R Bras Zootec 33: 2186-2192
- Leknes IL (2015) Mucin in epithelial cells in oesophagus and stomach of black tetra, *Gymnocorymbus ternetzi* (Characidae: Teleostei). Zoomorphology 134: 269-277
- Løkka G, Austbø L, Falk K, Bjerka I, Koppang EO (2013) Intestinal morphology of the wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). J Morphol 274: 859-876
- Matos LV, Oliveira MIB, Gomes ALS, Silva GS (2017) Morphological and histochemical changes associated with massive infection by *Neoechinorhynchus buttnerae* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) in the farmed freshwater fish *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 from the Amazon State, Brazil. Parasitology Research 116: 1029-1037
- Mello GCG, Santos ML, Arantes FP, Pessali TC, Brito MFG, Santos JE (2017) Morphological characterisation of the digestive tract of the catfish *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 (Siluriformes, Pseudopimelodidae). Acta Zoologica DOI: 10.1111/azo.12224
- Menin E, Mimura OM (1993) Anatomia comparativa do estômago de três peixes Teleostei de água doce de hábito alimentar ictiófago. Rev Ceres 40:203-222
- Moawad UK, Awaad AS, Tawafiek MG (2016) Histomorphological, histochemical and ultrastructural studies on the stomach of the adult african catfish (*Clarias gariepinus*). J Microsc Ultrastruct DOI: 10.1016/j.mau.2016.08.002
- Mohsin SM (1962) Comparative morphology and histology of the alimentary canal in certain groups of Indian teleosts. Acta Zoologica 63:79-133
- Montenegro LA, Silva NB, Nascimento WS, Chellappa S (2012) Anatomy and Histology of the digestive tract and feeding habits of the marbled swamp eel *Synbranchus marmoratus*. Animal Biology Journal 3:127-143
- Moraes MFPG, Barbola IF, Guedes EAC (1997) Alimentação e relações morfológicas com o aparelho digestivo do “curimbatá” *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Osteichthyes,

- Prochilodontidae) de uma lagoa do sul do Brasil. Ver Bras Zool 14(1):169-180
- Mori RH (2016). Análises morfológicas, histoquímicas e ultraestruturais do tubo digestivo de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura. 68p
- Murray HM, Wright GM, Goff GP (1996) A comparative histological and histochemical study of the post-gastric alimentary canal from three species of Pleuronectid, the Atlantic halibut, the yellowtail flounder and the winter flounder. J Fish Biol 48:187-206
- Nascimento WS, Silva GMM, Teixeira L, Silva NB, Chellappa S (2018) Histology of the digestive tract of *Anablepsoides urophthalmus* from Brazilian Oriental Amazonia. Journal of Aquaculture & Marine Biology 7(1):00181
- Neuhaus H, Van der Marel M, Caspari N, Meyer W, Enss ML, Steinhagen D (2007) Biochemical and histochemical study on the intestinal mucosa of the common carp *Cyprinus carpio* L., with special consideration of mucin glycoproteins. Journal of Fish Biology 70(5):1523-1534
- Nikolsky GV (1963) The ecology of fishes. Academic Press: London. 325p
- Nordi WM (2015). Desenvolvimento dos tecidos entérico, hepático e muscular de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg 1887) e dourado (*Salminus brasiliensis*, Cuvier 1816) alimentados com dieta contendo colostro bovino liofilizado. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 125p
- Ogunkoya YO, Cook RD (2009) Histomorphology of the proventriculus of three species of Australian Passerines: *Lichmera indistincta*, *Zosterops lateralis* and *Poephila guttata*. Anat Histol Embryol 38:246-253
- Oliveira-Ribeiro CA, Fanta E (2000) Microscopic morphology and histochemistry of the digestive system of a tropical freshwater fish *Trichomycterus brasiliensis* (Lütken) (Siluroidei, Trichomycteridae). Rev Bras Zool 17(4):953-971
- Pessoa EKR, Silva NB, Chellappa NT, Souza AA, Chellappa S (2013) Morfologia comparativa do trato digestório dos peixes *Hoplias malabaricus* e *Hypostomus puarum* do açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. Biota Amazônia DOI: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v3n1p48-57
- Petrinec Z, Nejedli S, Kuzir S, Opacak A (2005) Mucosubstances of the digestive tract mucosa in northern pike (*Esox lucious* L.) and European catfish (*Silurus glanis* L.). Veterinarski Arhiv 75(4):317-327
- Pezzato LE, Barros MM, Fracalossi DM, Cyrino JEP (2004) Nutrição de Peixes. In: Cyrino JEP, Urbinati EC, Fracalossi DM, Castagnolli N (Eds.). Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva. São Paulo, TecArt, 75-169pp
- Phrompanya P, Saenphet K, Saenphet S (2019) Comparative histochemical study of the gastrointestinal tracts of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and the hybrid catfish (*Clarias batrachus* x *Clarias gariepinus*). Acta Histochemica DOI:

10.1016/j.acthis.2019.01.003

- Pinky SM, Mittal AK (2008) Glycoproteins in the epithelium of lips and associated structures of a hill stream fish *Garra lamta* (Cyprinidae, Cypriniformes): A histochemical investigation. *Anatomia Histologia Embryologia* 37:101-113
- Purushothaman K, Lau D, Saju JM, SK MS, Lunny DP, Vij S, Orbán L (2016) Morpho-histological characterization of the alimentary canal of an important food fish, Asian seabass (*Lates calcarifer*). *PeerJ* DOI: 10.7717/peerj.2377
- Raji AR, Norouzi E (2010) Histological and histochemical study on the alimentary canal in Walking catfish (*Claris batrachus*) and piranha (*Serrasalmus nattereri*). *Iranian Journal of Veterinary Research* 11: 3–32
- Ray AK, Ringø E (2014) The gastrointestinal tract of fish. In: *Aquaculture nutrition: gut health, probiotics and prebiotics*, First Edition
- Rodrigues APO, Cargnin-Ferreira E (2017) Morphology and histology of the pirarucu (*Arapaima gigas*) digestive tract. *International Journal of Morphology* 35(3):950-957
- Rodrigues SS, Navarro RD, Menin E (2008) Anatomia do tubo digestório de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Characiformes, Anostomidae) em relação ao seu habitat alimentar. *Biosci J* 24(3):86-95
- Rotta MA (2003) Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Corumbá: Embrapa Pantanal, 48p
- Rust MB (2002) Nutritional physiology. In: Halver JE, Hardy RW. *Fish nutrition*. Academic Press: San Diego 367-505p
- Saha S, Roy RN, Sem SK, Ray AK (2006) Characterization of the cellulose producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Roeochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes) *Aquac Res* 37: 380-388
- Santos GM (1980) Aspectos de sistemática e morfologia de *Schizodon fasciatus* Agassiz, 1829, *Rhytiodus microlepis* Kner, 1859 e *Rhytiodus argenteofuscus* Kner, 1829 (Osteichthyes, Characoidei, Anostomidae) do lago Janauacá – Amazonas. *Acta Amazonica* 10(3): 635-649
- Santos GM (1981) Estudos de alimentação e hábitos alimentares de *Schizodon fasciatus* Agassiz, 1829, *Rhytiodus microlepis* Kner, 1859 e *Rhytiodus argenteofuscus* Kner, 1859, do lago Janauacá – AM. (Osteichthyes, Characoidei, Anostomidae). *Acta Amazonica* 11(2): 267-283
- Santos GM, Ferreira EJG, Zuanon JA (2006) Peixes comerciais de Manaus. Projeto Manejo dos Recursos Naturais da Várzea – ProVárzea 144p
- Santos CM, Duarte S, Souza TGL, Ribeiro TP, Sales A, Araújo FG (2007) Histologia e caracterização histoquímica do tubo gastrintestinal de *Pimelodus maculatus* (Pimelodidae, Siluriformes) no reservatório de Funil, Rio de Janeiro, Brasil. *Ilheringia, Sér Zool* 97(4): 411-417

- Santos ML, Arantes FP, Pessali TC, Santos JE (2015) Morphological, histological and histochemical analysis of the digestive tract of *Trachelypterus striatus* (Siluriformes: Auchenipteridae). *Zoologia* 32(4): 296-305
- Sarasquete C, Gisbert E, Ribeiro L, Vieira L, Dinis MT (2001) Glyconjugates in epidermal, branchial and digestive mucous cells and gastric glands of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, Senegal sole, *Solea senegalensis* and Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* development. *Eur J Histochem* 45:267-278
- Seixas-Filho JT, Brás JM, Gomide ATM, Oliveira MGA, Donzele JL, Menin E (2000) Anatomia funcional e morfometria dos intestinos e dos cecos pilóricos do Teleostei (Pisces) de água doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). *Rev Bras Zootec* 29: 313–324
- Shi G, Wang JX, Liu XZ, Wang RX (2007) Study on histology and histochemistry of digestive tract in *Sebastiscus marmoratus*. *Chin J Fish* 31: 293-302
- Silva NB, Gurgel HCB, Santana MD (2005) Histologia do sistema digestório de saguiri, *Steindachnerina notonota* (Miranda Ribeiro, 1937) (Pisces, Curimatidae), do rio Ceará Mirim, Rio Grande do Norte, Brasil. *B Inst Pesca* 31(1):1-8
- Silva MR, Natali MRM, Hahn NS (2012) Histology of the digestive tract of *Satanoperca pappaterra* (Osteichthyes, Cichlidae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 34(3): 319-326
- Suyehiro Y (1942) A study of the digestive system and feeding habits of fish. *Japanese Journal of Zoology* 10:1-303
- Wilson JM, Castro LFC (2011) Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In Grosell M, Farrel AP, Brauner JC (Eds.). *Fish physiology: The multifunctional gut of fish*. Academic Press: New York 2-55pp
- Wólczyk K, Ostrowski M, Ostrowska A, Napiórkowska (2018) Structure of the alimentary tract in the Atlantic mudskipper *Periophthalmus barburus* (Gobiidae: Oxudercinae): anatomical, histological and ultrastructural studies. *Zoology* DOI: 10.1016/j.zool.2018.04.002
- Xiong D, Zhang L, Yu H, Xie C, Kong Y, Zeng Y, Huo B, Liu Z (2011) A study of morphology and histology of the alimentary tract of *Glyptosternum maculatum* (Sisoridae, Siluriformes). *Acta Zool* 92: 161-169
- Yang R, Xie C, Fan Q, Gao C, Fang L (2010) Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. *Aquaculture* 302:112-123
- Zdravko P, Srebrenka N, Snježana K, Anđelko O (2005) Mucosubstances of the digestive tract mucosa in northern pike (*Esox lucius* L) and european catfish (*Silurus glanis* L). *Veterinarski Arhiv* 75:317-327

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Estatística descritiva dos dados biométricos dos exemplares de *Rhytiodus microlepis* coletados no lago Catalão, Amazonas, Brasil.

Estatística descritiva			
	Nº de peixes analisados	Média ± desvio padrão	Amplitude (máx-mín.)
Peso (g)	38	106,7 ± 124,7	516 (568-52)
Comprimento padrão (cm)	38	18,5 ± 3,5	13 (28-15)

Tabela 2. Estatística descritiva do tubo digestório dos exemplares de *Rhytiodus microlepis* coletados no lago Catalão, Amazonas, Brasil.

	Média \pm desvio padrão	Amplitude (máx-mín.)
Esôfago (mm)	8,6 \pm 1,3	5 (11-6)
Estômago (mm)	61,4 \pm 9,1	45,5 (92-46,5)
Intestino (mm)	177 \pm 40,3	168 (315-147)
Cecos	52 \pm 5,1	18 (63-45)
Coeficiente Intestinal (CI)		1,05 \pm 0,1

Tabela 3. Intensidade das reações histoquímicas ao longo do tubo digestório dos exemplares de *Rhytidodus microlepis* coletados no lago Catalão, Amazonas, Brasil.

Método histoquímico	Regiões do tubo digestório											
	Esôfago	Estômago			Intestino (porções)							
		Cárdica	Fúndica	Pilórica	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	
PAS	**	***	***	***	***	**	**	**	**	**	**	***
AB 1.0	**	-	-	**	*	*	*	**	* a **	*		***
AB 2.5	***	-	-	**	***	**	**	***	***	**	** a ***	***
PAS + AB 2.5	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
	Células caliciformes	Ápice das células epiteliais		Células mucosas	Células caliciformes e tipo celular II							
	Tipos celulares											

Intensidade da reação: ausente (-); fraca (*); moderada (**); e forte (***)



Figura 1. Anatomia do tubo digestório de um espécime adulto de *Rhytiodus microlepis* coletado no lago Catalão, Amazonas, Brasil. A – visão ventral e B – anatomia externa das alças intestinais com delimitação das diferentes porções que compõem o tubo digestório. Barra de escala: 2cm.

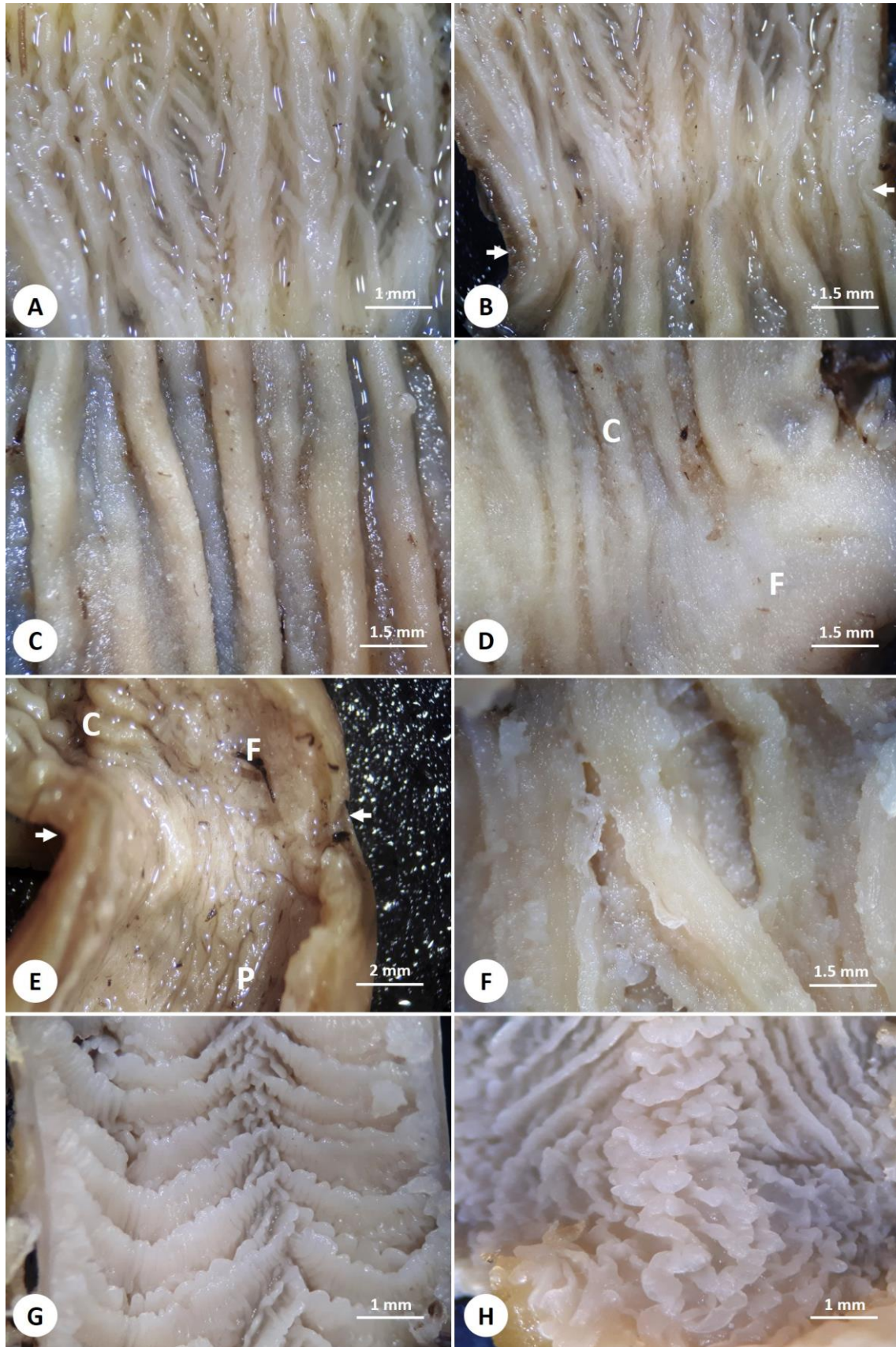


Figura 2. Macroscopia das diferentes porções do tubo digestório de *Rhytidodus microlepis*. A – Esôfago com pregas longitudinais anastomosadas ; B – Transição do esôfago para a região cárdica do estômago delimitada por um esfíncter (setas); C – Pregas longitudinais espessadas da mucosa cárdica do estômago; D – Transição da região cárdica (C) para a região fúndica (F) do estômago; E – Esfíncter pilórico (setas) marcando a transição da região fúndica (F) para a região pilórica (P) do estômago; F – Pregas da região pilórica; G – Mucosa intestinal com pregas transversais; H – Reto.

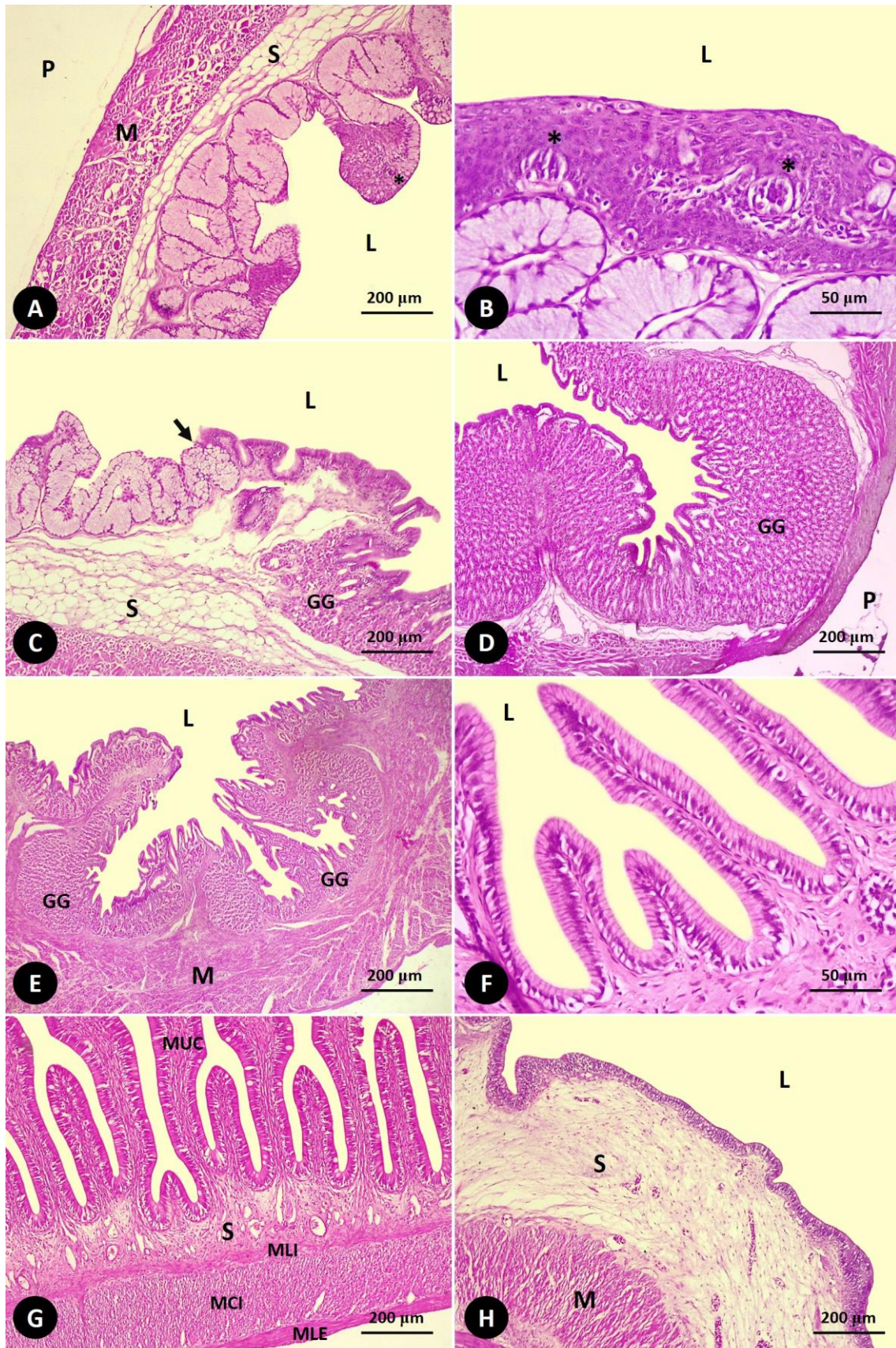


Figura 3. Histologia do tubo digestório de *Rhytidus microlepis*. A – Esôfago com pregas revestidas por epitélio pseudoestratificado mucoso e epitélio estratificado pavimentoso com botões gustativos na região de contato com o bolo alimentar (asterisco) (em maior detalhe na figura 3B), Submucosa constituída por tecido adiposo (S) e camada muscular (M) composta por tecido muscular esquelético); C – Transição do esôfago para a região cárdica do estômago com mudança abrupta de um epitélio pseudoestratificado para um epitélio cilíndrico simples (seta) e formação das glândulas gástricas (GG), submucosa (S); D – Região cárdica do estômago com glândulas gástricas (GG); E – Região fúndica com glândulas gástricas reduzidas (G), muscular (M); F – Região pilórica do estômago com pregas na mucosa revestidas por epitélio cilíndrico mucoso; G – Mucosa intestinal (MUC), Submucosa (S) e Muscular constituída por três subcamadas (M); H – Região do reto com vilosidades ausentes e mucosa revestida por epitélio pavimentoso estratificado com enterócitos e células mucosas abundantes; Submucosa (S) e camada muscular (M); (P) cavidade peritoneal, (L) lúmen.

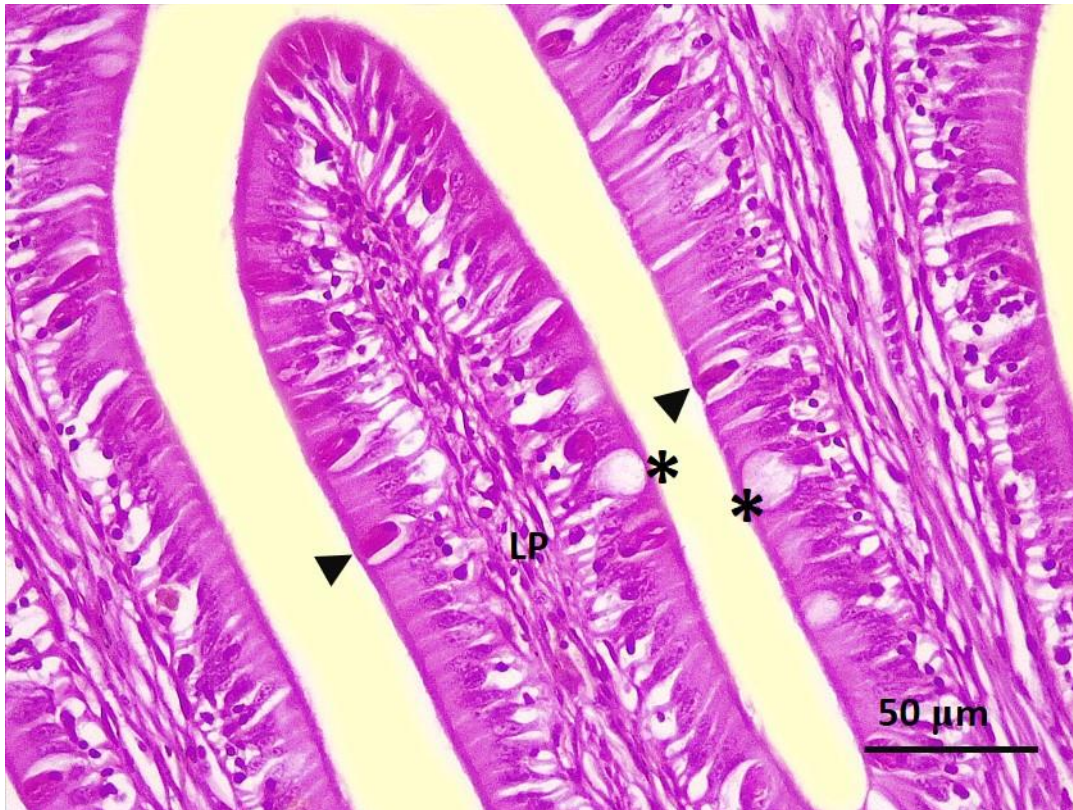


Figura 4. Estrutura histológica da mucosa intestinal de *Rhytidus microlepis*. Células caliciformes (asteriscos), tipo celular II (cabeças de seta), lâmina própria (LP).

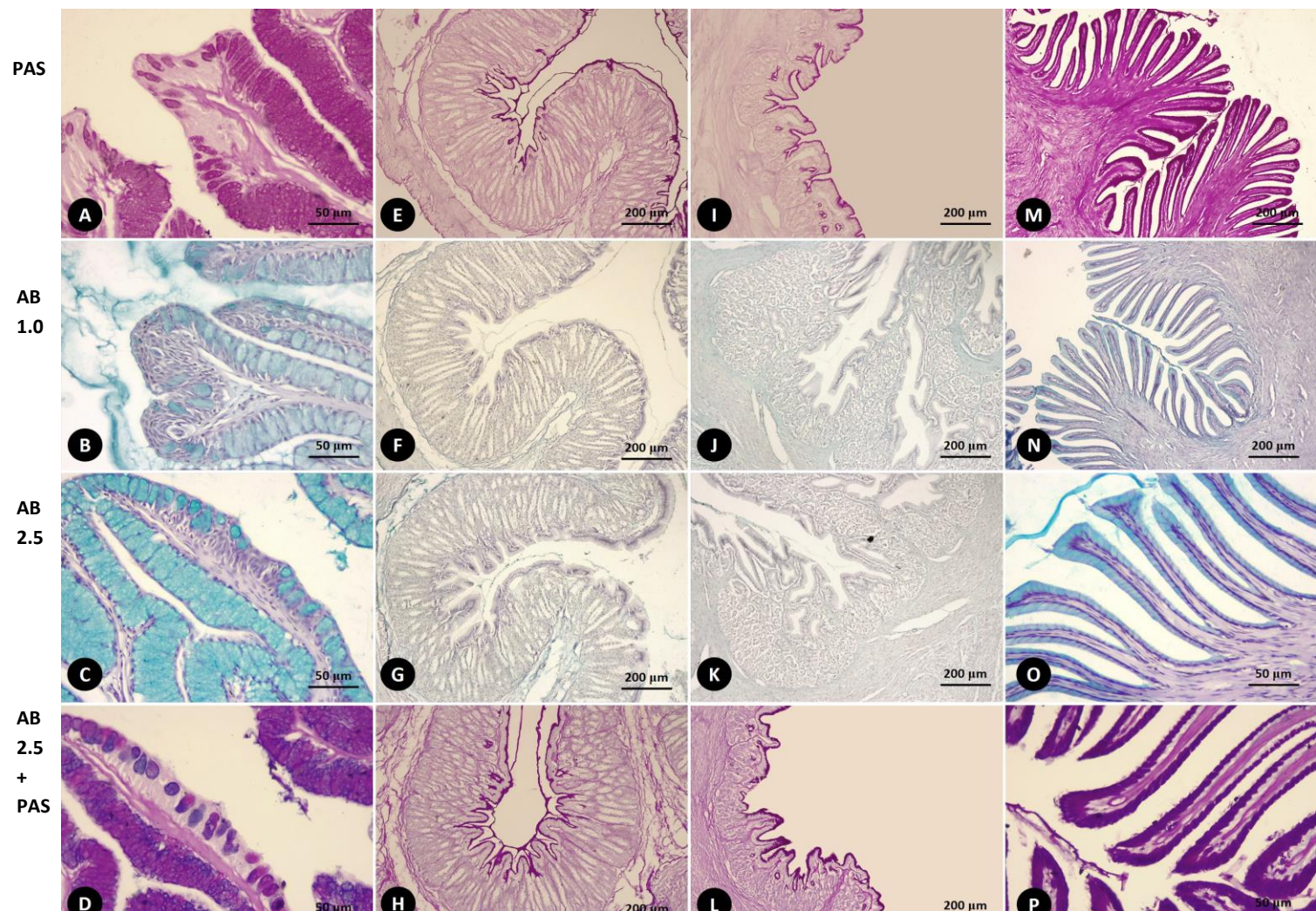


Figura 5. Reações histoquímicas do tubo digestório de *Rhytidus microlepis*. A, B, C e D – Esôfago; E, F, G e H – Região cárdica; I, J, K e L – fúndica; M, N, O e P – Região pilórica do estômago.

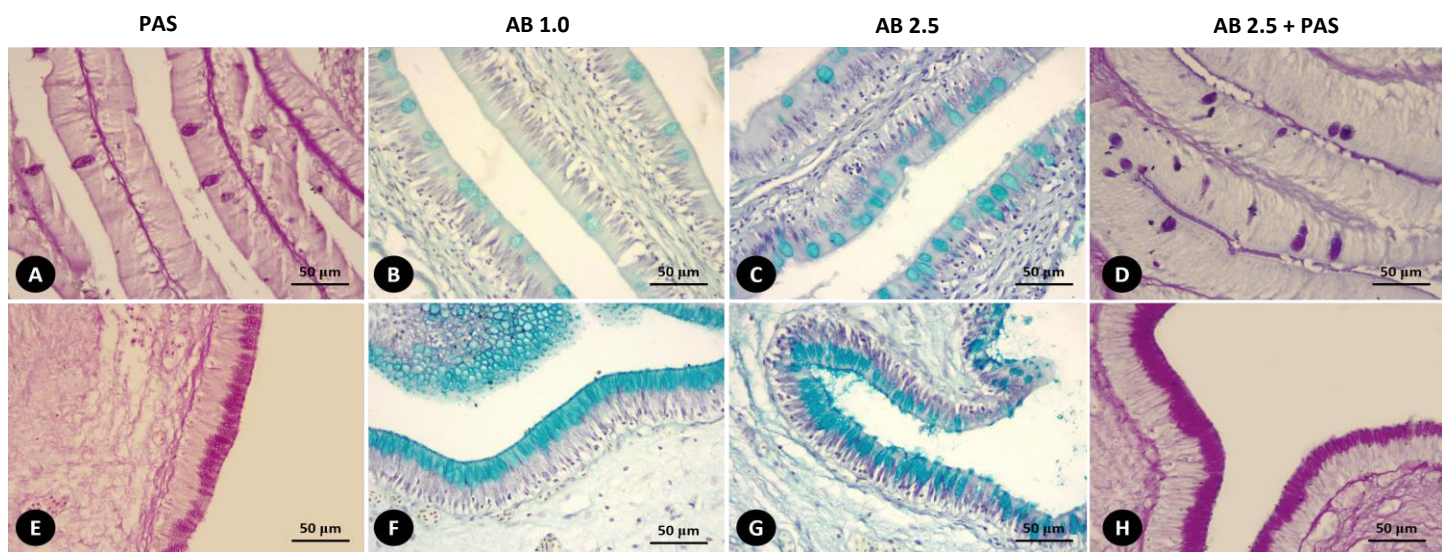


Figura 6. Reações histoquímicas do intestino de *Rhytiodus microlepis*. A, B, C e D – Segmentos iniciais e intermediários; E, F, G e H – Reto.

CAPÍTULO II

ENDOHELMINTOS INTESTINAIS DE *Rhytiodus microlepis* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): DISTRIBUIÇÃO, HISTOPATOLOGIA E RELAÇÕES COM O CICLO HIDROLÓGICO

ENDOHELMINTOS INTESTINAIS DE *Rhytiodus microlepis* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE): DISTRIBUIÇÃO, HISTOPATOLOGIA E RELAÇÕES COM O CICLO HIDROLÓGICO

Lorena Vieira de Matos^{1 2}, Maria Inês Braga de Oliveira¹, Grazyelle Sebremski da Silva¹, Amanda Karen Silva de Souza³, Lídia Aguiar da Silva⁴, Marcelo Menin⁵, José Celso de Oliveira Malta⁶

¹Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo Octávio Jordão Ramos 3000, 60077-000 Manaus, AM, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Zoologia, Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo Octávio Jordão Ramos 3000, 60077-000 Manaus, AM, Brasil.

³Programa de Pós-graduação em Agentes Infecciosos e Parasitários, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa 01, 66075-110 Belém, PA, Brasil.

⁴Laboratório de Ecotoxicologia Aquática na Amazônia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo 2936, Manaus, AM, Brasil.

⁵Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo Octávio Jordão Ramos 3000, 60077-000 Manaus, AM, Brasil.

⁶Laboratório de Parasitologia de Peixes, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo 2936, Manaus, AM, Brasil.

Autor correspondente:

L. V. de Matos, Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo Octávio Jordão Ramos 3000, 60077-000 Manaus, AM, Brasil.
e-mail: loh.bio@hotmail.com.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo estudar a fauna de endoparasitos de *Rhytidus microlepis* do lago Catalão, Amazonas, Brasil, em duas estações do ciclo hidrológico (cheia e seca), correlacionando os níveis de infecção com a distribuição, a densidade dos endoparasitos, e o grau de patogenicidade. Dos trinta e oito espécimes coletados, 100% estavam parasitados por metacercárias de Digenea e 94,7% por Acanthocephala. Ambos os táxons de endoparasitos ocorreram na cheia e na seca, no entanto, a intensidade e abundância de metacercárias de Digenea foi significativamente maior na seca. Com relação a distribuição dos parasitos, ambas as espécies ocorreram ao longo do tubo. Os valores medianos de intensidade parasitária correlacionados com os segmentos intestinais mostraram que as metacercárias de Digenea tem preferência pelas porções mais iniciais do intestino e Acanthocephala pelas porções intermediárias. As metacercárias foram registradas em alta frequência na camada mucosa, na região da lâmina própria, enquanto que os acantocéfalos foram mais frequentes no lúmen. Os valores do índice de alteração histopatológica para o órgão foram significativamente maiores na seca do que na cheia. Não houve diferença significativa nos valores de IAH entre as quatro camadas do intestino, apesar disso os valores de média foram maiores nas camadas mucosa e submucosa indicando a ocorrência de danos de maior grau, severos e/ou irreversíveis, onde essas camadas foram as mais afetadas.

Palavras-chave: Distribuição; Digenea; Acanthocephala; patogenicidade; aracu-banana

Abstract

The main objective of this work was to study the endoparasite fauna of *Rhytidus microlepis*, from Catalão lake, Amazonas, Brazil, during two seasons of the hydrological cycle and correlate infection levels with distribution, endoparasite density and degree of pathogenicity. Thirty-eight specimens were collected in two periods of the hydrological cycle (flood and dry). Of the individuals analyzed, 100% were parasitized by Digenea metacercariae and 94.7% by Acanthocephala. Both taxa of endoparasites occurred in flood and dry, however, the intensity and abundance of Digenea metacercariae was significantly higher in the dry season. Regarding the distribution of the parasites, both species occurred along the tube. Median values of parasitic intensity correlated with intestinal segments showed that Digenea metacercariae had preference for the earliest portions of the intestine and Acanthocephala for the intermediate portions. The metacercariae were recorded at high frequency in the mucosa layer, in the region of the lamina propria, whereas the acanthocephalan were more frequent in the lumen. The values of histopathological alteration index for the organ were significantly higher in the dry than in the flood. There was no significant difference in the AHI values between the four layers of the intestine. However, the mean values were higher in the mucosa and submucosa layers indicating more severe and/or irreversible damage, where these layers were more affected.

Keywords: Distribution; Digenea; Acanthocephala; pathogenicity; aracu-banana

1. Introdução

O bioma da floresta amazônica é composto por uma série de ambientes, vários dos quais exibem acentuadas variações sazonais na dinâmica hidrológica. Dentre eles, destacam-se as várzeas: áreas periodicamente inundadas e que exercem forte influência na composição e estruturação da fauna de parasitos de peixes (Malta, 1982; Kadlec et al. 2003; Vasconcelos e Tavares-Dias, 2014). Uma das principais rotas de infecções por parasitos é o trato digestivo devido as peculiaridades encontradas neste pequeno hábitat, como nichos protegidos e uma superfície mucosa que pode ser facilmente corrompida para se obter acesso a uma rica microvasculatura cheia de nutrientes (McKay et al. 2017). Em peixes cada espécie endoparasita pode expressar uma distribuição característica ao longo do intestino de acordo com os requerimentos necessários à sua sobrevivência (Nkwenguila e Miwita, 2004).

Dentre os múltiplos táxons de endoparasitos que infectam os peixes, Digenea e Acanthocephala são frequentemente citados na literatura (Dezfuli et al. 2016). Os Digenea, formam uma subclasse de endoparasitos de formato achatado considerados como “flatworms”. São hermafroditas, com exceção de algumas famílias (Schistosomidae, Didymozoidae), e a maioria apresenta duas ventosas, uma oral e ventral (acetábulo) (Thatcher, 2006). Cerca de 70 famílias com mais de 5.000 espécies são conhecidas em teleósteos. A patogenicidade desses endoparasitos em peixes é bem mais pronunciada quando em estágio de metacercária, pois as larvas são bem mais agressivas para o hospedeiro do que as formas adultas (Takemoto et al. 2004; Pavanelli et al. 2008). Quando encontrados no intestino, o local de infecção desses parasitos é restrito quase que inteiramente ao lúmen, mucosa, ou tecidos epiteliais, portanto, os principais danos associados a presença dos Digenea são a destruição do epitélio mucoso que recobre as vilosidades, com subsequente necrose e degeneração (Dezfuli et al. 1997; Mladineo, 2006).

Os acantocéfalos são helmintos parasitos intestinais obrigatórios de todas as classes de vertebrados, em particular de peixes teleósteos de água doce (Jerônimo et al. 2017; Eiras, 1994). Atualmente, mais de 70 famílias com 1.500 espécies são conhecidas em peixes (Dezfuli et al. 2016). Morfologicamente, tem o corpo dividido em metassoma e pressoma, este último sendo uma estrutura retrátil provida de ganchos, usada para fixação dos parasitos na parede intestinal do hospedeiro definitivo (Thatcher, 2006; Eiras et al. 2010). Numa escala global, a patogenicidade dos acantocéfalos em peixes de ambiente natural tem sido bem documentada (Sanil et al. 2011; Dezfuli et al. 2002; Dezfuli et al. 2008; Bosi e Dezfuli, 2015; Dezfuli et al. 2015). Alterações significantes como descamação do epitélio intestinal, hiperplasia, hipertrofia de células caliciformes, reação inflamatória e espessamento da camada muscular são danos frequentemente associados ao parasitismo por acantocéfalos (Dezfuli et al. 2016; Jerônimo et al. 2017; Matos et al. 2017; De Oliveira et al. 2019).

O *Rhytiodus microlepis* Knerr, 1829 pertence à família Anostomidae, que abrange 12 gêneros e 138 espécies amplamente distribuídas na América Central e América do Sul (Garavello

e Britski, 2003). Nesta família, estão inclusos os peixes conhecidos popularmente como aracus, que são comuns em águas brancas, sobretudo lagos. Dentre os anostomídeos, *R. microlepis* é a espécie de maior porte comercializada nos mercados pesqueiros da Região Amazônica (Santos et al. 2006). Na literatura, a diversidade de endoparasitos metazoários da família Anostomidae tem sido razoavelmente documentada (Lopes, 2010; Pavanelli et al. 2004; Guidelli et al. 2006; Oliveira et al. 2016), incluindo um estudo recente da fauna de parasitos metazoários de *R. microlepis* que foi descrita previamente por Silva de Souza et al. (2017).

Considerando que estudos de endoparasitos intestinais em anostomídeos são em maioria restritos a taxonomia, este trabalho teve como objetivo investigar os padrões de distribuição dos endoparasitos encontrados no intestino de *R. microlepis*, bem como a preferência de cada táxon por sítios de infecção, e o grau de patogenicidade destes em duas estações distintas do período hidrológico, em vista de que este é um fator que pode influenciar a composição e estrutura de comunidades parasitárias.

2. Material e Métodos

Trinta e oito espécimes adultos de *R. microlepis* foram coletados no lago Catalão (3°10'04''S e 59°54'45''W), Amazonas (Brasil) entre os meses de Julho e Setembro de 2018 (Licença SISBIO: 62845/ CEUA-UFAM: 018/2019) contemplando os períodos de cheia e seca da região. A captura dos animais foi realizada com redes de espera (20:20, 30:30, 25:30 mm entre nós) distribuídas aleatoriamente no lago, com tempo de permanência padronizado em 10 horas, período diurno, com quatro despesas ao longo deste tempo. Os animais capturados vivos foram anestesiados por hipotermia, sacrificados por secção espinal, e em seguida tiveram o comprimento padrão (cm) e peso corporal (g) registrados. O tubo digestório foi removido da cavidade celomática, fixado em formol 10% tamponado em um período de 24h e transferido para álcool 70% para posterior estudo parasitológico e morfológico no Laboratório de Parasitologia de Peixes (INPA) e Laboratório de Pesquisas em Biologia do Desenvolvimento (UFAM).

Para análise parasitológica, sinais clínicos foram registrados quando aparentes, e o tubo digestório foi seccionado longitudinalmente para verificar a presença de endoparasitos; uma vez detectada, os espécimes foram coletados com auxílio de pinças finas, fixados em álcool 70% e posteriormente submetidos ao protocolo de coloração para helmintos segundo método estabelecido por Amato et al. (1991). Descritores ecológicos seguindo metodologia estabelecida por Bush et al. (1997) foram utilizados para cálculo dos índices parasitários. Os táxons de endoparasitos encontrados foram classificados segundo o grau de importância para a comunidade como: Central (Ce) = espécies presentes com prevalência maior que 66,66% no total de peixes examinados; Secundário (Se) = presentes entre 33,33 e 66,66% da amostra e Satélite (Sa) = Inferior a 33,3% da amostra (Bush e Holmes, 1986).

Para análise histopatológica do tubo digestório de *R. microlepis* fragmentos do intestino

foram submetidos a desidratação em crescentes concentrações de álcool (70%, 80%, 95%, 100%), diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina aquecida a 60°C. Cortes nas espessuras de 5µm foram realizados e corados com H&E (Bancroft and Gamble, 2002).

Para cálculo da frequência de ocorrência dos parasitos por porção intestinal e sítio de infecção, o intestino foi delimitado em sete porções distintas com base em características anatômicas conforme descrito posteriormente no primeiro capítulo. Um contador diferencial de células foi utilizado para a contabilização dos helmintos.

A análise do índice de alteração histopatológica (IAH) foi baseada no método de Aguiar et al. (2018) onde, cortes histológicos das porções com maior densidade parasitária foram analisados randomicamente. Em cada corte alterações histopatológicas nas camadas do intestino (mucosa, submucosa, muscular e serosa) foram registradas e semiquantificadas conforme metodologia adaptada de Poleksic and Mitrovic-Tuntuduzic (1994). Na fórmula $IAH = 10^0 \Sigma I + 10^1 \Sigma II + 10^2 \Sigma III$; e frequência de ocorrência dos danos teciduais classificados em: “0-10” funcionamento normal do órgão, “11-20” danos leves a moderados no órgão, “21-50” alterações moderadas a severas no órgão, “50-100” alterações severas no órgão e “>100” danos irreparáveis ao órgão. Os cortes histológicos foram observados e fotografados em um fotomicroscópio equipado com um software de captura de imagem (Laz Leica).

A análise estatística incluiu a comparação da prevalência e abundância média de parasitos entre os períodos de cheia e seca usando o teste-t. O teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis e o post-hoc de Dunn's foram efetivados com a finalidade de comparar a intensidade dos parasitos dentre as porções intestinais. O índice de alteração histopatológica (IAH) entre os períodos de cheia e seca foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov (KS) e contrastados aplicando o teste-t. A comparação dos valores de IAH por camada do intestino foi realizada a partir do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o software GraphPad Prism versão 5.00.288.

3. Resultados

3.1 Índices parasitários, distribuição espacial e densidade de parasitos nas alças intestinais

Todos os exemplares de *Rhytidus microlepis* ($18,5 \pm 3,5$ cm e $106,7 \pm 124,7$ g) analisados estavam parasitados por pelo menos um táxon de endoparasito. Um total de 3.469 espécimes foram quantificados, onde 360 eram pertencentes ao Filo Acanthocephala, da espécie *Octospiniferoides incognita* Schmidt e Huggins, 1973, e 3.109 espécimes não identificados do Filo Platyhelminthes, subclasse Digenea, em estágio de metacercária. Trematódeos digenéticos na fase adulta (Figura 1) também foram observados, no entanto, por se tratar apenas de uma ocorrência, estes não foram levados em consideração para cálculo dos índices parasitários.

Dos 38 espécimes de *R. microlepis* examinados 94,7% estavam parasitados por *O. incognita* com intensidade média de 10 (0-24) parasitos por hospedeiro. E 100% estavam

parasitados por Digenea, com intensidade média de 259,09 (38-669) parasitos por hospedeiro. Os índices parasitários gerais estão representados na Tabela 1. Nas estações de cheia e seca do ciclo hidrológico do Lago Catalão diferenças significativas nos índices parasitários não foram observadas para os acantocéfalos (*O. incognita*) coletados. Em contrapartida a intensidade e abundância média de trematódeos digenéticos foram maiores na seca do que na cheia (Tabela 1).

Quanto a distribuição dos parasitos os dois táxons ocorreram simultaneamente ao longo das alças intestinais, com exceção da porção final (reto) onde nenhum parasito foi registrado (Figura 2). Os valores medianos de intensidade parasitária para *O. incognita* (Kruskal-wallis (38) = 56,84; = $p < 0,0001$) e Digenea (Kruskal-Wallis (12) = 49,34; $p < 0,0001$) tiveram variações entre as sete porções intestinais. Para Acanthocephala o teste post-hoc de Dunn's indicou que não há diferença na intensidade de acantocéfalos entre as porções 1, 2, 3, 4, 5 e 6 do tubo intestinal. A intensidade na porção 4 não difere da intensidade nas porções 2 e 3, porém é significativamente maior que as porções 1, 5, 6 e 7. Nas porções posteriores do tubo P5 e P7 a intensidade de acantocéfalos é significativamente menor quando comparadas com as demais porções ($p < 0,05$); Em Digenea, o teste post-hoc de Dunn's indicou que a intensidade parasitária é significativamente maior nas porções 1 a 4 quando comparada com as porções 5 a 7 ($p < 0,05$) (Figura 3).

3.2 Sítios de infecção, histopatologia qualitativa e IAH

O. incognita foi registrado em alta frequência livre no lúmen (99,5%) quando comparado com as camadas subsequentes do intestino, sendo que apenas 0,5% foram encontrados com a probóscide fixada na mucosa (Figuras 4 e 5A). A quase total restrição dos acantocéfalos ao lúmen e a camada mucosa explica as alterações histológicas típicas de acantocéfaloose como, leve compressão dos vilos, descamação e abrasão do epitélio e pequenos focos hemorrágicos (todas alterações de grau I) (Figuras 5F e 5G).

Ainda com relação aos sítios de infecção, uma clara preferência dos Digenea pela camada mucosa foi constatada, onde os cistos de metacercárias visualizados estavam restritos a região da lâmina própria (75,9%), seguido das camadas submucosa (11,9%), serosa (8,8%) e muscular (2,02%). Foram ainda registradas ocorrências na cavidade peritoneal (1,19%) e lúmen (0,03%) (Figuras 4 e 5A). Aparentemente as principais respostas teciduais expressas na presença das metacercárias de trematódeos digenéticos no intestino foram: hipertrofia dos vilos (alteração de estágio I) (Figura 5C), intensa infiltração leucocitária composta por mastócitos, linfócitos e células eosinofílicas gigantes (alteração de estágio I) (Figura 5H), formação de cápsulas fibrosas ao redor dos parasitos (alteração de estágio II) e focos de necrose adjacentes (alteração de grau III) (Figuras 5C, 5D e 5E). Todos esses danos, com exceção da hipertrofia dos vilos, também foram observados nas camadas submucosa, muscular e serosa quando havia a presença das metacercárias. Além destas, outras alterações foram visualizadas, contudo não puderam ser associadas a nenhum dos dois táxons em específico, já que estas ocorreram na presença de ambos.

Na mucosa, as vilosidades apresentaram descamação e abrasão, e em alguns pontos o epitélio de revestimento dos vilos estava completamente descolado ou ausente. Hiperplasia e hipertrofia de células caliciformes também foram observadas (alteração de grau I), e a superfície luminal do intestino estava recoberta de muco, indicando intensa atividade mucossecretora (Figura 5D). As camadas submucosa, muscular e serosa apresentaram edema, obstrução de vasos sanguíneos e pequenos infiltrados leucocitários. As frequências de ocorrência de cada dano relacionadas com as estações de cheia e seca estão representadas na Tabela 2.

O índice de alteração histopatológica (IAH) foi significativamente maior na estação seca ($358,8 \pm 99,22$) do que na cheia ($41,33 \pm 5,948$) (Figura 6). Na seca os valores de IAH registrados foram maiores que 100, indicando danos irreparáveis no órgão de acordo com a classificação estabelecida por Aguiar et al. (2018) adaptado de Poleksic e Mitrovic-Tutunduzic (1994). Na cheia esses valores mostraram variação de 15 a 58 sinalizando a incidência de danos leves até alterações mais severas no intestino. Com relação ao índice de alteração histopatológica por camada, as medianas para o IAH acusaram variância significativa entre elas (Kruskall-wallis (12) $p < 0,0479$), e apesar de valores de média maiores registrados para as camadas mucosa ($74,58 \pm 90,95$) e submucosa ($62,75 \pm 75,03$) comparados as camadas muscular ($37,33 \pm 50,83$) e serosa ($25,42 \pm 36,25$), o teste post-hoc de Dunn's não acusou diferença significativa entre as quatro diferentes camadas (Tabela 3).

4. Discussão

4.1 Índices parasitários e relações com o período hidrológico

A diversidade de endoparasitos metazoários de *Rhytiodus microlepis* foi descrita previamente por Silva de Souza et al. (2017), onde os autores também constataram a ocorrência do acantocéfalo *Octospiniferoides incognita*. Segundo os mesmos autores, esta espécie apresenta uma alta especificidade para a família Anostomidae. Na literatura os registros são compatíveis com essa assertiva, uma vez que esta mesma espécie de acantocéfalo também foi identificada em *Schizodon fasciatus* (Schmidt e Huggings, 1973; Lopes, 2010), *S. borelli* (Pavanelli et al. 2004), *Leporinus lacustres* (Guidelli et al. 2006) e *L. friderici* (Oliveira et al. 2016), todos peixes pertencentes a família Anostomidae. Pela primeira vez a ocorrência de Digenea no intestino de *R. microlepis* é relatada, no entanto análises mais refinadas são necessárias para identificação dos espécimes a fim de atingir níveis taxonômicos mais restritos.

Os índices parasitários no geral, apontaram alta prevalência (>90%) de ambos os táxons, Acanthocephala e Digenea em *R. microlepis*. Contudo, valores de intensidade e abundância foram maiores para Digenea do que para o acantocéfalo *O. incognita*. Guidelli et al. (2006) em um estudo realizado com duas espécies de anostomídeos verificou que os hospedeiros mostraram percentuais de parasitismo superiores a 90%, onde os trematódeos digenéticos encontrados

tiveram os maiores números totais de indivíduos, mas em contrapartida ocorreram numa baixa prevalência assim como as espécies de *Acanthocephala* referenciadas nesse mesmo estudo. As comunidades de parasitos têm fortes interações com o meio ambiente, e fatores como a sazonalidade e comportamento alimentar do hospedeiro podem causar respostas diferentes as flutuações sazonais que ocorrem no nível das águas na região amazônica (Dias e Tavares-Dias, 2015).

Em *R. microlepis* pode-se afirmar que um *boom* de metacercárias de trematódeos digenéticos ocorreu na estação seca, em decorrência dos altos valores de intensidade e abundância quando comparados com os resultados obtidos na estação cheia. Vital et al. (2011) em um trabalho realizado também em ambiente de várzea constatou um declínio de endoparasitos no intestino de *Pygocentrus nattereri* na estação de seca, contrário aos resultados obtidos neste estudo. Outros autores como Silva (2015) e Madi (2005) observaram maiores densidades de endoparasitos no período da seca, porém ambos autores levaram em consideração a sazonalidade pluviométrica. A propagação dos endoparasitos para os peixes está relacionada com a ecologia dos parasitos e seus hospedeiros (Olsen, 1974). No caso dos Digenea o ciclo de vida é mais complexo e existem muitas variações (Thatcher, 1993). Um típico exemplo é quando em estágio de cercária recém emergida do primeiro hospedeiro intermediário (um molusco), esta se transforma em um cisto (metacercária), o qual se adere à superfície de um item alimentar do hospedeiro definitivo (Eiras et al. 2010). Em *R. microlepis* foram detectados trematódeos digenéticos em dois estágios distintos, metacercária e adulto. As metacercárias são formas juvenis de Digenea que ocorrem em hospedeiros intermediários (HI) (Thatcher, 1993; Bartoli e Boudouresque, 2007), o que sugere que *R. microlepis* seja um HI, porém formas adultas também foram encontradas no intestino. Poulin e Cribb (2002) relatam que pelo menos 32 famílias de trematódeos digenéticos utilizam estratégias de encurtamento de ciclo, ou truncamento, em que há a eliminação de estágios de desenvolvimento larval. Em alguns casos, o truncamento envolve o uso do segundo hospedeiro intermediário como um hospedeiro definitivo, onde as metacercárias encistam e já eclodem para então amadurecem como adultos. O que pode ser o caso da espécie hospedeira alvo deste estudo. Levando em consideração todas essas informações não é possível saber como se dá a propagação dos trematódeos digenéticos em *R. microlepis*, uma vez que podem se tratar da mesma espécie de Digenea ocorrendo em estágios diferentes, ou duas espécies distintas, sendo que para uma *R. microlepis* atuaria como hospedeiro intermediário e para outra como hospedeiro definitivo.

Sabe-se que a oferta alimentar para peixes não-migradores no período de seca reduz drasticamente, em decorrência da diminuição no nível das águas amazônicas, o que culmina numa restrição espacial para os peixes (Goulding et al. 2003), por esta razão estudos acerca do ciclo de vida da espécie de Digenea encontrada em *R. microlepis* se fazem necessários para o entendimento da dinâmica de propagação desses endoparasitos, se ela ocorre via alimentação ou via direta.

4.2 Distribuição espacial dos parasitos no intestino e densidade

O trato alimentar dos peixes pode ser dividido em várias secções e cada espécie de parasito tem uma distribuição característica dentro do intestino (Simberloff, 1990; Holmes e Bartoli, 1993). Em *R. microlepis* tanto o acantocéfalo *O. incognita* quanto a sp de Digenea ocorreram de forma simultânea nas seis porções intestinais, com exceção do reto. Uma alta densidade de trematódeos digenéticos foi constatada nas quatro primeiras porções mostrando clara preferência pela região anterior do intestino, diferente do registrado para *O. incognita* que foi mais frequente nas porções intermediárias e posteriores do órgão. Adultos de trematódeos e cestoides, por exemplo, tem preferência pelo duodeno (Nkwengulila e Miwita, 2004), enquanto que os acantocéfalos já foram registrados ocorrendo em regiões anteriores, intermediárias, posteriores ou até mesmo em toda a extensão do intestino em caso de infecções maciças (Grey e Hayunga, 1980; Amin, 1987; Malta et al. 2001; Aguiar et al. 2018). Kennedy (2006) afirma que quando há uma infecção comum por mais de uma espécie de parasito no intestino, ocorre competição interespecífica, fazendo com que as espécies mais abundantes apresentem dominância com preferência a determinadas áreas do trato digestivo. Pouco se sabe a respeito dos mecanismos envolvidos na habilidade que os trematódeos digenéticos tem para selecionar seus padrões de distribuição dentro do hospedeiro, porém existe uma preferência por ocupação em sítios onde há produção abundante de proteases e sais biliares (Khanna e Yadav, 2004). Em um estudo realizado por Aguiar et al. (2018) em tambaquis infectados pelo acantocéfalo *Neoechinorhynchus buttnerae*, uma preferência pelas porções intermediárias do intestino foi observada, semelhante ao padrão encontrado em *R. microlepis*. Os autores associam que atividades digestivas e enzimáticas nas porções iniciais do intestino do tambaqui, onde estão localizados os cecos pilóricos, podem ser um fator limitante para a baixa densidade parasitária do acantocéfalo *N. buttnerae* nessas regiões, e que a preferência desses parasitos pelas porções intermediárias pode estar relacionada com a produção de aminoácidos, uma vez que são os principais componentes da nutrição dos acantocéfalos (Kennedy, 2006; Aguiar et al. 2018).

4.3 Sítios de infecção

O tamanho dos Digenea é muito variado, e embora muitas espécies de trematódeos sejam característicos por seu pequeno tamanho, os sítios de infecção ocupados por eles são menos variados em termos de distribuição radial do que os Nematoda, por exemplo (Crompton, 1973). Em *R. microlepis* mais da metade das metacercárias de trematódeos digenéticos encontradas ocupavam a mucosa, ficando restritas a região da lâmina própria. Esse padrão foi igualmente observado por Sima et al. (1994) em *Cichlasoma urophthalmus* onde as metacercárias foram mais prevalentes ocupando a região da lâmina própria dos vilos e a camada submucosa. Segundo Jennings (1968) O local de infecção dos Digenea no intestino é restrito quase que inteiramente ao

lúmen paramucoso, a própria mucosa ou tecidos epiteliais, e a maioria se alimenta de muco, tecido epitelial, sangue, elementos da digestão do hospedeiro e ainda produtos de sua própria secreção histolística. A preferência dos trematódeos digenéticos pela lâmina própria da mucosa intestinal pode ter uma explicação fisiológica uma vez que, essa região é altamente rica em capilares sanguíneos fenestrados (Ross e Pawlina, 2016) e a obtenção de nutrientes pelos Digenea nessas condições obviamente seria mais favorecida.

Os acantocéfalos se fixam ao intestino de seus hospedeiros definitivos com uma probóscide retrátil que pode ser cilíndrica ou globular, munida de ganchos (Thatcher, 2006). Os sítios de infecção ocupados por esses parasitos nas camadas subjacentes do intestino estão relacionados com a morfologia da probóscide e a profundidade na qual ela é capaz de penetrar na parede intestinal de seus hospedeiros (Tarachewski, 2000; Dezfuli et al. 2002). Aguiar et al. (2018) observou que o acantocéfalo *N. buttnerae* foi mais frequente livre no lúmen nos intestinos de *Colossoma macropomum*, assim como observado por De Oliveira et al. (2019) em *Piaractus brachypomus* parasitado por uma espécie de acantocéfalo do mesmo gênero. Além da captação nutricional citada anteriormente (Kennedy, 2006; Aguiar et al. 2018), a permanência de acantocéfalos em maioria livres no lúmen dos intestinos de *R. microlepis* pode estar relacionada com o deslocamento passivo através do fluxo gastrointestinal em direção a parte mais posterior do intestino (Tarachewski, 2000), onde há uma proporção maior de fêmeas maduras aumentando a probabilidade de contato e assim o acasalamento entre os sexos, onde os machos podem fertilizar as fêmeas antes de serem seletivamente perdidas (Kennedy e Lord, 1982; Crompton, 1985; Kennedy, 2006).

4.4 Histopatologia e IAH

A patogenicidade dos Digenea em peixes é bem pronunciada na fase larval, pois as metacercárias são mais agressivas para o hospedeiro do que as formas adultas (Takemoto et al. 2004; Pavanelli et al. 2008). Na literatura existem registros de alterações provocadas por metacercárias no tegumento, músculo, olho, fígado, rim e ovário de peixes (Eiras et al. 1999; Shareef e Abidi, 2015; Stumbo e Poulin, 2016; Lapera et al. 2017; Padrós et al. 2018). No intestino, estudos acerca das alterações histológicas ocasionadas por trematódeos digenéticos adultos em peixes são limitados (Dezfuli et al. 1997; Dezfuli et al. 2008; Dezfuli et al. 2009; Dezfuli et al. 2016) e quando direcionados para histopatologia de metacercárias, os registros são ainda mais restritos (Olson e Pierce, 1991; Faliex e Biagianti, 1987; Sima et al. 1994; Mladineo, 2006; Mladineo e Bocina, 2009; Dezfuli et al. 2013).

As principais alterações teciduais induzidas por metacercárias no trato digestivo de peixes são formação de cápsulas fibrosas, infiltração de leucócitos, destruição do epitélio que recobre as vilosidades, necrose e degeneração subsequentes (Dezfuli et al. 2016). Em *Cichlasoma urophthalmus* infectado por metacercárias de *Oligogonotylus manteri* essas modificações foram

igualmente observadas por Simas et al. (1994) e coincidiram com as respostas associadas a presença das metacercárias no intestino de *R. microlepis*, com exceção da descamação e abrasão epitelial que foram visíveis mesmo em locais sem a presença desses parasitos. A migração larval dos Digenea e encapsulamento nos tecidos corporais de peixes geralmente induz o desenvolvimento de lesões fibrogranulomatosas, que histologicamente são compostas de células epitelióides, muito semelhantes aos granulomas de mamíferos (Balouet e Baudin-Laurencin, 1986; Matisz et al. 2010; Noga et al. 1989; Roberts, 2012). Assume-se que as células epitelióides são tipicamente macrófagos transformados e tem o papel principal de fagocitar agentes patogênicos (Ferguson, 2006). Em *R. microlepis* além dos granulomas fibrosos, um tecido conjuntivo com infiltrado de leucócitos composto por mastócitos, linfócitos e eosinófilos foi observado adjacente as metacercárias, indicando resposta ativa do hospedeiro em combate a presença dos cistos. Os mastócitos atuam primariamente na ativação rápida de outras células como linfócitos, neutrófilos e macrófagos (Reite e Evensen, 2006). Existem registros de mamíferos infectados por helmintos onde os macrófagos foram capazes de matar larvas de trematódeos (McLaren e James, 1985), e eosinófilos e neutrófilos foram capazes de matar adultos e larvas de nematóides (Nfon et al. 2006; Hansen et al. 2011). Em peixes essas células são comumente envolvidas em infecções ocasionadas por helmintos (Dezfuli et al. 2008).

A patogenicidade dos Acanthocephala é principalmente associada a dois fatores: a densidade de vermes e a profundidade de penetração da probóscide nos tecidos do hospedeiro (Tarachewski, 2000). Em *R. microlepis* a densidade de acantocéfalos foi baixa e mais de 90% dos exemplares de *O. incognita* foram encontrados livres no lúmen. Danos superficiais são frequentemente associados a ocorrência dos acantocéfalos livres no lúmen como compressão, abrasão e descamação das vilosidades (Dezfuli et al. 2002; Dezfuli et al. 2009; Sanil et al. 2011; Jerônimo et al. 2017; Matos et al. 2017; De Oliveira et al. 2019). Esses achados foram igualmente descritos por Ferraz de Lima et al. (1990) em *Piaractus mesopotamicus* parasitado por *Echinorhynchus juncundus*, no entanto os autores também constataram a ocorrência discretos focos hemorrágicos associados a presença dos acantocéfalos, assim como visto em *R. microlepis*. Ações mecânicas de acantocéfalos no lúmen intestinal causam alterações na estrutura das vilosidades, uma vez que reduzem a área de absorção disponível, e se em níveis mais severos podem afetar a capacidade digestiva dessas estruturas (Sanil et al. 2011).

O muco dos peixes é a primeira linha de defesa iniciada pela mucosa intestinal (Lamont, 1992). A presença de helmintos endoparasitas no intestino, podem produzir hiperplasia e hipertrofia das células caliciformes aumentando o nível de secreção de muco no intestino (Dezfuli et al. 2009; Bosi et al. 2005), o que foi muito perceptível em *R. microlepis* nas regiões com a presença de acantocéfalos e metacercárias. Estudos realizados por Bosi et al. (2005) e Dezfuli et al. (2010) comprovam essa assertiva, uma vez que os autores quantificaram os efeitos das infecções ocasionadas por helmintos entéricos na densidade de células produtoras de muco, e constataram

que o número dessas células aumentou significativamente em intestinos de peixes infectados.

Os valores do índice de alteração histopatológica (IAH) observados neste estudo foram significativamente maiores na estação seca. Neste período, a densidade de endoparasitos intestinais foi maior e os danos decorrentes foram mais severos (>100). Em um estudo pioneiro realizado por Aguiar et al. (2018) em *Colossoma macropomum* maciçamente parasitado pelo acantocéfalo *Neoechinorhynchus buttnerae*, os autores verificaram que valores de IAH foram maiores em segmentos intestinais onde havia penetração da probóscide desses parasitos. Apesar da diferença existente entre as perguntas e os parâmetros analisados entre este estudo e o de Aguiar et al. (2018), o uso da análise semiquantitativa proposta por esses mesmos autores foi uma ferramenta efetiva para mensurar os danos ocasionados pelos endoparasitos no intestino de *R. microlepis*. Os resultados obtidos nesse estudo refletem apenas uma curta janela de tempo no ciclo sazonal do lago Catalão, necessitando de um acompanhamento para que se possa entender como as oscilações no nível dos rios podem influenciar os índices e densidade parasitária, e ainda as respostas do hospedeiro a longo prazo.

5. Referências bibliográficas

- Aguiar LS, Oliveira MIB, Matos LV, Gomes ALS, Costa JI, Silva GS (2018) Distribution of the acanthocephalan *Neoechinorhynchus buttnerae* and semiquantitative analysis of histopathological damage in the intestine of tambaqui (*Colossoma macropomum*). Parasitology Research DOI: 10/0.1007/s00436-018-5840-8
- Amato JFR, Boeger WA, Amato SB (1991) Protocolo para laboratório: coleta e processamento de parasitas do pescado. Rio de Janeiro: Imprensa Universitária, UFRRJ 81p
- Amin OM (1987) Acanthocephala from lake fishes in Wisconsin: ecology and host relationships of *Pomphorhynchus bulbocolli* (Pomphorhynchidae). J Parasitol 73(2):278-289
- Balouet G, Baudin LF (1986) Granulomatous nodules in fish: an experimental assessment in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson and turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). J Fish Dis 9: 417-419
- Bancroft JD, Gamble M (2002) Theory and practice of histological techniques. 5th Ed. Edinburgh. Churchill Livingstone Pub 172(5):593-620
- Bartoli P, Boudouresque (2007) Effect of the digenean parasites of fish on the fauna of Mediterranean lagoons. Parasitologia 49:111-117
- Bosi G, Dezfuli BS (2015) Responses of *Squalius cephalus* intestinal mucous cells to *Pomphorhynchus laevis*. Parasitol Int 64(2):167-172
- Bosi G, Arrighi S, Di Giancamillo A, Domeneghini G (2005) Histochemistry of glycoconjugates in mucous cells of *Salmo trutta* uninfected and naturally parasitized with intestinal helminths. Dis Aquat Org 64:45-51
- Bush AO, Holmes JC (1986) Intestinal helminths of lesser scaup ducks: an interactive community.

- Can J Zool 64: 42-152
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak W (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J Parasitol* 83:575-583
- Crompton DWT (1973) The sites occupied by some parasitic helminths in the alimentary tract of vertebrates. *Biol Rev* 48(1):27-83
- Crompton DWT (1985) Reproduction. In *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge: Cambridge University Press
- De Oliveira MIB, De Matos LV, Da Silva LA, Chagas EC, Da Silva GS, Gomes ALS (2019) The digestive tube of *Piaractus brachypomus*: gross morphology, histology/histochemistry of the mucosal layer and the effects of parasitism by *Neoechinorhynchus* sp. *Journal of Fish Biology* DOI: 10.1111/jbf.13934
- Dezfuli BS, Manera M, Onestini S, Rossi R (1997) Histopathology of the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. associated with digenetic trematodes: a light and electron microscopic study. *Journal of Fish Diseases* 20:317-322
- Dezfuli BS, Giari L, Simoni E, Bosi G, Manera M (2002) Histopathology, immunohistochemistry and ultrastructure of the intestine of *Leuciscus cephalus* (L.) naturally infected with *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *J Fish Dis* 25:7-14
- Dezfuli BS, Giovinazzo G, Lui A, Giari L (2008) Inflammatory response to *Dentitruncus truttae* (Acanthocephala) in the intestine of brown trout. *Fish & Shellfish Immunology* 24:726-733
- Dezfuli BS, Szekely C, Giovinazzo G, Hills K, Giari L (2009) Inflammatory response to parasitic helminthes in the digestive tract of *Anguilla anguilla* (L.). *Aquaculture* 296:1-6
- Dezfuli BS, Pironi F, Campisi M, Shinn AP, Giari L (2010) The response of intestinal mucous cells to the presence of enteric helminths: their distribution, histochemistry and fine structure. *J Fish Dis* 33:481-488
- Dezfuli BS, Lui A, Pironi F, Manera M, Shinn AP, Lorenzoni M (2013) Cell types and structures involved in tench, *Tinca tinca* (L.), defence mechanisms against a systemic digenean infection. *J Fish Dis* 36:577-585
- Dezfuli BS, Manera M, Giari L, DePasquale JA, Bosi G (2015) Occurrence of immune cells in the intestinal wall of *Squalius cephalus* infected with *Pomphorhynchus laevis*. *Fish Shellfish Immunol* 47:556-564
- Dezfuli BS, Bosi G, DePasquale JA, Manera M, Giari L (2016) Fish innate immunity against intestinal helminths. *Fish Shellfish Immunol* 50:274-287
- Dias MKR, Tavares-Dias M (2015) Seasonality affects the parasitism levels in two fish species in the eastern Amazon region. *J Appl Ichthyol* 31:1049-1055
- Eiras JC (1994) *Elementos de ictioparasitologia*. Porto: Fundação Eng. António de Almeida, 339pp
- Eiras JC, DIAS MLGG, Pavanelli GC, Machado MH (1999) Histological studies on the effects

- of *Clinostomum marginatum* (Digenea, Clinostomidae) in its second intermediate host *Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricariidae) of the upper Paraná River, Brazil. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 21:237-241
- Eiras JC, Takemoto RM, Pavanelli GC (2010) Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil. Maringá, PR: Ed.Clichetec: NUPELIA. 333pp
- Faliex E, Biagiatti E (1987) Metacercarial infection of marine fish by *Labratrema minimus* (Digenea, Bucephalidae): histo-cytological analysis of host-parasite relationship. *Aquaculture* 67(1-2): 229-232
- Ferguson HW (2006) Systemic Pathology of Fish: a Text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and Their Responses in Disease, Scotian Press, London
- Ferraz de Lima CLB, Ceccarelli PS, Reis NS (1990) Aspectos histopatológicos da acantocefalose em *Piariactus mesopotamicus* Holmberg, 1887. *B Téc CEPTA, Pirassununga* 3(1):55-63
- Garavello JC, Britski HA (2003) Family Anostomidae (Headstanders). In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris Jr and Carl J. Checklist of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: Editora Universitária da PUCRS 71-84p
- Goulding M, Barthem R, Ferreira E (2003) The Smithsonian atlas of the Amazon. Princeton Editorial Associate, Inc Hong Kong. 253p
- Grey AJ, Hayunga EG (1980) Evidence for alternative site selection by *Glaridacris laruei* (Cestoidea: Caryophyllidea) as a result of interspecific competition. *J Parasitol* 66(2):371-372
- Guifelli G, Tavechio WLG, Takemoto RM, Pavanelli GC (2006) Fauna parasitária de *Leporinus friderici* (Characiformes, Anostomidae) da planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil. *Acta Sci Biol Sci* 28(3):281-290
- Hansen RDE, Trees AJ, Bah GS (2011) A worm's best friend: recruitment of neutrophils by *Wolbachia* confounds eosinophil degranulation against the filarial nematode *Onchocerca ochengi*. *Proc Biol Sci* 278:2293-2302
- Holmes JC, Bartoli P (1993) Spatio-temporal structure of the communities of helminths in the digestive tract of *Sciaena umbra* L. 1758. *Parasitology*. 106:519-26
- Jennings JB (1968) Nutrition and digestion. In: Chemical Zoology, Vol II (ed. By M. Florking & BT Scheer). Academic Press, New York, NY 303-326pp
- Jerônimo GT, Pádua SB, BeloMAA, Chagas EC, Taboga SR, Maciel PO, Martins ML (2017) *Neoechinorhynchus buttnerae* (Acanthocephala) infection in farmed *Colossoma macropomum*: a pathological approach. *Aquaculture* 469:124-127
- Kadlec D, Simkov A, Jarkovsky J, Gelnar M (2003) Parasite communities of freshwater fish under flood conditions. *Parasitol Res* 89: 272-283
- Kennedy CR, Lord D (1982) Habitat specificity of the acanthocephalan *Acanthocephalus clavula* (Dujardin, 1845) in eels *Anguilla anguilla* (L.). *Journal of Helminthology* 56:121-9

- Kennedy CR (2006) Ecology of Acanthocephala. Cambridge University Press, Cambridge, 249p
- Khanna DR, Yadav PR (2004) Biology of Helminthes. Discovery Publishing, Hardcover
- Lamont JT (1992) Mucus: the front line of intestinal mucosal defense, Ann. N.Y. Acad Sci. 664: 190-201
- Lapera IM, Silva AC, Canônico BM, Perezin GF, Tebaldi JH, Pala G, Manrique WG, Hoppe EGL (2017) Metazoan parasites of *Plagioscion squamosissimus*, an invasive species in the Tietê River, São Paulo, Brazil. Bras J Vet Parasitol 26(2):143-151
- Lopes MS (2010) Ocorrência e estudo taxonômico de Acanthocephala parasitos de peixes provenientes do reservatório da usina hidrelétrica de itaipu binacional e do seu habitat natural, rio Paraná. Dissertação de mestrado em Microbiologia e Parasitologia Aplicada, Universidade Federal Fluminense, 100p
- Madi RR (2005) Utilização dos helmintos parasitos de *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Galmard, 1824) (Cichlidae: Perciformes) como indicadores ambientais. Tese de Doutorado, Universidade estadual de Campinas, Campinas, São Paulo
- Malta JCO (1982) Os argulídeos (Crustácea: Branchiura) da Amazônia Brasileira, Aspectos da ecologia de *Dolops geayi* (Bouvier, 1897) e *Argulus juparaensis* (Castro, 1950). Acta Amazônica 12(4): 701-705
- Malta JCO, Gomes ALS, Andrade SMS, Varella AMB (2001) Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechinorhynchus buttnerae* Golvan, 1956, (Eoacanthocephala: Neoechinorhynchidae) em tambaquis jovens *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) cultivados na Amazônia Central. Acta Amazônica 31(1):133-143
- Matisz CE, Goater CP, Bray D (2010) Density and maturation of rodlet cells in brain tissue of fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to trematode cercariae, Int J Parasitol 40:307-312
- Matos LV, Oliveira MIB, Gomes ALS, Silva GS (2017) Morphological and histochemical changes associated with massive infection by *Neoechinorhynchus buttnerae* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) in the farmed freshwater fish *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 from the Amazon State, Brazil. Parasitol Res 116:1029–1037. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5384-3>
- McKay DM, Shute A, Lopes F (2017) Helminths and intestinal barrier function. Tissue Barriers 5:1. <https://doi.org/10.1080/21688370.2017.12833.85>
- McLaren DJ, James SL (1985) Ultrastructure studies of the killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by activated macrophages in vitro, Parasite Immunol 7:315-331
- Mladineo I (2006) Histopathology of five species of *Didymocystis* spp. (Digenea: Didymozoidae) in Cage-reared Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus thynnus*). Veterinary Research Communications 30:475-484
- Mladineo I, Bocina I (2009) Type and ultrastructure of *Didymocystis wedli* and *Koellikeriodes*

- intestinalis* (Digenea, Didymozoidae) cysts in captive Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* Linnaeus, 1758). *J Appl Ichthyol* 25:762-765
- Nfon CK, Makepeace BL, Njongmeta LM, Tanya VN, Bain O, Trees AJ (2006) Eosinophils contribute to killing of adult *Onchocerca ochengi* within onchocercomata following elimination of *Wolbachia*. *Microbe Infect* 8: 2698-2705
- Nkwengulila G, Miwita C (2004) Spatial distribution of parasites along the gut of the catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) (Clariidae) from the Mwanza Gulf, Lake Victoria. *Tanz J Sci* 30(1):63-70
- Noga EJ, Dykstra MJ, Wright JF (1989) Chronic inflammatory cell with epithelial cell characteristics in teleost fishes. *Vet Pathol* 26:429-437
- Oliveira MSB, Gonçalves RA, Ferreira DO, Pinheiro DA, Neves LR, Dias MKR, Tavares-Dias M (2016) Parasitos metazoários de duas populações de *Leporinus friderici* (Characiformes, Anostomidae) do sistema do rio Amazonas no Brasil. *Anais do XIV Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos*. Florianópolis, SC
- Olsen OW (1974) *Animal parasites: Their life cycles and ecology*, 3rd ed. University Park Press, Baltimore, Maryland, 346p
- Olson RE, Pierce JR (1991) Histopathology of the trematode *Stephanostomum* sp. in rex sole, *Glyptocephalus zachirus*. *Transactions of the American Microscopical Society* 110(1):75-79
- Padrós F, Knudsen R, Blasco-Costa I (2018) Histopathological characterization of retinal lesions associated to *Diplostomum* species (Platyhelminthes: Trematoda) infection in polymorphic Arctic charr *Salvelinus alpinus*. *IJP: Parasites and Wildlife* 7:68-74
- Pavanelli GC, Machado MH, Takemoto RM, Guidelli GM, Lizama MLAP (2004) Helminth fauna of fishes: diversity and ecological aspects. In: Thomaz SM, Agostinho AA, Hahn NS (Eds.) *The Upper Paraná river and its Floodplain: Physical aspects. Ecology and conservation* 309-329p
- Pavanelli GC, Eiras JC, Takemoto RM (2008) *Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. Maringá-PR: EDUEM
- Poleksic V, Mitrovic-Tutundzic V (1994) Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: Muller R, Lloyd R (eds) *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. Blackwell Sci, Apud RIGOLIN, Cambridge, 339–352pp
- Poulin R, Cribb T (2002) Trematode life cycles: short is sweet?. *Trends in Parasitology* 18:4
- Reite OB, Evensen O (2006) Inflammatory cells of teleostean fish: a review focusing on mast cells/eosinophilic granule cells and rodlet cells. *Fish Shellfish Immunol* 20(2):192-208. doi:10.1016/j.fsi.2005.01.012
- Roberts RJ (2012) *Fish Pathology*, fourth ed., Chicester: Wiley-Blackwell
- Ross MH, Pawlina W (2016) *Histologia: texto e atlas em correlação com a biologia celular e*

- molecular, 7th edn. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro
- Sanil NK, Asokan PK, John L, Vijayan KK (2011) Pathological manifestations of the acanthocephalan parasite, *Tenuiproboscis* sp. in the mangrove red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) (Forsskål, 1775), a candidate species for aquaculture from Southern India. *Aquaculture* 310:259-266
- Santos GM, Ferreira EJG, Zuanon JA (2006) Peixes comerciais de Manaus. Projeto Manejo dos Recursos Naturais da Várzea – ProVárzea 144p
- Shareef PA, Abidi SMA (2015) Studies on the epidemiology and histopathology of *Euclinostomum heterostomum* (Trematoda; Digenea) infection in *Channa punctata* from North India. *Arch Pol Fish* 23:133-140
- Silva CS (2015) Análise ontogenética e sazonal dos endoparasitos intestinais de *Tometes* sp. ‘krânponhã’ (Serrasalmidae reofilico). Dissertação de mestrado em Ecologia Aquática e Pesca, Belém, Pará, 597ed
- Silva de Souza AK, Porto DBP, Silva EAS, Malta JCO (2017) Parasites of *Rhytiodus microlepis* Kner, 1859 (Characiformes: Anostomidae) collected in lakes of the amazonian flood plain. *Neotropical Helminthology* 11(1):37-43
- Sima AR, Aguirre ML, Scholz T, Guemez RJ (1994) Histopathology of the intestine of *Cichlasoma urophthalmus* (Günther) infected with metacercariae of *Oligogonotylus manteri* Watson, 1976 (Digenea: Cryptogonimidae). *Journal of Fish Diseases* 17:523-526
- Simberloff D (1990) Free-living communities and alimentary tract helminthes: hypothesis and pattern analyses. In: Esch G, Bush A, Aho J (Eds.) *Parasites communities: Pattern and processes*. Chapman and Hall. 289-319p
- Stumbo AD, Poulin R (2016) Possible mechanism of host manipulation resulting from a diel behaviour pattern of eye-dwelling parasites?. *Parasitology* 143:1261-1267
- Takemoto RM, Lizama M, Guidelli G, Pavanelli GC (2004). Parasitos de peixes de águas continentais. In: Ranzani-Paiva MJT, Takemoto RM, Lizama M. (Org) de Los. *A sanidade de organismos aquáticos*. Editora São Paulo, 177-198p
- Taraschewski H (2000) Host-parasite interactions in Acanthocephala: a morphological approach. *Adv Parasitol* 46:1179
- Thatcher VE (1993) Trematódeos Neotropicais. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas, Brasil. 553p
- Thatcher VE (2006) *Amazon Fish Parasites*. 2. ed. Sofia-Moscow: Pensoft Publishers.
- Vasconcelos HCG, Tavares-Dias M (2014) Influência da sazonalidade na infestação de *Ergasilus turucuyus* (Copepoda: Ergasilidae) em *Acestrorhynchus falcirostris* e *Hemiodus unimaculatus* (Osteichthyes: Characiformes) do Reservatório Coaracy Nunes, estado do Amapá, Brasil. *Biota Amazônia*. Doi: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v4n1p106-110>

Vital JF, Varella AMB, Porto DB, Malta JCO (2011) Sazonalidade da fauna de metazoários de *Pygocentrus nattereri* (Kner, 1858) no lago Piranha (Amazonas, Brasil) e a avaliação de seu potencial como indicadora da saúde do ambiente. *Biota Neotrop* 11:1

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Índices parasitários dos endoparasitos encontrados em espécimes de *Rhytidodus microlepis* coletados no Lago Catalão, Amazonas, Brasil. HE: hospedeiros examinados; NTP: número total de parasitos. Prevalência (P), intensidade média (IM), abundância média (AM), amplitude (AMP), máximo (MÁX), mínimo (MÍN), espécie central (EC) de acordo com a classificação de Bush e Holmes (1986).

Parasitos	Índice geral							
	HE	NTP	P (%)	IM	AM	AMP	MÁX	MÍN
<i>Octospiniferoides incognita</i>	38	360	94,7	10	9,47	24	24	0
Digenea	12	3.109	100	259,08	259,08	661	699	38
Parasitos	Seca							
	HE	NTP	P (%)	IM	AM	AMP	MÁX	MÍN
<i>Octospiniferoides incognita</i>	28	254	96,4	9,4	9,07	24	24	0
Digenea	6	2.623	100	437,16	437,16	524	699	175
Parasitos	Cheia							
	HE	NTP	P (%)	IM	AM	AMP	MÁX	MÍN
<i>Octospiniferoides incognita</i>	10	106	90	11,7	10,6	23	23	0
Digenea	6	486	100	81	81	102	140	38

Tabela 2. Classificação e frequência de ocorrência (%) dos danos registrados no intestino de *Rhytidodus microlepis* nas estações de cheia e seca.

Camada intestinal	Grau do dano	Alteração tecidual	Cheia (%)	Seca (%)	
Mucosa	I	Descamação	4,76	7,69	
	I	Abrasão	12,69	11,11	
	I	Compressão	11,11	4,27	
	I	Hipertrofia dos vilos	0	14,52	
	I	Hipertrofia de células caliciformes	26,98	15,38	
	I	Hemorragia	0	0,85	
	I	Infiltração leucocitária	28,57	15,38	
	II	Desaparecimento dos vilos	1,58	0	
	II	Hiperplasia de células caliciformes	7,93	12,82	
	II	Fibrose	6,34	14,52	
	III	Necrose	0	3,41	
	Submucosa	I	Metaplasia	0	0
		I	Infiltração leucocitária	32,25	32,14
I		Edema	58,06	30,35	
II		Hiperplasia	0	0	
II		Obstrução de vasos sanguíneos	3,22	12,5	
II		Fibrose	6,45	16,07	
III		Necrose	0	8,92	
Muscular	I	Infiltração leucocitária	10	9,09	
	I	Edema	85	51,51	
	II	Obstrução de vasos sanguíneos	5	9,09	
	II	Hiperplasia	0	0	
	II	Fibrose	0	21,21	
	II	Metaplasia	0	0	
	III	Necrose	0	9,09	
Serosa	I	Infiltração leucocitária	0	10	
	I	Edema	76,92	36,66	
	II	Obstrução de vasos sanguíneos	15,38	20	
	II	Fibrose	7,69	30	
	III	Necrose	0	3,33	

Tabela 3. Valores médios do índice de alteração histopatológica (IAH) das camadas intestinais de *Rhytiodus microlepis* (n=12). Amplitude (AMP), máximo (MÁX), mínimo (MÍN).

Camada intestinal	IAH	AMP	MÁX	MÍN
Mucosa	74,58 ± 90,95	263	269	6
Submucosa	62,75 ± 75,03	232	236	4
Muscular	37,33 ± 50,83	130	132	2
Serosa	25,42 ± 36,25	130	131	1

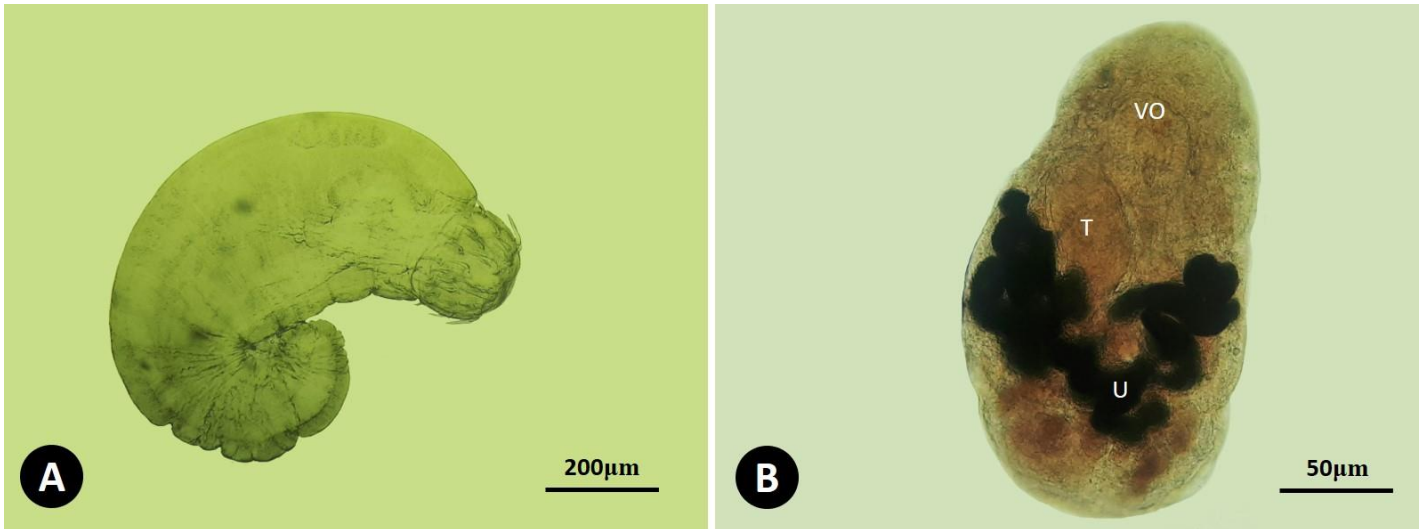


Figura 1. Endoparasitos encontrados no intestino de *Rhytiodus microlepis* do lago Catalão, Amazonas, Brasil. A – Acanthocéfalo da espécie *Octospiniferoides incognita*; B – Espécime não identificado de Digenea com órgãos sexuais visíveis. Ventosa oral (VO), testículo (T), útero (U).



Figura 2. Frequência de ocorrência dos endoparasitos intestinais encontrados no intestino de *Rhytidus microlepis* coletados no lago Catalão, Amazonas, Brasil.

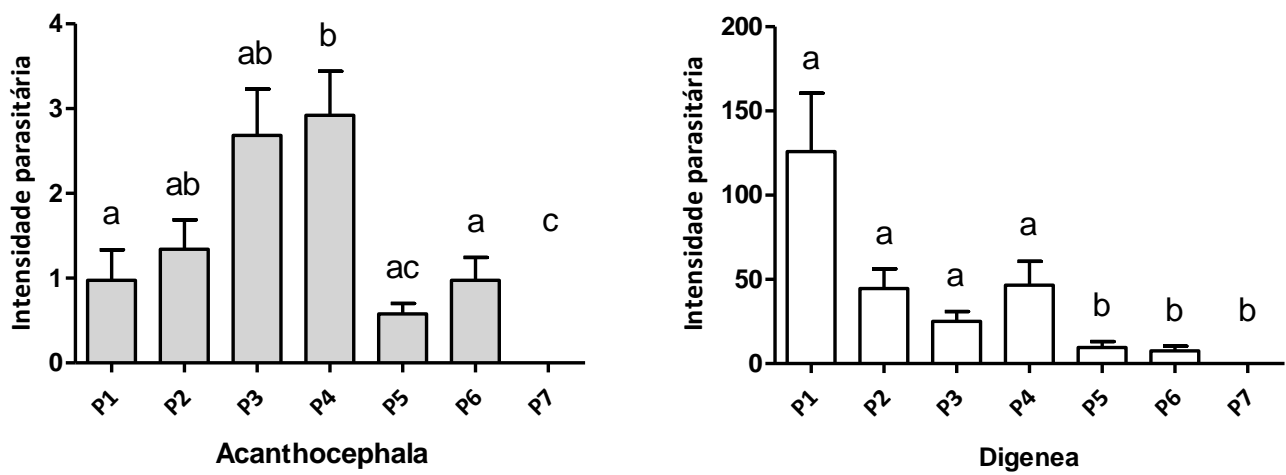


Figura 3. Valores medianos da intensidade parasitária entre as diferentes porções intestinais para Acanthocephala (Kruskal-Wallis (38) = 56,84; $p < 0,0001$) e Digenea (Kruskal-Wallis (12) = 49,34; $p < 0,0001$). Letras diferentes indicam diferenças significativas das densidades entre as porções ($p < 0,05$)

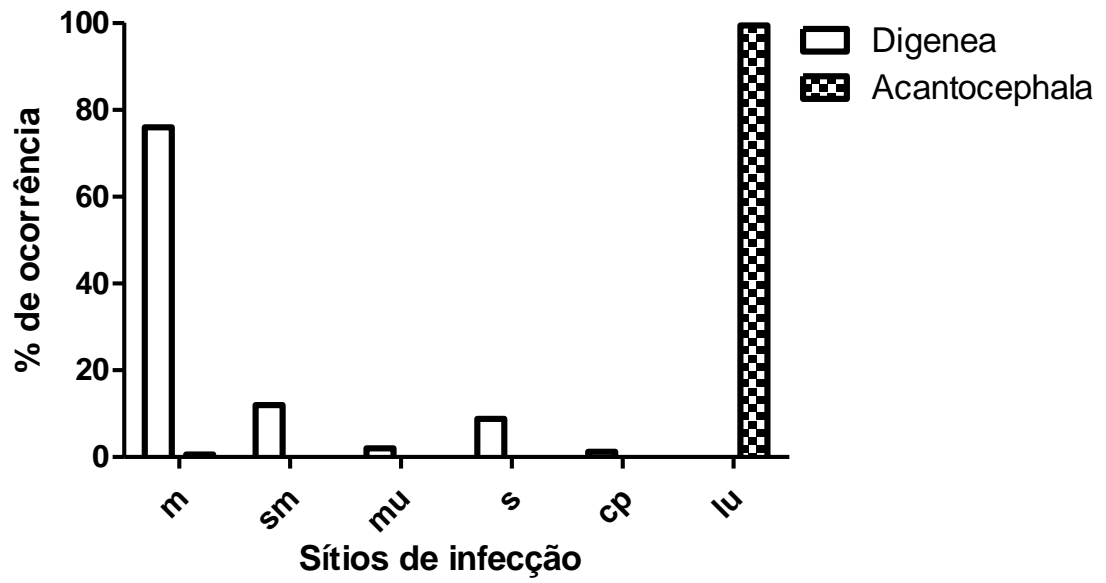


Figura 4. Frequência de ocorrência dos dois táxons de endoparasitos nos sítios de infecção do intestino de *Rhytiodus microlepis*. Mucosa (m), submucosa (sm), muscular (mu), serosa (s), cavidade peritoneal (cp), lúmen (lu).

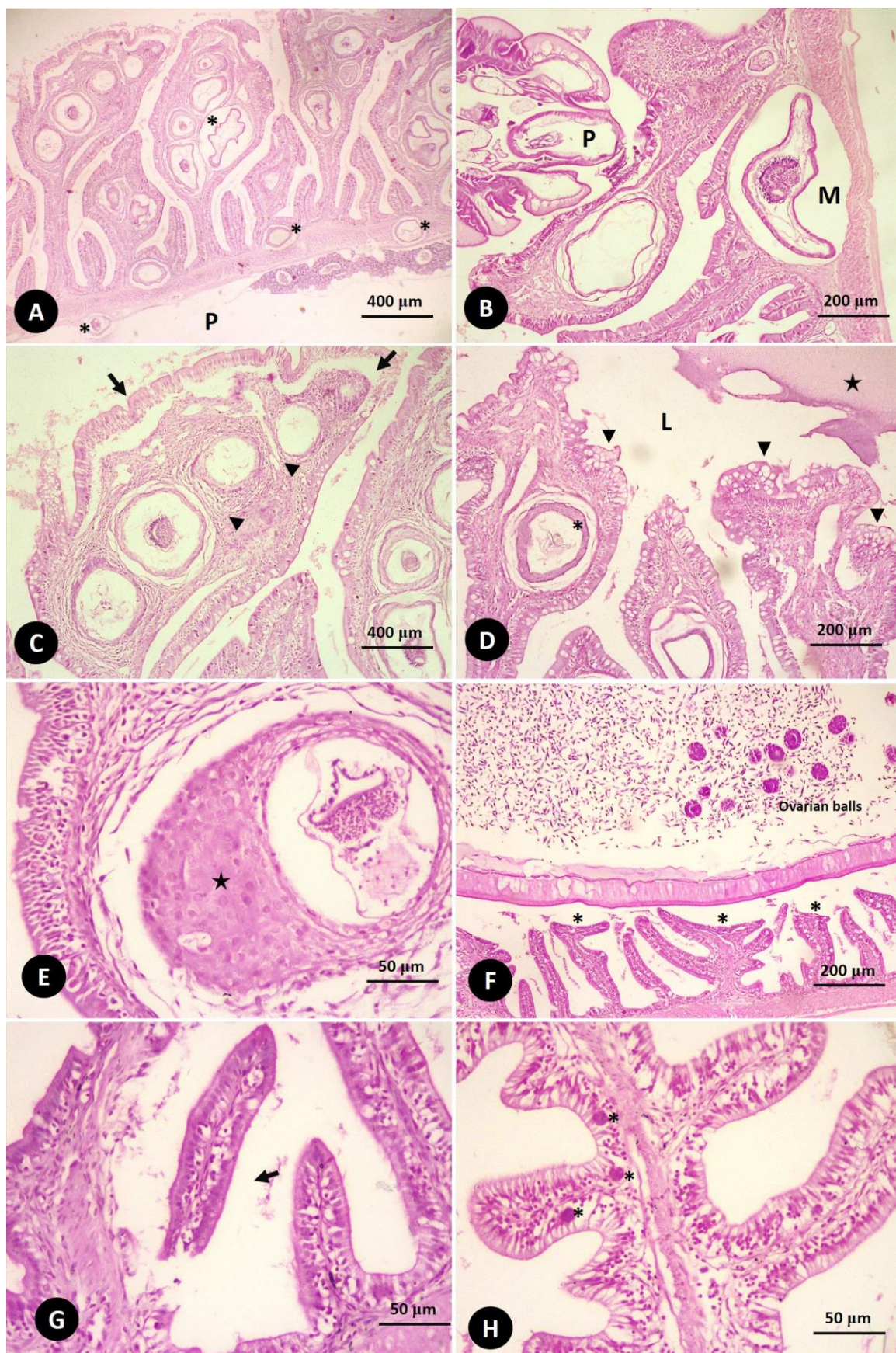


Figura 5. Histopatologia do intestino de *Rhytidus microlepis* ocasionada por metacercárias de Digenea e *Octospiniferoides incognita* (Acanthocephala). A – Sítios de infecção ocupados por metacercárias (asteriscos) nas quatro camadas intestinais; B – *O. incognita* (P) e metacercária de Digenea (M) co-ocorrendo na mesma região. C – Metacercárias ocupando a lâmina própria ocasionando hipertrofia do vilão, abrasão (setas) e focos de necrose (cabeças de seta) adjacentes aos cistos; D – Hiperplasia e hipertrofia de células caliciformes (cabeças de seta), muco no lúmen (estrela), fibrose (asterisco); E – Detalhe de um granuloma fibroso ao redor de uma metacercária (estrela); F – Metassoma de fêmea de *O. incognita* causando compressão dos vilos (asteriscos); G – Descamação do vilão (seta) e H – Infiltração leucocitária com numerosos linfócitos, mastócitos e células eosinófilas gigantes (asteriscos).

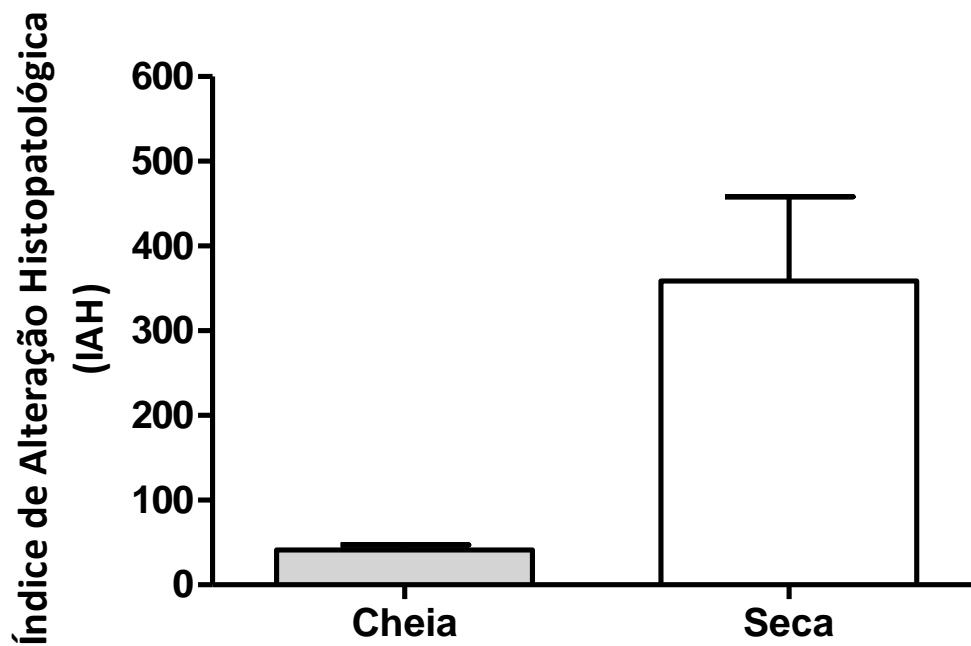


Figura 6. Valores médios do índice de Alteração Histopatológica (IAH) obtidos da análise semiquantitativa das alterações no intestino de *Rhytiodus microlepis* coletados nas estações de cheia e seca do lago Catalão, Amazonas, Brasil. (Test-t (12) = 3,194; p = 0,0096).

CONCLUSÕES GERAIS

Considerando a falta de estudos morfológicos e histoquímicos direcionados para teleósteos herbívoros, o primeiro capítulo consistiu em conhecer a morfologia e histoquímica do tubo digestório de *Rhytiodus microlepis*, com o objetivo de fornecer subsídio para as análises do segundo capítulo. O tubo digestório se mostrou semelhante aos de outras espécies de peixes teleósteos, no entanto, diferenças estruturais marcantes foram observadas, especificamente no intestino, onde a mucosa mostrou um padrão de pregas uniforme em todo seu comprimento, com exceção do reto; histologicamente, a camada muscular do intestino exibiu um padrão nunca antes relatado para peixes na literatura, consistindo em três túnicas musculares. Acreditamos que essas modificações estruturais tenham estreita relação com a alimentação da espécie alvo, uma vez que a ingestão, digestão e absorção de material vegetal é muito mais trabalhosa.

No segundo capítulo, os estudos foram direcionados para os endoparasitos intestinais, uma vez que somente no intestino foi detectada a presença destes. Pela primeira vez a ocorrência de uma espécie de metacercária de Digenea, ainda não identificada, foi registrada para *R. microlepis*. Com base nos resultados obtidos do primeiro capítulo, foi possível determinar os padrões de distribuição das espécies de endoparasitos e inferir sob aspectos da histopatologia relacionada a cada táxon de endoparasito encontrado. As metacercárias mostraram clara preferência pelas porções iniciais e os acantocéfalos da espécie *Octospiniferoides incognita* mostraram preferência pelas porções intermediárias. Com relação ao índice de alteração histopatológica, maiores valores foram obtidos na estação da seca, onde os índices acusaram maior intensidade parasitária, especialmente de metacercárias de Digenea. As camadas mais afetadas foram a mucosa e submucosa, em vista de os endoparasitos foram mais frequentes no lúmen, lâmina própria e a submucosa.

Como perspectivas futuras, estudos adicionais serão necessários para entender como a dinâmica sazonal em fluxo contínuo, englobando todas as estações do ciclo hidrológico, afetariam a estruturação das infracomunidades de endoparasitos e como os hospedeiros responderiam a estas oscilações. Este foi o primeiro estudo realizado com correlações entre a fauna de endoparasitos, bioindicadores e sazonalidade. Espera-se contribuir com informações sobre como as flutuações nos níveis dos rios podem afetar a relação entre parasito, hospedeiro e ambiente.