

# **Aquicultura no Brasil: Novas Perspectivas**

**Volume 1**

**Aspectos Biológicos, Fisiológicos e Sanitários de  
Organismos Aquáticos**



O livro “Aquicultura no Brasil – Novas Perspectivas” faz parte das ações do:



Financiado por:

Edital: 081/2013-L1 - Processo número: 487639/2013-8

CNPq: 472054/2013-9



Ministério da  
Educação

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
& Abastecimento

Ministério do  
Desenvolvimento Agrário

Ministério da  
Ciência, Tecnologia  
& Inovação

Ministério da  
Pescaria e Aquicultura



**Marcos Tavares-Dias**

Embrapa Amapá (Macapá, AP)

**Wagner dos Santos Mariano**

Universidade Federal de Tocantins (Araguaína, TO)  
(Organizadores)

# **Aquicultura no Brasil: novas Perspectivas**

**Volume 1**

**Aspectos Biológicos, Fisiológicos e Sanitários de  
Organismos Aquáticos**



## **Copyright © dos autores**

Todos os direitos garantidos. Qualquer parte desta obra pode ser reproduzida, transmitida ou arquivada desde que levados em conta os direitos dos autores.

---

**Marcos Tavares-Dias; Wagner dos Santos Mariano [Orgs.]**

**Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. [Vol. 1].** São Carlos: Pedro & João Editores, 2015. 429p.

**ISBN. 978-85-7993-271-7**

1. Aquicultura. 2. Organismos aquáticos cultiváveis. 3. Tecnologia de pescados. 4. Autores. I. Título.

CDD - 590

---

**Capa:** Hélio Márcio Pajeú

**Ilustrações da capa:** Andréa Franklin Queiroz Alves

**Editores:** Pedro Amaro de Moura Brito & João Rodrigo de Moura Brito

### **Conselho Científico da Pedro & João Editores:**

Augusto Ponzio (Bari/Itália); João Wanderley Geraldi (Unicamp/Brasil); Nair F. Gurgel do Amaral (UNIR/Brasil); Maria Isabel de Moura (UFSCar/Brasil); Maria da Piedade Resende da Costa (UFSCar/Brasil); Rogério Drago (UFES/Brasil).



**Pedro & João Editores**

[www.pedroejoaoeditores.com.br](http://www.pedroejoaoeditores.com.br)

13568-878 - São Carlos – SP

2015



## SUMÁRIO

|  |     |
|--|-----|
| <b>1. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados</b>   | 11  |
| Marcos Tavares-Dias  |     |
| <b>2. Perfil hematológico e bioquímico de filhotes de tracajás <i>Podocnemis unifilis</i> alimentados com níveis variados de proteína bruta</b>  | 31  |
| Eliane Tie Oba Yoshioka, Rafaella de Aguiar Costa, Alexandre Renato Pinto Brasiliense, Antonielson Silva Castelo, Alan Cristian Dozo Martins, Bruna Marjara Picanço da Silva & Leandro Fernandes Damasceno |     |
| <b>3. Fisiologia de arraias de água doce: subsídios para aplicabilidade na aquicultura</b>   | 45  |
| Adriano Teixeira de Oliveira, Jackson Pantoja Lima, Paulo Henrique Rocha Aride, Marcos Tavares-Dias & Jaydione Luiz Marcon   |     |
| <b>4. Marcadores moleculares e suas aplicações na aquicultura</b>  | 75  |
| Fábio Mendonça Diniz   |     |
| <b>5. Efeitos da manipulação do fotoperíodo em peixes</b>  | 97  |
| Galileu Crovatto Veras, Marcos Ferreira Brabo, Luis David Solis Murgas & Ana Lúcia Salaro  |     |
| <b>6. Estado atual do melhoramento genético de peixes no Brasil</b>  | 119 |
| Danielly Veloso Blanck & Adriana Kazue Takako  |     |
| <b>7. Adaptações fisiológicas à hipóxia em peixes com respiração exclusivamente aquática</b>   | 139 |
| Gabryella Gomes Rodrigues & Fabio de Jesus Castro  |     |
| <b>8. Morfologia do trato digestório e hábitos alimentares da traíra (<i>Hoplias malabaricus</i>), cascudo (<i>Hypostomus pusalurum</i>) e muçum (<i>Synbranchus marmoratus</i>)</b>                       | 161 |
| Sathyabama Chellappa, Emilly Kataline Rodrigues Pessoa, Luciana Araujo Montenegro, Nirlei Hirachy Costa Barros & Naisandra Bezerra da Silva  |     |
| <b>9. O exercício: uma estratégia promissora de manejo para a piscicultura brasileira</b>  | 183 |
| Gilberto Moraes, Araceli Hackbarth, Fernando Fabrizzi, Gustavo A. Rojas & Luciana C. Almeida   |     |

|  |     |
|--|-----|
| <b>10. Crescimento muscular compensatório e metabolismo energético de <i>Cyprinus carpio</i> realimentados após privação de alimento</b>   | 205 |
| Mariana Forgati, Anderson Domingues Gomes, Peter Kirschnik & Flavia Sant'anna Rios   |     |
| <b>11. Hipóxia e exposição ao ar como agentes estressores</b>  | 227 |
| Beatriz Cardoso Roriz, Marcela Alves Santuci, Rodrigo Garófallo Garcia & Wagner dos Santos Mariano   |     |
| <b>12. Fitoterápicos na piscicultura: revisão comentada</b>  | 237 |
| Sérgio Henrique Canello Schalch, Fernanda Menezes França & Sandra Maria Pereira da Silva   |     |
| <b>13. Antimicrobianos utilizados no controle de doenças de peixes em sistemas de cultivo</b>  | 245 |
| Natália Sayuri Shiogiri, Claudinei da Cruz & Marisa Narciso Fernandes  |     |
| <b>14. Sanidade e perspectivas para ranicultura</b>  | 263 |
| Scheila Annelise Pereira, Natália da Costa Marchiori, Gabriela Tomas Jerônimo, José Luiz Pedreira Mouriño & Maurício Laterça Martins   |     |
| <b>15. Parasitos de peixes Characiformes e seus híbridos cultivados no Brasil</b>  | 283 |
| Gabriela Tomas Jerônimo, Lidiane Franceschini, Aline Cristina Zago, Reinaldo José da Silva, Santiago Benites de Pádua, Arlene Sobrinho Ventura, Márcia Mayumi Ishikawa, Marcos Tavares-Dias & Maurício Laterça Martins |     |
| <b>16. Infecções por acantocéfalos: um problema para a produção de peixes</b>  | 305 |
| Edsandra Campos Chagas, Patrícia Oliveira Maciel & Sandro Loris Aquino-Pereira   |     |
| <b>17. Sanidade de polvos: estado atual e perspectivas</b>   | 329 |
| Katina Roumbedakis & Maurício Laterça Martins  |     |
| <b>18. Sanidade de moluscos bivalves em relação as biotoxinas marinhas</b>   | 355 |
| Edison Barbieri  |     |
| <b>19. Avanços da fisiologia do estresse e suas implicações em espécies nativas</b>  | 381 |
| Elisabeth Criscuolo Urbinati, Fábio Sabbadin Zanuzzo, Mônica Serra, Carla Patrícia Bejo Walkers, Rafael Estevan Sabioni  |     |

## APRESENTAÇÃO

Aquicultura é a atividade agropecuária que mais cresce no Brasil, produzindo importantes fontes de proteínas para consumo do homem. Dentre as atividades desenvolvidas pela aquicultura, destaca-se a produção de peixes (Piscicultura), além da criação de moluscos (Malacocultura), camarões (Carcinicultura), rãs (Ranicultura), entre outras atividades. O Livro **“Aquicultura no Brasil: Novas Perspectivas”** é uma contribuição de diversos pesquisadores brasileiros de inúmeras instituições de ensino e pesquisa que se debruçaram sobre o tema para apresentar as novidades sobre a aquicultura brasileira, em 35 capítulos.

Portanto, este livro, em dois volumes, aglutina informações sobre organismos aquáticos cultiváveis, e essas informações são recentes, relevantes e abrangem a Produção, Reprodução, Sanidade, Ecologia e Biologia, Tecnologia de Pescados, outros. Trata-se de informações sobre o estado da arte e novas informações nas diversas áreas do cultivo intensivo de organismos aquáticos.

Esta publicação teve apoio financeiro do Conselho Nacional Científico e Tecnológico (CNPq), Chamada 081/2013 – Processo 487639/2013-8, ação coordenada pelo Núcleo de Estudo, Pesquisa e Extensão em Piscicultura e Aquicultura Familiar do Tocantins – NepeAQUI/UFT.

O Volume 1 apresenta capítulos sobre os diferentes aspectos Biológicos, Fisiológicos e Sanitários. O Volume 2 apresenta informações sobre Produção e Reprodução de organismos aquáticos.

Os autores



## PREFÁCIO

A produção de organismos aquáticos representa, no contexto mundial, uma importante alternativa de subsistência de uma população cada vez mais numerosa, como fonte alimentar e como fonte de renda. O Brasil, por sua vez, destaca-se, nos diferentes relatórios e números que explicam a atividade no mundo, como o país com as taxas mais altas de crescimento. No país, a aquicultura é a atividade de produção animal que mais cresce. O crescimento da aquicultura brasileira é um fenômeno que acontece junto com o crescimento da pesquisa na área e por sua valorização pelas diferentes instituições de pesquisa, ensino e extensão, bem como pelas agências de fomento em nosso país. O livro “Aquicultura no Brasil: Novas Perspectivas”, organizado por pesquisadores de duas importantes instituições de pesquisa e ensino brasileiras, é um indicador deste processo de crescimento, com sua diversidade de temas e a contribuição de grupos de pesquisa de diferentes regiões do país. A abordagem ampla deste livro, em seus 35 capítulos, permite ao leitor conhecer as diferentes linhas de pesquisa, com as quais a ciência da aquicultura avança no Brasil. Em seu primeiro volume, a obra trata de Aspectos biológicos, fisiológicos e sanitários de peixes teleósteos e cartilaginosos, quelônios, anfíbios e moluscos, abordando estudos de natureza básica e dados relacionados à produção. No segundo volume, a obra trata da Produção e Reprodução de Organismos Aquáticos, e da mesma forma, apresenta estudos com enfoque básico passando por estudos que apontam os avanços da tecnologia na produção de organismos aquáticos.

O leitor tem em suas mãos um farto material de leitura e uma interessante coletânea de estudos que compõem o atual contexto da pesquisa e tecnologia da aquicultura brasileira.

Elisabeth Criscuolo Urbinati  
FCAV e Caunesp



# CAPÍTULO 1

## PARÂMETROS SANGUÍNEOS DE REFERÊNCIA PARA ESPÉCIES DE PEIXES CULTIVADOS

Marcos Tavares-Dias<sup>1</sup>

### INTRODUÇÃO

A análise dos constituintes sanguíneos pode fornecer relevantes informações para o auxílio diagnóstico e prognóstico de condições mórbidas em populações de peixes de ambiente natural e ambiente de cativeiro. As variáveis relativas ao eritrograma são de grande valia na identificação de processos anemiantes. O leucograma e trombograma podem ser empregados como auxílio diagnóstico nos processos infecciosos (Tavares-Dias & Moraes, 2004; Ranzani-Paiva et al., 2013); além disso, os leucócitos podem fornecer informações sobre o sistema imunológico da espécie de peixe.

Diversos parâmetros bioquímicos do sangue são importantes também para avaliação da saúde do peixe (Tavares-Dias & Moraes, 2007). Como o conteúdo iônico de fluido corporal pode variar de acordo com fatores ambientes e outros fatores, assim parâmetros bioquímicos sanguíneos de peixes podem ser usados para uma variedade de propósitos, principalmente para identificar dano celular causado por exposição às substâncias tóxicas, infecção por agentes patogênicos e manipulação traumática. Podem ser usados também para avaliar os efeitos de dietas na função osmoregulatório, bem como para medir as respostas aos estressores ambientais. Portanto, é necessário conhecer os valores sanguíneos de referência para cada peixe e estabelecer possíveis particularidades da espécie.

Em geral, as espécies de peixes regulam suas características sanguíneas de acordo com as condições ambientais (Tavares-Dias &

---

Tavares-Dias. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

Moraes, 2004; Ranzani-Paiva et al., 2013). Além disso, tais características são acompanhadas por variação interespecífica e intraespecífica. As variações interespecíficas podem ser causadas por fatores bióticos e abióticos. Porém, as variações intraespecíficas parecem ser influenciadas por características próprias do indivíduo. No caso dos leucócitos sanguíneos, tais variações podem também estar relacionadas ao caráter migratório dessas células de defesa entre os órgãos leucopoéticos e a circulação, bem como a respostas aos estímulos ambientais que cada indivíduo está sujeito. Portanto, são variações normalmente esperadas em peixes, onde cada indivíduo pode responder de maneira distinta aos diferentes estímulos ambientais. Assim, caracterização dos parâmetros sanguíneos dos peixes pode contribuir para a melhor compreensão da influência dos processos mórbidos na hematologia da espécie.

*Piaractus mesopotamicus* (pacu), *Colossoma macropomum* (tambaqui), *Brycon amazonicus* (matrinxã), *Brycon orbignyanus* (piracanjuba), *Prochilodus lineatus* (curimatã), *Leporinus macrocephalus* (piaçu), híbrido de *P. mesopotamicus* x *C. macropomum* (tambacu) são espécies nativas de grande importância econômica, devido às suas características de crescimento rápido, boa conversão alimentar, facilidade de reprodução induzida e até mesmo por características apropriadas à pesca esportiva. Além dessas espécies algumas espécies não nativas têm sido de interesse zootécnico, assim *Oreochromis niloticus* (tilápia-do-nilo), híbrido de *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* (tilápia vermelha), *Cyprinus carpio* (carpa-comum) e *Ictalurus punctatus* (bagre do canal) foram introduzidas em pisciculturas de algumas regiões do Brasil. Como esses peixes tem contribuído para a produção da piscicultura nacional (MPA, 2013), e os parâmetros bioquímicos e hematológicos fornecem informações relevantes sobre as condições fisiológicas e saúde do indivíduo e sua população, este estudo destaca o hemograma, composição bioquímica sérica e subestrutura desses peixes de cultivo intensivo.



## PEIXES E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Para este estudo 40 espécimes de *B. amazonicus* com 180 dias de idade (311.0-556.0 g e 28.0-34.0 cm), 40 *B. orbignyanus* com 272 dias de idade (360.0-628.5 g e 29.5-36.0 cm), 40 *C. macropomum* com 124 dias de idade (369.5-873.0 g e 26.0-37.0 cm), 40 *P. mesopotamicus* com 352 dias de idade (301.5-839.0 g e 24.5-34.0 cm), 40 híbrido de tambacu com 180 dias de idade (199.0-418.5g e 22.0-29.0 cm), 40 *C. carpio* com 90 dias de idade (88.0-220.0 g e 19.0-24.0 cm), 40 *L. macrocephalus* com 180 dias de idade (103.5-712.0 g e 20.5-36.5 cm), 40 *O. niloticus* sexualmente revertida e com 130 dias de idade (93.5-290.0 g e 17.0-25.0 cm), 40 *I. punctatus* com 355 dias de idade (98.5-834.5 g e 25.0-44.5 cm), 40 híbrido de tilápia *O. niloticus* x *O. aureus* com 135 dias de idade (98.0-159.5 g e 18.0-20.5 cm) e 40 *P. lineatus* com 172 dias de idade (84.5-375.0 g e 17.0-32.0 cm) foram adquiridos de uma mesma piscicultura comercial na região Sertãozinho, estado de São Paulo. Todos os peixes eram espécimes híbridos, estavam sem lesões internas ou externas e foram amostrados no período de primavera e verão (outubro a março).

Os peixes foram cultivados condições ambientais semelhantes no intuito de se eliminar o efeito do ambiente. Assim, durante alevinagem todos receberam ração comercial farelada contendo 42,0% de proteína total e depois a extrusada (2,0 mm de espessura) com 35,0%. A partir daí, foram mantidos em viveiros de engorda com 1000 m<sup>2</sup> e passaram a receber ração extrusada (4,0 mm de espessura) com 28% de proteína total. Durante o período de cultivo a temperatura da água nos viveiros variou de 24,5 a 30,2°C; pH de 6,7 a 6,9; oxigênio dissolvido de 5,4 a 6,2 mg/L; condutividade elétrica de 115,6 a 129,8 µS/cm e índice pluviométrico de 0,0 a 342,0 mm<sup>3</sup>.

Para análises hematológicas os peixes foram transportados de maneira adequada para o Centro de Aquicultura da Unesp (Caunesp), Jaboticabal, São Paulo, e aclimatados durante 15 dias. As metodologias usadas para as análises hematológicos são aqueles descritas por Tavares-Dias & Morais (2007) e Ranzani-Paiva et al. (2013).

## VALORES DE REFERENCIAS DOS PARÂMETROS SANGUÍNEOS PARA 11 ESPÉCIES DE PEIXES

As variações de referência dos parâmetros sanguíneos são descritas como 1º e 3º percentil para *P. mesopotamicus* (Tabela 1), *C. macropomum* (Tabela 2), híbrido tambacu (Tabela 3), *B. amazonicus* (Tabela 4), *B. orbignyianus* (Tabela 5), *L. macrocephalus* (Tabela 6), *P. lineatus* (Tabela 7), *I. punctatus* (Tabela 8), *Cyprinus carpio* (Tabela 9), *O. niloticus* (Tabela 10) e híbrido de *O. niloticus* x *O. aureus* (Tabela 11) Tais parâmetros sanguíneos mostram variações intra e interespecíficas para essas 11 espécies de peixes.

**Tabela 1.** Parâmetros sanguíneos de referência para pacu *Piaractus mesopotamicus* de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75º Percentil | Mínimo-Máximo  |
|-------------------------------------|---------|------------------|----------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 69,7    | 53,3–96,2        | 36,1–201,7     |
| Proteínas totais (g/dL)             | 4,4     | 4,2–4,8          | 3,8–8,2        |
| Sódio (mmol/L)                      | 136,5   | 133,0–138,0      | 129,0–145,0    |
| Potássio (mmol/L)                   | 4,5     | 4,1–5,3          | 3,0–6,0        |
| Cálcio (mmol/L)                     | 10,7    | 9,9–11,1         | 8,8–13,0       |
| Magnésio (mmol/L)                   | 3,1     | 2,8–3,6          | 1,8–6,9        |
| Cloreto (mmol/L)                    | 109,5   | 106,0–115,5      | 102,0–121,0    |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /µL) | 3,400   | 3,050–4,000      | 2,500–4,400    |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 12,8    | 12,0–13,0        | 9,9–15,0       |
| Hematócrito (%)                     | 40,0    | 39,0–42,5        | 36,0–49,0      |
| VCM (fL)                            | 119,1   | 107,9–131,1      | 97,6–156,0     |
| CHCM (g/dL)                         | 31,0    | 30,2–32,3        | 26,8–34,5      |
| Trombócitos (µL)                    | 65.606  | 51.128–86.615    | 36.111–117.857 |
| Leucócitos (µL)                     | 22.843  | 17.952–31.743    | 2778–62.300    |
| Linfócitos (µL)                     | 12.597  | 7.760–16.996     | 1.111–33.019   |
| Monócitos (µL)                      | 2.129   | 1.038–3300       | 167–6.853      |
| Neutrófilos (µL)                    | 4.879   | 3.124–7.925      | 1.103–20.225   |
| LG-PAS (µL)                         | 857     | 497–1.568        | 0–15.575       |
| Eosinófilos (µL)                    | 1.060   | 616–1.830        | 111–8.901      |
| Linfócitos (%)                      | 54,5    | 44,5–62,0        | 23,0–77,0      |
| Monócitos (%)                       | 9,0     | 7,0–12,0         | 2,0–29,0       |
| Neutrófilos (%)                     | 22,0    | 15,5–32,5        | 7,0–54,0       |
| LG-PAS (%)                          | 4,5     | 2,0–6,0          | 0–25,0         |
| Eosinófilos (%)                     | 5,0     | 3,0–8,5          | 1,0–19,0       |

**Tabela 2.** Parâmetros sanguíneos de referência para tambaqui *Colossoma macropomum* de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75 <sup>o</sup> Percentil | Mínimo-Máximo  |
|-------------------------------------|---------|------------------------------|----------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 57,9    | 49,0–72,8                    | 31,7–102,9     |
| Proteínas totais (g/dL)             | 3,5     | 3,3–3,6                      | 2,9–4,1        |
| Sódio (mmol/L)                      | 155,0   | 152,5–157,5                  | 146,0–162,0    |
| Potássio (mmol/L)                   | 3,1     | 2,7–3,6                      | 1,8–5,5        |
| Cálcio (mmol/L)                     | 10,7    | 10,3–11,4                    | 8,2–12,5       |
| Magnésio (mmol/L)                   | 2,8     | 2,6–3,2                      | 2,2–4,3        |
| Cloreto (mmol/L)                    | 122,0   | 118,0–127,5                  | 111,0–141,0    |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL) | 3,340   | 3,070–3,615                  | 2,440–5,190    |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 10,3    | 9,1–11,0                     | 6,3–12,4       |
| Hematócrito (%)                     | 37,0    | 36,0–40,0                    | 26,0–47,0      |
| VCM (fL)                            | 113,6   | 106,0–120,9                  | 70,8–142,9     |
| CHCM (g/dL)                         | 27,3    | 24,1–29,4                    | 20,2–36,5      |
| Trombócitos (μL)                    | 71.820  | 59.853–92.087                | 22.133–170.301 |
| Leucócitos (μL)                     | 186.545 | 13.299–28.839                | 2767–59.221    |
| Linfócitos (μL)                     | 7619    | 3385–11.604                  | 1217–36.125    |
| Monócitos (μL)                      | 1697    | 1.148–2.312                  | 370–7.385      |
| Neutrófilos (μL)                    | 7.712   | 5355–11.249                  | 913–33.149     |
| LG-PAS (μL)                         | 112     | 0–733                        | 0–4.145        |
| Eosinófilos (μL)                    | 289     | 0–842                        | 0–5.046        |
| Linfócitos (%)                      | 39,5    | 23,5–54,0                    | 14,0–84,0      |
| Monócitos (%)                       | 9,0     | 6,5–14,0                     | 2,0–21,0       |
| Neutrófilos (%)                     | 46,5    | 30,0–59,5                    | 8,0–73,0       |
| LG-PAS (%)                          | 1,0     | 0–3,5                        | 0–18,0         |
| Eosinófilos (%)                     | 1,5     | 0–4,0                        | 0–22,0         |

**Tabela 3.** Parâmetros sanguíneos de referência para híbrido de *Piaractus mesopotamicus x Colossoma macropomum* (tambacu) de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75 <sup>o</sup> Percentil | Mínimo-Máximo |
|-------------------------------------|---------|------------------------------|---------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 89,9    | 75,0-127,3                   | 61,1-192,8    |
| Proteínas totais (g/dL)             | 3,2     | 3,0-3,4                      | 2,8-3,8       |
| Sódio (mmol/L)                      | 151,0   | 144,0-154,5                  | 127,0-163,0   |
| Potássio (mmol/L)                   | 3,6     | 2,5-4,3                      | 1,8-8,5       |
| Cálcio (mmol/L)                     | 10,3    | 9,9-11,0                     | 8,4-12,9      |
| Magnésio (mmol/L)                   | 2,3     | 2,8-3,4                      | 2,3-3,9       |
| Cloreto (mmol/L)                    | 113,5   | 107,0-120,0                  | 91,0-144,0    |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL) | 2,640   | 2,440-2,960                  | 1,540-4,550   |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 9,4     | 8,6-11,9                     | 6,6-17,5      |
| Hematócrito (%)                     | 44,5    | 40,0-49,0                    | 30,0-56,0     |
| VCM (fL)                            | 158,0   | 137,8-180,5                  | 94,0-363,6    |
| CHCM (g/dL)                         | 22,5    | 18,9-28,7                    | 15,0-48,6     |
| Trombócitos (μL)                    | 42.591  | 28.782-57.129                | 7.800-110.000 |
| Leucócitos (μL)                     | 21.187  | 11.921-27.809                | 5853-78.200   |
| Lnfócitos (μL)                      | 6.707   | 3.098-11.861                 | 1.046-53.958  |
| Monócitos (μL)                      | 339     | 112-597                      | 0-2.015       |
| Neutrófilos (μL)                    | 9.255   | 6.931-15.497                 | 3.857-35.464  |
| LG-PAS (μL)                         | 339     | 0-597                        | 0-2.015       |
| Eosinófilos ((μL)                   | 0       | 0-1                          | 0-25          |
| Lnfócitos (%)                       | 34,0    | 21,5-52,5                    | 5,0-69,0      |
| Monócitos (%)                       | 2,0     | 1,0-3,0                      | 0-7,0         |
| Neutrófilos (%)                     | 56,0    | 41,5-73,0                    | 22,0-89,0     |
| LG-PAS (%)                          | 0       | 0-1,0                        | 0-3,0         |
| Eosinófilos (%)                     | 2,0     | 1,0-3,0                      | 0-19,0        |

**Tabela 4.** Parâmetros sanguíneos de referência para *Brycon amazonicus* de cultivo intensivo.

| Parâmetros                                | Mediana | 25-75º Percentil | Mínimo-Máximo  |
|---|---------|------------------|----------------|
| Glicose (mg/dL)                           | 70,8    | 64,0–77,4        | 38,0–215,7     |
| Proteínas totais (g/dL)                   | 4,1     | 3,6–4,3          | 3,2–6,4        |
| Sódio (mmol/L)                            | 152,5   | 145,5–160,0      | 139,0–168,0    |
| Potássio (mmol/L)                         | 2,1     | 1,5–3,1          | 1,0–7,3        |
| Cálcio (mmol/L)                           | 11,0    | 10,0–11,6        | 8,9–13,7       |
| Magnésio (mmol/L)                         | 2,8     | 2,6–3,1          | 1,6–4,8        |
| Cloreto (mmol/L)                          | 120,5   | 115,0–128,0      | 98,0–147,0     |
| Eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ) | 3,625   | 3,270–4,105      | 2,300–4,530    |
| Hemoglobina (g/dL)                        | 11,0    | 9,2–12,6         | 6,8–17,7       |
| Hematócrito (%)                           | 40,0    | 38,5–43,0        | 25,0–52,0      |
| VCM (fL)                                  | 105,8   | 97,6–123,8       | 82,2–144,2     |
| CHCM (g/dL)                               | 29,4    | 29,4–31,0        | 18,2–44,3      |
| Trombócitos ( $\mu\text{L}$ )             | 44.724  | 32.622–61.781    | 22.182–166.737 |
| Leucócitos ( $\mu\text{L}$ )              | 6.970   | 3.418–13.592     | 1.503–75.032   |
| Lnfócitos ( $\mu\text{L}$ )               | 34.036  | 26.388–47.986    | 15.594–99.536  |
| Monócitos ( $\mu\text{L}$ )               | 1.676   | 1.058–2776       | 0–6.675        |
| Neutrófilos ( $\mu\text{L}$ )             | 1.676   | 1.058–2776       | 0–6.675        |
| Lnfócitos (%)                             | 17,0    | 8,0–27,5         | 2,0–45,0       |
| Monócitos (%)                             | 4,0     | 2,0–5,5          | 0–12,0         |
| Neutrófilos (%)                           | 80,0    | 69,5–84,0        | 55,0–96,0      |

**Tabela 5.** Parâmetros sanguíneos de referência para *Brycon orbignyianus* de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75 <sup>o</sup> Percentil | Mínimo-Máximo |
|-------------------------------------|---------|------------------------------|---------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 67,5    | 59,0–77,2                    | 47,7–114,2    |
| Proteínas totais (g/dL)             | 3,8     | 3,4–4,2                      | 2,5–6,2       |
| Sódio (mmol/L)                      | 143,0   | 140,0–149,0                  | 135,0–153,5   |
| Potássio (mmol/L)                   | 3,2     | 2,8–3,5                      | 2,0–5,2       |
| Cálcio (mmol/L)                     | 10,8    | 10,2–11,3                    | 9,0–12,5      |
| Magnésio (mmol/L)                   | 3,0     | 2,8–3,5                      | 1,8–4,9       |
| Cloreto (mmol/L)                    | 116,0   | 113,0–120,0                  | 103,0–127,0   |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL) | 3,222   | 3,047–3,562                  | 2,110–4,235   |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 10,7    | 9,7–11,8                     | 8,4–13,1      |
| Hematócrito (%)                     | 40,0    | 38,0–42,0                    | 35,0–47,0     |
| VCM (fL)                            | 121,4   | 108,3–133,8                  | 91,5–199,1    |
| CHCM (g/dL)                         | 26,7    | 24,4–29,8                    | 19,5–35,6     |
| Trombócitos (μL)                    | 20.289  | 17.422–32.990                | 11.228–54.152 |
| Leucócitos (μL)                     | 21.967  | 18.833–28.665                | 9601–37.520   |
| Lnfócitos (μL)                      | 3.251   | 2.049–4.471                  | 709–9.005     |
| Monócitos (μL)                      | 1.096   | 564–2.135                    | 147–4.976     |
| Neutrófilos (μL)                    | 17.899  | 14.026–20.757                | 7488–29.783   |
| Lnfócitos (%)                       | 16,0    | 8,5–19,5                     | 6,0–28,0      |
| Monócitos (%)                       | 5,0     | 3,0–9,5                      | 1,0–15,0      |
| Neutrófilos (%)                     | 80,0    | 71,5–83,0                    | 60,0–92,0     |

**Tabela 6.** Parâmetros sanguíneos de referência para *Leporinus macrocephalus* de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75 <sup>o</sup> Percentil | Mínimo-Máximo |
|-------------------------------------|---------|------------------------------|---------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 55,8    | 49,8–66,4                    | 39,4–87,0     |
| Proteínas totais (g/dL)             | 4,5     | 4,1–5,0                      | 3,3–6,2       |
| Sódio (mmol/L)                      | 163,0   | 159,0–166,0                  | 154,0–175,0   |
| Potássio (mmol/L)                   | 2,5     | 1,7–3,2                      | 1,0–5,9       |
| Cálcio (mmol/L)                     | 11,4    | 10,4–12,5                    | 8,9–14,7      |
| Magnésio (mmol/L)                   | 3,6     | 3,3–4,0                      | 2,0–4,4       |
| Cloreto (mmol/L)                    | 123,5   | 115,0–133,5                  | 102,0–162,0   |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL) | 2,650   | 2,110–2,940                  | 0,950–4,000   |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 10,9    | 10,1–11,5                    | 7,4–13,7      |
| Hematócrito (%)                     | 36,0    | 33,5–40,0                    | 26,0–48,0     |
| VCM (fL)                            | 135,1   | 122,2–178,9                  | 96,8–381,8    |
| CHCM (g/dL)                         | 31,0    | 26,5–34,3                    | 17,6–45,4     |
| Trombócitos (μL)                    | 49.936  | 29.845–64.109                | 9.700–88.571  |
| Leucócitos (μL)                     | 13.610  | 7.057–19.467                 | 1.264–133.333 |
| Lnfócitos (μL)                      | 6.680   | 2.373–15.186                 | 252–108.000   |
| Monócitos (μL)                      | 237     | 70–523                       | 0–14.667      |
| Neutrófilos (μL)                    | 2.992   | 1.652–5.532                  | 603–15.826    |
| Basófilos(μL)                       | 592     | 190–1.417                    | 0–5.353       |
| Lnfócitos (%)                       | 60,5    | 40,0–83,0                    | 2,0–92,0      |
| Monócitos (%)                       | 2,0     | 1,0–4,0                      | 0–12,0        |
| Neutrófilos (%)                     | 30,5    | 10,0–48,5                    | 4,0–91,0      |
| Basófilos (%)                       | 4,0     | 3,0–8,0                      | 0–24,0        |

**Tabela 7.** Parâmetros sanguíneos de referência para *Prochilodus lineatus* de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75 <sup>o</sup> Percentil | Mínimo-Máximo |
|-------------------------------------|---------|------------------------------|---------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 45,2    | 35,8–58,8                    | 29,3–133,3    |
| Proteínas totais (g/dL)             | 3,7     | 3,4–4,0                      | 2,4–4,7       |
| Sódio (mmol/L)                      | 142,0   | 138,0–144,0                  | 100,0–152,0   |
| Potássio (mmol/L)                   | 2,6     | 2,1–3,2                      | 1,3–5,3       |
| Cálcio (mmol/L)                     | 10,4    | 9,7–10,9                     | 8,0–11,9      |
| Magnésio (mmol/L)                   | 3,0     | 2,8–3,5                      | 2,4–4,0       |
| Cloreto (mmol/L)                    | 114,0   | 106,0–120,0                  | 58,0–153,0    |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL) | 3,040   | 2,845–3,530                  | 2,300–4,730   |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 13,8    | 11,7–14,9                    | 7,6–18,7      |
| Hematócrito (%)                     | 39,0    | 34,5–44,0                    | 29,0–58,0     |
| VCM (fL)                            | 130,3   | 98,5–155,1                   | 71,8–226,6    |
| CHCM (g/dL)                         | 35,5    | 28,3–41,0                    | 17,9–55,0     |
| Trombócitos (μL)                    | 13.322  | 6.003–34.791                 | 3.200–79.800  |
| Leucócitos (μL)                     | 20.794  | 11.918–33.560                | 3.763–66.422  |
| Lnfócitos (μL)                      | 4.451   | 1.292–10.904                 | 376–48.701    |
| Monócitos (μL)                      | 933     | 408–1.824                    | 0–17.339      |
| Neutrófilos (μL)                    | 9.797   | 3.882–20.790                 | 684–39.907    |
| Eosinófilos (μL)                    | 394     | 0–782                        | 0–7.971       |
| Lnfócitos (%)                       | 24,5    | 10,0–47,0                    | 3,0–80,0      |
| Monócitos (%)                       | 6,0     | 2,0–12,0                     | 0–52,0        |
| Neutrófilos (%)                     | 65,5    | 41,0–76,5                    | 15,0–93,0     |
| Eosinófilos (%)                     | 2,0     | 0–3,0                        | 0–12,0        |



**Tabela 8.** Parâmetros sanguíneos de referência para *Ictalurus punctatus* de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75 <sup>o</sup> Percentil | Mínimo-Máximo  |
|-------------------------------------|---------|------------------------------|----------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 35,1    | 29,5–42,6                    | 17,0–86,5      |
| Proteínas totais (g/dL)             | 4,2     | 4,0–4,6                      | 2,6–6,6        |
| Sódio (mmol/L)                      | 141,0   | 139,0–145,0                  | 132,0–155,0    |
| Potássio (mmol/L)                   | 3,0     | 2,7–3,7                      | 2,1–4,8        |
| Cálcio (mmol/L)                     | 2,7     | 2,5–2,9                      | 2,3–3,3        |
| Magnésio (mmol/L)                   | 1,2     | 1,1–1,3                      | 1,0–2,0        |
| Cloreto (mmol/L)                    | 108,0   | 99,5– 121,0                  | 80,0–147,0     |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL) | 3,000   | 2,840–3,117                  | 1,500–4,100    |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 7,0     | 6,4–7,4                      | 4,4–10,9       |
| Hematócrito (%)                     | 31,0    | 30,0– 34,0                   | 27,0–54,0      |
| VCM (fL)                            | 108,1   | 102,9–114,7                  | 88,6–186,7     |
| CHCM (g/dL)                         | 22,0    | 20,5–22,6                    | 15,7–28,7      |
| Trombócitos (μL)                    | 77.870  | 58.802–99.569                | 14.464–147.250 |
| Leucócitos (μL)                     | 35.788  | 27.460–41.523                | 8907–124.000   |
| Lnfócitos (μL)                      | 9.192   | 5.380–11.581                 | 1.435–23.560   |
| Monócitos (μL)                      | 5.253   | 2.949–7.459                  | 712–14.657     |
| Neutrófilos (μL)                    | 19.038  | 12.529–22.748                | 4.453–86.800   |
| Basófilos(μL)                       | 1.380   | 736–2.003                    | 0–7.137        |
| Linfócitos (%)                      | 26,0    | 21,5–30,0                    | 8,0–54,0       |
| Monócitos (%)                       | 14,0    | 10,0–20,0                    | 4,0–34,0       |
| Neutrófilos (%)                     | 52,0    | 46,5–59,5                    | 34,0–75,0      |
| Basófilos (%)                       | 4,0     | 2,0–7,0                      | 0–18,0         |

**Tabela 9.** Parâmetros sanguíneos de referência para *Cyprinus carpio* de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75 <sup>o</sup> Percentil | Mínimo-Máximo  |
|-------------------------------------|---------|------------------------------|----------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 62,8    | 51,1–72,3                    | 32,1–102,3     |
| Proteínas totais (g/dL)             | 2,8     | 2,60–3,0                     | 2,3–3,6        |
| Sódio (mmol/L)                      | 142,0   | 140,0–145,0                  | 134,0–149,0    |
| Potássio (mmol/L)                   | 2,2     | 1,9–2,7                      | 0,8–4,1        |
| Cálcio (mmol/L)                     | 9,4     | 9,1–9,9                      | 8,3–12,1       |
| Magnésio (mmol/L)                   | 3,2     | 2,9–3,5                      | 2,3–4,5        |
| Cloreto (mmol/L)                    | 105,0   | 102,0–112,0                  | 97,0–124,0     |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL) | 2,510   | 2,345–2,710                  | 1,970–3,340    |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 9,1     | 8,5–11,0                     | 5,1–15,3       |
| Hematócrito (%)                     | 29,5    | 25,5–32,0                    | 17,0–38,0      |
| VCM (fL)                            | 114,1   | 100,0–124,7                  | 63,7–157,4     |
| CHCM (g/dL)                         | 33,1    | 27,2–42,0                    | 16,5–61,2      |
| Trombócitos (μL)                    | 43.583  | 33.457–59.128                | 10.479–115.200 |
| Leucócitos (μL)                     | 35.252  | 22.620–51.256                | 6.986–87.125   |
| Linfócitos (μL)                     | 18.115  | 11.420–32.973                | 5.309–72.817   |
| Monócitos (μL)                      | 813     | 97–1244                      | 0–3.485        |
| Neutrófilos (μL)                    | 7.244   | 3.760–15.215                 | 1.280–37.984   |
| LG-PAS (μL)                         | 1936    | 564–3.989                    | 0–9.166        |
| Eosinófilos (μL)                    | 243     | 0–471                        | 0–2.614        |
| Linfócitos (%)                      | 68,5    | 50,5–77,0                    | 15,0–90,0      |
| Monócitos (%)                       | 2,0     | 0,5–4,0                      | 0–11,0         |
| Neutrófilos (%)                     | 21,5    | 17,0–36,5                    | 2,0–66,0       |
| LG-PAS (%)                          | 6,0     | 2,0–7,5                      | 0–27           |
| Eosinófilos (%)                     | 1,0     | 0–1,0                        | 0–5,0          |

**Tabela 10.** Parâmetros sanguíneos de referência para *Oreochromis niloticus* de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75º Percentil | Mínimo-Máximo  |
|-------------------------------------|---------|------------------|----------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 38,1    | 31,0–49,2        | 14,1–92,1      |
| Proteínas totais (g/dL)             | 3,0     | 2,8–3,4          | 2,3–3,7        |
| Sódio (mmol/L)                      | 157,0   | 153,0–171,0      | 131,0–190,0    |
| Potássio (mmol/L)                   | 4,7     | 3,8–5,4          | 3,1–7,6        |
| Cálcio (mmol/L)                     | 11,4    | 10,8–11,8        | 8,7–17,0       |
| Magnésio (mmol/L)                   | 2,9     | 2,5–3,2          | 1,1–3,9        |
| Cloreto (mmol/L)                    | 141,5   | 126,5–147,0      | 112,0–155,0    |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL) | 2,505   | 2,095–2,895      | 1,500–3,760    |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 11,0    | 10,0–12,0        | 7,9–14,5       |
| Hematócrito (%)                     | 31,0    | 27,0–36,0        | 21,0–44,0      |
| VCM (fL)                            | 125,2   | 113,4–144,8      | 74,5–160,0     |
| CHCM (g/dL)                         | 35,4    | 31,5–37,6        | 27,9–54,5      |
| Trombócitos (μL)                    | 44.651  | 37.482–58.390    | 8444–115.904   |
| Leucócitos (μL)                     | 57.442  | 44.679–82.258    | 19.753–179.268 |
| Lnfócitos (μL)                      | 30.241  | 20.587–43.743    | 7558–123.695   |
| Monócitos (μL)                      | 3.095   | 2.038–5.012      | 472–16.494     |
| Neutrófilos (μL)                    | 24.104  | 17.703–36.327    | 9.284–89.067   |
| Basófilos(μL)                       | 0       | 0–335            | 0–1186         |
| Lnfócitos (%)                       | 50,0    | 36,0–63,5        | 16,0–69,0      |
| Monócitos (%)                       | 6,0     | 4,0–8,0          | 1,0–12,0       |
| Neutrófilos (%)                     | 45,0    | 31,0–55,5        | 25,0–82,0      |
| Basófilos (%)                       | 0       | 0–1,0            | 0–2,0          |

**Tabela 11.** Parâmetros sanguíneos de referência para *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* (tilapia vermelha) de cultivo intensivo.

| Parâmetros                          | Mediana | 25-75º Percentil | Mínimo-Máximo  |
|-------------------------------------|---------|------------------|----------------|
| Glicose (mg/dL)                     | 41,8    | 32,2–51,0        | 11,0–140,0     |
| Proteínas totais (g/dL)             | 3,7     | 3,3–4,0          | 2,9–5,7        |
| Sódio (mmol/L)                      | 164,0   | 156,5–170,0      | 145,0–190,0    |
| Potássio (mmol/L)                   | 3,8     | 3,1–4,7          | 1,4–6,8        |
| Cálcio (mmol/L)                     | 10,7    | 10,1–11,5        | 6,8–22,0       |
| Magnésio (mmol/L)                   | 3,8     | 3,1–4,8          | 2,4–5,9        |
| Cloreto (mmol/L)                    | 132,0   | 128,5–141,0      | 109,0–193,0    |
| Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> /μL) | 3,305   | 2,970–3,605      | 2,170–4,600    |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 11,0    | 9,9–12,9         | 7,0–17,4       |
| Hematócrito (%)                     | 38,5    | 34,0–40,0        | 25,0–45,0      |
| VCM (fL)                            | 106,35  | 98,2–121,4       | 87,0–157,0     |
| CHCM (g/dL)                         | 30,0    | 26,8–32,6        | 18,8–69,6      |
| Trombócitos (μL)                    | 56.496  | 43.685–83.884    | 15.530–126.207 |
| Leucócitos (μL)                     | 57.588  | 34.139–88.895    | 15.885–253.895 |
| Lnfócitos (μL)                      | 42.925  | 25.965–73.045    | 9388–210.945   |
| Monócitos (μL)                      | 888     | 576–1.622        | 0–12.695       |
| Neutrófilos (μL)                    | 7.911   | 4.375–12.983     | 2.175–40.623   |
| Basófilos (μL)                      | 0       | 0–0              | 0–1627         |
| Lnfócitos (%)                       | 83,0    | 71,5–90,0        | 36,0–97,0      |
| Monócitos (%)                       | 2,0     | 1,0–2,5          | 0–12,0         |
| Neutrófilos (%)                     | 14,0    | 9,0–27,0         | 1,0–58,0       |
| Basófilos (%)                       | 0       | 0–0              | 0–2            |

Nas as 11 espécies estudadas, o número de trombócitos totais variaram de 3.200,0 a 147.250,0/μL de sangue; leucócitos totais de 1.264,4 a 253.894,0/μL; linfócitos variou de 1.046,3 a 210.945,3/μL e de 2,0 a 97,0%; neutrófilos de 648,0 a 99535,8/μL e de 1,0 a 96,0%. O número de monócitos variou de 0,0 a 17.339,2/μL e de 0,0 a 52,0%; leucócitos granulares PAS-Positivos (LG- PAS) variou de 0,0 a 15.575,2/μL e de 0,0 a 27,0%; eosinófilos variou de 0,0 a 9.880,0/μL e de 0,0 a 12,0% e basófilos variou de 0,0 a 7.137,4/μL e de 0,0 a 24,0%. O perfil de trombócitos e leucócitos sanguíneos pode indicar ativação do sistema imunológico, auxiliando na identificação de

doenças, estresse e outras situações adversas (Tavares-Dias & Moraes, 2004; Ranzani-Paiva et 2013).

As principais características morfológicas de trombócitos e leucócitos para as 11 espécies, são descritas na Tabela 12.

**Tabela 12.** Características morfológicas de trombócitos e leucócitos sanguíneos das 11 espécies de cultivo intensivo, corados com uma combinação de May Grünwald–Giemsa–Wright (MGGW). LG– PAS= leucócito granular PAS positivo

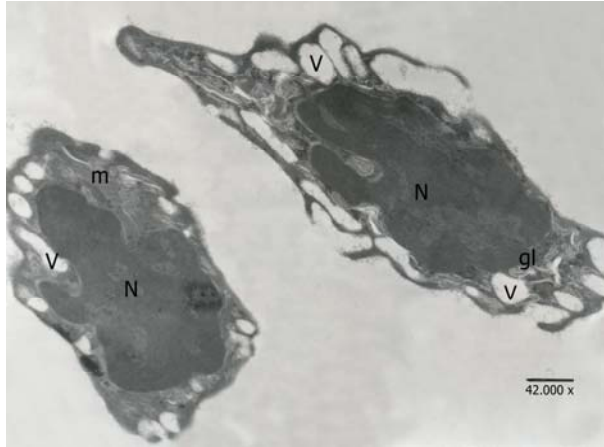
| Células     | Características morfológicas  |
|-------------|---|
| Trombócitos | Predominantemente fusiformes, ocasionalmente arredondados, citoplasma hialino sem granulações e núcleo fusiforme.   |
| Linfócitos  | Formato arredondados, tamanho variado e citoplasma basofílico. Núcleo arredondado, elevada relação núcleo/citoplasma.   |
| Neutrófilos | Predominantemente arredondados, citoplasma com granulações finas e neutrófilas. O núcleo geralmente excêntrico, em forma de bastonete, ocasionalmente segmentado. |
| Monócitos   | Arredondados, citoplasma basofílico, vacuolizado ou não. Núcleo frequentemente excêntrico, geralmente chanfrado, ocasionalmente esférico                          |
| LG–PAS      | Arredondados, citoplasma com grânulos que não se coram com corantes nem ácido e nem básicos. Núcleo pequeno e excêntrico  |
| Eosinófilos | Arredondados, citoplasma geralmente com poucas granulações grosseiras e eosinófilas. Núcleo é geralmente esférico, com elevada relação com o citoplasma.          |
| Basófilos   | Arredondados, citoplasma rico em granulações grosseiras e basofílicas, que podem obscurecer total ou parcialmente o núcleo. Esse pode ser central ou excêntrico   |

## ASPECTOS ULTRAESTRUTURAIIS DOS TROMBÓCITOS E LEUCÓCITOS

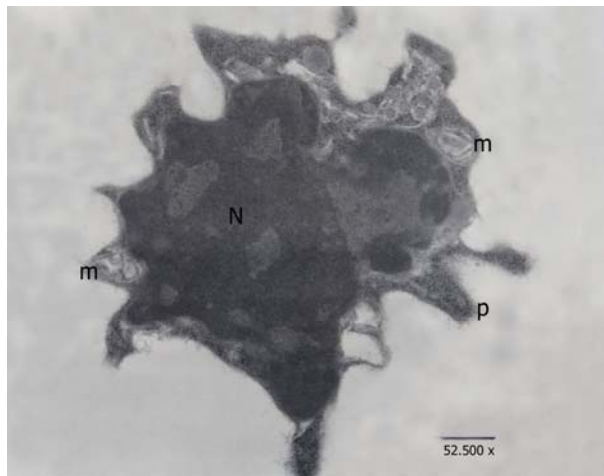
As principais características ultraestruturais de trombócitos e leucócitos para as 11 espécies são descritas na Tabela 13.

**Tabela 13.** Características ultraestruturais de trombócitos e leucócitos das 11 espécies de cultivo intensivo. LG- PAS= leucócito granular PAS positivo.

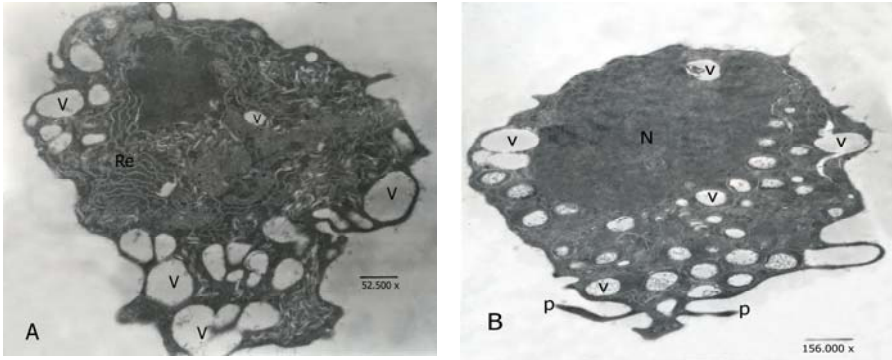
| Células                    | Características subestruturais  |
|----------------------------|---|
| Trombócitos<br>(Figura 1)  | Citoplasma de forma elíptica ou arredondada, com prolongamentos na superfície, sistema canicular, vacúolos de tamanho variado, perfis de mitocôndrias e aglomerados de grânulos de glicogênio. Núcleo constituído quase que exclusivamente por heterocromatina, dificultando a visualização do nucléolo.  |
| Linfócitos<br>(Figura 2)   | Citoplasma escasso, com prolongamentos na superfície, podendo apresentar pequenos grânulos, perfil de mitocôndrias e aglomerados de grânulos de glicogênio. O núcleo ocupa quase toda a célula e a cromatina é representada exclusivamente por heterocromatina.   |
| Monócitos<br>(Figura 3A-B) | Citoplasma abundante, geralmente, com prolongamentos na superfície, contorno irregular, numerosos vacúolos, retículo endoplasmático, formação de mitocôndrias e aglomerados de grânulos de glicogênio. Núcleo de forma e tamanho variados, com presença heterocromatina e eucromatina.  |
| Neutrófilos<br>(Figura 4)  | Citoplasma com prolongamentos na superfície, grânulos de glicogênio, vacúolos de tamanhos variados, perfil de mitocôndrias e de retículo endoplasmático, numerosos grânulos de tamanho e forma variados, contendo ou não estrutura cristalóide arredondada ou bastão. O núcleo de forma e tamanho variados, com predominância de heterocromatina. |
| LG-PAS<br>(Figura 5)       | Citoplasma com numerosos grânulos de tamanho e forma variados distribuídos pelo citoplasma, mascarando outras estruturas. O núcleo é geralmente pequeno e excêntrico.   |
| Eosinófilos<br>(Figura 6)  | Citoplasma com aglomerados de grânulos de glicogênio, vacúolos, mitocôndrias, retículo endoplasmático e quantidade de grânulos com tamanho e forma variados. O núcleo de forma e tamanho variados, ocupando ocasionalmente grande parte da célula, com predominância de heterocromatina.  |
| Basófilos<br>(Figura 7)    | Perfil de citoplasma irregular, com presença de prolongamentos na superfície, vacúolos, aglomerados de grânulos de glicogênio, pouco grânulos e com variação de forma, em geral arredondados, variação de tamanho e eletrodensidade. O núcleo de forma e tamanho variados com predominância de heterocromatina.                                   |



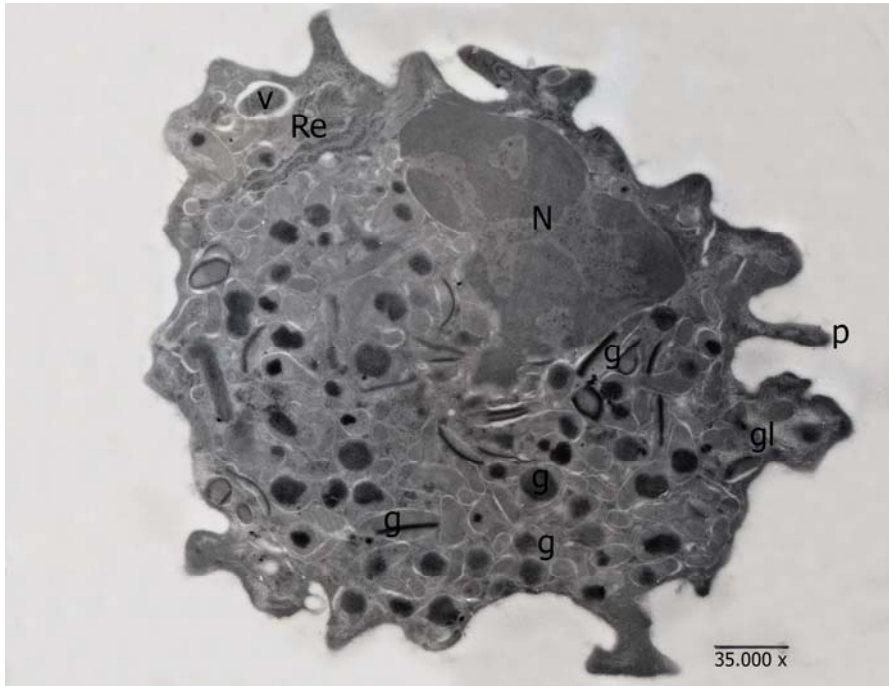
**Figura 1.** Eletromicrografia de trombócitos sanguíneos de *Brycon amazonicus* destacando núcleo celular (N), mitocrôndia (M), aglomerados de glicogênio (gl) e vacúolos (V).



**Figura 2.** Eletromicrografia de linfócito sanguíneo de *Piaractus mesopotamicus* destacando núcleo celular (N), mitocrôndia (M) e prolongamentos citoplasmáticos (p).

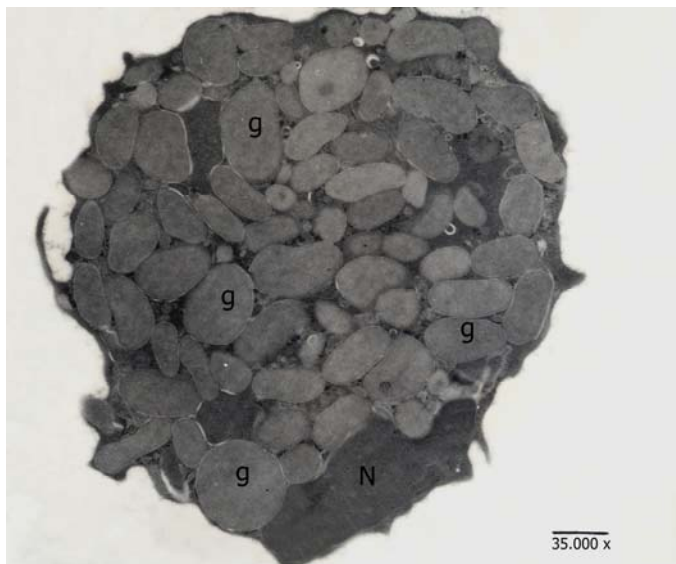


**Figura 3.** Eletromicrografia de monócitos sanguíneos de *Colossoma macropomum* (A) e *Cyprinus carpio* (B) destacando núcleo celular (N), retículo endoplasmático granular (Re), prolongamentos citoplasmáticos (p) e vacúolos (V) contendo o não material.

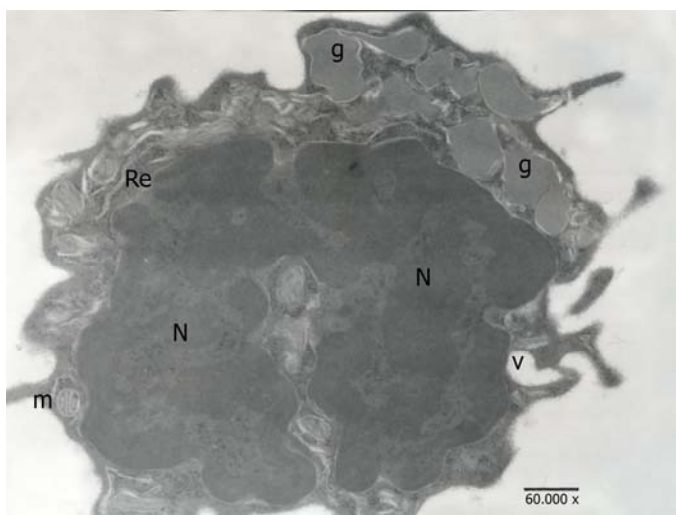


**Figura 4.** Eletromicrografia de neutrófilo sanguíneo de *Piaractus mesopotamicus* destacando núcleo celular (N), retículo endoplasmático granular (Re), aglomerados de glicogênio (gl), prolongamentos citoplasmáticos (p) e grande quantificadas de grânulos (g) de diversos tamanhos e formas contendo em seu interior.

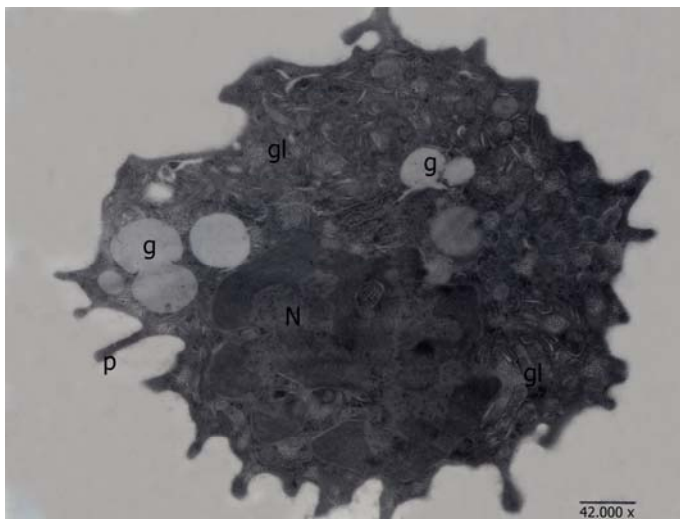




**Figura 5.** Eletromicrografia de LG-PAS sanguíneo de *Piaraactus mesopotamicus* destacando núcleo celular (N) e grande quantidade de grânulos (g) citoplasmáticos de tamanhos variados.



**Figura 6.** Eletromicrografia de eosinófilo sanguíneo de *Colossoma macropomum* destacando núcleo celular (N), reticulo endoplasmático granular (Re), grânulos (g) citoplasmáticos de tamanhos variados, mitocôndria (m) e vacúolos (v).



**Figura 7.** Eletromicrografia de basófilo sanguíneo de *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* (tilapia vermelha) destacando núcleo celular (N), grânulos (g), prolongamentos citoplasmáticos (p) e aglomerados de glicogênio (gl).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No cultivo intensivo a compreensão dos aspectos biológicos, incluindo a fisiologia é de extrema importância para compreensão do estado de saúde dos peixes. Os valores de referências para *B. amazonicus*, *B. orbignyanus*, *C. macropomum*, *P. mesopotamicus*, híbridos de tambacu, *C. carpio*, *L. macrocephalus*, *O. niloticus*, *I. punctatus*, *O. niloticus* x *O. aureus* e *P. lineatus* poderão subsidiar o cultivo intensivo desses peixes, auxiliando na identificação de processos anemiantes, condições de estresse e doenças nesses animais.

## REFERÊNCIAS

- Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011. Brasília, DF. 2013.
- RANZANI-PAIVA, M. J. T.; PÁDUA, S. B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M. I. Métodos para análises hematológicas em peixes. Maringá: Eduem. 2013.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Hematologia de peixes teleosteos. Ribeirão Preto, Villimpress. 2004.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology*, 71:383–388, 2007.

## CAPÍTULO 2

# PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE FILHOTES DE TRACAJÁS (*Podocnemis unifilis*) ALIMENTADOS COM NÍVEIS VARIADOS DE PROTEÍNA BRUTA

Eliane Tie Oba Yoshioka<sup>1</sup>

Rafaella de Aguiar Costa

Alexandre Renato Pinto Brasiliense

Antonielson Silva Castelo

Alan Cristian Dozo Martins

Bruna Marjara Picanço da Silva

Leandro Fernandes Damasceno

## INTRODUÇÃO

A alimentação de quelônios quando na natureza é composta em sua grande parte por vegetais (Portal et al., 2002; Malvásio et al., 2003). Mas, com o aumento da faixa etária do animal, aumenta o percentual de alimentos de origem vegetal; porém, não está comprovado se isso ocorre em todas as espécies do gênero *Podocnemis* (Malvásio et al., 2003). De acordo com Malvásio et al. (2003), o tracajá é um quelônio onívoro, que em ambiente natural alimenta-se de peixes, pequenos crustáceos e plantas. Nos primeiros anos de vida do tracajá *Podocnemis unifilis*, o crescimento é melhor com o fornecimento de alimentos à base de proteína animal, provavelmente, devido a um maior nível proteico e a uma concentração de aminoácidos essenciais. Entretanto, Portal et al. (2002) verificaram que a alimentação natural de tracajás na região do município de Pracuúba, Estado do Amapá, foi composta por 35 diferentes espécies vegetais, sendo a maioria de leguminosas e gramíneas.

---

Yoshioka et al. Perfil hematológico e bioquímico de filhotes de tracajás (*Podocnemis unifilis*) alimentados com níveis variados de proteína bruta. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

A principal dificuldade enfrentada pela quelonicultura refere-se às questões nutricionais (Costa et al., 2008a), pelo pouco conhecimento sobre as exigências nutricionais de tartaruga-da-amazônia *Podocnemis expansa* e tracajá *P. unifilis*.

Em cativeiro o item alimentar mais utilizado é a ração comercial para peixes, com níveis proteicos variando de 28 a 30%, sendo considerado o melhor alimento disponível no mercado (Costa et al., 2008b; Almeida & Abe, 2009; Vismara, 2010). Sá et al. (2004) relataram que filhotes de *P. expansa* nos dez primeiros meses de vida, quando em cativeiro, apresentam melhor crescimento com a utilização de dietas com 27% proteína bruta. Acrescentaram ainda, que as dietas contendo proteína bruta de origem animal apresentou melhores resultados que as de origem vegetal.

Devido à importância de se conhecer os processos fisiológicos e de como o estresse promovido pelo manejo durante o cultivo pode alterá-los, até mesmo causando mortes dos animais, pode-se utilizar os parâmetros hematológicos e bioquímicos para se verificar a condição de saúde de tracajás quando criados em cativeiro. Isso pode possibilitar aos quelonicultores, em suas práticas de cultivo, a obtenção de maior produtividade e lucratividade. Além disso, estudos mostram que os valores hematológicos e bioquímicos são muito diferentes em quelônios selvagens e os mantidos em cativeiro (Pagés et al., 1992; Rangel-Mendoza et al., 2009; Tavares-Dias et al., 2009).

Os parâmetros hematológicos e bioquímicos são úteis para analisar o estado fisiológico de tartarugas (Christopher et al., 2003; Whiting et al., 2007; Oliveira-Júnior et al., 2009), oferecendo algumas vantagens tais como: diagnóstico de doenças, condição de estresse, desnutrição e desidratação (Christopher et al., 2003; Keller et al., 2004; Knotková et al., 2005; Whiting et al., 2007), sem a necessidade de se sacrificar o animal. Além disso, diferentes parâmetros podem ser analisados em uma amostra de sangue, o que permite acesso a um conjunto variado de informações fisiológicas (Marcon et al., 2008).

Assim, o presente estudo teve como objetivo mostrar o perfil hematológico e bioquímico de filhotes de tracajás *P. unifilis*

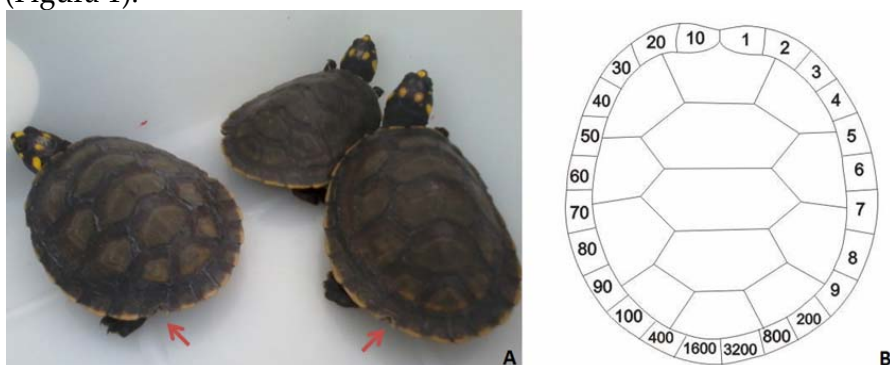
alimentandos com rações comerciais para peixes e contendo diferentes níveis de proteína bruta.

## PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Os filhotes de tracajá utilizados foram obtidos no município de Pracuúba, Estado do Amapá. Aos 60 dias de vida foram transportados para o Laboratório de Aquicultura e Pesca, Embrapa Amapá, Macapá (AP). Os animais foram alimentados durante o período de aclimação às condições laboratoriais, duas vezes ao dia (10 e 16h), com ração comercial para peixes contendo 28% de proteína bruta (PB), na proporção de 5% da biomassa total.

De forma a uniformizar a todas as caixas experimentais em relação à incidência da luz solar e de sombreamento sobre os filhotes durante seu desenvolvimento, as caixas experimentais passaram por um rodízio, tanto no período de aclimação quanto no período experimental, de forma que a posição das caixas fosse trocada semanalmente. Assim, minimizando as diferenças e possibilitando visualizar alterações fisiológicas dos animais devido ao fator estudado, isto é, nível de proteína na dieta fornecida.

Os animais foram identificados através de pequenos cortes na carapaça, realizados cuidadosamente com alicate, de acordo com o esquema de identificação de quelônio proposto por Haller (2002) (Figura 1).



**Figura 1.** (A) Exemplos de filhotes de tracajá *P. unifilis* com marcação na carapaça (setas) (B). Esquema para identificação de quelônios, através de marcações realizadas na carapaça.

Os espécimes foram então divididos aleatoriamente em 12 unidades experimentais com 10 indivíduos em cada, mantidos em caixas circulares de polietileno com capacidade para 250 litros (L) de água, adaptados com rampa de madeira para permitir o acesso dos animais à área seca. As caixas foram abastecidas com 100 L de água, de modo a manter a densidade de 100 indivíduos/ m<sup>3</sup>.

O período experimental total foi de 120 dias (abril a agosto de 2013), tendo sido os grupos experimentais denominados como T28, T36, T45 e T55, de acordo com o teor de proteína bruta (PB) das rações comerciais utilizadas e com a informação indicada pelo fabricante no rótulo, no caso: 28, 36, 45 e 55%, respectivamente, totalizando, quatro diferentes tratamentos. Cada tratamento foi realizado em três replicas (triplicata), totalizando 120 animais. A ração comercial utilizada foi adquirida no mercado local de Macapá (AP).

### **ANÁLISES BROMATOLÓGICAS DAS RAÇÕES COMERCIAIS**

Análises bromatológicas das rações comerciais utilizadas foram realizadas para verificar os níveis de proteína bruta, extrato etéreo, matéria seca, cinzas e fósforo. As rações foram moídas em moinho analítico portátil IKA (modelo A11 BASIC) e acondicionadas em sacos plásticos. No Laboratório de Análise de Alimentos da Embrapa Amapá, a proteína bruta (PB) foi determinada através do Método Kjeldahl (Nx6,25), expressa em porcentagem (IAL, 2008; Souza & Nogueira, 2005); o extrato etéreo (EE), determinado em aparelho Soxhlet com éter de petróleo sob refluxo durante 4 horas, expresso em porcentagem (Silva & Queiroz, 2002; Souza & Nogueira, 2005); a matéria seca (MS), determinada gravimetricamente em estufa a 105 °C até peso constante, expressa em porcentagem (Silva & Queiroz, 2002; Souza & Nogueira, 2005); as cinzas (CIN) foram determinadas gravimetricamente em mufla a 105 °C por 4h, expressa em porcentagem (IAL, 2008; Souza & Nogueira, 2005); e o fósforo (P), determinado por complexometria e medida a absorvância a 725 nm em espectrofotômetro FEMTO

(Modelo CIRRUS 80 MB), expresso em  $\text{g.kg}^{-1}$  (Gomes & Oliveira, 2011).

## **AVALIAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS**

Os animais foram submetidos à coleta de sangue para realização de análises hematológicas e bioquímicas após 120 dias de alimentação, de forma a averiguar a influência dos níveis de proteína bruta na dieta dos animais sobre sua condição de saúde, nesta fase de desenvolvimento. As análises foram realizadas em 15 animais por grupo experimental, sendo 5 animais de cada réplica, capturados aleatoriamente.

A limpeza das caixas experimentais foi realizada a cada dois dias, durante todo o experimento. Mesmo com a realização constante da limpeza, a qualidade da água das caixas experimentais foi monitorada e avaliada a cada quinze dias, obtendo-se valores de pH, através de peagâmetro digital; e de alcalinidade, dureza e amônia totais e de nitrito, através de kit comercial para análise de água em pisciculturas (kits para produtor – água doce, Alfakit Ltda., Florianópolis, SC).

Amostras sanguíneas de 0,5 mL de cada exemplar de tracajá avaliado foram coletadas pela veia femoral, utilizando seringas plásticas (com capacidade para 1,0 mL) e agulhas descartáveis, contendo heparina sódica como anticoagulante. As amostras coletadas foram mantidas em gelo durante todo o processo realizado para determinação do hematócrito, da concentração de hemoglobina e da contagem de células vermelhas, além da realização dos cálculos dos índices hematimétricos (volume corpuscular médio, VCM, hemoglobina corpuscular média, HCM e concentração de hemoglobina corpuscular média, CHCM).

A amostra de sangue remanescente de cada exemplar de tracajá foi centrifugada (Centrifuge 5424, marca Eppendorf) a 10.000 rpm, para obtenção do plasma. O plasma obtido de cada animal foi separado em alíquotas e congelado a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  para determinação das concentrações de glicose, proteína, triglicérides, ureia e colesterol,

através de kits colorimétricos (Doles®, Goiânia, GO), com leitura em espectrofotômetro Biospectro (modelo SP-220).

Os resultados obtidos das avaliações hematológicas e bioquímicas dos tracajás foram comparados estatisticamente entre os grupos de diferentes teores de proteína bruta na ração (T28, T36, T45 e T55). Aplicou-se o teste de normalidade e, em seguida, aplicado ANOVA, para através dos testes paramétrico e não-paramétrico, identificar os grupos diferentes entre si.

## RESULTADOS BROMATOLÓGICAS DAS RAÇÕES COMERCIAIS

As análises bromatológicas indicaram que as rações utilizadas e ofertadas aos animais dos grupos T28 e T55 continham teores médios de PB abaixo do especificado pela fábrica de ração (Tabela 1). As amostras de rações de 45% PB apresentaram maiores valores de fósforo e de extrato etéreo ( $p < 0,01$ ) em relação às rações 36 e 28% PB. A ração com 36% PB apresentou valor maior de matéria seca, estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ), em relação ao grupo de 28% PB. A ração de 28% PB mostrou maior porcentagem de cinzas, estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ), em relação à ração de 45% PB.

**Tabela 1.** Proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria seca (MS), cinzas (CIN), e fósforo (P) das rações comerciais utilizadas na alimentação dos filhotes de tracajá, contendo diferentes níveis de proteína bruta (28, 36, 45 e 55% PB).

|                            | 28% PB        | 36% PB         | 45% PB         | 55% PB         |
|----------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| PB (%)                     | 24,95 ± 1,19  | 36,82 ± 1,29   | 46,73 ± 1,41   | 50,72 ± 2,39   |
| EE (%)                     | 3,05 ± 0,02a  | 3,30 ± 0,13ab  | 9,04 ± 0,02b   | 5,56 ± 0,19ab  |
| MS (%)                     | 88,78 ± 0,12a | 92,20 ± 0,16b  | 90,89 ± 0,04ab | 89,90 ± 0,10ab |
| CIN (%)                    | 11,54 ± 0,10a | 10,29 ± 0,04ab | 8,01 ± 0,02b   | 10,63 ± 0,05ab |
| P (MS g.kg <sup>-1</sup> ) | 7,62 ± 0,26ab | 4,91 ± 0,96a   | 8,41 ± 1,70b   | 7,40 ± 1,81ab  |

Letras diferentes na mesma linha indica diferença estatística significativa entre as porcentagens de proteína na ração analisada ( $p > 0,01$ ). Não foi realizado o teste para os diferentes níveis de PB nas rações.

A variação nos níveis de proteína na alimentação fornecida aos tracajás durante o período experimental indicou crescente



aumento da concentração de amônia da água das caixas experimentais (Tabela 2). O nível de amônia presente na água de manutenção dos animais do grupo T55 aumentou significativamente ( $p < 0,01$ ) quando comparado aos níveis de amônia da água dos grupos T28 e T36; o grupo T45 apresentou valor significativamente maior que o grupo T28. Este incremento nos níveis de amônia na água de manutenção dos animais, mesmo realizando-se a troca de água a cada dois dias, foi notado e, possivelmente, pode influenciar na condição de saúde dos animais mantidos em confinamento.

**Tabela 2.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão da concentração de amônia (mg/L N-NH<sub>3</sub>), pH, alcalinidade (mg/L CaCO<sub>3</sub>), nitrito (mg/L), dureza total (mg/L CaCO<sub>3</sub>) e temperatura (°C) da água das caixas de manutenção dos tracajás *P. unifilis* alimentados com ração comercial de 28% PB (T28), de 36% PB (T36), de 45% PB (T45) e de 55% PB (T55) durante o período experimental.

|              | T28                | T36                 | T45                 | T55                |
|--------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| Amônia total | 2,68 $\pm$ 1,79a   | 4,55 $\pm$ 2,93ab   | 6,55 $\pm$ 3,93bc   | 8,03 $\pm$ 4,12c   |
| pH           | 6,31 $\pm$ 0,29a   | 6,43 $\pm$ 0,41ab   | 6,56 $\pm$ 0,31ab   | 6,75 $\pm$ 0,35b   |
| Alcalinidade | 25,60 $\pm$ 11,87a | 33,43 $\pm$ 14,34ab | 39,92 $\pm$ 16,07bc | 58,81 $\pm$ 15,82c |
| Nitrito      | 0,01 $\pm$ 0,03a   | 0,00 $\pm$ 0,00a    | 0,00 $\pm$ 0,00a    | 0,00 $\pm$ 0,00a   |
| Dureza total | 19,52 $\pm$ 6,69a  | 16,19 $\pm$ 7,40a   | 16,67 $\pm$ 8,56a   | 16,19 $\pm$ 8,04a  |
| Temperatura  | 27,34 $\pm$ 1,96a  | 27,13 $\pm$ 1,83a   | 27,41 $\pm$ 2,08a   | 27,29 $\pm$ 2,03a  |

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa com relação ao tratamento aplicado ( $p < 0,05$ ).

Assim quanto maior a porcentagem de proteína na ração ofertada na alimentação dos animais, maior o nível de amônia excretada na água de manutenção dos animais; conseqüentemente foram também observadas alterações dos valores de pH e de alcalinidade da água de manutenção dos animais. Não há estudos sobre como estas variações na qualidade da água, podem influenciar a condição de saúde dos tracajás, Entretanto, diversos estudos realizados com outros organismos aquáticos, como peixes e camarões, mostram que a exposição às altas concentrações de amônia na água de manutenção dos animais, pode causar degeneração na pele, situação comum de sistemas de criação

(Ismiño-Orbe et al., 2003; Pereira & Mercante 2005; Campos et al., 2012).

## RESULTADOS DAS ANÁLISES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

O hemograma dos tracajás após alimentação por 120 dias com diferentes níveis de proteína bruta está apresentado na Tabela 3. Apenas os valores de hematócrito mostraram aumento significativo do T55 em relação ao T28 ( $p < 0,05$ ). Para os demais valores não foram observadas diferenças significativas.

**Tabela 3.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão das variáveis hematológicas: hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem de eritrócitos (Eri=eritrócitos), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) para tracajás avaliados após 120 dias de alimentação com rações com 28% PB (T28), 36% PB (T36), 45% PB (T45) e 55% PB (T55).

|                                   | T28               | T36                | T45                | T55                |
|-----------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Ht (%)                            | 16,1 $\pm$ 2,6a   | 18,5 $\pm$ 1,8ac   | 18,5 $\pm$ 2,5ac   | 19,2 $\pm$ 2,8bc   |
| Hb (g/dL)                         | 8,6 $\pm$ 1,1a    | 8,3 $\pm$ 1,0a     | 7,6 $\pm$ 1,0a     | 8,1 $\pm$ 1,8a     |
| Eri ( $\times 10^3 \mu\text{L}$ ) | 344,0 $\pm$ 66,3a | 294,5 $\pm$ 58,0a  | 328,0 $\pm$ 65,8a  | 333,7 $\pm$ 48,7a  |
| VCM (fL)                          | 476,9 $\pm$ 76,5a | 640,4 $\pm$ 144,3a | 582,6 $\pm$ 130,7a | 587,2 $\pm$ 122,4a |
| HCM (g/dL)                        | 259,2 $\pm$ 50,6a | 296,0 $\pm$ 64,5a  | 237,4 $\pm$ 49,7a  | 233,8 $\pm$ 42,5a  |
| CHCM (g/dL)                       | 54,7 $\pm$ 9,8a   | 44,9 $\pm$ 4,4a    | 41,5 $\pm$ 5,7a    | 41,9 $\pm$ 3,6a    |

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa com relação ao tratamento aplicado ( $p < 0,05$ ).

Níveis baixos de hematócrito podem indicar má nutrição de animais em cativeiro, de acordo com Christopher (1999). No presente trabalho os tracajás apresentaram níveis semelhantes entre os animais dos grupos T36, T45 e T55. Estes valores se encontram dentro dos limites indicados para *P. unifilis* da Reserva Biológica de Abufari, AM, relatadas por Tavares-Dias et al. (2012).

Os tecidos hematopoiéticos dos quelônios e de outros répteis, em geral, estão situados no fígado, no baço e, em menor proporção, na medula (Marcon et al., 2008; Tavares-Dias et al., 2008; Oliveira-Júnior et al., 2009; Zhang et al., 2011). Assim, o estudo das

características do sangue pode fornecer informações clínicas importantes para o entendimento do estado geral de saúde e do próprio desempenho do animal (Marcon et al., 2008; Tavares-Dias et al., 2008; 2009).

Os tracajás alimentados com dietas contendo variados níveis de proteína mostraram valores de hemograma, com exceção do hematócrito, semelhantes entre os grupos, indicando não haver alteração devido ao período de alimentação com as diferentes dietas. Em comparação aos tracajás avaliados provenientes da Reserva Biológica de Abufari, AM, relatado por Tavares-Dias et al. (2012), temos que estes valores são maiores nos animais mantidos em cativeiro, com exceção dos valores de VCM.

Tavares Dias et al. (2009) concluíram que os parâmetros hematológicos e bioquímicos de *P. expansa* são bons indicadores para monitorar a saúde nutricional destes animais quando em cativeiro. Os parâmetros hematológicos e bioquímicos de *P. expansa* são de extrema importância para a conservação e preservação de quelônios, tanto em cativeiro, como em ambiente natural (Rossini et al., 2010)

As concentrações de glicose, proteína, triglicérides, colesterol e ureia no plasma de tracajás após alimentação com rações comerciais com diferentes níveis de proteína por 120 dias está indicada na Tabela 4.

**Tabela 4.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão metabólicos de tracajás avaliados após 120 dias de alimentação com rações com 28% PB (T28), 36% PB (T36), 45% PB (T45) e 55% PB (T55).

|                       | T28               | T36                | T45                | T55                |
|-----------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Glicose (mg/dL)       | 82,4 $\pm$ 9,1a   | 88,6 $\pm$ 18,7a   | 68,1 $\pm$ 10,8a   | 68,13 $\pm$ 11,28a |
| Proteína (mg/dL)      | 4,2 $\pm$ 0,3a    | 4,2 $\pm$ 0,3a     | 4,7 $\pm$ 0,7a     | 4,25 $\pm$ 0,25a   |
| Triglicérides (mg/dL) | 178,6 $\pm$ 34,3a | 276,5 $\pm$ 53,4b  | 220,6 $\pm$ 43,5a  | 203,8 $\pm$ 39,5a  |
| Colesterol (mg/dL)    | 162,1 $\pm$ 15,0a | 235,8 $\pm$ 28,6bc | 200,0 $\pm$ 36,6ac | 217,2 $\pm$ 37,9ac |
| Ureia (mg/dL)         | 59,9 $\pm$ 11,3a  | 95,9 $\pm$ 21,7bc  | 59,5 $\pm$ 13,4a   | 75,5 $\pm$ 9,5ac   |

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa com relação ao tratamento aplicado ( $p < 0,05$ ).

Os níveis plasmáticos de glicose e proteína não indicaram alteração significativa ( $p < 0,05$ ). Os níveis plasmáticos de proteína dos tracajás do presente estudo mantiveram-se inalterados,

independente do nível de proteína fornecida na alimentação. Estes valores estão dentro dos limites indicados pelos jovens tracajás da Reserva Biológica de Abufari, AM (Tavares-Dias et al., 2012). A glicemia permaneceu inalterada mesmo com a variação dos níveis de proteína na dieta dos tracajás do presente estudo, mas ainda dentro dos limites indicados para tracajás da reserva, do estudo indicado acima.

Os níveis de triglicérides aumentaram significativamente no grupo T36, em relação aos demais grupos; os níveis de colesterol e ureia aumentaram também no grupo T36, com relação apenas ao grupo T28. Importante lembrar que os resultados apresentados na Tabela 1 indicou que o nível de PB real da ração comercial fornecida ao grupo T28 foi menor que 25%. Apesar disto, as alterações fisiológicas dos animais do grupo T36, parecem indicar que este nível de proteína na dieta é o mais adequado. Os níveis aumentados de ureia no grupo T36 mostram a utilização da proteína da dieta no metabolismo do animal, visto que, em geral ocorre redução dos níveis de ureia e glicose em animais quando mal nutridos ou mantidos em restrição alimentar (jejum) (Bonnet, 1979; Moon et al., 1999).

De acordo com os estudos de Costa (2014), tracajás após 30 dias de alimentação apenas com ração comercial, independente da quantidade de proteína na ração, mostraram níveis menores de glicose, proteína, ureia e colesterol com relação aos animais do presente trabalho, isto é, após 120 dias de alimentação. Isto pode indicar que apesar do aumento do nível protéico da ração, os animais mostraram aproveitamento de apenas uma parcela desta proteína recebida pela dieta, indicado pelos valores do grupo T36 para glicose, triglicérides, colesterol e ureia. Isto demonstra que a quantidade maior de proteína ofertada na alimentação não é aproveitada pelos filhotes de tracajás, também indicada pelo aumento de produtos nitrogenados na água de manutenção dos animais (Tabela 2), fortemente demonstrando ao produtor que pode economizar neste item. Assim pode o criador utilizar rações

comerciais com menor nível de proteína, durante a produção desses animais.

Dessa forma, os parâmetros hematológicos e bioquímicos podem ser utilizados para analisar o estado fisiológico dos animais (Christopher et al., 2003; Oliveira-Júnior et al., 2009) de forma a diagnosticar doenças, condição de estresse, desnutrição e desidratação (Christopher et al., 2003; Keller et al., 2004; Knotková et al., 2005; Whiting et al., 2007) obtendo-se um conjunto variado de informações fisiológicas (Marcon et al., 2008), durante a manutenção dos animais em cativeiro.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os tracajás alimentados com variados níveis de proteína na dieta mostraram valores de hemograma semelhantes entre os grupos alimentados com níveis protéicos acima de 36% PB. Os níveis de proteína entre 45 e 55% utilizados na dieta de filhotes de tracajás causaram aumento nos níveis plasmáticos de ureia e, como consequência, houve aumento na concentração de amônia na água de manutenção desses animais, influenciando negativamente a condição de saúde dos animais. Portanto, recomenda-se a utilização de 36% PB na dieta de filhotes de tracajás, nos primeiros seis meses de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Sr. Mario Vaz Brito e ao IBAMA pela doação dos filhotes de tracajás para a realização do presente estudo; ao Carlos Alberto Moraes, Carlão, pelo auxílio no transporte dos animais; à Embrapa pelo apoio financeiro.

## **REFERÊNCIAS**

- ALMEIDA, C. G.; ABE, A. S. Aproveitamento de alimentos de origem animal pela tartaruga-da-amazônia *Podocnemis expansa* criada em cativeiro. *Acta Amazonica*, 39(1): 215-220, 2009.
- BONNET, B. Influence of the nutritional conditions on the organic composition of blood and urine in the juvenile sea turtle *Chelonia mydas* L. *Aquaculture*, 16: 253–260, 1979.

- CAMPOS, B. R.; FILHO, K. C. M.; D'INCAO, F.; POERSH, L.; WASIELESKY, W. Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda). *Atlântica*, 34(1): 75-81, 2012.
- CHRISTOPHER, M. M.; BERRY, K. H.; HENEN, B. T.; NAGY, M. M. Clinical disease and laboratory abnormalities in free-ranging desert tortoises in California (1990-1995). *Journal of Wildlife Diseases*, 39(1): 35-56. 2003.
- COSTA, F. S. D.; DUARTE, J. A. M.; OLIVEIRA, P. H. G.; ANDRADE, P. C. M. Alimentação e nutrição de quelônios aquáticos amazônico (*Podocnemis spp.*). In: ANDRADE, P. C. M. (Ed.). Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas. 2. ed. Manaus/AM: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, p. 259-286, 2008(a).
- COSTA, F. S. D.; OLIVEIRA, P. H. G.; ANDRADE, P. C. M.; COSTA, P. M.; ABE, A. S. Desenvolvimento de tartaruga-da-amazônia (*P. expansa*) e tracajá (*P. unifilis*) em cativeiro, alimentados com dietas especiais em diferentes instalações. In: ANDRADE, P. C. M. (Ed.). Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas. 2. ed. Manaus/AM: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, p. 287-328, 2008(b).
- COSTA, R. A. Exigência proteica para filhotes de tracajá, *Podocnemis unifilis* (Tröschel, 1848): avaliações de crescimento e hematológicas. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical), Universidade Federal do Amapá, Macapá, (AP), 2014.
- GOMES, J. C.; OLIVEIRA, G. F. Análises físico-químicas de alimentos. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2011.
- HALLER, E. C. P. Aspectos da biologia reprodutiva de *Podocnemis sextuberculata* CORNALIA, 1849 e *Podocnemis unifilis* Troschel, 1848 (Testudinata: Pelomedusidae) na região da Reserva Biológica do Rio Trombetas, Pará. 2002. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências, concentração em Zoologia) – Instituto de Biociências, Departamento de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP), 2002.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.
- ISMIÑO-ORBE, R. A.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOMES, L. C. Excreção de amônia por tambaqui (*Colossoma macropomum*) de acordo com variações na temperatura da água e massa do peixe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(10): 1243-1247, 2003.
- KELLER, J. M.; KUCKLICK, J. R.; STAMPER, M. A.; HARMS, C. A.; MCCLELLAN-GREEN, P. D. Associations between organochlorine contaminant concentrations and clinical health parameters in loggerhead sea turtles from North Carolina, USA. *Environmental Health Perspectives*, 112 (10): 1074-1079, 2004.
- KNOTKOVÁ, Z.; MAZANEK, S.; HOVORKA, M.; SLOBODA, M.; KNOTEK, Z. Haematology and plasma chemistry of Bornean River turtles suffering from shell necrosis and haemogregarine parasites. *Veterinary Medicine*, 50 (9): 421-426. 2005.
- MALVÁSIO, A.; SOUZA, A. M.; MOLINA, F. B.; SAMPAIO, F. A. Comportamento e preferência alimentar em *Podocnemis expansa* (Schweigger), *P. unifilis* (Tröschel) e *P.*

*sextuberculata* (Cornalia) em cativeiro (Testudines, Pelomedusidae). Revista Brasileira de Zoologia, 20 (1995): 161-168, 2003.

MARCON, J. L.; SILVA, M. G.; BATISTA, G. S.; FARIAS, R. S.; MONTEIRO, L. B. B. Fisiologia e bioquímica de quelônios e suas implicações para o manejo e criação em cativeiro. In: ANDRADE, P. C. M. (Ed.). Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas. 2. ed. Manaus/AM: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, p. 193-221, 2008.

MOON, D. Y.; OWENSON, D. W.; MACKENZIE, D. S. The effects of fasting and increased feeding on plasma thyroid hormones, glucose, and total protein in sea turtles. Zoological Science, 16: 579-586, 1999.

OLIVEIRA-JÚNIOR, A. A.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L. Biochemical and hematological reference ranges for amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. Research in Veterinary Science, 86 (1): 146-151, 2009.

PAGÉS, T.; PENADO, V. I.; VISCOR, G. Seasonal changes in hematology and blood chemistry of the freshwater turtle *Mauremys caspica leprosa*. Comparative Biochemistry and Physiology, 103A(2): 275-278, 1992.

PEREIRA, L. P. F.; MERCANTE, C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. Boletim Instituto Pesca, 31(1): 81-88, 2005.

PORTAL, R. DA R.; LIMA, M. A. S.; LUZ, V. L. F.; BATAUS, Y. S. L.; REIS, I. J. Espécies vegetais utilizadas na alimentação de *Podocnemis unifilis*, Tröschel 1948 (Reptilia, Testudinae, Pelomedusidae) na região do Pracuúba, Amapá – Brasil. Ciência Animal Brasileira, 1948: 11-19, 2002.

RANGEL-MENDOZA, J.; WEBER, M.; ZENTENO-RUIZ, C. E.; LÓPEZ-LUNA, M. A.; BARBA-MACÍAS, E. Hematology and serum biochemistry comparison in wild and captive Central America river turtles (*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico. Research in Veterinary Science, 87: 313-318, 2009.

ROSSINI, M.; BLANCO, P. A.; MARÍN, E.; COMERMA-STEFFENSEN, S.; ZERPA, H. Hematological values of post-laying arrau turtle (*Podocnemis expansa*) in the Orinoco River, Venezuela. Research in Veterinary Science, 92 (1): 128-31. 2010.

SÁ, V.; QUINTANILHA, L. C.; FRENEAU, G. E.; LUZ, V. L. F.; BORJA, A. L. R.; SILVA, P. C. Crescimento ponderal de filhotes de tartaruga gigante da Amazônia (*Podocnemis expansa*) submetidos a tratamento com rações isocalóricas contendo diferentes. Revista Brasileira Zootecnia, 33 (6): 2351-2358, 2004.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos. 3ª ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002.

SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005.

STACY, N. I.; ALLEMAN, A. R.; SAYLER, K. A. Diagnostic Hematology of Reptiles. Clinics in Laboratory Medicine, 31:87-108,2011.

TAVARES-DIAS, M.; OLIVEIRA-JÚNIOR, A. A.; MARCON, J. L. Methodological limitations of counting total leukocytes and thrombocytes in reptiles (Amazon

turtle, *Podocnemis expansa*): an analysis and discussion. *Acta Amazonica*, 38 (2): 351-356, 2008.

TAVARES-DIAS, M.; OLIVEIRA-JÚNIOR, A. A.; SILVA, M. G.; MARCON, J. L.; BARCELLOS, J. F. M. Comparative hematological and biochemical analysis of giant turtles from the Amazon farmed in poor and normal nutritional conditions. *Veterinarski Arhiv*, 79 (6): 601-610, 2009.

VISMARA, M. R. Influência do manejo de ninhos de *Podocnemis unifilis* sobre o desenvolvimento de embriões no Lago Erepecu, REBIO-Trombetas (PA). 39f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2010.

WHITING, S. D.; GUINEA, M. L.; LIMPUS, C. J.; FOMIATTI, K. Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comparative Clinical Pathology*, 16 (2): 109-118, 2007.

ZHANG, F. Z.; HEXIANG, G. U.; PIPENG, L. I. A Review of Chelonian Hematology. *Asian Herpetological Research*, 2 (1): 12-20, 2011.



# CAPÍTULO 3

## FISIOLOGIA DE ARRAIAS DE ÁGUA DOCE: SUBSÍDIOS PARA APLICABILIDADE NA AQUICULTURA

Adriano Teixeira de Oliveira<sup>1</sup>  
Jackson Pantoja Lima  
Paulo Henrique Rocha Aride  
Marcos Tavares-Dias  
Jaydione Luiz Marcon

### INTRODUÇÃO

Além de uma diversidade significativa de ictiofauna, a Amazônica abriga um grupo muito particular de elasmobrânquios, as arraias da Família Potamotrygonidae, que constituem um grupo único uma vez que todos os seus representantes estão restritos às águas continentais da América do Sul. Atualmente, essa família apresenta quatro gêneros, *Plesiotrygon*, *Paratrygon*, *Potamotrygon* e *Heliotrygon*, onde são registradas 25 espécies válidas (Rosa et al., 2010; Carvalho & Lovejoy, 2011).

No Brasil, a exploração das arraias de água doce ainda ocorre exclusivamente de forma extrativista e visa atender à demanda de um forte mercado internacional, que utiliza essas arraias como pets ou animais de aquarofilia (Chao et al., 2001; Araújo et al., 2005; Duncan et al., 2010). Estima-se que mais de 60.000 espécimes/ano são vendidos para vários locais do mundo, sendo o Brasil responsável por aproximadamente 47.000 espécimes exportadas anualmente (soma do mercado legal e ilegal) (CITES, 2006), enquanto Peru e Colômbia respondem por outros 15.000 espécimes (Moreau & Coomes, 2007).

---

Oliveira et al. Fisiologia de arraias de água doce: subsídios para aplicabilidade na aquicultura. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

Da exportação das arraias de água doce como peixe ornamental pelo Brasil, 96,8% é destinado ao mercado internacional (Duncan et al., 2010). Os principais países que importam esse recurso natural são a Alemanha, Estados Unidos e países asiáticos, em uma atividade consolidada há aproximadamente quatro décadas (Araújo et al., 2005; Rincon & Charvet-Almeida, 2006).

Na região amazônica encontra-se a maior diversidade de espécies de potamotrigonídeos, sendo que apenas os Estados do Pará e Amazonas podem comercializar esse recurso como espécies para fim ornamental. Em conjunto, estes dois estados exportam apenas espécies do gênero *Potamotrygon*, podendo atingir 20.600 unidades/ano, sendo que o Estado do Amazonas tem uma cota anual maior (12.200 unidades/ano) em comparação ao Pará (IBAMA, 2008). Todas as quatro espécies comercializadas pelo Amazonas, arraia cururu *Potamotrygon* cf. *histris* (Figura 1), *Potamotrygon orbignyi*, *Potamotrygon schroederi* e *Potamotrygon motoro*, ocorrem na bacia do médio Rio Negro, em uma vasta região compreendida entre os municípios de Santa Isabel e Barcelos, esta última conhecida mundialmente como a capital mundial do peixe ornamental (Chao et al., 2001).

No Brasil, apesar da exploração comercial das arraias de potamotrigonídeos ser predominantemente extrativista, outra forma de exploração é a oriunda da produção em cativeiro, que ocorre apenas em países do sudeste da Ásia e que acrescentou mais espécimes e variedades ao comércio e contribuiu para a popularização desse recurso naquele continente, devido à maior acessibilidade a esse recurso, aliado à obtenção de híbridos com padrões variados e exclusivos de colorações dorsais (Cites, 2009), em função do policromatismo que é comum entre os representantes desta família.

Embora os potamotrigonídeos ocorram de forma natural apenas na América do Sul e a maior diversidade e abundância ocorram na bacia Amazônica, ainda não possuímos tecnologia necessária para a produção em cativeiro desses elasmobrânquios, embora esse deve ser o futuro para o aumento da produção e dos

lucros, domínio e refinamento na produção de híbridos diferenciados e, principalmente, para a manutenção das populações naturais em seus ambientes de ocorrência.

O uso das arraias de água doce como fonte de alimento é prática pouco comum na bacia amazônica. Porém, espécies como *Paratrygon aiereba* (Figura 1b) e *P. motoro* (Figura 1c), em função de sua ampla distribuição e, principalmente pelo grande seu porte quando adultos têm sido capturadas nas bacias do Rio Negro e Rio Amazonas, especialmente no Estado do Pará, para uso comestível (Araújo et al., 2005). Batista (2008) descreveu que as arraias de água doce vêm participando sistematicamente nos últimos dez anos da composição alimentar da população amazonense, pois a partir do processamento desses animais é possível obter um bom rendimento cárneo das nadadeiras peitorais e essas são classificadas como magras (<1% de gordura). Nesse sentido, conhecer os parâmetros fisiológicos de espécies de ambiente natural é fundamental para servir de referência para aplicações experimentais de produção em cativeiro.



**Figura 1.** Arraias de água doce. (a) *Paratrygon aiereba*, (b) *Potamotrygon motoro* e (c) *Potamotrygon cf. hystrix* (arraia cururu).

O estudo dos parâmetros fisiológicos em peixes tem sido rotineiramente utilizado na determinação de situações de estresse e, por conseguinte, no diagnóstico de várias doenças em peixes (Tavares-Dias & Moraes, 2007; Pavlidis et al., 2007). Entretanto, essa ferramenta também pode ser empregada para aplicação na aquicultura, a partir do estabelecimento de valores de referências para espécies de vida livre e posterior comparação com animais oriundos de ambientes de cativeiro.

Populações naturais os peixes possuem uma diversidade parasitária própria, que muitas vezes são desconhecidas. Em cultivo pode ocorrer variação na fauna parasitária entre peixes das diferentes formas de cultivo praticadas (Malta et al., 2009).

Na análise das propriedades do sangue das arraias de água doce também é possível a constatação da presença de parasitos intraeritrocitários (Oliveira, 2008, Brito, 2012; Magro, 2013), que são frequentemente encontrados em outros grupos de peixes (Davies e Smit, 2001), além dos elasmobrânquios marinhos (Clewley et al., 2002; Aragort et al., 2005). Esses parasitos se aproveitam de fatores como flutuações da temperatura, estratégias reprodutivas, habitat, comportamento migratório e alimentar (Davies & Johnston, 2000). Apesar disso, pouco se conhece sobre suas ações nos peixes que vivem em ambientes naturais. Da mesma forma, não existem estudos que indiquem uma provável interferência destes parasitas em animais mantidos em sistema de criações, algo que merece atenção em pesquisas futuras.

O presente estudo descreve parâmetros relativos às propriedades do sangue e destaca a presença de hemoparasitos em arraias Potamotrygonidae, visando gerar subsídios técnicos para o uso experimental e aplicações futuras que envolvam o cultivo e a reprodução desses animais.

## **FISIOLOGIA DE ARRAIAS DE ÁGUA DOCE**

Visando obter uma padronização na colheita de amostras de sangue para as arraias de água doce, afim de minimizar o efeito do estresse pela captura e manipulação, necessários para a determinação confiável dos parâmetros fisiológicos, Oliveira et al., (2012) estabeleceram o protocolo que deve ser empregado para que o procedimento seja preciso, seguro e rápido, preferencialmente em tempo inferior a três minutos. O mesmo deve ocorrer essencialmente por uma punção suave do vaso branquial na região ventral do animal, utilizando seringas de pequeno volume (1 a 3 ml) com as paredes levemente banhadas com o anticoagulante EDTA (10%), tomando sempre o cuidado com a imobilização do ferrão

(com pinça ou tudo plástico), para evitar acidentes com o manipulador ou a própria arraia. Esse procedimento ameniza consideravelmente o sofrimento do animal e permite estabelecer valores de referências mais próximos da condição basal do mesmo e com efeito mínimo possível do estresse.

As investigações da literatura têm demonstrado que arraias de água doce apresentam menor quantidade de eritrócitos no sangue (Oliveira 2008; 2013), porém, com tamanho duas vezes superior que os dos peixes teleósteos (Saunders, 1966; Luer et al., 2004). Como consequência, estas células apresentam mais hemoglobina corpuscular média e menor concentração de hemoglobina que os teleósteos, diferenças estas que resultam em um sangue com pouca viscosidade e que classificam as arraias como o grupo de peixes mais sedentários, com baixa demanda por oxigênio e baixa taxa metabólica (Wilhelm-Filho et al., 1992), um perfil bem diferente do que ocorre com os peixes teleósteos de cultivo.

A quantidade de aminoácidos na hemoglobina de elasmobrânquios é duas vezes maior que as de peixes teleósteos (Nikinmaa, 1990). No entanto, esse aumento não se reflete na quantidade de oxigênio absorvido pelos eritrócitos, pois, as arraias tradicionalmente possuem baixo aporte de energia relacionado ao modesto trabalho cardíaco que esse grupo de peixes possui (Wilhelm Filho et al., 1992). Do ponto de vista fisiológico, Griffith et al. (1973) foram os primeiros a realizarem estudos hematológicos e bioquímicos do plasma em potamotrigonídeos, entretanto, aquelas arraias foram oriundas de aquários e também houve inconsistência na definição exata de qual era a espécie utilizada no estudo.

## **MORFOLOGIA DAS CÉLULAS DO SANGUE**

Em relação às células do sangue de potamotrigonídeos, poucos estudos têm sido conduzidos para identificar e caracterizar os tipos celulares sanguíneos (Tabela 1). Essa escassez de informações deve-se às dificuldades nos procedimentos utilizados para a coloração das extensões sanguíneas e, principalmente, na

identificação das diferentes populações leucocitárias (Oliveira, 2008; 2013).

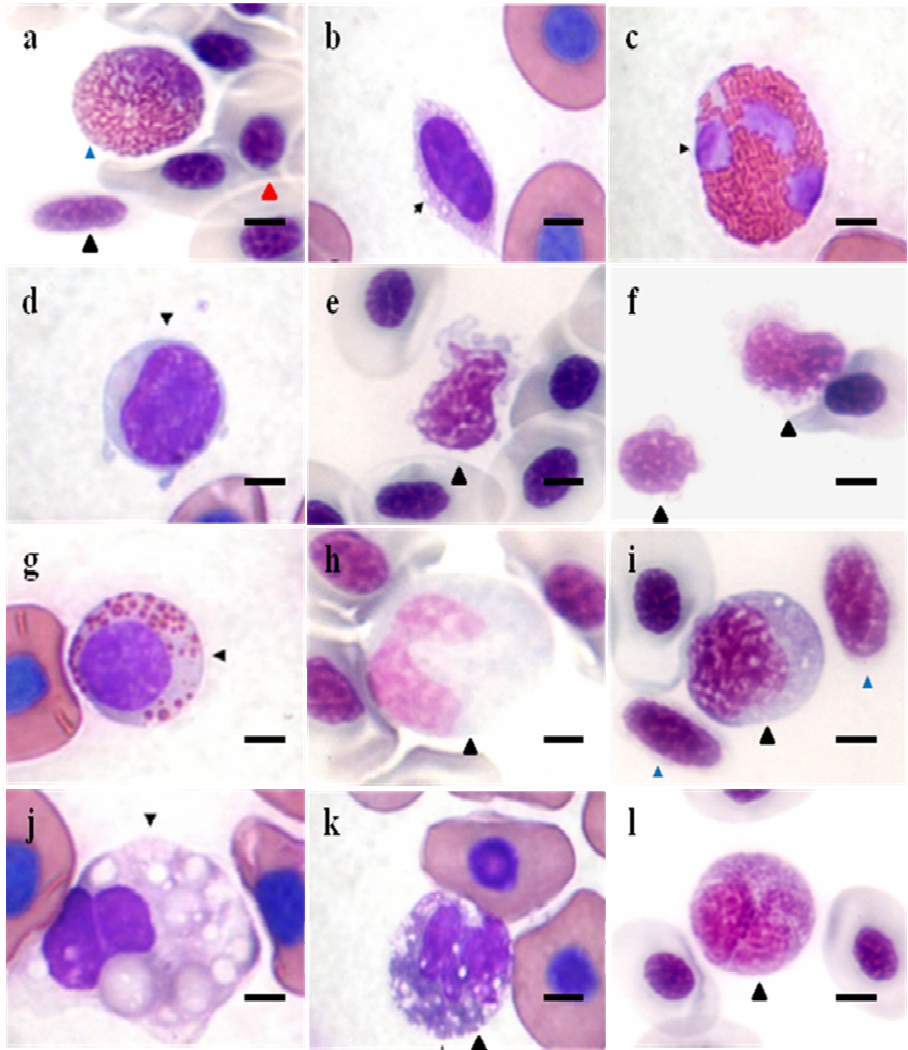
A caracterização morfológica dos diferentes tipos celulares até o presente momento foi proposta apenas nos trabalhos realizadas com as arraias *Potamotrygon* cf. *histris* (arraia cururu) por Oliveira (2008), *P. motoro* por Pádua et al. (2010) e em *Potamotrygon* cf. *histris*, *P. motoro* e *P. aiereba* por Oliveira (2013) (Figura 2). Notoriamente, no sangue de arraias de água doce são encontrados todos os tipos celulares sanguíneos, à exceção do leucócito granular PAS-positivo (LG-PAS) ou célula granulocítica especial (CGE) que ocorre exclusivamente em alguns peixes teleósteos (Tavares-Dias & Moraes, 2004).

De acordo com Oliveira (2013) os eritrócitos apresentam a forma elíptica com o citoplasma abundante de coloração hialina, em geral, com o núcleo localizado na porção central acompanhando o formato da célula. Grande quantidade de eritrócitos imaturos (eritroblastos) também são retratados no sangue de arraias de água doce, essas células são geralmente arredondadas e com citoplasma também hialino, apresentando, porém, uma maior relação núcleo-citoplasma quando comparadas aos eritrócitos maduros.

**Tabela 1.** Células sanguíneas (trombócitos e leucócitos) encontrados em arraias de água doce da família Potamotrygonidae

| Espécies  | Tro | Li | Mo | Ne | Eo | He | Ba | Localidades                     | Referencias            |
|---|-----|----|----|----|----|----|----|---------------------------------|------------------------|
| Não especificada  | x   | x  | x  | x  | x  |    |    | Aquário Connecticut             | Griffith et al. (1973) |
| <i>Potamotrygon</i> cf. <i>histrrix</i>                 | x   | x  | x  |    |    | x  | x  | Médio Rio Negro, AM             | Oliveira (2008)        |
| <i>Potamotrygon motoro</i>                              | x   | x  | x  | x  | x  | x  | x  | Rio São Domingues, Dourados, MS | Pádua et al. (2010)    |
| <i>Potamotrygon</i> cf. <i>histrrix</i> (arraia cururu) | x   | x  | x  |    |    | x  | x  | Médio Rio Negro, AM             | Lemos (2011)           |
| <i>Potamotrygon falkneri</i>                            | x   | x  | x  | x  | x  | x  | x  | Rio Paraná, Porto Rico, PR      |                        |
| <i>Potamotrygon motoro</i>                              | x   | x  | x  | x  | x  | x  | x  | Rio Paraná, Porto Rico, PR      |                        |
| <i>Potamotrygon orbignyi</i>                            | x   | x  | x  | x  | x  | x  | x  | Rio Piririm, Macapá, AP         | Brito (2012)           |
| <i>Potamotrygon scobina</i>                             | x   | x  | x  | x  |    | x  | x  | Rio Piririm, Macapá, AP         |                        |
| <i>Potamotrygon</i> cf. <i>histrrix</i>                 | x   | x  | x  |    |    | x  | x  | Médio Rio Negro, AM             |                        |
| <i>Potamotrygon motoro</i>                              | x   | x  | x  |    |    | x  | x  | Médio Rio Negro, AM             | Oliveira (2013)        |
| <i>Paratrygon aiereba</i>                               | x   | x  | x  |    |    | x  | x  | Médio Rio Negro, AM             |                        |
| <i>Potamotrygon orbignyi</i>                            | x   | x  | x  |    |    | x  | x  | Médio Rio Negro, AM             |                        |
| <i>Potamotrygon schroederi</i>                          | x   | x  | x  |    |    | x  | x  | Médio Rio Negro, AM             | Presente estudo        |

Tr = trombócitos, Li = linfócitos, Mo = monócitos, Ne = neutrófilos, Eo = eosinófilo, He = heterófilo, Ba = basófilo.



**Figura 2.** Células sanguíneas de arraias de água doce coradas com May Grünwald-Giemsa-Wright. (a) ▲ Eritrócito, ▲ trombócito e ▲ heterófilo de *Potamotrygon* cf. *hystrix*; (b) Trombócito de *P. motoro*; (c) Heterófilo de *P. motoro*; (d) Linfócito de *P. motoro*; (e) Linfócito de *Potamotrygon* cf. *hystrix*; (f) Linfócitos de *P. orbigny*; (g) eosinófilo de *P. motoro*; (h) Monócito de *P. schroederi*; (i) ▲ Monócito e ▲ trombócitos de *Potamotrygon* cf. *hystrix*; (j) Neutrófilo de *P. motoro*; (k) Basófilo de *P. motoro*; (l) Basófilo de *P. motoro*. Barra= 5  $\mu$ m.



Os linfócitos são células de formato irregular, podendo ser elípticos e raramente ovais, com o núcleo ocupando grande parte do citoplasma basofílico, além de possuir projeções citoplasmáticas e ausência de granulações visíveis (Oliveira, 2008). Os trombócitos geralmente são fusiformes, possuem citoplasma hialino, núcleo ocupando quase toda a célula e acompanhando o formato da mesma. Os monócitos são os leucócitos de maior tamanho, têm formato predominante oval, com núcleo geralmente excêntrico que ocupa grande parte da célula e citoplasma basofílico, que pode apresentar vacúolos (Oliveira, 2013). Os heterófilos são células predominantemente ovais, com grande quantidade de granulações heterofílicas grosseiras e núcleo, em geral, excêntrico. Os basófilos são células também, predominantemente ovais, possuem granulações basofílicas e seu núcleo é excêntrico e geralmente bilobulado.

Os neutrófilos são células predominantemente circulares podendo apresentar também formato pleomórfico, exibindo projeções citoplasmáticas (Pádua et al., 2010). No citoplasma existem finas granulações neutrofílicas com grande quantidade de vacúolos e núcleo com coloração púrpura e, frequentemente, com presença de lóbulos (Pádua et al., 2010). Os eosinófilos exibem formato circular, grande variação no tamanho e formato do núcleo, seu citoplasma contém quantidade variada de grânulos circulares que se coram por coloração eosinofílica (Pádua et al., 2010).

## **QUANTIFICAÇÃO DE LEUCÓCITOS E TROMBÓCITOS**

A quantificação das populações leucocitárias e trombócitos é ferramenta fundamental para conhecimento da defesa imunológica (Tavares-Dias & Moraes, 2007; Pavlidis et al., 2007; Ranzani-Paiva et al., 2013). Em muitos casos os trombócitos são classificados como leucócitos, entretanto, esses predominantemente exercem funções no processo de coagulação (Walsh & Luer, 2004; Luer et al., 2004) e secundariamente na defesa imunológica (Oliveira, 2013).

Griffith et al. (1973) realizaram os primeiros estudos, os quais quantificaram leucócitos (leucócitos totais=  $5,12 \pm 1,49 \times 10^3/\mu\text{L}$ ;

linfócitos=  $73,8 \pm 9,3\%$ ; monócitos=  $13,8 \pm 9,0\%$ ; neutrófilos=  $7,5 \pm 4,8\%$ ; eosinófilos=  $5,0 \pm 1,7\%$ ) e trombócitos totais =  $33,8 \pm 1,3 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ . Entretanto, naquele estudo a contagem dos tipos celulares foi realizado em hemocitômetro, o qual atualmente não vem sendo mais empregado (Tavares-Dias & Moraes, 2004), devido as dificuldades de diferenciação entre os tipos celulares sanguíneos. Essa abordagem foi posteriormente desenvolvida nas pesquisas de Oliveira (2008), Brito (2012) e novamente por Oliveira (2013), que descreveram resultados mais consistentes para a contagem de leucócitos e trombócitos em arraias de água doce (Tabela 2).

**Tabela 2.** Contagem total de leucócitos e trombócitos em arraia de água doce da família Potamotrygonidae

| Espécies              | Leucócitos<br>( $\mu\text{L}$ ) | Trombócitos<br>( $\mu\text{L}$ ) | Linfócitos<br>( $\mu\text{L}$ ) | Monócitos<br>( $\mu\text{L}$ ) | Eosinófilos<br>( $\mu\text{L}$ ) | Neutrófilos<br>( $\mu\text{L}$ ) | Heterófilos<br>( $\mu\text{L}$ ) | Basófilos<br>( $\mu\text{L}$ ) | Localidade            | Referências        |
|-----------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|-----------------------|--------------------|
| <i>P. cf. histrix</i> | 4.426 $\pm$ 2.407               | 1.595 $\pm$ 1.517                | 1.934 $\pm$ 1.250               | 1.457 $\pm$ 1.131              | -                                | -                                | 883 $\pm$ 528                    | 141 $\pm$ 150                  | Rio Negro,<br>AM      | Oliveira<br>(2008) |
| <i>P. motoro</i>      | 2.908 $\pm$ 617                 | 816 $\pm$ 621                    | 1.700 $\pm$ 1262                | 1.368 $\pm$ 872                | -                                | -                                | 861 $\pm$ 417                    | 181 $\pm$ 178                  | Rio Negro,<br>AM      | Oliveira<br>(2013) |
| <i>P. cf. histrix</i> | 3.700 $\pm$ 2331                | 870 $\pm$ 479                    | 1.705 $\pm$ 1078                | 1161 $\pm$ 640                 | -                                | -                                | 776 $\pm$ 343                    | 135 $\pm$ 117                  | Rio Negro,<br>AM      | Oliveira<br>(2013) |
| <i>P. aiereba</i>     | 2.697 $\pm$ 546                 | 610 $\pm$ 368                    | 1.229 $\pm$ 482                 | 733 $\pm$ 24                   | -                                | -                                | 899 $\pm$ 1                      | 191 $\pm$ 147                  | Rio Negro,<br>AM      | Oliveira<br>(2013) |
| <i>P. falkneri</i>    | 3.618 $\pm$ 399                 | 1.255 $\pm$ 263                  | 1.123 $\pm$ 411                 | 337 $\pm$ 50                   | 30 $\pm$ 13                      | 1.892 $\pm$ 195                  | 232 $\pm$ 34                     | 9 $\pm$ 5                      | Rio<br>Paraná, PR     | Brito (2012)       |
| <i>P. motoro</i>      | 2.520 $\pm$ 501                 | 1.077 $\pm$ 492                  | 718 $\pm$ 189                   | 234 $\pm$ 76                   | 20 $\pm$ 14                      | 1.393 $\pm$ 357                  | 147 $\pm$ 35                     | 8 $\pm$ 5                      | Rio<br>Paraná, PR     | Brito (2012)       |
| <i>P. orbignyi</i>    | 2.555 $\pm$ 447                 | 1.232 $\pm$ 244                  | 403 $\pm$ 113                   | 150 $\pm$ 43                   | 8 $\pm$ 6                        | 1.985 $\pm$ 265                  | 782 $\pm$ 154                    | 43 $\pm$ 15                    | Rio<br>Piririm, AP    | Brito (2012)       |
| <i>P. scobina</i>     | 2.299 $\pm$ 581                 | 1.736 $\pm$ 583                  | 594 $\pm$ 169                   | 73 $\pm$ 32                    | -                                | 737 $\pm$ 172                    | 851 $\pm$ 301                    | 43 $\pm$ 28                    | Rio<br>Piripim,<br>AP | Brito (2012)       |
| <i>P. schroederi</i>  | 2.900 $\pm$ 430                 | 1.132 $\pm$ 114                  | 1282 $\pm$ 480                  | 690 $\pm$ 120                  | -                                | -                                | 851 $\pm$ 302                    | 123 $\pm$ 78                   | Rio Negro,<br>AM      | Presente<br>estudo |
| <i>P. orbignyi</i>    | 2.790 $\pm$ 280                 | 1.090 $\pm$ 210                  | 1301 $\pm$ 299                  | 880 $\pm$ 221                  | -                                | -                                | 903 $\pm$ 29                     | 99 $\pm$ 62                    | Rio Negro,<br>AM      | Presente<br>estudo |

Nestes registros, é possível observar ampla variação entre as espécies estudadas. Nas arraias oriundas do médio Rio Negro, os linfócitos foram os leucócitos predominantes, enquanto os basófilos foram os tipos celulares sanguíneos mais difíceis de encontrar. Nas arraias oriundas da bacia do Rio Paraná (*P. falkneri* e *P. motoro*) os neutrófilos foram as células mais abundantes, enquanto os basófilos foram as menos predominantes (Brito, 2012). Em potamotrigonídeos coletados no Rio Piririm, Estado do Amapá, foram os heterófilos e os neutrófilos os leucócitos mais abundantes (Brito, 2012). Essas informações são fundamentais e comprovam que tanto o leucograma, como o trombograma podem apresentar variações de acordo com a localidade ou com a espécie estudada. Além disso, uma análise realizada por Oliveira (2008 e 2013) concluiu que podem existir diferenças ontogenéticas nas espécies, fato importante a ser considerado quando da introdução de uma espécie em ambiente artificial para fins de manutenção e reprodução. Portanto, a utilização dos valores dessas variáveis fisiológicas tem as suas peculiaridades no acompanhamento das condições de saúde destes animais e devem ser consideradas nas condições de cultivo.

## **REAÇÕES CITOQUÍMICAS EM CÉLULAS SANGUÍNEAS**

O uso de técnicas citoquímicas sanguíneas fornece informações que auxiliam na identificação e na adequação da nomenclatura correta a ser utilizada, além de elucidar a função imunológica de leucócitos e trombócitos, de acordo com o arsenal de enzimas e outros substratos passíveis de identificação (Ranzani-Paiva et al., 2013). Apenas dois trabalhos utilizaram colorações citoquímicas em estudos com arraias de água doce (Tabela 3).

Nos estudos conduzidos por Oliveira (2013) não foram encontrados neutrófilos e eosinófilos no sangue das três espécies de arraias amazônicas investigadas. Porém, foram identificados heterófilos que possuem função similar aos neutrófilos, como por exemplo, atividade fagocítica, como demonstrados pela presença de glicogênio e presença de lipídeos e proteínas. O glicogênio é uma importante fonte de reserva energética celular para os mecanismos

de defesa inata que ocorrem especialmente durante o processo de fagocitose (Tavares-Dias, 2006; Ranzani-Paiva et al., 2013). Reação positiva ao PAS também ocorreu em trombócitos de *P. motoro* (Pádua et al., 2010), *Potamotrygon cf. histrix*, *P. motoro* e *P. aiereba*. Uma reação positiva fraca também foi observada em linfócitos e monócitos (Oliveira, 2013). Os trombócitos são células que atuam nos processos de coagulação sanguínea (Hayhoe & Quaglino, 1994; Ranzani-Paiva et al., 2013), mas que também apresentam papel relevante na atividade imune (Tavares-Dias, 2006). Nos estudos de Pádua et al. (2010) foram observadas reações positivas em heterófilos e neutrófilos de *P. motoro*.

**Tabela 3.** Reações citoquímicas das células sanguíneas das arraias *Potamotrygon cf. histrix*, *P. motoro* e *P. aiereba* do médio Rio Negro, Amazonas, Brasil.

| Células     | PAS |    |    |    | Peroxidase |   |   |   | Azul de toluidina |    |    |   | Sudan Black B |    |    |   | Azul de Bromofenol |    |    |    |
|-------------|-----|----|----|----|------------|---|---|---|-------------------|----|----|---|---------------|----|----|---|--------------------|----|----|----|
|             | 1   | 2  | 3  | 4  | 1          | 2 | 3 | 4 | 1                 | 2  | 3  | 4 | 1             | 2  | 3  | 4 | 1                  | 2  | 3  | 4  |
| Trombócitos | ++  | ++ | ++ | ++ | -          | - | - |   | -                 | -  | -  |   | ++            | ++ | ++ |   | -                  | -  | -  | -  |
| Linfócitos  | +   | +  | +  | -  | -          | - | - |   | -                 | -  | -  |   | ++            | ++ | ++ |   | -                  | -  | -  | -  |
| Monócitos   | +   | +  | +  | -  | -          | - | - |   | -                 | -  | -  |   | -             | -  | -  |   | -                  | -  | -  | -  |
| Heterófilos | ++  | ++ | ++ | ++ | -          | - | - |   | -                 | -  | -  |   | +             | +  | +  |   | ++                 | ++ | ++ | ++ |
| Basófilos   | -   | -  | -  | -  | -          | - | - |   | ++                | ++ | ++ |   | -             | -  | -  |   | ++                 | ++ | ++ | ++ |
| Eosinófilo  |     |    |    | -  |            |   |   |   |                   |    |    |   |               |    |    |   |                    |    |    | ++ |
| Neutrófilo  |     |    |    | ++ |            |   |   |   |                   |    |    |   |               |    |    |   |                    |    |    | ++ |

(1) *Potamotrygon cf. histrix* (arraia cururu); (2) *P. motoro*; (3) *P. aiereba* (Oliveira, 2013); (4) *P. motoro* (Pádua et al., 2010); - Negativo; + fraco positivo; ++ positivo

Diversos estudos citoquímicos foram conduzidos em leucócitos de diferentes espécies de peixes teleósteos (Zinkl et al., 1991; Tavares-Dias, 2006; Ranzani-Paiva et al., 2013) e demonstram a falta de uniformidade na nomenclatura dos granulócitos. Em Chondrichthyes, Hine e Wain (1988) estudaram tais células em espécies de quimeras (*Callorhynchus milii*, *Chimaera phantasma*, *Hydrolagus novaezealandiae*, *Hydrolagus* sp., *Harriotta raleighana* e *Rhinochimaera pacifica*) e descreveram que a enzima esterase desses holocefalos é muito diferente daquelas encontradas em elasmobrânquios.

Não foi observada reação para a peroxidase em nenhuma das células do sangue das espécies *P. aiereba*, *Potamotrygon* cf. *histris* e *P. motoro* (Oliveira, 2013). Em heterófilos de *Carassius auratus* também não ocorreu reação positiva para a peroxidase (Zinkl et al., 1991). A peroxidase é uma importante enzima lisossômica que participa na digestão intracelular (Ranzani-Paiva et al., 2013) e uma de suas principais características é a reação positiva em eosinófilos e neutrófilos, granulócitos ausentes nas espécies de arraias de água doce investigadas por Oliveira (2013). Em algumas espécies de teleósteos, a ausência da peroxidase parece estar acompanhada do desenvolvimento compensatório de outros componentes antibacterianos como, por exemplo, as proteínas catiônicas (Tavares-Dias, 2006; Tavares-Dias & Moraes, 2007).

Como os basófilos são leucócitos pouco frequentes no sangue de arraias de água doce, foi possível confirmar a existência desse tipo de granulócito, por meio da reação positiva de metacromasia (Oliveira, 2013). Além disso, nesses potamotrigonídeos foi demonstrada a presença de lipídios em trombócitos e linfócitos, mas em menor intensidade nos heterófilos. Similarmente, em *Xiphophorus helleri* (peixe teleósteo ornamental), reação sudanofílica foi também encontrada em linfócitos e monócitos (Schütt et al., 1997). Porém, em outros teleósteos essa reação tem sido descrita nos grânulos de neutrófilos (Zinkl et al. 1991; Ranzani-Paiva et al., 2013). Os leucócitos fagocíticos podem utilizar lipídios como fonte de

energia, degradando tais constituintes por atuação das enzimas citoplasmáticas (Ranzani-Paiva et al., 2013).

A reação para o azul de bromofenol foi observada nos grânulos de heterófilos e basófilos nas investigações realizadas por Oliveira (2013), indicando a presença de proteínas gerais. Pádua et al. (2010) também observaram reação positiva em basófilos, eosinófilos e neutrófilos de *P. motoro*. Em tartarugas amazônicas, reação positiva para azul de bromofenol foi relatada em heterófilos e basófilos (Oliveira et al., 2011). A função das proteínas nos grânulos dos leucócitos está associada à defesa contra microrganismos, provocando sua morte quando são liberadas após a ruptura dessas células.

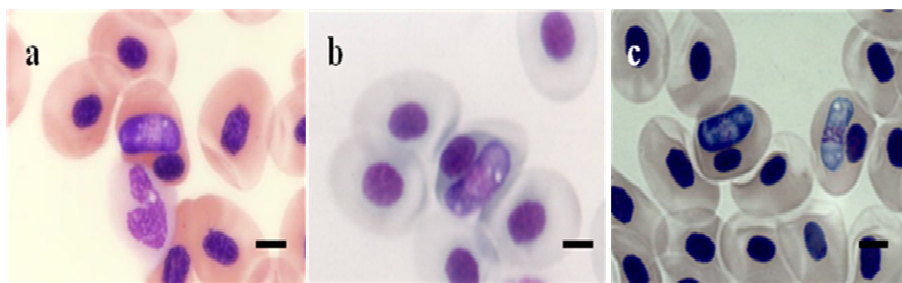
## PARASITOS INTRAERITROCITÁRIOS

O primeiro registro sobre a presença de parasitas presentes no sangue de arraias de água doce foi proposto por Oliveira (2008) ao investigar a espécie *Potamotrygon* cf. *histrrix* (arraia cururu) oriunda do médio Rio Negro, Amazonas. Esse autor registrou a presença de gametócitos de um hemoparasito intraeritrocitário do Filo Apicomplexa, Ordem Eimeriida, Família Hemogregarinidae, em 17,0% dos espécimes analisados. Além disso, foi observado que este hemoparasito ocupava grande parte da célula, deslocando o núcleo para uma das extremidades (Figura 3a; Oliveira, 2008). Brito (2012) estudando as arraias *P. orbignyi* e *P. scobina* do Rio Piririm, no Amapá, também retratou a presença de um protozoário intraeritrocitário em 34,0% dos animais estudados, atribuindo ao mesmo a denominação de *Haemogregarina* sp. (Figura 3b).

Recentemente, Magro (2013) realizou estudos mais detalhados e encontrou uma prevalência de 23,9% em *P. aiereba*, 26,1% em *P. motoro* e 50% em *Potamotrygon* cf. *histrrix*, todas oriundas do médio Rio Negro, Estado do Amazonas. Esse hemoparasito identificado esteve presente dentro de eritrócitos (Figura 3c) e foi denominado como *Cyrilia lainsoni* sp. nov. e, ao que tudo indica, é a mesma espécie encontrada nos trabalhos realizados por Oliveira (2008) e Brito (2012). Em *P. schroederi* e *P. orbignyi* da bacia do médio



Rio Negro foi registrado o mesmo tipo de hemoparasito encontrado por Magro (2013), na prevalência de 22,5% e 27,0%, respectivamente (Oliveira, A.T. & Marcon, J.L. dados não publicados). Em *P. motoro* oriundos do Rio Branco, Estado do Acre, não houve registro de hemoparasitos, demonstrando que o parasitismo pode variar de acordo com a área estudada (Magro, 2013) e deve ser considerado nas criações em cativeiro, haja vista, que os mesmos podem modificar a contagem de leucócitos, o tamanho e a morfologia dos eritrócitos, bem como a capacidade destes em transportar oxigênio (Davies & Johnston, 2000).



**Figura 3.** Hemoparasitos intraeritrocitários em arraias de água doce. (a) Parasita intraeritrocitário em *P. orbignyi* (Brito, 2012), em *Potamotrygon* cf. *hystrix* (arraia cururu) (Oliveira, 2008). Em *P. aiereba*, *P. motoro* e *Potamotrygon* cf. *hystrix* (arraia cururu) (Magro, 2013). Barra= 5 µm.

## HEMATOLOGIA DE ARRAIAS DE ÁGUA DOCE

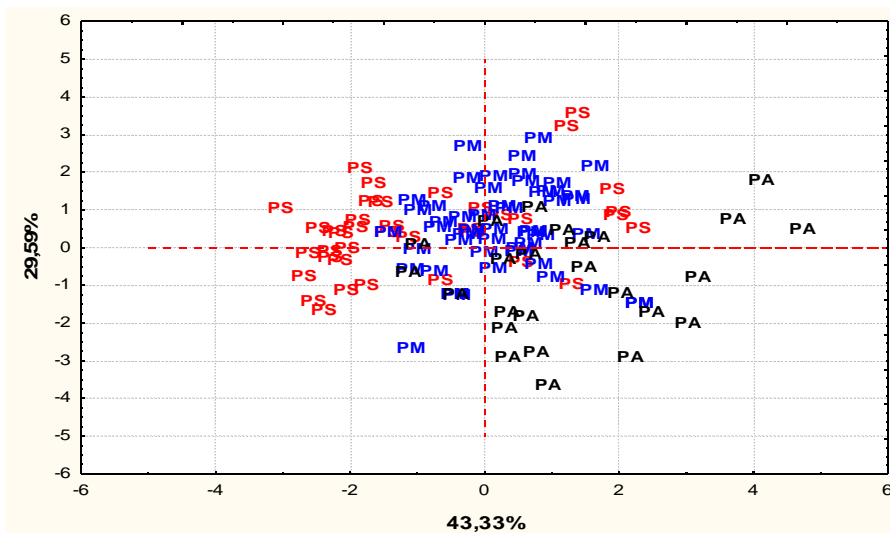
O estudo do eritrograma pode ser usado para diagnosticar diversos estados clínicos de anormalidade em animais ou em sua população. A identificação de processos anemiantes nos animais permite a caracterização de distintas estratégias em populações de peixes sobre a demanda metabólica por oxigênio (Wilhelm Filho et al., 1992). Portanto, o eritrograma pode ser utilizado como ferramenta importante na caracterização de estratégias fisiológicas adaptativas relacionadas às variações ambientais (Val et al., 1992; Almeida-Val et al., 1999) e também em situações de estresse, muito comum nos sistemas de cultivo intensivo (Tavares-Dias et al., 2004).

O eritrograma de arraia apresenta valores inferiores aos relatados para tubarões, que por sua vez é inferior aos de peixes teleósteos (Wilhelm Filho et al., 1992). Essa constatação pode ocorrer logo após o primeiro contato com o sangue de arraia que é visivelmente hemodiluído quando comparado aos teleósteos. Porém, esta característica macroscópica pode permitir um diagnóstico errôneo de condição de anemia nesses animais. A Tabela 4 apresenta valores do eritrograma para diversas espécies de arraia de água doce.

**Tabela 4.** Eritrograma de diferentes espécies de arraias de água doce da família Potamotrygonidae

| Espécies                    | Hematócrito (%) | Hemoglobina (g/dL) | Eritrócitos ( $10^6/\mu\text{L}$ ) | VCM (fL)          | HCM (g/dl)       | CHCM (g/dL)     | Referências            |
|-----------------------------|-----------------|--------------------|------------------------------------|-------------------|------------------|-----------------|------------------------|
| <i>Potamotrygon</i> sp.     | -               | -                  | $0,3 \pm 0,2$                      | -                 | -                | -               | Griffith et al. (1973) |
| <i>Potamotrygon hystrix</i> | $22,0 \pm 2,0$  | -                  | -                                  | -                 | -                | -               | Bittner & Lang (1980)  |
| <i>Potamotrygon</i> sp.     | $15,5 \pm 1,4$  | -                  | -                                  | -                 | -                | -               | Wood et al. (2002)     |
| <i>P. cf. histrix</i>       | $25,7 \pm 5,1$  | $4,6 \pm 1,1$      | $0,4 \pm 0,1$                      | $671,7 \pm 137,1$ | $122,6 \pm 40,6$ | $18,2 \pm 5,1$  | Oliveira (2008)        |
| <i>P. cf. histrix</i>       | $22,6 \pm 0,9$  | -                  | $0,4 \pm 0,1$                      | $588,1 \pm 39,1$  | -                | -               | Brinn et al. (2012)    |
| <i>P. cf. histrix</i>       | $20,2 \pm 2,9$  | $4,1 \pm 0,6$      | $0,5 \pm 0,1$                      | $437,8 \pm 82,1$  | $85,8 \pm 17,0$  | $20,2 \pm 2,1$  | Lemos (2011)           |
| <i>P. cf. histrix</i>       | $23,0 \pm 4,4$  | $4,0 \pm 0,9$      | $0,4 \pm 0,1$                      | $529,8 \pm 144,5$ | $91,4 \pm 22,4$  | $18,7 \pm 4,9$  | Oliveira (2013)        |
| <i>P. motoro</i>            | $21,2 \pm 3,7$  | $3,8 \pm 0,9$      | $0,4 \pm 0,1$                      | $550,2 \pm 146,3$ | $98,3 \pm 25,4$  | $18,3 \pm 3,6$  | Jezini (2011)          |
| <i>P. falkneri</i>          | $21,3 \pm 0,8$  | $4,3 \pm 0,1$      | $0,8 \pm 0,1$                      | $288,0 \pm 33,4$  | $57,1 \pm 5,9$   | $20,8 \pm 1,1$  | Brito (2012)           |
| <i>P. motoro</i>            | $19,6 \pm 1,6$  | $4,2 \pm 0,4$      | $0,7 \pm 0,1$                      | $325,0 \pm 59,4$  | $59,4 \pm 12,9$  | $22,2 \pm 1,9$  | Brito (2012)           |
| <i>P. orbigny</i>           | $23,1 \pm 3,9$  | $5,0 \pm 0,8$      | $0,9 \pm 0,1$                      | $267,0 \pm 49,2$  | $54,5 \pm 9,9$   | $21,9 \pm 4,1$  | Brito (2012)           |
| <i>P. scobina</i>           | $22,0 \pm 4,6$  | $5,2 \pm 1,1$      | $1,4 \pm 0,4$                      | $171,0 \pm 32,5$  | $39,5 \pm 5,7$   | $23,7 \pm 2,2$  | Brito (2012)           |
| <i>P. motoro</i>            | $14,6 \pm 3,7$  | $2,2 \pm 0,7$      | $0,3 \pm 0,1$                      | $420,4 \pm 83,1$  | $62,8 \pm 14,9$  | $15,43 \pm 4,3$ | Oliveira (2013)        |
| <i>P. aiereba</i>           | $24,7 \pm 4,1$  | $4,2 \pm 1,1$      | $0,4 \pm 0,1$                      | $641,4 \pm 151,2$ | $105,8 \pm 39,7$ | $17,2 \pm 4,0$  | Oliveira (2013)        |
| <i>P. schroederi</i>        | $23,9 \pm 1,1$  | $3,7 \pm 0,9$      | $0,3 \pm 0,1$                      | $892,2 \pm 670,0$ | $88,3 \pm 33,7$  | $15,6 \pm 9,7$  | Presente estudo        |
| <i>P. orbigny</i>           | $23,3 \pm 3,5$  | $3,8 \pm 0,9$      | $0,4 \pm 0,1$                      | $663,9 \pm 226,8$ | $106,2 \pm 31,5$ | $16,2 \pm 2,0$  | Presente estudo        |

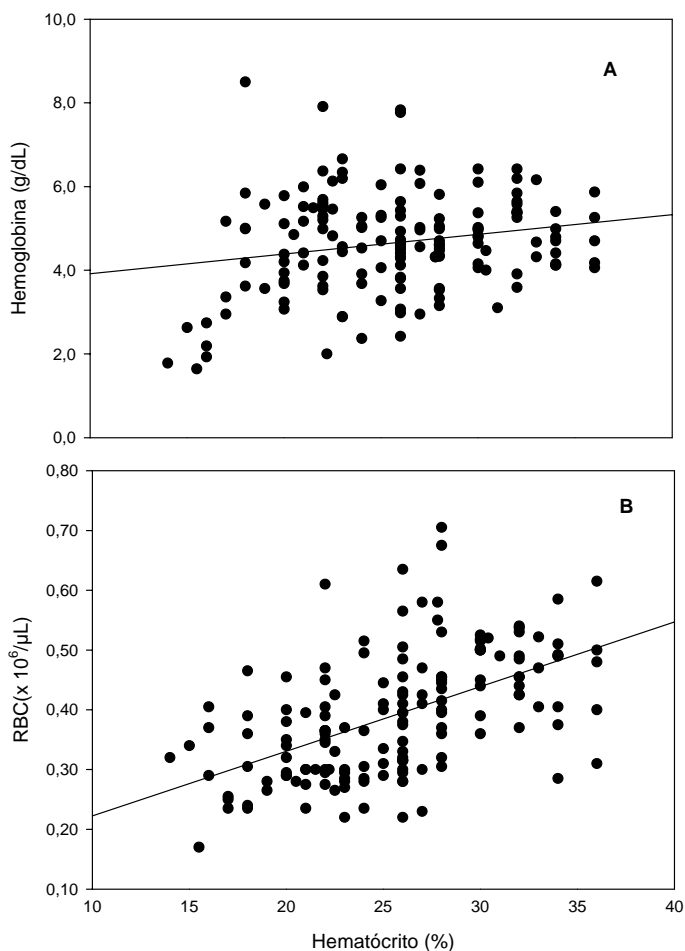
Os parâmetros eritrocitários de arraias, em geral, apresentam pouca variação interespecíficas. Essa similaridade interespecífica foi observada também por Brito (2012) nos valores do eritrograma de *P. falkneri*, *P. motoro*, *P. orbignyi* e *P. scobina*. Oliveira (2013) ao estudar o eritrograma de *Potamotrygon* cf. *histris*, *P. motoro* e *P. aiereba* observou também essa similaridade. Porém, a análise estatística exploratória multivariada do eritrograma (Figura 4) de três espécies de arraias investigadas por Oliveira (2013), revelou um total 72,9% de variação, constituindo-se em um sistema de diferenciação na demanda por oxigênio. Os parâmetros que constituem o eritrograma, em especial o número de eritrócitos e a concentração de hemoglobina, refletem a capacidade de transporte de oxigênio do sangue (Wilhelm Filho et al., 1992), e podem estar relacionados à atividade e capacidade respiratória das arraias de água doce (Oliveira, 2008; Lemos, 2011; Brito, 2012). *Potamotrygon* cf. *histris*, apresenta uma clara diferenciação no eixo X quando comparada a *P. aiereba*. Por outro lado, *P. motoro* constitui-se como uma espécie intermediária que apresenta as características do eritrograma interagindo tanto com *Potamotrygon* cf. *histris*, quanto com *P. aiereba*. Oliveira (2013) retratou que existe diferença de habitats entre essas três espécies, sendo que *P. cf. histris* é uma espécie que tem preferência por áreas de igapós, *P. aiereba* tem preferência por praias, enquanto *P. motoro* habita áreas intermediárias entre os igapós e as praias, classificadas por ele como áreas de fundo lamacento. Esses aspectos de ambientes de preferência corroboraram a análise de componentes principais demonstrada na Figura 4 e confirmam que essas espécies podem ser diferenciadas quando as variáveis eritrocitárias são consideradas.



**Figura 4.** Análise de componentes principais (PCA) envolvendo as variáveis do eritrograma (Ht, Hb, RBC, VCM, HCM e CHCM) de *Potamotrygon cf. hystrix* (PS), *P. motoro* (PM) e *P. aiareba* (PA) coletadas no médio Rio Negro, Estado do Amazonas, Brasil.

Durante pesquisas de campo, principalmente na Amazônia, muitas vezes não é possível realizar a contagem de eritrócitos e nem a determinação da concentração de hemoglobina (Hb). Assim, pelo estabelecimento de relações entre o número de eritrócitos (RBC) e a Hb com o hematócrito (Ht), que é mais simples e mais rápido de se determinar, pode ser estimado o RBC e Hb. Na maioria das vezes, o valor do coeficiente angular ( $r$ ) é relativamente elevado, mas outras vezes esse coeficiente é baixo. Biologicamente, recomenda-se que sejam usados somente valores de  $r$  superiores a 0,50 (Ranzani-Paiva, 1991; Ranzani-Paiva, 1995).

Em *P. cf. hystrix*, Oliveira (2008) encontrou correlação positiva entre o Ht e Hb [ $Hb = 3,446 + (0,0470 \times Ht)$ ] e correlação altamente positiva desse com o RBC [ $RBC = 0,114 + (0,0108 \times Ht)$ ] (Figura 5a,b). Este incremento entre o Ht e RBC também tem sido demonstrado em peixes teleosteos dulciaquícolas (Parma-Croux, 1994; Ranzani-Paiva, 1995). Porém, tais ferramentas ainda não têm sido exploradas em elasmobrânquios, até o presente momento.



**Figura 5.** Regressões lineares do (A) hematócrito com a concentração de hemoglobina ( $r = 0,204$ ;  $p=0,01$ ) e, (B) do hematócrito com o número de eritrócitos ( $r= 0,538$ ;  $p <0,001$ ) para *Potamotrygon* cf. *histrrix* do Arquipélago de Mariuá, município de Barcelos, Estado do Amazonas, Brasil.

A Tabela 5 apresenta os valores bioquímicos plasmáticos de várias espécies de arraias de água doce. Em relação as características bioquímica plasmática, foi demonstrado por Oliveira (2008) que as arraias, geralmente, possuem níveis de glicose e proteínas totais

diferentes de peixes, tais como *Collossoma macropomum* e *Arapaima gigas*. Essas diferenças podem estar relacionadas aos diferentes hábitos alimentares dessas espécies. Em geral, os elasmobrânquios têm dieta relativamente mais baixa em carboidratos, assim seus níveis plasmáticos de glicose são provavelmente resultantes da gliconeogênese (Roos et al., 1985). Por outro lado, os níveis plasmáticos de colesterol e ureia de *P. cf. hystrix* são maiores que os relatados para potamotrigonídeos de água doce ou adaptados à água do mar (Griffith et al., 1973), bem como daqueles mantidos em condições de laboratório (Wood et al., 2002). Essas diferenças podem ser atribuídas ao fato das arraias deste estudo ser oriundas de ambiente natural com acesso aos alimentos e, conseqüentemente, proteínas, enquanto naqueles estudos os animais estavam mantidos em condições de laboratório e sem alimentação. O baixo nível de ureia encontrado nessa espécie confirma que este metabólito não está envolvido na osmorregulação desses animais (Wood et al., 2002).

**Tabela 5.** Parâmetros bioquímicos plasmáticos de arraias de água doce da família Potamotrygonidae

| Variáveis               | Glicose<br>(mM/L) | Triglicerídeos<br>(mM/L) | Colesterol<br>(mM/L) | Proteínas<br>totais (g/dL) | Ureia<br>(mM/L) | Ácido úrico<br>(mg/dL) | Globulinas<br>(g/dL) | Albumina<br>(g/dL) | Autor(es)                 |
|-------------------------|-------------------|--------------------------|----------------------|----------------------------|-----------------|------------------------|----------------------|--------------------|---------------------------|
| <i>Potamotrygon</i> sp. | 1,2 ± 0,2         | -                        | 2,8 ± 0,8            | 8,3 ± 2,2                  | 1,1 ± 0,1       | -                      | -                    | 0,4 ± 0,1          | Griffith et al.<br>(1973) |
| <i>Potamotrygon</i> sp. | 2,4 ± 0,3         | -                        | -                    | 1,7 ± 0,1                  | 1,2 ± 0,2       | -                      | -                    | -                  | Wood et al.<br>(2002)     |
| <i>P. cf. histrix</i>   | 1,6 ± 0,6         | 0,6 ± 0,2                | 1,4 ± 0,7            | 1,0 ± 0,3                  | 4,2 ± 4,4       | -                      | -                    | -                  | Oliveira<br>(2008)        |
| <i>P. cf. histrix</i>   | 1,6 ± 0,1         | -                        | -                    | -                          | 0,2 ± 0,1       | -                      | -                    | -                  | Brinn et al.<br>(2012)    |
| <i>P. cf. histrix</i>   | 2,8 ± 0,7         | -                        | -                    | 1,3 ± 0,2                  | -               | -                      | -                    | -                  | Lemos (2011)              |
| <i>P. cf. histrix</i>   | 1,7 ± 0,5         | 0,6 ± 0,2                | 1,4 ± 0,5            | 1,1 ± 0,3                  | 1,7 ± 0,5       | -                      | -                    | -                  | Oliveira<br>(2013)        |
| <i>P. motoro</i>        | 1,9 ± 0,7         | 0,8 ± 0,4                | 1,5 ± 0,7            | 1,1 ± 0,5                  | 2,5 ± 1,9       | -                      | -                    | -                  | Jezini (2011)             |
| <i>P. falkneri</i>      | 3,7 ± 0,2         | 0,7 ± 0,1                | 2,3 ± 0,2            | 3,0 ± 0,1                  | 4,8 ± 0,5       | 0,9 ± 0,3              | 2,2 ± 0,2            | 0,4 ± 0,1          | Brito (2012)              |
| <i>P. motoro</i>        | 3,4 ± 0,4         | 0,6 ± 0,1                | 1,9 ± 0,3            | 3,0 ± 0,2                  | 5,0 ± 0,5       | 0,5 ± 0,1              | 2,1 ± 0,2            | 0,5 ± 0,1          | Brito (2012)              |
| <i>P. orbigny</i>       | 2,4 ± 0,4         | 0,4 ± 0,2                | 0,9 ± 0,2            | 2,0 ± 0,3                  | 6,3 ± 2,9       | 1,3 ± 0,6              | 1,7 ± 0,3            | 0,2 ± 0,1          | Brito (2012)              |
| <i>P. scobina</i>       | 2,2 ± 0,3         | 0,4 ± 0,1                | 0,6 ± 0,2            | 2,0 ± 0,2                  | 4,0 ± 0,8       | 1,3 ± 0,9              | 1,5 ± 0,2            | 0,2 ± 0,1          | Brito (2012)              |
| <i>P. motoro</i>        | 1,5 ± 0,6         | 0,8 ± 0,2                | 1,7 ± 0,4            | 1,1 ± 0,3                  | 2,1 ± 0,8       | -                      | -                    | -                  | Oliveira<br>(2013)        |
| <i>P. aiereba</i>       | 1,1 ± 0,2         | 1,12 ± 0,6               | 1,5 ± 0,6            | 1,7 ± 0,3                  | 3,2 ± 2,9       | -                      | -                    | -                  | Oliveira<br>(2013)        |
| <i>P. schroederi</i>    | 1,2 ± 0,6         | 0,8 ± 0,6                | 1,8 ± 1,0            | 1,5 ± 0,9                  | 2,7 ±<br>2,1    | -                      | -                    | -                  | Este estudo               |
| <i>P. orbigny</i>       | 2,2 ± 0,1         | 0,8 ± 0,3                | 1,5 ± 0,3            | 1,0 ± 0,2                  | 2,8 ± 0,6       | -                      | -                    | -                  | Este estudo               |



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os tipos e a morfologia das células sanguíneas observadas em arraias de água doce podem variar de acordo com a espécie e/ou com a localidade de captura dos animais. É possível constatar a existência de uma ampla variação nos valores do leucograma e trombograma desses animais. As características citoquímicas mostraram os heterófilos são os principais leucócitos na defesa imunológica. A presença de hemoparasitos parece ser comum nas arraias de água doce, apesar de haver variação de acordo com a área estudada. Entretanto, até o momento não existem estudos sobre quais alterações esses parasitos podem ocasionar na fisiologia desse grupo de animais. De acordo com análises estatísticas tradicionais, o eritrograma dos potamotrigonídeos é similar entre as espécies estudadas. Por outro lado, para os constituintes bioquímicos foram observadas alterações entre as espécies, que parecem estar relacionadas com as preferências alimentares dos animais.

A viabilidade no cultivo de arraias de água doce inicia-se com a compreensão dos aspectos biológicos desses animais em condições naturais, incluindo a sua fisiologia. A análise dos parâmetros sanguíneos de potamotrigonídeos de vida livre vai além da determinação dos intervalos de referências, pois também pode ser usada como ferramenta no diagnóstico de doenças e situações estressantes para esses animais, além do diagnóstico de desnutrição. Portanto, as informações aqui geradas poderão subsidiar a criação intensiva de arraias de água doce, pois poderão auxiliar na compreensão das condições de saúde desses animais quando em cativeiro.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L.; WALKER, I. Long-and short-term adaptation of Amazon fishes to varying O<sub>2</sub>-levels: intra-specific phenotypic plasticity and interspecific variation. In: *Biology of tropical fishes*. VAL, A.L.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. Manaus, pp. 185-206,1999.
- ARAGORT, W.; ALVAREZ, M. F.; LEIRO, J. L.; SANMARTÍN, M. L. Blood protozoans in elasmobranchs of the family Rajidae from Galicia (NW Spain). *Diseases of Aquatic Organisms* 65: 63-68, 2005.

- ARAÚJO, M. L. G.; DUNCAN, W. L. P.; MELO, S. V. Plano de monitoramento de arraias de água doce. Relatório Final, 78 p. 2005.
- BATISTA, W.S. Caracterização tecnológica e perfil de ácidos graxos em arraias de água doce. Dissertação de Mestrado. 62p. Universidade Federal do Amazonas/UFAM, Manaus, 2008.
- BITTNER, A.; LANG, S. Some aspects of the osmoregulation of Amazonian freshwater stingrays (*Potamotrygon hystrix*) – I. Serum osmolality, sodium and chloride content, water content, hematocrit and urea level. *Comparative Biochemistry Physiology*, 67A: 9-13, 1980.
- BRINN, R. P.; MARCON, J. L.; GOMES, D. M. ABREU, L. C.; BALDISSEROTO, B. Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. hystrix*) during transportation in the Amazon region of the Rio Negro. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 162: 139-145, 2012.
- BRITO, F. M. M. Variáveis hematológicas, hormonais, bioquímicas, séricas e fauna parasitária em quatro espécies de raias do gênero *Potamotrygon* Garman, 1877 (Myliobatiformes, Potamotrygonidae) de vida livre. 2012. Tese de Doutorado. 55p. Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal, São Paulo, 2012.
- CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. R. Morphology and phylogenetic relationships of a remarkable new genus and two new species of Neotropical freshwater stingrays from the Amazon basin (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). *Zootaxa*, 2776: 13-48, 2011.
- CHAO, N. L.; PETRY, P.; PRANG, G.; SONNESCHIEN, L.; TLUSTY, M. Conservation and Management of Ornamental Fish Resources of the Rio Negro Basin, Amazonia, Brazil - Project Piaba. EDUA, Manaus, 2001.
- CONVENTION ON INTERNATIONAL TRADE IN ENDANGERED SPECIES OF WILD FAUNA AND FLORA (CITES). Twenty-second meeting of the Animals Committee, Lima (Peru), 7–13 July 2006, AC22 Doc. 17.4. Conservation and management of sharks: species affected by trade. 2006. Disponível em <http://www.cites.org/eng/com/ac/22/E22-17-4.pdf> (Acessado em 18/02/2013).
- CONVENTION ON INTERNATIONAL TRADE IN ENDANGERED SPECIES OF WILD FAUNA AND FLORA (CITES). Twenty-fourth meeting of the Animals Committee, Geneva (Switzerland), 20-24 April 2009, AC24 Doc. 14.2, Conservation and management of sharks and stingrays: regional workshop on South American freshwater stingrays. 2009. Disponível em <http://www.cites.org/common/com/AC/24/EFS24-14-02.pdf> (Acessado em 18/02/2013).
- CLEWLEY, A.; KOCAN, R. M.; KOCAN, A. A. An intraerythrocytic parasite from the spiny dogfish, *Squalus acanthias* L., from the Pacific Northwest. *Journal of Fish Diseases*, 25: 693-696, 2002.
- DAVIES, A. J.; JOHNSTON, M. R. L. The biology of some intraerythrocytic parasites of fishes, amphibian and reptiles. *Advances in Parasitology*, 45:2-89, 2000.
- DAVIES, A. J.; SMIT, N. J. The life cycle of *Haemogregarina bigeima* (Adeleina: Haemogregarineidae) in South African hosts. *Folia Parasitologica*, 48:169-177, 2001.

DUNCAN, W. P.; INOMATA, S. O.; FERNANDES, M. N. Comércio de raias de água doce na região do médio Rio Negro, estado do Amazonas, Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 5 (2): 13-22, 2010.

GRIFFITH, R. W.; PANG, P. K. T.; SRIVASTAVA, A. K.; PICKFORD, G. E. Serum composition of freshwater stingrays (Potamotrygonidae) adapted to fresh and diluted seawater. *Biology Bulletin*, 144: 304-320, 1973.

HAYHOE, F. G. J.; QUALIGNO, D. *Haematological Cytochemistry*. London: Churchill Livingstone, 1994.

HINE, P. M.; WAIN, J. M. The enzyme cytochemistry of leucocytes in blood and haematopoietic tissues of holocephalans (Chondrichthyes: Chimaeriformes). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 22:57-62, 1988.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. Instrução Normativa Nº. 204/2008.

JEZINI, A. L. Eritrograma e bioquímica plasmática da arraia *Potamotrygon motoro* (Natterer in Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) do Arquipélago de Mariuá, Amazonas. Monografia em Ciências Biológicas. 41 p. Universidade Federal do Amazonas, 2011.

LEMONS, J. R. G. Índices parasitários e parâmetros fisiológicos de arraias cururu (*Potamotrygon cf. hystrix*) exportadas como peixes ornamentais: ferramentas para avaliação do estado de saúde da espécie. Dissertação de Mestrado. 63p. Universidade Federal do Amazonas/ UFAM, Manaus, 2011.

LUER, C. A.; WALSH, C. J.; BODINE, A. B. The Immune System of sharks, skates, and rays. In: *Biology of sharks and their relatives*. CARRIER, J. C., MUSICK, J. A. & HEITHAUS, M. R. (eds.) New York, CRC Marine Biology, 369-389, 2004.

MALTA, J. C. O.; ANDRADE, S. M. S.; AQUINO-PEREIRA, S. L.; TAVARES-DIAS, M.; VARELLA, A. M. B. Parasitos do matrinxã *Brycon amazonicus* Spix & Agassiz, 1829 (Characidae: Bryconinae) na Amazônia central. In: *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. TAVARES-DIAS, M. Embrapa Amapá, Macapá, p. 425-437, 2009.

MAGRO, N. M. Prevalência de hemogregarina em arraias de água doce (Potamotrygonidae) da região norte, com descrição de uma espécie nova, *Cyrtilia lainsoni* sp. nov. Dissertação de Mestrado. 7 p. Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, 2013.

MOREAU, M.A.; COOMES, O. T. Aquarium fish exploitation in western Amazonia: conservation issues in Peru. *Environmental Conservation*, 34: 12-22, 2007.

NIKINMA, A. *Vertebrate red blood cells*. Springer-Verlag, 1990.

OLIVEIRA, A. T. Parâmetros hematológicos, aspectos citoquímicos e estruturais das células sanguíneas de três espécies de arraias de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) do Arquipélago de Mariuá, Amazonas, Brasil. Tese de Doutorado. 202p. Universidade Federal do Amazonas, 2013.

OLIVEIRA, A. T. Caracterização hematológica de *Potamotrygon cf. hystrix*: subsídios ao manejo e conservação da espécie. Dissertação de Mestrado. 118p. Universidade Federal do Amazonas/ UFAM, Manaus, 2008.

OLIVEIRA, A. T.; CRUZ, W. R.; PANTOJA-LIMA, J.; ARAÚJO, S. B.; ARAÚJO, M. L. G.; MARCON, J. L.; TAVARES-DIAS, M. Morphological and cytochemical characterization of thrombocytes and leukocytes in hatchlings of three species of Amazonian freshwater turtles. *Veterinarski Arhiv*, 81(5): 657-670. 2011.

OLIVEIRA, A. T.; LEMOS, J. R. G.; SANTOS, M. Q. C.; ARAÚJO, M. L. G.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L. Procedimentos de manuseio e de colheita do sangue em arraiais. Embrapa Amapá, Macapá, 2012.

PÁDUA, S. B.; VENTURA, A. S.; SATAKE, F.; ISHIKAWA, M. M. Características morfológicas, morfométricas e citoquímicas das células sanguíneas da arraia ocelata *Potamotrygon motoro* (Elasmobranchii, Potamotrygonidae): estudo de caso. *Ensaio e Ciência* 14 (1): 147-158, 2010.

PARMA-CROUX, M. J. Some haematological parameters in *Prochilodus lineatus* (Pisces, Curimatidae). *Revista de Hydrobiologia Tropical* 27: 113-119, 1994.

PAVLIDIS, M.; FUTTER, W. C.; KATHARIO, P.; DIVANACH, P. Blood cells of six Mediterranean mariculture fish species. *Journal Applied Ichthyology*, 23: 70-73, 2007.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. Características sanguíneas da pirapitinga do sul, *Brycon* sp., sob condições experimentais de criação intensiva. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science*, 28(2): 141-153, 1991.

RANZANI-PAIVA, M. J. Características hematológicas de tainha *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia-SP. (Lat. 25°00' S-Long. 47°55' W). *Boletim do Instituto de Pesca*, 22: 1-22, 1995.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; PÁDUA, S. B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M. I. Métodos para análises hematológicas em peixes. Maringá: Eduem, 2013.

RINCON, G.; CHARVET-ALMEIDA, P. O monitoramento da pesca ornamental de raia de água doce está sendo efetivo? Problemas e possíveis soluções nas esferas envolvidas. *Elasmovisor*, 9: 4-6, 2006.

ROOS, R.; ROSS, C. C.; WERNER, C. S.; WERNER, H. Plasma levels of glucose, alanine, lactate, and  $\beta$ -hydroxybutyrate in the unfed spiny dogfish shark (*Squalus acanthias*) after surgery and following mammalian insulin infusion. *General and Comparative Endocrinology*, 58: 28-43.1985.

ROSA, R. S.; CHARVET-ALMEIDA, P.; QUIJADA, C. C. D. Biology of the South American Potamotrygonid Stingrays. In: CARRIER, J.F.; MUSICK, J.A.; HEITHAUS, M.R. Sharks and their relatives II: biodiversity, adaptive physiology, and conservation. CRC Press, p. 241-286. 2010.

SAUNDERS, D. C. Differential blood cell counts of 121 species of marine fishes of Puerto Rico. *Transactions. American Microscopy Society* 85, 427-449. 1966.

SCHÜTT, D.A.; LEHMANN, J.; GOERLICH, R.; HAMERS, R. Haematology of swordtail, *Xiphophorus helleri*. I: blood parameters and light microscopy of blood cells. *Journal Applied Ichthyology*, 14: 83-89. 1997.

TAVARES-DIAS, M. A morphological and cytochemical study of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes in four freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 68: 1822-1833, 2006.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Hematologia de peixes teleósteos. Villimpres: Ribeirão Preto, SP, 2004.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R.; ONAKA, E. M.; REZENDE, P. C. B. Changes in blood parameters of hybrid tambacu fish parasitized by *Dolops carvalhoi* (Crustacea, Branchiura), a fish louse. *Veterinarski Arhiv*, 77:355-363, 2007.

VAL, A. L.; AFFONSO, E. G.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. Adaptive features of Amazon fishes: blood characteristics of curimatã (*Prochilodus cf. nigricans*, Osteichthyes). *Physiological Zoology* 65(4): 832-843, 1992.

WALSH, C. J.; LUER, C. A. Elasmobranch hematology: identification of cell types and practical applications. In: *The elasmobranch husbandry manual: captive care of sharks, rays and their relatives*. SMITH, M.; WARMOLTS, D.; THONEY, D.; HUETER, R. Columbus (eds.), Ohio Biological Survey. p. 307-323, 2004.

WILHELM FILHO, D.; EBLE, G. J.; KASSNER, G.; CAPRARIO, F. X.; DAFRÉ, A. L.; OHIRA, M. Comparative hematology in marine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 102: 311-321, 1992.

WOOD, C. M.; MATSUO, A. Y. O.; GONZALEZ, R. J.; WILSON, R. W.; PATRICK, M. L.; VAL, A. L. Mechanisms of ion transport in *Potamotrygon*, a stenohaline freshwater elasmobranch native to the ion-poor blackwaters of the Rio Negro. *The Journal of Experimental Biology*, 205: 3039-3054, 2002.

ZINKL, J. G.; COX, W. T.; KONO, C. S. Morphology and cytochemistry of leucocytes and thrombocytes of six species of fish. *Comparative haematology international*, 1:187-195, 1991.



# CAPÍTULO 4

## MARCADORES MOLECULARES E SUAS APLICAÇÕES NA AQUICULTURA

Fábio Mendonça Diniz<sup>1</sup>

### INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial e o conseqüente aumento da demanda por alimentos de alto valor protéico têm contribuído para que a aquicultura se torne o setor alimentício de maior crescimento em diversos países. Os pescados tais como peixes, crustáceos e moluscos, representam hoje 17% do consumo global de proteína. A aquicultura, por sua vez, contribui com cerca de 41% da produção total de pescado, ou cerca de 63,6 milhões de toneladas de peixe e crustáceos anualmente, segundo o Subcomitê de Comércio Pesqueiro da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. A FaO estima que a produção aquícola deve alcançar cerca de 70 milhões de toneladas em 2013, o que representa 44% da produção total de peixes e 49% do pescado para consumo humano direto (FaO, 2012).

Ressalta-se também que a criação de organismos aquáticos sob condições controladas tem representado também um importante papel na geração de novos empregos e renda na economia rural no Brasil, uma vez que o país apresenta grande disponibilidade de recursos naturais e forte possibilidade de utilização da aquicultura por produtores familiares.

No Brasil, os principais organismos aquáticos cultivados são os peixes de água doce tais como tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), carpas (*Cyprinus* spp.) e tambaqui (*Colossoma macropomum*), além do camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus*

---

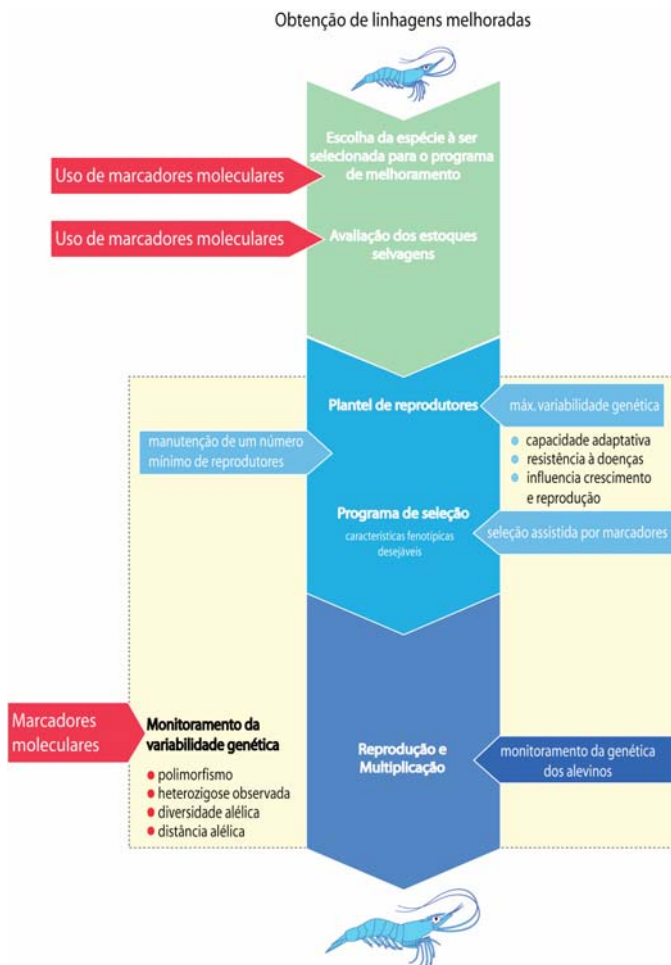
Diniz. Marcadores moleculares e suas aplicações na aquicultura. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

*vannamei*) e mexilhão (*Perna perna*). O cultivo do bijupirá (*Rachycentron canadum*) e pirarucu (*Arapaima gigas*) mostra-se promissor na aquicultura industrial; porém, esses apresentam ainda alguns problemas na produção de alevinos (Resende et al., 2008).

Os avanços na biologia molecular nas últimas três décadas, principalmente com o surgimento de novas ferramentas moleculares, têm sinalizado a possibilidade de um grande aumento da produção aquícola no mundo. Neste contexto, com o uso de marcadores moleculares tornou possível observar e explorar a variação genética (por exemplo, polimorfismo) no genoma inteiro, entre indivíduos. Dessa forma, seu uso tem proporcionado à aquicultura moderna informações valiosas para numerosos aspectos da prática aquícola como a identificação de sexo em espécies que não apresentam dimorfismo sexual fenotípico aparente, estudos de parentesco, identificação e discriminação genética de estoques sob cultivo, caracterização genética para preservação da diversidade e variabilidade, e o melhoramento genético da espécie aquícola para produção de organismos de melhor performance (Figura 1) dentre tantas outras aplicações (Ferguson, 1994; Liu & Cordes, 2004). Uma outra aplicação importante dos marcadores moleculares na aquicultura é a construção de mapas de ligação genética de alta resolução para espécies aquícolas. O uso dos marcadores moleculares na aquicultura tem também aberto novas oportunidades para o aumento da produção aquícola e melhor qualidade dos organismos cultivados (Figura 1), tais como qualidade da carne e resistência às doenças (Altunok, 2012).

Neste capítulo, as características de três marcadores moleculares baseados na reação de polimerase em cadeia (PCR), do mais amplamente usado até o de uso mais promissor, juntamente com suas características e aplicações são apresentadas, tendo em vista sua utilidade na aquicultura.



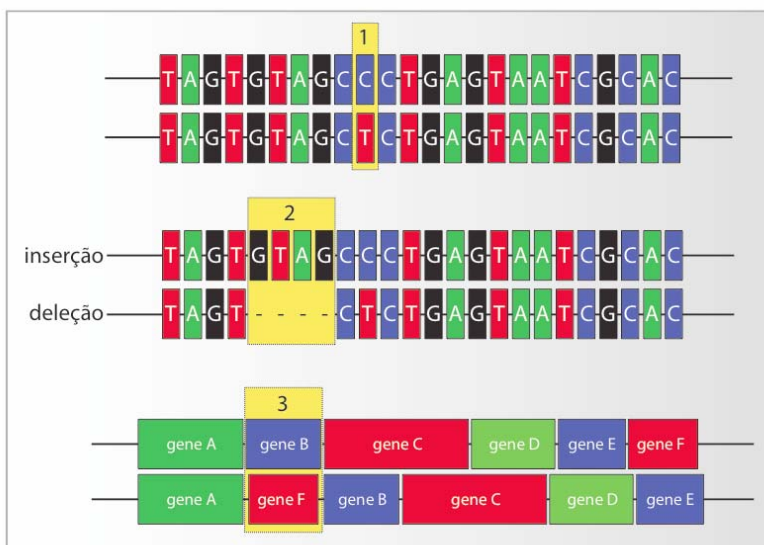


**Figura 1.** Uso de marcadores moleculares para obtenção de linhagens melhorada.

## MARCADORES MOLECULARES E SEUS PRINCÍPIOS

Um marcador molecular pode ser definido como uma variação específica no DNA, entre indivíduos, associada a uma determinada característica (Avise, 1994; Deb et al. 2012). Essa variação genética ocorre ao nível da seqüência de DNA por meio de (i) mutações pontuais ou substituição de bases nucleotídicas, (ii) indels (inserção ou deleção) de pequenos trechos na sequencia do DNA do organismo estudado, e (iii) recombinação e rearranjos genômicos (Figura 2). Entre os muitos tipos de marcadores moleculares

existentes, amplamente descritos na literatura, três mostram-se particularmente úteis à genética aplicada à aquicultura: microssatélites de DNA (STRs), o polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs), e o polimorfismo de etiquetas de seqüências expressas (ESTPs).



**Figura 2.** Representação gráfica da variação genética ao nível da seqüência de DNA: (1) mutações pontuais ou substituição de bases nucleotídicas, (2) indels (inserção ou deleção) de pequenos trechos na seqüência do DNA do organismo estudado, e (3) recombinação e rearranjos genômicos.

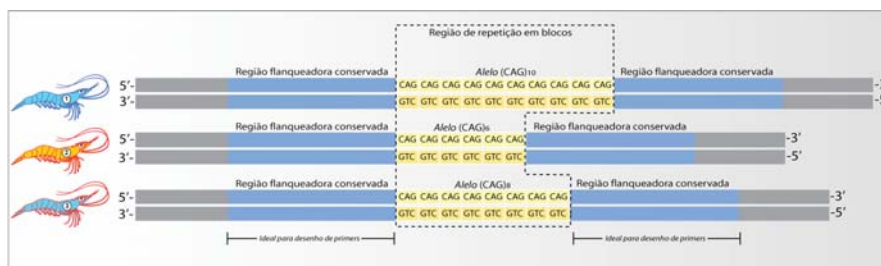
## MARCADORES BASEADOS NA REAÇÃO DE POLIMERASE EM CADEIA (PCR)

### *Microssatélites de DNA*

Microssatélites são seqüências nucleotídicas simples repetidas em blocos e distribuídas de maneira homogênea ao longo de todo o genoma de vertebrados e invertebrados, cujo número de unidades repetitivas é variável (Figura 3). As repetições em cada bloco são curtas, de 2 a 5 nucleotídeos, e por esta razão, por vezes, podem ser denominados de *Short Tandem Repeats* (STR). Estes marcadores, em geral, representam *loci* seletivamente neutros, são co-dominantes e altamente polimórficos (variáveis) em plantas,

animais e microorganismos, podendo detectar elevado nível de diversidade genética ou alélica (McCouch et al., 1997; Goldstein e Schlötterer, 1999). Cada região genômica que apresente estes blocos com repetições simples, por exemplo (CA/GT)<sub>n</sub>, (GCT/CGA)<sub>n</sub>, (GATA/CTAT)<sub>n</sub>, constitui-se em um *locus*, provavelmente altamente variável entre indivíduos de uma mesma espécie, uma vez que a região apresenta uma alta taxa de mutação. Diferentes alelos podem se apresentar entre indivíduos, desde que exista polimorfismo naquele *locus* estudado. Portanto, microssatélites de DNA são marcadores multialélicos e altamente informativos por acumular com facilidade variações no número de repetições (Ferreira & Grattapaglia, 1995).

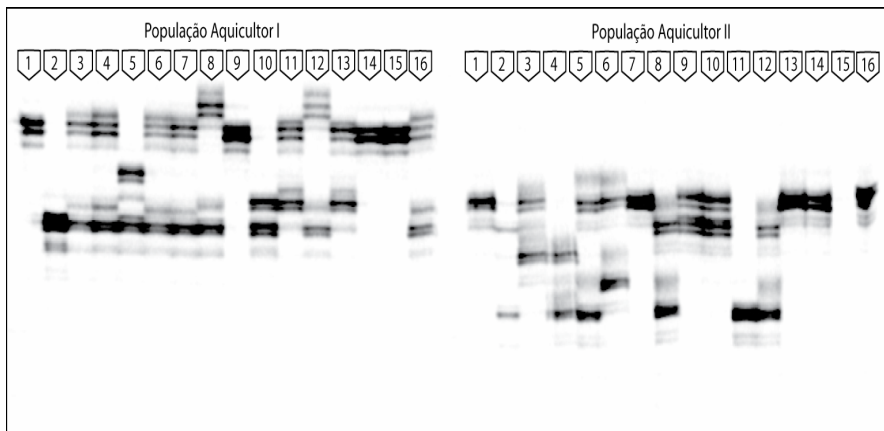
Os *loci* de microssatélites exibem frequentemente níveis elevados de variação dentro e entre populações. O polimorfismo em microssatélites foi inicialmente demonstrado por Tautz (1989) e Weber & May (1989). Marcadores microssatélites são desenvolvidos utilizando diferentes estratégias, a mais comum através da construção de biblioteca genômica enriquecida para regiões de repetições de interesse (Zane et al., 2002; Diniz et al., 2004). *Primers* são posteriormente desenhados nas regiões que flanqueiam os microssatélites, regiões estas altamente conservadas e não repetitivas (Figura 3), tornando-se possível caracterizar o número de repetições naquele *locus*.



**Figura 3.** Representação de regiões de repetição apresentando seu caráter multialélico em um *locus* microssatélite do tipo trinucleotídeo.

A reação de polimerase em cadeia (PCR) é então usada para amplificação dos *loci* de microssatélites usados como marcadores em

uma espécie, a partir quantidades muito pequenas de DNA (<100 ng). Após a PCR os alelos são separados e seu tamanho medido em pares de base através de um gel de poliacrilamida, com pelo aparecimento de uma ou duas bandas (Figura 4). A genotipagem dos microssatélites pode ser também realizada em analisadores de DNA (por exemplo, sequenciadores) de uma maneira muito menos laboriosa.



**Figura 4.** Revelação de microssatélites em gel de poliacrilamida 6% corado com nitrato de prata.

### ***Vantagens e desvantagens técnicas***

São inúmeras as vantagens apresentadas por microssatélites, dentre elas ressalta-se o caráter de codominância destes marcadores (indivíduo heterozigoto pode ser distinto de um indivíduo homozigoto), sua hipervariabilidade e alto polimorfismo, alto conteúdo informativo, sua abundância no genoma de eucariotos, uniformidade no seu modo de evolução e alta taxa de mutação quando comparado com outras regiões gênicas.

Talvez a maior desvantagem que marcadores microssatélites apresentem é a necessidade de isolamento destas sequencias repetitivas no genoma da espécie de interesse, sendo necessário a construção de biblioteca genômicas enriquecidas para sequencias repetitivas específicas e posterior desenho de *primers* nas regiões que as flanqueiam (Matioli & Passos-Bueno, 2001; Diniz et al., 2005).

Todo o processo é oneroso e laborioso, exigindo um conhecimento mais aprofundado de diversas técnicas da Biologia Molecular. Não obstante, o aparecimento de novas tecnologias de sequenciamento (por exemplo, Next Generation Sequencing) tem facilitado em muito este trabalho (Souza et al. 2014).

Nem todos os marcadores microssatélites indicam níveis elevados de variação alélica. Alguns podem apresentar apenas 2 alelos, porém muitos apresentam mais que uma dezena de alelos. Adicionalmente, a presença de alelos nulos (i.e. alelos que não são amplificados na reação de PCR pelo surgimento de mutações nos sítios de anelamento) pode mascarar o número de indivíduos heterozigóticos e, por sua vez, serem confundidos como homozigóticos (Bruford & Wayne, 1993). A homoplasia por tamanho, ou seja, alelos idênticos em tamanho, mas não em sequência, pode também surgir como um problema na análise dos dados por reduzir o número de alelos observados por população, a proporção de indivíduos heterozigóticos e a diversidade genética (Estoup et al., 1995).

### *Aplicações*

Basicamente, aos microssatélites são os marcadores mais comumente usados em estudos de diversidade genética, assim como para a análise de parentesco e construção de mapas de ligação que servem de base para a identificação de traços quantitativos (QTLs). Características como co-dominância e multialelismo conferem a estes marcadores elevado conteúdo de informação polimórfica, ideais para mapeamento genético e físico de genomas (Dor et al. 2014), e a identificação e discriminação de genótipos (Ferreira & Grattapaglia, 1995). Por esta razão, o isolamento e caracterização de marcadores microssatélites para espécies cultivadas e com potencial de cultivo (An et al., 2014; McCraney et al., 2012) ainda são intensos.

Mesmo microssatélites que apresentem somente alguns alelos são adequados para estudos de genética populacional, observando-se cada caso, é claro. *Loci* de microssatélites altamente variáveis apresentam-se como ideais para o mapeamento genômico

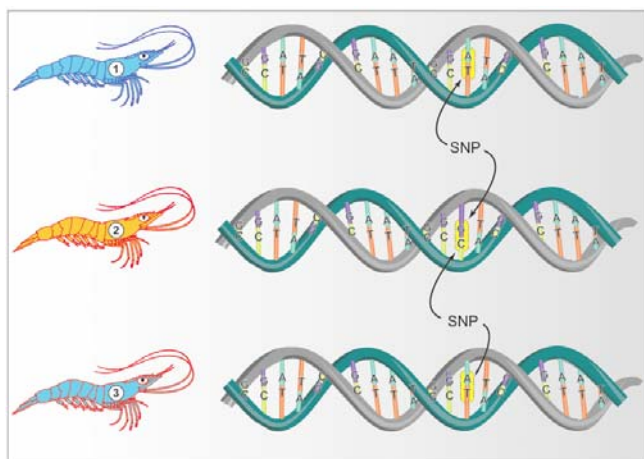
da espécie e análise de pedigree e também têm grande potencial como etiquetas genéticas (*genetic tags*) para uso na aquicultura. *Loci* fixos ou muito pouco polimórficos podem ser usados para resolver ambigüidades taxonômicas em diferentes espécies (Backer et al., 2002).

Na aquicultura especificamente, os marcadores microssatélites têm confirmado sua utilidade em inúmeras aplicações que incluem: avaliação de parentesco (Novel et al., 2010; Grzybowski et al., 2010), monitoramento da variabilidade genética em estoques selvagens (Ha et al., 2009) e cultivados (Zhang et al., 2010; Lafarga et al., 2010), a avaliação das ações de repovoamento de espécies aquícolas em perigo de extinção ou com potencial de cultivo (Dantas et al., 2013; Borrell et al., 2014), apoio às ações de gestão na aquicultura visando minimizar a perda da diversidade genética ao longo do tempo de cultivo (Wang et al., 2012), identificação de famílias e plantéis de reprodutores (Maggioni et al., 2006), mapeamento genético, e detecção de QTLs (Wright and Bentzen, 1994; O'Connell & Wright, 1997; Chistiakov et al., 2006).

## **POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO**

O polimorfismo de nucleotídeo único ou polimorfismo de nucleotídeo simples (*Single Nucleotide Polymorphism*; SNP) descreve os polimorfismos causados por mutações pontuais, ou seja, que afetam somente uma base nucleotídica (adenina, timina, citosina ou guanina) na sequência do genoma, gerando diferentes alelos contendo bases nucleotídicas alternativas em uma dada posição do nucleotídeo, dentro de um *locus*, sendo assim marcadores bi-alelicos (Figura 5). Desta forma, SNPs revelam o polimorfismo mais abundante no genoma, aproximadamente um por kilobase da sequência genômica (Sachidanandam et al., 2001), quer em regiões codificantes ou não. SNPs são marcadores geneticamente estáveis, e herdados co-dominantemente. É facilmente adaptável à automatização, e revelam o polimorfismo por vezes não detectado por meio de outros marcadores ou métodos (Morin et al., 1994; Stoneking, 2001; Vignal et al., 2002; Liu & Cordes, 2004). Uma vez descobertos, esses SNPs poderão ser facilmente analisados por meio

da utilização de vários métodos, dentre eles a PCR ou *DNA chips/microarrays* (microarranjos de DNA) (Ohnishi et al., 2001). Os polimorfismos de nucleotídeo único podem ser descobertos utilizando-se diferentes estratégias, porém o sequenciamento do DNA é o mais usado e o de maior acurácia (Vignal et al., 2002). Os recentes avanços nas tecnologias de sequenciamento do genoma (por exemplo, next generation sequencing) têm propiciado uma grande facilidade de descoberta destes SNPs, e o surgimento de novas ferramentas como os arrays de alta densidade de SNPs (*high density single nucleotide polymorphism arrays*; HD-SNP) para análise genética e genômica de animais de criação (Fan et al., 2010). Contudo, o potencial de SNPs como marcadores moleculares na aquicultura é ainda subestimado.



**Figura 5.** Mutações pontuais na sequência do DNA de 3 diferentes indivíduos caracterizando um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP).

### ***Vantagens e desvantagens técnicas***

SNPs são os mais abundantes tipos de polimorfismo no genoma de eucariotos (Sachidanandam et al., 2001; Hirschhorn & Daly, 2005), geneticamente estáveis, e o processo de genotipagem pode ser facilmente ajustado para automação (Vignal et al., 2002; Stoneking, 2001; Lai, 2001). No entanto, são marcadores menos informativos que microssatélites, e estima-se que para fornecer a

mesma quantidade de informação que um único *locus* de microssatélites sejam necessários 5 SNPs. Essa desvantagem, porém, é facilmente superada pelo emprego de tecnologia de genotipagem em larga escala (por exemplo, Illumina<sup>TM</sup> and Affymetrix<sup>TM</sup>) (Gjedrem & Baranski, 2009).

### *Aplicações*

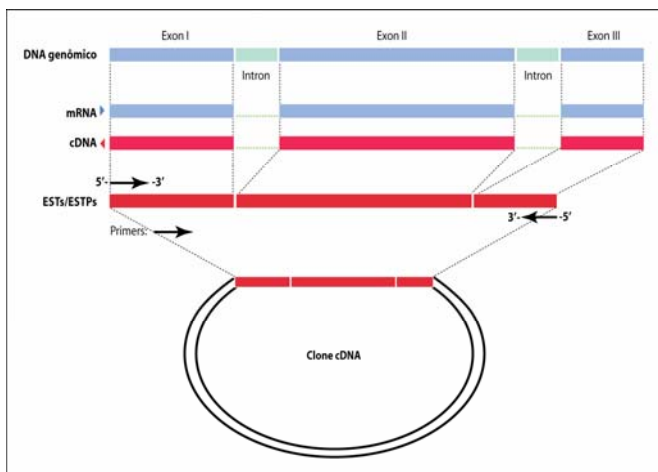
Embora a maioria dos SNPs situam-se em regiões não-codificantes, e por esta razão não apresentam um impacto direto no fenótipo de um indivíduo, alguns SNPs têm o potencial de detectar variações genéticas funcionais, por introduzirem mutações em sequências expressas ou em regiões que influenciam a expressão genética (por exemplo, regiões promotoras), e portanto podem induzir mudanças na estrutura da proteína e sua regulação (Beuzen, 2000). Estes SNPs são marcadores mais apropriados para seleção ao longo do tempo.

Sua utilização na construção de mapas genéticos de ligação e análise genética de QTLs (Yan et al., 2013; Jin et al., 2012; Sauvage et al., 2007), determinação de paternidade (Trinh et al., 2013), programas de criação (Pustovrh et al., 2012), quantificação de introgressão genética no ambiente natural por escapes de indivíduos cultivados (Glover et al., 2013), construção de microarranjos de alta densidade para análise de características de performance e produção (Liu et al., 2011) em diversas espécies cultivadas é descrita na literatura. Um número maior de marcadores estão sendo descobertos (Bester et al., 2013; Vera et al., 2013; Xia et al., 2010; Zhang, Liusuo & Ximing, 2010) inclusive em espécies nativas com potencial aquícola (Blanck et al. 2013). Estes SNPs serão úteis para acessar a variação genética de populações e estudar suas relações com características do interesse para a aquicultura. Em ambos os casos, favorecendo a conservação dos estoques naturais e cultivados.



## POLIMORFISMO DE ETIQUETAS DE SEQUÊNCIAS EXPRESSAS

Etiquetas de sequências expressas (*Expressed sequence tag*; ESTs) são pequenos e incompletos fragmentos de DNA de genes expressos obtidas pelo sequenciamento parcial de clones de cDNA (Adams et al., 1991; KHECHUMIAN et al., 1989). As diferenças na sequência de DNA entre duas ou mais ESTs podem ser usadas como marcador (Polimorfismo de etiquetas de sequências expressas, ESTPs; Figura 6). Este polimorfismo pode ser detectado pela (i) digestão (restrição) dos ESTs; (ii) por PCR, pela amplificação de DNA genômico com *primers* desenhados em fragmentos de cDNA sequenciados, observando-se assim, diferenças no tamanho do fragmento amplificado; (iii) ou pelo exame de diferenças de mobilidade por meio de uma eletroforese em gel de gradiente desnaturante-DGGE (Pelgas et al. 2004). Marcadores ESTPs são co-dominantes e multialélicos e podem ser usados para analisar o polimorfismo na sequência de DNA em populações ou servir como marcadores em procedimentos de mapeamento genético (Boguski & Schuler, 1995). ESTs são úteis para o mapeamento de espécies aquícolas somente se ESTPs são identificados (Liu et al., 1999). Como o avanço das técnicas de sequenciamento genômico tornou-se mais fácil desenvolver marcadores ESTPs ligados, por exemplo, a importantes características fenotípicas (por exemplo, tamanho do peixe). Dessa forma, ESTPs tem grande potencial para estudos de variação genética adaptativa na aquicultura.



**Figura 6.** Etiquetas de seqüências expressas (ESTs) obtidas pelo sequenciamento parcial de clones de cDNA. As diferenças na seqüencia de DNA entre duas ou mais ESTs podem ser usadas como marcador caracterizando o polimorfismo de etiquetas de seqüências expressas (ESTPs).

### *Vantagens e desvantagens técnicas*

Como ESTs são resultantes de seqüenciamento único é comum observar erros nas base nucleotídicas fruto do sequenciamento. As seqüências são, geralmente, curtas (aprox. 300 pb) e ocorrência de múltiplas cópias de um único fragmento (Liang et al., 2000; Wang et al., 2004).

### *Aplicações*

ESTs são utilizadas na construção de mapas físicos, na caracterização de grandes seqüências genômicas e transcritas, na identificação de novos genes e análises de expressão gênica diferencial (Zweiger & Scott, 1997; Schmutz & Grimwood, 2004). O polimorfismo identificado nestas seqüências de DNA pode ser usado como um marcador ortólogo no mapeamento comparativo do genoma (Dreyer et al., 2007) visando também a identificação de genes de função conhecida, ou genes candidatos que afetem importantes características genéticas (*genetic traits*) de interesse econômico (Andersson & Georges, 2004) em espécies aquícolas. Além disso, ESTPs podem ser empregados como marcadores em

uma seleção inicial do material disponível para um programa de melhoramento na aquicultura.

Bancos de EST (por exemplo, dbEST, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) estão disponíveis para diversas espécies cultivadas. O banco para ostra (*Crassostrea gigas*), por exemplo, conta com 206.388 ESTs, para a tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) 120.991 ESTs, para o camarão-branco (*L. vannamei*) são 161.248 ESTs, e a coleção de EST obtidas para o camarão gigante da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*), depositadas no NCBI (dbEST), totaliza 4.427 ESTs. Espera-se que estas bases de dados de ESTs sejam mais amplamente utilizadas como fonte de informação genômica (por exemplo, ESTPs, construção de plataformas de microarranjos, etc.) para aplicação no desenvolvimento da aquicultura nos próximos anos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estimativas indicam que a aquicultura abastecerá cerca de dois terços do consumo global de pescado até 2030 (World Bank/FAO/IFPRI, 2013). Dessa forma, é possível compreender que o futuro da aquicultura no Brasil, como atividade produtiva, deva passar pelo melhoramento genético de espécies já cultivadas (ainda explorado de maneira clássica), mas principalmente pelo melhoramento de espécies nativas, objetivando o aumento dos índices de produtividade (RESENDE et al., 2008). As grandes reservas de água e a ictiofauna brasileira que compreende, por exemplo, aproximadamente 2.300 espécies de água doce (Reis et al., 2003), garantem ao país o excelente potencial para a expansão da carcinicultura e piscicultura. Por sua vez, o uso e aumento no número de marcadores moleculares e construção de mapas genéticos de alta densidade, assim como a implementação de recursos genômicos já disponíveis (sequenciamento genômico por tecnologias NGS – *Next Generation Sequencing*), poderão fornecer ferramentas valiosas para o melhoramento genético de espécies aquícolas nas suas mais diversas estratégias/etapas, mas principalmente na seleção assistida por marcadores (SAM).

Tendo em vista o crescente interesse de diversos segmentos da aquicultura (por exemplo, carcinicultura) em explorar o cultivo comercial de espécies nativas faz-se necessário que a utilização desses recursos biológicos provenientes de ecossistemas aquáticos deva ser precedida de levantamentos sobre a situação das espécies atualmente utilizadas, como também daquelas com potencial de cultivo. É particularmente importante o emprego de marcadores moleculares em estudos com estas espécies visando o desenvolvimento de estratégias para sua conservação através da proteção dos ambientes naturais e de diretrizes de manejo pesqueiro de populações selvagens ou cultivadas, base essencial para o fortalecimento da atividade aquícola. Conhecer e conservar a diversidade genética de espécies aquícolas, é um dos requisitos para que estoques pesqueiros e cultivados sejam sustentáveis a médio e longo prazo (Hiltsdorf, 2011). Estes estudos também facilitarão o monitoramento e seleção, em populações naturais, de plantéis viáveis ao cultivo de espécies nativas de peixes, crustáceos ou moluscos. A própria sustentabilidade da atividade deve passar pela implementação de técnicas moleculares modernas disponíveis atualmente e baseadas na análise de DNA (Preston & Clifford, 2002).

Não podemos mais permitir que reprodutores de espécies com maior potencial aquícola sejam retirados do meio ambiente sem que questões importantes tenham sido antes respondidas a respeito da variabilidade genética de suas populações naturais; a estimativa do grau de similaridade entre populações e espécies, a distribuição filogeográfica no meio ambiente tendo em vista aspectos relacionados a origem e a história recente de suas populações, dentre outras. Essas respostas podem ser facilmente encontradas com pesquisas que envolvam o uso de marcadores moleculares como ferramentas biotecnológicas (Hiltsdorf, 1997).

Apesar do maior avanço tecnológico da genética molecular observado nos últimos 10 anos, e do intenso uso de marcadores moleculares para abordar questões referentes à ecologia e conservação de populações naturais e recursos pesqueiros, as aplicações de marcadores de DNA em seleção e melhoramento

genético de espécies aquícolas tem ainda se restringido a poucas espécies de interesse econômico, e desta forma, este conhecimento precisa ser difundido entre os gestores do setor da aquicultura para que sirva como ferramenta de apoio à tomada de decisão. A maior facilidade apresentada com as tecnologias de nova geração de sequenciamento deverão, adicionalmente, gerar grande quantidade de dados oriundos de espécies de interesse. A identificação de SNPs em grandes quantidades, consistirá também uma ferramenta para a busca de correlações entre genótipos e fenótipos com maior acurácia do que pelo uso de alguns poucos marcadores individuais.

Espera-se que parcerias entre o meio acadêmico e o setor produtivo sejam criadas para incentivar o surgimento de iniciativas científicas promissoras que possam seguir os moldes bem sucedidos do Projeto Genoma Humano, objetivando a identificação e análise dos diferentes perfis polimórficos de marcadores (por exemplo, SNPs, ESTPs, outros) em diversas espécies aquícolas no mundo, em especial em nosso país.

Em suma, são diversas as possibilidades de uso dos marcadores moleculares como uma ferramenta moderna que possibilitará o aumento e maior diversificação da produção na aquicultura. No entanto, é preciso que o conhecimento destas tecnologias, ainda mais restrito ao meio acadêmico, possa ser difundido no setor aquícola de maneira que estas ferramentas possam se tornar verdadeiramente disponíveis aos pequenos ou grandes produtores, quer de maneira direta ou indireta. Os esforços no sentido de conhecer geneticamente nossos recursos aquáticos por meio de marcadores moleculares e a disponibilidade destas ferramentas poderão garantir que a aquicultura continue a crescer como uma das atividades produtoras de alimentos mais promissoras no mundo.

## **REFERÊNCIAS**

ADAMS, M. D.; KELLEY, J. M.; GOCAYNE, J. D.; DUBNICK, M.; POLYMERPOULOS, M. H.; XIAO, H.; MERRIL, C. R.; WU, A.; OLDE, B.; MORENO, R.F.; KERLAVAGE, A. R.; MCCOMBIE, W. R.; VENTER, J. C.

Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science*, 252(5013):1651-1656, 1991.

ALTUNOK, M. Biotechnology and Aquaculture in Sustainable Development. In: 3<sup>rd</sup> International Symposium on Sustainable Development, May 31 - June 01 2012, Sarajevo, 2012.

AN, HYE SUCK; KANG, HEE WOONG; HAN, HYON SOB et al. Isolation and characterization of 26 novel polynucleotide microsatellites from short barbeled grunter (*Haplogenys nitens*) for genetic analysis. *Conservation Genetics Resources*, 6 (3): 669-672, 2014.

ANDERSSON, L.; GEORGES, M. Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Nature Reviews Genetics* 5: 202-12, 2004.

AVISE, J. C. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, New York, London, 1994.

BACKER, J.; BENTZEN, P.; MORAN, P. Molecular markers distinguish coastal cutthroat trout from coastal rainbow trout/steelhead and their hybrids. *Transaction of American Fisheries Society*, 131(3): 404-417, 2002.

BESTER-VAN DER MERWE, ALETTA; BLAAUW, SONJA; DU PLESSIS, JANA et al. Transcriptome-wide single nucleotide polymorphisms (SNPs) for abalone (*Haliotis midae*): validation and application using goldengate medium-throughput genotyping assays. *International Journal of Molecular Sciences*, 14 (9): 19341-19360, 2013.

BEUZEN, N. D.; STEAR, M. J.; CHANG, K.C. Molecular marker and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal*, 160: 42-52. 2000.

BLANCK, D. V.; FREITAS, W. C.; GALETTI JUNIOR, P. D. MANOEL, P. Isolation and characterization of SNPs within HSC70 gene in the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum*. *Conservation Genetics Resources*, 5(3): 631-633, 2013.

BOGUSKI, M. S.; SCHULER, G. D. Establishing a human transcript map. *Nature Genetics*, 10(4): 369-371, 1995.

BORRELL, Y. J.; ARIAS-PEREZ, A.; FREIRE, R.; et al. Microsatellites and multiplex PCRs for assessing aquaculture practices of the grooved carpet shell *Ruditapes decussatus* in Spain. *Aquaculture*, 426: 49-59, 2014.

BRUFORD, M. W.; WAYNE, R. K. Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinion in Genetics and Development*, 3: 939-943, 1993.

CHISTIAKOV D.; HELLEMANS B.; F.A.M. VOLCKAERT. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function, and applications: a review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*, 255:1-29, 2006.

DANTAS, H. L.; NETO, M. A. D.; OLIVEIRA, K. K. C.; SEVERI, W.; DINIZ, F. M.; COIMBRA, M. R. M. Genetic Diversity of Captive and Wild Threatened Catfish *Pseudoplatystoma corruscans* in the São Francisco River. *Reviews in Fisheries Science*, 21(3-4): 237-246, 2013.

DEB, R.; CHAKRABORTY, S.; SINGH, U. Molecular markers and their application in livestock genomic research. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 3:e108, 2012. doi:10.4172/2157-7579.1000e108.

DINIZ, F. M.; MACLEAN, N.; OGAWA, M.; PATERSON, I. G.; BENTZEN, P. Microsatellites in the overexploited spiny lobster, *Panulirus argus*: Isolation, characterization of loci and potential for intraspecific variability studies. *Conservation Genetics* 6 (4): 637-641, 2005.

DINIZ, F. M.; MACLEAN, N.; PATERSON, I. G.; BENTZEN, P. Polymorphic tetranucleotide microsatellite markers in the Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*. *Molecular Ecology Notes* 4 (3): 327-329, 2004.

DOR, L.; SHIRAK, A.; GORSHKOV, S.; et al. Construction of a microsatellites-based linkage map for the white grouper (*Epinephelus aeneus*). *G3-Genes Genomes Genetics*, 4 (8): 1455-1464, 2014.

DREYER, C.; HOFFMANN, M.; LANZ, C.; et al. ESTs and EST-linked polymorphisms for genetic mapping and phylogenetic reconstruction in the guppy, *Poecilia reticulata*. *BMC Genomics*, 8:269, 2007.

ESTOUP, A.; TAILLIEZ, C.; CORNEET, J. M.; SOLIGNAC, M. Size homoplasy and mutational process of interrupted microsatellites in two bee species, *Apis mellifera* and *Bombus terrestris* (Apidae). *Molecular Biology and Evolution*, 12: 1074-1084, 1995.

FAN, B.; ZHI-QIANG, D.; DANIELLE, M.; GORBACH, M.; ROTHSCHILD, F. Development and application of high-density SNP arrays in genomic studies of domestic animals. *Asian-Aust. The Journal of Animal Science*, 23: 833-847, 2010.

FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2012. Rome, FAO. 2012.

FERGUSON, M. The role of molecular genetic markers in the management of cultured fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4:351-373, 1994.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 220 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documento 20). 1998.

GJEDREM, T.; BARANSKI, M. *Selective Breeding in Aquaculture: An Introduction*. New York: Springer, 2009.

GLOVER, K. A.; PERTOLDI, C.; BESNIER, F.; et al. Atlantic salmon populations invaded by farmed escapees: quantifying genetic introgression with a Bayesian approach and SNPs. *BMC Genetics*, 14: 74, 2013.

GOLDSTEIN, D. B.; SCHLÖTTERER, C. *Microsatellites: Evolution and Applications*. Oxford University Press, Oxford, 1999.

GRZYBOWSKI, M.; SEPULVEDA-VILLET, O. J.; STEPIEN, C. A.; et al. Genetic variation of 17 wild yellow perch populations from the midwest and east coast analyzed via microsatellites. *Transactions of the American Fisheries Society*, 139 (1):270-287, 2010.

HA, H. P.; NGUYEN, T. T. T.; POOMPUANG, S. et al. Microsatellites revealed no genetic differentiation between hatchery and contemporary wild populations of

striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878) in Vietnam. *Aquaculture*, 291 (3-4):154-160,2009.

HILSDORF, A.W.S. Ferramentas moleculares aplicadas à pesca e aquicultura. X Reunião Científica do Instituto de Pesca, São Paulo, SP-Brasil.([ftp://ftp.sp.gov.br/ftppeca/10recip/palestras/X\\_ReCIP\\_p5\\_14-7.pdf](ftp://ftp.sp.gov.br/ftppeca/10recip/palestras/X_ReCIP_p5_14-7.pdf)).

HILSDORF, A. W. S. *Biologia Molecular: Uma realidade para a aquicultura*. Panorama da Aquicultura, Janeiro/fevereiro, p.10-12, 1997.

HIRSCHHORN, J. N.; DALY, M. J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 6:95-108, 2005.

JIN, S.; ZHANG, X.; JIA, Z. et al. Genetic linkage mapping and genetic analysis of QTL related to eye cross and eye diameter in common carp (*Cyprinus carpio* L.) using microsatellites and SNPs. *Aquaculture*, 358: 176-182, 2012.

KHECHUMIAN, R. K.; MNDJOYAN, E. O.; MALEVANCHUK, O. A. et al. Polymorphism of the ests region of *Drosophila virilis*. *Genetika*, 25 (7): 1325-1329, 1989.

LAFARGA DE LA CRUZ, F.; ANGEL DEL RIO-PORTILLA, M.; GALLARDO-ESCARATE, C. Genetic variability of cultured populations of red abalone in Chile: an approach based on heterologous microsatellites. *Journal of Shellfish Research*, 29(3): 709-715, 2010.

LAI, E. Application of SNP technologies in medicine: Lessons learned and future challenges. *Genome Research*, 11:927-929, 2001.

LIANG, F.; INGBORG, H.; PERTEA, G.; KARAMYCHEVA, S.; SALZBERG, S. L.; QUACKENBUSH, J. An optimized protocol for analysis of EST sequences. *Nucleic Acids Research*, 28: 3657-3665, 2000.

LIU, Z. J.; CORDES, J. F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 138:1-37, 2004.

LIU, S.; ZHOU, Z.; LU, J.; et al. Generation of genome-scale gene-associated SNPs in catfish for the construction of a high-density SNP array. *BMC Genomics*, 12: 53,2011.

LIU, Z. J.; KARSI, A.; DUNHAM, R. A. Development of polymorphic EST markers suitable for genetic linkage mapping of catfish. *Marine Biotechnology*, 1(5):437-447, 1999.

MAGGIONI, R.; COIMBRA, M. R. M.; LEGAT, A. P.; DINIZ, F.; COSTA, R. B.; MOLINA, W. F. Genética de camarões: marcadores de DNA já podem identificar os diferentes plantéis de camarões criados no Brasil. *Panorama da Aquicultura*, 16:44-49,2006.

MATIOLI, S. R.; PASSOS-BUENO, M. R. DOS S. Métodos baseados em PCR para análise de polimorfismos de ácidos nucléicos. In: MATIOLI, S.R. *Biologia molecular e evolução*. Ribeirão Preto: Holos, p.153-161, 2001.

MCCOUCH, S. R.; CHEN, X.; PANAUD, O.; TEMNYKH, S.; XU, Y.; CHO, Y. G.; HUANG, N.; ISHII, T.; BLAIR, M. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Molecular Biology*, 35, 89-99, 1997.



MCCRANEY, W. T.; SASKI, C. A.; GUYON, J. R. Isolation and characterization of 12 microsatellites for the commercially important sablefish, *Anoplopoma fimbria*. Conservation Genetics Resources, 4(2): 415-417, 2012.

MORIN, P. A.; LUIKART, G.; WAYNE, R. K. The SNP working group, SNPs in ecology, evolution and conservation. Trends in Ecology & Evolution, 19(4): 208-216, 1994.

NOVEL, P.; JOSE, M. P.; PORTA, J. et al. PCR multiplex tool with 10 microsatellites for the European seabass (*Dicentrarchus labrax*) - applications in genetic differentiation of populations and parental assignment. Aquaculture, 308 (Special Issue): S34-S38, 2010.

O'CONNELL, M.; WRIGHT, J. M. Microsatellite DNA in fishes. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 7:331-363, 1997.

OHNISHI, Y.; TANAKA, T.; OZAKI, K.; YAMADA, R.; SUZUKI, H.; NAKAMURA, Y. A high-throughput SNP typing system for genome-wide association studies. Journal of Human Genetics, 46:471-477, 2001.

PELGAS, B.; ISABEL, N.; BOUSQUET, J. Efficient screening for expressed sequence tag polymorphisms (ESTPs) by DNA pool sequencing and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in spruces. Molecular Breeding, 13 (3): 263-279, 2004.

PRESTON, N. P.; CLIFFORD, H. Genetic improvement of farmed shrimp. Global Aquaculture Advocate, p. 48-50, 2002.

PUSTOVRH, G.; BAJEC, S. S.; SNOJ, A. A set of SNPs for *Salmo trutta* and its application in supplementary breeding programs. Aquaculture, 370: 102-108, 2012.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. J. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs, 2003.

RESENDE, E.C.; RIBEIRO, R. P.; LEGAT, A. P.; BENITES, C. Melhoramento genético em peixes – uma revolução na aquicultura do Brasil. ADM – Artigo de divulgação na mídia, 130: 1-4, 2008.

SACHIDANANDAM, R.; WEISSMAN, D.; SCHMIDT, S. C.; KAKOL, J. M.; STEIN, L. D.; MARTH, G.; SHERRY, S.; MULLIKIN, J. C.; MORTIMORE, B. J.; WILLEY, D. L.; HUNT, S. E.; COLE, C. G.; COGGILL, P. C.; RICE, C. M.; NING, Z.; ROGERS, J.; BENTLEY, D. R.; KWOK, P. Y.; MARDIS, E. R.; YEY, R. T.; SCHULTZ, B.; COOK, L.; DAVENPORT, R.; DANTE, M.; FULTON, L.; HILLIER, L.; WATERSTON, R. H.; MCPHERSON, J. D.; GILMAN, B.; SCHAFFNER, S.; VAN ETEN, W. J.; REICH, D.; HIGGINS, J.; DALY, M. J.; BLUMENSTIEL, B.; BALDWIN, J.; STANGETHOMANN, N.; ZODY, M. C.; LINTON, L.; LANDER, E. S.; ALTSHULER, D. International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. Nature, 409(6822):928-33, 2001.

SAUVAGE, C. C. S.; LAPEGUE, S.; BOUDRY, P. Identification of SNPs and their mapping for the identification of QTLs of resistance to summer mortality in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Conference: 9th International Symposium on Genetics in Aquaculture Location: Montpellier, France Date: Jun 26-30, 2006. Aquaculture, v. 272, Supplement 1, S309-S309, 2007.

SCHMUTZ, J.; GRIMWOOD, J. Fowl Sequence. *Nature*, 432: 679-80.,2004.

SOUZA, I. G. B.; IAN, P.; MEGHAN, C. M.; SOUZA, B. A.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; BENTZEN, P.; DINIZ, F. M. Isolation and characterization of 23 microsatellite loci in the stingless bee *Melipona subnitida* using next-generation sequencing. *Conservation Genetics Resources*, doi:10.1007/s12686-014-0347-9.

STONEKING, M. Single nucleotide polymorphisms: From the evolutionary past. *Nature*, 409: 821-822, 2001.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*,17:6463-6471, 1989.

TRINH, Q. T.; VAN BERS, N.; CROOIJMANS, R.; et al. A comparison of microsatellites and SNPs in parental assignment in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): the power of exclusion. *Aquaculture*, 388: 14-23, 2013.

VERA, M.; ALVAREZ-DIOS, J. A.; FERNANDEZ, C.; et al. Development and Validation of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) Markers from Two Transcriptome 454-Runs of Turbot (*Scophthalmus maximus*) Using High-Throughput Genotyping. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3): 5694-5711,2013.

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBAL, M.; EGGEN, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*,34(3):275-305,2002.

WANG, J. P.; LINDSAY, B. G.; LEEBENS-MACK, J.; CUI, L.; WALL, K.; MILLER, W. C.; DEPAMPHILIS, C. W. EST clustering error evaluation and correction. *Bioinformatics*, 20: 2973-2984, 2004.

WANG, L. E.; SHI, X.; SU, Y. et al. Loss of genetic diversity in the cultured stocks of the large yellow croaker, *Larimichthys crocea*, revealed by microsatellites. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(5): 5584-5597, 2012.

WEBER, J. L.; MAY, P. E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *The American Journal of Human Genetics*, 44:388-396, 1989.

World Bank/FAO/IFPRI. Fish to 2030: prospects for fisheries and aquaculture. World Bank Report Number 83177-GLB. Washington D.C., USA. 2013.

WRIGHT, J. M., BENTZEN, P. Microsatellites: genetic markers for the future. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4: 384-388,1994.

XIA, J. H.; LIU, F.; ZHU, Z. Y. et al. A consensus linkage map of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) based on microsatellites and SNPs. *BMC Genomics*, 11:135, 2010.

YAN, J.; JING, J.; MU, X. et al. A genetic linkage map of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) based on microsatellites and SNPs. *Aquaculture*, 404:1-7,2013.

ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PATARNELLO, T. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, 11:1-16,2002.

ZHANG, L.; GUO, X. Development and validation of single nucleotide polymorphism markers in the eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin by mining ESTs and resequencing. *Aquaculture*, 302 (1-2): 124-129, 2010.

ZHANG, T.; KONG, J.; WANG, W.; et al. Genetic variability assessed by microsatellites in the breeding populations of the shrimp *Penaeus (Fenneropenaeus) chinensis* in China. *Aquaculture*, 310(1-2): 229-233, 2010.

ZWEIGER, G.; SCOTT, R. W. From expressed sequence tags to 'epigenomics': an understanding disease processes. *Current Opinion of Biotechnology*, 8:684-687,1997.



# CAPÍTULO 5

## EFEITOS DA MANIPULAÇÃO DO FOTOPERÍODO EM PEIXES

Galileu Crovatto Veras<sup>1</sup>  
Marcos Ferreira Brabo  
Luis David Solis Murgas  
Ana Lúcia Salaro

### INTRODUÇÃO

#### *Ritmos biológicos em peixes*

Qualquer evento que se repete regularmente em um ser vivo é estabelecido como ritmo biológico. Os ritmos relacionados às mudanças ambientais são aqueles mais pesquisados, podendo o animal se adaptar a um determinado ambiente quando um evento é cíclico. De acordo com sua periodicidade, os ritmos biológicos têm sido classificados como ultradiano, ciclos que se repetem em intervalos de até 20 horas; circadianos, ciclos que se repetem em intervalos de 20 até 28 horas; e infradianos, ciclos que se repetem em intervalos maiores do que 28 horas (Schulz & Leuchtenberger, 2006). Dentre estes ritmos, o ciclo circadiano é avaliado como o mais importante fator ambiental sincronizador dos ritmos biológicos (Vera et al., 2007) e atuante nos mais variados grupos de invertebrados e vertebrados, sendo assim um dos mais estudados (Vera et al., 2009).

Com os ciclos geofísicos dos movimentos da terra, recorrentes ciclos periódicos vivenciados pelos organismos vivos são evidenciados. Com estes ciclos, os animais têm conseguido aperfeiçoar os processos biológicos, desenvolvendo comportamentos e mecanismos fisiológicos para antecipar

---

Veras et al. Efeitos da manipulação do fotoperíodo em peixes. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

previsíveis mudanças no ambiente. Estas mudanças atuam como um “*Zeitgeber*”, ou seja, um sincronizador que coordena os ritmos biológicos em sua periodicidade, amplitude e fase (Vera et al., 2009).

No entanto, não somente os ciclos geofísicos são compreendidos por um sincronizador “*Zeitgeber*”, também há os relacionados a ciclos sociais ou com a disponibilidade de alimento, sendo este último considerado um dos mais importantes sincronizadores para vários grupos de vertebrados (Sánchez-Vázquez et al., 1995; Vera et al., 2007), inclusive os peixes. Desse modo, existem vários sincronizadores que têm a capacidade de promover a sincronização dos ritmos biológicos dentro de um organismo.

## **CONTROLE DO RELÓGIO BIOLÓGICO EM PEIXES**

A captação da informação fótica e o seu processamento, são eventos de grande importância que regulam diferentes funções do corpo, sendo o hormônio melatonina responsável por este evento (Falcón et al., 2010; Villamizar et al., 2012). Este é sintetizado principalmente pela glândula pineal e retina, sendo regulado diretamente pelo ciclo diário de luz/escuro, ou seja, pelo fotoperíodo diário (Nikaido et al., 2010). Desta forma, a melatonina é sintetizada com flutuação regular em intervalos de 24 horas, ou seja, de forma rítmica, sendo sua liberação apenas durante o período escuro e inibida em presença de luz (Villamizar et al., 2012). Assim, esta ritmicidade torna-se a base para eventos fisiológicos, incluindo atividade locomotora, crescimento e reprodução.

Já muito bem descrita, a melatonina é sintetizada por duas reações enzimáticas (Seth & Maitra, 2010). O triptofano, aminoácido precursor para síntese da melatonina, é captado da circulação e transformado em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) por meio da enzima triptofano hidroxilase-1 (TPH1), cuja atividade está aumentada na fase de escuro. A enzima 5-HTP descarboxilase descarboxila o 5-HTP, gerando a serotonina, que é metabolizada durante a fase de escuro à N-acetilserotonina (NAS) pela ação da enzima arilalquilamina N-acetiltransferase (AA-NAT). Em seguida, a enzima hiroxi-indol-O-metiltransferase (AA-NAT) utiliza a NAS

como substrato, gerando o produto final 5-metoxi-N-acetiltriptamina, ou seja, a melatonina (Falcón et al., 2010).

Para espécies de peixes teleósteos, as pesquisas atuais com o hormônio melatonina têm trazido evidências adicionais com relação aos mamíferos. Estas sugerem que os mecanismos envolvidos na percepção da luz e transdução teriam mudado radicalmente, provavelmente por refletir o ambiente o qual estes peixes evoluíram ao longo dos anos (Migaud et al., 2007; Vera et al., 2009; Falcón et al., 2010). Assim, o sistema circadiano de teleósteos é classificado como um multifotorreceptor e multioscillador (Wright et al., 2006; Falcón et al., 2010).

O controle da liberação da melatonina tem sido sugerido pela existência de um oscilador controlado por meio da pineal, retina e o cérebro, estando estas estruturas envolvidas na transdução do sinal fótico para estabelecer um ritmo circadiano em peixes (Ekstrom & Meissl, 1997; Falcón et al., 2010). O nível de interação entre essas estruturas pode variar para cada indivíduo, de acordo com as condições fisiológicas e ambientais, resultando em uma plasticidade no sistema circadiano dos peixes teleósteos (Falcón et al., 2010). Até algum tempo, apenas dois tipos de controle de liberação de melatonina eram propostos, sendo um especialmente para o salmão e outro para as demais espécies de peixes teleósteos. Atualmente, três tipos podem estar presentes. O terceiro se baseia no controle fótico da produção de melatonina pelos olhos, assim como também pela glândula pineal (Migaud et al., 2007; Falcón et al., 2010).

Em trabalhos com salmão e truta (Migaud et al., 2007) e com goldfish (Kezuka et al., 1992), os níveis plasmáticos de melatonina não foram afetados quando estes peixes foram oftalmectomizados. Este estudo confirma que estas espécies não precisam dos olhos para o controle rítmico da produção de melatonina, sendo a glândula pineal é luz sensível. (Ekstrom & Meissl, 1997). Neste caso, as células da pineal atuam tanto na percepção da luz como na produção de melatonina, sendo este sistema considerado não especializado. Assim, este fato também confirma que, para estas

espécies, a melatonina produzida pelos olhos não contribui para os níveis plasmáticos (Migaud et al., 2007).

Com seabass e bacalhau oftalmectomizados, um intermediário sistema pode ser exemplificado. Neste caso um significativo decréscimo da produção de melatonina no período noturno foi observado (Migaud et al., 2007). Resultados que corroboram com os prévios realizados com pássaros (Brandstatter, 2003), anfíbios (Wright et al., 2006) e seabass (Falcón et al., 2007). Em todas estas espécies sugere-se que, tanto os olhos, quanto a glândula pineal, são necessários para sustentar a oscilação dos ritmos de melatonina. Assim, por meio de projeções neurais no cérebro, a luz percebida pelos olhos pode regular a síntese de melatonina pela glândula pineal (Yáñez & Anadón, 1998). Estas diferenças entre a produção de melatonina pela pineal e retina podem ser devido a diferentes papéis funcionais, sendo a melatonina proveniente da glândula pineal, a verdadeira indicadora endócrina do ciclo circadiano (Migaud et al., 2007; Falcón et al., 2007; Falcón et al., 2010), enquanto que a originária dos olhos pode estar envolvida na proteção parácrina e adaptação de retina (Falcón et al., 2003; Migaud et al., 2007).

Por outro lado, a tilápia e catfish apresentam um terceiro tipo de sistema circadiano, sendo este especializado. Neste caso, a glândula pineal é muito menos sensível do que em outras espécies de teleósteos, ou até mesmo não apresenta sensibilidade à luz. Quando estas duas espécies são oftalmectomizadas, estas não apresentam um ciclo circadiano independente, sendo a produção de melatonina noturna suprimida, mantendo-se nos níveis como durante o dia. Entretanto, no caso de mamíferos, uma fundamental diferença permanece, sendo que a falta de um aparente ciclo circadiano levaria a produção de melatonina na ausência dos olhos (Migaud et al., 2007).

A rápida adaptação a determinados nichos ambientais dentro dos quais os peixes têm sido submetidos ao longo da evolução, por uma variedade de pressões ainda desconhecidas, provavelmente resultaram em diferenças na organização da percepção e o



processamento da informação fótica (Migaud et al., 2007; Vera et al., 2009; Falcón et al., 2010). Durante um longo período, os peixes, principalmente os de água doce, têm evoluído nos ambientes mais adversos, sendo que essa evolução deve-se a vários fatores, como por exemplo, a temperatura, o nível da água, a disponibilidade de alimento, a predação, como também o fotoperíodo regulado pelo sistema circadiano (Migaud et al., 2007). Essas diferenças no eixo circadiano dos peixes teleósteos sugerem claramente que mudanças têm ocorrido dentro dessa classe em direção a um sistema circadiano compartimentado, similar ao que ocorre em mamíferos (Migaud et al., 2007; Falcón et al., 2010). Assim, mais estudos anatômicos da pineal e o papel da retina, fazem-se necessários para melhor compreender estes resultados.

## O FOTOPERÍODO SOBRE A ATIVIDADE LOCOMOTORA EM PEIXES

O padrão de atividade locomotora dos peixes submetidos ao ciclo diário de luz e escuro podem ser classificados como diurnos, noturnos e crepusculares (Madrid et al., 2001; Blanco-Vives & Sánchez-Vázquez, 2009). Em trabalhos com goldfish *Carassius auratus* (López-Olmeda et al., 2006), zebrafish *Danio rerio* (Blanco-Vives & Sánchez-Vázquez, 2009), pirapitinga *Piaractus brachypomus* (Baras, 2000), com tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus* (Toguyeni et al., 1997; Veras et al., 2013b) e lambari *Astyanax bimaculatus* (Navarro et al., 2014), foi demonstrado que essas espécies apresentam maior atividade locomotora durante o período de luz, sendo deste modo classificadas como predominantemente diurnas.

No entanto, estudos com tenca *Tinca tinca* (Herrero et al., 2003) e linguado *Solea senegalensis* (Bayarri et al., 2004), demonstraram que a atividade locomotora para estas espécies ocorre predominantemente na ausência de luz, sendo estas classificadas como de hábito noturno. Assim, conclui-se que o ciclo luz/escuro tem sido considerado um dos mais importantes fatores ambientais sincronizadores do ritmo biológico (Vera et al., 2007), sendo o fator chave para sincronização do ritmo de atividade em peixes (Iigo &

Tabata, 1996). Portanto, para o sucesso da criação em cativeiro, o padrão de atividade deve ser levado em consideração.

Por outro lado, para algumas espécies de peixes teleósteos a caracterização do padrão diário de atividade não é tão evidente, podendo haver variação no padrão de atividade dentro da mesma espécie (Vera et al., 2009). Desta forma, em geral, é aceito que o padrão de atividade em peixes demonstre forte plasticidade (Madrid et al., 2001). Essa variabilidade do padrão de atividade foi caracterizada em alguns estudos com sea bass Europeu (Sánchez-Vázquez et al., 1995), goldfish (Sánchez-Vázquez et al., 1996) e adultos de tilápia-do-nilo (Vera et al., 2009). Além disso, em estudos com sharpsnout seabream *Diplodus puntazzo* (Vera et al., 2006) e adultos de tilápia-do-nilo (Fortes-Silva et al., 2010a) foi demonstrado a existência de fases independentes entre atividade locomotora e a alimentar.

Como mencionado anteriormente, essa diferença na organização circadiana seria, em grande parte, devido a uma rápida adaptação a pressões de seleções desconhecidas a determinados ambientes em que os grupos de vertebrados, principalmente os peixes, foram submetidos (Migaud et al., 2007). Portanto, tem sido proposto que os peixes de água doce apresentam maior flexibilidade do sistema circadiano do que mamíferos (Iigo & Tabata, 1996) e peixes marinhos, provavelmente devido à relativa instabilidade de seus ambientes (Vera et al., 2009).

## **FOTOPERÍODO E CRESCIMENTO EM PEIXES**

O fotoperíodo, dentre outros fatores ambientais, é o que apresenta maior influência sobre o relógio biológico dos peixes ao afetar a ingestão de alimento, o crescimento, o gasto de energia, a atividade locomotora, bem como interfere nos processos relacionados à digestão e absorção dos nutrientes (Biswas et al., 2002; Veras et al., 2013a,b). Assim, a cada vez se torna mais frequente, dentro das espécies de peixes de interesse comercial, a manipulação do fotoperíodo com objetivo de aprimorar o crescimento.

Em certas espécies de peixes, fotoperíodos longos podem modificar indiretamente o crescimento, seja com o estímulo do consumo de ração, aumento da musculatura em circunstâncias de uma maior atividade locomotora dos animais, melhor eficiência de utilização dos nutrientes (Boeuf & Le Bail, 1999; Biswas et al., 2005, Biswas et al., 2006b) ou devido ao redirecionamento da energia proveniente do desenvolvimento gonadal para o crescimento somático (Rad et al., 2006).

O aumento do fotoperíodo e da temperatura em determinadas espécies de peixes tem levado para rápidos aumentos de GH e IGF-1, sendo estes hormônios potentes estimuladores do crescimento muscular, atuando o GH também como um estimulador do apetite (Taylor & Migaud, 2009). O aumento da ingestão de alimento em peixes diurnos submetidos a longos fotoperíodos pode ser devido à maior atividade destes sob estas condições, apresentando-se maior quando o alimento é ofertado, estimulando, por sua vez, a produção de hormônios orexigênicos sob estas condições (Biswas et al., 2005, Biswas et al., 2006b). Juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) submetidos a um fotoperíodo de 18L:6E demonstram maior crescimento devido ao aumento do nível plasmático de IGF-1 em relação aos peixes submetidos ao fotoperíodo 12L:12E e ao regime de 6L:18E (Taylor et al. 2005). Estudo posterior com a mesma espécie apresentou melhor crescimento quando estes peixes foram submetidos a um fotoperíodo de 24L:0E (Taylor & Migaud, 2009). Por outro lado, em estudos com tilápia-do-nylo, apesar de ter sido verificado uma tendência no aumento da taxa de crescimento específico quando estes peixes foram submetidos a 16L:8E, não se constatou relação entre o nível de transcrição de IGF-1 hepático e os fotoperíodos testados (Cruz & Brown, 2009).

Fotoperíodo de 24L:0E estimulou o crescimento de alevinos e juvenis de red sea bream *Pagrus major* (Biswas et al., 2005; Biswas et al., 2006b). Estes resultados sugerem que para estimular o crescimento, um similar fotoperíodo pode ser utilizado para ambas as fases. Sob um fotoperíodo de 24L:0E, salmão do Atlântico *Salmo salar* (Thorpe et al., 1988); halibut *Hippoglossus hippoglossus* (Jonassen

et al., 2000); gilthead seabream *Sparus aurata* (Kissil et al., 2001); largemouth bass *Micropterus salmoides* (Petit et al., 2003) e larvas do peixe ornamental amazônico *Pyrhulina brevis* (Veras et al., 2014), também têm demonstrado aumentar o crescimento.

No entanto, Almazán-Rueda et al. (2005) demonstraram o bagre africano *Clarias gariepinus* apresentou o melhor crescimento quando submetido aos fotoperíodos de 0L:24E e 6L:18E. Similarmente, a enguia Européia *Anguilla anguilla*, apresentou maior crescimento e melhor conversão alimentar na ausência de luz (0L:24E) em relação aos animais sob 12L:12E (Rodriguez et al., 2009). Isto porque espécies de hábito alimentar bentônico alimentam-se confortavelmente na ausência de luz (Adewolu et al., 2008)

Assim, estas diferenças encontradas no crescimento de diferentes espécies podem ser atribuídas à extrema variação existente na preferência do regime de luz, que depende tanto da espécie quanto da fase de desenvolvimento em que se encontra o animal (Boeuf & Le Bail, 1999; Adewolu et al., 2008).

Como apresentado em revisão por Boeuf & Le Bail (1999) a manipulação do fotoperíodo, não apenas estimula o aumento do consumo de ração, mas também melhora a eficiência de utilização dos nutrientes. Sob regimes contínuos de luz, alto consumo de ração, associado com melhor conversão alimentar, foi demonstrado em várias espécies como largemouth bass *Micropterus salmoides* (Petit et al., 2003); haddock *Melanogrammus aeglefinus* (Trippel & Neil, 2003) e gilthead seabream *S. aurata* (Kissil et al., 2001; Ginés et al., 2004) e juvenis de tilápia-do-nilo (Veras et al., 2013b). Assim, os peixes expostos a fotoperíodos longos e contínuos, podem apresentar os processos digestivos mais eficientes, melhorando, consequentemente a eficiência de retenção dos nutrientes (Biswas et al., 2005, 2006b).

Fotoperíodos longos e contínuos podem fazer com que os peixes apresentem baixa concentração de lipídio corporal, indicando que parte deste lipídio pode ter sido mobilizado como fonte de energia para suprir a elevada demanda energética devido à maior atividade destes animais nestas circunstâncias (Ginés et al., 2004;

Biswas et al., 2005). Além disso, quando os peixes são submetidos a estas condições, o maior crescimento pode ser devido ao aumento da deposição de aminoácidos para a formação da proteína corporal. Isto pode ser atribuído pelo fato das proteínas corporais serem as responsáveis pela maior parte do crescimento em termos de ganho de peso (Biswas et al., 2005).

Assim, fica claro que generalizações não podem ser feitas entre espécies, sendo que durante a criação, cuidados devem ser tomados para determinar a preferência do fotoperíodo de uma determinada espécie (Villamizar et al., 2011). Assim, investigações a este respeito são necessárias para estabelecer uma estratégia adequada de cultivo das mais diversas espécies de peixes em suas diferentes fases de vida.

## **FOTOPERÍODO E ESTRESSE EM PEIXES**

No ambiente aquático, alterações ambientais agudas e crônicas são praticamente inevitáveis, sendo os peixes suscetíveis a estas mudanças, demonstrando respostas que podem desencadear em uma situação de estresse (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Biswas et al., 2004). Nos peixes teleósteos, a elevação plasmática dos níveis de glicose e cortisol é reconhecida como a principal resposta ao estresse, sendo amplamente utilizada como indicador da ação de um agente estressor (Barton & Iwama, 1991; Barton, 1997; Biswas et al., 2006a). O nível basal de cortisol plasmático varia entre as diversas espécies de peixes, sendo que em situações de estresse agudo ocorre um rápido aumento, podendo este nível retornar as condições basais em um período de 24 horas.

Por outro lado, a atuação de agentes estressores crônicos sobre os peixes, faz com que o nível de cortisol plasmático se mantenha elevado por dias ou até mesmo semanas (Pickering & Pottinger, 1989). O estresse crônico além de ser responsável pela supressão da ingestão de alimento (Bernier & Peter, 2001; Wang et al., 2004), reduz o crescimento em consequência da realocação de energia para atividades destinadas a restabelecer a homeostase, tais como respiração, locomoção, regulação hidromineral e reparação de

tecidos (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 1997; Barcellos et al., 1999).

O hematócrito também tem demonstrado ser uma boa ferramenta na avaliação de estresse em peixes, apresentando normalmente um aumento sob atuação de um agente estressor agudo (Pierson et al., 2004). O aumento dessa variável é atribuído ao fato do recrutamento de eritrócitos do baço e/ou aumento do tamanho dos eritrócitos. Por outro lado, pesquisas também têm demonstrado um decréscimo do hematócrito sob condições de estresse crônico (Barcellos et al., 2004).

A manipulação do fotoperíodo pode influenciar os níveis de hormônios esteroides sexuais, corticosteroides, número de eritrócitos e a atividade locomotora diária, no entanto, o estresse, aparentemente, não é uma consequência dessa manipulação (Biswas et al., 2004; Biswas et al., 2006a). Estudos com tilápia-do-nilo *O. niloticus*, submetidas aos fotoperíodos de 12L:12E e 6L:6D, demonstrou que estes animais não apresentaram estresse agudo ou crônico quando submetidos a esses fotoperíodos (Biswas et al., 2004). Veras et al. (2013a), em estudos com juvenis da mesma espécie, também constataram que a manipulação do fotoperíodo não influencia os parâmetros relacionados ao estresse, como hematócrito, glicose e cortisol plasmático. Juvenis de red sea bream *P. major* apresentaram melhor crescimento quando criados sob fotoperíodo de 24L:0E, não apresentando nenhuma resposta relacionada ao estresse (Biswas et al., 2006a; Biswas et al., 2006b). Da mesma forma, juvenis de *P. major* apresentaram melhor crescimento quando submetidos a um fotoperíodo de 24L:0E, não apresentando nenhuma resposta significativa a um estresse agudo ou crônico (Biswas et al., 2006a). Estudo com striped knifejaw *Oplegnathus fasciatus*, submetidos a diferentes fotoperíodos demonstrou que, além da manipulação do fotoperíodo aumentar o crescimento e a retenção de proteína, também não causou alterações nos parâmetros relacionados ao estresse (Biswas et al., 2008).

Por outro lado, a manipulação do fotoperíodo demonstrou induzir uma significativa resposta ao estresse em truta arco-íris

*Oncorhynchus mykiss*, onde os níveis de cortisol permaneceram elevados por pelo menos dois meses após o período em que os peixes ficaram submetidos ao fotoperíodo de 24L:0E (Leonardi & Klempau 2003). Além disso, bagres africanos *C. gariepinus* apresentaram maiores níveis de cortisol e agressividade quando submetidos a regimes de 12L:12E e 18L:6E em relação aos períodos curtos e ausência de luz (Almazán-Rueda et al., 2005). Segundo Adewolu et al. (2008) bagres africanos são espécies de fundo, portanto apresentam maior ritmo de atividade alimentar em ambiente de ausência de luz, apresentando uma alimentação mais confortável sob esta condição.

Diversas funções neurais e endócrinas são influenciadas pela melatonina, molécula multifuncional que regula os processos de ingestão de alimento, osmorregulação, reprodução, assim como respostas ao estresse (Falcón et al., 2010; López-Patiño et al., 2013). Assim, como aves e mamíferos, nos peixes também há evidências em relação à supressão do efeito da melatonina sobre o eixo hipotálamo-hipófise-tecido interrenal, tais como redução dos níveis de glicocorticóides e atividade locomotora (Azpeleta et al., 2010; López-Patiño et al., 2013). Outras moléculas precursoras da melatonina, como o aminoácido triptofano e a serotonina, também demonstraram ter atuado como mitigadoras da capacidade de resposta ao estresse em peixes (Tejpal et al., 2009). Estudo com truta arco-íris *O. mykiss* demonstraram que houve uma neutralização da elevação do cortisol plasmático nos peixes alimentados com altos níveis de L-triptofano (Lepage et al., 2002). Ainda, em estudos com *Solea senegalensis* foi demonstrado que a adição de melatonina nos tanques de peixes submetidos a situações de estresse resultou em uma redução dos níveis de cortisol e da glicogenólise no fígado destes peixes (López-Patiño et al., 2013).

Dessa forma, torna-se claro o efeito da melatonina sobre alguns parâmetros fisiológicos relacionados ao estresse, demonstrando haver uma relação entre o eixo melatoninérgico e relacionado ao estresse. Esse efeito é demonstrado em algumas espécies de peixes, onde a melatonina aparece neutralizando, por

exemplo, o incremento do cortisol plasmático mediante situações de estresse (López-Patiño et al., 2013).

## **FOTOPERÍODO E O SISTEMA IMUNOLÓGICO DE PEIXES**

A aquicultura vem se desenvolvendo rapidamente e em sistemas cada vez mais intensivos de produção. No entanto, este acelerado crescimento pode resultar em surtos de doenças que podem limitar seriamente o sucesso da atividade. Assim, para se evitar a instalação de uma determinada enfermidade, três componentes que interagem continuamente (hospedeiro, patógeno e ambiente) devem estar continuamente em equilíbrio. Mesmo o patógeno estando presente no ambiente, alguns surtos de doenças somente ocorrerão caso as condições do ambiente favorecerem sua propagação. Assim, o ambiente aquático pode torna-se bastante crítico para se manter a homeostase dos peixes, uma vez que este meio está sujeito a grandes variações. Neste ambiente, a salinidade da água, a temperatura e o fotoperíodo, são os fatores ambientais mais importantes na regulação do equilíbrio fisiológico dos peixes (Esteban et al., 2006). Dentre estes fatores, o fotoperíodo é conhecido por regular diversas atividades energeticamente dispendiosas do organismo, sendo seu papel no sistema imunológico sido reconhecido somente recentemente (Prendergast et al., 2004).

Evidências anatômicas, fisiológicas e farmacológicas auxiliam na confirmação do conceito de que o sistema nervoso e o endócrino interagem com o sistema imunológico. A glândula pineal, assim como seu hormônio secretado, a melatonina, são considerados como sincronizadores dos ritmos diários de luz/ escuro na maioria dos vertebrados (Cassone, 1998), incluindo os peixes teleósteos (Ekstron & Meissl, 1997). Assim, a síntese e secreção da melatonina são estimuladas durante o período de escuro e suprimidas na presença de luz (Carrillo-Vico et al., 2005). Inúmeros estudos têm demonstrado uma associação entre a duração do período de luz do ambiente e alguns parâmetros imunes de algumas espécies de aves e mamíferos. No entanto, poucos são os relatos sobre esta relação para peixes. Estas pesquisas demonstram que em fotoperíodos curtos, os quais



normalmente são elevados os níveis de melatonina, ambos os componentes do sistema imune, humoral e celular, são aprimorados quando comparados com animais submetidos a longos fotoperíodos (Moor & Siopes, 2003). Em aves, uma clara relação entre o aumento da atividade fagocítica de leucócitos, principal resposta celular do sistema imune inato, e o pico noturno de melatonina, sugere uma estreita relação entre este hormônio e o sistema imune não específico (Terrón et al., 2005).

Apesar de escassos, estudos com peixes tem demonstrado um claro ritmo circadiano de parâmetros do sistema imunológico, os quais podem estar relacionados com os níveis de melatonina. Esteban et al. (2006), em estudo com seabream *S. aurata* e sea bass *Dicentrarchus labrax*, demonstraram que durante o período noturno a atividade das proteínas do sistema complemento atingem valores mais baixos, sendo elevadas durante o período de luz. Já a atividade da peroxidase segue um padrão inverso, com valores elevados durante o período de escuro e diminuindo durante as horas de luz. Embora com um padrão de atividade interespecífica diferente, foi observado que a lisozima segue claramente um padrão de ciclo diário. Para *S. aurata*, a atividade da lisozima atingiu maiores valores às 20:00 horas, aumentando durante as horas de luz, antes de diminuir durante as horas de ausência de luz. Por outro lado, para *D. labrax*, os níveis séricos de lisozima diminuíram durante as horas de luz e aumentaram durante o período de escuro, sendo os valores mais elevados obtidos às 8:00 horas, ou seja, no fim da fase escura. Neste caso é importante ressaltar, que para ambas as espécies de peixes, em qualquer horário, há pelo menos um aumento de atividade, não ficando o peixe imunologicamente vulnerável.

Portanto, nota-se claramente um efeito do fotoperíodo sobre o sistema imunológico inato humoral. Assim, indicações práticas, incluindo a manipulação do ciclo luz/escuro, podem ser consideradas como uma potencial e valiosa ferramenta para reforçar o sistema imune e bem-estar em peixes em sistemas intensivos de produção. Além disso, tornam-se claras as evidências de que em

peixes, assim como nos mamíferos, a glândula pineal e seu hormônio secretado na fase noturna, a melatonina, desempenham um papel importante no controle de respostas do sistema imunológico. Assim, mais pesquisas são necessárias para ajudar a esclarecer mais sobre o assunto.

## **FOTOPERÍODO SOBRE DEFORMIDADES E DOENÇAS EM PEIXES**

Nem sempre a manipulação do fotoperíodo traz benefícios no desempenho e sobrevivência dos peixes. Alterações no regime de luz podem levar a efeitos negativos no metabolismo e desenvolvimento dos peixes, principalmente quando muito diferente do seu meio natural (Villamizar et al., 2011). No entanto, exceto na fase larval dos peixes, é escassa a literatura onde se relata um aumento em doenças ou mortalidade associada com a aplicação do fotoperíodo artificial.

Regimes longos ou constante de luz tem demonstrado um efeito negativo no desenvolvimento de larvas de várias espécies (Villamizar et al., 2011). Segundo Villamizar et al. (2009), larvas de sea bass mantidas em condições de 24L:0E desenvolveram nadadeiras e dentes mais rápido do que as sob condições de 0L:24E e 12L:12E. No entanto, sob estas condições, apresentaram reduzida inflação da bexiga natatória, tendo, portanto, seu bem estar comprometido. Sendo assim, embora o regime de luz constante proporcione o melhor crescimento das larvas, as mesmas não apresentavam uma adequada inflação da bexiga natatória.

Sob regime constante de luz, também há registros de deformações do esqueleto de larvas de algumas espécies de peixes. Tal fato foi exemplificado pela alta porcentagem de indivíduos com má formação da mandíbula quando larvas de sea bass (Villamizar et al., 2009) e de *S. senegalensis* (Blanco-Vives et al., 2010) foram mantidas em constante condição de luz. Além disso, ainda Blanco-Vives et al. (2010) demonstraram alta taxa de mortalidade das larvas mantidas sob 24L:0E e 0L:24E quando comparadas com o fotoperíodo de 12L:12E.

Por outro lado, são escassas as informações com juvenis e adultos sobre a influência do fotoperíodo artificial como um possível agente estressor (Biswas et al., 2006a, b; Biswas et al, 2008; Veras et al., 2013a) e causador de enfermidades. No entanto, Valenzuela et al. (2012), constataram que a aplicação de um artificial fotoperíodo (14L:10D e 24L:0D) sobre truta arco-íris *O. myskiss* resultou em elevada taxa de mortalidade 36% e 25%, respectivamente, quando comparado com peixes submetidos ao fotoperíodo de 12L:12D (7%). Peixes sujeitos aos fotoperíodos artificiais demonstraram escurecimento da pele, natação errática e letargia. Dentre as modificações morfológicas, os peixes ainda apresentaram lesões cutâneas e necroses ulcerativas. Além disso, por meio de exames de sangue, histopatológico e isolamento e identificação de patógenos, constatou-se como principais agentes causadores da mortalidade, as bactérias *Flavobacterium psychrophilum*, associada com *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp. e o fungo *Saprolegnia* sp. Dessa forma, a aplicação de artificiais fotoperíodos para estes peixes podem fazer com que estes fiquem mais susceptíveis a doenças oportunistas, sendo aconselhável a realização de medidas preventivas aos peixes submetidos a esta manipulação do fotoperíodo (Valenzuela et al., 2012). No entanto, poucas, ou até mesmo inexistentes são as informações sobre os efeitos prolongados do fotoperíodo artificial sobre o sistema imunológico e o desencadeamento de doenças em peixes de interesse para a piscicultura.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentro desse contexto, constata-se que nos peixes, assim como em outros vertebrados, ocorrem eventos biológicos cíclicos que se repetem em tempo definido, sendo chamados de ritmos biológicos. Um desses principais ritmos, o ritmo circadiano, que se repete em intervalo de 24 horas, é influenciado, principalmente, pelo ciclo diário de luz e escuro, ou seja, o fotoperíodo, o qual é regulado pela melatonina, sintetizado durante o período noturno pela glândula pineal. Assim, devido à importância desse ritmo no comportamento e processos fisiológicos, vários estudos com peixes vêm sendo

realizados, demonstrando como a manipulação do fotoperíodo pode influenciar a atividade locomotora e alimentar, o crescimento e a reprodução destes animais.

Contudo, são raras as informações dos efeitos da utilização de fotoperíodos artificiais sobre a homeostase em peixes, principalmente com relação às consequências sobre o eixo hipotálamo-hipófise-tecido inter-renal, o sistema imunológico e o possível desencadeamento de enfermidades. Assim, como a cada dia a aquicultura caminha a passos largos para a produção em sistemas cada vez mais intensivos de produção, onde se controlam todos os fatores químicos e físicos da água, mais estudos são necessários, principalmente por maiores períodos de cultivo e nas diferentes fases de vida desses animais, podendo avaliar assim as possíveis manipulações do fotoperíodo durante o ciclo de produção.

## REFERÊNCIAS

- ADEWOLU, M. A.; ADENIJI, C. A.; ADEJOBI, A. B. Feed utilization, growth and survival of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) fingerlings cultured under different photoperiods. *Aquaculture*, 283: 64-67, 2008.
- ALMAZÁN-RUEDA, P.; VAN HELMOND, A. T. M.; VERRETH, J. A. J.; SCHRAMA, J. W. Photoperiod affects growth, behaviour and stress variables in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 67: 1029-1039, 2005.
- AZPELETA, C.; MARTÍNEZ-ALVAREZ, R. M.; DELGADO, M. J.; ISORNA, E.; DE PEDRO, N. Melatonin reduces locomotor activity and circulating cortisol in goldfish. *Hormones and Behavior*, 57: 323-329, 2010.
- BARAS, E. Day-night alternation prevails over food availability in synchronising the activity of *Piaractus brachyomus* (Characidae). *Aquatic Living Resources*, 13: 115-120, 2000.
- BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L. C.; DE SOUZA, S. M. G.; RODRIGUES, L. B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R. M.; CERICATO, L.; SOSO, A. B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; DE ALMEIDA LACERDA, L.; TERRA, S. Hematological changes in jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard *Pimelodidae*) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects. *Aquaculture*, 237: 229-236, 2004.
- BARCELLOS, L. J. G.; NICOLAIEWSKY, S.; DE SOUZA, S. M. G.; LULHIER, F. Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), previously exposed to chronic stress. *Aquaculture Research*, 30: 437-444, 1999.
- BARTON, B. A. Stress in finfish: past, present and future – a historical perspective. In: IWAMA, G.K.; PICKERING, A.D.; SUMPTER, J.P.; SCHRECK, C.B. (Eds.). *Fish*

stress and Health in Aquaculture (Society for Experimental Biology Seminar Series 62). Cambridge: Cambridge University Press, p.1-33, 1997.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review Fish Diseases*, 1: 3-26, 1991.

BAYARRI, M. J.; MUÑOZ-CUETO, J. A.; LÓPEZ-OLMEDA, J. F.; VERA, L. M.; ROL DE LAMA, M. A.; MADRID, J. A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Daily locomotor activity and melatonin rhythms in Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Physiology Behavior*, 81: 577-583, 2004.

BERNIER, N. J.; PETER, R. E. The hypothalamic-pituitary-interrenal axis and the control of food intake in teleost fish. *Comparative Biochemistry Physiology B*, 129: 639-644, 2001.

BISWAS, A. K.; MAITA, M.; YOSHIZAKI, G.; TAKEUCHI, T. Physiological responses in Nile tilapia exposed to different photoperiod regimes. *Journal of Fish Biology*, 65: 811-821, 2004.

BISWAS, A. K.; SEOKA, M.; INOUE, Y.; TAKII, K.; KUMAI, H. Photoperiod influences the growth, food intake, feed efficiency and digestibility of red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, 250: 666-673, 2005.

BISWAS, A. K.; SEOKA, M.; TAKII, K.; MAITA, M.; KUMAI, H. Effect of photoperiod manipulation on the growth performance and stress response of juvenile red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, 258: 350-356, 2006b.

BISWAS, A. K.; SEOKA, M.; TAKII, K.; MAITA, M.; KUMAI, H. Stress response of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation. *Aquaculture*, 252: 566-572, 2006a.

BISWAS, A. K.; SEOKA, M.; UENO, K.; YONG, A. S. K.; BISWAS, B. K.; KIM, Y.; TAKII, K.; KUMAI, H. Growth performance and physiological responses in striped knifejaw, *Oplegnathus fasciatus*, held under different photoperiods. *Aquaculture*, 279: 42-46, 2008.

BISWAS, A. K.; ENDO, M.; TAKEUCHI, T. Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of both fed and unfed young tilapia *Oreochromis niloticus*: Part I. *Fisheries Science*, 68: 465-477, 2002.

BLANCO-VIVES, B.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Synchronisation to light and feeding time of circadian rhythms of spawning and locomotor activity in zebrafish. *Physiology Behavior*, 98: 268-275, 2009.

BLANCO-VIVES, B.; VILLAMIZAR, N.; RAMOS, J.; BAYARRI, M. J.; CHEREGUINI, O.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Effect of daily thermo and photoperiods of different light spectrum on the development of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture*, 306: 137-145, 2010.

BOEUF, G.; LE BAIL, P. Y. Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 177: 129-152, 1999.

BRANDSTATTER, R. Encoding time of day and time of year by the avian circadian system. *Journal of Neuroendocrinology*, 15: 398-404, 2003.

CASSONE, V. M. Melatonin's role in vertebrate circadian rhythms. *Chronobiology International*, 15: 457-473, 1998.

CARRILLO-VICO, A.; GUERRERO, J. M.; LARDONE, P. J.; REITER, R. J. A review of the multiple actions of the melatonin on the immune system. *Endocrine*, 27: 189-200, 2005.

CRUZ, E. M. V.; BROWN, C. L. Influence of the photoperiod on growth rate and insulin-like growth factor-I gene expression in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Fish Biology*, 75: 130-141, 2009.

EKSTRÖM, P.; MEISSL, H. The pineal organ of teleost fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 199-284, 1997.

EL-SAYED, A. F. M.; KAWANNA, M. Effects of photoperiod on the performance of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. I-Growth, feed utilization efficiency and survival of fry and fingerlings. *Aquaculture*, 231: 393-402, 2004.

ESTEBAN, M. A.; CUESTA, A.; RODRIGUEZ, A.; MESSEGUER, J. Effect of photoperiod on the fish innate immune system: a link between fish pineal gland and the immune system. *Journal of Pineal Research*, 41: 261-266, 2006.

FALCÓN, J.; BESSEAU, L.; FAZZARI, D.; ATTIA, J.; GAILDRAT, P.; BEAUCHAUD, M.; BOEUF, G. Melatonin modulates secretion of growth hormone and prolactin by trout pituitary glands and cells in culture. *Endocrinology*, 144: 4648-4658, 2003.

FALCÓN, J.; BESSEAU, L.; SAUZET, S.; BOEUF, G. Melatonin effects on the hypothalamo-pituitary axis in fish. *Trends in endocrinology and metabolism*, 18: 81-88, 2007.

FÁLCÓN, J.; MIGAUD, H.; MUÑOS-CUETO, J. A.; CARRILLO, M. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165: 469-482, 2010.

FISZBEIN, A.; CÁNEPA, M.; VÁZQUEZ, G. R.; MAGGESE, C.; PANDOLFI, M. Photoperiodic modulation of reproductive physiology and behaviour in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. *Physiology Behavior*, 99: 425-43, 2010.

FORTES-SILVA, R.; MARTÍNEZ, F. J.; VILLARROEL, M.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F. J. Daily rhythms of locomotor activity, feeding behavior and dietary selection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry Physiology A*, 156: 445-450, 2010.

GINÉS, R.; AFONSO, J. M.; ARGÜELLO, A.; ZAMORANO, M. J.; LOPEZ, J. L. The effects of long-day photoperiod on growth, body composition and skin colour in immature gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research*, 35: 1207-1212, 2004.

HERRERO, M. J.; MADRID, J. A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Entrainment to light of circadian activity rhythms in tench (*Tinca tinca*). *Chronobiology International*, 20: 1001-1017, 2003.

IIGO, M.; TABATA, M. Circadian rhythms of locomotor activity in the goldfish *Carassius auratus*. *Physiology Behavior*, 60: 775-781, 1996.

JONASSEN, T. M.; IMSLAND, A. K.; STEFANSSON, S. O. Interaction of temperature and light on growth in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. *Aquaculture Research*, 31: 219-227, 2000.

KEZUKA, H.; IIGO, M.; FURUKAWA, K.; AIDA, K.; HANYU, I. Effects of photoperiod, pinealectomy and ophthalmectomy on circulating melatonin rhythms in the goldfish, *Carassius auratus*. *Zoological Science*, 9: 1047-1053, 1992.

KISSIL, G. W.; LUPATSCH, I.; ELIZUR, A.; ZOHAR, Y. Long photoperiod delayed spawning and increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 200: 363-379, 2001.

LEONARDI, M. O.; KLEMPAU, A. E. Artificial photoperiod influence on the immunosystem of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the southern hemisphere. *Aquaculture*, 221: 581-591, 2003.

LEPAGE, O.; TOTTMAR, O.; WINBERG, S. Elevated dietary intake of L-tryptophan counteracts the stress-induced elevation of plasma cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Experimental Biology*, 205: 3679-3687, 2002.

LÓPEZ-OLMEDA, J. F.; MADRID, J. A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Melatonin effects on food intake and activity rhythms in two fish species with different activity patterns: diurnal (goldfish) and nocturnal (tench). *Comparative Biochemistry Physiology A*, 144: 180-187, 2006.

LÓPEZ-PATIÑO, M. A., CONDE-SIEIRA, M., GESTO, M., LIBRÁN-PÉREZ, M., SOENGAS, J. L. AND MÍGUEZ, J. M. Melatonin partially minimizes the adverse stress effects in Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 388-391: 165-172, 2013.

MADRID, J. A.; BOUJARD, T.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Feeding rhythms. In: HOULIHAN, D.; JOBLING, M.; BOUJARD, T. (Eds.). *Food Intake in Fish*. Oxford: Blackwell Science, p. 189-215, 2001.

MIGAUD, H.; DAVIE, A.; MARTINEZ-CHAVEZ, C. C.; AL-KHAMEES, S. Evidence for differential photic regulation of pineal melatonin synthesis in teleosts. *Journal Pineal Research*, 43: 327-335, 2007.

MOORE, C. B.; SIOPE, T. D. Melatonin enhances cellular and humoral immune responses in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) via an opiate mechanism. *General and Comparative Endocrinology*, 131: 258-263, 2003.

NAVARRO, F. K. S. P.; NAVARRO, R. D.; MURGAS, L. D. S.; FELIZARDO, V. O. Effect of photoperiod stress assessment and locomotor activity of female lambari (*Astyanax bimaculatus*). *Ciência e Agrotecnologia*, 38: 173-180, 2014.

NIKAIDO, Y.; ALURU, N.; MCGUIRE, A.; PARK, Y.; VIJAYAN, M. M.; TAKEMURA, A. Effect of cortisol on melatonin production by the pineal organ of

- tilápia, *Oreochromis mossambicus*. *Comparative Biochemistry Physiology A*, 155: 84-90, 2010.
- PETIT, G.; BEAUCHAUD, M.; ATTIA, J.; BUISSON, B. Food intake and growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) held under alternated light/dark cycle (12L:12D) or exposed to continuous light. *Aquaculture*, 228: 397-401, 2003.
- PICKERING, A. D.; POTTINGER, T. G. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology Biochemistry*, 7: 253-258, 1989.
- PIERSON, P. M.; LAMERS, A.; FLIK, G.; MAYER-GOSTAN, N. The stress axis, stanniocalcin, and ion balance in rainbow trout. *General Comparative Endocrinology*, 137: 665-678, 2004.
- PRENDERGAST, B. J.; BILBO, S. D.; DHABHAR, F. S.; NELSON, R.J. Effects of photoperiod history on immune responses to intermediate day lengths in Siberian hamster (*Phodopus sungorus*). *Journal Neuroimmunology*, 149: 31-39, 2004.
- RAD, F.; BOZAOĞLU, S.; GÖZÜKARA, S. E.; KARAHAN, A.; KURT, G. Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 255: 292-300, 2006.
- RODRIGUEZ, A.; CASTELLO-ORVAY, F. E.; GISBERT, E. Somatic growth, survival, feed utilization and starvation in European elver *Anguilla anguilla* (Linnaeus) under two different photoperiods. *Aquaculture Research*, 40: 551-557, 2009.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J.; MADRID, J. A.; ZAMORA, S.; IIGO, M.; TABATA, M. Demand feeding and locomotor circadian rhythms in the goldfish, *Carassius auratus*: Dual and independent phasing. *Physiology Behavior*, 60: 665-674, 1996.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J.; ZAMORA, S.; MADRID, J. A. Light-dark and food restriction cycles in sea bass: Effect of conflicting zeitgebers on demand-feeding rhythms. *Physiology Behavior*, 58: 705-714, 1995.
- SCHULZ, U. H.; LEUCHTENBERGER, C. Activity patterns of South American silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Brazilian Journal of Biology*, 66: 565-574, 2006.
- SETH, M.; MAITRA, S. K. Photoreceptor proteins and melatonin rhythm generating AANAT in the carp pineal: Temporal organization and correlation with natural photo-thermal cues. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 99: 21-28, 2010.
- TAYLOR, J.; MIGAUD, H. Timing and duration of constant light affects rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth during autumn–spring grow-out in freshwater. *Aquaculture Research*, 40: 1551-1558, 2009.
- TAYLOR, J. F.; MIGAUD, H.; PORTER, M. J. R.; BROMAGE, N. R. Photoperiod influences growth rate and plasma insulin-like growth factor-I levels in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General Comparative Endocrinology*, 142: 169-185, 2005.
- TEJPAL, C. S.; PAL, A.K.; SAHU, N. P.; KUMAR, J. A.; MUTHAPPA, N. A.; VIDYA, S.; RAJAN, M. G. Dietary on supplementation on L-trhyptophan mitigates



crowding stress and augments the growth in *Cirrhinus mrigala* fingerling. *Aquaculture*, 293: 272-277, 2009.

TERRÓN, M. P.; PAREDES S. D.; BARRIGA, C. ORTEGA, E. REITER, R. J.; RODRIGUEZ, A. B. Oral administration of melatonin to old ring doves (*Streptopelia risoria*) increases plasma levels of melatonin and heterophil phagocytic activity. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 60: 44-50, 2005.

THORPE, J. E.; MORGAN, R. I. G.; PRETSWELL, D.; HIGGINS, P. J. Movement rhythms in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Biology*, 33: 931-940, 1988.

TOGUYENI, A.; FAUCONNEAU, B.; BOUJARD, T.; FOSTIER, A.; KUHN, E. R.; MOL, K. A.; BAROILLER, J. Feeding behaviour and food utilisation in tilapia, *Oreochromis niloticus*: Effect of sex ratio and relationship with the endocrine status. *Physiology Behavior*, 62: 273-279, 1997.

TRIPPEL, E. A.; NEIL, S. R. E. Effects of photoperiod and light intensity on growth and activity of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Aquaculture*, 217: 633-645, 2003.

VALENZUELA, A.; CAMPOS, V.; YAÑEZ, F.; ALVEAL, K.; GUTIÉRREZ, P.; RIVAS, M.; CONTRERAS, N.; KLEMPAU, A.; FERNANDEZ, I.; OYARZUN, C. Application of artificial photoperiod in fish: a factor that increases susceptibility to infectious diseases? *Fish Physiology Biochemistry*, 38: 943-950, 2012.

VERA, L. M.; CAIRNS, L.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J.; MIGAUD, H. Circadian rhythms of locomotor activity in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chronobiology International*, 26: 666-681, 2009.

VERA, L. M.; DE PEDRO, N.; GÓMEZ-MILÁN, E.; DELGADO, M. J.; SÁNCHEZ-MUROS, M. J.; MADRID, J. A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Feeding entrainment of locomotor activity rhythms, digestive enzymes and neuroendocrine factors in goldfish. *Physiology Behavior*, 90: 518-524, 2007.

VERA, L. M.; MADRID, J. A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Locomotor, feeding and melatonin daily rhythms in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Physiology Behavior*, 88: 167-172, 2006.

VERAS G. C.; MURGAS L. D. S.; ROSA P. V.; ZANGERONIMO M. G.; FERREIRA M. S. S.; SOLIS-DE LEON J. A. Effect of photoperiod on locomotor activity, growth, feed efficiency, and gonadal development of Nile tilapia. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 42: 844-849, 2013a.

VERAS G. C.; MURGAS L. D. S.; ZANGERNIMO M. G.; ROSA P. V.; SOLIS-DE LEON J. A.; SALARO A. L. Fotoperíodo sobre parâmetros fisiológicos relacionados ao estresse em alevinos de tilápia-do-nilo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 65: 1434-1440, 2013.

VILLAMIZAR, N.; BLANCO-VIVES, B.; MIGAUD, H.; DAVIE, A.; CARBONI, S.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts: A review. *Aquaculture*, 315: 86-94, 2011.

VILLAMIZAR, N.; GARCÍA-ALCAZAR, A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Effect of light spectrum and photoperiod on the growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 292: 80-86, 2009.

VILLAMIZAR, N.; HERLIN, M.; LÓPEZ, M. D.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Daily spawning and locomotor activity rhythms of European sea bass broodstock (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 354-355: 117-120, 2012.

WANG, C.; KING, W.; WOODS, C. Physiological indicators of divergent stress responsiveness in male striped bass broodstock. *Aquaculture*, 232: 665-678, 2004.

WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response of fish. *Physiological Reviews*, 77: 591-625, 1997.

WRIGHT, M. L.; FRANCISCO, L. L.; SCOTT, J. L.; RICHARDSON, S. E.; CARR, J. A.; KING, A. B.; NOYES, A. G.; VISCONTI, R. F. Effects of bilateral and unilateral ophthalmectomy on plasma melatonin in *Rana tadpoles* and froglets under various experimental conditions. *General Comparative Endocrinology*, 147: 158-166, 2006.

YÁÑEZ, J.; ANADÓN, R. Neural connections of the pineal organ in the primitive bony fish *Acipenser baeri*: a carbocyanine dye tract-tracing study. *Journal Comparative Neurology*, 398: 151-161, 1998.

## CAPÍTULO 6

# ESTADO ATUAL DO MELHORAMENTO GENÉTICO DE PEIXES NO BRASIL

Danielly Veloso Blanck<sup>1</sup>  
Adriana Kazue Takako

### INTRODUÇÃO

A piscicultura é um dos sistemas de produção de alimentos que mais cresce, tendo apresentado uma produção mundial de cerca de 40 milhões de toneladas de peixes oriundos de cultivo em 2012 (FAO, 2014). No ranking mundial, o Brasil ocupa o 8º lugar, produzindo aproximadamente 600 mil toneladas neste mesmo ano. Essa demanda por organismos aquáticos como fonte de proteína animal na alimentação humana vem crescendo em função do aumento da população mundial, do maior conhecimento acerca dos benefícios nutricionais destes organismos e também, devido a preocupações relativas à sobre-exploração das reservas naturais. Contudo, a produção brasileira está aquém das expectativas, tendo em vista o grande potencial aquífero do país. Assim, em busca de uma maior competitividade da piscicultura brasileira no mercado internacional, o desenvolvimento de peixes geneticamente superiores é imprescindível para aprimorar este aspecto.

Características biológicas dos peixes como a alta fecundidade, o curto intervalo de geração, a relativa facilidade de manejo reprodutivo e a ampla variação genética permitem a implementação de várias abordagens para o progresso genético. Estas abordagens incluem a hibridação, a manipulação de cromossomos (poliploidia, ginogênese e androgênese), transgenia e programas de seleção. Os métodos biotecnológicos como, por

---

Blanck & Takako. Estado atual do melhoramento genético de peixes no Brasil. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

exemplo, o cruzamento interespecífico faz parte da história recente da aquicultura brasileira. Contudo, estas estratégias resultam em um ganho genético imediato, sem oferecer continuidade da melhoria. Por outro lado, o melhoramento contínuo é baseado em métodos de seleção artificial. Os métodos de seleção são os componentes mais eficazes em programas de melhoramento, permitindo altos ganhos a taxas aceleradas, enquanto existir variância genética aditiva para as características de interesse. Os ganhos genéticos para espécies de peixes selecionadas podem atingir entre 5 e 20% por geração (Gjøen & Bentsen, 1997; Gjedrem, 2000; Ponzoni et al., 2005; Santos et al., 2011).

Atualmente no Brasil, existem ações que objetivam o estabelecimento de programas de melhoramento genético de duas espécies nativas de peixes, a cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e tambaqui (*Colossoma macropomun*) e, uma espécie exótica, a tilápia do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Esses programas se estruturam na avaliação genética a partir da informação individualizada e estão baseados em metodologias estatísticas (genética quantitativa) validadas em outras espécies animais de importância para o agronegócio.

Fundamentados no importante significado que a genética possui na tentativa de elevar a piscicultura brasileira a um patamar altamente competitivo com outros países grandes produtores de peixes, neste capítulo: introduziremos algumas informações básicas acerca da seleção genética; apresentaremos o estado da arte da genética aplicada à produção de peixes no Brasil, quer seja ela por métodos clássicos quantitativos ou por auxílio de ferramentas de biologia molecular; além disso, abordaremos aspectos básicos do monitoramento genético realizado nas populações de peixes submetidas ao melhoramento genético no país.

## **ASPECTOS BÁSICOS DA SELEÇÃO GENÉTICA**

Em geral, a seleção tem o objetivo de melhorar e/ou fixar características de importância econômica através do aumento na frequência de alelos favoráveis em uma determinada população. O

melhoramento genético surge a partir da escolha correta dos indivíduos que participarão do processo de constituição da próxima geração (escolha dos reprodutores).

Desenvolver linhagens geneticamente melhoradas de peixes é possível porque as características (ou fenótipos) economicamente importantes são controladas, em parte, pela herança genética. De modo geral, a expressão dessas características está sob controle cumulativo de vários genes. Essas características são conhecidas como quantitativas, em que a forma de ação gênica é o efeito genético aditivo. Além do controle genético, a expressão de um fenótipo é grandemente influenciada por fatores ambientais. São considerados exemplos de caracteres quantitativos de interesse para o melhoramento em peixes a taxa de crescimento, resistência a doenças, sobrevivência, conversão alimentar, rendimento e qualidade da carne e idades para maturidade sexual e primeira desova (Turra et al., 2013).

A herdabilidade ( $h^2$ ) é um dos mais importantes parâmetros genéticos a ser estimado em um programa de seleção. Esta propriedade descreve a porcentagem da variação fenotípica que é herdada de forma previsível, ou seja, expressa a proporção da variância total que é atribuível aos efeitos médios dos genes (variância genética aditiva). Deste modo, caracteres com estimativas de  $h^2$  aproximando de 1 são altamente herdáveis, enquanto traços com estimativas de  $h^2$  aproximando de 0 não são herdáveis. A herdabilidade, portanto, é usada para determinar o valor genético dos animais (quanto da superioridade é devido aos efeitos genéticos aditivos) e para prever a resposta à seleção (quanto da superioridade da população selecionada será transmitida à geração seguinte). Deve ser mencionado que este parâmetro não é uma característica geral e estática de uma população. Ela só é relevante para a população e a geração da qual os dados foram amostrados. Assim, quando as condições ambientais forem alteradas e/ou se uma população responde à seleção (com uma mudança correspondente na variância aditiva), a herdabilidade pode mudar.

Outro parâmetro genético relevante é a interação genótipo-ambiente (G×E). Esta é definida como um fenômeno em que os genótipos respondem diferentemente a um gradiente ambiental (Falconer & Mackay, 1996). A existência de G×E implica que os genes que controlam uma característica em determinado ambiente podem não ser os mesmos que a controlam em outro ambiente. Portanto, a quantificação dessa interação é necessária para estabelecer o ambiente de seleção ideal para os sistemas de produção comercial. Caracteres que apresentam baixa G×E indicam que o teste de famílias no programa de melhoramento e a criação comercial da prole poderia ocorrer em qualquer um dos ambientes testados.

Várias estratégias de seleção estão disponíveis para a melhoria genética dos plantéis de peixes. As estratégias diferem em termos de que tipo de informação será utilizada para estimar o valor genético dos candidatos à seleção. A escolha do método de seleção depende principalmente da natureza das características e sua herdabilidade. Os métodos de seleção amplamente aplicados em piscicultura são a seleção individual ou massal, a seleção dentro e entre famílias e a seleção combinada.

A seleção individual é realizada para melhorar as características de fácil mensuração (por exemplo, comprimento e peso), mas não é eficiente para melhorar características de baixa herdabilidade. A grande desvantagem desta estratégia de seleção é que, se praticada sem restrições, o acúmulo de consanguinidade pode ser um grande problema, em que os reprodutores selecionados podem se tornar cada vez mais relacionados entre si devido à falta de informações de pedigree. Se as famílias grandes são naturalmente produzidas ou estocadas, a grande variação genética e os efeitos não-genéticos comuns (por exemplo, efeito materno) podem facilmente resultar em uma contribuição desproporcionalmente elevada de indivíduos de apenas alguns casais para a próxima geração, e um conseqüente acúmulo de endogamia. Assim, para evitar a consanguinidade, apenas um número restrito de indivíduos de cada família de irmãos completos e meios-irmãos devem ser

testados como candidatos à reprodução quando se aplica a seleção individual. No entanto, isto requer que cada família seja produzida e mantida separadamente uma da outra antes do teste. Bentsen & Olesen (2002) recomendam o uso de pelo menos 50 pares de reprodutores em cada geração e, não menos de 30-50 progênie por casal, para se minimizar o incremento da endogamia.

Seleção entre e dentro de família são estratégias em que os candidatos à reprodução são classificados com base em avaliações tomadas em irmãos completos e meios-irmãos, isto é, indivíduos que têm genes comuns entre si. Estas estratégias de seleção, em geral, são aplicadas para melhorar características que não podem ser mensuradas enquanto os indivíduos estão vivos (por exemplo, características de qualidade de carne), características que só podem ser mensuradas para grupos de peixes (por exemplo, a utilização de alimentos), e traços discretos em alta ou baixa incidência (por exemplo, taxa de sobrevivência, idade de maturação sexual). Além disso, seleção entre e dentro de família é mais eficaz do que a seleção individual quando a herdabilidade de uma característica é baixa. Segundo Turra et al. (2013), as limitações da seleção por família consistem no fato que, se feita de forma intensa, leva a um rápido acúmulo de endogamia, porque famílias inteiras são selecionadas e que somente 50% da variância genética aditiva estão sendo exploradas, tendo em vista que os outros 50% estão expressos dentro das famílias.

A seleção combinada, como a própria denominação sugere, combina a informação individual do animal e seus parentes. Esse método é o mais eficiente, pois aumenta a precisão das estimativas de valores genéticos, e, assim, alcança uma maior resposta à seleção. A partir da seleção combinada, é possível a predição dos valores genéticos dos animais usando o procedimento BLUP (*best linear unbiased prediction*). BLUP é um método estatístico de predição de variáveis aleatórias, como os valores genéticos e genotípicos, que incorpora os registros de desempenho dos indivíduos a partir de informações sobre seus parentes, levando em consideração a tendência genética ao longo do tempo e as fontes de variação

genéticas e ambientais existentes (Ribeiro & Legat, 2008). Este método demanda que os peixes sejam identificados individualmente (*tagged*), o que torna possível o acesso às informações dos pedigrees dos animais para estimação dos valores de cruzamento (EBV - *estimated breeding values*) através da combinação das informações (individuais e de família). Além disso, com a informação do pedigree completo, a consanguinidade poderá ser manejada de forma mais eficiente, evitando-se o cruzamento de indivíduos estreitamente relacionados. Atualmente, os programas de melhoramento genético de peixes realizados no Brasil estão baseados nessa metodologia.

## O MELHORAMENTO GENÉTICO DA TILÁPIA DO NILO NO BRASIL

A tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) é a espécie exótica mais cultivada no Brasil. Atualmente, existem duas linhagens de tilápia-do-nilo melhoradas produzidas em território nacional, a linhagem GST (*Genomar Supreme Tilapia*; importada da Noruega em 2002), e a linhagem GIFT (*Genetically Improved Farmed Tilapia*; importada da Malásia em 2005; para acessar a história de formação da linhagem, acesse Eknath & Acosta (1998) e Bentsen et al. (1998). Essa última, no entanto, é a única que continua sendo selecionada a fim de se desenvolver uma variedade melhorada adaptada às condições brasileiras de cultivo. É importante lembrar que os parâmetros genéticos encontrados até o momento da importação da linhagem são aplicáveis apenas na população e no ambiente onde eles foram obtidos. Assim, torna-se imprescindível que, para o desenvolvimento da linhagem GIFT brasileira, se estabeleça um programa de seleção, que faça estudos prévios das características em questão, mesmo que estas tenham sido estudadas sob outras condições (Santos, 2009).

Estudos têm mostrado que as herdabilidades para peso corporal e sobrevivência na linhagem GIFT podem ser consideradas de baixa a moderada (Ponzoni et al., 2005; Santos et al., 2011, Santos et al., 2012; Kunita et al., 2013; Yoshida et al., 2013a, Yoshida et al.,



2013b). A baixa herdabilidade para peso corporal à despesca implica que este valor fenotípico não é um preditor sensível do potencial genético da linhagem GIFT (Santos et al., 2011). Assim, no programa de seleção brasileiro da tilápia-GIFT, cujo objetivo de seleção é aumentar a taxa de crescimento, passou-se a utilizar o ganho de peso médio diário (g/dia) como critério de seleção. A seleção para ganho em peso diário conduz a ganhos genéticos indiretos para as características peso final, altura e comprimento total, uma vez que há uma forte associação genética entre estas características (Kunita et al., 2013).

Adicionalmente ao ganho de peso médio diário, outras características corporais e a mortalidade na idade comercial têm sido mensuradas a fim de se aumentar a quantidade de informações obtidas por animal (Oliveira et al., 2012). Isto possibilita a seleção com informações combinadas. A partir destes dados informações, um estudo pioneiro realizado com a linhagem GIFT submetida às condições brasileiras, concluiu que a seleção para peso tem impacto positivo na sobrevivência, tanto para peixes cultivados em viveiros escavados quanto em tanques-rede (Santos et al., 2011). Com este resultado promissor, os autores sugeriram que a taxa de sobrevivência deve ser incluída no objetivo de criação, uma vez que determina o número de peixes disponíveis para o mercado e o lucro da piscicultura. Como a herdabilidade estimada para sobrevivência é moderada (0,33 a 0,40), foi possível se obter resposta para seleção. Neste caso, o ganho genético por geração para sobrevivência foi de 2,03%. Embora o peso à despesca não seja um bom preditor do potencial genético da linhagem, o ganho genético estimado para esta característica foi considerado alto (5,07%) para animais produzidos no ano de 2008.

Parâmetros genéticos para caracteres de conformação corporal relacionados ao rendimento de filé também estão sendo estudados. O uso de parâmetros genéticos de variáveis morfométricas é mais vantajoso, uma vez que estas possuem de moderada a alta herdabilidade, enquanto o rendimento de filé, baixa herdabilidade ( $h^2 = 0,12$ ; Rutten et al., 2005). Sob este aspecto, Reis

Neto et al. (2014) avaliaram o comprimento padrão, profundidade, largura, área e volume corporal, obtendo moderadas estimativas de herdabilidade (0,28 a 0,31), sugerindo que estas características poderiam ser usadas como critério de seleção indireto para melhorar as características de carcaça, podendo ser incluídos em índices de seleção. Além disso, os resultados apontam que a seleção para ganho em peso diário tem afetado positivamente características de carcaça, pois, além de impactar o peso adulto dos animais, pode resultar em incremento da altura do peixe, sem que haja o aumento no comprimento da cabeça (Oliveira et al., 2012), proporcionando um maior rendimento de filé (relação entre o peso do filé e o peso à despesca). Isto acontece porque as correlações genéticas estimadas entre variáveis morfométricas e de desempenho são altas (Kunita et al., 2013; Reis Neto et al., 2014). As altas correlações genéticas verificadas entre estas variáveis indicam que grande parte dos genes de ação aditiva, que influenciam qualquer uma das características avaliadas, também influenciam as demais (ação de genes pleiotrópicos). Isto implica que a seleção para qualquer uma dessas características deve resultar em progresso genético nas outras.

Esforços também têm sido realizados no intuito de selecionar precocemente os reprodutores que constituirão o plantel da próxima geração. Tal procedimento normalmente ocorre quando os animais estão com cinco meses de cultivo. Porém, Yoshida et al. (2013a; 2013b) apontam que a utilização das informações de peso vivo e ganho de peso diário total, medidos com um ou dois meses de antecedência, podem resultar em resposta à seleção indireta para velocidade de crescimento. A seleção precoce é vantajosa, pois acarreta a redução do tempo de gerações, aumento do ganho genético anual e, pode diminuir os custos referentes à mão de obra na realização das biometrias e na produção dos animais (Yoshida et al., 2013b)

Interações entre genótipos e ambiente também foram estimadas a fim de se verificar a resposta à seleção em variadas condições ambientais. Um primeiro estudo deste tipo foi realizado no sul do Brasil e avaliou o desempenho da linhagem GIFT e

correlações genéticas da tilápia-do-nylo durante três anos consecutivos (Santos, 2009). Os peixes foram avaliados em tanques-rede, sob dietas de 28% (A1) e 32% (A2) de proteína bruta, e em viveiros de terra com 28% de proteína bruta (A3). Neste estudo, as estimativas de herdabilidade para o peso à despesca foram moderadas em todos os ambientes. Como a maior herdabilidade foi encontrada no ambiente A2, sugere-se que a expressão do potencial genético dos animais deve requerer melhor qualidade de água e de dieta (em proteína), visto que no viveiro de terra não houve utilização de aeradores e, como os tanques-rede foram instalados em rio com água corrente, possibilitou manter melhor qualidade de água. Além disso, as correlações genéticas para o peso corporal à despesca entre os ambientes avaliados foram consideravelmente altas (0,58 a 0,88) e significantes. Estes resultados indicam diferenças em sensibilidade da linhagem aos diferentes ambientes e, portanto, a presença de interação genótipo-ambiente para peso à despesca entre os ambientes avaliados. Assim, programas de seleção separados devem ser considerados para melhorar o peso corporal à despesca nos diferentes ambientes estudados, pois a presença de interação genótipo-ambiente acarreta a perda na eficiência de seleção e menor progresso genético da população, o qual será tanto menor, quanto menor for a correlação genética entre o peso nos ambientes de seleção e de produção.

Além de genética quantitativa, ferramentas da genética molecular podem ser aplicadas a programas de melhoramento genético para aumentar a eficiência de seleção para características de baixa herdabilidade e de difícil mensuração. Uma variedade de técnicas existe para incorporar informações de marcadores em sistemas de avaliação genética. A inclusão do marcador em valores genéticos BLUP foi primeiramente demonstrada por Fernando & Grossman (1989) e está previsto para originar 8-38% de ganho genético adicional (Meuwissen & Goddard, 1996). Acerca desta abordagem no programa genético da tilápia-GIFT brasileira, pouco se tem feito até o momento. A literatura consta de apenas um trabalho que prospectou um polimorfismo no gene do hormônio do

crescimento (GH) de tilápias cultivadas no Brasil (Blanck, 2008). Neste estudo, a autora encontrou que a produção de tilápias da variedade GIFT homocigotas *PstI<sup>+/+</sup>* podem apresentar rendimento de filé 2,72% superior em relação ao genótipo heterocigoto *PstI<sup>+/-</sup>*. Uma vez que a característica rendimento de filé apresenta baixa herdabilidade, a identificação do genótipo *PstI<sup>+/+</sup>* pode ser relevante nas avaliações genéticas, levando a um importante aumento na resposta à seleção desta característica.

Essa escassez de trabalhos caracteriza uma grande lacuna do conhecimento para a genética da tilápia brasileira. Atualmente tecnologias modernas de sequenciamento em ultra-larga escala estão disponíveis a preços relativamente baixos e podem representar um grande passo para o melhor entendimento da expressão das características fenotípicas de interesse para a espécie. Uma busca nos bancos de dados genômicos indica que a sequência completa do genoma da tilápia-do-nilo já está disponível (número de acesso no *Bioprojects* do NCBI: PRJNA59571), apresentando 1.576,63 Mb (megabases). Este genoma está constituído por 23 grupos de ligação contendo 30.172 genes. De posse de informações sobre sequências biológicas da espécie, é possível se definir uma série de genes candidatos que estejam envolvidos com o crescimento muscular (por exemplo, genes do hormônio do crescimento (GH), da prolactina (PRL), da somatolactina (SL), do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) e da miostatina (MSTN)). A partir da existência de um genoma de referência para a espécie, a identificação de genes e SNPs (Polimorfismos de Base Única) associados ao aumento da velocidade de crescimento da variedade GIFT se torna muito mais simplificada. Para tanto, ensaios de expressão gênica diferencial poderiam ser conduzidos, comparando a linhagem GIFT e uma linhagem controle (não selecionada), o que ajudaria a elucidar os mecanismos moleculares envolvidos no seu maior crescimento e, forneceria uma grande gama de marcadores genéticos a serem incluídos nos modelos matemáticos de avaliação genética. A exemplo desta possibilidade, Xia et al. (2014) prospectaram 23.535 SNPs funcionais que foram alocados em 7146

genes distribuídos ao longo de 22 grupos de ligação da tilápia. Outra opção interessante é o estudo de marcadores em genes que codificam microRNAs, uma vez que estes apresentam papel crucial para o desenvolvimento do tecido muscular e, possivelmente estão envolvidos na via de sinalização do eixo GH/IGF-1 (Huang et al., 2012).

Em resumo e em termos práticos, os pesquisadores envolvidos no projeto têm relatado ganho genético para a taxa de crescimento de 4% a cada geração, totalizando um ganho acumulado de 28% até o ano de 2010. Isso conduziu à redução de 21 dias no período de cultivo em tanques-rede, o que resultou que a cada R\$1,00 de investimento adicional em alevinos melhorados, o retorno está girando em aproximadamente R\$12,00. Não obstante, ainda há potencial para se incrementar este ganho genético a partir do uso de técnicas moleculares como ferramenta auxiliar na seleção genética da espécie.

## **O MELHORAMENTO GENÉTICO DE ESPÉCIES NATIVAS BRASILEIRAS: O TAMBAQUI E A CACHARA**

A contribuição da genética para a produção de espécies nativas de peixes, até recentemente, estava baseada na produção de híbridos interespecíficos como uma forma mais rápida de se promover melhoramento genético. Híbridos entre pacus (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaquis (*C. macropomum*) e surubins pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) e cachara (*P. reticulatum*) são exemplos presentes na estatística de produção aquícola brasileira. No entanto, o uso desta estratégia provê resultados imediatos finitos, os quais são observados nas primeiras gerações do cruzamento ou somente na F1. Assim, uma vez que não há evolução contínua da melhoria genética, o programa deixará de ser competitivo. Além disso, a possibilidade de escape de híbridos na natureza pode comprometer a integridade dos recursos genéticos das populações selvagens. Com vistas aos riscos ambientais que os híbridos oferecem em caso de escape na natureza, de acordo com Hilsdorf & Orfão (2011), a opção sustentável com menor impacto sobre as populações selvagens é a

aplicação de metodologias da genética quantitativa no melhoramento genético.

Pensando no enorme potencial de cultivo de espécies nativas e no desenvolvimento sustentável do país, a Embrapa em parceria com diversas instituições públicas e privadas, através do projeto “Bases Tecnológicas para o Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura no Brasil (Aquabrazil)” elegeu o tambaqui e cachara para o desenvolvimento do programa de melhoramento genético de espécies nativas. O programa prevê um salto tecnológico na aquicultura brasileira, tentando preencher o déficit de produção vigente, de modo a beneficiar a cadeia produtiva, que deve abranger desde o produtor até o consumidor (Resende, 2009). Os pontos chave que influenciaram na escolha destas espécies foram o domínio das técnicas de produção e reprodução, a existência de estrutura de beneficiamento e escoamento da produção, o interesse do mercado consumidor regional (região Norte para o tambaqui e Centro-Oeste para a cachara) e o potencial de expansão dos produtos para outras regiões do Brasil e no exterior.

A princípio, o melhoramento genético do tambaqui e da cachara está sendo conduzido de forma semelhante àquele realizado para tilápias-do-nilo, em que os animais são selecionados em função dos valores genéticos aditivos para taxa de crescimento, medida a partir do ganho médio diário e peso à despesca (Oliveira et al., 2012). Entretanto, uma desvantagem que estas espécies têm em relação à tilápia-do-nilo é o maior intervalo de gerações. Nossas espécies nativas maturam sexualmente por volta dos três anos de idade, enquanto a tilápia madura por volta dos sete meses. Isto faz com que o programa de seleção das espécies nativas caminhe a passos mais lentos do que espécies que possuam intervalo de geração curto. Em função dessa maior demanda de tempo para obtenção de informações e avaliações genéticas ao longo das gerações, a literatura não dispõe de muitos resultados sobre o melhoramento genético do tambaqui e da cachara.

Dentro dos objetivos de seleção, o adequado delineamento para a formação da população base dos núcleos de seleção do

tambaqui e da cachara é fundamental para o sucesso do programa. Para a formação do núcleo de seleção do tambaqui, contou-se com sêmen de reprodutores provenientes de sete pisciculturas (localizadas nos estados de Mato Grosso, Rondônia, Tocantins e Amazonas) e de peixes coletados na natureza. Enquanto para o desenvolvimento do núcleo da cachara, os parceiros foram dos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, totalizando cinco populações cativas além dos peixes capturados na natureza. Tendo à disposição os reprodutores candidatos a formar as populações base, o primeiro passo foi uma avaliação por meio de marcadores moleculares. Tal avaliação objetivou dimensionar a variação e estrutura genética existente entre as diferentes populações de peixes, evitando o início dos programas de melhoramento a partir de estoques com base genética restrita. Em seguida, uma complexa combinação foi montada para os cruzamentos (proporção de uma fêmea para dois machos), formação das famílias e posterior seleção dos novos reprodutores de tambaqui e cachara. Infelizmente estas informações não se encontram descritas na literatura, porém, de maneira geral, a abordagem consiste na amostragem disponível de todas as populações fornecedoras do material genético, conduzindo todos os cruzamentos possíveis entre eles e um cruzamento seletivo posterior da progênie gerada, independente da sua origem. A estratégia deve garantir uma população base com ampla variação genética (Ribeiro & Legat, 2008). Atualmente (período reprodutivo 2014/2015), estão sendo estabelecida a segunda geração de famílias (G2) de tambaqui e a primeira geração de cachara (G1).

A partir da formação dos núcleos de seleção, em um estudo inicial, Mello (2013) estimou os componentes de variância e parâmetros genéticos para características morfométricas (comprimento da cabeça e largura, altura e comprimento corporal) e de desempenho (peso corporal e ganho de peso diário), em dois estágios de crescimento do tambaqui (12 e 24 meses). Os maiores valores de herdabilidade foram verificados para ganho de peso diário aos 12 meses (0,49) e comprimento total aos 24 meses (0,46) de cultivo. Estes resultados indicam que a espécie apresenta um grande

potencial para resposta à seleção para todas as características, em ambas as fases da vida. De acordo com os pesquisadores envolvidos no programa de seleção, o ganho genético estimado por geração é superior a 6%, o que representa um ganho adicional de aproximadamente 45 g por peixe melhorado. Do ponto de vista industrial, em um cultivo com 20 mil animais, esse ganho corresponderia a cerca de uma tonelada (Oliveira et al., 2012). Em se tratando da cachara, nenhuma informação acerca da estimação de parâmetros genéticos está disponível, pois, como já citado, a G1 desta população está em processo de constituição (períodos reprodutivos 2013/2014 e 2014/2015).

No que se diz respeito ao uso de técnicas de biologia molecular nas espécies tambaqui e cachara, os estudos se direcionaram às estimativas de variabilidade e divergência genética das populações envolvidas na formação dos núcleos de seleção (dados não publicados). Em uma rápida pesquisa, verificou-se que as sequências de DNA depositadas nos bancos de dados genômicos para estas espécies estão restritas praticamente às sequências de regiões microsatélites e genes mitocondriais. Mesmo não havendo dados de sequências biológicas disponíveis para estas espécies, as perspectivas de aplicação destas técnicas no melhoramento genético são as mesmas que para a tilápia-do-nylo. Ainda, informações originadas a partir de marcadores moleculares a serem incluídas nos modelos de avaliação genética podem ter um peso muito maior para a seleção, pois podem permitir a seleção antecipada de caracteres relacionados ao crescimento e precocidade reprodutiva, minimizando a desvantagem do longo tempo necessário para a maturação sexual destas espécies.

Além do desenvolvimento de alevinos de alta qualidade genética, a Rede Aquabrazil também tem o intuito de desenvolver dietas que atendam às exigências nutricionais de cada uma das etapas de desenvolvimento das espécies-alvo, com um mínimo de eliminação ao ambiente e, que seja economicamente viável (Resende, 2009). Assim, dentro das possibilidades de aplicação da biologia molecular, estudos na área de genômica funcional podem



ser uma abordagem poderosa na otimização da composição da dieta das espécies nativas de peixes (nutrigenômica). A abordagem pode ser usada para identificar mudanças específicas em nível molecular, que por sua vez causam mudanças metabólicas e fisiológicas em peixes tratados com dietas diferentes (por exemplo, níveis de proteína bruta, níveis de inclusão de proteína vegetal e inclusão de agentes antioxidantes, vitaminas ou ácidos graxos poli-insaturados). Desse modo, a nutrigenômica pode ser utilizada para produzir animais saudáveis, bem como produtos seguros e de alta qualidade para o consumidor, emergindo como uma área de pesquisa promissora para sustentabilidade e rentabilidade na piscicultura brasileira.

Apesar da reduzida quantidade de informações, sob um ponto de vista comparativo das espécies submetidas ao melhoramento genético no Brasil, as espécies nativas possuem maior variância genética aditiva para as características de crescimento quando comparadas com a tilápia-do-nylo. Isto evidencia o grande potencial que a seleção genética tem para elevar o cultivo das nossas espécies a um patamar de viabilidade plena e competir significativamente com países grandes produtores de pescados. Além disso, reiteramos que o uso de ferramentas de análise genômica é essencial para alcançar o progresso genético nestas espécies de peixes.

## **MONITORAMENTO DA VARIABILIDADE GENÉTICA NOS ESTOQUES SUBMETIDOS À SELEÇÃO ARTIFICIAL**

O progresso de um programa de melhoramento genético não está ligado somente à eficiência do método de seleção, mas também à variabilidade genética na população, sendo que para a preservação da resposta à seleção artificial a médio e longo prazo, a conservação da variabilidade genética é um ponto muito importante. A necessidade do monitoramento genético na conservação das populações é reconhecida e inclui o monitoramento tanto de marcadores moleculares neutros como de características genéticas quantitativas. E, monitorar os níveis de

diversidade genética molecular e quantitativa em populações cativas, permite verificar a eficácia de protocolos de melhoramento e definir estratégias que minimizem a perda de variação, pois em populações sob seleção, uma consequência natural é o acúmulo de consanguinidade, a qual geralmente resulta no aumento da homoziguidade, com maiores chances da expressão de genes recessivos, depressão por endogamia e redução na variância genética dos caracteres economicamente importantes (Falconer & Mackay, 1996).

Uma importante observação acerca da vantagem da utilização de marcadores moleculares em relação às informações quantitativas, é que os dados obtidos são menos influenciados pelo ambiente. Informações estimadas por marcadores neutros podem ser usadas na inferência da ação de seleção na própria sequência de DNA ou próxima a esta sequência, dependendo da taxa de recombinação (Kreitman & Akashi, 1995). Apesar dos microsatélites serem considerados marcadores seletivamente neutros, eles frequentemente representam polimorfismos funcionalmente relevantes (Chistiakov et al., 2006) e podem determinar a magnitude da consanguinidade. No programa de melhoramento da tilápia-GIFT brasileira, o monitoramento da variabilidade genética ao longo das gerações está sendo realizado com o auxílio de marcadores microsatélites (Rodriguez-Rodriguez et al., 2013). Até o momento, estudaram-se a geração parental (G0), além de três gerações posteriores (G1, G2 e G3). Os níveis de heteroziguidade observada ( $H_o$ ) se mantiveram acima de 0,50, com exceção da G1. Embora as diferenças dos níveis de heteroziguidade não tenham sido significativas entre as gerações, o menor valor médio da G1 ( $H_o = 0,39$ ) pode refletir a utilização de menos famílias na constituição desta geração (G1 = 32; G2 = 58 e G3 = 78). Este resultado implica que a redução do tamanho do plantel reprodutor e no número de famílias conduz a diminuição da variabilidade genética. Neste estudo, o coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) estimado variou de 0,192 (G0) a 0,401 (G1), indicando a deficiência de heterozigotos a partir da G0, a qual

pode estar associada ao *status* genético em que se encontravam as famílias importadas da Malásia e ao tipo de seleção e cruzamento praticados. Este déficit de heterozigotos também reflete o desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (desvios nas frequências alélicas), o qual já era esperado para esta população que está submetida à seleção artificial e acasalamentos preferenciais. No caso das espécies nativas, o monitoramento da variabilidade genética ao longo das gerações submetidas à seleção artificial também deverá ser aplicado sem dificuldades, uma vez que marcadores microssatélites espécie-específicos estão disponíveis tanto para o tambaqui (Hamoy et al., 2010; Hamoy et al., 2012; Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium et al., 2013) como para cachara (Prado et al., 2014).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dessa pesquisa bibliográfica sobre os trabalhos realizados até o presente momento na área de melhoramento genético de peixes no Brasil, podemos constatar que a genética quantitativa se mostra imprescindível para o aumento da produção, não só quantitativamente, mas qualitativamente. As pesquisas realizadas nesta área contemplam muitos dados relacionados ao potencial genético da tilápia-do-nilo, enquanto espécies nativas, de grande importância econômica, como o tambaqui *C. macropomum* e cachara *P. reticulatum* ainda encontram-se em fases de experimentação, buscando dados que, futuramente, poderão ser utilizados em programas de melhoramento genético destes peixes no Brasil.

Além da genética quantitativa, é necessário destacar o papel da biologia molecular, que com seus avanços e relativa redução de custos, atualmente tem aprimorado o melhoramento genético, trazendo mais precisão, eficiência, aumentando a qualidade e diminuindo o tempo e o custo de produção. Porém, em nosso país, a produção de pescados em cativeiro, com uso de técnicas aprimoradas, ainda está longe do ideal, pois ainda, temos poucos bancos de dados, estamos iniciando a prospecção de regiões

genômicas de interesse, levantando conhecimentos sobre dados biológicos gerais das espécies nativas, informações estas que futuramente farão a diferença no melhoramento genético de peixes em nosso país.

É importante lembrar que diversos estudos na área vêm sendo realizadas em grandes centros de aquicultura. No entanto, ainda poucos dados encontram-se disponíveis aos melhoristas. Além disso, a biologia molecular nesta área ainda continua utilizando técnicas consideradas demoradas e até mesmo, obsoletas, do ponto de vista da tecnologia de sequenciamento que já se encontra disponível. Portanto, acreditamos que os estudos, assim como a aplicabilidade de diversas técnicas para a área de melhoramento genético de peixes tende a aumentar e tornar-se cada vez mais acessível aos produtores, graças aos inúmeros pesquisadores atuantes e ao grande investimento que começa a ser realizado nesta área, assim como o acesso a informação gerada por estes, que serão de suma importância para a produção de peixes no Brasil.

## REFERÊNCIAS

- BENTSEN, H. Designing aquaculture mass selection programs to avoid high inbreeding rates. *Aquaculture*, 204 (3-4): 349–359, 2002.
- BENTSEN, H. H.; EKNATH, A. E.; PALADA-DE VERA, M. S.; et al. Genetic improvement of farmed tilapias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 160:145-173, 1998.
- BLANCK, D. V. Polimorfismo no íntron 1-PstI do gene do hormônio do crescimento em linhagens de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). Maringá: UEM, 2008. 53f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.
- CHISTIAKOV, D. A.; HELLEMANS, B.; VOLCKAERT, F. A. M. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*, 255: 1-29, 2006.
- MEUWISSEN, M. T. H.; GODDARD M. E. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. *Genetics Selection Evolution*, 28:161–176, 1996.
- EKNATH, A. E.; ACOSTA, B. O. Genetic improvement of farmed tilapias (GIFT) Project: final report. Makati, Filipinas, 1998.
- FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. Introduction to quantitative genetics. 4ª ed. Harlow: Longman group Ltd, 1996.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014.

FERNANDO, R. L.; GROSSMAN, M. Marker-assisted selection using best linear unbiased prediction. *Genetic Selection Evolution*, 21: 246–277, 1989.

GJEDREM, T. Genetic improvement of cold-water fish species. *Aquaculture Research*, 31: 25–33, 2000.

GJØEN, H. M.; BENTSEN, H. B. Past, present, and future of genetic improvement in salmon aquaculture. *ICES Journal of Marine Science*, 54:1009-1014, 1997.

HAMOY, I. G.; CIDADE, F. W.; BARBOSA, M. S.; et al. Isolation and characterization of tri and tetranucleotide microsatellite markers for the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Serrasalminae, Characiformes). *Conservation Genetics Resources*, 3 (1): 33–36, 2010.

HAMOY, I. G.; SANTOS, S. Multiplex PCR panel of microsatellite markers for the tambaqui, *Colossoma macropomum*, developed as a tool for use in conservation and broodstock management. *Genetics and Molecular Research*, 11:141–6, 2012

HILSDORF, A. W. S.; ORFÃO, L. H. Aspectos gerais do melhoramento genético em peixes no Brasil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40:317–324, 2011.

HUANG, C. W.; LI, Y. H.; HU, S. Y. et al. Differential expression patterns of growth-related microRNAs in the skeletal muscle of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Science*, 90:4266–4279, 2012.

KREITMAN, M.; AKASHI, H. Molecular evidence for natural selection. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26:403–422, 1995.

KUNITA, N. M.; OLIVEIRA, C. A. L.; OLIVEIRA, S. N. et al. Avaliação genética de características morfométricas em tilápias do nilo cultivadas. *Archivos de Zootecnia*, 62:555–566, 2013.

MELLO, F. Identificação de novos reguladores do crescimento muscular utilizando a espécie modelo *Oncorhynchus mykiss* aplicado ao melhoramento do desempenho zootécnico em *Colossoma macropomum*. Porto Alegre: UFRGS, 2013. 110f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

AGOSTINI, C.; ALBALADEJO, R. G. et al. Molecular ecology resources primer development consortium. Permanent genetic resources added to molecular ecology resources database 1 April 2013–31 May 2013. *Molecular Ecology Resources*, 13(5): 966–968, 2013.

OLIVEIRA, C. A. L.; RIBEIRO, R. P.; STREIT JÚNIOR, D.; POVH, J. A.; RESENDE, E. K. Melhoramento genético de peixes uma realidade para a piscicultura brasileira. *Panorama da Aquicultura*, 130: 38–47, 2012.

PONZONI, R. W.; HAMZAH, A.; TAN, S.; KAMARUZZAMAN, N. Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 247 (1-4):203–210, 2005.

PRADO, F. D.; PARDO, B. G.; GUERRA-VARELA, J. et al. Development and characterization of 16 microsatellites for the Neotropical catfish *Pseudoplatystoma*

*reticulatum* and cross species analysis. Conservation Genetics Resources, 6: 679–681, 2014.

RESENDE, E. K. Pesquisa em rede em aquicultura: bases tecnológicas para o desenvolvimento sustentável da aquicultura no Brasil. Aquabrazil. Revista Brasileira de Zootecnia, 38: 52–57, 2009.

RIBEIRO, R. P.; LEGAT, A. P. Delineamento de programas de espécies aquícolas no Brasil. Embrapa Meio-Norte: Teresina, 2008.

RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. D. P.; LOPERA-BARRERO, N. M.; VARGAS, L. et al. Caracterização genética de gerações de tilápia GIFT por meio de marcadores microssatélites. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48:1385–1393, 2013.

RUTTEN, M. J. M.; BOVENHUIS, H.; KOMEN, H. M. Genetic parameters for fillet traits and body measurements in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Aquaculture, 246:125–132, 2005.

SANTOS, A. I. Interação genótipo-ambiente e estimativas de parâmetros genéticos em tilápias. Maringá: UEM, 2009. 97f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

SANTOS, A. I.; NGUYEN, N. H.; PONZONI, R. W.; et al. Growth and survival rate of three genetic groups fed 28% and 34% protein diets. Aquaculture Research, 45: 353–361, 2012.

SANTOS, A. I.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L.; MORA, F.; FILHO, L. A. Bayesian genetic parameters for body weight and survival of Nile tilapia farmed in Brazil. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 46:33–43, 2011.

TURRA, E. M.; FERNANDES, A. F. A.; DE ALVARENGA, É. R. In: Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 10. Uberaba-MG. Anais Uberaba: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2013.

XIA, J. H.; WAN, Z. Y.; NG, Z. L.; et al. Genome-wide discovery and in silico mapping of gene-associated SNPs in Nile tilapia. Aquaculture, 432:67–73, 2014.

YOSHIDA, G. M.; KUNITA, N. M.; OLIVEIRA, S. N.; et al. Resposta à seleção de características de desempenho e morfométricas de tilápia-do-nilo ao longo do período de cultivo. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 65: 1815–1822, 2013a.

YOSHIDA, G. M.; OLIVEIRA, C. A. L.; OLIVEIRA, S. N.; et al. Associação entre características de desempenho de tilápia-do-nilo ao longo do período de cultivo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48:816–824, 2013b.

# CAPÍTULO 7

## ADAPTAÇÕES FISIOLÓGICAS À HIPÓXIA EM PEIXES COM RESPIRAÇÃO EXCLUSIVAMENTE AQUÁTICA

Gabryella Gomes Rodrigues<sup>1</sup>  
Fabio de Jesus Castro

### INTRODUÇÃO

Os peixes compreendem em sua totalidade cerca de 25.000 espécies, mais do que todas as outras espécies de vertebrados combinadas – com adaptações que os tornam ajustados a quase todo o ambiente aquático concebível (Hickman et al., 2004). Comparada ao ar, a água apresenta uma maior densidade, uma viscosidade mais alta, um menor conteúdo de oxigênio, uma capacidade calórica e uma condutividade de calor maior e uma alta condutividade elétrica. Estas características físicas são refletidas no tamanho e na forma dos animais aquáticos e terrestres, bem como em sua fisiologia e em seu comportamento (Pough, 2008).

As adaptações fisiológicas dos peixes influenciam o sucesso desses animais em colonizar o ambiente aquático (Sunti, 2013). Comparada à respiração aérea, a respiração aquática possui um custo energético mais elevado e os peixes devem dispor de adaptações morfológicas e fisiológicas que maximizem a extração de oxigênio (O<sub>2</sub>) do meio combinado a uma redução de gasto energético. Desde a década de 1970, estudos envolvendo o estresse dos peixes têm sido frequentemente realizados no campo da fisiologia. No ambiente, a resposta ao estresse pode ser vista como a capacidade dos peixes mobilizarem as reservas de energia de forma a evitar ou vencer imediatamente situações de ameaça (Silveira et al., 2009).

---

Rodrigues & Castro. Adaptações fisiológicas à hipóxia em peixes com respiração exclusivamente aquática. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

A redução da pressão parcial de oxigênio na água expõe o peixe a uma situação de hipóxia (baixa concentração de oxigênio) (Rojas, 2011). O estresse devido à hipóxia reduz a taxa de crescimento e desenvolvimento, promove mudanças morfológicas, alterações comportamentais e uma variedade de ajustes metabólicos e fisiológicos em várias etapas da vida do peixe (Melo et al., 2009).

Incluída na categoria de fatores estressantes químicos, a falta de oxigênio dissolvido na água é considerada a principal causa da mortalidade de peixes em viveiros de piscicultura (Silveira et al., 2009). Essa situação ocorre com mais frequência em ambientes com pouca circulação de água como lagos e tanques de cultivo com pouca renovação de água (Baldisserotto, 2002). Geralmente os peixes de rios são tolerantes à hipóxia, pois a água doce possui concentração reduzida de oxigênio dissolvido (Felizardo et al., 2010).

As principais causas da redução da quantidade de oxigênio dissolvido na água são: presença de matéria orgânica (microrganismos consomem oxigênio para degradar a matéria orgânica); respiração de animais e plantas (as plantas consomem oxigênio durante o dia e à noite, mas à noite o consumo é maior, e não há nenhuma atividade fotossintetizante); aumento da temperatura (causa redução na solubilidade do oxigênio e aumento na taxa metabólica do peixe, o que leva a um aumento no consumo de oxigênio) (Baldisserotto, 2002).

Considerando-se que estes fatores frequentemente levam a uma hipóxia ambiental, não é surpresa que os peixes que vivem em tais ambientes tenham desenvolvido adaptações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais para garantirem sua sobrevivência (Micheli, 2008). No cultivo intensivo de peixes, a hipóxia pode acontecer quando o número de peixes no tanque está acima da capacidade de suporte do viveiro, o que aumenta a demanda por oxigênio na água (Silveira et al., 2009). Esse mesmo autor cita ainda que, segundo padrão de recomendação, o nível ideal da concentração de oxigênio dissolvido esteja entre os valores de 2,0 a 7,0 mg/L.



Quando expostos a ambientes hipóxicos, a resposta adaptativa mais comum dos peixes para lidar com a falta de oxigênio é a fuga (Ferreira et al., 2010); porém nem sempre isso é possível. A sobrevivência dos peixes à ambientes hipóxicos resulta de uma série de respostas fisiológicas e bioquímicas desencadeadas para compensar os efeitos da hipóxia (Micheli, 2008). Essas respostas são rápidas e consistem, principalmente, em mudanças na respiração e circulação (Gazzola, 2003). Entretanto, esses ajustes implicam em maior gasto de energia, que é obtida a partir da dieta e de reservas, como glicogênio, proteínas e lipídios, presentes em tecidos como fígado e músculo dos peixes (Santos & Oba, 2009).

Tendo em vista o exposto, este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre as adaptações fisiológicas à hipóxia em peixes com respiração exclusivamente aquática, destacando-se as respostas neuroendócrinas, hematológicas, hematopoiéticas e bioquímicas, bem como os ajustes cardiorrespiratórios decorrentes da baixa tensão de oxigênio no ambiente aquático. Por último, discutir-se-á os impactos e as consequências negativas da hipóxia sobre os sistemas de cultivo.

## **RESPOSTAS NEUROENDÓCRINAS E AJUSTES CARDIORRESPIRATÓRIOS À HIPÓXIA**

O ambiente aquático é extremamente dinâmico com mudanças rápidas ou extremas na concentração de O<sub>2</sub> dissolvido (Oba et al., 2009). A quantidade de oxigênio dissolvido na água depende da pressão parcial do oxigênio na atmosfera, o que varia com a altitude, temperatura da água e quantidade de substâncias nela dissolvidas (Baldisserotto, 2002). O suprimento de O<sub>2</sub> para os animais de respiração aquática é limitado pela baixa solubilidade deste gás na água que, nos ambientes tropicais, é ainda mais crítica com as constantes flutuações da temperatura do meio (Micheli, 2008). O teor de oxigênio dissolvido na água, quando não é suficiente para cobrir as necessidades mínimas dos animais, causa sua morte por asfixia (Alves et al., 1999).

A respiração de animais e plantas também interfere na concentração de oxigênio dissolvido na água, pois quanto maior a quantidade de animais no ambiente, maior o consumo de oxigênio (Bolner, 2007). De acordo com Baldisserotto (2002), a matéria orgânica presente na água é degradada por microrganismos e a realização deste processo exige um consumo de oxigênio do meio. A temperatura também é um fator que interfere na quantidade de oxigênio dissolvido (OD) na água, pois com o aumento da mesma, há uma diminuição da quantidade de oxigênio dissolvido. As elevações de temperatura guardam uma relação direta com aumentos na taxa metabólica e, conseqüentemente, na demanda de O<sub>2</sub> (Micheli, 2008). Em vista disso, a temperatura é uma variável fundamental na determinação da vulnerabilidade à hipóxia (Thomaz, 2012).

As águas tropicais são caracterizadas por temperaturas altas com pouca variação anual e pelo conteúdo elevado e estável de matéria orgânica, o que favorece a proliferação de microrganismos, podendo resultar em hipóxia ou mesmo anóxia, como resultado da respiração de animais e plantas (Santos & Oba, 2009). A concentração de oxigênio dissolvido na água varia constantemente até mesmo em condições naturais. Ações antropogênicas também contribuem para condições de hipóxia, pois a adição excessiva de compostos orgânicos no meio aquático resulta em “bloom” de algas e microrganismos que podem causar alterações na concentração de OD (Sampaio, 2009).

A sensibilidade dos peixes ao oxigênio é dependente da espécie (Felizardo et al., 2010). Algumas espécies de peixes conseguem desenvolver mecanismos e estratégias que visem favorecer a sua sobrevivência quando estes são expostos à situações adversas. O tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o matrinxã (*Brycon amazonicus*), por exemplo, quando expostos à ambientes hipóxicos, desenvolvem uma protuberância no lábio inferior, o que permite a estas espécies direcionar a água das camadas mais superficiais, ricas em oxigênio, para as brânquias (Baldisserotto, 2002).

As baixas concentrações de oxigênio dissolvido causam estresse nos peixes (Tavares-Dias & Moraes, 2004). A resposta fisiológica dos peixes a um estímulo de estresse é adaptativa e inespecífica, basicamente neuroendócrina, que desencadeia uma cascata de acontecimentos fisiológicos e metabólicos necessários para fazer frente à situação adversa (Póvoa, 2008). As respostas ao estresse são divididas em primárias (neural e neuroendócrinas), secundárias (consequências fisiológicas resultantes das primárias) e terciárias (alterações comportamentais, diminuição de crescimento e aumento da suscetibilidade a doenças) (Azevedo, 2013). Peixes expostos à hipóxia ambiental apresentam respostas que visam economia energética e a tentativa de aumentar a capacidade de extração de O<sub>2</sub> (Thomaz, 2012).

As respostas neuroendócrinas ao estresse nos peixes envolvem a ativação de dois eixos neuroendócrinos: o eixo hipotálamo-sistema nervoso simpático-células cromafins (HSC), que resulta na liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina), como produtos finais; e o eixo hipotálamo-hipófise-interrenal (HHI) que libera os corticosteróides (cortisol e cortisona) (Oba et al., 2009). Os estímulos adversos são detectados por órgãos sensoriais e a partir deles, chegam ao hipotálamo, que estimula a liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) pelas células cromafins (Silveira et al., 2009). As células cromafins nos peixes, embora não constituam propriamente uma glândula endócrina, são homólogas à medula adrenal dos mamíferos e são a principal fonte das catecolaminas circulantes. Tais células ocorrem espalhadas ou em pequenos ajuntamentos na porção cefálica do rim (Lima et al., 2006).

Desse modo, as respostas fisiológicas de estresse são estimuladas em sistema de cascata, o qual desencadeia respostas em defesa do organismo, estimulando o hipotálamo, que secreta o fator liberador de corticotrofina (CRH), que, por sua vez, estimula a hipófise a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Uma vez na corrente sanguínea, o ACTH atinge o tecido interrenal, promovendo a liberação do cortisol. As catecolaminas, adrenalina e noradrenalina são liberadas pelas células cromafins, estimuladas diretamente pelo sistema nervoso simpático (Diniz & Honorato, 2012).

O reflexo bradicárdico nos peixes envolve a estimulação dos quimiorreceptores de O<sub>2</sub> com localização principalmente branquial, e transmissão da informação sensorial pelos nervos branquiais até o sistema nervoso central (SNC) (Sunti, 2013). A hipersecreção de adrenalina e de cortisol são consideradas as primeiras respostas ao estresse (Sampaio, 2009). O coração dos teleósteos, assim como da maioria dos vertebrados, está sobre duplo controle autonômico, a partir de fibras excitatórias adrenérgicas e inibitórias colinérgicas (Sunti, 2013).

O aumento de catecolaminas e do cortisol plasmático resultam em aumento dos parâmetros cardíacos (batimentos e pressão arterial) e respiratórios (frequência respiratória e ventilação) em peixes (Inoue, 2005). De acordo com Takahashi et al. (2006), as catecolaminas e o cortisol também provocam um aumento no fluxo sanguíneo e na permeabilidade das brânquias, o que facilita o transporte de oxigênio para atender a demanda biológica dos tecidos, suprindo a energia necessária durante a situação adversa. As catecolaminas também contribuem para aumentar a afinidade hemoglobina-oxigênio (Baldisserotto, 2002).

As brânquias, intestino e fígado são órgãos-alvos do cortisol em peixes. Esses órgãos refletem as principais ações do cortisol nesses animais: balanço hidromineral e metabolismo energético (Oba et al., 2009). Uma das funções do cortisol durante o estresse é suprir a demanda energética dos peixes, através de seu efeito sobre o metabolismo e mobilização das reservas energéticas, mas, por outro lado, ele deprime o sistema imunológico. Os corticosteroides têm ação anti-inflamatória, inibindo o aumento da permeabilidade vascular e a migração de leucócitos para o foco lesado (Diniz & Honorato, 2012). Assim, de modo geral, as elevações nas concentrações das catecolaminas e dos corticosteroides no sangue durante o estresse causam modificações fisiológicas, gerando alterações na atividade metabólica, no balanço hidromineral, cardiovascular, respiratório e nas funções imunológicas, denominadas respostas secundárias (Braun, 2010).

Em relação aos ajustes cardiiorespiratórios durante a hipóxia, a diminuição do oxigênio dissolvido na água conduz a uma elevação da frequência respiratória ( $f_R$ ); esta tem por consequência a elevação da ventilação branquial ( $V_G$ ), que por sua vez, eleva o volume de água que passa pelas brânquias, promovendo uma maior difusão de oxigênio da água para o sangue. Combinada ao aumento da frequência respiratória há uma bradicardia, que consiste na redução da frequência cardíaca ( $f_H$ ), e aumento da força de contração do coração. Deste modo, o débito cardíaco (quantidade de sangue bombeado pelo coração) permanece constante ou aumenta um pouco (Baldisserotto, 2002). O aumento do volume sistólico e a diminuição da  $f_H$ , como citado anteriormente, resultam em uma elevação acentuada na pressão de bombeamento sanguíneo, fazendo com que o sangue seja ejetado do coração com mais força do que o normal a cada contração (Micheli, 2008).

Além do aumento na  $V_G$ , da bradicardia e do adequado acoplamento cardiiorespiratório, a hipóxia também ativa de forma reflexa a constrição de vasos periféricos (Sunti, 2013). Estes mecanismos elevam a passagem do volume de sangue pelas lamelas secundárias, a cada batimento cardíaco, por um intervalo maior de tempo, com o objetivo de extrair da água que passa através das brânquias o máximo de  $O_2$  possível (Micheli, 2008). Assim, acredita-se que, durante a hipóxia, a bradicardia concomitante ao aumento da  $V_G$  melhore a transferência de  $O_2$  da água para o sangue que circula pelas brânquias (Sunti, 2013).

Supõe-se também que a bradicardia seja importante para garantir o funcionamento do músculo cardíaco durante a hipóxia (Baldisserotto, 2002). Isso, devido ao fato de que, ao reduzir a frequência do batimento cardíaco, haverá uma redução no gasto de energia pelo coração. Além disso, haverá um aumento da permanência do sangue dentro do ventrículo, permitindo a extração de oxigênio pela musculatura cardíaca. A bradicardia hipóxica é considerada uma resposta protetora ao músculo cardíaco, pois uma elevada  $f_H$  durante a hipóxia conduziria o órgão a uma atividade anaeróbia, diminuindo a eficiência do trabalho do mesmo (Belão,

2010). Em geral, os ajustes cardiorrespiratórios à hipóxia em peixes são estratégias utilizadas por esses animais para garantir a sua sobrevivência e conseqüentemente, o sucesso na colonização dos ambientes com baixa tensão de oxigênio.

Todos esses ajustes fisiológicos e comportamentais desenvolvidos pelos peixes no intuito de sobreviverem em ambientes hipóxicos demandam um custo energético. Este gasto extra de energia pode ser vantajoso para peixes que habitam ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio, pois nesses locais há uma menor concentração de peixes piscívoros e, portanto, a pressão de predação é reduzida nestes ambientes. Em um estudo realizado por Anjos et al. (2008), em um ambiente de várzea do rio Amazonas, demonstrou-se que a proporção de peixes piscívoros foi menor sob condições de hipóxia, indicando que ambientes com baixa concentração de oxigênio dissolvido podem de fato funcionar como locais de refúgio contra peixes piscívoros.

Entre os peixes de respiração aquática, encontramos aqueles que aparentemente não apresentam adaptação à falta de oxigênio ambiental, há os que apresentam respiração superficial aquática e os que aparentemente sustentam longos períodos de hipóxia (Tavares-Dias & Moraes, 2004). O mandi (*Pimelodus maculatus*), por exemplo, é capaz de suportar uma concentração mínima de oxigênio dissolvido na água de até  $1,93 \pm 0,03$  mg/L, podendo ser considerado resistente às condições de hipóxia (Felizardo et al., 2010).

## **ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E HEMATOPOIÉTICAS DURANTE A HIPÓXIA**

As reações dos peixes em resposta a mudanças no ecossistema são desencadeadas de forma que o indivíduo sempre busque o retorno da homeostase através da fuga ou, caso essa não seja possível, por meio de ajustes e adaptações fisiológicas (Inoue, 2005). Na fase inicial, essas respostas são chamadas de adaptativas e sua função é contribuir para a superação do efeito dos distúrbios estressores para a recuperação da homeostase (Braun, 2010). Com relação à concentração de O<sub>2</sub> na água, peixes expostos à hipóxia

ambiental apresentam respostas que visam economia energética e a tentativa de aumentar a capacidade de extração de O<sub>2</sub> (Thomaz, 2012). Assim, além dos ajustes cardiorrespiratórios já mencionados, alterações podem ocorrer também no tecido sanguíneo de peixes expostos à hipóxia.

De acordo com a literatura, alterações nos parâmetros hematológicos são característicos da resposta secundária dos peixes frente a um agente estressor. Dessa forma, os parâmetros hematológicos tem sido uma ferramenta útil para compreender algumas das estratégias utilizadas pelos peixes quando enfrentam situações de hipóxia (Rojas, 2011).

Segundo Tavares-Dias & Moraes (2004), o estresse causado por hipóxia reflete no consumo de alimentos e no mecanismo eritropoiético dos peixes, aumentando temporariamente a proporção de eritrócitos imaturos na circulação sanguínea. Assim, frente à condição de hipóxia, pode ocorrer um aumento no número de eritrócitos circulantes no sangue periférico dos peixes para compensar a baixa pressão parcial de oxigênio na água e aumentar o transporte deste gás no sangue. Em teleósteos, o rim cefálico é o principal órgão hematopoiético, onde ocorre a diferenciação de todos os tipos celulares sanguíneos, incluindo a eritropoiese, linfopoiese e trombopoiese (Azevedo, 2013).

A quantidade de oxigênio transportada por unidade de volume de sangue depende da tensão de oxigênio, do número de eritrócitos, da quantidade de hemoglobina nos eritrócitos e da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio (Póvoa, 2008). Com uma diminuição da pressão parcial do oxigênio na água, há um aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, facilitando a captação do oxigênio da água (Baldisserotto, 2002). A concentração de hemoglobina necessária para se ligar de forma reversível ao oxigênio reflete a capacidade de extrair oxigênio da água e também a necessidade de fornecimento de oxigênio para o tecido (Tavares-Dias et al., 2008).

O oxigênio dissolvido é o principal fator influenciando os níveis intra-eritrocíticos de fosfato inorgânico, principalmente o *ATP* e

o GTP (Tavares-Dias & Moraes, 2004). A diminuição dos níveis dos nucleotídeos trifosfato provoca um aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio (Baldisserotto, 2002). Ainda segundo esse autor, durante a hipóxia aguda, ocorre uma hiperventilação, a qual reduz o CO<sub>2</sub> no sangue, provocando uma alcalose respiratória, elevando o pH sanguíneo e aumentando a afinidade hemoglobina-oxigênio.

Mudanças nas concentrações de oxigênio têm implicações diretas na regulação da eritropoiese (Azevedo, 2013). Juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*), por exemplo, apresentaram adaptações hematológicas quando submetidos à condição de hipóxia severa (1,74 mg/L de OD), apresentando um aumento significativo do número de eritrócitos (Jimenez & Zaniboni-Filho, 2013). A liberação de hemácias por órgãos hematopoiéticos foi observada em tucunara (*Gymnotus carapo*) expostos à hipóxia por 1 e 3 horas; tais peixes possuem respiração aérea acessória e portanto, para a realização do estudo, os peixes foram privados de alcançar a superfície aquática através da utilização de uma grade de plástico, no intuito de se evitar a tomada de ar atmosférico (Moraes et al., 2002). Em 6 horas de hipóxia, *Brycon opalinus* apresentou um aumento no número de eritrócitos e concentração de hemoglobina (Póvoa, 2008).

O aumento no número de eritrócitos na circulação sanguínea dos peixes propicia uma maior oxigenação do sangue. O baço pode contribuir com o aumento neste número de células, promovendo uma rápida resposta a esta condição (Rojas, 2011). Assim, as alterações eritrocitárias, somadas ao aumento na ventilação branquial e aos ajustes cardiovasculares, são respostas fisiológicas adaptativas ou compensatórias aos baixos níveis de oxigênio dissolvido (Tavares-Dias & Moraes, 2004).

## **RESPOSTAS BIOQUÍMICAS À HIPÓXIA**

A hemoglobina participa da primeira etapa do processo respiratório, que consiste na tomada do oxigênio do meio e o seu transporte até os tecidos. A segunda etapa diz respeito à utilização desse gás nos tecidos, de acordo com sua disponibilidade



(metabolismo aeróbio ou anaeróbio) (Baldisserotto, 2002). Segundo Silveira et al. (2009), as catecolaminas e os hormônios corticosteroides estimulam a ocorrência de alterações bioquímicas e fisiológicas, estimulando a hidrólise das reservas de glicogênio no fígado, e conseqüentemente há um aumento nos níveis de glicose no sangue. O glicogênio por sua vez, é o principal polissacarídeo de reserva nos tecidos animais.

As catecolaminas causam aumento nos níveis de glicose no plasma, pela mobilização das reservas de glicogênio hepático (glicogenólise), enquanto os corticosteroides mantêm a hiperglicemia estimulando o catabolismo protéico e a gliconeogênese (síntese de glicose a partir de compostos não glicídicos) (Silveira et al., 2009). Deste modo, para atender a demanda de energia do organismo, as catecolaminas atuam diretamente no fígado, transformando o glicogênio em glicose (glicogenólise), causando hiperglicemia (Póvoa, 2008). Todas estas alterações hormonais e suas conseqüências metabólicas nos peixes são, portanto, estimuladas pelo estresse e ocorrem desta forma, também durante a hipóxia.

O aumento de glicose no plasma, após exposição ao estresse, assegura o abastecimento e redistribuição de energia para a manutenção do equilíbrio homeostático (Sampaio, 2009). A glicose sanguínea pode originar-se de: fontes dietéticas; através da mobilização do glicogênio originário da polimerização do excesso de glicose; e da gliconeogênese a partir do lactato, aminoácidos e glicerol (Silveira et al., 2009). O fígado, órgão que utiliza, produz e armazena glicose, tem a maior parte da glicose intracelular em hepatócitos armazenada em forma de glicogênio em teleósteos (Bolner, 2007).

O glicogênio é sintetizado em quase todos os tecidos animais, mas os maiores depósitos estão presentes no fígado e músculos e destina-se a diferentes funções: o glicogênio hepático atua como reservatório de glicose para a corrente sanguínea com a distribuição para outros tecidos; enquanto que o glicogênio muscular serve como

fonte de glicose às células dos músculos para gerar ATP durante a atividade muscular (Silveira et al., 2009).

A estratégia utilizada por algumas espécies de peixes para superar a hipóxia é utilizar a via anaeróbia. O glicogênio hepático e muscular é convertido em glicose, que é utilizada na produção anaeróbica de energia (fermentação), resultando na formação de ácido láctico. Nesta etapa atuam muitas enzimas, sendo que uma das mais estudadas é a lactato desidrogenase (LDH) (Baldisserotto, 2002). O metabolismo anaeróbico é evidenciado através do típico aumento do teor de lactato plasmático (Inoue, 2005). As atividades de enzimas, como a lactato desidrogenase (LDH) e a malato desidrogenase (MDH), são indicadores importantes do metabolismo anaeróbio e do metabolismo oxidativo, respectivamente (Panepucci et al., 2001).

A LDH atua no final da via glicolítica e transforma o piruvato em lactato (ou vice-versa), possibilitando a quebra da glicose e a formação do ATP durante os períodos de baixa concentração ou ausência de oxigênio nos tecidos. Altas quantidades desta enzima nos tecidos indicam que os mesmos conseguem utilizar uma via anaeróbia em hipóxia (Baldisserotto, 2002). Logo, a LDH é uma enzima chave no controle do metabolismo energético, catalisando a conversão do piruvato em lactato e regulando os níveis destes metabólitos de acordo com a disponibilidade de oxigênio (Almeida-Val et al., 2011).

Em um estudo realizado por Bolner et al. (2007), com juvenis de piava (*L. obtusidens*), expostos a diferentes níveis de oxigênio dissolvido na água, concluiu-se que, estes optaram pela rota anaeróbia para suportar os efeitos da hipóxia. Isso se justifica pelo fato dos níveis de glicose terem se acumulado nos tecidos, pois no metabolismo anaeróbio, o substrato para a obtenção de energia é o glicogênio, que diminui sua concentração nos tecidos.

Outra resposta apresentada pelos peixes submetidos a ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio é a conservação de energia através da redução da taxa metabólica. Esta pode ser mediada através da redução do metabolismo geral, síntese proteica,

e/ou modificação de certas enzimas regulatórias de rotas aeróbicas e anaeróbicas (Bolner et al., 2007). A redução na taxa metabólica reduz a demanda de oxigênio e pode permitir ao animal sobreviver por longos períodos, apesar da hipóxia ambiental (Moyes & Schulte, 2010).

Em condição de hipóxia severa, a quantidade de oxigênio liberada para os tecidos é menor do que a necessária para a manutenção do metabolismo aeróbico (Sampaio, 2009). Como consequência, ocorre uma reorganização metabólica que tende a seguir um dos dois padrões generalizados: ou a taxa de produção anaeróbia de ATP aumenta (efeito Pasteur) ou diminui a taxa de ATP (supressão metabólica). Isso envolve a ativação glicolítica com glicogênio ou glicose como os substratos e lactato como produto intermediário (Panepucci et al., 2001).

Grande parte da supressão do metabolismo é obtida simplesmente pela imobilidade do animal, de modo que o músculo esquelético praticamente não gaste energia. O maior gasto energético nesta fase fica por conta do coração, por causa de sua atividade contrátil (Baldisserotto, 2002). Esta diminuição no metabolismo aeróbico, juntamente com a ativação do metabolismo anaeróbico, possibilita a algumas espécies de peixes sobreviverem por longos períodos hipóxicos. Estes ajustes podem ocorrer simultaneamente com outros mecanismos, melhorando a transferência de oxigênio (Sampaio, 2009).

Portanto, além das adaptações fisiológicas e comportamentais garantirem a sobrevivência em hipóxia, uma combinação de redução da taxa metabólica com ativação do metabolismo anaeróbico (Póvoa, 2008) pode ser um elemento chave para a sobrevivência dos peixes frente a essa situação adversa. Juntamente com o grande conjunto de estratégias orgânicas como hiperventilação, bradicardia, sincronismo cardiorrespiratório e constrição vascular periférica, as respostas bioquímicas contribuem para os peixes enfrentarem baixos níveis de oxigênio na água, mitigando assim seus efeitos (Moraes et al., 2002).

## IMPLICAÇÕES DA HIPÓXIA SOBRE OS SISTEMAS DE CULTIVO

A piscicultura é uma das atividades agropecuárias que mais cresceu recentemente no Brasil (Inoue, 2005). O conhecimento da biologia da espécie utilizada no cultivo é essencial para garantir uma boa produtividade em pisciculturas. As alterações ambientais devem ser levadas em conta quando se pretende cultivar peixes em cativeiros, visto que estes respondem de forma peculiar a distintos fatores ambientais, o que pode afetar no crescimento e produtividade da espécie cultivada. Em pisciculturas há diversas fontes de estresse aos animais, como: aumento na concentração de matéria orgânica, o confinamento, a alta densidade de peixes e a concentração de oxigênio na água, que podem diminuir o crescimento dos animais por alterar seu metabolismo (Santos & Oba, 2009).

Atualmente, nos modernos sistemas de piscicultura intensiva, os peixes são cultivados em altas densidades utilizando grande quantidade de ração. Sob estas condições eleva-se a concentração de amônia, oriunda dos excrementos ou da excreção de nitrogênio, conjuntamente com a diminuição dos níveis de oxigênio dissolvido (Silveira et al., 2009). Tais condições expõem os peixes a um estado crítico de estresse com comprometimento no desenvolvimento e reprodução da espécie cultivada. A morte por asfixia dos peixes se deve, essencialmente, a diminuição da saturação de oxigênio do sangue, determinando graves transtornos na produção de energia (Alves et al., 1999).

O entendimento básico da fisiologia do estresse e os fatores causadores possibilitam o desenvolvimento de estratégias que atenuem o estresse (Diniz & Honorato, 2012). O conhecimento das respostas das espécies às variações de oxigênio dissolvido na água é um fator crucial para o desenvolvimento de técnicas de cultivo de espécies de peixes (Maffezzolli & Nuñez, 2006). No cultivo de peixes existem vários fatores que alteram a qualidade da água, como a presença excessiva de fitoplâncton, plantas aquáticas e algas, as

quais causam redução da concentração de OD, aumento de CO<sub>2</sub> e conseqüentemente redução do pH (Sampaio, 2009).

Um dos problemas relacionados ao aumento dos níveis de CO<sub>2</sub> na água é que o mesmo reduz a velocidade de eliminação através da redução do gradiente de difusão do CO<sub>2</sub> através das brânquias, resultando em um aumento do CO<sub>2</sub> no sangue, afetando o equilíbrio ácido-base e o transporte de oxigênio das brânquias para os tecidos. O aumento dos níveis internos de CO<sub>2</sub> afeta a afinidade do oxigênio no sangue (efeito Bohr) e o aumento da acidez do sangue, devido ao aumento do CO<sub>2</sub>, também reduz a saturação do oxigênio no sangue (efeito Root) (Silveira et al., 2009).

Conforme já discutido, condições ambientais desfavoráveis à sobrevivência dos peixes determinam ajustes comportamentais, fisiológicos e bioquímicos que lhes permitem sobreviver (Póvoa, 2008). A baixa disponibilidade de oxigênio na água é um dos fatores ambientais mais estressantes para os peixes e requer ajustes adaptativos em todos os níveis de organização biológica (Tavares-Dias & Moraes, 2004), desde a regulação do número de células sanguíneas em circulação até adequação na maquinaria bioquímica das células, podendo levar a mudanças de comportamento em nível populacional (Póvoa, 2008). Os ajustes fisiológicos (bioquímicos e hematológicos) e adaptativos usados pelos peixes para enfrentar condições adversas são vitais para a sua sobrevivência (Santos & Oba, 2009).

A redução dos níveis de oxigênio é dependente da densidade de estocagem dos peixes (Felizardo et al., 2010). O termo densidade de estocagem (DE) refere-se à quantidade de peixes (ou larvas, ou ovos) que é colocada dentro de um determinado volume de água. Seu estudo tem como objetivo esclarecer os níveis ótimos de produtividade por volume de água (Baldisserotto, 2002). A quantidade de oxigênio requerida pelos organismos aquáticos é variável e dependente de vários fatores, como espécie, tamanho dos indivíduos, quantidade de alimento ingerido e temperatura da água (Maffezzolli & Nuñez, 2006).

Quando os níveis de oxigênio dissolvido nos tanques de aquicultura se tornam baixos, os organismos cultivados podem ficar estressados ou até mesmo morrer (Maffezzolli & Nuñez, 2006). Com escassez de oxigênio, os alevinos são de menor tamanho, podendo apresentar deformações, sendo ainda, a causa mais frequente de repentinas mortes de peixes. (Alves, 1999). O estresse inibe o crescimento através de efeitos sobre o metabolismo e alteração do sistema endócrino que regula o crescimento (Silveira et al., 2009). Maffezzolli & Nuñez (2006) relataram que o crescimento em peso e em comprimento de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) apresenta relação direta com o aumento da concentração de oxigênio dissolvido na água.

Em piscicultura intensiva, a situação de estresse está constantemente presente e pode afetar o desempenho produtivo dos peixes, prejudicando o estado de saúde e aumentando a suscetibilidade a doenças (Silveira et al., 2009). O estresse provocado pela hipóxia resulta na liberação de cortisol, que provoca uma redução da eficiência do sistema imunológico (imunossupressão), tornando os peixes mais susceptíveis a doenças infecciosas (Diniz & Honorato, 2012). Embora algumas espécies apresentem tolerância a hipóxia, a intensidade e a duração do problema irão fatalmente comprometer o desenvolvimento do peixe, a produtividade do viveiro, podendo ocasionar a mortalidade de todo o plantel (Silveira et al., 2009).

Como já citado, as respostas de estresse dividem-se em três categorias: primária, secundária e terciária. A resposta terciária apresentada pelos peixes frente a um agente estressor é marcada por alterações comportamentais, diminuição de crescimento, reprodução e aumento da suscetibilidade a doenças. Deste modo, as respostas terciárias manifestam-se em nível de população traduzindo-se em inibição do crescimento, da reprodução e da resposta imune (Lima et al., 2006). Embora os peixes possuam ampla variedade de respostas fisiológicas que atuam rapidamente para minimizar os efeitos da hipóxia, o uso desses mecanismos pode implicar em um

gasto extra de energia, que poderia ser canalizada para outras atividades (Maffezzolli & Nuñez, 2006).

O oxigênio é fundamental para que o alimento ingerido seja adequadamente processado pelas vias metabólicas durante o processo de assimilação de nutrientes (Tavares-Dias & Moraes, 2004). O consumo de oxigênio é maior em peixes bem alimentados. Quando diminui a quantidade de oxigênio dissolvido na água, a ingestão de alimento diminui, pois a quantidade disponível não seria suficiente para suprir um peixe bem alimentado (Bolner, 2007). Assim, se houver pouca disponibilidade de oxigênio no meio líquido, os peixes irão reduzir o consumo de alimento para economizar o oxigênio presente no organismo.

Se a exposição à hipóxia for prolongada, será ocasionada uma redução no crescimento dos peixes nos tanques de cultivo. Isso ocorre devido ao fato de que, a redução do crescimento de peixes em hipóxia está relacionada com a inibição da secreção do hormônio do crescimento (GH). O GH está envolvido no crescimento, pois aumenta o apetite e a eficiência na conversão do alimento. Porém a secreção deste hormônio pela hipófise é inibida pelos peixes em condições de estresse (Silveira et al., 2009). Assim, em situações de hipóxia, os peixes inibem a secreção do GH para diminuir a necessidade de ingerir uma quantidade substancial de alimento. A consequência final é, portanto, a redução no crescimento do animal. Portanto, se por um lado os ajustes apresentados pelos peixes os auxiliam a superarem a hipóxia, por outro lado podem prejudicar o seu desenvolvimento, levando-os a um gasto extra de energia que poderia ser utilizada no seu crescimento e reprodução. Logo, a exposição prolongada à hipóxia reduz o sucesso reprodutivo, a taxa de crescimento e a sobrevivência de peixes em sistemas de cultivo, elevando a taxa de mortalidade dos mesmos.

Ao estabelecer medidas que visem reduzir ou eliminar as chances de expor os peixes cultivados à hipóxia deve ser levada em conta quando se pretende obter sucesso no cultivo; pois, conforme visto, a falta de oxigênio é um dos fatores mais limitantes para o desenvolvimento dos peixes e configura-se como o fator mais

estressante na piscicultura, induzindo uma série de alterações fisiológicas, metabólicas e comportamentais e ainda reduzindo a resistência às doenças.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os peixes de água doce estão mais sujeitos à hipóxia devido ao fato de que a água doce possui uma concentração reduzida de oxigênio dissolvido, principalmente em águas tropicais, que são caracterizadas por temperaturas altas, com pouca variação anual e pelo conteúdo elevado e estável de matéria orgânica. A presença de matéria orgânica na água contribui para a redução dos níveis de  $O_2$ , uma vez que, a degradação aeróbia exige o consumo de oxigênio do meio. A temperatura também é um fator de grande influência, pois elevadas temperaturas provocam uma redução na solubilidade do oxigênio na água e aumento na taxa metabólica do peixe, resultando em maior consumo de oxigênio.

A respiração de animais e plantas também pode contribuir para a hipóxia, visto que, quanto maior a quantidade de organismos no ambiente maior será o consumo de oxigênio do meio. A hipóxia pode ocorrer, por exemplo, se a taxa de respiração dos organismos exceder a taxa de fotossíntese do ambiente. Nos sistemas de cultivo esse fator está bastante presente, uma vez que, são inseridos uma grande quantidade de animais nos tanques e disponibilizados a eles uma grande quantidade de ração, o que por sua vez, eleva a quantidade de matéria orgânica na água.

Para superarem essa condição adversa os peixes desenvolveram mecanismos adaptativos que visam garantir a sua sobrevivência nestes ambientes. Tais ajustes incluem o aumento da frequência ventilatória e respiratória que permitem uma maior extração de  $O_2$  do meio; a bradicardia, que consiste na redução da frequência dos batimentos cardíacos, proporcionando um menor gasto energético do órgão; além de uma diminuição da velocidade de passagem do sangue através das brânquias, que permite um maior tempo de passagem do sangue nas lamelas secundárias e favorece a difusão de  $O_2$  da água para o sangue. A passagem de um



maior fluxo de água pela superfície de trocas gasosas durante períodos de hipóxia ambiental traz benefícios ao animal, pois o gradiente de difusão entre o sangue e a água é mantido o mais alto possível (Micheli, 2008).

O aumento dos eritrócitos na corrente sanguínea também é outra adaptação desenvolvida pelos peixes expostos à hipóxia, além do aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio ajustado à proporção de fosfato inorgânico (NTP) que facilita a captação do oxigênio da água. Alterações metabólicas também podem ser detectadas em algumas espécies de peixes que utilizam a via anaeróbia para produção de ATP ou diminuição do metabolismo energético através da supressão metabólica.

Todas essas alterações consistem em ajustes que contribuem para a manutenção da homeostase nos peixes durante a hipóxia. Por outro lado, períodos hipóxicos prolongados, podem prejudicar o desenvolvimento do animal, uma vez que uma quantidade extra de energia é gasta para minimizar os efeitos da baixa pressão parcial de oxigênio na água à sua homeostase. O estresse devido à hipóxia reduz a taxa de crescimento e desenvolvimento dos peixes, promove alterações comportamentais e uma variedade de ajustes metabólicos e fisiológicos.

Em sistemas de cultivo a hipóxia é um fator bastante recorrente e pode significar prejuízos à produtividade, sendo considerada a principal causa da mortalidade de peixes em viveiros de piscicultura. A mesma expõe os peixes a uma situação de estresse que resultará na ausência de crescimento, reprodução e sobrevivência das espécies cultivadas. Portanto, o manejo apropriado é fundamental para o sucesso da produção e produtividade na piscicultura, uma vez que a hipóxia pode levar a perdas significativas do plantel.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA-VAL, V. et al. Anoxia- and hypoxia-induced expression of LDH-A\* in the Amazon Oscar, *Astronotus crassipinis*. *Genetics and Molecular Biology*, 34(2): 315-322,2011.

- ALVES, M.I.M. et al. Estratégia Respiratória do Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), em condições de hipóxia. Revista Científica de Produção Animal, 1(2):95-103, 1999.
- ANJOS, M.B.; DE OLIVEIRA, R.R.; ZUANON, J. Hypoxic environments as refuge against predatory fish in the Amazonian floodplains. Brazilian Journal of Biology, 68(1): 45-50, 2008.
- AZEVEDO, T.M.P. Variações de valores hematológicos e bioquímicos de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) cultivadas em tanques-rede. Salvador-Bahia 2013.
- BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002.
- BELÃO, T.C. Respostas cardiopulmonares do teleosteo de respiração aérea, *Clarias Gariepinus*, exposto à hipóxia gradual. São Carlos: UFSCar, 2010.
- BOLNER, K.C.S. Parâmetros metabólicos e íons plasmáticos de piavas *Leporinus obtusidens* expostas a diferentes níveis de oxigênio dissolvido e amônia. Santa Maria, RS; 2007.
- BOLNER, K.C.S.; ROSSO, F.L.; RADÜNZ NETO J.; BALDISSEROTTO B. Parâmetros metabólicos e íons plasmáticos de piavas *Leporinus obtusidens* expostas a diferentes níveis de oxigênio dissolvido. 2007.
- BRAUN, N. Crescimento e respostas bioquímicas do dourado (*Salminus brasiliensis*) em diferentes densidades de estocagem e manuseios. Florianópolis – SC, 2010.
- DINIZ, N.M.; HONORATO, C.A. Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo - revisão. Arquivo de Ciências Veterinária e Zoologia, 15(2): 149-154, 2012.
- FELIZARDO, V.O. et al. Níveis de oxigênio em modelo reduzido para mandi amarelo (*Pimelodus maculatus*) na usina hidrelétrica do funil. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, 36(3):197-204, 2010.
- FERREIRA, M.S.; OLIVEIRA, A.M.; VAL, A.L. Velocidade crítica de natação (Ucrit) de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exposição à hipoxia. Acta Amazonica, 40(4): 699-704, 2010.
- GAZZOLA, A.C. Efeito da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência de alevinos de dourado, *Salminus brasiliensis*. Florianópolis, 2003.
- HICKMAN, C. P. et al. Princípios integrados de Zoologia. 11ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004.
- INOUE, L.A.K.A. Respostas do matrinxã (*Brycon cephalus*) a anestésicos e estressores. – São Carlos: UFSCar, 2005.
- JIMENEZ, J.E.; ZANIBONI-FILHO, E. Adaptations of the piava (*Leporinus obtusidens*) juvenile exposed to hypoxia. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, 39(4):439-444,2013.
- LIMA, L.C.; RIBEIRO, L.P.; LEITE, R.C.; MELO, D.C. Estresse em peixes. Revista Brasileira de Reprodução Animal, 30 (3/4):113-117,2006.

MAFFEZZOLLI, G.; NUÑER, A.P.O. Crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae), em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 28 (1): 41-45, 2006.

MELO, D.C et al. Perfil proteico de tilápia nilótica chitralada (*Oreochromis niloticus*), submetida ao estresse crônico por hipóxia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61(5):1183-1190, 2009.

MICHELLI, M.A. Caracterização dos quimiorreceptores de O<sub>2</sub> envolvidos no controle dos reflexos cardio-respiratórios de trairão, *Hoplias lacerdae* (Teleostei, Erythrinidae) em resposta à hipóxia ambiental. São Carlos: UFSCar, 2008.

MORAES, G.; AVILEZ, I. M.; ALTRAN, A. E.; BARBOSA, C. C. Biochemical and hematological responses of The banded knife fish *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) exposed to environmental hypoxia. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4A): 633-640, 2002.

OBA, E.T.; MARIANO, W.S.; SANTOS, L.R.B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In: Tavares-Dias, M. (Org). Manejo e sanidade de peixes em cultivo, p. 226-246.

PANEPUCCI, R. A., et al. The effect of hypoxia and recuperation on carbohydrate metabolism in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Brazilian Journal of Biology*, 61(4): 547-554, 2001.

PÓVOA, I. C. F. *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiformes): avaliação hematológica e genético-bioquímica frente à hipóxia. São José dos Campos, 2008.

ROJAS, J.E.J. Influência do oxigênio dissolvido no desempenho de juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*). – Florianópolis - SC, 2011.

SAMPAIO, F.G. Defesas antioxidantes e alterações bioquímicas no pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), em resposta à exposição ao cobre, à hipóxia e a meio ácido, isolados ou associados. – São Carlos: UFSCar. Dez. 2009.

SANTOS, L.R.B.; OBA, E.T. Dieta: ferramenta importante para manejo dos peixes no cultivo. In: Tavares-Dias, M. (Org). Manejo e sanidade de peixes em cultivo, p. 89-105, 2009.

SILVEIRA, U.S.; LOGATO, P.V.R.; PONTES, E.C. Fatores estressantes em peixes. *Revista Eletrônica Nutritime*, 6(4): 1001-1017, 2009.

SILVEIRA, U.S.; LOGATO, P.V.R.; PONTES, E.C. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. *Revista Eletrônica Nutritime*, 1:817-836, 2009.

SUNTI, D.M. Efeitos da abolição da bradicardia reflexa nas respostas cardiorrespiratórias de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), em hipóxia severa: vagotomia versus inibição farmacológica. – São Carlos: UFSCar, 2013.

TAKAHASHI, L.S. et al. Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 28 (4):469-475, 2006.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto, 2004.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R.; IMOTO, M.E. Hematological parameters in two neotropical freshwater teleost, *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae) and *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae). Bioscience Journal, 24 (3): 96-101, 2008.

THOMAZ, J.M. Habitat, hábito e morfologia cardíaca: influência destes fatores sobre as respostas cardiorrespiratórias à hipóxia e alterações térmicas em espécies de peixes ecologicamente distintas. São Carlos: UFSCar, 2012.

## CAPÍTULO 8

# MORFOLOGIA DO TRATO DIGESTÓRIO E HÁBITOS ALIMENTARES DA TRAÍRA (*Hoplias malabaricus*), CASCUDO (*Hypostomus pusalum*) E MUSSUM (*Synbranchus marmoratus*)

Sathyabama Chellappa<sup>1</sup>  
Emilly Kataline Rodrigues Pessoa  
Luciana Araujo Montenegro  
Nirlei Hirachy Costa Barros  
Naisandra Bezerra da Silva

### INTRODUÇÃO

A caracterização morfológica das estruturas relacionadas com o trato digestório dos peixes é de fundamental importância, pois se mostra em estreita dependência com a natureza dos alimentos, as características do habitat, o estado nutricional e o estágio de desenvolvimento do indivíduo, manifestados, especialmente nesse aparelho, por adaptações e modificações (Becker et al., 2010). Há um crescente interesse nos estudos dos hábitos alimentares e aspectos morfológicos do sistema digestório, dos peixes neotropicais. Investigações sobre hábitos alimentares usando análises morfológicas ajudam na interpretação da dinâmica de alimentação dos peixes (Wootton, 1990; Montenegro et al., 2011; Canan et al., 2011; Canan et al., 2012; Pessoa et al., 2013).

As estruturas do sistema digestório dos peixes estão relacionadas com seu tipo de alimentação, o que pode ser comprovado através de estudos de morfologia. Geralmente, os peixes herbívoros têm intestinos mais longos, para facilitar a

---

Chellappa et al. Morfologia do trato digestório e hábitos alimentares da traíra (*Hoplias malabaricus*), cascudo (*Hypostomus pusalum*) e muçum (*Synbranchus marmoratus*). In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

digestão dos carboidratos, enquanto os peixes carnívoros possuem estômago grande e intestino relativamente curtos (Kapoor et al., 1975; Rodrigues & Menin, 2008). Variações morfológicas refletem o uso diferenciado de recursos de diferentes níveis tróficos (Norton et al. 1995; Pianka, 2000). Assim, as análises morfológicas são ferramentas interessantes nos estudos ecológicos de peixes (Hugueny & Pouilly, 1999; Pouilly et al., 2003).

*Hoplias malabaricus* Bloch, 1794, conhecido popularmente como traíra, é um peixe neotropical da família Erythrinidae com uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo em quase todas as bacias hidrográficas da América do Sul (Fowler, 1950; Nelson, 1994). O cascudo *Hypostomus pusalum* Starks, 1913, é um Loricariidae bentônica que habita ecossistemas de água doce da região neotropical (Rosa et al., 2003; Bueno et al., 2006; Nascimento et al., 2011). O mussum *Synbranchus marmoratus* Bloch 1795, é um Synbranchidae que habita tocas nos açudes e margens de rios (Lo Nostro, 2000). Esse peixe do continente americano, é encontrado desde o sul do México estendendo-se pela América Central, até a parte setentrional da América do Sul. A abundância dessas três espécies em ambientes de água doce faz com que sejam utilizadas como um complemento alimentar. O presente capítulo descreve os aspectos morfológicos e adaptações dos tratos digestórios dessas três espécies de peixes.

## PROCEDIMENTOS DE COLETAS E ANÁLISES

### *Área de estudo e coletas dos peixes*

Os peixes foram capturados no açude público Marechal Dutra, no município de Acari, RN, a 219 km de Natal, Brasil (6° 26' 11" S; 36° 38' 28" W). No período de julho de 2011 a junho de 2012, foram capturados 45 espécimes de *H. malabaricus*, 78 de *S. marmoratus* e 33 de *H. pusalum*, com auxílio de pescadores locais, através da utilização de redes de espera, covos e tarrafas. Para cada exemplar foram registrados o comprimento total (Lt) em cm, o peso corporal (Wt) e o peso do estômago em g. Uma incisão no sentido ântero-posterior foi feita na região mediano-ventral de cada

exemplar, para abertura da cavidade abdominal, expondo desta forma o trato digestório. Para a descrição morfológica, foram observados os seguintes aspectos: o tipo e a posição da boca, tipo dos dentes, tipo dos rastros branquiais, esôfago, forma do estômago, presença ou ausência de cecos pilóricos e comprimento intestinal (CI). O último foi obtido por meio da relação  $CI = C_i/C_p$ , que é a relação do comprimento do intestino ( $C_i$ ) com o comprimento do corpo ( $C_p$ ), conforme Bértin (1958).

#### **Análise do conteúdo estomacal**

O conteúdo estomacal foi examinado segundo os métodos da frequência de ocorrência, que corresponde à frequência percentual do número de estômagos onde ocorre determinado item alimentar (Hyslop, 1980). A identificação do conteúdo estomacal de *H. malabaricus* e *S. marmoratus* foi verificada macroscopicamente (Britski et al., 1984). Os itens alimentares do estômago de *H. pusalum* foram identificados utilizando-se microscópio óptico da marca Taimim TM800 e tiveram sua identificação até o nível taxonômico mais inferior possível (Rosecchi & Nouaze, 1987; Chellappa & Costa, 2003; Wehr & Sheath, 2003; Bicudo & Menezes, 2006). Foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura para identificação detalhada das diatomáceas encontradas no conteúdo estomacal de *H. pusalum*. O Índice de importância alimentar (IIA) foi aplicado sobre os valores da frequência de ocorrência e volume para detalhar os itens alimentares que mais contribuem para a dieta das espécies (Kawakami & Vazzoler, 1980). O Índice de repleção estomacal (IR) foi calculado pela obtenção do peso do estômago multiplicado por 100 e dividido pelo peso total do peixe (Hahn, 1991).

#### **Análises histológicas**

Após serem medidos e pesados, os peixes foram laparatomizados para análise morfológica a olho nu e lupa estereoscópica. Para a descrição morfológica foi observado a posição da boca, presença e caracterização dos dentes, rastros branquiais, esôfago, estômago, presença de cecos pilóricos e o intestino. Para descrição histológica, vinte tubos digestórios de cada espécie foram destinados a estudos histológicos e fixados em formalina 10%. Após

24 horas de fixação, fragmentos do esôfago, estômago e intestino foram submetidos a técnicas histológicas de rotina (desidratação, diafanização e inclusão em parafina) e cortados em microseções de 5 µm de espessura para confecção de lâminas histológicas. Protocolos de coloração histológica convencionais de HE Hematoxilina de Harris, Eosina (Maia, 1979) e PAS Ácido Periódico Schiff (Behmer et al., 1976) foram aplicados aos cortes obtidos (Smith et al., 1996).

### **MORFOLOGIA DO TRATO DIGESTÓRIO DE *Hoplias malabaricus***

A traíra apresenta cabeça alargada com boca ampla, em posição terminal superior com lábios poucos desenvolvidos, estendendo até os lados da cabeça, com dentes caniniformes desiguais, fortes e pontiagudos (Figura 1A-B). O primeiro arco branquial apresenta-se em forma de seta, mostrando cerca de sete rastros branquiais afastados entre si, curtos e pontiagudos, enquanto os demais arcos branquiais não apresentam rastros branquiais (Figura 1C). O esôfago apresenta-se achatado dorsalmente, possuindo diâmetro amplo, com média de  $3,01 \pm 0,9$  cm. O estômago tem formato retilíneo, com três regiões: a cárdica, situada logo após o esôfago, é a mais longa com formato tubular; a região fúndica, que é retilínea e curta terminando em fundo cego, de onde parte a região pilórica que é tubular e curta (Figura 2A). Os cecos pilóricos aparecem inseridos logo após o esfíncter pilórico, aderidos a região delgado intestinal. São curtos, ramificados e apresentam-se em grande quantidade, em média  $113,3 \pm DP 12,7$  cecos, distribuídos em duas fileiras, uma do lado esquerdo do intestino delgado e outra do lado direito. O intestino da traíra é curto, com coeficiente intestinal de  $0,72 \pm 0,09$ , e é subdividido em intestino delgado e grosso. Toda a região recoberta por cecos pilóricos é considerada como intestino delgado. Após este segmento surge o intestino grosso com a ausência dos cecos.



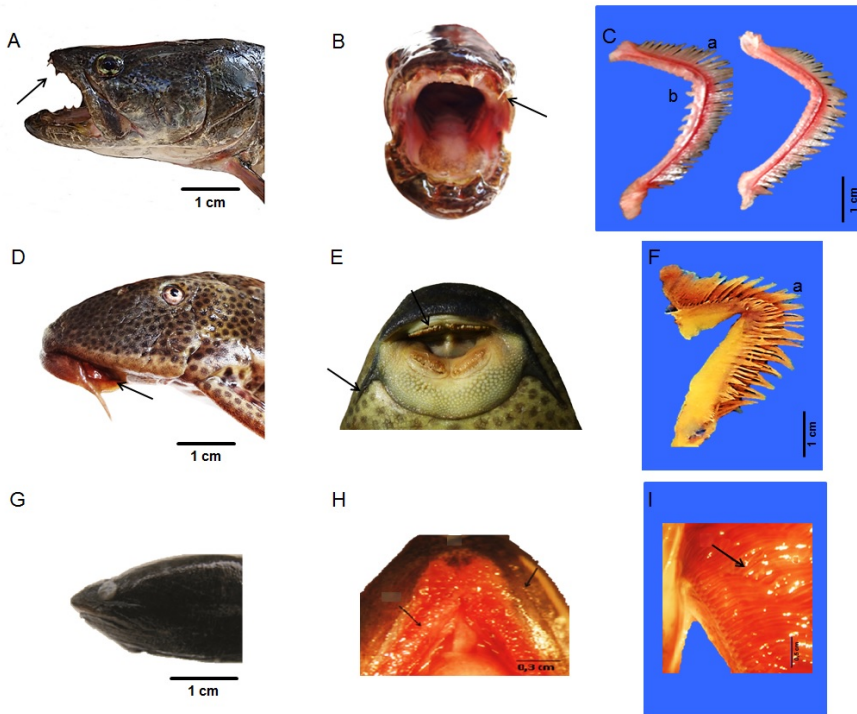
## MORFOLOGIA DO TRATO DIGESTÓRIO DE *Hypostomus pusarum*

*Hypostomus pusarum* possui boca pequena e tubular, na região ventral, a qual caracteriza a habilidade de sucção, permitindo adesão a uma grande variedade de substratos. Possui inúmeros e delicados dentes, além de duas barbelas. Observou-se a presença de inúmeras papilas gustativas nos lábios e nas bordas labiais (Figura 1D-E). Possui quatro pares de arcos branquiais, porém não apresenta rastros brânquias (Figura 1F). O esôfago apresenta-se como um tubo curto, limitado anteriormente pelo arco branquial e posteriormente pelo estômago. O estômago é do tipo fúndico em "U", com três regiões distintas: cárdica, fúndica e pilórica. A região cárdica é de forma tubular e está localizado logo após o esôfago. A região fúndica é a mais longa e tubular. A região pilórica estende-se para o início do tubo intestinal. O intestino de *H. pusarum* apresenta-se em forma de espirais duplos ligados por peritônio e tecidos lipídicos. Após o desenrolamento do intestino, as medidas registradas variaram de 190.0 a 460.0 ( $330.0 \pm 75.0$ ) cm. O intestino de *H. pusarum* é desprovido de cecos pilóricos (Figura 2B).

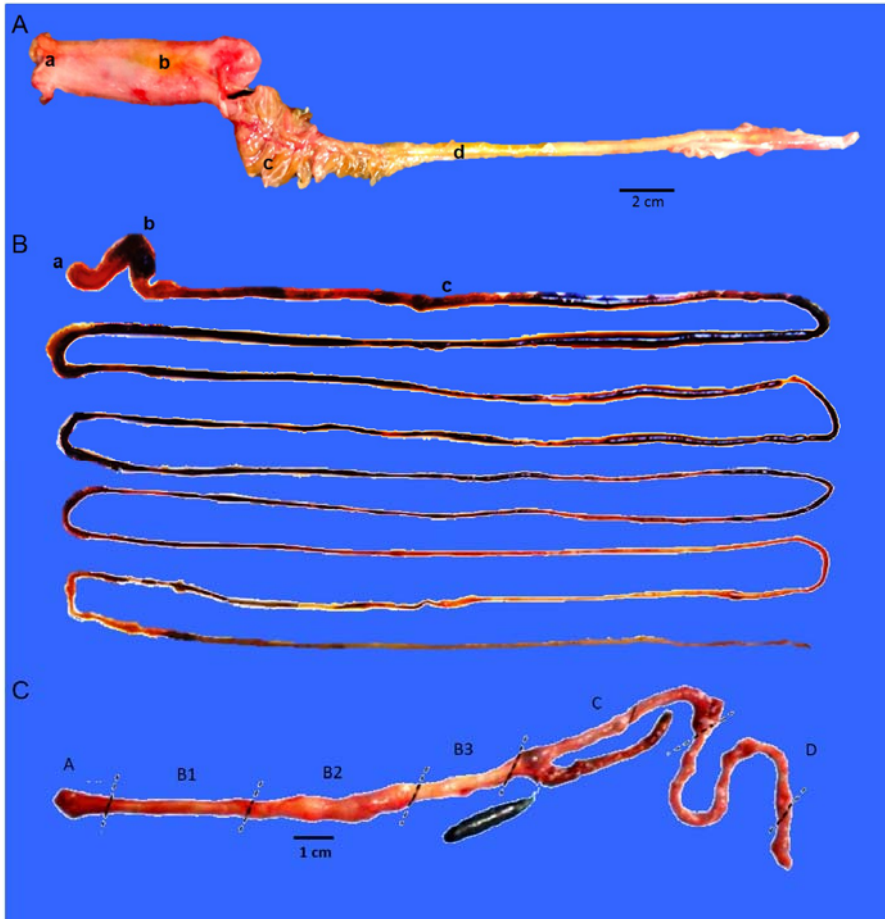
## MORFOLOGIA GERAL DO TRATO DIGESTÓRIO DE *Synbranchus marmoratus*

*Synbranchus marmoratus* possui corpo tubular e comprido longitudinalmente, com boca terminal e lábios delgados aderidos à maxila, com presença de corpúsculos gustativos com função de localização, seleção e captura do alimento. Os dentes são pequenos e viliformes, formando uma única série nas maxilas (Figura 1G-H). Possui quatro pares de arcos branquiais curtos e grossos, onde se apresentam dentes faringianos com função de apreensão do alimento (Figura 1I). O esôfago apresenta-se em formato cilíndrico, de pequeno diâmetro e curto. O estômago é do tipo retilíneo, sendo a região de maior comprimento. A região cárdica é curta e cilíndrica, a região fúndica é alongada e a região pilórica apresenta dobras em sentido longitudinal de tamanhos variados. A região fúndica foi

intermediária das regiões cárdica e pilórica. O intestino é curto, com coeficiente intestinal de  $0,92 \pm 0,08$  (Figura 2C).



**Figura 1.** Vista lateral e frontal da cabeça dos peixes. *Hoplias malabaricus* (A-B), *Hypostomus pusalum* (D-E); *Synbranchus marmoratus* (G-H). Primeiro e segundo arcos branquiais esquerdos de *Hoplias malabaricus* (C); Primeiros arcos branquiais esquerdos de *Hypostomus pusalum* (F) e *Synbranchus marmoratus* (I).



**Figura 2.** Estruturas dos tratos digestórios. *Hoplias malabaricus* (A); *Hypostomus pusalum* (B); *Synbranchus marmoratus* (C).

## HISTOLOGIA DO TRATO DIGESTÓRIO DE *Hoplias malabaricus*

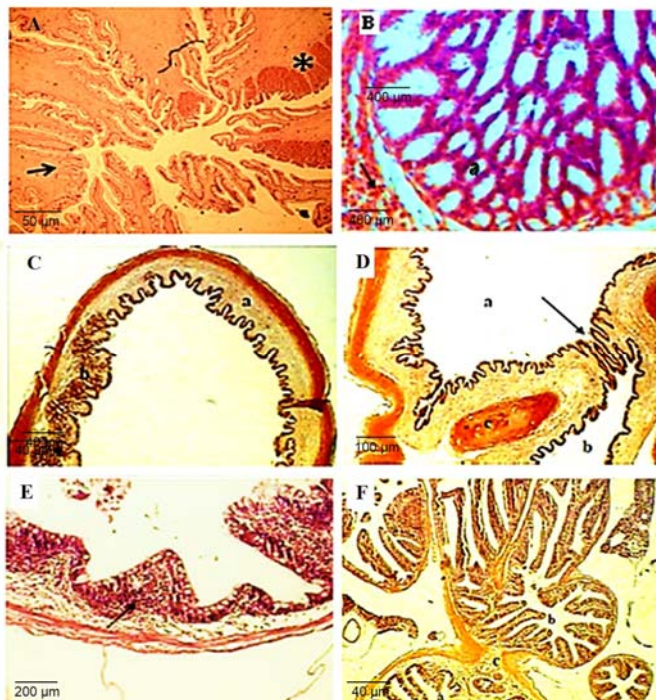
O esôfago apresenta parede esofágica espessa e muito distensível. Internamente ocorrem de sete a dez pregas longitudinais largas, que se unem originando pregas mais espessas e profundas. As pregas são recobertas por epitélio pseudoestratificado com predominância de células mucosas. As pregas primárias geram em sua superfície pregas secundárias, as quais auxiliam a passagem de

presas. A lâmina própria é contínua, aglândular e funde-se à muscular. Nesta ocorre células granulares acidófilas e alguns leucócitos dispersos. Foram observadas fibras musculares circulares, predominantemente lisas e mais desenvolvidas que a longitudinal. O esôfago é recoberto por uma camada adventícia e ao aproximar-se do estômago surge a serosa. Na região de transição entre os dois órgãos o epitélio torna-se gradativamente cilíndrico, diminui a atividade secretora e surgem as glândulas gástricas (Figura 3A).

Todo o estômago é revestido por epitélio cilíndrico simples constituído unicamente por células secretoras. Estas células são uniformemente colunares com núcleo basófilo, elíptico, situado geralmente na região média celular. A lâmina própria constituída de tecido conjuntivo frouxo é glandular na região cárdica e aglândular na região pilórica. Estas glândulas são exócrinas tubulosas, ramificadas ou simples, que contem muitos grânulos de zimogênio distribuídos pelo citoplasma celular. A muscular da submucosa é diferenciada da lâmina própria com pregas da mucosa e ricamente vascularizada contendo células granulares acidófilas e leucócitos. A túnica muscular, composta pelas camadas circular internamente e longitudinal externamente, apresenta o plexo mioentérico bastante desenvolvido. Após a túnica há a serosa, que possui subserosa contendo muitos vasos e nervos. No estômago cárdico, a mucosa é espessa e forma de três a sete pregas primárias, altas e arredondadas junto à lâmina própria. Estas pregas, ao se aproximarem da região fúndica, tornam-se menores ou desaparecem, portanto a cárdica posterior possui pregas mais baixas que a anterior. A lâmina própria apresenta glândulas tubulosas que abrem-se diretamente nas fossetas gástricas estreitas. A submucosa é espessa e muito irrigada, constituída por tecido conjuntivo frouxo, contendo muitos leucócitos e células granulares acidófilas isoladas. A túnica apresenta muscular circular muito mais espessa que a camada longitudinal (Figura 3B). O estômago fúndico apresenta pregas primárias e menores. A lâmina própria e a submucosa apresentam as mesmas características da cárdica, contudo as glândulas fúndicas são mais longas e ramificadas. A túnica muscular segue a mesma

constituição anteriormente citada para cárdica. O estômago pilórico apresenta numerosas pregas longitudinais, paralelas, e muito estreitas, preenchendo todo lúmen do órgão até chegarem à válvula pilórica aonde se tornam mais baixas e simplificadas. Na extremidade da região pilórica aparece o esfíncter pilórico. Histologicamente, além do esfíncter pilórico, ocorre também a válvula pilórica, formada pelas pregas da mucosa, que mostram um alongamento dirigindo-se à luz intestinal (Figura 3C-D).

As células epiteliais não sofrem alterações em sua morfologia, a maioria possui núcleo em sua região central. O epitélio de todo o estômago apresenta pouca atividade secretora. A lâmina própria da mucosa é constituída de tecido conjuntivo frouxo aglandular e contínua à túnica muscular. Esta túnica possui circular interna de quatro a cinco vezes mais espessa do que a longitudinal. Intestino e cecos pilóricos apresentam numerosas pregas mucosas em formato de rede, oblíquas, transversais e longitudinais. O epitélio intestinal é do tipo colunar simples com células caliciformes dispersas entre os enterócitos (células absorptivas). A túnica muscular, bastante delgada, segue o padrão estrutural encontrado no estômago, sendo composta por uma camada circular interna e longitudinal externa, ambas de fibras musculares lisas. A lâmina própria é aglandular, de tecido conjuntivo frouxo, bastante irrigado e em alguns pontos do intestino grosso apresentam acúmulos linfáticos. No intestino delgado, a circular tem aproximadamente duas vezes a espessura da túnica muscular longitudinal. No grosso, a espessura das duas camadas é igual. Histologicamente possuem constituição semelhante a do intestino delgado, com exceção à luz por ser mais estreita, túnica muscular mais delgada e menor número de células caliciformes em sua mucosa (Figura 3E-F).



**Figura 3.** Esôfago de *Hoplias malabaricus*. (A) região sem glândulas gástricas (setas) e glândulas gástricas na região cárdica do estômago (\*). Estômago: (B) (a) glândulas estomacais tubulosas ramificadas da região cárdica, submucosa com células granulares acidófilas (setas); (C) Região fúndica do estômago (a) região sem pregas, (b) região com pregas; (D) Região pilórica do estômago (a) luz estomacal, (b) luz intestinal, (c) esfíncter pilórico, válvula pilórica (seta). Intestino: (E) Acúmulo de linfa no intestino (seta); (F) Inserção dos cecos pilóricos ramificados, (a) luz do intestino, (b) luz dos cecos, (c) origem dos cecos do intestino.

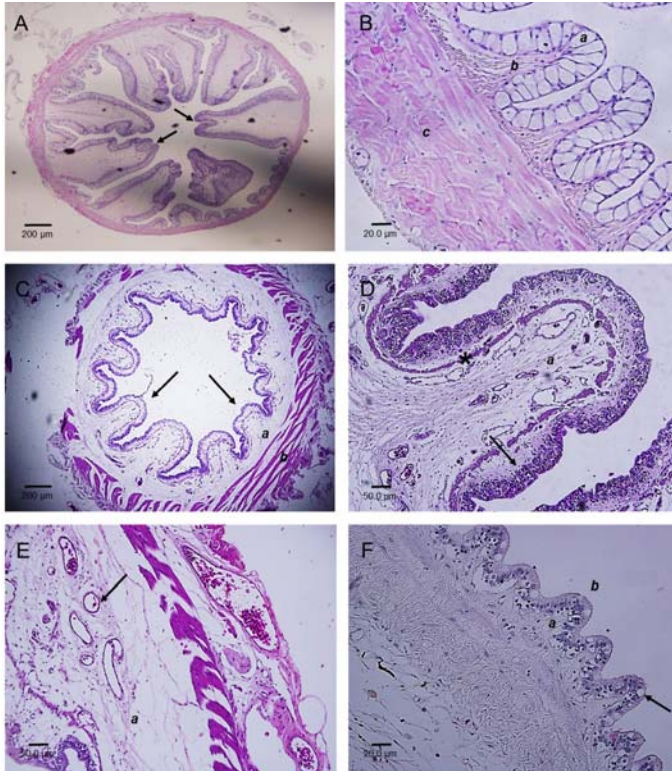
### HISTOLOGIA DO TRATO DIGESTÓRIO DE *Hypostomus pusalurum*

A túnica mucosa do esôfago apresentou pequenas pregas longitudinais e o seu revestimento é feito por epitélio conjuntivo com as células mucosecretoras. A lâmina própria é formada por tecido conjuntivo frouxo. A camada muscular é compreendida por duas camadas de fibras musculares estriadas, uma longitudinal interna e a outra circular externa. A serosa é fina, composta por epitélio conjuntivo simples. A transição do esôfago para estômago é

percebida através da mudança do epitélio conjuntivo para o epitélio cilíndrico simples (Figura 4A).

Ao aproximar-se do estômago, o diâmetro esofágico torna-se reduzido e a inserção do ducto pneumático na região dorsal do lado esquerdo do esôfago indica o início do estômago. Na região de transição entre os dois órgãos, o epitélio torna-se cilíndrico, diminuindo a atividade secretora e surgem as glândulas gástricas. O estômago é dividido em regiões cárdica, fúndica e pilórica, recoberto por uma camada serosa. Sua lâmina própria possui glândulas tubulares constituídas por células de oxintopépticas, as quais abrem-se nas criptas das pregas da mucosa, sendo predominantes na porção fúndica e tornando-se escassas na região pilórica. A transição entre a lâmina própria e a túnica submucosa é demarcada pela presença da camada muscular da mucosa. A túnica muscular na região cárdica e fúndica contém duas camadas de músculo liso, uma circular interna e outra longitudinal externa. Na região pilórica observaram-se três camadas, sendo uma oblíqua mais internamente. O estômago apresenta muitos vasos sanguíneos e hemácias infiltradas no epitélio (Figura 4B-E). O epitélio intestinal é do tipo colunar simples com células caliciformes dispersas entre os enterócitos. A túnica muscular é bastante delgada e segue o padrão estrutural encontrado no estômago, sendo composta por uma camada circular interna e longitudinal externa, ambas de fibras musculares lisas. Ao longo do intestino foram observadas mudanças no padrão das pregas da mucosa, que foram circulares na porção inicial, ramificadas e alongadas na porção média e, no intestino posterior, apresentaram-se muito mais ramificadas e longas (Figura 4F).





**Figura 4.** Região do esôfago de *Hypostomus pusalum*. (A): pregas longitudinais (setas); (B) epitélio muco secretório pseudoestratificado (a); lâmina própria sem glândulas (b); camada muscular circular (c); (C) Região cárdica do estômago: pregas estomacais (setas); camada muscular circular interna (a); camada muscular circular externa (b). (D) Região fúndica do estômago: glândulas gástricas (setas); muscular mucosa (\*); Submucosa sem glândulas com vasos sanguíneos (a); (E) Região pilórica do estômago: vasos sanguíneos (setas); submucosa (a); (F) Intestino: vilosidade intestinal (a); borda em escova com predomínio de enterócitos (b); células caliciformes (setas).

## HISTOLOGIA DO TRATO DIGESTÓRIO DE *Synbranchus marmoratus*

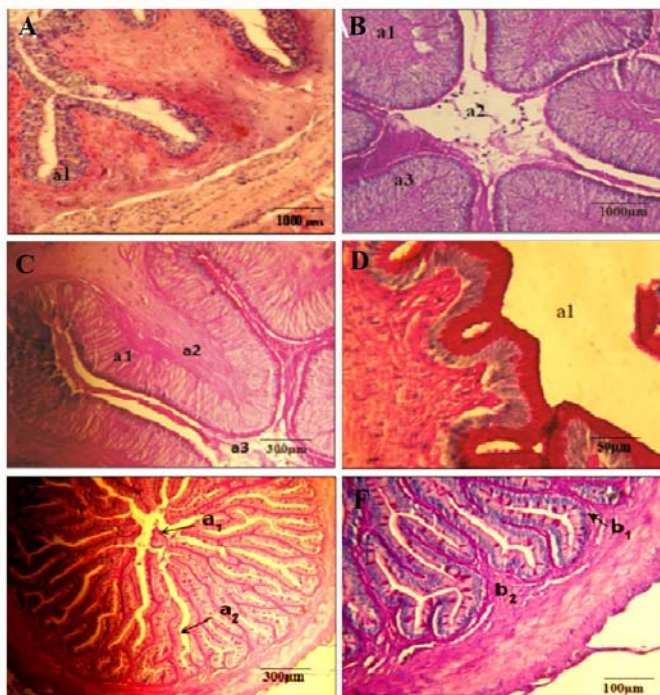
O esôfago apresenta-se em formato cilíndrico, de pequeno diâmetro e curto. Sua parede apresenta-se espessa e a superfície interna é formada por mucosa, contendo pregas paralelas entre si. A mucosa apresenta epitélio pseudoestratificado contendo células secretoras de muco, células basais e células de revestimento apicais.



Há presença de lâmina própria formada por tecido conjuntivo denso e aglandular. Existem pregas na mucosa com feixes de musculatura estriada chegando até a lâmina própria. A camada muscular é constituída por musculatura lisa e estriada. O esôfago é recoberto por uma camada adventícia e ao aproximar-se do estômago surge a serosa. Na região de transição entre os dois órgãos, o epitélio torna-se gradativamente cilíndrico e aumenta o número de células secretoras de muco (Figura 5A).

O estômago é do tipo retilíneo, sendo a região de maior comprimento. A região cárdica é curta e cilíndrica, formada por mucosa constituída por epitélio cilíndrico simples, com muitas células caliciformes. Apresenta paredes espessas e luz reduzida pela grande quantidade de dobras que apresenta. Observa-se uma ausência de glândulas nessa região e o surgimento de uma serosa muito vascular, o que pode estar relacionado com a respiração. A região fúndica é alongada para receber o alimento, e apresenta paredes mais delgadas, luz maior, com pregas de menor porte, proporcionalmente ao tamanho, formado por epitélio cilíndrico simples, que se invagina e origina glândulas gástricas com função de secreção de ácido clorídrico e pepsinogênio. As pregas estomacais são constituídas por mucosa e submucosa, que é constituída por tecido conjuntivo contendo vasos sanguíneos. A camada muscular da região fúndica é dividida em uma camada circular e outra longitudinal. A camada muscular é lisa dividindo-se em duas camadas, a primeira circular, desenvolvida na maior parte das regiões e a segunda uma camada longitudinal. A região fúndica é intermediária entre a região cárdica e pilórica. A região pilórica é aglandular e em sua mucosa observa-se a presença de pregas principais que originam pequenas pregas secundárias. A mucosa encontra-se constituída por epitélio cilíndrico simples mucosecretor, seguido de lâmina própria contendo apenas vasos sanguíneos. Ao longo de toda a região pilórica evidenciam-se dobras, em sentido longitudinal de tamanhos variados. Ao longo das dobras observaram-se invaginações secundárias dando as primárias o

aspecto dentado e fornecendo ao epitélio de revestimento uma superfície mais ampla de secreção.



**Figura 5.** Esôfago de *Synbranchus marmoratus*: (A) a1) Epitélio pseudoestratificado (HE). Região cárdica estomacal: (B) a1) submucosa, a2) luz da mucosa, a3) lâmina própria com glândulas gástricas (PAS). (C) Região fúndica estomacal: pregas estomacais: a1) lâmina própria com glândulas, a2) submucosa com muco, a3) luz contendo células mucosas (PAS). (D) Região pilórica estomacal: a1) luz, a2) epitélio cilíndrico simples muco secretório (PAS). (E) Intestino: a1) luz intestinal, a2) pregas intestinais (PAS); (F) b1) epitélio cilíndrico simples, b2) lâmina própria sem glândulas (PAS).

Histologicamente, foram observadas as seguintes camadas no estômago: mucosa, submucosa, túnica muscular e a serosa. Externamente, o estômago é revestido por uma serosa, onde evidenciam-se vasos sanguíneos e nervos. A região cárdica apresenta-se aglandular. Na região fúndica há um maior número de glândulas gástricas, sofrendo diminuição no número até desaparecerem ao chegar à região pilórica. As características

histológicas do estômago, sugerem que é especializado na digestão mecânica, sendo uma espécie carnívora (Figura 5B-D). A análise histológica do intestino demonstra a presença de vilosidades intestinais constituídas de epitélio cilíndrico simples, que junto com a lâmina própria originam vilosidades longas e ramificadas, revestidas por células secretoras de muco e células absorptivas. A mucosa intestinal é aglandular e não se observa uma submucosa. Posteriormente surge a muscular, constituída de túnica circular e longitudinal. A última camada verificada foi uma serosa que contém uma rica rede capilar (Figura 5E-F).

## HÁBITOS ALIMENTARES DOS TRÊS PEIXES

*Hoplias malabaricus* - O Índice de Importância alimentar (IIA) demonstrou que *H. malabaricus* alimentou-se preferencialmente de material animal, sendo 72,8% de peixes, tais como tilápia (*Oreochromis niloticus*), pescada branca (*Plagiosion squamosissimus*), sardinha (*Triportheus angulatus*), piauí (*Leporinus piauí*), e 27,2% de camarão (*Macrobrachium amazonicum*), caracterizando a espécie como um organismo carnívoro. O grau de repleção estomacal mostrou que 25,3% dos indivíduos apresentaram o estômago cheio, 10,1% parcialmente cheio, 11,4% parcialmente vazio e 53,3% com o estômago vazio.

*Hypostomus puseus* - O Índice de Importância alimentar (IIA) indicou que a espécie alimentou-se de material orgânico em decomposição (88,7%), de algas filamentosas e diatomáceas (11,3%), sendo caracterizado como um organismo detritívoro. Dentre os gêneros de microalgas encontrados no conteúdo estomacal, destacaram-se: *Klebsormidium* sp., *Geminella* sp., *Spirulina* sp., *Ceratium* sp., *Oscillatoria* sp., *Spirogyra* sp., *Oedogonium* sp., *Anabaena* sp., *Planktothrix* sp., *Microcystis* sp. e *Aphanocapsa* sp.

*Synbranchus marmoratus* - A análise do conteúdo estomacal revelou que *S. marmoratus* alimentou-se preferencialmente de itens de origem animal. O Índice de Importância alimentar (IIA) demonstrou que a espécie alimentou-se de crustáceos (78,2%), bem

como de material orgânico (13,5%), de moluscos (3,2%), de peixes (2,85%) e de restos de insetos (1,4%). Caracterizando a espécie em estudo como um organismo carnívoro com tendência generalista.

A forma e a posição da boca, a dentição e a presença de rastros branquiais dos peixes mostram estreita relação com a forma e o tipo de alimento (Motta, 1984; Albrecht et al., 2001; Pessoa et al., 2013). *H. malabaricus* é considerado como um carnívoro voraz, com uma boca que permite agarrar e ingerir grandes presas. A dentição desenvolvida e rastros branquiais curtos e pontiagudos são adaptações compartilhadas entre várias espécies ictiófagas de Characiformes (Mittelbach, 2002; Peretti & Adrian, 2008). *H. pusalum* apresenta um hábito alimentar detritívoro, possuindo mecanismos adaptativos para esta dieta. A raspagem do substrato é facilitada pelas características morfológicas da espécie que possui boca em forma de ventosa e dentes raspadores. A posição terminal da boca da espécie *S. marmoratus* auxilia na apreensão de presas, favorecendo a captura do alimento.

O esôfago nos teleósteos apresenta-se como um tubo curto, largo e retilíneo, provido de grande elasticidade, adaptado aos vários regimes alimentares e que liga a cavidade bucofaringeana ao estômago. O esôfago de *H. malabaricus*, está recoberta por epitélio pseudoestratificado com células mucosecretórias, com predominância de células mucosas em sua composição. O esôfago do *H. pusalum* é um tubo curto e retilíneo, possuindo um pequeno diâmetro e contém todas as camadas características do sistema digestório dos vertebrados: camada mucosa, submucosa, muscular e uma serosa (Albrecht et al., 2001; Diaz et al., 2003). A organização longitudinal das pregas esofágicas de *S. marmoratus* está relacionada com a distensibilidade das paredes deste órgão, adequando-o para a condução do alimento ao estômago (Montenegro et al., 2012).

A ingestão de grandes presas por *H. malabaricus* é possível devido à cárdica estomacal longa e cujas pregas longitudinais ampliam a luz gástrica. A região fúndica, por apresentar formato de saco e pequenas pregas, funciona para abrigar partículas digeridas, que são impedidas de alcançar o intestino em virtude da pequena

dimensão da região pilórica (Peretti & Adrian, 2008). A região pilórica auxilia o fluxo de alimento para o intestino. A região pilórica não possui glândulas, o que também foi evidenciado para outras espécies carnívoras (Petrinec et al., 2005; Carrasson et al., 2006; Montenegro et al., 2012). Em *H. pusarum*, o revestimento epitelial do estômago é feito por epitélio cilíndrico simples. A túnica muscular apresenta-se constituída basicamente por fibras musculares lisas, distinguindo-se uma camada circular interna e outra longitudinal externa (Bértin, 1958; Liem et al. 2001). Externamente o estômago de *S. marmoratus* é revestido por uma serosa, onde se evidenciam vasos sanguíneos e nervos. As características histológicas do estômago de *S. marmoratus*, sugerem que o estômago dessa espécie é especializado na digestão mecânica, sendo considerado como uma espécie carnívora.

O coeficiente intestinal de peixes foi utilizado como um critério importante para classificação dos hábitos alimentares (Albrecht et al., 2001; Moraes et al., 2004; Cao et al., 2011). Os peixes carnívoros possuem intestino curto, com coeficiente intestinal entre 0,5 e 2,4 (Bértin, 1958; Jobling, 1995). O intestino é curto em *H. malabaricus* e a presença de cecos pilóricos é considerada uma estratégia evolutiva para aumentar a superfície de absorção intestinal sem aumentar o comprimento do intestino (Cinar & Senol, 2006). O intestino do *H. pusarum* é muito longo e ocupa quase 2/3 de toda a cavidade celomática. Características similares foram observadas para três espécies de peixes do rio Paraná, que fazem referência ao comprimento do intestino, correlacionando com o tempo necessário para a digestão de material como areia e lodo (Fugi & Hahn, 1991).

As especializações tróficas resultam de adaptações morfológicas no sistema digestório para otimização da exploração das fontes de alimento (Mittelbach, 2002; Peretti & Andrian, 2008). A morfologia do sistema digestório está intimamente relacionada aos hábitos alimentares em *H. malabaricus*, e através dela são fornecidas indicações relevantes para a classificação de seus hábitos alimentares. O número de estômagos vazios pode ser explicado pela

dieta basicamente carnívora. Uma alimentação baseada em peixes tem um grande valor energético, reduzindo, portanto a necessidade de ingestão contínua de alimento e indicando também resistência a longos períodos de jejum (Alvim & Peret, 2004; Lowrya et al., 2005; Montenegro et al., 2012).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A morfologia das estruturas do trato digestório e dos hábitos alimentares de *H. malabaricus* e de *S. marmoratus* confirmam seus hábitos alimentares carnívoros, uma vez que a ingestão do alimento é facilitada pela distensibilidade da parede esofágica, conferida pela presença de pregas longitudinais e pela análise do conteúdo estomacal. Porém, *H. pusalum* apresenta-se com uma boca em forma de ventosa adaptada para a sucção, os dentes adaptados para a raspagem e o intestino comprido, relacionados com seu hábito alimentar detritívoro, também refletido pela análise do conteúdo estomacal. Os achados deste estudo aumentam o conhecimento sobre a morfologia do trato digestório e hábitos alimentares de *H. malabaricus*, *H. pusalum* e *S. marmoratus*, uma vez que esses peixes são considerados espécies com boas perspectivas para a piscicultura.

## REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, M. P.; FERREIRA, M. F. N.; CARAMASCHI, E. P. Anatomical features and histology of the digestive tract of two related Neotropical omnivorous fishes (Characiformes; Anostomidae). *Journal of Fish Biology*, 58 (2): 419-430, 2001.
- ALVIM, M. C. C.; PERET, A. C. Food resources sustaining the fish fauna in a section of the upper Sao Francisco River in Três Marias, MG, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 64 (2): 195-202, 2004.
- BECKER, A.G.; GONÇALVES, J.F.; GARCIA, L.O. Morphometric parameters comparisons of the digestive tract of four teleosts with different feeding habits. *Ciência Rural*, 40: 862-866, 2010.
- BEHMER, A.O.; TOLOSA, E.M.C.; NETO, F.A.G. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. p 98-101, 1976.
- BÉRTIN, L. Appareil digestif. In: GRASSÉ, P. P. (ed.). *Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie*. Paris: Masson. p. 1249-1300, 1958.

BICUDO, C.E.M.; MENEZES, M. Gênero de algas de águas continentais do Brasil. Chave para identificação e descrição. 2ª edição. São Paulo: Ed. Rima, 2006.

BRITSKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. Manual de identificação de peixes da região de Três Marias (com chaves de identificação para os peixes da Bacia do São Francisco). Brasília: Câmara dos Deputados, CODEVASF, (Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba), 1984.

BUENO, R. M. X.; CHELLAPPA, S.; CHELLAPPA, N. T. Período reprodutivo do cascudo, *Hypostomus puarum* (Starks) (Osteichthyes, Loricariidae) e limnologia do açude Marechal Dutra no semiárido Brasileiro. Revista Nordestina de Biologia, 18 (2): 21-33, 2006.

CANAN, B.; PESSOA, E. K.R.; VOLPATO, G. L.; ARAUJO, A.; CHELLAPPA, S. Feeding and reproductive dynamics of the damselfish, *Stegastes fuscus* in the coastal reefs of northeastern Brazil. Animal Biology Journal, 2: 113-126, 2011.

CANAN, B.; NASCIMENTO, W.S.; SILVA, N.B.; CHELLAPPA, S. Morphohistology of the digestive tract of the damsel fish, *Stegastes fuscus* (Osteichthyes: Pomacentridae). The Scientific World Journal, 2012: 1-9, 2012.

CAO, X. J.; WANG, W. M.; SONG, F. Anatomical and histological characteristics of the intestine of the topmouth culter (*Culter alburnus*). Anatomia, Histologia Embryologia, 40: 292-298, 2011.

CARRASSON, M.; GRAU, A.; DOPAZO, L. R.; CRESPO, S. A histological, histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of *Dentex dentex* (Pisces, Sparidae). Histology and Histopathology, 21(6): 579-593, 2006.

CHELLAPPA, N.T.; COSTA, M.A.M. Dominant and co-existing species of Cyanobacteria from a semi-arid reservoir of Northeast Brazil. Acta Oecologica, 24: 3-10, 2003.

CINAR, K.; SENOL, N. Histological and histochemical characterization of the mucosa of the digestive tract in flower fish (*Pselluophoxinlls antalyae*). Anatomia, Histologia, Embryologia, 35(3): 147-151, 2006.

DIAZ, A.O.; GARCÍA, A.M.; DEVINCENTI, C.V.; GOLDEMBERG, A.L. Morphological and histochemical characterization of the mucosa of the digestive tract in *Engraulis anchoita*. Anatomia, Histologia, Embryologia, 32: 341-346, 2003.

FOWLER, H. W. Os peixes da água doce do Brasil. Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo, 6 (2): 205-404, 1950.

FUGI, R.; HAHN, N.S. Espectro alimentar e relações morfológicas com o aparelho digestivo de três espécies de peixes comedores de fundo do rio Paraná, Brasil. Revista Brasileira de Biologia, 51(4): 873-879, 1991.

HAHN, N.S. Alimentação e dinâmica da nutrição da curvina *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Pisces, Perciformes) e aspectos da estrutura trófica da ictiofauna acompanhante no rio Paraná. Tese de Doutorado. Rio Claro: UNESP, 1991.

HUGUENY, B., POUILLY, M. Morphological correlates of diet in an assemblage of West African freshwater fishes. Journal of Fish Biology, 54: 1310-1325, 1999.

- HYSLOP, E.J. Stomach contents analysis: a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17 (4): 411-429, 1980.
- JOBLING, M. *Environmental Biology of Fishes*. London: Chapman & Hall, 1995.
- KAPOOR, B. G. Anatomy and histology of the alimentary canal in relation to its feeding habits of a siluroid fish *Wallago attu*. *Journal of Zoology*, 5: 191-210, 1975.
- KAWAKAMI, E.; VAZZOLER, G. Método gráfico e estimativa de índice alimentar aplicado no estudo de alimentação de peixes. *Boletim do Instituto Oceanográfico, São Paulo*, 29 (2): 205-207, 1980.
- LIEM, K.F.; BEMIS, W. E.; WALKER-JR., W. F.; GRANDE, L. Metabolism and reproduction. In: *Functional anatomy of the vertebrates: an evolutionary perspective*. 3<sup>rd</sup> edition: Thomson, 2001.
- LO NOSTRO, F.L. Espermatogénesis, ciclo anual e inducción hormonal de La espermiación en el pez protogínico diádrico, *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795 (Teleostei, Synbranchidae). Doctoral Thesis, Facultad de Ciências Exactas y Naturales, Universidade de Buenos Aires, Argentina, 2000.
- LOWRYA, D.; WINTZERA, A.P.; MATOTTA, M.P.; WHITENACKA, L. B.; HUBER, D. R.; DEAN, M.; MOTTA, P. J. Aerial and aquatic feeding in the silver arawana, *Osteoglossum bicirrhosum*. *Environmental Biology of Fishes*, 73: 453-462, 2005.
- MAIA, V. *Técnica Histológica*. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Atheneu, 1979.
- MITTELBACH, G.G. Fish foraging and habitat choice: a theoretical perspective. In: HART, P. J. B.; REYNOLDS, J. D. (Ed.). *Fish Biology and Fisheries*, 2002.
- MONTENEGRO, L.A.; DAMASCENO, D.N.F.; ALMEIDA, R.G.; CHELLAPPA, S. Biologia alimentar do mussum, *Synbranchus marmoratus* (Bloch, 1795) (Osteichthyes: Synbranchidae) no açude Marechal Dutra localizado no semiárido brasileiro. *Biota Amazônia*, 1: 52-60, 2011.
- MONTENEGRO, L.A.; SILVA, N.B.; NASCIMENTO, W.S.; CHELLAPPA, S. Anatomy and histology of the digestive tract and feeding habits of the marbled swamp eel *Synbranchus marmoratus*. *Animal Biology Journal*, 3 (3): 127-143, 2012.
- MORAES, M.F.; FREITAS-BARBOLA, I.; DUBOC, L.F. Feeding habits and morphometry of digestive tracts of *Geophagus brasiliensis* (Osteichthyes, Cichlidae), in a lagoon of high Tibagi river, Parana state, Brazil. *Biological and Health Sciences*, 10: 37-45, 2004.
- MOTTA, P. J. Mechanics and functions of jaw protrusion in Teleost fishes: a review. *Copeia*, 1: 1-18. 1984.
- NASCIMENTO, W.S.; ARAÚJO, A.S.; GURGEL, L.L.; YAMAMOTO, M. E.; CHELLAPPA, N. T.; ROSA, R.S.; CHELLAPPA, S. Endemic fish communities and environmental variables of the Piranhas-Assu hydrographic basin in the Brazilian Caatinga Ecoregion. *Animal Biology Journal*, 2 (3): 97-112, 2011.
- NELSON, J. S. *Fishes of the world*. John Wiley Sons, New York, USA, 1994.
- NORTON, S.F.; LUCZKOVICH, J. L.; MOTTA, P.J. The role of eco-morphological studies in the comparative biology of fishes. *Environmental Biology Fish*, 44: 287-304, 1995.



- PERETTI, D.; ANDRIAN, I.F. Feeding and morphological analysis of the digestive tract of four species of fish (*Astyanax altiparanae*, *Parauchenipterus galeatus*, *Serrasalmus marginatus* and *Hoplias malabaricus*) from the upper Paraná River floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 68: 671-679, 2008.
- PESSOA, E. K. R.; SILVA, N. B.; CHELLAPPA, N. T.; ARAUJO, A.; CHELLAPPA, S. Morfologia comparativa do trato digestório dos peixes *Hoplias malabaricus* e *Hypostomus puarum* do açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. *Biota Amazônia*, 3 (1): 48-57, 2013.
- PETRINEC, Z.; NEJEDLI, S. KUIR, S.; OPAĚĀK, A. Mucosubstances of the digestive tract mucosa in northern pike (*Esox lucius* L.) and European catfish (*Silurus glanis* L.). *Veterinarski Arhiv*, 75: 317-327, 2005.
- PIANKA, E. R. *Evolutionary Ecology*. Benjamin-Cummings, Addison-Wesley-Longman: San Francisco, 2000.
- POUILLY, M.; LINO, F.; BRETENOUX, J. G.; ROSALES, C. Dietary-morphological relationships in a fish assemblage of the Bolivian Amazonian floodplain. *Journal of Fish Biology*, 62 (5): 1137-1158, 2003.
- RODRIGUES, S.S. N.; MENIN, E. Anatomia do tubo digestório de *Leporinus macrocephalus* (Characiformes, Anostomidae) em relação a seu habitat alimentar. *Bioscience Journal*, 24 (3): 86-95, 2008.
- ROSA, R. S.; MENEZES, N.A.; BRITSKI, H.A.; COSTA, W.J.E.M.; GROTH, F. Diversidade, padrões de distribuição e conservação dos peixes da Caatinga. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. (Ed.). *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Recife: Editora Universitária da Universidade Federal de Pernambuco, p. 135-180, 2003.
- ROSECCHI, E.; NOUAZE, Y. Comparaison de cinq indices alimentaires utilisés dans l'analyse des contenus stomacaux. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 49 (3-4): 111-123, 1987.
- SMITH, M. P.; SANSOM, I. J.; REPETSKI, J. E. Histology of the first fish. *Nature*, 380: 702-704, 1996.
- WEHR, J. D.; SHEATH, R. G. *Freshwater algae of North America: Ecology and Classification*. London: Academic Press, 2003.
- WOOTTON, R. J. *Ecology of teleost fishes*. London: Chapman and Hall, 1990.



## CAPÍTULO 9

# O EXERCÍCIO: UMA ESTRATÉGIA PROMISSORA DE MANEJO PARA A PISCICULTURA BRASILEIRA

Gilberto Moraes<sup>1</sup>  
Araceli Hackbarth  
Fernando Fabrizzi  
Gustavo A. Rojas  
Luciana C. Almeida

### INTRODUÇÃO

Os peixes são organismos versáteis, com grande capacidade de adaptação. Por sua própria natureza, são animais com habilidade diferenciada ao nado e têm desenvolvido, em graus diferenciados, diversos tipos de natação. Por conseguinte, apresentam uma série de respostas metabólicas para lidar com as diferentes necessidades impostas pela atividade física. É por isso que vários aspectos relacionados ao exercício em peixes merecem atenção. Se na natureza diversas espécies de peixes se exercitam, por que não aproveitar essa condição natural em sistemas de cultivo?

Vários fatores relacionados ao cultivo, tais como forma de criação, adensamento, manejo, arraçamento, composição das dietas, entre outros fatores de igual importância, podem melhorar o desempenho dos animais. Dentre eles, o exercício pode trazer resultados que podem e devem ser vistos em última análise como função de adaptações fisiológico-bioquímicas que, se bem exploradas, podem conferir aos peixes que se exercitam em velocidade ideal, uma série de respostas diferenciadas, tais como: melhor utilização de fontes energéticas não-protéicas, maior redirecionamento de proteínas para o crescimento, eficiência da conversão alimentar, diminuição do comportamento agressivo,

---

Moraes et al. O exercício: uma estratégia promissora de manejo para a piscicultura brasileira. In: Tavares-Dias, M & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

melhor orientação na corrente de água, melhora do convívio social e diminuição do estresse (Davison, 1997; Shangavi & Weber, 1999; Yogata & Oku, 2000; Azuma et al., 2002; Hackbarth & Moraes, 2006; Arbeláez-Rojas & Moraes, 2009; Palstra y Planas, 2011). Se a prática do exercício parece trazer tais respostas benéficas aos peixes, sua prática em sistemas de criação, ou até em laboratório, é justificável, pois o exercício parece regular as taxas de crescimento e o bem-estar (Moraes et al., 2009).

Em peixes, o ato de nadar compreende um sistema complexo de movimentos com os quais eles realizam numerosas atividades relacionadas à sua sobrevivência nos diversos habitats. A velocidade com que eles se exercitam determina sua duração (Evans, 1993) e sua capacidade de natação, é o determinante central de sua condição física, e está envolvida diretamente com captura, fuga de predadores, migração e seleção de condições ambientais mais favoráveis. Por isso, a capacidade de natação do peixe tem papel decisivo sobre sua saúde (Martínez et al., 2003). Entretanto, o crescimento como resultado do exercício induzido é ótimo desde que aplicado a velocidades específicas onde o custo do transporte é mínimo e a eficiência energética máxima (Palstra & Planas, 2011). Por isso, é essencial conhecer a velocidade do exercício que suporta o crescimento máximo da espécie estudada (Davison, 1997; Azuma et al., 2000; Richards et al., 2002; Hackbarth & Moraes, 2006; Arbeláez-Rojas, 2007; Brown et al., 2011).

No que concerne à criação de peixes, sua habilidade natural de nado pode trazer vantagens no desempenho e na produtividade quando bem explorada nos sistemas de cultivo, pois traz reflexos sobre o estado fisiológico e conseqüentemente sobre as condições de crescimento e saúde dos animais. Estas diferenças no crescimento, entretanto, dependem da espécie e do tipo de treinamento realizado e, mesmo peixes considerados sedentários, com pouca habilidade natatória, podem ser beneficiados pelo exercício (Ogata & Oku, 2000). O regime de exercício para peixes, quando aplicado de forma correta, leva a adaptações fisiológicas e bioquímicas que acarretam aumento nas taxas de crescimento, sobrevivência e desempenho

(Davison, 1997; Shangavi & Weber, 1999, Yogata & Oku de 2000, Azuma et. al., 2002; Arbeláez-Rojas & Moraes, 2009; Moraes et. al., 2009; Kieffer et. al., 2009).

Admite-se que quando um peixe se exercita em velocidades moderadas, o maior crescimento não se deve a maior consumo de alimento, mas sim, à sua capacidade de converter melhor o alimento ingerido. Além disto, a ração também é melhor distribuída e os peixes crescem mais uniformemente (Jobling, 1994; wood, 2001; Hackbarth & Moraes, 2006; Arbeláez-Rojas, 2007; Brännäs, 2009). Outra vantagem é a reorganização do metabolismo, a qual poupa gastos extras provenientes do exercício, permitindo maior síntese protéica e aumentando o catabolismo lipídico e glicídico; o que também favorece o crescimento (Davison, 1997; Moyes & West, 1995; Wood, 2001; Richards et al., 2002; Hackbarth & Moraes, 2006; Arbeláez-Rojas, 2007). Do ponto de vista prático, a realização de exercício melhora o desempenho e a qualidade da carne de diversas espécies de peixes (Grünbaum et al., 2008), e isto pode ter impacto mais efetivo na sua criação. Evidências atuais sugerem que mudanças qualitativas e quantitativas no músculo esquelético do peixe sob exercício são responsáveis tanto pelo aumento no seu crescimento como pela melhor qualidade do filé produzido (Videler, 2011; Rasmussen et al., 2011).

Dentre as respostas adaptativas decorrentes da prática do exercício, as mudanças comportamentais também se destacam, uma vez que ficam evidentes o aumento do efeito cardume e a diminuição da agressividade (Christiansen & Jobling, 1990). Dentre os comportamentos que são modificados com o exercício, podem-se citar: melhora da orientação na corrente d'água, melhora do convívio social, diminuição do nível de dominância, da frequência de ataques, e muito provavelmente do nível de estresse (Totland et al., 1987; Jobling, 1994; Davison, 1997; Hackbarth, 2010; Arbeláez-Rojas et al., 2013). Todos estes fatores contribuem sobremaneira para melhora do crescimento e bem-estar dos peixes em sistemas de cultivo.

O aumento na taxa de crescimento e a melhoria na eficiência da conversão do alimento têm implicações fisiológicas que refletem a mudança metabólica causada pelo exercício de longa duração. Além de mudanças na performance e fisiologia dos tecidos musculares, as mobilizações de açúcares e lipídeos vêm sendo discutidas como um dos grandes benefícios desta prática para diversas espécies de peixes (Young & Cech Jr., 1994; Moyes & West, 1995; Forster & Ogata, 1996; Weber & Haman, 1996; Davison, 1997; Ogata & Oku, 2000; Wood, 2001; Richards et al., 2002; Hackbarth & Moraes, 2006; Arbeláez-Rojas, 2007). Estas adaptações metabólicas permitem que o peixe metabolize melhor o alimento ofertado, o que poderia contribuir para diminuir um dos problemas enfrentado no cultivo de peixes: os gastos com a alimentação.

## **METABOLISMO ENERGÉTICO E ADAPTAÇÕES BIOQUÍMICO-FISIOLÓGICAS DE PEIXES EM DECORRÊNCIA DO EXERCÍCIO**

Segundo Jobling (1994) e Holk & Lykkeboe (1998) a atividade de natação sustentada pode ser classificada através da intensidade da atividade (velocidade de nado) e pelo metabolismo responsável pela manutenção energética durante a atividade (aeróbio, anaeróbio ou ambos). Dessa forma, os tipos de atividade de natação para peixes determinam tanto o tempo que o exercício pode ser mantido como o(s) tipo(s) de fibras musculares que são recrutados no momento da atividade. Sendo assim, a natação pode ser classificada em:

*Exercício Explosivo ou de Exaustão:* exercício de alta intensidade, através do qual o peixe é capaz de sustentar o exercício por no máximo 20 segundos. A partir deste momento, o animal entra em fadiga e não é mais capaz de realizar a atividade. As fibras musculares recrutadas são do tipo 2b, fermentativas, e o metabolismo anaeróbico é preponderante para a manutenção energética;

*Exercício prolongado ou natação aeróbica máxima:* exercício de intensidade moderada/alta, que pode ser mantida por períodos de

até 200 minutos. A partir deste ponto, o animal entra em fadiga e se torna incapaz de continuar com a atividade. As fibras recrutadas são do tipo 2a, fibras intermediárias, e portanto, a demanda energética é atendida tanto pelo metabolismo oxidativo como pelo fermentativo;

*Exercício aeróbico de longa duração, ou exercício sustentado:* exercício de intensidade baixa/moderada, que pode ser mantido por períodos superiores a 200 minutos sem ocasionar fadiga e necessidade de interrupção da atividade. As fibras recrutadas são do tipo 1, oxidativas, e o metabolismo aeróbio é predominante para o atendimento das necessidades energéticas.

Dentre estas três formas de exercício, temos procurado compreender as respostas metabólicas e de crescimento de espécies neotropicals submetidas ao exercício de longa duração (ou exercício sustentado), tanto de modo ininterrupto (dias ou meses de exercícios) como de modo intermitente (regime de exercício seguido de repouso). Nós temos admitido que o exercício sustentado pode ser mantido por longos períodos (dias a meses) levando a uma série de adaptações bioquímico-fisiológicas que ocasionam diversos ganhos aos peixes, tais como levantados anteriormente.

Do ponto de vista metabólico, o exercício sustentado em peixes, sem interrupção, por períodos em média de 60 dias, proporciona mudanças nas variáveis hematimétricas, tornando evidente a melhora no transporte e na utilização do O<sub>2</sub>, uma vez que essa condição causa aumento no fluxo sanguíneo, no diâmetro dos vasos sanguíneos e otimização dos processos de oxigenação e da respiração (Satchell, 1991; Lowe & Wells, 1997; Hackbarth & Moraes, 2006; Arbeláez-Rojas & Moraes, 2009; Fabrizzi et al., 2013; Nunes et al., 2013). O exercício sustentado também é responsável por promover melhor organização das vias e ciclos do catabolismo lipídico e glicídico, e isto leva ao aumento da oxidação destes metabólitos na medida em que resulta em menor utilização das proteínas para fins energéticos. Estes fatores combinados favorecem a mobilização de aminoácidos e proteínas a favor dos processos anabólicos, o que por sua vez, acarreta maior crescimento muscular (Davison, 1997; Moyes & West, 1995; Wood, 2001; Richards et al.,

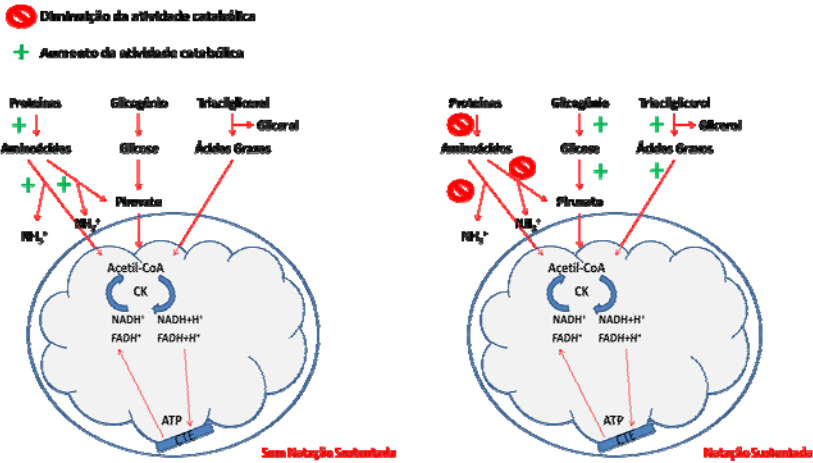
2002; Hackbarth & Moraes, 2006; Arbeláez-Rojas & Moraes 2009; Moraes et al., 2009). Por outro lado, o exercício sustentado intermitente também é correlacionado positivamente com o crescimento (Davison, 1997; Bugeon et al., 2003) e ocasiona uma série de adaptações metabólicas, como ajustes favoráveis à mobilização de energia para fins de síntese protéica (Fabrizzi et al., 2013).

A Figura 1 esquematiza o padrão metabólico de peixes submetidos ou não ao exercício sustentado. Como se pode ver, o aumento do metabolismo oxidativo de lipídeos e carboidratos acarreta inversamente a diminuição da atividade catabólica de proteínas.

## **EXERCÍCIO E NUTRIÇÃO**

No Brasil a piscicultura responde por cerca de 80% da produção aquícola (Brasil, 2010). Nos atuais modelos de cultivo de peixes adotados, os custos com alimentação são relativamente altos, representando o maior percentual dos custos operacionais (Kubtiza, 1998). Tentativas têm sido realizadas no sentido de baratear esses custos de produção e tornar a atividade da aquicultura mais atrativa comercialmente. Neste sentido, a rápida expansão dessa atividade zootécnica depende fundamentalmente de sistemas que usam dietas balanceadas e de boa qualidade, a fim de permitir o aumento na produtividade de espécies de valor econômico, com menor impacto ambiental possível (Silva et al., 2007). Nesse sentido, a determinação das necessidades qualitativas e quantitativas dos nutrientes essenciais na dieta é de fundamental importância para a adequada formulação de rações para peixes (Pezzato et al., 2004).





**Figura 1.** Padrão metabólico de peixes sedentários e em exercício. Respostas metabólicas em duas situações distintas em peixes: sem imposição de natação sustentada, ou peixes em regime sedentário (à esquerda), e peixes submetido a natação sustentada (à direita). Observe-se em peixes sob nado sustentado a redução da atividade catabólica de proteínas e o aumento dessa atividade para carboidratos e lipídios; quadro oposto àquele observado em animais sedentários.

Os peixes são conhecidos por utilizar proteínas preferencialmente aos carboidratos e lipídios como recurso energético. Desde que a proteína da dieta é o ingrediente mais caro em dietas formuladas para peixes, a redução do conteúdo proteico sem perda de potencial de crescimento é desejável na piscicultura. Dessa forma, estratégias de alimentação que minimizem a quantidade de alimento e o custo total da produção, bem como a excreção de resíduos por tonelada de peixe produzido, são primordiais ao sucesso econômico e sustentabilidade da produção (Cho & Bureau, 2001). Entretanto, não só uma dieta balanceada influencia o comportamento, a integridade estrutural, a saúde, as funções fisiológicas, a reprodução e o crescimento dos peixes; existem outros fatores, tais como o exercício, que podem contribuir significativamente para a obtenção de resultados positivos em menores intervalos de tempo. Do ponto de vista prático, a atividade natatória melhora o desempenho e, concomitantemente, a qualidade da carne da espécie cultivada (Grünbaum et al., 2008), impactando

diretamente a criação de peixes. O exercício está intimamente relacionado ao consumo de energia e de alimento, e tem sido associado ao bem estar animal (Felip et al., 2012). Além disso, dados existentes na literatura para várias espécies de peixes teleósteos indicam que a indução do exercício sustentado também pode resultar aumento da massa muscular esquelética, redução de interações agressivas e aumento da taxa de sobrevivência, atraso do desenvolvimento do ovário e, possivelmente, estímulo da função imune (Palstra & Planas, 2011). A prática do exercício também pode promover estímulo da neurogênese e da capacidade de aprendizagem espacial (Huntingford, 2010) e também pode ser utilizada como uma estratégia proativa eficaz na melhora da robustez de peixes cultivados (Castro et al., 2011). Sendo assim, a prática de exercício pode representar uma abordagem natural, não invasiva e econômica para melhorar o crescimento, a qualidade da carne, e o bem-estar dos peixes cultivados (Palstra & Planas, 2011).

O aumento na taxa de crescimento e a melhoria na eficiência da conversão do alimento têm implicações fisiológicas que refletem a mudança metabólica causada pelo exercício de longa duração (Hackbarth, 2004). Estas adaptações metabólicas permitem que o peixe metabolize melhor o alimento ofertado, o que pode contribuir para diminuir um dos problemas enfrentados nas práticas de cultivo: o custo dos alimentos. Estes representam de 50 a 70 % dos custos de produção, e a redução nesta porcentagem pode ser alcançada através da utilização de ingredientes de alta qualidade, do uso de técnicas eficazes de processamento das rações e da aplicação de estratégias na alimentação e na criação (Kubitza, 1998). Desta forma, o exercício sustentado pode ser uma estratégia de manejo que melhora o aproveitamento da dieta resultando em maior crescimento em menor tempo, já que ele leva a maior utilização de fontes não proteicas como combustíveis energéticos e maior redirecionamento das proteínas para o crescimento.

O surgimento da possibilidade de possível redução do nível de proteína bruta da dieta torna o cultivo da espécie mais sustentável tanto economicamente como ecologicamente. Nós temos

sustentado a hipótese que algumas espécies de peixes submetidas ao exercício sustentado e alimentadas com teor reduzido de proteína dietária apresentam parâmetros de desempenho produtivo satisfatórios. Dessa forma, é possível aperfeiçoar futuros experimentos, os quais poderão ser direcionados à elaboração de dietas diferenciadas, com menores níveis de proteína; além de fornecer novos dados à piscicultura brasileira no tocante a melhores condições de criação das espécies nativas, de maneira sustentável e mais barata.

Do ponto de vista tecnológico, vemos que a aplicação do exercício aeróbico pode contribuir substancialmente para: melhoria das condições ambientais das reservas hídricas, dada a redução da excreção de nitrogênio em face da otimização dos níveis de proteína na ração; redução dos custos de produção, tendo em vista ser a fração proteica a mais onerosa da ração. Além disso, o potencial de implantação gradativa desta prática de manejo certamente trará vários benefícios à piscicultura no Brasil. Compreendemos também que em termos práticos, as despesas do produtor (piscicultor) podem aumentar principalmente devido à manutenção do sistema de exercício (eletricidade requerida para provocar o fluxo de água a uma velocidade desejada, manutenção do sistema como um todo, e o possível aumento no consumo de ração). Entretanto, os peixes exercitados sob velocidade ideal apresentam melhor desempenho produtivo, gerando um ganho econômico líquido significativo quando se considera a economia da fração proteica da dieta, o aumento na taxa de sobrevivência, do crescimento em menor tempo e do bem estar dos peixes cultivados.

## **EXERCÍCIO E PEIXES NEOTROPICAIS: O QUE JÁ SABEMOS?**

Nós temos considerado o exercício como uma ótima ferramenta para obter maior crescimento de espécies de peixes neotropicais. Neste tocante, temos voltado nossa atenção não somente aos índices de crescimento, mas também para aos processos metabólicos e fisiológicos que acarretam os benefícios decorrentes da prática do nado sustentado. Dentre as espécies que receberam

nossa atenção, podemos destacar: matrinxã (*Brycon amazonicus*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*).

Matrinxã: é um peixe que responde muito bem à prática de exercício sustentado por longos períodos. Segundo Hackbarth & Moraes (2006), matrinxãs que realizaram exercício contínuo de forma moderada a 1,0 CC/seg (comprimento corporal por segundo), por 72 dias, apresentaram melhores taxas de conversão alimentar e de crescimento, com ganho de peso superior a 38% (Hackbarth, 2004). As análises hematológicas de matrinxã em exercício evidenciam também que o exercício facilita e/ou melhora o transporte de oxigênio através do sangue, ou talvez, os peixes consigam captar melhor o oxigênio que está chegando, e desta forma, as trocas gasosas são facilitadas (Moraes et al., 2009). Matrinxãs exercitados a 1 CC/seg também apresentam catabolismo de lipídeos e carboidratos superior a 40% e 15%, respectivamente, ao mesmo tempo em que as proteínas e aminoácidos são direcionadas para processos anabólicos, com acréscimo no conteúdo proteico e de aminoácidos superior a 30% e 16%, respectivamente. Segundo Arbeláez-Rojas (2007), a velocidade ideal de natação para a espécie encontra-se entre 1,0 e 1,5CC/seg. Segundo o autor, matrinxã exercitado dentro da sua faixa de velocidade ideal é capaz de sintetizar mais proteínas, o que se reflete em maiores taxas de crescimento. Quando o matrinxã é exercitado acima destas velocidades, ocorre maior mobilização de aminoácidos para atender as demandas energéticas, o que poderia indicar que velocidades de natação muito altas afetam o crescimento da espécie (Moraes et al., 2009). Todos estes eventos contribuem para que o exercício resulte em maiores taxas de crescimento em matrinxãs sob exercício sustentado na velocidade ideal.

O matrinxã também apresenta respostas diferenciadas quando é exposto ao exercício sustentado em regime intermitente, ou seja, com intervalo de exercício seguido de outro de repouso. Ao ser submetido a um regime de 12:12 (12h com exercício e 12h sem movimento da água), pode-se observar diminuição na contagem de

eritrócitos e aumento dos estoques de glicogênio hepático e de triacilglicerol muscular. As mudanças adaptativas observadas nos fazem assumir que o aumento do catabolismo está associado a um quadro de menor acidose e de acúmulo de lactato, e que o quadro de biossíntese observado é conveniente aos peixes juvenis devido ao período de crescimento (Fabrizzi et al. 2013).

Estudos realizados com transporte de matrinxãs previamente submetidos ao exercício sustentado por 60 dias (Arbeláez-Rojas et al., 2013), mostram que após o estresse de transporte, as concentrações plasmáticas de cortisol aumentaram unicamente no grupo de matrinxãs sedentários (controle). Devido à ação do cortisol, o aumento de glicose é superior a 50% nos peixes não treinados e demora duas vezes mais para retornar aos valores basais. Desta forma, podemos inferir que o exercício desempenha um papel atenuador das respostas secundárias do estresse, uma vez que permite o retorno mais rápido aos valores basais para a maioria dos índices avaliados. Portanto, a prática de exercício sustentado previamente ao transporte contribui para o alívio e a tolerância às práticas de transporte em matrinxã, e, conseqüentemente, proporciona melhor bem-estar ao diminuir as respostas de estresse nesta espécie. Admitimos que a intensidade das alterações e o tempo para atingir o completo retorno às condições fisiológicas basais são indicadores bastante úteis da qualidade de manipulação dos peixes: o quanto antes o peixe se recupere do estresse ocasionado pelo transporte, mais rapidamente estará pronto para ser inserido no ciclo de produção.

*Pacu:* Os trabalhos desenvolvidos com esta espécie têm mostrado que a velocidade ideal de nado situa-se entre 1 e 2 CC/seg. Temos observado que esta espécie apresenta melhores médias de peso, de comprimento e de altura; e conversão alimentar aparente (CAA), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de eficiência proteica (TEP) mais promissoras (Moraes et al., 2009; Hackbarth, 2010). Dentre estes parâmetros, cabe destacar que o crescimento em peso de pacus exercitados a 1 e 2 CC/seg., é superior a 28% e 50%, respectivamente. No entanto, quando exercitados a 3CC/seg não

mostram crescimento satisfatórios (Hackbarth, 2010). Os dados de CAA mostram que pacus que nadam a 2CC/seg consomem 15% menos ração, indicando que o exercício além de não estimular o aumento do consumo de alimento favorece seu aproveitamento para fins de crescimento. O mesmo fato é observado em outras espécies sob exercício, onde o crescimento não é necessariamente devido a maior consumo de alimento, mas sim, à melhor capacidade de convertê-lo (Davison, 1997; Jobling, 1994; Hackbarth & Moraes, 2006).

Em relação às adaptações hematológicas encontradas em peixes exercitados a velocidade ideal, observamos mudanças que são sugestivas de aumento da capilarização do tecido muscular, o que leva a melhoria no transporte de oxigênio, lipídeos e açúcares, bem como remoção mais rápida de resíduos metabólicos. Tais fatores são determinantes na obtenção de melhores taxas de crescimento. Com relação ao perfil metabólico, observa-se que peixes exercitados a 1-2 CC/seg., utilizam em maior escala lipídios e carboidratos como fontes energéticas, enquanto as proteínas podem ser direcionadas aos processos anabólicos (crescimento). Nos peixes exercitados, é marcante o aumento da glicogenólise, da glicólise e da neoglicogênese, caracterizando-se plena utilização destas vias como mantenedoras da glicemia e das exigências oxidativas energéticas. O aumento da oxidação lipídica, com mudança nos teores de triglicérides e ácidos graxos livres nos tecidos periféricos, também contribui sobremaneira para atender às exigências energéticas da espécie. Em última instância, ambos os metabólitos favoreceram a síntese proteica (Moraes et al., 2009; Hackbarth, 2010).

Outros estudos realizados com pacu sob exercício, dizem respeito à adequação nutricional da espécie ao nadar dentro da faixa ideal de velocidade. Inicialmente, observamos em pacus exercitados a 2CC/seg o papel dos carboidratos e lipídeos como mantenedores energéticos poupando assim a massa proteica. Pacus alimentados com 28% de proteína bruta (PB), e valores variados de carboidratos e lipídeos (27/15%, 36/10%, 45/5% de carboidrato e lipídeo, respectivamente), mostram que os animais alimentados com 36% de

carboidratos e 10% de lipídeos apresentam os melhores valores de crescimento. Também, a participação dos lipídeos para atender à demanda energética imposta pelo exercício é superior à dos carboidratos. Os animais alimentados com a dieta 36/10, maximizam de forma geral a utilização de substratos energéticos (Hackbarth, 2010). Entretanto, pacus submetidos ao exercício de 2CC/seg. e alimentados com dietas contendo 24% de PB, 25% de carboidratos e 15% de lipídeos apresentam maiores taxas de crescimento e adaptações hematológicas favoráveis ao atendimento das demandas energéticas impostas pelo exercício (Nunes et al., 2013). Sendo assim, imaginamos que o exercício sustentado à velocidade ideal aumenta os índices de produção ao mesmo tempo em que permite redução do teor de proteína oferecido na dieta.

*Tambaqui:* Estudos preliminares (dados não publicados) com tambaquis submetidos ao exercício sustentado mostram que esta espécie também apresenta melhor desempenho produtivo nessa condição. Além disso, apresentam menor porcentagem de gordura no filé, além de apresentarem maior eficiência de retenção de proteína e maior porcentagem de proteína bruta no ganho em peso. Tais dados nos fazem admitir que é necessário explorar de forma mais ampla as respostas do exercício para nessa espécie, uma vez que os dados preliminares mostram que ela responde de forma positiva ao crescimento, com índices superiores de produção, maior utilização de carboidratos e lipídeos para manutenção energética e redirecionamento das proteínas para os processos anabólicos.

*Pintado:* Estudos preliminares (dados não publicados) realizados com pintados apontam que o exercício, mesmo em velocidades baixas, não leva a ganhos expressivos nos parâmetros de crescimento. O conjunto de dados atuais de respostas hematológicas e iônicas indica que pintados em exercício procuraram se adaptar à demanda aumentada de oxigênio, aumentando o número de células vermelhas, o dispêndio respiratório e, provavelmente, a superfície de trocas gasosas. Da mesma forma, o metabolismo intermediário e o perfil enzimático digestivo mostram que não há aumento de utilização de carboidratos e lipídeos para atender a demanda

energética extra proveniente do exercício, e que é necessário maior oxidação de proteínas para que os níveis basais energéticos sejam supridos e garantidos. Apesar de este perfil ser antagônico ao apresentado pelas demais espécies estudadas, eles também reforçam a necessidade de compreender como o exercício atua em cada espécie. Fica ainda evidente que o exercício sustentado de longa duração deve não ser vantajoso a todas as espécies neotropicais de água doce.

De maneira geral, o conjunto de dados atuais sobre exercício sustentado, bem como exercício sustentado *versus* utilização de nutrientes reforça a ideia de que este tipo de exercício direciona as proteínas ao anabolismo, aumentando o desempenho produtivo. Os dados obtidos com matrinxãs, pacus, pintados e tambaquis, alimentados ou não com diferentes dietas, são altamente sugestivos de que fontes não nitrogenadas são utilizadas não somente para atender a demanda imposta pela atividade física, mas também para o maior aproveitamento das proteínas (Moraes et al., 2009; Hackbarth, 2010; Nunes et al., 2013).

### **APLICABILIDADE DO EXERCÍCIO NA PISCICULTURA.**

A produção de peixes sob natação sustentada demanda uma série de tecnologias que podem ser atendidas pelo setor industrial. Os tanques podem possuir formato circular e podem ser de fibra de vidro, de mantas plásticas confeccionadas a partir de geomembranas, ou mesmo tanques fabricados em metal. Outra opção é a criação de peixes sob nado sustentada em canais do tipo “raceway”. Um exemplo de peixe criado neste sistema é o matrinxã, que tem sido produzido em canais de igarapé (Arbeláez-Rojas et al., 2002; Fim et al., 2009). O grande problema da criação de peixes nestes canais é o gradiente de qualidade da água, que torna as condições de criação pouco homogêneas. Isto pode estabelecer conflitos comportamentais e de crescimento entre os peixes. Este problema se agrava quando a densidade de estocagem ultrapassa a capacidade de suporte do sistema.

Por outro lado, os tanques circulares oferecem qualidade da água mais uniforme em toda a coluna e permitem maiores



densidades de estocagem, visto que os peixes passam a ocupar todos os espaços do tanque, maximizando a utilização do espaço. Outra vantagem dos tanques circulares, é que a velocidade da água pode ser controlada numa ampla faixa de velocidades permitindo maior otimização do sistema de exercício e levando a um crescimento maior e aumento do bem estar dos peixes.

Atualmente, na aquicultura em geral, as condições de criação consistem no confinamento dos peixes em viveiros escavados, tanques-rede e barragens, açudes e “raceways”, que alteram o comportamento natural de natação dos peixes. A utilização de alguns destes sistemas na criação de peixes é bastante comum com espécies de salmonídeos e espécies neotropicais da ordem dos Characiformes e Siluriformes, que realizam piracema e frequentemente enfrentam maiores vazões de água na natureza ajustando sua atividade natatória à intensidade de corrente da água.

De acordo com Timmons et al. (2009) existe uma equação, tal como segue, para Salmonídeos, capaz de predizer velocidades seguras da água sem causar fadiga:  $V_{segura} < 5,25/L^{0,37}$ . Por exemplo, para um peixe de 10 cm de comprimento, a  $V_{segura}$  seria 2,2 vezes seu comprimento corporal por segundo (CC/seg.). Em trabalho realizado com salmão do Atlântico (*Salmo salar*) exercitado a velocidades calculadas por esta equação, foi observada melhoria nas taxas de sobrevivência e ganho em peso 38% maior que em peixes sedentários. Isto significa, em termos de produtividade, que se estariam produzindo 380 kg a mais de salmão por tonelada produzida no sistema de natação sustentada.

O exercício sustentado em peixes, contrariamente ao que muitos produtores acreditam, resulta em redução do consumo de oxigênio dissolvido. Respostas fisiológicas adaptativas podem explicar estas observações, pois o aumento na atividade da musculatura branca, melhoria no rendimento cardíaco e maior capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue (Woodward & Smith, 1985) levam a menor necessidade de consumo de oxigênio e otimização dos processos respiratório. Além do mais, o exercício pode atuar como poupador de energia ao diminuir os custos

metabólicos da respiração branquial do peixe. Quando posicionados na correnteza da água, os peixes realizam ventilação forçada, ou seja, eles só precisam abrir a boca para ventilar as brânquias. Este fenômeno permite ao peixe não bombear água através de suas brânquias (abrir e fechar a câmara bucal) o que ocasiona menor turbulência da água. Por sua vez, um fluxo de água mais hidrodinâmico é mantido sobre o corpo do peixe, o que reduz a necessidade de realizar ajustes constantes para manter sua posição na coluna da água. Esta vantagem hidrodinâmica resulta em pequenas, mas significativas, reduções no consumo de oxigênio (Randall & Dexboeck, 1984).

Nas bacias hidrográficas do território brasileiro ocorrem mais de 52 espécies nativas com grande potencial para aquicultura (Moro et al., 2013). Dentre estas, algumas pertencentes ao gênero *Brycon* spp, como *B. amazonicus* e *B. orbignyanus*; os peixes redondos, como *C. macropomum*, *P. mesopotamicus*, *P. brachypomus*; e algumas espécies carnívoras como o dourado *S. brasiliensis*. Estas são espécies que apresentam como característica comum a realização de migrações com finalidades reprodutivas. Quando expostas a correntes moderadas da água, exibem comportamento de reotaxia positiva, isto é, respondem ao estímulo físico da velocidade da água nadando de forma contínua contra a correnteza. Estas características comportamentais, aliadas às biológicas, tais como o formato fusiforme do corpo e a capacidade de adaptar-se bioquimicamente e fisiologicamente ao exercício, inspiram-nos a vê-las como possíveis candidatas à exploração máxima de seu potencial de crescimento em sistemas de natação sustentada.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Admitimos que o exercício sustentado possa ser extremamente benéfico ao desenvolvimento da piscicultura em nosso país. Todavia, esse é um campo da pesquisa ainda pouco explorado e que, portanto, permite diversas inferências. Atualmente, temos como possíveis estudos aqueles relacionados ao: 1) Manejo - O exercício sustentado como estratégia de manejo para melhorar o

aproveitamento da dieta resultando em maior crescimento em menor tempo, diminuição do comportamento agressivo, melhor distribuição de ração no tanque de cultivo, redução do estresse, aumento da taxa de sobrevivência e do bem estar geral da espécie cultivada, além de maximização dos processos de criação em sistemas de exercício aumentando a produtividade e o rendimento; 2) *Toxicologia* - O exercício sustentado como medida profilática para redução do estresse e estimulação do sistema imune da espécie cultivada; 3) *Nutrição* – O exercício sustentado como forma de redução da fração proteica da dieta tornando o cultivo da espécie mais sustentável tanto economicamente como ecologicamente; 4) *Outros paradigmas* - o peixe como modelo de estudo. Apesar de serem, até certo ponto, similares aos animais terrestres em suas bases bioquímicas, os peixes apresentam algumas adaptações especiais que lhes permitem viver nos mais variados ecossistemas aquáticos. Entre estes processos adaptativos encontram-se a ontogenia, os processos respiratórios, a osmorregulação, a excreção de subprodutos nitrogenados, a alimentação, a digestão e basicamente, a grande capacidade que a maioria apresenta de nadar por longos períodos; 6) *Espécies* – O exercício sustentado aplicado a diferentes espécies, levando em conta o potencial de cada uma e suas especificidades.

## REFERÊNCIAS

- ARBELÁEZ-ROJAS, G. Efeitos da natação sustentada no crescimento, na densidade de estocagem e na composição corporal em juvenis de matrinxã *Brycon amazonicus*. Aspectos adaptativos e respostas metabólicas. Tese (Doutorado em Genética e Evolução) – Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.
- ARBELÁEZ-ROJAS, G.A.; HACKBARTH, A.; INOUE, L.A.K.A.; MORAES, F.D.; MORAES, G. Sustained swimming mitigates stress in juvenile fish *Brycon amazonicus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 25 (3): 271-281, 2013.
- ARBELÁEZ-ROJAS, G.; MORAES G. Interação do exercício de natação sustentada e da densidade de estocagem no desempenho e na composição corporal de juvenis de matrinxã *Brycon amazonicus*. *Ciência Rural*, 39 (1): 201-208, 2009.
- ARBELÁEZ-ROJAS, G.A.; FRACALOSSO, D.M.; FIM, J.L. Body composition of tambaqui, *Colossoma macropomum*, and Matrinxã, *Brycon cephalus*, when raised in

intensive (igarapé channel) and semi-intensive (pond) culture systems. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 3: 1059-1069, 2002.

AZUMA, T.; NODA, S.; YADA, T.; OTOTAKE, M.; NAGOYA, H.; MORIYAMA, S.; YAMADA, H.; NAKANISHI, T.; IWATA, M. Profiles in growth, smoltification, immune function and swimming performance of 1-year-old masu salmon *Onchorhynchus masou masou* reared in water flow. *Fisheries Science*, 68 (C):1282-1294, 2002.

BRÄNNÄS, E. The effect of moderate exercise on growth and aggression depending on social rank in groups of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Applied Animal Behavior Science*, 119: 115-119, 2009.

BRASIL. 2010. Ministério da Pesca e Aquicultura. Informações e Estatística. Estatística da Pesca e aquicultura. Estatística da Aquicultura e Pesca no Brasil 2008/2009. Disponível em <http://www.mpa.gov.br/#imprensa/2010/AGOSTO>.

BROWN, E. J.; BRUCE, M.; PETHER, S.; HERBERT, N.A. Do swimming fish always grow fast? Investigating the magnitude and physiological basis of exercise induced growth in juvenile New Zealand yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37: 327-336, 2011.

BUGEON, J.; LEFEVRE, F.; PAUCONNEAU, B. Fillet texture and muscle structure in brown trout (*Salmo trutta*) subjected to long-term exercise. *Aquaculture Research*, 34: 1287-1295, 2003.

CASTRO, V.; GRISDALE-HELLAND, B.; HELLAND, S.J. Aerobic training stimulates growth and promotes disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 160 (A): 278-290, 2011.

CHO, C. Y.; BUREAU, D. P. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquaculture Research*, 32: 349-360, 2001.

CHRISTIANSEN, J. S.; JOBLING, M. The behaviour and the relationship between food intake and growth and juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., subjected to sustained exercise. *Canadian Journal of Zoology*, 68: 2185-219, 1990.

DAVISON, W. The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 117 (A): 67-75, 1997.

EVANS, D. H. The physiology of fishes. Florida: CRC Press, 1993.

FABRIZZI, F.; MORAES, G.; HACKBARTH, A.; ALMEIDA, L. C.; ARBELÁEZ-ROJAS, G.; NUNES, C. S. Intermittent sustained swimming in 'matrinxã' *Brycon amazonicus* (Bryconidae: Bryconinae): hematological and metabolic responses. *Neotropical Ichthyology*, 11(2):425-432, 2013.

FELIP, O.; BLASCO, J.; IBARZ, A.; MARTIN-PEREZ, M.; FERNÁNDEZ-BORRAS, J. Beneficial effects of sustained activity on the use of dietary protein and carbohydrate traced with stable isotopes <sup>15</sup>N and <sup>13</sup>C in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Journal of Comparative Physiology*, 183(B): 223-234, 2012.

FIM, J.D.I.; GUIMARÃES, S.F.; STORTI-FILHO, A.; BOBOTE, A.G.; NOBRE-FILHO, G.R. Manual de criação de matrinxã (*Brycon amazonicus*) em canais de igarapés. Manaus: Editora INPA, 2009.

- FORSTER, I. P.; OGATA, H. Growth and whole-body lipid content of juvenile red sea bream reared under different conditions of exercise training and dietary lipid. *Fisheries Science*, 62: 404-409, 1996.
- GRÜMBAUM, T.; CLOUTIER, R.; LE FRANÇOIS, N. R. Positive effects of exposure to increased water velocity on growth of newly hatched arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *Aquaculture Research*, 39: 106-110, 2008.
- HACKBARTH, Respostas metabólicas e de crescimento de matrinxãs (*Brycon cephalus*, Günther, 1869) submetidos ao exercício sustentado. Dissertação (Mestrado), Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, 2004.
- HACKBARTH, A. Exercício aeróbico e suas implicações no crescimento e metabolismo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Tese (Doutorado), Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, 2010.
- HACKBARTH, A.; MORAES, G. Biochemical responses of matrinxãs *Brycon cephalus* (Günther, 1869) after sustained swimming. *Aquaculture Research*, 37: 1070-1078, 2006.
- HOLK, K.; LYKKEBOE, G. The impact of endurance training on arterial plasma K<sup>+</sup> levels and swimming performance of rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 201 (C): 373-380. 1998.
- JOBLING, M. *Fish Bioenergetics*. London: Chapman & Hall. 1994.
- KIEFFER, J. D.; ARSENAULT, L. M.; LITVAK, M. K. Behaviour and performance of juvenile shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* at different water velocities. *Journal of Fish Biology*, 74: 674-682, 2009.
- KUBITZA, F. *Nutrição e alimentação de peixes cultivados*. 3<sup>a</sup> ed. Jundiaí: Degaspari, 1998.
- LOWE T. E.; WELLS R. M. G. Exercise challenge in Antarctic fishes: do haematology and muscle metabolite levels limit swimming performance? *Polar Biology*, 17: 211-218, 1997.
- MARTÍNEZ, M.; GUDERLEY, H.; DUTIL, J.-D.; WINGER, P. D.; HE, P.; WALSH, S. J. Condition, prolonged swimming performance and muscle metabolic capacities of cod *Gadus morhua*. *Journal of Experimental Biology*, 206: 503-511. 2003.
- MORAES, G.; HACKBARTH, A.; ARBELÁEZ-ROJAS, G. A.; FABRIZZI, F.; NUNES, C. S. Adaptações bioquímicas à natação sustentada em peixes com alto potencial para piscicultura. In: TAVARES-DIAS, M. (Ed.) *Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo*. Amapá: Editora Embrapa Amapá. p. 269-294, 2009.
- MORO, G. V.; REZENDE, F. P.; ALVES, A. L.; HASHIMOTO, G. T.; VARELA, E. S.; TORALI, L. S. Espécies de peixe para piscicultura. In: RODRIGUES, A.P.O. et al, (Edts). *Piscicultura de água doce. Multiplicando conhecimentos*. Brasília: EMBRAPA. p. 29-70, 2013.
- MOYES, C. D.; WEST, T. G. Exercise metabolism of fish. In: HOCHACHKA, P. W., MOMMSEN, T. P. (Ed.). *Metabolic Biochemistry. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*. Amsterdam: Elsevier Science. p. 367-392, 1995.

- NUNES, C. S.; MORAES, G.; FABRIZZI, F.; HACKBARTH, A.; ARBELAEZ-ROJAS, G. A. Growth and hematology of pacu subjected to sustained swimming and fed different protein levels. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48 (6): 645-650, 2013.
- OGATA, H. Y.; OKU, H. Effects of water velocity on growth performance of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of World Aquaculture Society*, 31: 225-231, 2000.
- PALSTRA, A.P.; PLANAS, J.V. Fish under exercise. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37: 259-272, 2011.
- PEZZATO, L. E. et al. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J. E. P. et al (Ed.). *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. São Paulo: Aquabio, p. 75-170, 2004.
- RANDALL, D.J.; DAXBOECK, C. Oxygen and carbon dioxide transfer during hypoxia exercise. *Journal of Experimental Biology*, 100: 275-288, 1984.
- RASMUSSEN, R. S.; LÓPEZ-ALBORS, O.; ALFNES, F. Exercise effects on fish quality and implications for Consumer Preferences. In: PALSTRA, A.; PLANAS, J. (Eds). *Swimming Physiology of Fish - Towards using exercise for farming a fit fish in sustainable aquaculture*. Springer, p. 275-300, 2011.
- RICHARDS, J.G.; HEIGENHAUSER, G. J.T.; WOOD, C.M. Lipid oxidation fuels recovery from exhaustive exercise in white muscle or rainbow trout. *Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 282: 89-99, 2002.
- SATCHEL, G. H. *Physiology and form of fish circulation*. Cambridge: University Press. 1991.
- SHANGAVI, D. S.; WEBER, J. M. Effects of sustained swimming on hepatic glucose production of rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 202: 2161-2166. 1999.
- SILVA, C. R.; GOMES, L. C.; BRANDÃO, F. R. Effect of feeding rate and frequency on tambaqui (*Colossoma macropomum*) growth, production and feeding costs during the first growth phase in cages. *Aquaculture*, 264: 135-139, 2007.
- TIMMONS, M.; EBELING, J.; PIEDRAHITA, R. *Acuicultura en Sistemas de Recirculación*. USA: Edit. LIMUSA, 2009.
- TOTLAND, G.K.; KRYVI, H.; JØDESTØL, K.A.; CHRISTIANSEN, E.N.; TANGERÅS, A.; SLINDE, E. Growth and composition of the swimming muscle of adult Atlantic Salmon (*Salmo salar*) during long-term sustained swimming. *Aquaculture*, 66: 299-313, 1987.
- VIDELER, J.J. An opinion paper: emphasis on white muscle development and growth to improve farmed fish flesh quality. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37: 337-343, 2011.
- WEBER, J-M.; HAMAN, F. Pathways for metabolic fuels and oxygen in high performance fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 113: 33-38, 1996.
- WOOD, C.M. Influence of feeding, exercise and temperature on nitrogen metabolism and excretion. In: WRIGHT, P., ANDERSON, P. *Nitrogen excretion*. California: Academic Press, p. 201-238, 2001.
- WOODWARD, J. J.; SMITH, L. S. Exercise training and the stress response in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of Fish Biology*, 26: 435-447, 1985.

YOGATA, H.; OKU, H. The effects of swimming exercise on growth and whole-body protein and fat contents of fed and unfed fingerling yellowtail. *Fisheries Science*, 66: 1100-1105, 2000.

YOUNG, P.S.; CECH Jr., J.J. Optimum exercise conditioning velocity for growth, muscular development, and swimming performance in young-of-the-year striped bass (*Morone saxatilis*). *Canadian Journal of Fish and Aquaculture Science*, 51: 1519-1527, 1994.





# CAPÍTULO 10

## CRESCIMENTO MUSCULAR COMPENSATÓRIO E METABOLISMO ENERGÉTICO DE *Cyprinus carpio* REALIMENTADOS APÓS PRIVAÇÃO DE ALIMENTO

Mariana Forgati<sup>1</sup>

Anderson Domingues Gomes

Peter Kirschnik

Flavia Sant'anna Rios

### INTRODUÇÃO

O crescimento dos peixes é um processo integrado que depende de muitos fatores, dentre os quais, a disponibilidade de nutrientes (Aguilar et al., 2005). Muitas espécies de peixes são submetidas a períodos naturais de privação alimentar, devido a flutuações sazonais e espaciais de alimento no ambiente aquático, ou devido a migrações para a reprodução (Figueiredo-Garutti et al., 2002; Souza et al., 2003), sendo capazes de sobreviver, sob estas condições, durante meses, ou até mesmo anos (Shimeno et al., 1990).

Diferentes estudos mostraram que peixes submetidos a jejum prolongado sofrem complexas alterações fisiológicas e metabólicas, variáveis com a espécie e com o período de privação alimentar (Sheridan & Mommsen, 1991), a fim de promover um ajuste biológico. Dentre essas alterações, podem ser citadas a redução da energia armazenada, decréscimo da taxa de crescimento, do metabolismo, da síntese proteica (Rios et al., 2002; Rios et al., 2006), do fator de condição e do peso dos órgãos, principalmente da musculatura (Rios et al., 2002; Rios et al., 2006), uma vez que ela atua

---

Forgati et al. Crescimento muscular compensatório e metabolismo energético de *Cyprinus carpio* realimentados após privação de alimento. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

como importante estoque energético capaz de ser utilizado durante períodos de privação alimentar (Weatherley et al., 1988). No entanto, durante o jejum, os peixes costumam aproveitar a energia catabólica de uma forma mais eficiente, sendo capazes de suprir suas necessidades energéticas sem uma perda muito acentuada de energia pelos tecidos (Rios et al., 2011).

Como Love (1980) afirmou em seu trabalho, os estudos sobre mobilização de reservas energéticas durante o jejum em peixes são bastante contraditórios, porque as respostas dependem da espécie que está sendo estudada, das condições ambientais precedentes ao jejum, do estágio de maturação sexual e da idade do peixe. No entanto, é possível identificar pelo menos dois estágios fisiológicos durante a privação alimentar em peixes, que envolvem eventos metabólicos e controle endócrino diferentes, o período inicial da privação alimentar e a privação alimentar prolongada (Ali et al., 2003). O período inicial do jejum é caracterizado pela mobilização das reservas energéticas disponíveis no momento. Nesse momento, os níveis plasmáticos de glicose na maioria das espécies costumam ser mantidos constantes graças a uma redução dos níveis de insulina, aumento nos níveis de glucagon que, por sua vez, estimula a glicogenólise (Figueiredo-Garutti et al., 2002). Durante o jejum prolongado, ocorre uma intensa perda de massa corporal devido à mobilização de proteínas e lipídeos endógenos. Em períodos extensos de privação alimentar, os níveis de glucagon decaem (Blasco et al., 1992a) e a gliconeogênese e lipólise passam a ser as principais reações de fornecimento energético no peixe em jejum.

Os peixes, caso realimentados após um período de privação alimentar, costumam exibir um crescimento mais acelerado do que se alimentados continuamente, sendo este fenômeno conhecido por crescimento compensatório (Hagen *et al.*, 2009). Por isso, os efeitos da privação de alimento seguido por uma realimentação têm sido estudados várias espécies de interesse comercial.

Sabe-se que o crescimento compensatório varia com o estágio do desenvolvimento, duração do período de jejum/realimentação, higidez, temperatura da água e com a espécie estudada (Shimeno et

al., 1990, Rios et al., 2002; Dal Pai-Silva et al., 2003; Ali et al., 2003).

Existem algumas hipóteses que explicam a ocorrência de crescimento compensatório: (i) O baixo consumo metabólico apresentado no período inicial da realimentação pode resultar em um maior ganho de massa por unidade de alimento ingerido, ou seja, uma maior eficiência na conversão alimentar. (ii) A ocorrência de hiperfagia, ou seja, um maior consumo de alimento após um período de restrição ou privação alimentar, fornece uma maior quantidade de energia disponível para o crescimento (Xie et al., 2001). Ambas as hipóteses propõem que o aumento no crescimento e na conversão alimentar observados durante o crescimento compensatório é um resultado da maior eficiência na utilização energética dos animais realimentados, em relação aos alimentados continuamente (Ali et al., 2003).

Assim, existe um interesse considerável da piscicultura no processo de crescimento compensatório, uma vez que, entendido seus mecanismos, poderão ser estabelecidos programas de alimentação que resultem em uma produção mais eficiente, ou seja, com aumento na taxa de crescimento e eficiência alimentar e redução do custo com alimentação (Souza et al., 2003).

Alguns estudos foram realizados, ao longo dos anos, a fim de verificar os efeitos do jejum seguido por realimentação na carpa (Shimeno et al., 1990; Blasco et al., 1992a, 1992b). Nesses trabalhos foram avaliadas, basicamente, as alterações morfológicas e bioquímicas tanto na musculatura quanto no fígado, bem como as alterações plasmáticas durante a privação e realimentação de carpas adultas. No entanto, é também importante verificar de que maneira os estados jejum-realimentação interferem na fisiologia, metabolismo energético e na celularidade de indivíduos juvenis, que, por ainda não terem um comprometimento com a maturação gonadal e apresentarem um crescimento naturalmente acelerado, podem apresentar respostas distintas dos adultos, quando submetidos à privação seguida por realimentação. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da realimentação após

privação de alimento por 30 dias sobre o crescimento compensatório e o metabolismo energético de juvenis de carpa.

## **ANIMAIS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS**

Os experimentos foram conduzidos de maio a setembro de 2009 no Laboratório de Pesquisa e Piscicultura (LAPEP) da Pontifícia Universidade Católica (São José dos Pinhais, Paraná, Brasil). Foram selecionados 120 juvenis de carpas (*Cyprinus carpio*), com um peso médio de  $24,4 \pm 0,8$  g, sendo esses indivíduos aclimatados em 24 tanques (100 L) por 16 dias, em um sistema semi-fechado com circulação de água contínua, com temperatura ( $23,4 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$ ) e concentração de oxigênio ( $8,9 \pm 0,1$  mg/L) mantidos. Durante a aclimação e bioensaios os animais foram alimentados com ração comercial [Supra Juvenil Gaiola; Alisul Alimentos S/A; 12% de umidade, 14,5% de carboidratos, 42% de proteínas, 9% de gorduras, 4% de fibras, 14% de minerais, 3% de cálcio, 1,5% de fósforo] fornecida uma vez ao dia *ad libitum*. Após a aclimação, os peixes foram distribuídos em 8 situações experimentais em triplicata: controle de 30 dias (C30), controle de 60 dias (C60), jejum por 30 dias (S), realimentados por 3, 7, 14, 30 e 60 dias após o jejum (R3, R7, R14, R30 e R60, respectivamente).

## **PROCEDIMENTOS DE AMOSTRAGEM**

Amostras de sangue foram retiradas por punção caudal com seringas e agulhas com EDTA 5%. O sangue foi centrifugado (15.650 xg;  $4^{\circ}\text{C}$ ; 10 minutos) para a obtenção do plasma, utilizado para a determinação dos seguintes intermediários metabólicos: proteínas totais, triglicerídeos, colesterol (total e HDL, sendo que o LDL foi calculado da diferença entre total e HDL), glicose, determinados colorimetricamente através de kits comerciais (Laborlab).

A partir dos dados biométricos, foi calculado o fator de condição (Le-Cren, 1951):

$$K = 100(TW/SL^3)$$

onde TW = Total body weight and SL = standard length.

Foi calculada, também, a taxa de crescimento relativo (TCR) (Ricker, 1958):

$$TCR = (e^g - 1) \cdot 100$$
$$g = (\ln TW_2 - \ln TW_1) / (t_2 - t_1)$$

onde:  $TW_2$  e  $TW_1$  são os pesos totais dos peixes medidos em  $t_2$  e  $t_1$ , respectivamente.

Os animais foram, então, anestesiados com Benzocaína 0,1% e sacrificados através de secção medular. Amostras de músculo branco foram fixadas em Paraformaldeído 2% em tampão fosfato de sódio (PB) a 0,1M em imersão por 3h a temperatura ambiente. As amostras foram submetidas ao protocolo de microscopia, com emblocagem em Paraplast Plus® e cortes (7  $\mu\text{m}$ ) obtidos em micrótomo. As imagens analisadas em microscópio de luz (Olympus BH-10AD) foram digitalizadas através de uma câmera digital (Sony Cybershot® 13,2 MP). Através do software ImageJ 1.42q, as imagens capturadas das lâminas do tecido muscular foram submetidas à morfometria. Foram analisados cerca de 2 campos aleatórios em 2 lâminas de cada indivíduo (n=15), totalizando no máximo 60 e no mínimo 40 campos para cada tratamento. Para determinação da espessura, foram analisadas 6 fibras musculares de cada campo capturado com espessura de 80.000  $\mu\text{m}^2$ . Para determinação da densidade de fibras, foi contabilizado o número de fibras da musculatura em seção transversal em um quadrante com de 80.000  $\mu\text{m}^2$ . As fibras foram divididas em dois grupos de acordo com o tamanho, sendo consideradas pequenas (com espessura inferior a 2.000  $\mu\text{m}^2$ ) e grandes (com espessura superior a 2.000  $\mu\text{m}^2$ ).

Amostras da musculatura branca dos peixes (músculo epaxial) foram congeladas (-20°C) para a determinação de concentração de proteínas (Lowry et al., 1951), lipídios (Folch et al., 1957) e carboidratos totais (Dubois et al., 1956, modificado por Bidinoto et al., 1997). O conteúdo de água foi obtido a partir da perda de massa das amostras após 48h a 100°C. O conteúdo de minerais (cinzas) foi obtido após a queima das amostras previamente desidratadas em forno mufla (600°C por 4h).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados numéricos foram analisados através do software Biostat (5.0). Após a verificação da distribuição dos dados usando o teste Kolmogorov-Smirnov, foram aplicados testes paramétricos (ANOVA, com pós-teste de Tukey-Kramer).

## CRESCIMENTO

Conforme pode ser verificado na Tabela 1, o jejum de 30 dias resultou em uma diminuição de aproximadamente 12% do peso corporal total e de 5 % do comprimento padrão em relação aos valores iniciais. Apenas após 30 dias de realimentação é que foi verificado um percentual de crescimento em massa e em comprimento positivos. Em R60, o percentual de crescimento em massa e em comprimento chega a superar os valores apresentados por C30 e C60.

**Tabela 1.** Variação dos parâmetros corporais em exemplares de *Cyprinus carpio* submetidas a jejum seguido por realimentação. Legenda: CP = comprimento padrão; CT = comprimento total; TCR = taxa de crescimento relativo; PC = peso da carcaça; K = fator de condição. Os resultados de PC e K são expressos como média  $\pm$  SEM (n=15). Letras diferentes indicam diferenças significativa ( $p < 0.05$ ) entre os tratamentos.

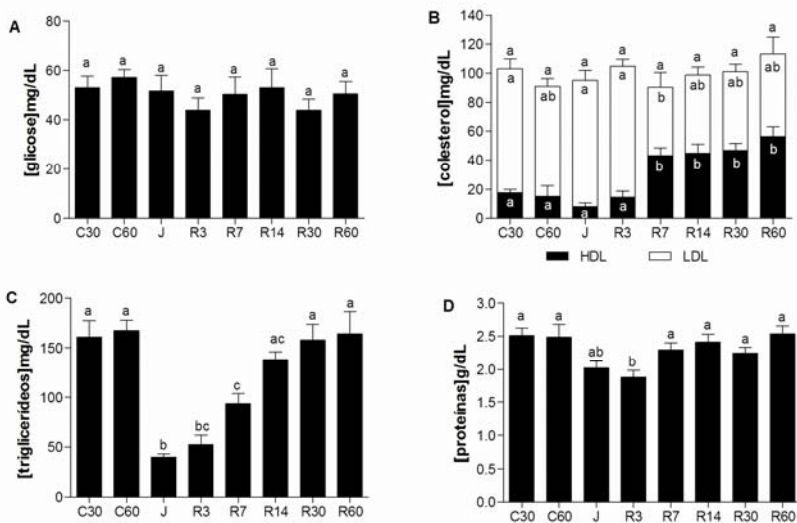
| Grupo      | CP (%) | CT (%) | TCR (%/dia) | PC (g)                         | K                            |
|------------|--------|--------|-------------|--------------------------------|------------------------------|
| C30        | 6,55   | 16,79  | 0,52        | 28,49 $\pm$ 2,77 <sup>a</sup>  | 3,02 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup> |
| C60        | 9,38   | 31,87  | 0,46        | 21,17 $\pm$ 1,60 <sup>a</sup>  | 3,64 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup> |
| F          | -4,58  | -11,74 | -0,42       | 20,94 $\pm$ 1,65 <sup>b</sup>  | 3,08 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup> |
| <b>R3</b>  | -7,61  | -12,93 | -0,42       | 22,12 $\pm$ 2,18 <sup>ab</sup> | 3,45 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup> |
| <b>R7</b>  | -6,18  | -13,11 | -0,38       | 21,86 $\pm$ 2,26 <sup>ab</sup> | 3,21 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup> |
| <b>R14</b> | -0,14  | -9,85  | -0,23       | 21,57 $\pm$ 1,71 <sup>ab</sup> | 2,96 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup> |
| <b>R30</b> | 2,52   | 12,85  | 0,20        | 26,32 $\pm$ 2,42 <sup>a</sup>  | 3,37 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup> |
| <b>R60</b> | 12,84  | 50,37  | 0,45        | 38,70 $\pm$ 3,90 <sup>c</sup>  | 3,29 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup> |

Os indivíduos submetidos ao jejum de 30 dias apresentam uma TCR negativa. Durante a realimentação, a TCR aumenta gradativamente, chegando a ficar positiva apenas R30. Em R60, a TCR chega a valores semelhantes aos apresentados por C30 e C60. O fator de condição (K) não se alterou ao longo do experimento de

jejum seguido por realimentação. O peso da carcaça (peso total menos as vísceras) é um indicador do peso da musculatura e foi significativamente menor em S. A partir de R3, o peso da carcaça se tornou semelhante a C30 e C60. No entanto, em R60, o peso da carcaça é significativamente maior ( $p < 0,05$ ) que nos demais tratamentos, sendo que em relação a C30 e C60, esse aumento foi de 19,65% e 38,56%, respectivamente.

## INTERMEDIÁRIOS METABÓLICOS

As concentrações plasmáticas de glicose (Figuras 1A) não variaram significativamente durante a privação de alimento seguida por realimentação em *C. carpio*. A concentração de colesterol total no plasma da carpa não variou significativamente entre os tratamentos (Fig. 1B). A concentração de colesterol tipo LDL foi semelhante em praticamente todos os tratamentos, com exceção de R7, já que a concentração foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que C30, J e R3 (Figura 1B). A concentração de colesterol tipo HDL foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em C30, C60, J e R3, em relação aos demais tratamentos. Em J, a concentração plasmática de triglicerídeos diminuiu significativamente, em relação a C30 e C60 ( $p < 0,05$ ) (Fig. 1C). Ao longo da realimentação, essa concentração aumentou gradativamente, sendo que já em R14, a mesma retorna a valores semelhantes a C30 e C60. A concentração plasmática de proteínas foi semelhante entre C30, C60, J, R7, R14, R30 e R60. Em R3, a concentração foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ), porém semelhante a J. A concentração plasmática de proteínas foi semelhante entre C30, C60, J, R7, R14, R30 e R60. Em R3, no entanto a concentração de proteínas no plasma foi significativamente menor ( $P < 0,05$ ) que estes grupos, porém semelhante ao J (Figura 1D).

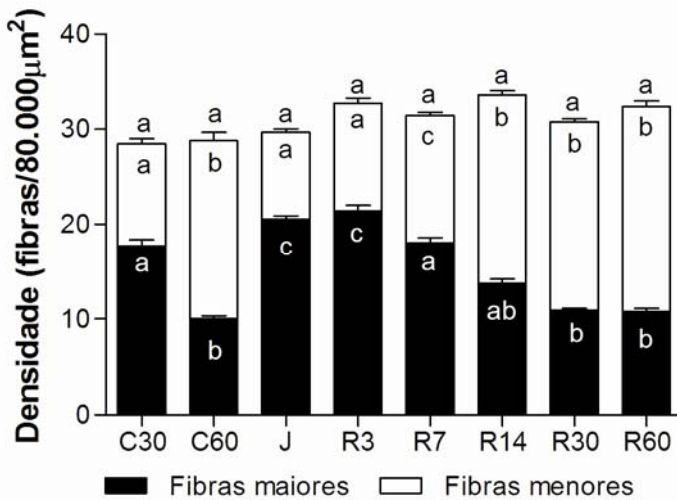


**Figura 1** - Níveis plasmáticos de glicose (A), colesterol (B), triglicerídios (C) e proteínas (D) em *Cyprinus carpio* após privação de alimento seguida por realimentação. Dados expressos como média  $\pm$  sem ( $n=15$ /grupo). Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa ( $p<0,05$ ); para o colesterol, letras diferentes dentro das barras cinza claro indicam diferença significativa ( $p<0,05$ ) colesterol do tipo LDL, e dentro das barras cinza escuro para colesterol do tipo HDL. Legenda: C30 = alimentados por 30 dias (controle de 30 dias), C60 = alimentados por 60 dias (controle de 60 dias) J = jejum por 30 dias, R3, R7, R14, R30 e R60 = realimentados por 3, 7, 14, 30 e 60 dias, respectivamente, após 30 dias de jejum.

## MORFOMETRIA DAS FIBRAS MUSCULARES

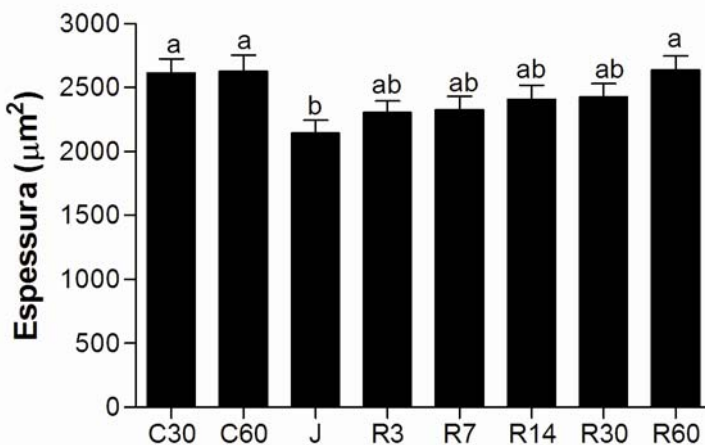
A densidade total de fibras não alterou em resposta ao jejum seguido pela realimentação. No entanto, verificaram-se mudanças nas densidades de fibras maiores e menores. J e R3 apresentaram uma maior ( $p<0,05$ ) densidade de fibras maiores em relação a C30 e C60. A partir R7, no entanto, observa-se uma redução na densidade de fibras maiores, sendo que, em R30 e R60, a densidade de fibras maiores passa a ser semelhante a C60. C30, J e R3 apresentaram menor densidade de fibras musculares menores em relação aos demais grupos. A partir de R14, a densidade de fibras menores passou a ser significativamente maior que os demais tratamentos, sendo semelhantes aos valores apresentados por C60 (Figura 2).





**Figura 2.** Densidade de fibras maiores (com espessura superior a  $2.000 \mu\text{m}^2$ ) e menores (com espessura inferior a  $2.000 \mu\text{m}^2$ ) em uma área de  $80.000 \mu\text{m}^2$  em *Cyprinus carpio* após experimento de privação alimentar seguido por realimentação. Dados expressos como média  $\pm$  SEM ( $n=15/\text{grupo}$ ). Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para densidade absoluta de fibras. Letras diferentes dentro das barras cinza claro indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para densidade de fibras menores, e dentro das barras cinza escuro para densidade de fibras maiores. Legenda: C30 = alimentados por 30 dias (controle de 30 dias), C60 = alimentados por 60 dias (controle de 60 dias) J = jejum por 30 dias, R3, R7, R14, R30 e R60 = realimentados por 3, 7, 14, 30 e 60 dias, respectivamente, após 30 dias de jejum.

A espessura das fibras musculares foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em J. Com a realimentação, a espessura das fibras musculares aumenta, sendo semelhante à C30 e C60 (Fig. 3).



**Figura 3.** Espessura das fibras musculares ( $\mu\text{m}^2$ ) em *Cyprinus carpio* após experimento de privação alimentar seguido por realimentação. Dados expressos como média  $\pm$  SEM ( $n=15/\text{grupo}$ ). Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa ( $p<0,05$ ). Legenda: C30 = alimentados por 30 dias (controle de 30 dias), C60 = alimentados por 60 dias (controle de 60 dias) J = jejum por 30 dias, R3, R7, R14, R30 e R60 = realimentados por 3, 7, 14, 30 e 60 dias, respectivamente, após 30 dias de jejum

### COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO MÚSCULO

O percentual de água aumentou significativamente ( $p<0,05$ ) em S, em relação a C30 e C60. Após a realimentação, o percentual de água começa a reduzir novamente. O percentual de minerais foi semelhante em todos os tratamentos. A concentração de proteínas totais na musculatura branca foi semelhante em todos os tratamentos. A concentração de lipídios na musculatura branca foi semelhante entre C30, C60, R30 e R60. S, R3 e R7, no entanto, apresentaram uma concentração de lipídeos significativamente menor ( $p<0,05$ ). Em R14, a concentração de lipídeos foi intermediária. A concentração de glicogênio foi semelhante em C30, C60, R3, R7 e R14, sendo que estes tratamentos apresentaram os menores valores ( $p<0,05$ ). Em R30 e R60, a concentração de glicogênio foi significativamente maior. Em R14, a concentração de glicogênio apresentou intermediários (Tabela 2).

**Tabela 2.** Composição centesimal da musculatura de *Cyprinus carpio* submetidas à privação alimentar seguida por realimentação. Dados expressos como média  $\pm$  sem (n=15/grupo). Letras diferentes indicam diferença significativa (p<0,05). Legenda: C30 = alimentados por 30 dias (controle de 30 dias), C60 = alimentados por 60 dias (controle de 60 dias) J = jejum por 30 dias, R3, R7, R14, R30 e R60 = realimentados por 3, 7, 14, 30 e 60 dias, respectivamente, após 30 dias de jejum.

| Grupos | [Proteínas] (mg/g)            | [Lipídios] (mg/g)             | Unidades de glicosil-glicose (mmol/g) | H <sub>2</sub> O (%)           | Minerais (%)                 |
|--------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| C30    | 33,65 $\pm$ 3,44 <sup>a</sup> | 2,24 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>  | 412,70 $\pm$ 50,79 <sup>a</sup>       | 76,31 $\pm$ 0,98 <sup>a</sup>  | 2,12 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup> |
| C60    | 30,59 $\pm$ 2,10 <sup>a</sup> | 2,35 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>  | 368,25 $\pm$ 49,52 <sup>a</sup>       | 76,31 $\pm$ 0,90 <sup>ac</sup> | 1,80 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup> |
| J      | 25,84 $\pm$ 3,82 <sup>a</sup> | 1,13 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>  | 253,96 $\pm$ 38,90 <sup>a</sup>       | 78,52 $\pm$ 0,98 <sup>b</sup>  | 2,00 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup> |
| R3     | 31,39 $\pm$ 3,25 <sup>a</sup> | 1,38 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>  | 323,85 $\pm$ 19,05 <sup>a</sup>       | 77,79 $\pm$ 0,97 <sup>bc</sup> | 1,95 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup> |
| R7     | 33,69 $\pm$ 4,20 <sup>a</sup> | 1,43 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>  | 409,52 $\pm$ 38,09 <sup>a</sup>       | 77,54 $\pm$ 0,98 <sup>bc</sup> | 2,12 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup> |
| R14    | 40,96 $\pm$ 4,97 <sup>a</sup> | 1,81 $\pm$ 0,19 <sup>ab</sup> | 488,89 $\pm$ 31,75 <sup>ab</sup>      | 77,62 $\pm$ 0,98 <sup>bc</sup> | 1,80 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup> |
| R30    | 41,54 $\pm$ 4,21 <sup>a</sup> | 2,43 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>  | 609,52 $\pm$ 69,84 <sup>b</sup>       | 77,29 $\pm$ 1,06 <sup>bc</sup> | 1,85 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup> |
| R60    | 39,62 $\pm$ 7,26 <sup>a</sup> | 2,59 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>  | 685,71 $\pm$ 56,51 <sup>b</sup>       | 76,96 $\pm$ 1,02 <sup>c</sup>  | 2,07 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup> |

Períodos de jejum são frequentes durante todo o ciclo de vida dos peixes, sendo esperado que haja uma reorganização altamente controlada do metabolismo e do comportamento destes animais permitindo sua sobrevivência (Rios et al., 2002). Assim que o alimento volta a estar disponível, ele é rapidamente utilizado para recompor os componentes corporais utilizados durante o jejum (Méndez & Wieser, 1993), sendo observado, nessa fase, um reajuste da taxa de crescimento, que passa a acontecer de forma relativamente acelerada para compensar os desvios da trajetória ideal de crescimento experimentados durante a privação alimentar (Xie, et al., 2001).

Conforme o esperado, as carpas juvenis alimentadas continuamente por 60 dias (C60) cresceram em peso e em comprimento aproximadamente o dobro daqueles alimentados por 30 dias (C30), sendo que ambos os grupos apresentaram TCR semelhante, que resultou em um ganho de aproximadamente 0,5 % ao dia. Este crescimento apresentado pelos animais alimentados normalmente por 60 dias ocorreu devido a uma hiperplasia das fibras musculares. A densidade absoluta de fibras manteve-se semelhante em todos os tratamentos. No entanto, os grupos que apresentaram um aumento no percentual de crescimento, como o controle de 60 dias, a densidade de fibras com menor espessura foi superior à densidade de fibras com maior espessura. Estas fibras menores foram assumidas como sendo originadas a partir das células mio-satélites, participando, dessa forma, do crescimento hiperplásico.

Durante o jejum, é observada uma alteração na atividade metabólica, sendo que, durante este período, processos essenciais são mantidos através das reservas energéticas endógenas, resultando, assim, em uma perda de massa (Zamal & Ollevier, 1995). Trinta dias de privação de alimento levaram a valores negativos de TCR, sendo que os peixes não apenas perderam massa corporal, mas também sofreram um encurtamento. Isto pode ser explicado pela extensa perda de massa muscular, evidenciada pela retração das fibras musculares (diminuição da espessura em seção transversal),

diminuição na densidade de fibras menores e pela diminuição da massa da carcaça observadas nas carpas estudadas.

Essa redução em comprimento e em massa dos indivíduos submetidos à privação alimentar resultou em uma manutenção do fator de condição (K) ao longo de todo o experimento, ao contrário do que se tem observado em diferentes espécies de peixes como *C. carpio* (Shimeno et al., 1990), *Clarias gariepinus* (Zamal & Ollevier, 1995), *H. malabaricus* (Rios et al., 2002; Rios et al., 2006) e *Prochilodus lineatus* (Rios et al., 2011), nos quais o K diminuiu com a privação alimentar. No entanto, Sumpter et al.(1991) em estudos experimentais de privação alimentar com de *O. mykiss* 0+ e 1+, observaram que os efeitos da privação alimentar são maiores em peixes mais jovens. Isso sugere a existência de um padrão diferente na alocação de massa quando se compara juvenis e adultos.

No terceiro dia de realimentação, observa-se uma TCR semelhante ao dos indivíduos submetidos ao jejum, sendo que ainda ocorre uma redução em comprimento e em massa. De sete a catorze dias de realimentação, no entanto, já se observa um relativo aumento na TCR, com conseqüente aumento no percentual de crescimento em comprimento e em massa. Houve um maior incremento em comprimento que em massa nesses grupos (R7 e R14), em relação ao grupo em jejum, o que pode ser explicado pela densidade aumentada de fibras de menor espessura, indicando um crescimento hiperplásico. É provável que as reservas estocadas em outros órgãos, como fígado e gordura perivisceral não tenham sido completamente recuperadas nestes primeiros dias de realimentação, o que justificaria o baixo peso dos animais.

Essa relativa demora na recuperação do crescimento pode ser explicada pelo seguinte motivo. No período imediatamente após a alteração do estado jejum/realimentação, a taxa metabólica do animal pode ainda não ter retornado ao mesmo nível do animal alimentado continuamente (Jobling, 1993). Ou seja, a readaptação do regime alimentar pode requerer certo tempo, sendo que baixas taxas metabólicas ainda podem ser mantidas mesmo que os animais já estejam se alimentando normalmente após o jejum. Além disso, os

animais realimentados após o jejum priorizam a restauração dos componentes corporais e reservas energéticas em vez do tamanho corporal (Rios et al., 2002). De fato, assim que as carpas começaram a ser realimentadas após o período de inanição, observou-se uma recuperação, ainda que não significativa, dos substratos energéticos na musculatura branca.

Os peixes voltam a apresentar uma TCR positiva, aumentando tanto em peso quanto em comprimento, após 30 dias de realimentação (R30). Neste grupo, as análises morfométricas indicaram a formação de novas fibras musculares (hiperplasia).

Em relação ao metabolismo energético durante o jejum, tem-se observado que os peixes apresentam estratégias diferenciadas na mobilização de carboidratos durante a privação alimentar, sendo que neste período é possível observar uma total depleção, depleção parcial ou completa proteção do glicogênio (Sheridan & Mommsen, 1991).

Sabe-se que o percentual de carboidratos na musculatura branca dos peixes é usualmente baixo, se comparado com o fígado (Figueiredo-Garrutti et al., 2002). No entanto, devido ao fato de a musculatura compreender grande porção do corpo do peixe (Almeida, 2007), observa-se uma grande contribuição dessa estrutura na mobilização de glicogênio durante o jejum, tanto que, em *Notopterus notopterus*, *Claria batrachus* (Love, 1980) e *Hoplias malabaricus* (Rios et al., 2006) o glicogênio foi o primeiro substrato energético a ser utilizado, chegando à quase completa exaustão nos primeiros dias de jejum. No entanto, *Micropterus salmoides*, *Anguilla anguilla*, *Dicentrarchus labrax*, *Esox lucius* e *Lampetra fluviatilis* (Love, 1980) mobilizam lipídeos durante o jejum inicial, para preservar parcialmente as reservas de glicogênio. Se o jejum é prolongado, ocorre, então, uma progressiva mobilização de proteína muscular e hepática (Sheridan & Mommsen, 1991), protegendo, dessa forma, parcialmente as reservas de glicogênio.

No presente estudo, não houve diferença significativa quanto ao conteúdo de glicogênio no músculo dos peixes alimentados continuamente (C30 e C60), privados de alimento e realimentados

por até 14 dias. Essa manutenção do glicogênio muscular da carpa submetida à privação de alimento pode ser uma consequência da utilização alternativa de lipídeos e proteínas como substratos energéticos durante o jejum. Outra explicação seria a de alguns peixes mobilizarem o glicogênio muscular apenas após a exaustão das reservas de glicogênio hepático (Collins & Anderson, 1997), fato este já observado por Blasco et al. (1992b) em um estudo com a carpa.

A importância de se manter alguma reserva de glicogênio reside no fato desta molécula ser uma fonte energética de fácil acesso, podendo ser utilizada em situações de natação “explosiva”, como por exemplo, a captura de alimento quando esse volta a estar disponível no ambiente (Rios, 2001).

A queda dos níveis de lipídeos musculares observadas durante o jejum da carpa confirma a sua extensa utilização durante o período de privação alimentar. Embora os tecidos com maiores estoques de lipídeos (fígado e gordura perivisceral) não tenham sido analisados, a literatura confirma sua importância como fonte de energia durante os períodos de inanição. A concentração de proteínas na musculatura branca da carpa foi semelhante entre os diferentes tratamentos. Isto, no entanto, não significa que este substrato não tenha sido utilizado no metabolismo energético durante o jejum. A análise quantitativa de proteínas foi realizada em um grama de tecido muscular, composto predominantemente por proteínas, havendo, naturalmente, uma baixa proporção dos demais componentes, exceto a água. Analisando, no entanto, a variação do peso da carcaça, bem como a morfometria das fibras musculares ao longo do experimento, verifica-se uma redução significativa deste após o período de jejum, indicando um consumo de musculatura para o fornecimento de aminoácidos como fonte de energia para o jejum.

A hidratação de tecidos durante a privação alimentar tem sido extensivamente observada nos estudos ao longo dos anos (Black & Love, 1986; Blasco et al., 1992a; Méndez & Wieser, 1993; Zamal & Ollevier, 1995). A carpa, após o jejum, exibiu um aumento

do percentual de água na musculatura branca. Love (1980) justifica essa hidratação de tecidos após o jejum devido ao fato de percentual de água ser inversamente proporcional à concentração de proteínas (peixes “não-gordurosos”) e de lipídeos (peixes “gordurosos”). Como a carpa está incluída na categoria de peixes com conteúdo médio de lipídeos (Marcu et al., 2010), o aumento do percentual de água na musculatura é devido, possivelmente, ao catabolismo tanto de lipídeos como de proteínas durante a privação de alimento.

À medida que se prossegue com a realimentação, observa-se um aumento gradativo do peso da carcaça simultâneo a um aumento da densidade de fibras musculares com menor espessura, indicando, dessa forma, um crescente aumento de massa muscular devido ao acréscimo de novas fibras (hiperplasia). Esses resultados somados à recuperação do conteúdo de lipídeos e ao aumento das reservas de glicogênio explicam o ganho de peso dos peixes a partir dos 30 dias de realimentação.

Os peixes realimentados por 30 e 60 dias após jejum apresentaram níveis de glicogênio superiores aos dos controles. Isso sugere uma alteração metabólica desses animais, passando a estocar quantidades aumentadas de glicogênio, possivelmente para garantir reservas para um eventual novo período de privação.

O plasma é um importante transportador de compostos energéticos de um órgão para outro, sendo que, a concentração dos intermediários metabólicos parece refletir sua importância como fonte de energia durante o jejum (Shimeno et al., 1990). Já é bem documentado que os níveis de glicose podem ser mantidos durante o jejum inicial graças à redução dos níveis de insulina e aumento nos níveis de glucagon, que promovem um fornecimento de glicose através das reações de glicogenólise, que ocorrem no fígado (Blasco et al., 1992b; Figueiredo-Garutti et al., 2002). Em períodos extensos de privação alimentar, por outro lado, os níveis de glucagon decaem (Blasco et al., 1992b), reduzindo, dessa forma, os níveis de glicose. A partir de então, a gliconeogênese e lipólise passam ser as principais reações de fornecimento energético no peixe em jejum (Sheridan & Mommsen, 1991). A traíra *H. malabaricus* consegue manter



constantes os níveis plasmáticos de glicose, mesmo após um longo período de jejum (240 dias) (Rios et al., 2006).

Neste trabalho, nós observamos a manutenção dos níveis plasmáticos de glicose ao longo dos 30 dias de privação alimentar e 60 dias de realimentação, corroborando achados de Shimeno et al. (1990) e Blasco et al. (1992a), que observaram que a carpa *C. carpio*, assim como *G. morhua* (Black & Love, 1986), consegue manter os níveis plasmáticos de glicose por até 70 dias de jejum, sendo que após esse período a glicemia decai consideravelmente. A perda de massa muscular nas carpas analisadas provavelmente indica quebra de proteínas, disponibilizando aminoácidos como fonte de glicose via gliconeogênese, já que muitos tecidos (eritrócitos, testículos, porção medular do rim, sistema nervoso, etc.) utilizam glicose como substrato energético.

O transporte de lipídeos para os sítios de utilização é realizado pelos ácidos graxos livres plasmáticos, resultantes das quebras de triglicerídeos. Logo, altos níveis de ácidos graxos, concomitantemente com baixos níveis de triglicerídeos no plasma confirmam o papel da mobilização de lipídeos para o fornecimento de energia durante o jejum (Souza, 1998).

Conforme o esperado, o jejum de 30 dias provocou uma diminuição nas concentrações plasmáticas de triglicerídeos, corroborando os resultados obtidos para *G. morhua* (Black & Love, 1986), *C. carpio* (Shimeno et al., 1990), *Brycon amazonicus* (Figueiredo-Garrutti et al., 2002) e *H. malabaricus* (Rios et al., 2006). A concentração de ácidos graxos circulantes também poderia ser responsável pela manutenção da glicemia, uma vez que estas moléculas inibem a utilização de glicose pelos tecidos periféricos, assim como promovem a liberação de glicose pelo fígado (Plisetskaya, 1980).

Após a realimentação, os níveis de triglicerídeos da carpa voltaram a aumentar, chegando a ser semelhantes ao dos animais alimentados continuamente por 30 e 60 dias a partir do 14<sup>o</sup> dia de realimentação.

Em relação às proteínas plasmáticas totais, foi observado que a carpa submetida ao jejum de 30 dias apresentou uma redução significativa na concentração destes intermediários metabólicos. Muitos autores (Shimeno et al., 1990) relatam que a privação alimentar resulta em uma diminuição na concentração plasmática de proteínas totais, justificando que a baixa disponibilidade de energia prejudique o funcionamento das enzimas hepáticas que participam da síntese dessas proteínas.

Quanto às concentrações plasmáticas de colesterol, tem-se que o jejum não alterou a proporção entre HDL e LDL, em relação aos animais alimentados continuamente (C30 e C60), sendo que os níveis de HDL mantiveram-se abaixo dos níveis de LDL. A partir do 7º dia de realimentação, no entanto, o que se observa é uma tendência dos níveis de HDL serem equivalentes aos de LDL (1:1). Isto indica que a realimentação provocou uma alteração no metabolismo de lipídios nos peixes, quando comparados aos controles e mantidos pelos indivíduos em jejum, em que a proporção de LDL e HDL era de aproximadamente 4:1.

Os valores superiores de comprimento, peso corporal e peso da carcaça permitem afirmar que os peixes realimentados por 60 dias após 30 dias de jejum apresentaram crescimento compensatório, mostrando ser possível o desenvolvimento de técnicas de manejo alimentar mais econômicas sem que, aparentemente, processos fisiológicos importantes sejam afetados.

O crescimento compensatório ocorre pois os animais realimentados podem se tornar hiperfágicos (se alimentar mais). Em alguns casos, no entanto, os animais realimentados apresentam uma recuperação do crescimento bastante rápida através de uma melhor conversão alimentar (ganho de peso por unidade de alimento consumido) que os animais alimentados continuamente, sem necessariamente tornarem-se hiperfágicos (Jobling, 1993). Esse parece ser o caso de *C. carpio*, que consumiram, durante o período de realimentação, a mesma porção de alimento fornecida ao grupo controle. Isto sugere a possibilidade de que o aumento da conversão alimentar possa estar relacionado às diferenças nos gastos

metabólicos entre os animais realimentados após restrição/privação alimentar e os animais alimentados continuamente (Jobling, 1993).

A privação alimentar de 30 dias alterou consideravelmente os índices biométricos (peso e comprimento) e bioquímicos (composição centesimal da musculatura e determinantes plasmáticos) da carpa, uma vez que houve a necessidade de manutenção dos processos vitais essenciais. À medida que os peixes foram realimentados, observou-se uma tendência dos mesmos a apresentarem as mesmas condições dos animais alimentados normalmente (C30 e C60), sendo que foi priorizada a recuperação dos componentes estruturais e reservas energéticas à recuperação do crescimento.

Trinta dias de realimentação foi tempo suficiente para os peixes recuperarem as perdas sofridas durante o jejum por 30 dias. Sessenta dias de realimentação levou a um crescimento compensatório, possivelmente devido a uma melhor conversão alimentar, resultando em: (i) aumento das reservas energéticas de glicogênio muscular, aumentando potencialmente o desempenho desses peixes na busca por alimento e fuga de predadores; (ii) aumento da massa muscular através de crescimento hiperplásico, o que potencializa a formação de carne no peixe adulto; e (iii) a recuperação dos níveis de lipídios muscular, indicando a manutenção da qualidade da carne.

Muitos trabalhos analisaram o crescimento compensatório em ciclos alternados de privação/realimentação e observaram um supercompensação do crescimento, ou seja, os animais submetidos a este programa de alimentação exibem um crescimento superior aos animais alimentados continuamente (Ali et al., 2003).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Tendo em vista uma melhor produção com menor custo com a alimentação, seria interessante adotar esse tipo de programa alimentar para a carpa, uma vez que o mesmo não prejudica a qualidade do produto final a ser comercializado. Pois o jejum de 30 dias resultou em um taxa de crescimento negativa, responsável pela

diminuição de massa e comprimento equivalentes, o que resultou em uma manutenção do fator de condição. A redução do peso da carcaça, juntamente com a diminuição da espessura das fibras musculares (atrofia) e a hidratação da musculatura, indica que componentes estruturais (lipídeos e proteínas) do músculo foram utilizados no metabolismo energético durante o jejum.

A redução dos níveis plasmáticos de triglicerídeos e proteínas confirmam essa utilização. O glicogênio muscular foi parcialmente poupado a custo de proteínas e lipídeos, enquanto que a glicemia foi mantida graças às reações de glicogenólise e gliconeogênese. As alterações entre a proporção de HDL e LDL refletem em uma alteração no metabolismo de lipídios após a realimentação. Tanto os peixes alimentados continuamente por 60 dias quanto aqueles realimentados por 30 e 60 dias após 30 dias de jejum apresentaram crescimento hiperplásico. A realimentação progressiva priorizou, num primeiro momento, recuperação dos componentes estruturais e reservas energéticas e, em seguida, o crescimento. Até os 30 dias de realimentação observou-se uma recuperação do crescimento em comparação aos peixes alimentados continuamente. Após os 60 dias de realimentação, no entanto, o que se observa é uma total compensação do crescimento da carpa, através de uma melhor conversão alimentar (maior ganho de peso por unidade de alimento consumido).

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D.H.; BARROS, M.M.; PADOVANI, C.R.; PEZZATO, L.E.; DAL PAI-SILVA, M. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. *Journal of Fish Biology*, 67: 1287-1298, 2005.
- ALI, M.; NICIEZA, A.; WOOTTON, R.J. Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and Fisheries*, 4: 147-190, 2003.
- BIDINOTO, P. M.; MORAES G.; SOUZA, R. H. S. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical fresh water teleost fish: a procedure for field determinations of micro samples. *Boletim Técnico do CEPTA*, 10: 53-60, 1997.
- BLACK, D.; LOVE, M. The sequential mobilization and restorations of energy reserves in tissue of Atlantic cod during starvation and refeeding. *Journal of Comparative Physiology B*, 156: 469-479, 1986.

- BLASCO, J.; FERNÁNDEZ, J.; GUTIÉRREZ, J. Variations in tissue reserves, plasma metabolites and pancreatic hormones during fasting in immature carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 103A: 357-363, 1992a.
- BLASCO, J.; FERNÁNDEZ, J.; GUTIÉRREZ, J. Fasting and refeeding in carp, *Cyprinus carpio* L.: the mobilization of reserves and plasma metabolite and hormones variations. *Journal of Comparative Physiology B*, 162: 539-546, 1992b.
- COLLINS, A. L.; ANDERSON, T. A. The influence of changes in food availability on the activities of key degradative and metabolic enzymes in the liver and epaxial muscle of the golden perch. *Journal of Fish Biology*, 50: 1158-1165, 1997.
- DAL PAI-SILVA, M.; CARVALHO, R. F.; PELLIZZON, C. H.; DAL PAI, V. Muscle growth in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): histochemical, ultrastructural and morphometric study. *Tissues & Cells*, 35: 179-187, 2003.
- FIGUEIREDO-GARUTTI, M.L.; NAVARRO, I.; CAPILLA, E.; SOUZA, R.H.; MORAES, G.; GUTIÉRREZ, J.; VICENTINI-PAULINO, M.L. Metabolic changes in *Brycon cephalus* (Teleostei, Characidae) during post-feeding and fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 132: 467-476, 2002.
- HAGEN, Ø.; FERNANDES, J.M.; SOLBERG, C.; JOHNSTON, I.A. Expression of growth-related genes in muscle during fasting and refeeding of juvenile Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 152: 47-56, 2009.
- JOBLING, M. Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. In: RANKIN, J.C.; JENSEN, F.B. (Ed). *Fish Ecophysiology*. Londres: Chapman & Hall, p. 1-44, 1993.
- LE-CREN, E. D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonadal weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology*, 20: 201-219, 1951.
- LOVE, R.M. Feeding and Starving. *The Chemical Biology of Fishes*. Vol. 2. Londres: Academic Press, p. 133-229, 1980.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N.J; FARR, A L. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275, 1951.
- MARCU, A.; NICHITA, I.; NICULA, M.; MARCU, A.; KELCIOV, B. Studies regarding the meat quality of the specie *Cyprinus carpio*. *Lucrări Științifice Medicină Veterinară*, 43, 265-270, 2010.
- MÉNDEZ, G.; WIESER, W. Metabolic responses to food deprivation and refeeding in juveniles of *Rutillus rutillis* (Teleostei: Cyprinidae). *Environmental Biology of Fishes*, 36: 73-81, 1993.
- PLISETSKAYA, E. M. Fatty acid levels in blood of cyclostomes and fish. *Environmental Biology of Fishes*, 5: 273-290, 1980.
- RICKER, W. E. *Handbook of computations for biological statistics of fish populations*. Ottawa: Fisheries Research Board of Canada, 1958.
- RIOS, F. S. Metabolismo energético de *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1974) (Erythrinidae) submetidas à privação de alimento e à realimentação. 104 p. Tese (Doutorado em Ciências) Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2001.

- RIOS, F. S.; KALININ, A.L. L.; RANTIN, F.T. The effects of long-term food deprivation on respiration and haematology of the Neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Journal of Fish Biology*, 61: 85-95, 2002.
- RIOS, F. S.; MORAES, G.; OBA, E. T.; FERNANDES, M. N.; DONATTI, L.; KALININ, A. L.; RANTIN, F. T. Mobilization and recovery of energy stores in traíra, *Hoplias malabaricus* Bloch (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after re-feeding. *Journal of Comparative Physiology*, 176: 721-728, 2006.
- RIOS, F.S.; DONATTI, L.; FERNANDES, M.N.; KALININ, A. L.; RANTIN, F.T. Effects of food deprivation in muscle structure and composition of traíra (*Hoplias malabaricus*): potential implications on flesh quality. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(2): 465-471, 2009.
- RIOS, F S; CARVALHO, C. S.; PINHEIRO, G.H. D.; DONATTI, L. FERNANDES, M. N. RANTIN, F. T. Utilization of endogenous reserves and effects of starvation on the health of *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae). *Environmental Biology of Fishes*, 91: 87-94, 2011.
- SHERIDAN, M. A.; MOMMSEN, T. P. Effects of nutritional state on in vivo lipid and carbohydrate metabolism of Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *General and Comparative Endocrinology*, 81: 473-483, 1991.
- SHIMENO, S.; KHEYYALI, D.; TAKEDA, M. Metabolic adaptation to prolonged starvation in carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56: 35-41. 1990.
- SOUZA, V.L.; URBINATI, E.C.; MARTINS, M.I. E. G.; SILVA, P. C. Avaliação do crescimento e do custo da alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32: 19-28, 2003.
- SUMPTER, J.P.; LE BAIL., P.Y.; PICKERING, A.D.; POTTINGER, T.G.; CARRAGHER, J.F. The effect of starvation on growth and plasma growth hormone concentrations on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*, 83: 94-102, 1991.
- WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S.; LOBO, A. F. Recruitment and maximal diameter of axial muscle fibres in teleosts and their relationship to somatic muscle growth and ultimate size. *Journal of Fish Biology*, 33: 851-859, 1988.
- XIE, S.; ZHU, X.; CUI, Y.; WOOTTON, R.J.; LEI, W.; YANG, Y. Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Journal of Fish Biology*, 58: 999-1009, 2001.
- ZAMAL, H.; OLLEVIER, F. Effect of feeding and lack of food on the growth, gross biochemical and fatty acid composition of juvenile catfish. *Journal of Fish Biology*, 46: 404-414, 1995.

# CAPÍTULO 11

## HIPÓXIA E EXPOSIÇÃO AO AR COMO AGENTES ESTRESSORES

Beatriz Cardoso Roriz<sup>1</sup>  
Marcela Alves Santuci  
Rodrigo Garófallo Garcia  
Wagner dos Santos Mariano

### INTRODUÇÃO

A aquicultura no Brasil é uma atividade que vem se destacando nos últimos anos graças ao grande potencial hídrico do país, à riqueza de espécies e ao aumento do mercado neste setor. Um dos requisitos mais importantes para o bom desenvolvimento da atividade de aquicultura é o conhecimento adequado da biologia das espécies utilizadas para cultivo, onde a fisiologia das espécies, o funcionamento dos sistemas e as interações e respostas permitem melhores condições de cultivo. Em piscicultura intensiva, o estresse está constantemente presente prejudicando o estado de saúde dos peixes, uma vez que pode afetar seu desempenho produtivo e aumentar a suscetibilidade às doenças.

O estresse tem sido caracterizado como uma resposta comportamental geral na qual há reações motoras e neurovegetativas mediadas pelo sistema neuro-endócrino e a mobilização de energia para o organismo escapar ou combater o estressor (Pickering, 1981). Desde meados de 1970 estudos envolvendo estresse têm sido frequentemente realizados no campo da fisiologia de peixes, com enfoque em peixes de cultivo (Silveira et al., 2009).

---

Roriz et al. Hipóxia e exposição ao ar como agentes estressores. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

Entre os vários autores que o definem, Wendelaar Bonga (1997) aponta estresse como sendo uma condição em que a homeostase (estado estacionário) de um organismo animal é ameaçada ou perturbada, como resultado das ações de estímulos intrínsecos e/ou extrínsecos, definidos como estressores. O termo *Homeostasia* foi criado por Walter Cannon para descrever os processos corporais coordenados para manter o meio interno aproximadamente constante (Cannon, 1929; 1939).

Muitos fatores podem determinar a resposta do sistema neuro-endócrino a estímulos estressantes gerando variabilidade na resposta ao estresse. As causas de tais variabilidades podem ser devido a processos adquiridos ao longo da vida do indivíduo, a ajustes às particularidades do ambiente e desenvolvimento do animal e evolutivas, ou seja, adaptações geneticamente estruturadas (Vigas, 1980; Pickering, 1981). A resposta a um agente estressor também pode ser determinada filogeneticamente, refletindo a história da espécie (Vigas, 1980; Schreck, 1981).

Evidências indicam que certas respostas estressoras são bem conservadas evolutivamente. Em termos de comportamento, um exemplo é o instinto de lutar ou fugir quando o animal é confrontado a algum estressor adverso, como por exemplo a predação. Dado o número de estressores potenciais, e o fato de que os peixes podem ser expostos á múltiplos estressores simultâneos, a gama de indução do potencial de situações de stress nesses animais é quase sem limites (Harper & Wolf, 2009).

## **ESTRESSE EM PEIXES**

Comparado a habitantes terrestres, os peixes e outros organismos aquáticos estão sujeitos a uma variedade de estressores, pois seu mecanismo homeostático é altamente dependente das condições ambientais. Exemplos de estressores adicionais a peixes incluem flutuações na salinidade da água, pH, dureza, alcalinidade, sólidos dissolvidos, nível de água ou corrente de água, e exposição á agentes patogênicos ou tóxicos. Peixes cultivados em sistemas intensivos muitas vezes sofrem estresse por densidade populacional,



manejo, manuseio, má nutrição e acúmulo de resíduos nitrogenados (Harder & Wolf, 2009).

Os agentes de estresse em peixes podem ser de natureza química, como o baixo teor de oxigênio, concentração elevada de amônia (Moraes et al., 2004), nitrito (Costa et al., 2004), decorrentes da degradação da matéria orgânica, poluentes orgânicos e inorgânicos (Jorgensen et al., 2002; Carvalho & Fernandes, 2006); e de natureza física, como transporte, confinamento e manuseio e ainda os perceptíveis pelo peixe, como a presença de predadores (Diniz & Honorato, 2012). Os estressores também podem ser de curta ou de longa duração e podem possuir intensidades distintas. A exposição moderada a estes agentes é capaz de produzir uma resposta adaptativa nos peixes, que restitui a homeostase ao organismo. No entanto, se estes estiverem sujeitos aos agentes de estresse intensos ou prolongados, a resposta pode tornar-se mal adaptativa, com consequências negativas para o seu estado de saúde (Galhardo & Oliveira, 2006).

De acordo com a literatura, a resposta ao estresse em peixes apresenta três níveis, sendo eles, primário, secundário e terciário, que se iniciam no sistema endócrino e apresentam um aumento sucessivo até atingir o nível do organismo como um todo (Oba et al., 2009). A resposta primária é compreendida como a ativação dos centros cerebrais, resultando em liberação de catecolaminas e corticosteroides; a resposta secundária é entendida como a canalização das ações e dos efeitos imediatos desses hormônios em nível sanguíneo e tecidual, incluindo o aumento da frequência cardíaca e da tomada de oxigênio, a mobilização de substratos de energia e, ainda, a perturbação do balanço hidromineral; e a resposta terciária manifesta-se em nível de população, traduzindo-se em inibição do crescimento, da reprodução e da resposta imunológica. A limitação da capacidade do animal em tolerar estressores subsequentes ou adicionais também é atribuída a uma manifestação da resposta terciária (Lima et al., 2006).

As respostas aos estressores são evidenciadas primeiramente em nível molecular (ou bioquímico), seguida por respostas

fisiológicas e, finalmente, se manifestando em nível morfológico. Desse modo, alterações em todos estes níveis são indicativos de estresse e, portanto, parâmetros como cortisol e glicose plasmática são importantes indicadores fisiológicos de níveis de estresse em peixes e mamíferos, em geral (Wendelaar Bonga, 1997). As variações nos parâmetros sanguíneos são também amplamente utilizadas para a mesma finalidade. É o caso, por exemplo, de alterações nos valores de hematócrito e na concentração de hemoglobina, que podem aumentar ou diminuir, dependendo do tipo de agente estressor que os peixes são submetidos. Devido às conexões do sistema imunológico com o endócrino, condições de estresse podem levar a uma imunossupressão, que por sua vez, pode ser refletida nos valores numéricos de leucócitos circulantes. Assim, variações nos valores absolutos ou relativos dessas células de defesa podem indicar a influência do estresse no sistema imunológico (Tavares-Dias & Moraes, 2004).

## **RESPIRAÇÃO EM PEIXES**

O ambiente aquático é extremamente dinâmico e os animais que vivem nesse ambiente enfrentam alterações ambientais dificilmente enfrentadas pelos animais terrestres. Fatores como mudanças rápidas ou extremas na concentração de O<sub>2</sub> dissolvido, pH e salinidade, podem ocasionar estresse e reduzir a habilidade em manter a homeostase do animal (Mariano, 2006).

O oxigênio é essencial à vida dos organismos aquáticos e baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água podem causar atraso no crescimento, redução na eficiência alimentados peixes, e aumento na incidência de doenças e na mortalidade, resultando na redução na produtividade dos sistemas aquaculturais (Kubitza, 1998). Quanto ao processo de obtenção de oxigênio em peixes, as espécies podem ser classificadas como de respiração exclusivamente aquática; de respiração aérea obrigatória e de respiração aérea facultativa ou acessória. Tal classificação corresponde aos mecanismos de respiração unimodal aquática, unimodal aérea e bimodal aérea e aquática (Kramer, 1983).

Os peixes de respiração aérea obrigatória utilizam o oxigênio atmosférico independentemente da concentração deste gás na água, morrendo asfixiados quando não respiram o ar atmosférico. Essas espécies geralmente vivem em estuários e águas doces tropicais, onde condições de escassez do oxigênio dissolvido são mais frequentes (Dehadrai & Tripathi, 1976; Glass et al., 1986; Graham, 1997).

Já nos que respiram facultativamente, os órgãos respiratórios podem ser derivados do trato alimentar como a cavidade bucal em *Electrophorus* e *Symbranchus*; estômago em loricarídeos como *Hypostomus* e *Pterygoplichthys*; intestino em calictídeos como *Callichthys* e *Hoplosternum* ou podem apresentar modificações na bexiga natatória (vascularização) como em *Hoplerythrinus* e *Piabucina*, podendo utilizar respiração aérea, caso o teor de oxigênio do meio se reduza (Carter & Beadle, 1931; Lowe-McConnell, 1987; Fernandes & Moron, 1996; Graham, 1997).

## HIPÓXIA E EXPOSIÇÃO AO AR

Entre os fatores químicos estressantes, a redução nos níveis de oxigênio dissolvido na água, designada como hipóxia, é provavelmente a principal causa de mortalidade de peixes em viveiro de piscicultura (Silveira et al., 2009). A hipóxia normalmente ocorre quando o número de peixes no tanque está acima da capacidade de suporte do viveiro, o que aumenta a demanda por oxigênio na água. O problema ocorre também à noite, quando os seres vivos do reservatório (algas e plantas macrófitas, por exemplo) consomem oxigênio simultaneamente (Oba, 2009). Além de ser um problema ambiental, causado pela estratificação vertical da coluna d'água, pode ser também provocada pela ação antropogênica por meio do excessivo despejo de nutrientes e matéria orgânica dentro de corpos d'água (Cruz, 2007).

Segundo o padrão de recomendação, o nível ideal da concentração de oxigênio dissolvido deve estar entre os valores de 2,0 a 7,0 mg/L. Durante períodos de 12h de exposição à hipóxia, os peixes apresentam alterados os níveis de cortisol e de lactato plasmático. Uma alternativa para solucionar o problema é a utilização de

aeradores, para permitir a renovação de O<sub>2</sub> na água (Porto, 2005). Embora algumas espécies apresentem certa tolerância à hipóxia, a intensidade e a duração do problema irão fatalmente comprometer o desenvolvimento do peixe, a produtividade do viveiro, podendo ocasionar inclusive a mortalidade total do plantel (Silveira, et al., 2009).

Com o auxílio das brânquias, os peixes realizam as trocas gasosas por difusão direta entre o sangue e a água. Quanto maior a pressão parcial de oxigênio e menor a de gás carbônico na água, mais facilmente se processa a respiração nos peixes (Kubitza, 2009). Um dos estressores diretamente ligados à respiração em peixes é a exposição ao ar, situação que ocorre com grande frequência em peixes de cultivo. A exposição ao ar é inevitável em práticas de rotina em pisciculturas, entre elas o transporte. O transporte de peixes vivos é uma das operações mais delicadas do sistema de cultivo, principalmente no transporte de juvenis, já que a comercialização destes tem aumentado consideravelmente (Diniz & Honorato, 2012).

No transporte, os peixes são submetidos a repetidas exposições ao ar, inicialmente por serem retirados do tanque, durante a captura, e depois ao serem acondicionados de volta (Biller, 2008). Quando os animais são submetidos à captura, seja ela realizada por redes, anzóis ou puçás, os peixes tendem à fuga, passam por posterior exposição aérea, resultando assim, entre outras respostas, no aumento da concentração de lactato e íons H no músculo, que podem ser identificados na corrente sanguínea, além de elevadas concentrações de cortisol e glicose (Inoue et al., 2008). O aumento da glicose plasmática e do cortisol são respostas ao estresse; a glicose constitui uma fonte extra de energia que possibilita ao animal superar os distúrbios causados pelo agente estressor, já o cortisol atua no controle do balanço hidromineral e do metabolismo energético, combinando ações comparáveis àquelas da aldosterona e de glicocorticoides em vertebrados terrestres. Outras ações do cortisol incluem redução na taxa de crescimento e supressão das funções imune e reprodutiva (Wendelaar Bonga, 1997).

Diferentemente da condição hipóxia, as brânquias aparentemente, não são funcionais na exposição aérea, pois não há

fluxo de água que passa entre seus filamentos. A exposição é uma condição estressante para os animais verificada pela redução da glicose hepática e muscular e aumento da glicose plasmática. Tanto o estresse causado pela hipóxia no ambiente aquático quanto o estresse devido á exposição aérea podem causar alterações hematológicas e teciduais (Cruz, 2007).

Estudos realizados com peixes de respiração aérea facultativa mostram que durante a exposição ao ar há a tentativa do animal de manter a homeostasia interna, preservando assim a manutenção do suprimento de O<sub>2</sub> aos tecidos. Ao trabalhar com exemplares de jeju (Mariano, 2009) observou aumento dos parâmetros hematológicos, do hematócrito, da concentração de hemoglobina e da contagem de eritrócitos afim de aumentar a capacidade de transporte do O<sub>2</sub>. O aumento da glicose e a ausência de aumento na concentração de lactato e piruvato também são indicadores do estresse por exposição aérea pois sugerem que o O<sub>2</sub> absorvido pela bexiga natatória, mediado pelos ajustes hematológicos, manteve o suprimento de O<sub>2</sub> aos tecidos e o metabolismo aeróbico durante a exposição ao agente estressor. Estudos realizadas com matrinxã *Brycon amazonicus* constataram que a exposição aérea pelo período de dois minutos foi suficiente para provocar respostas fisiológicas de estresse com alterações hematológicas, hormonais, metabólicas e eletrolíticas (Abreu, 2003).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na piscicultura intensiva, o estresse está sempre presente, provocando queda no sistema produtivo e imunológico e conseqüentemente, aparecimento de doenças. As práticas de manejo são as principais causadoras do estresse e precisam ser realizadas com cuidado para minimizar o problema. Algumas medidas podem atenuar o problema, tais como a inclusão de níveis adequados de vitamina C, suplementação com cromo para preparação dos peixes para manejo e utilização de algumas substâncias, tais como sal comum ou anestésico, para diminuir os efeitos estressores.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, J. S. Respostas fisiológicas de matrinxã (*Brycon cephalus*) arraçoados com diferentes níveis de vitamina C e submetidos à exposição aérea. Caunesp, Jaboticabal, 2003.
- BILLER, J.D.; BENDHACK, F.; TAKAHASHI, L. S.; URBINATI, E. C. Stress responses in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to repeated air exposure. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 30(1): 89-93, 2008.
- CANNON, W. Organization for physiology homeostasis. *Physiological Reviews*, 9:399-431, 1929.
- CANNON, W. The wisdom of the body. EB. W. W. Norton, New York, 1939.
- CARTER, G.S.; BEADLE, L.C. The fauna of the swamps of the paraguayanchaco in relation to its. Enviroments: III respiratory adaptation in the fishes. *Journal of the Linnean Society of London*, 37:327-366, 1931.
- CARVALHO C.S.; FERNANDES, M. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the Neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. *Aquaculture*, 251(1):109-117, 2006.
- COSTA, O.F.T.; FERREIRA, D.J.S.; MENDONÇA, F.L.P. FERNANDES, M.N. Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalminae) to short-term exposure to nitrite. *Aquaculture*, 232: 627-636, 2004.
- CRUZ, A.L.O comportamento respiratório e a cascata de O<sub>2</sub> no cascudo bimodal *Pterygoplichthys anisiti* (Teleostei, Loricariidae). São Carlos, UFSCAR, 2007.
- DEHADRAL, P.V.; TRIPATHI, S.D. Environment and ecology of freshwater airbreating teleosts. In: HUGHES, G.M (ed), *Respiration of amphibious vertebrates*. Academic press, London, p. 39-72, 1976.
- DINIZ, N.M.; HONORATO, C. A. Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo – revisão. *Arquivo de Ciências Veterinárias, Zoologia, Unipar*, 15 (2):149-154,2012.
- FERNANDES, M.N.; MORON, S.E. Respiratory organs in erythrinid fishes. In: In: VAL, A.L.; RANDALL, D.J.; MACKINLEY, D. (eds). *Proceeding of Physiology of Tropical Fishes*. American fishes society, San Francisco University, San Francisco University. p 93-100,1996.
- GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R. Bem-estar animal: um conceito legítimo para peixes? *Revista de Etologia*, 8: 51-61, 2006.
- GLASS, M.L.; ISHIMATSU, A.; JOHANSEN, K. Responses of aerial ventilation to hypoxia and hypercapnia in *Channa argus* in air breathing fish. *The Journal of Comparative Physiology B*, 156:425-430, 1986.
- GRAHAM, J.B; *Air breathing fishes: evolution, diversity and adaption*. Academic Press, 1997.
- HARPER, C. WOLF, J.C. Morphologic effects of the stress response in fish. *Ilar Journal*, 50(4): 387-396, 2009.
- INOUE, L.A.K.A. et al. Physiological stress responses in the warm-water fish matrinxã (*Brycon amazonicus*) subjected to a sudden cold shock. *Acta Amazonica*, 38 (4): 603-609, 2008.

- JORGENSEN, E. H.; VIJAYAN, M. M.; ALURU, N. MAULE, A. G. Fasting modifies aroclor 1254 impact on plasma cortisol, glucose, and lactato responses to a handling disturbance. In *Artic charr. Comparative and Biochemistry Physiology C*, 132:235-245, 2002.
- KRAMER, D.L. The evolutionary ecology of respiratory mode in fishes: an analysis based on coast of breathing. *Environmental Biology of Fishes*, 9:145-158, 1983.
- KUBTIZA, F. Uma coleção de artigos sobre tilápia. Panorama da aquicultura, Agosto. 2009.
- LIMA, C.; RIBEIRO, L.P.; LEITE, R. C.; MELO, D.C. Estresse em peixes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 30(3/4):113-117, 2006.
- LOWE-MCCONNELL, R.H. *Ecological studies in tropical fish communities*. Cambridge university press, Cambridge, 1937.
- MARIANO, W. S.; Respostas fisiológicas e bioquímicas do jeju *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Characiformes, Erythrinidae) a exposição aérea. São Paulo: UFSCAR. 2006.
- MORAES, G.; POLEZ, V.L.P., IWANA, G.K. Biochemical responses of two erythrinidae fish to environmental ammonia. *Brazilian Journal of Biology*, 64(1):95-102, 2004.
- OBA, E.T.; MARIANO, W.S.; SANTOS, L.R.B.S. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Embrapa Amapá, Macapá, 2009.
- PICKERING, A. D. *Stress and fish*. London, Academic Press, p. 1-9, 1981.
- PORTO, M. S. A. Indicadores de estresse em peixes da amazônia: sensibilidade em face do tipo estressor. 38 f dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Manaus, Manaus, 2005.
- SCHECK, C. B. Stress and compensation in teleostean fishes: response to social and physical factors. In: PICKERING, A.D. (Ed.). *Stress and fish*. London, Academic Press p. 395-321, 1981
- SILVEIRA, U.S.; LOGATO, P.V.R.; PONTES, E. C.P. Fatores estressantes em peixes. *Revista Eletronica Nutritime*, 6(4): 1001-1017, 2009.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. *Hematologia de peixes teleósteos*. Villimpress, Ribeirão Preto, SP, 2004.
- VIGAS, M. Contribution to the understanding of the stress concept. In: USDIN, KVETRIANSKY, KOPIN. (eds). *Catecholamines and stress: recent advances*. Elseviernorth Holland, p. 573-577, 1980
- WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. *Physiology Review*, 77: 591-625, 1997.





# CAPÍTULO 12

## FITOTERÁPICOS NA PISCICULTURA: REVISÃO COMENTADA

Sergio Henrique Canello Schalch<sup>1</sup>

Fernanda Menezes França

Sandra Maria Pereira da Silva

### INTRODUÇÃO

Os atuais sistemas de produção de peixes estão representados, em sua maioria, por cultivos intensivos e semi-intensivos. Nesses, sistemas, os animais são expostos constantemente ao manuseio excessivo, transporte, altas densidades de estocagem, variações na qualidade da água, além de dependerem de uma dieta artificial como única fonte de alimento. Essas práticas de manejo induzem ao estresse, com consequentes perdas na produção devido à diminuição no ganho de peso e na imunidade, que aumenta a susceptibilidade a doenças (Belo et al., 2012; Brandão et al., 2006). Quando instaladas na piscicultura, diversas doenças sejam elas bacterianas, parasitárias, fúngicas e viróticas provocam perdas na produção e produtividade. Em geral, para que sejam controladas ou eliminadas tais doenças da criação, devem ser investidos grandes esforços financeiros, com o alto custo de produtos químicos, manejo e mão-de-obra especializada.

Em função da elevada ocorrência de doenças, o uso de produtos quimioterápicos e antibióticos tem aumentado nesses sistemas de criação intensiva (Moraes & Moraes, 2009). Além disso, muitas vezes, esses compostos químicos são utilizados de forma errônea, com doses erradas e produtos que eram para combater uma doença são utilizados para combater outra. Frequentemente, tais produtos químicos são utilizados quando os peixes encontram-se

---

Schalch et al. Fitoterápicos na piscicultura: revisão comentada. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

muito infectado por bactérias, fungos ou protozoários, não suportando qualquer intervenção principalmente química devido ao estresse, podendo vir a morrer, causando então prejuízos ao produtor devido aos gastos com tratamento e perda do plantel.

Nos tratamentos contra parasitoses de peixes, utilizam-se principalmente formalina, sulfato de cobre, cloramina, pesticidas organofosforados e diflubenzuron. Antibióticos, como a oxitetraciclina, são usados no tratamento de infecções bacterianas. Esses produtos, além de efeito tóxico aos tecidos dos peixes, principalmente para as brânquias, tegumento e fígado, podem acumular resíduos na musculatura (Tavechio et al., 2009). A presença de resíduos em tecidos dos peixes comercializados resulta em restrições na comercialização e pode oferecer risco potencial ao consumidor, caso não sejam respeitados os tempos de carência pós-tratamento (Cabello et al., 2013). Além disso, aumentam significativamente o impacto ambiental no entorno da piscicultura onde os resíduos dos tratamentos são descartados. Cabe ainda ressaltar que a utilização de produtos químicos deve ser regida por legislação específica e que no Brasil, poucos produtos são registrados para uso em aquicultura (Tavechio et al., 2009).

O uso indiscriminado desses produtos químicos também acarreta em problemas como o aumento da seleção de microrganismos resistentes e, conseqüentemente, a proliferação de bactérias resistentes, devido à morte das não resistentes ao antibiótico, havendo também a possibilidade de transferência dos genes de resistência às outras bactérias nunca expostas ao antibiótico. O uso excessivo de antibióticos na aquicultura pode impactar negativamente a saúde dos peixes e do homem, assim como o ambiente aquático, devendo ser melhor avaliado e regulamentada (Cabello et al., 2013).

A utilização de fitoterápicos vem ganhando espaço na aquicultura como alternativa para controle profilático, devendo ser incentivado. Os fitoterápicos apresentam algumas vantagens sobre os produtos sintéticos para o cultivo de peixes tais como potencial menos tóxicos por serem menos concentrados; possuem múltiplos

modos de ação, resultando em menor probabilidade de causar resistência; além de diminuir o impacto ambiental, pois esses são produtos biodegradáveis e dos resíduos químicos nos animais, auxiliando na qualidade do cultivo, e reduzir os custos de produção (Coimbra et al., 2006). Há várias de plantas medicinais que possuem grande potencial para ajudar a piscicultura nesse sentido.

A utilização de fitoterápicos na piscicultura é uma alternativa viável no controle e prevenção de patógenos em substituição ao uso de produtos químicos e antibióticos. O controle de diferentes espécies de bactérias *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp., redução de infecção por fungos, controle de *Trichodina* spp., *Ichthyophthirius multifiliis* e monogenéticos vem sendo obtido em diversas espécies de peixes com o uso de diferentes fitoterápicos, considerados imunoestimulantes, que aumentam a resistência dos peixes e estimulam as respostas não-específicas do sistema imunológico. Esses produtos podem ser de baixo custo para o produtor (Tavechio et al., 2009).

Aqui os principais agentes fitoterápicos que podem ser utilizados na piscicultura são destacados.

## **PLANTAS MEDICINAIS E SUA UTILIZAÇÃO**

Os agentes fitoterápicos vêm sendo testados na piscicultura, para evitar o uso de produtos químicos. Na Tabela 1 é apresentada uma relação de plantas medicinais com grande potencial para a piscicultura e forma de uso. As plantas aqui selecionadas representam vários estudos científicos comprovando atividades biológicas nos testes em laboratório para diferentes finalidade(antibiótica, antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica, antiviral, ação sobre o sistema imunológico, cicatrizante, outros). Dentre os critérios para a seleção destas espécies destaca-se a facilidade ao acesso a planta, ao cultivo, a obtenção de material vegetal e baixa toxicidade. O potencial das mesmas para a sanidade de peixes e organismos aquáticos é grande, podendo se transformar em uma alternativa saudável no manejo da aquicultura a base de insumos naturais.

**Tabela 1.** Fitoterápicos com potencial para uso na piscicultura.

| Nome popular             | Espécie                         | Princípios ativos   | Indicação potencial                                       | Modo de extração                                       | Forma de aplicação |
|--------------------------|---------------------------------|---|---|--|--------------------|
| Carqueja                 | <i>Baccharis trimera</i>        | Flavonoides, óleos essenciais - carquejila                                  | Antibacteriana, antifúngica                               | Extrato aquoso   | Banho              |
| Macela                   | <i>Achyrocline satureioides</i> | Flavonoides, serquiterpenos e terpenos                                      | Antiviral, antiinflamatória, antifúngica                  | Extrato aquoso   | Banho              |
| Alecrim pimenta          | <i>Lippia sidoides</i>          | Óleo essencial - timol  | Antibacteriana, antimicrobiana, antifúngica               | Extrato aquoso, óleo essencial                         | Banho              |
| Erva cidreira brasileira | <i>Lippia alba</i>              | Óleo essencial – citral e outros componentes como ação de biodefensivos     | Antibacteriana, antimicrobiana, antifúngica               | Extrato aquoso, óleo essencial                         | Banho              |
| Terramicina              | <i>Alternanthera brasiliana</i> | Terpenos, esteroides e compostos fenólico. Fitosterol e $\beta$ -sitosterol | Antiviral, antibiótica, antitumoral                       | Extrato aquoso   | Banho              |
| Pariri                   | <i>Fridericia chica</i>         | Flavonóides   | Sistema imunológico, antiviral, cicatrizante              | Extrato aquoso, droga vegetal moída                    | Alimentação, banho |
| Fáfia brasileira         | <i>Hebanthe eriantha</i>        | Saponinas e substâncias nutritivas  | Sistema imunológico, antitumoral                          | Droga vegetal moída, extrato seco                      | Alimentação        |
| Guaçatonga               | <i>Casearia sylvestris</i>      | Terpenos e flavonóides  | Antibacteriana, antiinflamatória, cicatrizante, antiviral | Extrato aquoso   | Banho              |
| Tansagem                 | <i>Plantago major</i>           | Taninos   | Antiinflamatória  | Extrato aquoso   | Alimentação, banho |
| Picão preto              | <i>Bidens pilosa</i>            | Derivados de poliacetilenos e flavonóides                                   | antibiótica, antiinflamatória, antimicrobiana, antiviral  | Extrato aquoso, extrato etanólico. droga vegetal moída | Banho, alimentação |

Os fitoterápicos podem ser administrados de diferentes formas, através da alimentação dos peixes, adicionados à ração (Santos et al., 2009), aplicados em tanques, ou através de banhos, spray e injeção (Monteiro, 2012; Sahu et al., 2007).

Diversos outros fitoterápicos podem ser utilizados no tratamento das parasitoses de peixes como o caso do nim *Azadirachta indica* (Cruz et al., 2008), do chapéu-de-sol *Terminalia catappa* (Claudiano, 2009), do alho (Martins, 2004) entre outros. Muitas plantas são conhecidas popularmente como portadoras de atividade antihelmínticas. Fujimoto et al. (2012) observaram a diminuição de nematoides intestinais e estomacais de lambaris *Astyanax* cf. *zonatus* alimentados com sementes de abóbora *Cucurbita maxima*.

A eficácia do extrato aquoso de folhas secas de *T. catappa* em juvenis de tambaquis parasitados por monogeneas, *Ichthyophthirius multifiliis* e *Piscinoodinium pillulare* foi estudado por Claudiano et al. (2009). Esses peixes foram submetidos a banhos em soluções contendo 40, 80 e 120 ml de extrato /L de água. O extrato aquoso de folhas secas de *T. catappa* na concentração de 120 ml/L é eficaz no controle de monogenea e do protozoário *P. pillulare* em juvenis de tambaqui, todavia, não produz efeito antiparasitário desejado contra o protozoário *I. multifiliis*. O extrato não apresentou efeitos tóxicos para os peixes em nenhuma das três concentrações.

Ndong & Fall (2011) avaliaram os efeitos do alho (*Allium sativum*) incorporado à dieta (0%, 0,5% e 1%) de juvenis de tilápias híbridas (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). Observaram melhora no sistema imune, com aumento de leucócitos, atividade fagocitária, índice fagocítico e atividade lisossomática dos peixes alimentados com 0,5% de alho após 4 semanas.

Estudos *in vivo* e *in vitro* com *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Lippia gracilis*, *Lippia organoides* e *Lippia gracilis* comprovaram atividade antimicrobiana, antiparasitária e antiinflamatória, analgésica em diferentes espécies animais, indicando grande potencial dessas plantas para uso na medicina veterinária. Algumas espécies de *Lippia* estão sendo utilizadas também na aquicultura. Portanto, produtos obtidos dessas plantas são recursos promissores na

piscicultura, necessitando de estudos para desenvolvimento de tecnologias que possibilitem seu uso (Soares & Tavares-Dias, )

Chansue et al. (2007) avaliaram a resistência de alevinos de carpa comum (*Cyprinus carpio*) alimentados com extrato de folhas de goiabeira (*Psidium guajava* Linn.) a infecções por *Aeromonas hydrophila*. Os resultados indicaram que este extrato pode estimular as respostas imunológicas não-específicas, aumentar os resultados de fagocitose e diminuir a taxa de mortalidade das carpas por contaminações bacterianas. Os efeitos foram reforçados pelo longo período de exposição.

Semente de manga (*Magnifera indica*) adicionada a ração de alevinos de *Labeo rohita*, nas concentrações de 0, 1, 5 e 10 g/kg de ração, aumentou a resistência a *Aeromonas hydrophila*, estimulando a imunidade e aumentando a sobrevivência destes peixes. A sobrevivência observada, 10 dias após a infecção, foi de 50% para o grupo controle (0 g/kg de ração) e 98% para o grupo alimentado com 5 g/kg de ração (Sahu et al., 2007).

*Pseudomonas fluorescens* isoladas de culturas de bactérias coletadas de carpas e bagres com septicemia bacteriana hemorrágica mostrou sensibilidade a antibióticos. A atividade antimicrobiana *in vitro* para extratos de folhas de *Tamarindus indicus*, *Terminalia chebula*, *Citrus aurantifolia*, *Eugenia caryophyllata* e *Spondias pinnata* demonstrou inibir o crescimento de *P. fluorescens* (Foysal et al., 2011).

Para a utilização com finalidade profilática em peixes é fundamental que testes de toxicidade dos fitoterápicos sejam realizados quando estuda-se a eficácia de uma nova planta, pois alguns produtos apresentam concentrações terapêuticas próxima da letal (Aguinaga et al., 2014; Claudiano et al., 2012).

A Portaria 48, de 12/05/1997, da Secretaria da Defesa Agropecuária, do Ministério da Agricultura, determina que para o registro de antiparasitários para bovinos sua eficácia não pode ser inferior a 90%. Para peixes somente um produto teve o registro aprovado pelo Ministério da Agricultura conhecido popularmente como Aquaflor a base de antibiótico. A piscicultura necessita

urgente de produtos que não agridam o produtor, cuide da saúde dos animais aquáticos e que não poluam o ambiente aquático.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo do uso de fitoterápicos na piscicultura deve ser ampliado, a grande diversidade da flora brasileira oferece um amplo campo de pesquisa, podendo ser mais explorado em relação à sua utilização profilática e tratamento para peixes. As plantas medicinais, seus extratos e óleos possuem um potencial grande para o combate das principais enfermidades em peixes de cultivo, acrescenta um custo baixo para a sua utilização. A diversidade de princípios ativo existente necessita ser estudada em relação à sua ação imunoestimulantes para peixes. Dessa forma, o uso dos fitoterápicos na piscicultura, representaria um benefício ao produtor e ao ambiente, resultando na produção de um pescado de boa qualidade para o consumidor.

## REFERÊNCIAS

- AGUINAGA, J.Y.; CLAUDIANO, G. S.; MARCUSSO, P. F.; IKEFUTI, C.; ORTEGA, G. G.; ETO, S. F.; CRUZ, C.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R.; FERNANDES, J. B. K. Acute toxicity and determination of the active constituents of aqueous extract of *Uncaria tomentosa* Bark in *Hyphessobrycon eques*. *Journal of Toxicology*, 2014. Doi:10.1155/2014/412437.
- BELO, M.A.D.A.; MORAES, J.R.E.D.; SOARES, V.E.; MARTINS, M.L.; BRUM, C.D.; MORAES, F.R.D. Vitamin C and endogenous cortisol in foreign-body inflammatory response in pacus. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(7): 1015-1021, 2012.
- BRANDÃO, F.; GOMES, L.; CHAGAS, E. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. *Acta Amazonica*, 36: 349-356, 2006.
- CABELLO, F. C., GODFREY, H.P., TOMOVA, A., IVANOVA, L., DÖLZ, H., MILLANAO, A.; BUSCHMANN, A.H. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environmental Microbiology*, 15: 1917-1942, 2013.
- CHANSUE, N.; AROONSEANG, S.; ASSAWAWONGKASEM, N.; TANGTONGPIROT, J. Antimicrobial effects of guava leaf (*Psidium guajava* Linn.) extract against *Aeromonas hydrophila* in fancy carp (*Cyprinus carpio*). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 29: 69-81, 2007.
- CLAUDIANO G.; DIAS NETO J.; SAKABE R.; CRUZ, C.; SALVADOR, R.; PILARSKI, F. Eficácia do extrato aquoso de "*Terminalia catappa*" em juvenis de tambaqui parasitados por monogenéticos e protozoários. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 10(3): 625-636, 2009.

CLAUDIANO, G.S.; PILARSKI, F.; CRUZ, C.; SALVADOR, R.; BELO, M.A.A.; MORAES, F.R. Concentração letal  $CL_{50}$  do extrato aquoso de folhas de *Terminalia catappa* em guaru, *Phalloceus caudimaculatus*. Archives of Veterinary Sciences, 17: 15-19, 2012.

COIMBRA J. L.; SOARES A. C. F.; GARRIDO M. S.; SOUZA C. S.; RIBEIRO F. L. B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 41: 1209-1211, 2006.

CRUZ, C.; MACHADO-NETO, J. G.; FUJIMOTO, R. Y.; HENARES, M. N. P.; DUÓ, P. A. Eficácia do paration metílico e do extrato aquoso de folhas secas de nim no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenoidea) em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Boletim do Instituto de Pesca, 34(1): 61-69, 2008.

FOYSAL, M. J; RAHMAN, M. M.; ALAM, M. Antibiotic sensitivity and in vitro antimicrobial activity of plant extracts to *Pseudomonas fluorescens* isolates collected from diseased fish. International Journal of Natural Sciences, 1(4): 82-88, 2011.

FUJIMOTO, R. Y.; COSTA, H. C.; RAMOS, F.M. Controle alternativo de helmintos de *Astyanax cf. Zonatus* utilizando fitoterapia com sementes de abóbora (*Cucurbita maxima*) e mamão (*Carica papaya*). Pesquisa Veterinária Brasileira, 32: 5-10, 2012.

MARTINS, M. L. Cuidados básicos e alternativas no tratamento de enfermidade de peixes na aquicultura brasileira. In: RANZANIPAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. de los A. P. Sanidade de Organismos Aquáticos. São Paulo: Varela. p. 357-370, 2004.

MONTEIRO, P.C. O uso do extrato aquoso de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no controle de monogenóides (Plathyhelminthes) em juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Dissertação de Mestrado, Manaus: UNL/INPA, 76p, 2012.

MORAES F.; MORAES J. Nutracêuticos na inflamação e cicatrização de peixes de interesse zootécnico. In: TAVARES-DIAS M. (ed.). Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá, Embrapa Amapá, p. 625-723, 2009.

NDONG, D.; FALL, J. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research, 3(1):1-9, 2011.

SAHU, S.; DAS, B. K.; PRADHAN, J.; MOHAPATRA, B. C.; MISHRA, B. K.; SARANGI, N. Effect of *Magnifera indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. Fish & shellfish Immunology, 23(1), 109-118, 2007.

SANTOS, E. L.; LUDKE, C. M. M. M.; LIMA, M. R. Extratos vegetais como aditivos em rações para peixes. Revista Eletrônica Nutritime, 6(1): 789-800. 2009.

SOARES, B. V.; TAVARES-DIAS, M. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. Biota Amazônia, 3(1): 109-123, 2013.

TAVECHIO, W.L.G; GUIDELLI, G.; PORTZ, L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. Boletim do Instituto de Pesca, 35(2): 335-341, 2009.



# CAPÍTULO 13

## ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS NO CONTROLE DE DOENÇAS DE PEIXES EM SISTEMAS DE CULTIVO

Natália Sayuri Shiogiri<sup>1</sup>  
Claudinei da Cruz  
Marisa Narciso Fernandes

### INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos setores da produção animal com maior crescimento e seu desempenho tem sido maior do que qualquer outro setor de produção animal para alimentos. A produção global de alimentos da aquicultura, incluindo peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos para o consumo do homem alcançou 52,5 milhões de toneladas em 2008 (FAO, 2010).

A expansão aquícola nos mais diversificados ecossistemas aquáticos mundiais tem possibilitado que animais de criação entrem em contato com diferentes tipos de patógenos. A intensificação da produção com alta densidade de animais por m<sup>3</sup>, o manejo alimentar inadequado associado a pouca tecnologia e conhecimento sobre manejo desses sistemas têm contribuído de forma decisiva para a diminuição da qualidade água de criação o que, conseqüentemente, favorece a ocorrência de parasitas, bactérias, fungos e, mais recentemente, de vírus. Assim, as perdas durante o ciclo de criação devem-se principalmente à incidência de enfermidades que comprometem o desenvolvimento dos animais e, em último caso, levam à mortalidade (Ranzani-Paiva et al., 1997; Rohr et al., 2011; Márquez et al., 2014).

---

Shiogiri et al. Antimicrobianos utilizados no controle de doenças de peixe em sistemas de cultivo. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

Nos sistemas de criação, os peixes em diferentes estágios do ciclo de vida são suscetíveis, de forma diferenciada, a infecções bacterianas. Os principais problemas no emprego de antimicrobianos para controle dessas infecções são o aumento de resistência de bactérias patogênicas, a disseminação de resistência no ambiente, o aumento significativo do número de cepas patogênicas que persistem na epiderme dos peixes e o número reduzido de drogas registradas para uso em aquicultura. Além disso, ainda é necessário conhecer os possíveis efeitos que essas drogas podem causar no ambiente aquático e, nos próprios peixes, para subsidiar com segurança sua aplicação e utilização nos sistemas de criação (Ferreira et al., 2007).

A ocorrência de doenças tem aumentado nos principais sistemas de produção intensiva, especialmente, quando há um desequilíbrio no ambiente aquático devido a erros de manejo ou alterações dos fatores abióticos, uma vez que, na aquicultura, o ambiente aquático favorece a emergência e a propagação de doenças infecciosas. Mudanças físico-químicas abruptas, como a diminuição acentuada da temperatura, da concentração de oxigênio dissolvido (O<sub>2</sub>), podem ter um efeito direto na saúde do peixe, deixando a população mais vulnerável aos surtos de doenças infecciosas. Esse cenário, juntamente com possíveis práticas de manejo inadequadas associada à alta densidade de estocagem e traumatismos decorrentes de manejo, favorece o aparecimento de parasitas, infecções por bactérias, fungos e vírus (Rohr et al., 2011; Márquez et al., 2014).

## **DOENÇAS BACTERIANAS E O CULTIVO DE PEIXES**

A ocorrência de doenças bacterianas tem sido um fator limitante para o desenvolvimento da aquicultura brasileira e mundial. Para manter o crescimento da produção de organismos aquáticos é necessário desenvolver planos de manejo e biossegurança nos diferentes elos da cadeia produtiva. As doenças bacterianas têm sido as principais causas de mortalidade (*causa mortis*) na criação de tilápias e, ainda, atua como um agente

secundário ou oportunista na infestação por parasitos (Pádua & Cruz, 2014). Algumas doenças bacterianas apresentam um padrão sazonal com aumento de casos em alguns períodos do ano, enquanto que outras podem ocorrer durante todo o ciclo anual, não estando diretamente relacionadas a fatores climáticos.

Na criação de tilápias, as bactérias que são frequentemente isoladas de surtos de mortalidades tem sido *Aeromonas* spp., *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio anguillarum*, *Flavobacterium columnare*, *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* sp. (Moraes & Martins, 2004); *Francisella noatunensis* (Pádua & Cruz, 2014) e em criação de peixes nativos como o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), a mais frequente é *Aeromonas hydrophila* (Carraschi et al., 2014). Essas bactérias causam grandes perdas no cultivo intensivo que podem chegar a 100% de mortalidade, dependendo da fase do ciclo produtivo. As bactérias são parte da microbiota natural do meio aquático e algumas espécies são consideradas patogênicas oportunistas, pois provocam infecções em peixes que estão em condições ambientais desfavoráveis (Murray et al., 2011). Muitas permanecem em estado subclínico, dificultando o reconhecimento da doença (Murray et al., 2011) em peixes com resistência natural reduzida, ou seja, formas larvais ou jovens em consequência do sistema imunológico imaturo (Kirkan et al., 2003).

Dentre as bactérias que ocorrem comumente nos sistemas de produção aquícola, as pertencentes ao gênero *Aeromonas* são as mais comuns. *Aeromonas salmonicida* tem causado grandes perdas em salmonídeos e ciprinídeos de ambientes de região temperada, com águas mais frias. *Aeromonas hydrophila* tem afetado muitas espécies de peixes em uma variedade de ambientes (Newman, 1993; Dallaire-Dufresne et al., 2014). *Aeromonas hydrophila* é uma bactéria gram-negativa em forma de bastonete, anaeróbica facultativa, não esporulante, móvel, com um flagelo polar, citocromo oxidase positivo e com ou sem produção de gás (Cipriano, 2001), é a mais comum em água doce e tem distribuição cosmopolita devido à adaptabilidade a diferentes ambientes aquáticos (Hazen et al., 1978; Mateos et al., 1993; Zhang et al., 2014).

*Aeromonas hydrophila* está presente naturalmente nos ecossistemas aquáticos de água doce e faz parte da microflora intestinal (Topic Popovic et al., 2000) causando doenças em peixes selvagens e em sistemas de criação. A doença é caracterizada pela presença de pequenas lesões superficiais, hemorragias focais, particularmente nas brânquias e opérculos, úlceras, abscessos e exoftalmia; internamente, pode haver acúmulo de líquido ascítico, anemia e lesões no fígado e rins (Austin & Austin, 1987). Em infecções agudas, subcrônicas e crônicas pode ocorrer septicemia hemorrágica (Schäperclaus et al., 1992) e ulcerações em toda a superfície corporal (Carraschi et al., 2011).

Apesar da severidade da infecção por aeromoniose, outros gêneros de bactérias mais agressivos têm se tornado um grande problema nos sistemas de produção aquícolas tropicais. Um deles é o gênero *Streptococcus* gram-positivo, dentre eles o *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus inea*. A estreptococose é uma doença septicêmica em peixes de água doce e de água salgada, seja em cultivo ou ambiente natural (Evans et al., 2004). *Streptococcus* causa infecções e hepatomegalia, esplenomegalia, lesões na pele e na base das nadadeiras, perdas de escamas, exoftalmia com opacidade de córnea, escurecimento dos peixes, natação errática e, como tem evolução rápida, causa morte dois a três dias após o início dos sinais clínicos da infecção (Figueiredo et al., 2006). A infecção é mais comum em períodos com temperaturas mais elevadas, principalmente durante a transição inverno-primavera (Salvador et al., 2003), causando grandes perdas econômicas que, em geral, têm sido relatadas em várias fases do sistema produtivo (Abdelsalam et al., 2013; Kayansamruaj et al., 2014; Wang et al., 2014). As principais perdas causadas por esse gênero de bactéria estão relacionadas com a ocorrência da infecção em estado subcrônico ou subclínico durante praticamente todo o ciclo produtivo causando mortes sistematizadas ou diárias dos peixes.

Devido a intensificação dos ciclos produtivos e redução da qualidade ambiental, onde os sistemas aquícolas estão inseridos,

bactérias anteriormente descritas somente como parte da microbiota natural ou isoladas em situações graves de alterações ambientais, têm sido consideradas emergentes e causado grande preocupações para o aquicultor. Dentre essas destacam-se a *Edwardsiella tarda*, bactéria em forma bastonete, gram-negativo e móvel que causa a edwardsiellose em uma ampla variedade de peixes de criação e perdas significativas na aquicultura mundial (Griffin et al., 2013). *Streptococcus parauberis* foi identificada pela primeira vez, 1993, em *Scophthalmus maximus* da Espanha, como um patógeno de peixes após um surto (Domenech et al., 1996) e nos Estados Unidos (Haines et al., 2013). *Francisella noatunensis* que é um pequeno coccobacillus gram-negativo pleomórfico (Soto et al., 2013; Leal et al., 2014), que causa a francisellose em um grande número de espécies de peixes de cultivo, especialmente em períodos com temperatura da água abaixo de 24 °C (Pádua & Cruz, 2014). *Flavobacterium columnare*, uma bactéria gram-negativa que causadora da columnariose é uma das mais antigas doenças de peixes na América do Norte, e tem sido um problema em criação de peixes em várias áreas do mundo, inclusive no Brasil (Figueiredo et al., 2005; Beck et al., 2012). *Lactococcus lactis* e *Lactococcus garvieae* que apresentam alguns sinais clínicos similares ao *S. iniae* como anorexia, letargia, perda de orientação e exoftalmia (Eldar & Ghittino, 1999).

## ANTIMICROBIANOS EM USO NA AQUICULTURA

As doenças bacterianas são frequentes nos mais diversificados sistemas de produção aquícolas e, atualmente, há várias formas de controle. O controle preventivo é efetuado através de programas de biosseguranças ou de promoção de saúde dos animais e o manejo profilático com a utilização de vacinas. O controle das infecções se faz com o tratamento das mesmas com a utilização de antimicrobianos, os antibióticos. Entretanto, o uso de antibióticos tornou-se uma prática comum em todas as fases do ciclo produtivo de peixes, com utilização indiscriminada, sem um diagnóstico preciso do agente causador da infecção ou sem o reconhecimento do nível doença propriamente dita como, por

exemplo, o reconhecimento de um escopo de bactérias e possíveis sinais clínicos de *A. hydrophila* em *Piaractus mesopotamicus* como proposto por Carraschi et al. (2014). Muitos grupos de antibióticos têm sido empregados na aquicultura e, dentre eles, os principais são: tetraciclina, sulfonamidas e cloranfenicol (Baticados & Paclibare, 1992; Migliore et al., 1993, Defoirdt et al., 2007) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Antibióticos usados na aquicultura, suas aplicações.

| Antibiótico   | Eficácia para bactéria  | Referências   |
|---|---|---|
| Oxitetraciclina*  | <i>Aerococcus viridans</i> , <i>Haemophilus piscillum</i> ,<br><i>Aeromonas salmonicida</i> , <i>Aeromonas liquefaciens</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> | Indicação do fabricante   |
| Florfenicol*  | <i>Pasteurella piscida</i> , <i>Edwardsiella tarda</i> ,<br><i>Vibrio anguillarum</i> e <i>Aeromonas salmonicida</i> .                                    | Indicação do fabricante   |
| Azitromicina<br>Eritromicina  | <i>Renibacterium salmoninarum</i>   | Fairgrieve et al.(2005)   |
| Enrofloxacina   | <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>A. salmonicida</i> ,<br><i>Streptococcus</i> sp., <i>Renibacterium salmoninarum</i>                                      | Hui-Mim et al. (1994); Williams et al. (1997); Carraschi et al. (2014). |
| Sarafloxacina<br>Norfloxacina<br>Difloxacina                                      | Furunculose, vibriose e doença da boca vermelha entérica  | Serrano (2005).   |
| Sulfametoxazol<br>Sulfatiazol<br>Sulfadiazina<br>Sulfametazina<br>Sulfadimetoxina | Furunculose, doença da boca vermelha entérica e vibriose  | GESAMP (1997)   |

\*indica antibióticos registrados para uso na aquicultura no Brasil.

O uso indiscriminado de antimicrobianos é decorrente de poucos produtos ser registrados para tal atividade, além da ausência de programas de biossegurança ou de profilaxia e o escalonamento de aplicações em determinadas fases do ciclo produção sem prévio diagnóstico da presença da bactéria. Porém, há perspectivas de mudança desse cenário; no Brasil existem dois antibióticos registrados para o uso aquícola: florfenicol e oxitetraciclina e, há uma série deles em fase de pesquisa quanto à ecotoxicologia,

eficácia, segurança ambiental, incluindo o estudo dos possíveis resíduos e a segurança para o consumidor de pescado. A principal controvérsia sobre o uso de antibióticos nos sistemas de produção aquícola está relacionada a dois temas centrais: a seleção de estirpes resistentes a estes produtos e o risco a saúde pública como o consumo de águas e pescado contaminado por antibióticos (Hao et al., 2014).

Dentre as moléculas registradas, o florfenicol é um antibiótico de amplo espectro, formulado na forma de premix alimentar com 50% de ingrediente ativo e com eficácia comprovada contra *S. agalactiae*, *Yersinia ruckeri* (indicação do registrante do produto comercial), *Pasteurella piscida* (*Photobacterium damsela* subsp. *piscida*), *E. tarda*, *Vibrio anguillarum* (Fukui et al., 1987), *A. salmonicida* (Inglis et al., 1991) e *Aeromonas* sp. (Carraschi et al., 2014). O florfenicol é um antimicrobiano que tem atividade contra bactérias gram-negativas e gram-positivas, sendo um análogo fluorado do thiamfenicol, que por sua vez, é um análogo do cloranfenicol; essas mudanças estruturais conferem vantagens na sua atividade, particularmente contra bactérias resistentes ao thiamfenicol e cloranfenicol. Ele age se ligando à subunidade ribossomal 50S evitando a síntese proteica da bactéria (Cannon et al., 1990), com rápida diminuição da sua concentração no tecido muscular após o término da exposição do peixe ao medicamento (Gaikowski et al., 2010).

A oxitetraciclina pertence ao grupo das tetraciclinas e apresenta eficácia contra *Aerococcus viridans*, *Haemophilus piscillum*, *A. salmonicida* e *A. liquefaciens* (indicação do registrante do produto comercial), *A. hydrophila*, *A. sobria*, *Pseudomonas* sp., *Cytophaga psychrophilia*, *Chondrococcus (Flexibacter) columnaris* (Serrano, 2005; Carraschi et al., 2011) e *Flavobacterium columnare* (Andrade et al., 2006). Esse antimicrobiano é utilizado, em geral, de forma irregular, sem respeitar a dose recomendada, o período de tratamento, a carência e também tem sido empregado de forma profilática, dentre outros fatores, o que tem contribuído de forma decisiva para ocorrência de resistência de bactérias como relatado em sedimento

de áreas de produção na Noruega (Samuelsen et al., 1992) Além disso, em produção de trutas arco-íris em isolados de *Flavobacterium psychrophilum* e *Y. ruckeri* (Schmidt et al., 2000), fazendas de produção de salmão no Chile (Miranda & Zemelman, 2002), em isolados de *A. hydrophila* de *P. mesopotamicus* e *O. niloticus*, no Brasil (Belém-Costa & Cyrino, 2006).

Outro antibiótico que tem sido muito utilizado é a enrofloxacina, que tem um extensivo uso em medicina veterinária, amplo espectro de ação e eficácia terapêutica contra *Renibacterium salmoninarum* (Hui-Mim et al., 1994), *A. salmonicida* (Williams et al., 1997), *Aeromonas* sp. e *Streptococcus* sp. (Carraschi et al., 2014).

Quinolonas e fluoroquinolonas, como a ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina apresentam eficácia contra *Pasteurella piscida*, *Vibrio anguillarum*, *E. tarda*, *Streptococcus* sp. (Bowser & Babish, 1991); e as sulfonamidas acrescidas de trimethoprim ou ormethoprim são usadas contra furunculose, doença da boca vermelha entérica e vibriose (GESAMP, 1997).

Um grupo de antibióticos que vem sendo estudado são os macrolídeos tais como eritromicina e azitromicina, que possuem amplo espectro de ação e são usados para tratamentos de doenças infecciosas tanto em humanos como em animais (Bahal & Nahata, 1992). Azitromicina (9-deoxo-9a-aza-9a-methyl-9a-homoerythromycin) possui excelentes propriedades farmacocinéticas, especialmente, em relação à distribuição corporal e meia vida longa (Lode, 1991). Como todo macrolídeo, a azitromicina é efetiva contra bactérias aeróbias gram-positivas, mas também é efetiva contra algumas gram-negativas (Peters et al., 1992).

O modo de ação da azitromicina é pela inibição da síntese proteica bacteriana via da ligação com a subunidade ribossomal 50S, impedindo a translocação dos peptídeos. A azitromicina penetra nas células, incluindo tecidos fibroblásticos e parece estar localizada primariamente nos lisossomas (Shepard et al., 1992) e tem sido estudada como substituta da eritromicina para a prevenção e controle das infecções por *Renibacterium salmoninarum* em salmonídeos (Fairgrieve et al., 2005). Em peixes têm sido conduzidos



poucos estudos com a azitromicina, e sua farmacocinética e farmacodinâmica ainda são desconhecidas.

Além da utilização de antimicrobianos, alguns estudos demonstraram que a utilização de imunostimulantes ou coadjuvantes podem auxiliar na resposta de eficácia dos antibióticos. Segundo Hang et al. (2014), a utilização de lipopolissacarídeo (LPS) e levamisol melhorou a resposta de controle de doxiciclina (20 mg/kg) para a bactéria *Edwardsiella ictaluri* com diminuição da mortalidade de *Pangasianodon hypophthalmus*, em relação ao grupo controle e ao grupo tratado apenas com antibiótico.

## ECOTOXICIDADE PARA ORGANISMOS NÃO-ALVOS E RISCO AMBIENTAL

Para a utilização de forma correta e sem risco ecotoxicológico e preservação da saúde ambiental, além de conhecer a eficácia terapêutica e segurança clínica dos antimicrobianos, é necessário prever os possíveis efeitos agudos, subagudos e crônicos que esses produtos podem apresentar para organismos não-alvos. Na avaliação de risco ambiental do flofenicol e oxitetraciclina, tendo como base a concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>) para esses antimicrobianos, Carraschi et al. (2011) relataram que a utilização de 50 ou 1.750 mg/kg de oxitetraciclina e 1 mg/kg de florfenicol não apresentam risco de intoxicação para o pacu *P. mesopotamicus*. Kiryu & Moffitt (2002) estimaram a dose letal 50% (DL<sub>50</sub>) da eritromicina para o salmão do Atlântico *Salmo salar* em 1.041 mg/kg, para o salmão-rei *Oncorhynchus tshawytscha* em 505 mg/kg, para a truta *Oncorhynchus clarki* em 549 mg/kg e para a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* em 513 mg/kg. Outros organismos aquáticos são mais sensíveis a antimicrobianos. Pomati et al. (2004) verificaram que 1 mg/L de eritromicina inibiu em 20% do crescimento de *Synechocystis* sp. PCC6803 (cianobactéria) e em 70% o crescimento de *Lemna minor* (planta aquática da Família: Lemnaceae). A concentração efetiva (CE<sub>50;7d</sub>) estimada para *L. minor* foi de 5,6; 1,0 e 4,0 mg/L, respectivamente, para eritromicina,

tetraciclina e ibuprofen (Pomati et al., 2004). A toxicidade aguda (CE<sub>50</sub>) de alguns antibióticos para *Daphnia magna* (microcrustáceo) estão indicados a seguir: ácido oxolínico foi de 4,6 mg/L, tiamulina de 40 mg/L, sulfadiazina de 221 mg/L, estreptomicina de 487 mg/L, tilosina de 680 mg/L e oxitetraciclina 1.000 mg/L para *Daphnia magna* (Wollenberger et al., 2000).

Em geral, na avaliação ecotoxicológica, o organismo mais sensível é utilizado para classificar a toxicidade aguda de produtos químicos. Com base na classificação ecotoxicológica proposta por Zucker & Johnson (1985) para organismos aquáticos não-alvos, a maioria dos antibióticos empregados nos sistemas aquícolas ou com potencial para serem usados, são classificados como tóxicos ou extremamente tóxicos ou moderadamente tóxicos para organismos aquáticos não alvos da aplicação (Tabela 2). Dessa forma, a toxicidade para estes organismos deve ser um fator fundamental para a regulação da dose a ser utilizada no tratamento de peixes, visando evitar a intoxicação ambiental.

O aumento da atividade aquícola tem gerado preocupação sobre o uso excessivo de drogas e potencial risco ao homem devido aos resíduos nos alimentos, bem como ao meio ambiente. A forma mais conveniente de administrar esses antibióticos é adicioná-los a ração (Shao, 2001), pois a quantidade de ingrediente ativo requerida é menor do que a necessária na administração realizada por banhos (Ferreira et al., 2007). Algumas avaliações de resíduos de antibióticos em peixes e ambiente têm sido empregadas no monitoramento ambiental. Resíduo de oxitetraciclina e flumequina em sedimento de áreas de produção de peixes foi 246,3 e 578,8 µg/kg de sedimento, respectivamente (Lalumera et al., 2004), a detecção de tetraciclina foi de 2,1 a 152,0 ng/g de músculo de peixe (Cháfer-Pericás et al., 2011). Esses dados demonstram que é necessário conhecer a dose correta de medicamentos veterinários e a segurança de aplicação desses medicamentos para utilizá-los com o menor risco possível ao meio ambiente (Christensen et al., 2006).

**Tabela 2.** Toxicidade aguda e classificação ecotoxicológica de antibióticos para organismos não alvos.

| Antibióticos/organismo não alvo                       | Concentração (mg/L) /tempo de ensaio | Referências                   | Classificação ecotoxicológica (Zucker & Jonhson (1985)) |
|---|--------------------------------------|-------------------------------|---|
| <b>Oxitetraciclina</b>                                |                                      |                               |   |
| <i>Pseudokirchmeriella subcapitata</i><br>Florfenicol | CL <sub>50</sub> : 72h = 0,17        | Nunes et al. (2005)           | Extremamente tóxico                                     |
| <i>Piaractus mesopotamicus</i>                        | CL <sub>50</sub> : 48h > 100         | Carraschi et al. (2011)       | Praticamente não tóxico                                 |
| <b>Sulfametoxazol</b>                                 |                                      |                               |   |
| <i>Selenastrum capricornutum</i>                      | CE <sub>50</sub> : 72h =1,53         | Eguchi et al. (2004)          | Moderadamente tóxico                                    |
| <b>Sulfatiazol</b>                                    |                                      |                               |   |
| <i>Lemna gibba</i>                                    | CE <sub>50</sub> : 7dias = 3,55      | Brain et al. (2004)           | Moderadamente tóxico                                    |
| <b>Sulfadiazina</b>                                   |                                      |                               |   |
| <i>Microcystis aeruginosa</i>                         | CL <sub>50</sub> :7dias = 0,0135     | Holten-Lutzhóft et al. (1999) | Extremamente tóxico                                     |
| <b>Sulfametazina</b>                                  |                                      |                               |   |
| <i>Lemna gibba</i>                                    | CE <sub>50</sub> : 7dias = 1,277     | Brain et al. (2004)           | Moderadamente tóxico                                    |
| <b>Sulfadimetoxina</b>                                |                                      |                               |   |
| <i>Lemna gibba</i>                                    | CE <sub>50</sub> :7dias = 0,248      | Brain et al. (2004)           | Muito tóxico  |
| <b>Trimetropina</b>                                   |                                      |                               |   |
| <i>Daphnia magna</i>                                  | CL <sub>50</sub> : 48h = 92,0        | Park & Choi (2008)            | Pouco tóxico  |
| <b>Enrofloxacina</b>                                  |                                      |                               |   |
| <i>Microcystis aeruginosa</i><br>Sarafloxacina        | CE <sub>50</sub> :7dias = 0,049      | Robinson et al. (2005)        | Extremamente tóxico                                     |
| <i>Microcystis aeruginosa</i>                         | CL <sub>50</sub> : 7dias = 0,015     | Holten-Lutzhóft et al. (1999) | Extremamente tóxico                                     |
| <b>Amoxicilina</b>                                    |                                      |                               |   |
| <i>Microcystis aeruginosa</i>                         | CE <sub>50</sub> :7dias = 0,0037     | Holten-Lutzhóft et al. (1999) | Extremamente tóxico                                     |
| <b>Eritromicina</b>                                   |                                      |                               |   |
| <i>Daphnia magna</i>                                  | CL <sub>50</sub> :48h = 210,6        | Harras et al. (1985)          | Praticamente não tóxico                                 |
| <b>Claritromicina</b>                                 |                                      |                               |   |
| <i>Anabaena flos-aquae</i>                            | CE <sub>50</sub> : 48h = 0,012       | Baumann et al. (2015)         | Extremamente tóxico                                     |

\*CL: concentração letal; CE: concentração efetiva

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Considerando que os antibióticos são compostos biologicamente ativos que podem interferir em sistemas biológicos, seja atuando no desequilíbrio da cadeia alimentar (efeito letal sobre organismos não-alvos, como resíduo ambiental ou efeito sobre os organismos alvos do tratamento, é necessário o uso adequado dessas substâncias para evitar danos ambientais. Os riscos potenciais associados à liberação de fármacos no ambiente têm se tornado uma questão cada vez mais importante para órgãos reguladores ambientais e à indústria farmacêutica (Kümmerer, 2004).

Dessa forma, o desenvolvimento da aquicultura de forma segura do ponto de vista ambiental e de proteção à saúde do consumidor depende da tomada de decisão sobre o desenvolvimento e registros de medicamentos veterinários que possuam estudos ecotoxicológicos e de risco ambiental, envolvendo possíveis resíduos e cuja dinâmica ambiental tenha sido caracterizada, além dos estudos de eficácia do controle do patógeno alvo avaliado. Além disso, os procedimentos de manejo desses medicamentos devem ser melhor estruturados, evitando a utilização de ingredientes ativos que não controlam determinados alvos e cujo diagnóstico de campo tenha sido comprovado utilizando exames laboratoriais. As dosagens recomendadas devem ser respeitadas pelos usuários e consultores, e medidas de biossegurança também devem ser efetivadas nas áreas de produção.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem o suporte financeiro do CNPq/INCT-Toxicologia Aquática Proc. 573949/2008-5 e N.S Shiogiri agradece a bolsa (Doutorado) FAPESP Proc. 2011/21552-6.

## REFERÊNCIAS

- ABDELSALAM, M; ASHEG, A.; ELDIN EISSA, A. *Streptococcus dysgalactiae*: An emerging pathogen of fishes and mammals. International Journal of Veterinary Science and Medicine, 1:1–6, 2013.
- ANDRADE, L.S.; ANDRADE, R.L.B.; BECKER, A.G.; BALDISSEROTO, B. Survival and behavior of silver catfish, *Rhamdia quelen*, submitted to antibiotics and sodium chloride treatments. Ciência Rural, 36:1004-1007, 2006.
- AUSTIN, B.; AUSTIN, D.A. Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish. Ellis Horwood Limited, p. 171-173, 1987.
- BATICADOS, M.C.L.; PACLIBARE, J.O. The use of chemotherapeutic agents in aquaculture in the Philippines. In: Shariff M, Subasinghe RP, Arthur JP, editors. Diseases in Asian aquaculture I. Manila, Philippines: Fish Health Section, Asian Fishery Society. p. 531-546, 1992.
- BAHAL, N., NAHATA, M.C. The new macrolide antibiotics: azithromycin, clarithromycin, dirithromycin, and roxithromycin. Annals of Pharmacotherapy, 26: 46-55, 1992.
- BAUMANN, M.; WEISS, K.; MALETZKI, D.; SCHÜSSLER, W.; SCHUDOMA, D.; KOPF, W.; KÜHNEN, U. Aquatic toxicity of the macrolide antibiotic clarithromycin and its metabolites. Chemosphere, 120: 192–198, 2015.
- BECK, B.H.; FARMER, B. D.; STRAUS, D.L.; LI, C.; PEATMAN, E. Putative roles for a rhamnose binding lectin in *Flavobacterium columnare* pathogenesis in channel catfish *Ictalurus punctatus*. Fish & Shellfish Immunology, 33:1008-1015, 2012.
- BELÉM-COSTA, A.; CYRINO, J.E.P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). Scientia Agricola, 63: 281-284, 2006.
- BRAIN, R.A., JOHNSON, D. J., RICHARDS, S. M., SANDERSON, H., SIBLEY, P.K., SOLOMON, K. R. Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. Environmental Toxicology Chemistry, 23:371–382, 2004.
- BROWSER, P.R.; BABISH, J.G. Clinical pharmacology and efficacy of fluoroquinolones in fish. Annual Review of Fish Diseases, p. 63-66. 1991.
- CANNON, M.; HARFORD, S.; DAVIES, J. A comparative study on the inhibitory actions of chloramphenicol, thiamphenicol and some fluorinated derivatives. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 26: 307–317, 1990.
- CARRASCHI, S.P.; CRUZ, C.; MACHADO NETO, J.G.; CASTRO, M.P.; BORTOLUZZI, N.L.; GÍRIO, A.C.F. Eficácia do florfenicol e da oxitetraciclina no controle de *Aeromonas hydrophila* em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 63(3): 579-583, 2011.
- CARRASCHI, S.P.; SHIOGIRI, N. S.; VENTURINI, F.P.; CRUZ, C.; GÍRIO, A.C.F.; MACHADO NETO, J.G. Acute toxicity and environmental risk of oxytetracycline and florfenicol antibiotics to pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Boletim do Instituto de Pesca, 37: 115-122, 2011.

CARRASCHI, S.P.; BARBUIO, R.; IKEFUTI, C.V.; FLORÊNCIO, T.; CRUZ, C. RANZANI-PAIVA. M.J.T. Effectiveness of therapeutic agents in disease treatment in *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture*, 431: 124-128, 2014.

CIPRIANO, R. C. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. 2001.

CHÁFER-PERICÁS, C.; MAQUIEIRA, A.; PUCHADES, R.; MIRALLES, J.; MORENO, A. Multiresidue determination of antibiotics in feed and fish samples for food safety evaluation. Comparison of immunoassay vs LC-MS-MS. *Food Control*, 22: 993-999, 2011.

CHRISTENSEN, A.M.; INGERSLEV, F.; BAUN, A. Ecotoxicity of mixtures of antibiotics used in aquacultures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 2208-2215, 2006.

DALLAIRE-DUFRESNE, S. D.; TANAKA, K.H.; TRUDEL, M.; LAFAILLE, A.; CHARETTE, S. J. Virulence, genomic features, and plasticity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, the causative agent of fish furunculosis. *Veterinary Microbiology*, 169:1-7, 2014.

DEFOIRD, T.; BOON, N.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W.; BOSSIER, P. Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example. *Trends in Biotechnology*, 25:472-479, 2007.

DOMENECH, A.; FERNÁNDEZ GARAYZÁBAL, J.F.; PASCUAL, C.; GARCIA, J.A.; CUTULI, M.T.; MORENO, M. A.; COLLINS, M.D.; DOMINGUEZ, C.L. Streptococcosis in cultured turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), associated with *Streptococcus parauberis*. *Journal of Fish Diseases*, 19:33-38, 1996.

ELDAR, A.; GHITTINO, C. *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: similar, but different diseases. *Diseases of Aquatic Organisms*, 36: 227-231, 1999.

EGUCHI, K.; NAGASE H.; OZAWA, M.; ENDOH, Y.S.; GOTO, K.; HIRATA, K.; MIYAMOTO, K.; YOSHIMURA, H. Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. *Chemosphere*, 57:1733-1738, 2004.

EVANS J. J.; KLESIOUS, P. H.; SHOEMAKER. C.A. Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (Group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration. *Vaccine*, 22:3769-3773, 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Estado mundial de la pesca y la acuicultura 2010. Roma: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO, 2010.

FAIRGRIEVE, W.T., MASADA, C.L., MCAULEY, W.C., PETERSON, M.E. MYERS, M.S., STROM, M.S. Accumulation and clearance of orally administered erythromycin and its derivative, azithromycin, in juvenile fall Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Diseases of aquatic organisms*, 64:99-106, 2005.

FERREIRA, C.S.G.; NUNES, B.A.; HENRIQUES-ALMEIDA, J.M.M.; GUILHERMINO, L. Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the

microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 67: 452–458, 2007.

FIGUEIREDO, H. C. P.; KLESIOUS, P.H.; ARIAS, C. R.; EVANS, J.; SHOEMAKER, C. A.; PEREIRA JR, D. J.; PEIXOTO, M. T. D. Isolation and characterization of strains of *Flavobacterium columnare* from Brazil. *Journal of Fish Diseases*, 28:199–204, 2005.

FIGUEIREDO, H.C.P.; CARNEIRO, D.O.; FARIA, F.C.; COSTA, G.M. *Streptococcus agalactiae* associado à meningoencefalite e infecção sistêmica em tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58: 678-680, 2006.

FUKUI, H.; FUJIHARA, Y.; KANO, T. In vitro and in vivo antibacterial activities of florfenicol, a new fluorinated analog of thiamphenicol, against fish pathogens. *Fish Pathology*, 22: 201–207, 1987.

GAIKOWSKI, M.P.; MUSHTAQ, M.; CASSIDY, P.; MEINERTZ, J.R.; SCHLEIS, S. M.; DIANE SWEENEY, D.; ENDRIS, R.G. Depletion of florfenicol amine, marker residue of florfenicol, from the edible fillet of tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. niloticus* and *O. niloticus* x *O. aureus*) following florfenicol administration in feed. *Aquaculture*, 301:1-6,2010.

GESAMP [IMO/FAO/UNESCO - IOC/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection]. Towards safe and effective use of chemicals in coastal aquaculture. *GESAMP Reports and Studies*, No. 65, 1997.

GRIFFIN, M. J.; QUINIOU, S.M.; CODY, T.; TABUCHI, M.; WARE, C.; CIPRIANO, R.C.; MAUEL, M. J.; SOTO, E. Comparative analysis of *Edwardsiella* isolates from fish in the eastern United States identifies two distinct genetic taxa amongst organisms phenotypically classified as *E. tarda*. *Veterinary Microbiology*, 165: 358-372, 2013.

HAINES, A.N.; GAUTHIER, D. T.;NEBERGALL, E.E.; COLE, S.D.; NGUYEN, K. M.; RHODES, M.W.; VOGELBEIN, W.K. First report of *Streptococcus parauberis* in wild finfish from North America. *Veterinary Microbiology*, 166:270–275, 2013.

HANG, B.T.B.; PHUONG, N.T.; KESTEMONT, P. Can immunostimulants efficiently replace antibiotic in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) against bacterial infection by *Edwardsiella ictaluri*? *Fish & Shellfish Immunology*, 40: 556-562, 2014.

HAO, H.; CHENG, G.; IQBAL, Z.; AI, X.; HUSSAIN, H.I.; HUANG, L.; DAI, M.; WANG, Y.; LIU, Z.; YUAN, Z. Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals. *Frontiers in Microbiology*, 5: 1-11, 2014.

HARRAS, M. C.; KINDIG, A. C.; TAUB, F. B. Responses of blue-green and green algae to streptomycin in unialgal and paired culture. *Aquatic Toxicology*, 6:1–11, 1985.

HAZEN, T.C.; FLIERMANS, C.B.; HIRSCH, R.P.; ESCH, G.W. Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 36:731-738, 1978.

HOLTEN-LÜTZHØFT, H.C., HALLING-SØRENSEN, B., JØBRGENSEN, S.E. Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming. *Archives Environmental Contamination Toxicology*, 36:1–6, 1999.

HUI-MIN, H.; WOOSTER, A.G.; BOWSER, P.R. Efficacy of enrofloxacin for the treatment of salmonids with bacterial kidney disease, caused by *Renibacterium salmoninarum*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 6(3):220-223, 1994.

INGLIS, V.; FRERICHS, G.N.; MILLAR, S.D.; RICHARDS, R.H. Antibiotic resistance of *Aeromonas salmonicida* isolated from Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland. *Journal of Fish Diseases*, 14: 353–358, 1991.

KAYANSAMRUJ, P.; PIRARAT, N.; HIRONO, I.; RODKHUM, C. Increasing of temperature induces pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* and the up-regulation of inflammatory related genes in infected Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Veterinary Microbiology*, 172: 265–271, 2014.

KIRKAN S.; GOSKSOY E. O.; KAYA O. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey hatchers farms. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 50:339-342, 2003.

KIRYU, Y.; MOFFITT, C.M. Models of comparative acute toxicity of injectable erythromycin in four salmonid species. *Aquaculture*, 211: 29-41, 2002.

LEAL, C.A.; TAVARES, G.C.; FIGUEIREDO, H. C. Outbreaks and genetic diversity of *Francisella noatunensis* subsp *orientalis* isolated from farm-raised Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 13:5704-5712, 2014.

LALUMERA, G. M.; CALAMARI, D.; GALLI, P.; CASTIGLIONI, S.; CROSA, G.; FANELLI, R. Preliminary investigation on the environmental occurrence and effects of antibiotics used in aquaculture in Italy. *Chemosphere*, 54:661-668, 2004.

LODE, H. The pharmacokinetics of azithromycin and their clinical significance. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 10:807–812, 1991.

MÁRQUEZ, I.; GARCÍA-VÁZQUEZ, E.; BORRELL, Y. J. Possible effects of vaccination and environmental changes on the presence of disease in northern Spanish fish farms. *Aquaculture*, v. 431, p. 118–123. 2014.

MATEOS, D.; ANGUITA, J.; NAHARRO, G.; PANIAGUA, C. Influence of growth temperature on the production of extracellular virulence factors and pathogenicity of environmental and human strains of *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Bacteriology*, 74:111-118, 1993.

MIGLIORE, L.; BRAMBILLA, G.; GRASSITELLIS, A.; DOJMI DI DELUPIS, G. Toxicity and bio accumulation of sulfaphadimethoxine in *Artemia* (Crustacea, Anostraca). *International Journal of Salt Lake*, 2:141-152, 1993.

MIRANDA, C.D.; ZEMELMAN, R. Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming. *Aquaculture*, 212:31-47, 2002.

MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M. et al. (eds). *Tópicos especiais em piscicultura de água tropical intensiva*. São Paulo: TecArt, p.343-383, 2004.



MURRAY, A. G.; MALCOLM HALL, M.; MUNRO, L. A.; WALLACE, I. S. Modelling management strategies for a disease including undetected sub-clinical infection: Bacterial kidney disease in Scottish salmon and trout farms. *Epidemics*, 3: 171–182, 2011.

NUNES, B.; CARVALH, F.; GUILHERMINO, L. Acute toxicity of widely used pharmaceuticals in aquatic species, *Gambusia holbrooki*, *Artemia parthenogenetica* and *Tetraselmi chuii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61: 413–419, 2005.

PÁDUA, S.B.; CRUZ, C. Health challenges in tilapia culture in Brazil. *Aqua Culture Asia Pacific Magazine*, 10: March/April, 2014.

PARK, S.; CHOI, K. Hazard assessment of commonly used agricultural antibiotics on aquatic ecosystems. *Ecotoxicology*, v. 17, p. 526–538. 2008.

PETERS, D. H.; H. A. FRIEDEL, A; MCTAVISH, D. Azithromycin: a review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficacy. *Drugs*, 44: 750–799, 1992.

POMATI, F.; NETTING, A.G.; CALAMARI, D.; NEILAN, B.A. Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*. *Aquatic Toxicology*, 67:387–396, 2004.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; ISHIKAWA, C.M.; CAMPOS, B.E.S.; EIRAS, A.C. Hematological characteristics associated with parasitism in mullets, *Mugil platanus*, from the estuarine region of Cananéia, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 14: 329-339, 1997.

ROBINSON, A.A.; BELDEN, J.B.; LYDY, M.J. Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environmental Toxicology Chemistry*, 24: 423–430, 2005.

ROHR, J.R.; DOBSON, A.P.; JOHNSON, P.T.J.; KILPATRICK, A.M., PAULL, S.H.; RAFFEL, T.R.; RUIZ-MORENO, D.; THOMAS, M.B. Frontiers in climate change–disease research. *Trends in Ecology & Evolution*, 26: 270–277, 2011.

SALVADOR, R.; MÜLLER, E. E.; LEONHARDT, J. H.; GIORDANO, L. G. P.; DIAS, J. A.; FREITAS, J. C.; MORENO, A. M. Isolamento de *Streptococcus* spp de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) e qualidade da água de tanques rede na Região Norte do Estado do Paraná, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, 24:35–42, 2003.

SAMUELSEN, O.B.; VIGDIS TORSVIK, V.; ERVIK, A. Long-range changes in oxytetracycline concentration and bacterial resistance towards oxytetracycline in a fish farm sediment after medication. *Science of The Total Environment*, 114:25-36, 1992.

SCHMIDT, A. S. BRUUN, M. S.; DALSGAARD. I.; PEDERSEN, K.; LARSEN. J. L. Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 66:4908-4915, 2000.

SERRANO, P.H. Responsible use of antimicrobials in aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*, vol. 469. Rome, Italia: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2005.

SHAO, Z. J. Aquaculture pharmaceuticals and biologicals: current perspectives and future possibilities. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50: 229–243, 2001.

SHÄPERCLAUS, W.; KULOW, H.; SCHRECKEBACH, K. Infectious abdominal dropsy. In: SHÄPERCLAUS, W. (Ed.). Fish diseases. Berlin: AkademieVerlag, 1: 401-458, 1992.

SHEPARD, R.M.; AMACHER, D.E.; MULLINS, M.A.; FERAINA, R.A.; HIGGINS, C.V.; JAKOWSKI, A.B. Mechanism of azithromycin tissue uptake and accumulation: subcellular localization of azithromycin in rat liver. In Program and Abstracts of the First International Conference on the Macrolides, Azalides and Streptogramins, Santa Fe, NM, 1992. Abstract 217, p. 50. Wallace Communications, Atlanta. 1992.

SOTO, E.; KIDD, S.; MENDEZ, S.; MARANCIK, D.; REVAN, F.; HILTCHIE, D.; CAMUS, A. *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* pathogenesis analyzed by experimental immersion challenge in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Veterinary Microbiology*, 164: 77-84, 2013.

TOPIC POPOVIC, N.; TESKEREDŽIĆ, E.; STRUNJAK-PEROVIC, I.; ČIÓŽI-RAKOVAC, R. *Aeromonas hydrophila* isolated from wild freshwater fish in Croatia. *Veterinary Research Communications*, 24:371-377, 2000.

WANG, J.; ZOU, L.L.; LI, A.X. Construction of a *Streptococcus iniae* sortase A mutant and evaluation of its potential as an attenuated modified live vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 40: 392-398, 2014.

WILLIAMS, P.J.; COUTENAY, S.C.; VARDY, C. Use of enrofloxacin to control atypical *Aeromonas salmonicida* in Atlantic tomcod. *Journal of Aquatic Animal Health*, 9: 216-222, 1997.

WOLLENBERGER, L.; HALLING-SØRENSEN, B.; KUSK, K.O. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 40:723-730, 2000.

ZHANG, X.; YANG, W.; WU, H.; GONG, X.; LI, A. Multilocus sequence typing revealed a clonal lineage of *Aeromonas hydrophila* caused motile *Aeromonas* septicemia outbreaks in pond-cultured cyprinid fish in an epidemic area in central China. *Aquaculture*, 432:1-6, 2014.

ZUCKER, E.; JOHNSON, S.L. Hazard evaluation division - Standard Evaluation procedure acute toxicity test for freshwater fish. USEPA Publication, 540(9):85-006. 1985.

## CAPÍTULO 14

# SANIDADE E PERSPECTIVAS PARA RANICULTURA

Scheila Annelise Pereira<sup>1</sup>  
Natália da Costa Marchiori  
Gabriela Tomas Jerônimo  
José Luiz Pedreira Mouriño  
Maurício Laterça Martins

### INTRODUÇÃO

#### *Importância da ranicultura e breve histórico no Brasil*

A criação de rãs em cativeiro, denominada Ranicultura, baseada na exploração de rã touro *Lithobates catesbeianus* Shaw 1802, é uma alternativa de empreendimento agroindustrial que se desenvolveu nas últimas décadas devido ao avanço tecnológico e ao aperfeiçoamento das instalações e técnicas de manejo utilizadas no cultivo. Uma de suas principais vantagens é a necessidade de pouco espaço em relação às demais atividades pecuárias intensivas (Cribb et al., 2013; Moreira et al., 2013).

O mercado mundial exige cada vez mais alimentos de qualidade, e a carne de rã é um deles. Esse produto, considerado nobre, possui boa aceitabilidade e cunho medicinal, indicado por nutricionistas e médicos por apresentar boa digestibilidade, ser hipoalergênica, possuir baixo teor de gordura e colesterol, elevado nível de proteína, e ainda possui todos os aminoácidos essenciais para o ser humano (Pires et al., 2006; Nóbrega et al., 2007; Afonso, 2012). Além disso, de acordo com Baggio Silva et al. (2009), o mercado não se limita apenas ao consumo da carne de rã, pois novos subprodutos derivados da rã estão sendo desenvolvidos e ganhando cada vez mais mercado.

---

Pereira et al. Sanidade e perspectivas para ranicultura. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

Devido a demanda da carne de rã, sua produção mundial aumentou significativamente entre 2003 e 2012. Neste período, a produção cresceu de aproximadamente 70 para 117 toneladas de carne de rã (FAO, 2015). Porém, estes dados são preocupantes, uma vez que vários países se figuram como produtores de carne de rãs entretanto não produzem o animal com regularidade e suas exportações dependem do extrativismo (Afonso, 2012). Já no Brasil, de acordo com o Censo Agropecuário, em 2006 o país produziu aproximadamente 160 toneladas, com participação dos estados das regiões Sudeste e Sul (FAO, 2015), entretanto observa-se atualmente uma produção pouco significativa devido ao colapso da atividade.

Originária do Norte dos EUA e Sudeste do Canadá, a rã touro foi introduzida no Brasil por Tom Cyrril Harrison na década de 30 quando trouxe 300 casais para baixada Fluminense no Rio de Janeiro onde a espécie se adaptou muito bem às condições climáticas brasileiras favorecendo seu desenvolvimento e reprodução. Já a prática da ranicultura, iniciou em 1935 com a instalação do Ranário Aurora (Ferreira et al., 2002; Feix et al., 2006).

Desde o início da atividade no Brasil, vários modelos de cultivo foram delineados para engorda destes animais. O modelo denominado tanque ilha, apresentou como característica principal a escavação na terra de um tanque com uma ilha central onde eram depositados produtos orgânicos como atrativos para insetos que serviam de alimentos para as rãs. Este sistema é pouco recomendado do ponto de vista higiênico-sanitário, além de apresentar resultados pouco efetivos no desenvolvimento dos animais (Fontanello et al., 1993). O sistema denominado confinamento, proposto por Oliveira (1983), caracterizou-se por baías menores de alvenaria facilitando a limpeza, apresentando áreas secas e alagadas (piscinas). O sistema Anfigranja, proposto por Lima & Agostinho (1988) são construções, cujas baías apresentam disposição linear de cocho para alimentação, abrigo para proteção e área alagada para manutenção metabólica. Fontanello et al. (1988) propôs a engorda de rãs em gaiolas, na tentativa de diminuir o canibalismo e aumentar a produtividade por área, e mais tarde a possibilidade de utilização de andares com o

surgimento do sistema Ranabox em 1990. Cinco anos após, Mazzoni et al. (1995) propuseram o sistema inundado, originalmente desenvolvido em Taiwan, onde os animais são mantidos em baias preenchidas totalmente com água e abriga maiores densidades de estocagem, o qual é fortemente utilizado nos dias atuais. Por fim, atualmente observam-se os sistemas híbridos, que envolvem adaptações de dois ou mais sistemas.

## **PRINCIPAIS ENTRAVES NA PRODUÇÃO DE RÃS**

A ranicultura enfrenta o “famoso” ciclo vicioso na relação oferta/demanda da carne de rã, no qual o preço elevado restringe o mercado, reduzindo a demanda, que por sua vez, inibe a oferta do produto (Lima, 2005), o que caracteriza o alto custo de produção. Por sua vez, a maioria dos produtores enfrentam frequentes problemas relacionados à mortalidade de rãs decorrentes de falha de manejo sanitário, instalações inadequadas, água de má qualidade e consanguinidade (Hipólito, 2004).

Entretanto, pode-se considerar atualmente que a falta de uma ração específica para rã touro, é um dos principais obstáculos da ranicultura, onde a alimentação em cativeiro é feita com rações comerciais utilizadas para atender as exigências nutricionais de peixes, pois não se dispõe de informações suficientes para necessidade das rãs-touro, acarretando a ineficiência na conversão alimentar, e aumentando o custo de produção. Aliados a isso, há outros fatores inerentes aos desafios da atividade, na tentativa de mitigar os fatores estressantes como o canibalismo, presença de predadores, competição por alimento e espaço, vertentes estas que retardam o crescimento do animal, consequentemente reduz o sistema imune, tornando o animal mais susceptível a doenças, levando ao insucesso da atividade (Feix et al., 2006; Teixeira, 2007; Seixas-Filho et al. 2008).

## **PRINCIPAIS ENFERMIDADES NA RANICULTURA**

Com o incremento na produção da carne de rã, maior atenção tem sido dada aos aspectos sanitários associados a essa

atividade, resultando no aumento de informações acerca das enfermidades que podem ocorrer nos animais destinados à produção comercial. Hoje em dia, é bem aceito que a ocorrência de práticas de gestão pouco adequadas ao sucesso sanitário de um cultivo como, por exemplo, o emprego de sistemas com altas densidades de estocagem, o uso excessivo ou inadequado de ração, bem como as produzidas com matéria prima de baixa qualidade e acompanhadas de mudanças ambientais importantes, podem impactar negativamente a saúde das rãs. Todos os fatores supracitados podem induzir estresse, imunossupressão e alterações hematológicas às mesmas (Fenerick Jr. et al., 2006), tornando-as susceptíveis aos surtos epizoóticos.

Assim, de maneira simplificada, a transmissão de uma doença infecciosa está baseada não somente na presença de um organismo patógeno, mas também de um hospedeiro susceptível e de um ambiente adequado para tal transmissão (Ruthig, 2013). E em se tratando de doenças de importância para os cultivos de rã-touro, aquelas causadas por agentes bacterianos oportunistas podem ser consideradas como as mais prejudiciais e também as mais comuns (Mouriño et al., 2006).

A doença da perna vermelha (red-leg syndrome) é considerada uma forma epizoótica de septicemia bacteriana usualmente acompanhada de ulceração cutânea. É recorrente em cultivos de *L. catesbeianus* e uma das grandes responsáveis por significativas perdas econômicas devido à mortalidade (Pasteris et al., 2011). Os principais agentes associados à manifestação da doença da perna vermelha são *Staphylococcus aureus* (Pinheiro, 1989), *Citrobacter freundii* (Pasteris et al., 2011), *Aeromonas hydrophila* (Mouriño et al., 2006) e *Pseudomonas aeruginosa* (Souza-Junior e Hipolito, 2001). A doença afeta rãs em diferentes estágios de desenvolvimento, inclusive girinos. Os animais mantidos na fase de engorda e/ou reprodução são os mais afetados pela bacteriose que tem como porta de entrada algum tipo de lesão decorrente de imunossupressão ou problemas com a estrutura de cultivo.

Entre os sinais clínicos, há destaque para postura anormal do corpo, letargia, perda de apetite com consequente perda de peso e indiferença aos estímulos externos (Pasteris, 2006). Há presença de hemorragias nas patas e na região ventral do corpo, sendo comum o aparecimento de úlceras nos dedos, mandíbula, pele e patas (Mouriño et al., 2006). Nos girinos, observam-se pontos hemorrágicos e ulcerações na cauda e hemorragia nas patas emergentes (Mouriño et al., 2006). A taxa de mortalidade dessa bacteriose é variada, podendo resultar, na maioria das vezes, em problemas de locomoção dos animais acometidos e abscessos hepáticos (Almeida et al., 2000).

A micobacteriose é outra doença de origem bacteriana que requer atenção. Causada por *Mycobacterium* spp., esta enfermidade está entre as mais comumente encontradas em animais de cultivo, inclusive em criações de rã-touro no Brasil (Barros et al., 1988; Ferreira et al., 2006). De importância zoonótica, estas bactérias são popularmente conhecidas como as causadoras do “Granuloma de piscina” ou “Doença do aquarofilista”; as lesões decorrentes da infecção geralmente ocorrem nas extremidades (mãos e pés) do homem após contato de pele “esfolada” à água contaminada.

Geralmente, a micobacteriose é observada em animais adultos (Martinho & Heatley, 2012). Acredita-se que a sua transmissão ocorra por meio de contato direto entre indivíduos infectados, água contaminada ou ingestão de detritos aquáticos (Ferreira et al., 2006). Em indivíduos imunocompetentes, a micobacteriose geralmente induz à infecção subclínica com poucos sinais clínicos. Por outro lado, em animais imunodeprimidos ou estressados, a infecção apresenta-se muito mais severa na qual Barros et al. (1988) observaram progressiva anorexia, apatia e perda de peso. As lesões são frequentemente acompanhadas pela presença de nódulos granulomatosos de cor esbranquiçada, localizados principalmente nos rins, fígado, baço e pulmões.

Bactérias do gênero *Streptococcus* também estão relacionadas com episódios de alta mortalidade em sistemas de criação intensiva de rãs-touro. A septicemia causada por esta bacteriose causa

diversos sinais clínicos como modificação da postura, diminuição da reação de estímulos externos, sistemas nervosos de incoordenação, desvio lateral da cabeça, edema, ascite, podendo estar associada também ao prolapso retal (Mostério et al., 2014). Porém, há dúvidas em relação ao papel primário deste agente infeccioso, pois normalmente é encontrado como componente natural do ambiente (Cunningham et al., 1996).

*Ranavirus* (Iridoviridae) agrupa agentes infecciosos capazes de infectar vertebrados ectotérmicos como os anfíbios, principalmente suas formas larvais. Estes organismos são altamente virulentos e considerados uma ameaça emergente, pois estão relacionados a eventos de mortalidade em anfíbios no mundo todo (Hoverman et al., 2010). Os ranavírus já foram detectados em raniculturas de *L. catesbeianus* no Brasil (Mazzoni et al., 2009) e são suspeitos de serem os agentes etiológicos de mortalidades registradas no cultivo de girinos da rã-touro por Galli et al. (2006). De acordo com a OIE (2007), geralmente as lesões causadas por *Ranavirus* no hospedeiro vêm acompanhadas de hemorragia sistêmica. Na sua forma crônica, a doença pode incluir ulceração na pele e necrose dos membros distais.

A Chytridiomicose é o nome dado à micose dérmica letal causada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) e está relacionada com mortalidade em massa e declínio populacional de várias espécies de anfíbios com distribuição global, tanto em animais silvestres, quanto em animais de criação. A rã-touro é considerada por muitos estudiosos como reservatório natural dessa espécie de fungo, isto é, ela pode hospedar o patógeno sem, no entanto, apresentar obrigatoriamente sinais de morbidade ou mortalidade. Dessa forma, estes somente se manifestam na referida espécie em casos de estresse e comprometimento do seu sistema imune. Os sinais clínicos típicos da enfermidade incluem: letargia, emagrecimento, eritema cutâneo, postura do corpo anormal e perda do reflexo de endireitamento (Voyles et al., 2009). Segundo a OIE (2011), tanto *Ranavirus* quanto *B. dendrobatidis* são considerados agentes etiológicos de notificação obrigatória.



No Brasil, além dos agentes etiológicos supracitados, também já foram encontrados os seguintes parasitos: nematoide *Longibucca catesbeiana* (Cylindrocorporidae), oocistos do protozoário *Cryptosporidium* (Apicomplexa), o crustáceo *Lernaea cyprinacea* (Copepoda) e larvas de moscas pertencentes a *Sarcophaga* e *Notochaeta*.

O nematoide *L. catesbeiana* é parasito do trato gastrointestinal de rã-touro e localiza-se principalmente no estômago e, em menor número, no intestino do seu hospedeiro. Este verme cilíndrico possui dimensões corporais reduzidas (média de 595 micrômetros de comprimento) e fêmeas larvíparas. Souza Jr. et al. (1993) observaram altos índices parasitológicos de *L. catesbeiana* em rãs-touro selvagens e de cultivo no estado de São Paulo, com intensidade de infecção que variaram de 2.500 a 10.726 parasitos por hospedeiro. Segundo Hipolito (2004), a presença do verme pode desencadear lesões gástricas e intestinais, sangramento e apatia nos hospedeiros infectados.

Devido a sua baixa especificidade de hospedeiro, o crustáceo *L. cyprinacea*, popularmente conhecido como verme-âncora, é parasito de diversas espécies de peixes de água doce, assim como de anfíbios (formas larvais). Sua presença é geralmente um problema em instalações aquícolas, onde a infestação pode ser potencialmente letal (Kupferberg et al., 2009). Em sistemas de girinagem, uma das vias mais comuns de introdução do parasito é por meio do uso de água contaminada por peixes selvagens parasitados ou introduzidos em açudes que abastecem a criação.

Durante ensaio de infestação experimental com *L. cyprinacea* em girinos de rã-touro, Martins & Souza Jr. (1995) observaram 100% de mortalidade dos mesmos entre o período de 72 a 96 horas após exposição inicial. Os parasitos fixaram-se principalmente na boca e cloaca dos girinos, onde foi possível observar alterações teciduais significativas, como prolapso anal e má formação dos membros posteriores.

Cabral et al. (2011) detectaram a presença de oocistos do protozoário *Cryptosporidium* sp. em raspagens da mucosa intestinal e

amostras de fezes de rã-touro. Os autores atentam para a importância da realização de pesquisas epidemiológicas relacionadas ao parasito devido a possibilidade de sua transmissão ao homem (zoonose).

Na ranicultura, apesar do produtor fazer bom manejo e limpeza das baias onde ficam os animais, é provável que insetos sejam atraídos para o local. Esses insetos podem tanto ser inofensivos aos animais, como podem lhes trazer riscos à saúde. As moscas *Sarcophaga* e *Notochaeta* pertencem ao segundo grupo e podem ocasionar problemas graves de miíase. Estes eram mais comuns no início da ranicultura, em que carcaças eram utilizadas para atrair moscas e alimentar as rãs. Neste caso, as moscas depositam seus ovos e as larvas emergentes são deglutidas pelas rãs, alojando-se na glote e língua, onde alimentam-se da sua carne e provocam feridas severas com consequente presença de infecções secundárias por bactérias (Souza Jr. et al. 1989). Atualmente, a presença desta doença é rara, porém, cuidados devem ser tomados para que a criação destes animais não seja prejudicada por eventuais casos de miíase.

Tendo em vista a ampla distribuição de *L. catesbeiana* no Brasil (Both et al. (2011) registraram a espécie em 130 municípios brasileiros) e o fato dela estar classificada entre as cem piores espécies exóticas invasoras (Lever, 2003), torna-se evidente a necessidade de um acompanhamento sanitário contínuo em raniculturas, assim como maior controle no transporte comercial desses animais. Diversos autores consideram a referida espécie como fonte notória de doenças infecciosas que podem, por sua vez, ser disseminadas às espécies nativas (Sharifian-Fard et al., 2011). Por isso, estudos que promovam maior entendimento no reconhecimento dos fatores envolvidos na dinâmica das principais doenças, assim como na sua prevenção, são importantes como forma de gerenciar ou reduzir os impactos negativos associados às enfermidades em raniculturas.

## MANEJO PREVENTIVO À ENFERMIDADE

Após a instalação da doença na propriedade, o seu controle e tratamento são difíceis e onerosos. A maioria das enfermidades que provocam grandes mortalidades ou deformações nos lotes são causadas por bactérias e tratadas com antibióticos. Porém, o uso inapropriado e/ou descontrolado deste quimioterápico oferece riscos, podendo levar à seleção de cepas patogênicas resistentes, presença de resíduos deixados na carne, aumento nos gastos de produção, além de poluição ambiental, entre outros (Cabello, 2006). Na ranicultura, por exemplo, já foi observado resistência da cepa de *Streptococcus* sp. aos antibióticos cefalotina, oxacilina e penicilina, sugerindo que os ranários podem se tornar ambientes propícios ao desenvolvimento de bactérias resistentes (Pilarski & Schocken-Iturrino, 2010).

Como base nesta problemática, muitos países têm abolido o uso de antibióticos na produção animal, assim como a União Europeia desde o ano de 2006 (Lückstädts, 2006). No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2013) já proibiu o uso de diversos antibióticos como aditivo alimentar na produção animal, a saber - cloranfenicol e nitrofuranos (IN nº 09, 27/06/2003), quilononas e sulfonamidas (IN nº 26, 9/07/2009), espiramicina e eritromicina (IN nº 14, 17/05/2012).

As melhores medidas para o controle de enfermidades em ranários são profiláticas e preventivas. Como medidas profiláticas pode-se citar: uso de pedilúvio e rodolúvio com solução de hipoclorito de sódio na entrada da propriedade, instalações e entre setores; construir instalações para desinfecção e higiene pessoal (banheiros, lavatórios, vestuário, botas e luvas); limpar, desinfetar e esterilizar utensílios; privar-se de cantos e superfície abrasiva nas instalações de cultivo a fim de evitar injúria nas rãs (porta de entrada para infecções secundárias) e acúmulo de resíduos; ficar atento às densidades de estocagem nas diferentes fases de cultivo; evitar manipulação excessiva dos animais; certificar a procedência dos reprodutores antes da sua aquisição; não acondicionar os animais recém adquiridos imediatamente junto aos demais (período

de quarentena); impedir a fuga dos animais para a natureza evitando possíveis problemas ecológicos; utilizar ração de ótima qualidade e armazená-la em locais apropriados longe do chão evitando roedores, umidade e estocagem prolongada; acondicionar as sobras de rações, animais mortos e outros resíduos em sacos plásticos e eliminá-los por incineração; a cada ciclo de produção, esvaziar, desinfetar e realizar o vazio sanitário nas estruturas utilizadas; viabilizar o abastecimento hídrico de forma independente para cada tanque, a fim de prevenir a disseminação de patógenos; tratar a água de desuso da criação por meio de lagoa de decantação ou sedimentação para posterior eliminação junto ao corpo receptor de acordo com as normas do CONAMA; em caso de suspeita de doenças ou ferimentos, isolar os animais em instalações afastadas.

Entre as medidas preventivas, há destaque para a prática de vacinação e a utilização de aditivos alimentares, tais como: vitaminas C e E, imunostimulantes, prebióticos e probióticos. Muitas destas medidas já estão sendo aplicadas na aquicultura, principalmente na piscicultura continental, onde se obtém resultados satisfatórios.

Vacinação é o termo utilizado para definir qualquer preparo com antígeno proveniente de um organismo patogênico, capaz de estimular tanto o sistema imune inato quanto o adaptativo da espécie animal de interesse, conferindo-lhe aumento de resistência e proteção duradoura contra infecções (viral, bacteriana ou fúngica) sem o desenvolvimento prévio de enfermidades (*vide* revisão Magnadottir, 2010). Nos últimos 10 a 20 anos, essa prática vem se estabelecendo em animais de cultivo, embora ainda de forma incipiente em anfíbios. Dentre os diversos modos utilizados para o preparo de vacinas, há destaque para as inativadas, de DNA, "ghosts" e as atenuadas. As formas de administrações mais frequentes são: por imersão, injeção (intraperitoneal) ou até mesmo via oral na alimentação (*vide* revisão Magnadottir, 2010; Pridgeon & Klesius, 2010).

Em experimento realizado com o objetivo de testar se a rã africana albina *Xenopus laevis* produziria imunoglobulinas IgX em resposta à imunização via gavagem (isto é, com introdução do

antígeno por meio de ingestão forçada), Du et al. (2012) observaram regulação positiva de IgX, condizendo com a premissa de que IgX é análoga funcional da IgA de mamíferos onde, sabidamente, atua na proteção das células epiteliais do hospedeiro contra microorganismos invasores como vírus e bactérias. Contudo, os autores alertam para a necessidade de maiores estudos a fim de elucidar melhor a relação entre IgX e IgA.

De outra forma, estudos de imunização de rã de perna amarela da montanha *Rana muscosa* contra *Batrachochytrium dendrobatidis* por injeção do fungo morto diluído em formalina e contendo adjuvante não apresentaram diferenças significativas no tempo de infecção, prevalência, intensidade de infecção ou mortalidade dos hospedeiros (Stice & Briggs, 2010). Não obstante, recentemente foi desenvolvida uma vacina contra *B. dendrobatidis* mais eficaz e duradoura quando comparada ao trabalho mencionado anteriormente e ao tratamento convencional feito por meio de fungicidas (terapias de curta duração e com riscos de provocar mortalidades em outros organismos). Tal vacina foi desenvolvida com o fungo morto por congelamento; as células fúngicas foram então colocadas sobre a pele de pererecas cubanas *Osteopilus Septentrionalis* por várias vezes e, posteriormente, foram infectadas com o fungo vivo. Os autores concluíram que as rãs que haviam recebido mais vezes a vacina apresentaram menos células fúngicas vivas por grama de tecido, confirmando que a mesma é eficaz (Coghlan, 2014).

Além da prática de vacinação, micronutrientes antioxidantes como vitaminas A, C e E, carotenóides e alguns minerais são comumente aplicados como aditivos alimentar preventivos na dieta. Sabe-se que a deficiência de vitamina C pode levar à imunossupressão e susceptibilidade à infecção por agentes infecciosos, ao passo que a insuficiência de vitamina E pode acarretar em condições degenerativas de células não específicas. Diferentemente, níveis acima da exigência do animal aumentam a resposta imune e oferecem resistência contra doenças (Kiron, 2012).

Girinos de rãs-touro suplementados com diferentes níveis de vitamina C ou E (50, 250 e 500 mg/kg de ração), não apresentaram diferenças significativas sobre o crescimento dos animais independente da vitamina e da sua quantidade incluída na ração. Entretanto, a adição de 500 mg de vitamina C proporcionou a melhor taxa sobrevivência nos girinos (62,8%) em comparação ao grupo controle. Os dados sugerem que a adição de 500 mg de vitamina C/kg ração podem melhorar a sobrevivência de girinos *L. catesbeianus* (De Stéfani et al., 2001).

Diferentemente do estudo supracitado, Colombano et al (2007) sugerem que a suplementação de vitamina C para girinos de *L. catesbeianus* deve ser 2.000 mg/kg de ração, pois esta concentração promoveu melhorias na taxa de sobrevivência (93,0%), crescimento específico (6,0% ao dia), ganho de peso (4,2) e porcentagem de metamorfose.

Já estudos realizados com rã-touro pós-metamorfose (imago) suplementada com diferentes níveis de vitamina C (0, 250, 500, 750, 1.000 e 2.000 mg/kg de ração), inferiram não haver influência da adição de vitamina C sobre a conversão alimentar, crescimento, sobrevivência, níveis de leucócitos, de corticosterona no plasma (indicador de estresse) e de macrófagos ativos. Estes níveis de corticosterona indicam possível adaptação às condições de cativeiros destes animais pós-metamorfose (Knoop et al., 2011; Knoop et al., 2014).

Os imunostimulantes são compostos que modulam o sistema imunológico inato do hospedeiro, conferindo ao mesmo aumento de resistência às doenças causadas por agentes patogênicos por meio da estimulação direta dos receptores de células e/ou genes ligados ao referido sistema. Assim, não produzem nenhum componente de memória e a resposta é de curta duração (Encarnação, 2010), sendo geralmente incluída na dieta durante operações estressantes na aquicultura como classificação, transferência, vacinação ou ao longo das fases cruciais de vida do animal para ajudá-lo a manter boa saúde (Kiron, 2012).

Os imunostimulantes mais utilizados atualmente na aquicultura são fragmentos de parede celular de padrões moleculares associados a patógenos como: beta-glucanos de fungos, peptidoglicanos de bactérias gram-positivas, lipopolissacarídeos de bactérias gram-negativas e nucleotídeos de vírus (Encarnação, 2010). Em experimento realizado com rã touro suplementada com beta-glucanos e submetida à condição de estresse por meio de diferentes densidades de estocagem, Freitas et al. (2014) concluíram que o imunostimulante teve papel hepato-protetor, reduzindo os efeitos estressores sobre o fígado.

Os prebióticos são ingredientes não digeríveis pelas enzimas do hospedeiro, como a inulina e os fruto-oligosacarídeos, que são utilizados como substratos e fermentados pela flora bacteriana do trato digestivo originando substâncias que estimulam seletivamente o crescimento e/ou atividade de bactérias benéficas, particularmente as bifidobactérias e lactobacilos, melhorando o equilíbrio intestinal do hospedeiro e inibindo a colonização por bactérias patogênicas (Encarnação, 2010).

## **PROBIÓTICOS COM ÊNFASE NO DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE RÃS**

Os probióticos na aquicultura são definidos como células microbianas que, ao serem adicionadas na alimentação, colonizam e se mantêm vivas no trato digestório dos animais, de modo a melhorar a condição de saúde dos mesmos, agindo de maneira preventiva (Gatesoupe, 1999).

Os probióticos podem atuar das seguintes formas: a) competir pelos nutrientes e/ou inibir o crescimento de bactérias patogênicas; b) alterar a composição da comunidade bacteriana, promovendo melhorias na saúde dos animais; c) excluir o organismo patogênico devido a alguma competição; d) contribuir com fonte nutricional e/ou na digestão enzimática; e) melhorar os parâmetros zootécnicos (*vide* revisão de Balcázar et al., 2006).

No âmbito da aquicultura, são diversos os estudos que têm demonstrado efeitos positivos à saúde do animal cultivado, quando

se utilizam dietas suplementadas com bactérias probióticas. Este é o caso dos resultados de Dias et al. (2008; 2010) com rã-touro pós-metamorfose suplementada com probióticos comerciais P1- *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Enterococcus faecium*  $3 \times 10^6$  UFC/g e P2- *Bacillus subtilis*  $10^9$  UFC/g e em duas dosagens (10 g/kg e 5 g/kg). Neste estudo, os autores observaram aumento no ganho de peso, redução do ciclo produtivo em 28 dias e efeito imunomodulador decorrente do aumento da capacidade fagocítica. Em contrapartida, não averiguaram melhorias ou alterações nos parâmetros hematológicos, na conversão alimentar e na taxa de crescimento específico.

Devido a não regularidade dos efeitos benéficos dos probióticos comerciais aplicados na ranicultura, tem-se buscado isolar e selecionar bactérias possivelmente probióticas do próprio trato intestinal do animal em questão, ou seja, espécie-específicas. Neste sentido, Mendoza et al. (2012), selecionaram um grupo de bactérias ácido-láticas potencialmente probióticas da cloaca, da pele dorsal e ventral de *L. catesbeianus*. Identificaram-nas como *Lactococcus lactis*, *L. garvieae*, *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *Pediococcus pentosaceus* e *Enterococcus gallinarum*. Observaram que as culturas destes microorganismos reduziram o pH entre 3,74 e 5,54, e a atividade antimicrobiana do sobrenadante desaparecia quando este era neutralizado, indicando que a inibição dos patógenos era decorrente dos ácidos orgânicos. Divergentemente, a cepa de *Enterococcus* spp. manteve seus efeitos inibitórios contra *Staphylococcus epidermidis* e *L. monocytogenes* demonstrando que o  $H_2O_2$  e/ou algum tipo de bactericina poderiam também estar participando da atividade antimicrobiana. Segundo o teste de compatibilidade realizado pelos referidos autores, todas as cepas, com exceção da *E. gallinarum*, que inibiu as outras, podem ser adicionadas juntas como mix, pois não apresentaram antagonismo entre si.

Nesta mesma linha de pesquisa tem-se buscado entender as propriedades benéficas destes probióticos. Foi o que Pasteris et al. (2014) procuraram em seu trabalho, caracterizando as bactericinas produzidas por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CRL 1584 isolada de



girinos de *L. catesbeianus*. Os autores averiguaram que a cepa CRL 1584 foi capaz de inibir o crescimento das bactérias patogênicas *Citrobacter freundii* e *Listeria monocytogenes* devido à liberação de produtos como: ácido láctico, peróxido de hidrogênio e diversos tipos de bactericinas moleculares. Os testes químicos indicaram que as bactericinas do sobrenadante eram proteinases naturais. Estes e outros resultados encontrados neste trabalho auxiliam no aumento do conhecimento sobre as bactericinas tendo em vista o seu potencial de inclusão em probióticos na ranicultura ou como biopreservacionista.

Além disso, todas essas investigações podem representar um ponto de partida, a fim de se avaliar o potencial de aplicabilidade de probióticos em prevenção às diversas doenças infecciosas relacionadas às mortalidades e perdas econômicas nas raniculturas, e no declínio global de diversas espécies de anfíbios (Mendoza et al., 2012).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como atividade promissora, os envolvidos na cadeia produtiva da ranicultura devem estar atentos a novas investigações quanto a possíveis zoonoses causada por exemplo pelos oocistos do protozoário *Cryptosporidium* sp; desenvolvimento de vacinas biosseguras, eficaz e economicamente acessível ao produtor rural contra, principalmente, *Ranavirus* e o fungo *Batrachochytrium dendrobatidis*, os quais são doenças de notificação obrigatória que provocam perdas na produção e declínio na população de anfíbios; alternativas ao uso corriqueiro e indiscriminado de antibióticos como a seleção e suplementação de probióticos autóctones em dietas para girinos e adultos de rãs; progresso nas metodologias de suplementação dos probióticos como a micro-encapsulação; e a utilização dos compostos produzidos pelos micro-organismos probióticos como os ácidos orgânicos que podem ser adicionas nas dietas com maior facilidade e em escala industrial. Estudos com sua suplementação para peixes e camarões tem demonstrado efeitos positivos no desempenho zootécnico e no combate a bactérias patogênicas.

## REFERÊNCIAS

- AFONSO, A.M. Ranicultura se consolida com cadeia produtiva operando em rede interativa. *Visão Agrícola*, 11:33-35, 2012.
- ALMEIDA, A.C.; RISTOW, L. E.; BUELTA, T. T. M. Caracterização microbiológica e clínica de surtos de "red leg" em Minas Gerais e avaliação do efeito bactericida *in vitro* do Vantocil IB® para *Aeromonas hydrophila*. *Ciência Rural*, 30:661-664, 2000.
- BAGGIO SILVA, P.; BORDIGNON, A.C.; FERNANDA SILVA, L.; OLIVEIRA, L.P.; SILVA, G.H.; SOUZA OLIVEIRA, S.S.; TRENTIM, T.A.B. Criação de rã: Estudo de viabilidade para implantação de ranário na região de Mogi Mirim/SP. *Universitas*, 2: 97-119, 2009.
- BALCÁZAR, J.L.; BLAS, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; CUNNINGHAM, D.; VENDRELL, D.; MÚZQUIZ, J.L. Review: The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*, 114: 173-186, 2006.
- BARROS, G.C.; LANGENEGGER, C.H.; LANGENEGGER, J.; PEIXOTO, P.V. Surto de micobacteriose em criação de rãs (*Rana catesbeiana*) causado por *Mycobacterium marinum*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 8:75-80,1988.
- BOTH, C.; LINGNAU, R.; SANTOS-JR., A.; MADALOZZO, B.; LIMA, L.P.; GRANT, T. Widespread occurrence of the american bullfrog, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) (Anura: Ranidae), in Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 6: 127-134, 2011.
- BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA n° 13, de 30 de novembro de 2004. 2004. Disponível em [http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/outras\\_normas/instrucao\\_normativa\\_013.htm](http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/outras_normas/instrucao_normativa_013.htm)>. Acesso em: 1de agosto, 2014.
- CABELLO, F. C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8:1137-1144, 2006.
- CABRAL, A. D.; HIPOLITO, M.; CABRAL, D. D.; SILVA, N. R. Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em rãs-touro (*Lithobates catesbeianus* Shaw, 1802) no município de Uberlândia, MG, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 12:109-114, 2011.
- CRIBB, A. Y.; AFONSO, A. M.; MOSTÉRIO, C. M. F. Manual Técnico de Ranicultura. 1ª ed. Rio de Janeiro: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), 73p. 2013.
- COGHLAN, A. Vaccine could stop frog-killing fungus. *New Scientist*, 223:10-10, 2014.
- COLOMBANO, N.C.; FENERICK JÚNIOR, J.; DE STÉFANI, M.V.; MORAES, F. R.; SOUZA, M.A.; MALHEIROS, E.B. Suplementação alimentar com vitamina C e desempenho zootécnico de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*). *Acta Scientiarum Animal Science*, 29:333-338, 2007.
- CUNNINGHAM, A.; LANGTON, T.; BENNETT, P.; LEWIN, J.; DRURY, S.; GOUGH, R.; MACGREGOR, S. Pathological and microbiological findings from incidentes of unusual mortality of the common frog (*Rana temporária*), *Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biological Science*, 351:1539-1557, 1996.

DE STÉFANI, M. V.; MARCANTONIO, A. S.; MARTINS M. L. Suplementação com vitamina C e E sobre o desenvolvimento e sobrevivência de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). *Ciência Rural*, 31:869-871, 2001.

DIAS, D.C.; STÉFANI, M. V.; FERREIRA, C.M.; FRANÇA, F. M. Uso de probióticos em ração de rã-touro (*Rana catesbeiana*): desempenho produtivo. *Archivos de Zootecnia*, 57:449-455, 2008.

DIAS, D.C. STÉFANI, M.V.; FERREIRA, C.M.; FRANÇA, F.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SANTOS, A.A. Haematologic and immunologic parameters of bullfrogs, *Lithobates catesbeianus*, fed probiotics. *Aquaculture Research*, 41:1064 -1071, 2010.

DU, C. C.; MASHOOF, S. M.; CRISCITIELLO, M. F. Oral immunization of the African clawed frog (*Xenopus laevis*) upregulates the mucosal immunoglobulin IgX. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 145: 493-498, 2012.

ENCARNAÇÃO, P. Varied feed additives improve gut, animal health. *Global Aquaculture Advocate*, 3:41-41, 2010.

FAO (2015) World aquaculture production by species groups. <ftp://ftp.fao.org/FI/STAT/summary/b-1.pdf>. Acesso em 25/02/2015.

FEIX, R.D.; ABDALLAH, P.R.; FIGUEIREDO, M.R.C. Resultado econômico da criação de rã em regiões de clima temperado, Brasil. *Informações Econômicas*, SP, 36: 70-80, 2006.

FENERICK JUNIOR, J.; STÉFANI, M.V.; MARTINS, M.L. Parâmetros hematológicos de rã-touro, *Rana catesbeiana*, alimentada com diferentes rações comerciais. *Boletim do Instituto de Pesca*, 32:173-181, 2006.

FERREIRA, R.; FONSECA, L.S.; AFONSO, A. M.; SILVA, M.G.; SAAD, M.H.; LILENBAUM, W.A report of mycobacteriosis caused by *Mycobacterium marinum* in bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *The veterinary Journal*, 171:177-180, 2006.

FERREIRA, C.M.; PIMENTA, A.G.C.; PAIVA NETO, J.S. Introdução à Ranicultura. *Boletim Técnico do Instituto de Pesca*, 33:1-15, 2002.

FONTANELLO, D.; WIRS, R.R., PENTEADO, L. A.; CAMPOS, B. E. S.; MANDELLI JR., J.; SOARES, H. A. Ganho de peso de rãs-touro (*Rana catesbeiana*, SHAW) criadas em gaiolas individuais de diferentes tamanhos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 15:45-49, 1988.

FONTANELLO, D.; WIRS, R.R., PENTEADO, L. A.; CAMPOS, B. E. S.; MANDELLI JR., J.; SOARES, H. A. Ganho de peso de rãs-touro (*Rana catesbeiana*, SHAW) criadas em gaiolas individuais de diferentes tamanhos. *Boletim Técnico do Instituto de Pesca*, 15: 45-49, 1998.

FONTANELLO, D.; WIRZ, R.R.; ARRUDA SOARES, H.; CAMPOS, B.E.S.; FREITAS, E.A.N.; FERREIRA, C.M. Comparação de quatro sistemas de engorda de Rãs-Touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802): Tanque-Ilha, Confinamento, Anfigranja e Gaiolas. 1 - Desenvolvimento ponderal; 2 - Custo operacional. *Boletim Técnico do Instituto de Pesca*, 20: 43-58, 1993.

FREITAS, J. J. G.; BACH, E.E.; BORDON, I.C.A.C.; MARTINS, A.M.C.R.P.F.; HIPOLITO, M.; FERREIRA, C.M. Resposta hepática à suplementação alimentar em rãs-touro sob condição de estresse. *Boletim do Instituto de Pesca*, 40: 261-269, 2014.

- GALLI, L.; PEREIRA, A.; MARQUEZ, A.; MAZZONI, R. Ranavirus detection by PCR in cultured tadpoles (*Rana catesbeiana* Shaw 1802) from South America. *Aquaculture*, 257:78-82, 2006.
- GATESOUBE, F. J. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180:147-165, 1999.
- HIPOLITO, M. Manejo sanitário no cultivo de rã. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (Ed.). *Sanidade de Organismos Aquáticos*. São Paulo: Varela, p. 333-353, 2004.
- HOVERMAN, J.T.; GRAY, M.J.; MILLER, D.L. Anuran susceptibilities to ranaviruses: role of species identity, exposure route, and a novel virus isolate. *Diseases of Aquatic Organisms*, 89:97-107, 2010.
- KIRON, V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal Feed Science and Technology*, 173:111-133, 2012.
- KNOOP, R.; FERREIRA, C. M.; TAKAHASHI, N.S.; FRANÇA, F.M.; ANTONUCCI, A.M.; TEIXEIRA, P.C.; SUGOHARA, A.; DIAS, D.C.; TACHIBANA, L.; HIPOLITO, M. Influência da incorporação de vitamina C à dieta no desempenho produtivo de rãs-touro *Lithobates catesbeianus* pós-metamorfoseadas. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37:383-391, 2011.
- KNOOP, R.; DIAS, D.C.; FRANÇA, F. M.; ANTONUCCI, A. M.; TEIXEIRA, P. C.; VIAU, P.; OLIVEIRA, C.A.; HIPOLITO, M.; FERREIRA, C.M. Vitamin C supplementation has no effect on American bullfrog's immune response. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. Online view, 2014.
- KUPFERBERG, S.J.; CATENAZZI, A.; LUNDE, K.; LIND, A.J.; PALEN, W.J. Parasitic copepod (*Lernaea cyprinacea*) outbreaks in foothill yellow-legged frogs (*Rana boylei*) linked to unusually warm summers in northern California. *Copeia*, 3:529-537, 2009.
- LEVER, C. *Naturalized amphibians and reptiles of the world*. New York: Oxford University Press, 2003.
- LIMA, S.L.; AGOSTINHO, C. A. *A criação de rãs*. 3 ed. São Paulo: Editora Globo, 1988.
- LIMA, S.L. Situação Atual e Perspectivas da Ranicultura. *Panorama da Aquicultura*, 15: 32-34, 2005.
- LÜCKSTÄDTS, C. Acidifiers in aquaculture prove beneficial. *Feed Mix*, 14:11-12, 2006.
- MAGNADOTTIR, B. Immunological Control of Fish Diseases. *Marine Biotechnology*, 12:361-379, 2010.
- MARTINS, M.L.; SOUZA JR., F.R. Infestação experimental em girinos de *Rana catesbeiana* Shaw por copepoditos de *Lernaea cyprinacea* Linnaeus (Copepoda, Lernaeidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 12:619-625, 1995.
- MARTINHO, F.; HEATLEY, J. J. Amphibian mycobacteriosis. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 15:113-119, 2012.
- MAZZONI, R.; CARNEVIA, D.; ALTIERI, W.; MATSUMURA, Y. Cría de ranas em "Sistema Inundado", experiencias en ranarios comerciales. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA & TECHNOFROG'95, 8, Viçosa, 1995.

MAZZONI, R.; MESQUITA, A. J.; FLEURY, L. F. F.; BRITO, W. M. E. D.; NUNES, I. A.; ROBERT, J.; MORALES, H.; COELHO, A. S. G.; BARTHASSON, D. L.; GALLI, L.; CATROXO, M. H. B. Mass mortality associated with a frog vírus 3-like Ranavirus infection in farmed tadpoles *Rana catesbeiana* from Brazil. *Diseases of Aquatic Organisms*, 86: 181-191, 2009.

MENDOZA, G. M.; PASTERIS, S. E.; ALE, C. E.; OTERO, M. C.; BÜHLER, M. I.; NADER-MACÍAS, M. E. Cultivable microbiota of *Lithobates catesbeianus* and advances in the selection of lactic acid bacteria as biological control agents in raniculture. *Research in Veterinary Science*, 93:1160-1167,2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA) Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/alimentacao/aditivos/aditivos-proibidos>. Acesso em: 01 de agosto de 2014.

MOREIRA, C. R.; HENRIQUES, M.B.; FERREIRA, C.M. Frog farms as proposed in agribusiness aquaculture: economic viability based in feed conversion. *Boletim do Instituto de Pesca*, 39:389-399, 2013.

MOSTÉRIO, C.M.F.; MAZZONI, R.; HIPÓLITO, M. Principais patologias de anfíbios em criadouros comerciais. In: MADI, R. R.; CAMPOS, C.M.; LIZAMA, M. A. P.; TAKEMOTO, R. M. (Org.). *Patologia e Sanidade em Ambientes Aquáticos*, p. 115-135, 2014.

MOURIÑO, J.L.P.; MARTINS, M.L.; YAMASHITA, M.M.; BATISTA, C.R.V.; PEREIRA, M.A. Isolamento de *Aeromonas hydrophila* em girinos de rã-touro na metamorfose. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 8:1325-1327, 2006.

NÓBREGA, I.C.C.; ATAÍDE, C.S.; MOURA, O. M.; LIVERA, A.V.; MENEZES, P.H. Volatile constituents of cooked bullfrog (*Rana catesbeiana*) legs. *Food Chemistry*, 102: 186-191, 2007.

OIE. Infection with ranavirus. OIE Aquatic Animal Disease Cards, 2007.

OIE. The World Organisation for Animal Health 2011. Infection with ranavirus. 2011. Disponível em: <[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/aahc/2010/en\\_chapitre\\_1.8.2.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahc/2010/en_chapitre_1.8.2.pdf)> Acesso em julho de 2014.

OLIVEIRA, G.A. Instalação de ranários. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTORES, 3, Uberlândia/MG, Anais....Uberlândia, MA/MEC/UFU. p. 41-58, 1983.

PASTERIS, S.; BUHLER, M.; NADER-MACIAS, M. Microbiological and histological studies of farmed-bullfrog (*Rana catesbeiana*) tissues displaying redleg syndrome. *Aquaculture*, 251:11-18, 2006.

PASTERIS, S. E.; GUIDOLI, M. G.; OTERO, M. C.; BUHLER, M. I.; NADER-MACÍAS, M. E. In vitro inhibition of *Citrobacter freundii*, a red-leg syndrome associated pathogen in raniculture, by indigenous *Lactococcus lactis* CRL 1584. *Veterinary Microbiology*, 151: 336-344, 2011.

PASTERIS, S.E.; VERA PINGITORE, E, ALE C.E.; NADER-MACÍAS, M.E. Characterization of a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CRL 1584 isolated from a *Lithobates catesbeianus* hatchery. *World Journal of Microbiological Biotechnology*, 30:1053-1062, 2014.

PILARSKI, F.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. Isolamento e resistência a antimicrobianos de cepas de *Streptococcus* spp. provenientes de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 62:1275-1279, 2010.

PINHEIRO, M.F.S. *Staphylococcus aureus* em 2 rãs-touro (*Rana catesbeiana*) de um ranário em Belém. Acta Amazonica, 19: 343-348, 1989.

PIRES, C.V., OLIVEIRA, M.G.A.; ROSA, J.C.; COSTA, N.M.B. Nutritional quality and chemical score of amino acids from diferente protein sources. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 26:179-187, 2006.

PRIDGEON, J.W.; KLESIUS, P.H. Fish Vaccines In Aquaculture: Proactive Treatment Protects Salmon, Catfish, Other Fish. Global Aquaculture Advocate, 13(3): 44-45, 2010.

RUTHIG, G. R. Temperature and water molds influence mortality of *Lithobates catesbeianus* eggs. Herpetological Conservation and Biology, 8:707-714, 2013.

SEIXAS FILHO, J.T.; OLIVEIRA, M.G.A.; MOURA, G.S.; GARCIA, S.L.R.; LANNA, E.T.A.; SILVA, L.N. Desempenho e atividades enzimáticas em girinos de rã-touro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 43:1617-1624, 2008.

SHARIFIAN-FARD, M.; PASMANS, F.; ADRIAENSEN, C.; DEVISSCHER, S.; ADRIAENS, T.; LOUETTE, G.; MARTEL, A. Invasive bullfrogs constitute a reservoir of ranaviruses. Emerging Infectious Diseases, 17:2371-2372, 2011.

SOUZA JUNIOR, F.L.; HIPOLITO, M. Manejo sanitário de criação de rãs. In: Encontro Nacional de Ranicultura, 11, 2001, Bragança Paulista, SP. Anais. Bragança Paulista: Abetra, p. 1-34, 2001.

SOUZA JR., F.L.; SOUZA, C.W.O.; HIPOLITO, M.; BALDASSI, L.; MARTINS, M. L. Cases of buccal myiasis in the bullfrog (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802), with larvae of *Notochaeta* sp. Aldrich, 1916 (Diptera: Sarcophagidae) in São Paulo, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 84: 517-518, 1989.

SOUZA JR., F.L.; ARTIGAS, P.T.; MARTINS, M. L. *Longibucca catesbeianae* n.sp. (Nematoda: Cylirocorporidae), a gastrointestinal parasite of the bullfrog *Rana catesbeiana* Shaw, 1802 in Brazil. Research and Reviews in Parasitology, 53:97-102, 1993.

STICE, M.J.; BRIGGS, C.J. Immunization is ineffective at preventing infection and mortality due to the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. Journal of Wildlife Diseases, 46:70-77, 2010.

TEIXEIRA, P.C. Perfil de cortisol, glicemia e de parâmetros sanguíneos de girinos de rã-touro, *Rana catesbeiana*, em diferentes densidades e após exposição aérea. São Paulo. 86p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura da UNESP, 2007.

VOYLES, J.; YOUNG, S.; BERGER, L.; CAMPBELL, C.; VOYLES, W. F.; DINUDOM, A.; COOK, D.; WEBB, R.; ALFORD, R.A.; SKERRATT, L.F. Pathogenesis of chytridiomycosis, a cause of catastrophic amphibian declines. Science, 326:582-585, 2009.

## CAPÍTULO 15

# PARASITOS DE PEIXES CHARACIFORMES E SEUS HÍBRIDOS CULTIVADOS NO BRASIL

Gabriela Tomas Jerônimo<sup>1</sup>  
Lidiane Franceschini  
Aline Cristina Zago  
Reinaldo José da Silva  
Santiago Benites de Pádua  
Arlene Sobrinho Ventura  
Márcia Mayumi Ishikawa  
Marcos Tavares-Dias  
Maurício Laterça Martins

### INTRODUÇÃO

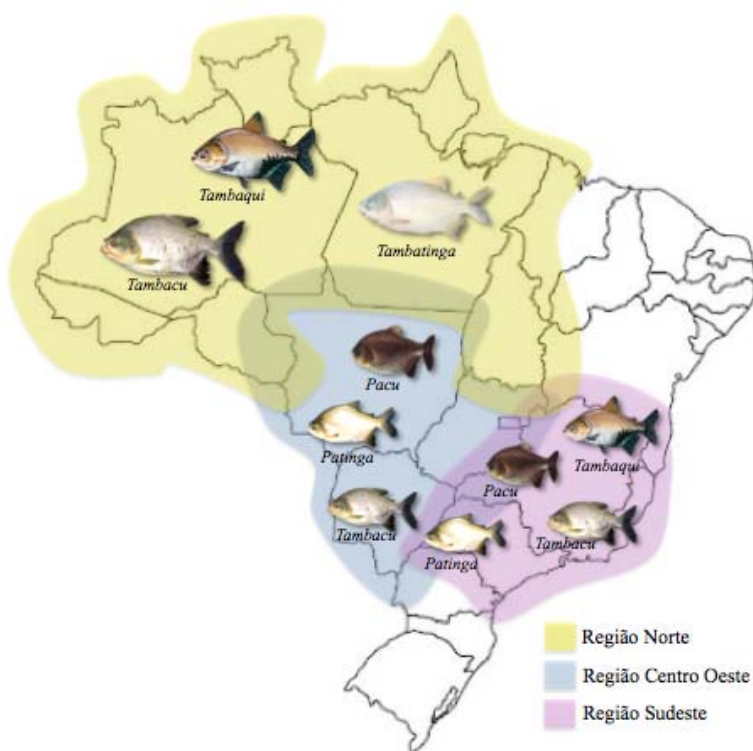
O Brasil possui inúmeras espécies nativas com potencial para exploração na aquicultura. No entanto, a grande maioria necessita de aportes científicos e tecnológicos para colocá-las em um patamar de plena viabilidade zootécnica e econômica (Boscardin, 2008). Os peixes Characiformes e seus híbridos vêm sendo produzidos em diferentes pontos do país, entretanto, as diferenças climáticas regionais exigem adaptações de manejo da espécie para possibilitar que isso ocorra (Borghetti & Silva, 2008).

A produção aquícola continental do Brasil em 2011 assinalou uma produção de 544.490,0 toneladas de pescados, na qual as regiões Norte, Sudeste e Centro-Oeste contribuíram para este índice com 17,4%, 15,9% e 13,8%, respectivamente (MPA, 2013). Neste cenário, essas regiões contribuem expressivamente com a produção de peixes pertencentes a Ordem Characiformes, como o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*); e seus

---

Jerônimo et al. Parasitos de peixes Characiformes e seus híbridos cultivados no Brasil. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

híbridos, tambacu (*C. macropomum* fêmea x *P. mesopotamicus* macho), tambatinga (*C. macropomum* fêmea x *Piaractus brachypomus* macho) e patinga (*P. mesopotamicus* fêmea x *P. brachypomus* macho), como representado na Figura 1.



**Figura 1.** Distribuição dos peixes da Ordem Characiformes, não ornamentais, cultivados nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil.

Desde a década de 80, alguns peixes da Ordem Characiformes são cruzados entre si para produzir híbridos (Porto et al., 1992) com características desejáveis para comercialização ou melhoramento de seus desempenhos na aquicultura (Porto-Foresti et al., 2011). Em geral, são mais precoces para o abate e rústicos do que as espécies parentais devido ao vigor híbrido (Silva et al., 2000) e também considerados mais resistentes às alterações ambientais e aos parasitos (Tavares-Dias et al., 2007). Nesse sentido, o intuito de se



obter híbridos é produzir prole que apresente desempenho melhor do que a média de ambas as espécies parentais (Bartley et al., 2001).

Embora o uso de peixes híbridos na aquicultura seja comum, a participação destes peixes na piscicultura nacional ainda tem sido modesta, pois dados estatísticos disponíveis até o momento não fornecem uma situação clara do nível de produção de todos os híbridos produzidos no Brasil (Jerônimo, 2013). Entretanto, esses peixes chamam atenção de produtores que visam como alternativa de lucro, a utilização de híbridos devido às suas vantagens zootécnicas. Logo, com a intensificação dos cultivos, problemas sanitários inevitavelmente emergem devido a depreciação na qualidade de água, adensamento populacional e manejo inadequado, tornando-os susceptíveis a infecções por patógenos, surgindo a necessidade de maiores conhecimentos sobre o manejo para a melhoria nas condições de saúde dos peixes. Assim, o monitoramento sanitário é extremamente necessário para garantir o desempenho produtivo e a segurança do sistema intensivo de produção.

Diante disso, a partir da década de 90, grupos de pesquisas distribuídos no país, vêm unindo esforços para consolidação de estudos sobre os aspectos sanitários destes peixes. O presente capítulo faz uma compilação dos estudos realizados e publicados em artigos científicos, livros, capítulos de livros e outras publicações, bem como fornece informações dos próprios autores, sobre os parasitos que acometem peixes Characiformes, não ornamentais, cultivados nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Norte do Brasil.

## **PERFIL PARASITÁRIO DOS PEIXES DISTRIBUÍDOS NAS DIFERENTES REGIÕES**

Os parasitos identificados dos peixes Characiformes, ou vulgarmente denominados de “peixes redondos”, cultivados na região Sudeste estão dispostos na Tabela 1; da região Centro-Oeste na Tabela 2; e da região Norte na Tabela 3. Nas pisciculturas da região Sudeste, os parasitos protozoários foram observados por Eiras et al. (1995), Martins & Romero (1996), Martins et al. (2000),

Souza et al. (2000), Tavares-Dias et al. (2000), Martins et al. (2001), Tavares-Dias et al. (2001a), Tavares Dias et al. (2001b), Martins et al. (2002), Schalch & Moraes (2005), Schalch et al. (2006a), Tavares-Dias et al. (2008), Jerônimo et al. (2012), Pádua et al. (2012a), Pádua et al. (2013) e Franceschini et al. (2013). Na região Centro-Oeste, os protozoários foram observados por Jerônimo et al. (2012), Sant'Anna et al. (2012), Pádua et al. (2013); e na região Norte por Tavares-Dias et al. (2006), Santos et al. (2013), Silva et al. (2013) e Dias et al. (2015).

**Tabela 1.** Parasitos de peixes Characiformes cultivados na região Sudeste do Brasil.

|                                     | PACU | PATINGA | TAMBAQUI | TAMBACU | SÍTIO DE INFECÇÃO  |
|-------------------------------------|------|---------|----------|---------|--|
| <b>PROTOZOA</b>                     | +    |         |          |         |  |
| (não identificado)                  |      |         |          |         | Brânquia   |
| <b>Flagellata</b>                   |      |         |          |         |  |
| <i>Cryptobia</i> sp.                | +    |         | +        |         | Brânquia   |
| <i>Ichthyobodo necator</i>          | +    |         | +        | +       | -  |
| <i>Piscinoodinium pillulare</i>     | +    |         | +        | +       | Brânquia e tegumento                                       |
| <b>Ciliophora</b>                   |      |         |          |         |  |
| <i>Apiosoma</i> sp.                 | +    |         | +        |         | Tegumento  |
| <i>Chilodonella hexasticha</i>      | +    | +       | +        | +       | Brânquia   |
| <i>Chilodonella</i> sp.             |      |         |          |         |  |
| <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> | +    | +       | +        | +       | Brânquia e tegumento                                       |
| <i>Trichodina</i> sp.               | +    | +       | +        | +       | Brânquia e tegumento                                       |
| <i>Trichodina colisae</i>           | +    | +       |          |         | Brânquia, nadadeiras e tegumento                           |
| <i>Trichodina heterodentata</i>     | +    |         |          |         | Brânquia, nadadeiras e tegumento                           |
| <b>MYXOZOA</b>                      |      |         |          |         |  |
| Mixosporídeos não identificados     | +    |         |          | +       | -  |
| <i>Henneguya</i> sp.                | +    | +       |          | +       | Brânquia, rim, baço  |
| <i>Henneguya piaractus</i>          | +    |         |          | +       | Brânquia   |
| <i>Henneguya leporinicola</i>       | +    |         |          | +       |  |
| <i>Henneguya pellucida</i>          | +    |         |          |         |  |
| <i>Myxobolus</i> sp.                | +    | +       |          |         | Rim e baço   |
| <i>Myxobolus cuneus</i>             | +    |         |          |         | Vesícula biliar, bexiga urinária, brânquias; baço, fígado, |

|   |   |   |   |                                |
|---|---|---|---|--------------------------------|
| <i>Myxobolus cf. colossomatis</i>                                     | + |   |   | coração                        |
| <i>Myxobolus colossomatis</i>   | + |   | + | Brânquia                       |
| <b>MONOGENEA</b>  |   |   |   |                                |
| Monogenea não identificado  | + |   | + | Brânquia                       |
| Ancyrocephalinae  |   |   | + | Brânquia                       |
| <i>Anacanthorus</i> sp.   | + |   |   | Brânquia                       |
| <i>Anacanthorus penilabiatus</i>                                      | + | + | + | Brânquia                       |
| <i>Anacanthorus spatulatus</i>  | + |   |   | Brânquia                       |
| <i>Mymarothecium</i> sp.  | + |   |   | Brânquia                       |
| <i>Mymarothecium boegeri</i>  |   |   |   |                                |
| <i>Mymarothecium viatorum</i>   | + | + |   |                                |
| <i>Notozothecium janauachensis</i>                                    |   | + |   | Brânquia                       |
| <b>DIGENEA</b>  |   |   |   |                                |
| Digenético não identificado   | + |   | + |                                |
| <b>CESTODA</b>  |   |   |   |                                |
| Cestoide não identificado   |   |   | + | Intestino                      |
| <b>NEMATODA</b>   |   |   |   |                                |
| Nematoide não identificado  | + |   | + |                                |
| <i>Rondonia rondoni</i>   | + | + |   | Intestino                      |
| <i>Contraecacum</i> sp. (larva)                                       | + | + |   | Mesentério e cavidade visceral |
| <i>Porrocaecum</i> sp.  | + |   |   | Bexiga natatória               |
| <b>ACANTOCEPHALA</b>  |   |   |   |                                |
| <i>Echinorhynchus jucundus</i> (= <i>Metechinorhynchus jucundus</i> ) | + |   |   | Intestino                      |
| <b>CRUSTACEA</b>  |   |   |   |                                |
| <b>Copepoda</b>   |   |   |   |                                |
| Ergasilidae gen. sp.  | + |   | + | Brânquia                       |
| <i>Gamispatulus</i> sp.   | + |   |   | Narinas                        |
| <i>Lernaea cyprinacea</i> (Copepoditos)                               | + |   | + | Brânquia                       |
| <i>Lernaea cyprinacea</i>   | + | + | + | Tegumento                      |
| <b>Branchiura</b>   | + |   | + | -                              |
| <i>Argulus</i> sp.  | + |   |   | Tegumento                      |
| <i>Dolops</i> sp.   | + | + |   | Brânquia e tegumento           |
| <i>Dolops carvalhoi</i>   | + |   | + | Tegumento                      |

Os peixes Characiformes não apresentaram sinais clínicos para a maioria das infestações por protozoários, entretanto, os hospedeiros podem revelar sinais de desconforto, comportamento de asfixia, erosões e pontos hemorrágicos na superfície corporal (Eiras et al., 2002). Além disso, Martins et al. (2001) observaram em pacu, tambaqui e tambacu cultivados na região Sudeste, quando parasitados por *Piscinoodinium pillulare*, lesões macroscópicas como aumento na produção de muco, perda de escamas, pequenas úlceras no tegumento e sufusão do opérculo e pedúnculo caudal; nas brânquias notou-se palidez, aumento na produção de muco, congestão e petéquias. Estas respostas estão associadas a patologias como hiperplasia epitelial, fusão das lamelas, necrose, descamação celular e hemorragias nos filamentos branquiais, como observado em pacu por Pádua et al. (2013). Quando infestados por *Ichthyophthirius multifiliis*, os peixes podem apresentar pontos brancos (sinal patognomônico) no tegumento, nadadeiras e brânquias, provocando hiperplasia das células de muco e impermeabilização das brânquias (Martins & Romero, 1996; Pádua et al., 2012b). Essas características apresentadas pelos hospedeiros prejudicam sua capacidade respiratória, principalmente em fases iniciais de criação (Pádua et al., 2012), bem como conferem susceptibilidade aos peixes frente às infecções secundárias por bactérias e fungos, podendo culminar em elevadas mortalidades.

Estes parasitos são transmitidos com grande facilidade de um peixe infectado para outro, bem como pela água e utensílios usados na piscicultura. Assim, para combater esses parasitos ou mantê-los em baixo nível de intensidade, recomenda-se a manutenção de baixa densidade populacional, boa qualidade da água e das condições ambientais, alimentação adequada e evitar estresse de manejo (Pádua et al., 2012b).

Os mixosporídeos na região Sudeste foram registrados em peixes Characiformes cultivados e observados por Eiras et al. (1995), Martins & Romero (1996), Martins et al. (1997a), Martins et al. (1997b), Martins et al. (1999), Martins et al. (2000), Souza et al. (2000), Tavares-Dias et al. (2001b), Martins et al. (2002), Adriano et al. (2005a, b), Schalch & Moraes (2005), Adriano et al. (2006), Schalch et

al. (2006a), Franceschini et al. (2013) e Müller et al. (2013). Na região Centro-Oeste foram observados por Jerônimo (comunicação pessoal) e Sant'Anna et al. (2012) e na região Norte por Tavares-Dias et al. (2006) e Maciel et al. (2011).

Esses parasitos são encontrados na forma de cistos com esporos infectantes e as alterações nos peixes apresentam gravidade variável, de acordo com a quantidade de cistos e os locais de seu desenvolvimento (Eiras & Adriano, 2013). Como observado nos peixes Characiformes, os mixosporídeos podem se desenvolver de modo mais ou menos intenso nas brânquias, rim, baço, fígado, vesícula biliar, coração e bexiga urinária. Martins & Souza (1997) associaram a presença de *Henneguya piaractus* à aglomeração de peixes na entrada da água ou nado lento na superfície da água, brânquias hemorrágicas, presença de cistos escuros nas lamelas branquiais, podendo ocorrer coloração marrom na extremidade dos filamentos. Por sua vez, Adriano *et al.* (2005a) observaram alongamento do epitélio branquial com acentuada deformação, bem como compressão do capilar e tecidos adjacentes devido a presença deste mesmo parasito em pacu. Em estágios avançados da parasitose, pode ocorrer a dilatação e discreta hiperplasia do epitélio, causando deslocamento e deformação das lamelas, interferindo na capacidade respiratória. Quando encontrados nos demais sítios de infecção, estes parasitos podem provocar hipertrofia dos órgãos, distensão abdominal e perda de equilíbrio (Adriano et al., 2006; Eiras & Adriano, 2013). Todas as patogenias supracitadas podem ser causa de mortalidade.

Como não há tratamento para eliminar os esporos de mixosporídeos, as medidas profiláticas são extremamente relevantes, principalmente o cuidado com introdução de novos peixes na piscicultura e na transferência dos peixes para os tanques de terra somente após ter sido concluído o processo de ossificação, tendo em vista que os esporos de algumas espécies, à medida que desenvolvem-se, destroem a cartilagem do hospedeiro. Eiras & Adriano (2013) ressaltam a importância da elucidação do ciclo de vida dos mixosporídeos, já que estes parasitos possuem ciclo de vida indireto, ou seja, necessitam de hospedeiros intermediários

(geralmente invertebrados, como oligoquetas) para completar seu ciclo, os quais ainda são pouco conhecidos. Assim, essas informações fornecerão possíveis indicações para interromper seu desenvolvimento em ambientes de cultivos. Todavia, vale destacar que a secagem e desinfecção dos viveiros a cada ciclo de produção pode ser uma medida profilática eficaz a ser adotada para eliminar possíveis hospedeiros intermediários desses parasitos.

**Tabela 2.** Parasitos de peixes Characiformes cultivados na região Centro-Oeste do Brasil.

|  | PACU | TAMBACU | PATINGA | SÍTIO DE INFECÇÃO      |
|--|------|---------|---------|------------------------|
| <b>PROTOZOA</b>  |      |         |         |                        |
| <b>Ciliophora</b>  |      |         |         |                        |
| <i>Chilodonella hexasticha</i>   |      | +       |         | Brânquia               |
| <i>Epistylis</i> sp.   |      | +       |         | Brânquia e Tegumento   |
| <i>Ichthyophthirius multifiliis</i>                                      |      | +       | +       | Brânquia e Tegumento   |
| <i>Trichodina colisae</i>  | +    |         |         | Tegumento              |
| <i>Trichodina</i> sp.  |      |         | +       | Brânquia e Tegumento   |
| <b>MYXOZOA</b>   |      |         |         |                        |
|  |      |         |         | Brânquia, Fígado e Rím |
| <i>Henneguya</i> sp.   | +    | +       | +       |                        |
| <i>Myxobolus cuneus</i>  |      | +       |         |                        |
| <i>Myxobolus</i> sp.   | +    | +       | +       |                        |
| <b>MONOGENEA</b>   |      |         |         |                        |
|  |      |         |         | Brânquia e Tegumento   |
| <i>Anacanthorus penilabiatus</i>   | +    | +       | +       |                        |
| <i>Mymarothecium boegeri</i>   |      | +       |         |                        |
| <i>Mymarothecium viatorum</i>  |      |         | +       |                        |
| <i>Notozothecium janauachensis</i>                                       |      | +       |         |                        |
| <i>Urocleidoides</i> sp.   | +    |         |         | Brânquia               |
| <b>DIGENEA</b>   |      |         |         |                        |
| <i>Clinostomum</i> sp.   | +    |         |         | Brânquia               |
| <b>NEMATODA</b>  |      |         |         |                        |
|  |      |         |         | Estômago               |
| <i>Goezia</i> sp.  |      | +       | +       |                        |
| <i>Goezia spinulosa</i>  |      |         | +       |                        |
| <b>ACANTOCEPHALA</b>   |      |         |         |                        |
| <i>Echinorhynchus jucundus</i><br>(= <i>Metechinorhynchus jucundus</i> ) |      | +       | +       | Estômago e Intestino   |
| <b>CRUSTACEA</b>   |      |         |         |                        |
| <b>Copepoda</b>  |      |         |         |                        |
| <i>Lernaea cyprinacea</i><br>(Copepoditos)                               |      | +       | +       | Brânquia e Narina      |

|                           |   |   |           |
|---------------------------|---|---|-----------|
| <i>Lernaea cyprinacea</i> | + |   | Tegumento |
| <b>Branchiura</b>         |   |   |           |
| <i>Dolops carvalhoi</i>   | + | + | Tegumento |

Monogenea em peixes Characiformes cultivados na região Sudeste foram registrados por Boeger et al. (1995), Eiras et al. (1995), Martins & Romero (1996), Martins et al. (2000, 2002), Souza et al. (2000), Tavares-Dias et al. (2000, 2001a, b, 2008), Schalch & Moraes (2005), Schalch et al. (2006a), Schalch et al. (2006b), Lizama et al. (2007), Franceschini et al. (2013) e Varandas et al. (2013). Na região Centro-Oeste por Del-Pozo (2000), Jerônimo et al. (2014) e Jerônimo (comunicação pessoal); e na região Norte por Morais et al. (2009), Dias et al. (2012), Santos et al. (2013), Silva et al. (2013) e Dias et al. (2015).

Os monogenéticos são comuns em peixes Characiformes e frequentemente observados nas brânquias e no tegumento. São ectoparasitos de ciclo de vida direto, ou seja, necessitam apenas de um hospedeiro para completar seu ciclo de vida (Noga, 2010), o que os torna um dos parasitos mais problemáticos em pisciculturas pela alta capacidade de proliferação (Santos et al., 2012). Devido à sua localização, incomodam os peixes, que chocam-se contra as paredes do viveiro, aquário ou contra objetos presentes nas estruturas de cultivo e sobem subitamente à superfície da água. Podem causar anorexia, hemorragias cutâneas e branquiais, destruição das escamas, inchaço nos filamentos branquiais, produção abundante de muco, emagrecimento do animal culminando em morte (Takemoto et al., 2013). Esta infestação, que nitidamente incomoda o peixe, pode resultar em infecções secundárias por outros patógenos, como bactérias e fungos, que no Brasil são favorecidas pelo clima tropical, agravando mais as lesões.

Sua ação patogênica pode ser ainda explicada pelo fato do parasito mudar de local de fixação constantemente e com isto, provocar edema, perda da estrutura linear dos filamentos branquiais e extravasamento de sangue, como observado por Jerônimo et al. (2014) em pacus cultivados na região Centro-Oeste. Em tambaqui, Martins & Romero (1996) observaram intensa reação inflamatória, hiperplasia e hemorragias que podem ser extensas

devido ao movimento do parasito. O grau de severidade desta doença varia desde leve, sem resposta tecidual incrementada, até um parasitismo grave com hiperplasia, focos necróticos, edema, desprendimento do epitélio e ruptura de células pilares (Martins & Romero, 1996), culminando em elevadas mortalidades devido ao comprometimento respiratório dos peixes.

Todos os novos peixes adquiridos devem ser submetidos a banhos profiláticos (sal, formol ou permanganato de potássio) e quarentena, bem como evitar ao máximo o estresse dos peixes, deixando-os sensíveis à instalação dos parasitos.

Digenea na região Sudeste foram observados por Martins & Romero (1996) e Martins et al. (2000); na região Centro-Oeste por Jerônimo (comunicação pessoal). Em peixes Characiformes cultivados no Brasil, não foram observados sinais de comportamento anormal dos peixes, bem como sinais clínicos e patogenia relacionados a esta parasitose. Entretanto, os digenéticos são endoparasitos com ciclo de vida indireto, tendo quase sempre um molusco como hospedeiro intermediário. Podem ser encontrados na forma adulta ou larvas encistadas (metacercárias) no intestino ou cavidade visceral, interior de órgão como vesícula biliar, olhos e gônadas, sistema circulatório e tecido subcutâneo dos peixes (Noga, 2010), sendo as infecções por metacercárias as mais prejudiciais aos hospedeiros, podendo eventualmente levá-los a morte.

Peixes altamente infectados por metacercárias podem apresentar perda de visão quando presentes nos olhos, deformação da coluna vertebral, necroses, diminuição no crescimento e sobrevivência, alterações comportamentais e alterações morfológicas tornando o animal repugnante por estarem encistadas na musculatura com possibilidade de transmissão de zoonoses (Kohn *et al.*, 2013). Para peixes ornamentais consiste em doença de grande impacto, também denominada de "black spot" (doença dos pontos pretos) ou "yellow grub disease" (doença dos pontos amarelos) pois a aparência dos peixes pode ser afetada pela presença das metacercárias encistadas na superfície do corpo ou provocar dificuldade respiratória quando presentes nas brânquias (Piazza et al., 2006).



Como procedimento profilático recomenda-se eliminar dos viveiros de cultivo todos os moluscos presentes da fauna local. Além disso, quando possível, cobrir os tanques com telas para evitar a presença de aves piscívoras, que podem também contaminar o ambiente com suas fezes contendo ovos desses endoparasitos, uma vez que atuam como hospedeiros definitivos de algumas espécies.

Os cestoides na região Sudeste foram observados por Martins & Romero (1996) apenas em tambaqui, e na região Norte por Silva et al. (2013) na mesma espécie de hospedeiro.

Infecções por cestoides não são comuns em peixes cultivados, não sendo observados sinais clínicos evidentes devido a presença do parasito (Silva et al., 2013). Entretanto, estudo experimental com *Eubothrium* sp. em salmão do Atlântico (*Salmo salar*) induziu grande redução no peso dos peixes e na taxa de crescimento quando comparados com peixes não infectados (Saksvik et al., 2001), o que pode representar grandes perdas econômicas para os produtores. Além disso, animais comprometidos podem apresentar inchaço na região ventral e visualização de estruturas semelhantes a "fitas" no trato digestivo (formas adultas do parasito) e larvas encistadas no mesentério. Podem causar compressão visceral, obstrução do lúmen intestinal, provocando anorexia e também castração parasitária (Pavanelli et al., 2013). São conhecidos como tênia e caracterizados por um corpo na forma de fita achatada, subdividido em proglotides (Noga, 2010). Cada proglotide elimina grande número de ovos que transformam-se em larvas; essas larvas denominadas procercoides que são ingeridas por microcrustáceos, sendo estes ingeridos por outros organismos, hospedeiros intermediários secundários para desenvolver as larvas denominadas plerocercoides (mais patogênicas aos peixes), e finalmente pelo hospedeiro definitivo, podendo ser o homem (Pavanelli et al., 2013). Dependendo da espécie das larvas plerocercoides, humanos podem apresentar sintomas como: anemia, diarreia, dores abdominais e perda de peso. Como procedimento profilático recomenda-se a eliminação dos microcrustáceos e evitar a presença de aves e mamíferos piscívoros próximos aos viveiros, os quais atuam como transmissores desses parasitos.

**Tabela 3.** Parasitos de peixes Characiformes cultivados na região Norte do Brasil.

|                                     | TAMBAQUI | TAMBACU | TAMBATINGA | SÍTIO DE INFECÇÃO                          |
|-------------------------------------|----------|---------|------------|--|
| <b>PROTOZOA</b>                     |          |         |            |  |
| <b>Flagellata</b>                   |          |         |            |  |
| <i>Piscinoodinium pillulare</i>     | +        | +       | +          | Brânquia                                   |
| <b>Ciliophora</b>                   |          |         |            |  |
| <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> | +        | +       | +          | Brânquia e Tegumento                       |
| <i>Trichodina</i> sp.               | +        |         | +          | Brânquia                                   |
| <i>Tetrahymena</i> sp.              | +        |         | +          | Brânquia                                   |
| <b>MYXOZOA</b>                      |          |         |            |  |
| <i>Myxobolus colossomatis</i>       | +        |         |            | Brânquia                                   |
| <i>Henneguya</i> sp.                | +        |         |            | Brânquia                                   |
| <i>Myxobolus</i> sp.                | +        |         |            | Rim, baço, fígado e sangue                 |
| <b>MONOGENEA</b>                    |          |         |            |  |
| <i>Anacanthorus spathulatus</i>     | +        | +       | +          | Brânquia e tegumento                       |
| <i>Mymarothecium boegeri</i>        | +        |         |            | Brânquia                                   |
| <i>Mymarothecium viatorum</i>       |          | +       | +          | Brânquia                                   |
| <i>Mymarothecium</i> sp.            | +        |         |            | Brânquia                                   |
| <i>Notozothecium janauachensis</i>  | +        | +       | +          | Brânquia                                   |
| <i>Linguadactyloides brinkmanni</i> | +        |         | +          |  |
| <b>CESTODA</b>                      |          |         |            |  |
| Proteocephalidae gen. sp.           |          | +       |            | Intestino                                  |
| <b>NEMATODA</b>                     |          |         |            |  |
| <i>Procamallanus inopinatus</i>     | +        |         | +          | Intestino                                  |
| <i>Cucullanus colossomi</i>         | +        |         |            | Intestino                                  |
| <b>ACANTOCEPHALA</b>                |          |         |            |  |
| <i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>  | +        | +       | +          | Intestino                                  |
| <b>CRUSTACEA</b>                    |          |         |            |  |
| <b>Copepoda</b>                     |          |         |            |  |
| <i>Gamidactylus jaraquensis</i>     | +        |         |            | Fossas nasais                              |
| <i>Perulernaea gamitanae</i>        | +        | +       | +          | Brânquia, fossas nasais, língua e opérculo |
| <i>Ergasilus</i> sp.                | +        |         |            | Brânquia                                   |
| <b>Branchiura</b>                   |          |         |            |  |
| <i>Dolops carvalhoi</i>             | +        |         |            | Tegumento                                  |
| <i>Argulus chicomendesi</i>         | +        |         |            | Tegumento                                  |
| <b>Isopoda</b>                      |          |         |            |  |
| <i>Braga patagonica</i>             | +        |         |            | Brânquia                                   |
| <b>HIRUDINEA</b>                    |          |         |            |  |
| Glossiphoniidae gen. sp.            | +        |         |            | Brânquia                                   |

Os parasitos nematoides na região Sudeste foram relatados por Martins & Urbinati (1993), Martins & Romero (1996), Parra et al. (1997), Martins et al. (2000), Martins & Onaka (2004) e Franceschini et al. (2013), por Jerônimo (comunicação pessoal) na região Centro-Oeste e por Silva et al. (2013) na região Norte do país. Nestes peixes não foram observados sinais de comportamento anormais, bem como sinais clínicos e patogenia decorrentes do parasitismo. Entretanto, a presença de *Goezia leporini* e *G. spinulosa* em piaçu *Leporinus macrocephalus* (Martins et al., 2004) e pirarucu *Arapaima gigas* (Santos & Moravec, 2009) provocou alterações hematológicas e perfuração do estômago, respectivamente.

Os nematoides são endoparasitos facilmente identificados devido a sua morfologia e pela nomenclatura popular de “vermes” ou “lombrigas”. Possuem simetria bilateral, corpo alongado, forma tubular cilíndrica com extremidades geralmente afiladas. A maior parte desses parasitos de peixes é esbranquiçado, mas existem alguns que são avermelhados (Choudhury & Cole, 2008) devido a hematofagia. Peixes podem atuar como hospedeiros intermediários, paratênicos ou definitivos em seus ciclos biológicos, e por isso, podem ocorrer formas larvais ou adultas nestes hospedeiros.

De modo geral, podem não causar grandes prejuízos aos peixes hospedeiros, dependendo da espécie do parasito e sua intensidade (Moravec, 1998). Porém, algumas espécies podem ser altamente patogênicas, causando obstrução do lúmen intestinal, compressão dos órgãos, deformação do corpo e atrofia dos órgãos internos (Santos et al., 2013), além de atuarem como agentes etiológicos de zoonoses (Tavares & Alejos, 2006). Segundo Santos et al. (2013), nos peixes cultivados é possível observar a castração parasitária causada por nematoides e diminuição do valor comercial do pescado, e ainda ressaltam que alevinos são mais susceptíveis a esta parasitose. Em geral, são transmitidos aos peixes por microcrustáceos, que atuam como transmissores desses endoparasitos, bem como a presença de aves que podem atuar como intermediários. A medida profilática mais eficaz para evitar a

presença de nematoides em ambientes de cultivos é não favorecer a presença de hospedeiros intermediários.

Acantocéfalos foram observados por Ferraz de Lima et al. (1990) na região Sudeste, por Jerônimo (comunicação pessoal) na região Centro-Oeste; por Malta et al. (2001) e Silva et al. (2013) na região Norte. Infecções por esses parasitos causando epizootias em peixes cultivados são raramente observados (Eiras et al., 2010), entretanto, quando observadas em altos níveis, podem levar os hospedeiros a morte (Santos et al., 2013).

Estes parasitos possuem o corpo geralmente alongado e cilíndrico, e na sua região anterior está presente uma probóscide provida de ganchos, os quais servem para fixação do parasito, podendo causar obstrução ou perfuração intestinal, hemorragias, presença de macrófagos e fibroblastos (Amim & Heckmann, 1992).

O tratamento para esse parasito gastrintestinal é difícil quando em alta intensidade, pois o peixe não se alimenta. Recomenda-se a eutanásia de animais severamente infectados para eliminar os parasitos adultos e desinfecções com óxido de cálcio e secagem dos viveiros para promover a eliminação de ovos e larvas destes parasitos, os quais se desenvolvem em hospedeiros intermediários como ostracoides e outros copépode (Malta *et al.*, 2001).

Os crustáceos na região Sudeste foram observados por Martins & Romero (1996), Martins et al. (2000, 2002), Tavares-Dias et al. (2001b, 2008), Schalch & Moraes (2005, 2006b), Lizama et al. (2007) e Franceschini et al. (2013). Na região Centro-Oeste foram registrados por Del Pozo (2000), Jerônimo (comunicação pessoal), e na região Norte por Tavares-Dias et al. (2011, 2014), Silva et al. (2013) e Dias et al. (2015).

Crustáceos parasitos são responsáveis por elevados prejuízos econômicos em peixes de água doce no Brasil e constituem-se no grupo mais diversificado e com variações morfofisiológicas, sendo divididos em subgrupos: Ergasilidae, Copepoda, Branchiura e Isopoda (Lima et al., 2013).

Nos peixes Characiformes analisados, dentre os crustáceos, é notável que copépodes e branquiúros foram os parasitos

predominantes nas regiões estudadas. Dentre os copépodes ergasilídeos, somente as fêmeas parasitam brânquias, nadadeiras e tegumento. A segunda antena é modificada em estruturas de fixação que causam fusão, destruição e hiperplasia lamelar nas brânquias, podendo provocar grande mortalidade de peixes em cultivo. O procedimento profilático consiste em não introduzir peixes portadores desses parasitos nas unidades de cultivo, e se possível, a utilização de telas e filtros na entrada de captação de água do viveiro. Por sua vez, os copépodes lerneídeos *Lernaea cyprinacea* e *Perulernaea gamitanae*, tanto na forma adulta como na forma de copepoditos (jovens), são ectoparasitos que possuem o corpo alongado e o aparato de fixação em formato de âncora que penetra no tegumento, em especial na base das nadadeiras, ou na cavidade bucal, aderindo à língua, fossa nasal e cavidade opercular causando reação hiperplásica e inflamatória nos locais de fixação (Tavares-Dias et al., 2011).

Os branquiúros são predominantemente dos gêneros *Dolops* e *Argulus*, ectoparasitos da pele e cavidade opercular, e se movimentam livremente de um peixe a outro. Os peixes parasitados mostram-se agitados, raspando contra as paredes e substratos dos tanques.

A ação patogênica desses ectoparasitos é devido à presença de mandíbulas modificadas com estruturas especializadas para fixação, tais como ganchos (*Dolops* sp.) e ventosas (*Argulus* sp.). Os parasitos fixam-se para alimentar-se de células tegumentares e sangue, assim podem causar pequenas hemorragias puntiformes, que podem evoluir para lesões de maior tamanho com consequente invasão bacteriana e fúngica. A gravidade da parasitose depende, sobretudo, da intensidade da infestação, e quando é muito elevada pode ocorrer a morte dos peixes hospedeiros (Noga, 2010). Não há profilaxia específica, mas devido à deposição dos ovos desses parasitos nos substratos do viveiro é necessário assepsia completa e manter limpa a vegetação na borda dos viveiros, além de evitar a introdução de parasitos adultos. Devido ao tamanho é possível a remoção mecânica destes parasitos no tegumento.

O isopoda *Braga patagonica* é frequentemente observado em peixes selvagens amazônicos, entretanto, Tavares-Dias et al. (2014) relatou a presença deste parasito na região dorsal de tambaqui cultivado na região Norte do país. O impacto desses crustáceos na saúde dos peixes é pouco conhecido, porém, quando presentes nas brânquias dos hospedeiros, podem provocar anemia e redução do número de filamentos branquiais com diminuição da capacidade respiratória (Lima et al., 2013). A patogenia causada por este parasito pode culminar em mortalidade ou, indiretamente, pode agir como vetores de doenças, especialmente causada por vírus (Thatcher, 2006) e bactérias; e conseqüentemente causar perdas econômicas em pisciculturas.

Os hirudíneos são conhecidos como sanguessugas e podem ser encontrados parasitando peixes de água doce, como observado nas brânquias de tambaqui por Santos et al. (2013) e são conhecidos por serem vetores de patógenos aos peixes. Entretanto, Lizama et al. (2013) afirmam que os peixes podem tolerar alta infestações destes organismos com pouco ou nenhum efeito aparente, no entanto, podem ocasionar anemia.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O melhor controle das doenças é a prevenção com a adoção de boas práticas de manejo sanitário durante os ciclos de produção. A melhor maneira de controlar as doenças é evitar sua introdução nos viveiros de cultivo. Para isso, é necessário usar peixes livres de patógenos, realizar quarentena e manter separados ou eliminar as larvas e alevinos com qualquer sinal de doenças e realizar tratamento profilático quando adquirir peixes de outras propriedades. Além disso, deve-se evitar a introdução de água contendo parasitos nos viveiros, ao adquirir novos peixes; realizar a desinfecção do sistema de produção (viveiros e equipamentos de manejo); manter boa qualidade da água dos viveiros de cultivo, com níveis satisfatórios de oxigênio dissolvido; e manter sempre nutrição e manejo alimentar adequados. Em regiões frias e com oscilações bruscas de temperaturas, o manejo e transporte de tambaquis devem ser evitados nos períodos de outono-inverno, visto que

dentre os Characiformes, estes peixes são menos tolerantes às oscilações térmicas. Por outro lado, em regiões com elevadas temperaturas, deve-se evitar qualquer manejo durante as horas mais quentes do dia. Análises periódicas nos peixes, feitas por profissionais qualificados contribuem para evitar a proliferação da doença e mortalidade.

## REFERÊNCIAS

- ADRIANO, E.A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N.S. An ultrastructural and histopathological study of *Henneguya pellucida* n. sp. (Myxosporea: Myxobolidae) infecting *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. *Parasite*, 12:221-227, 2005a.
- ADRIANO, E.A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N.S. Histology, ultrastructure and prevalence of *Henneguya piaractus* (Myxosporea) infecting the gills of *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. *Diseases of Aquatic Organisms*, 64: 229-235, 2005b.
- ADRIANO, E.A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N.S. *Myxobolus cuneus* n. sp. (Myxosporea) infecting the connective tissue of *Piaractus mesopotamicus* (Pisces: Characidae) in Brazil: histopathology and ultrastructure. *Parasite*, 13: 137-142, 2006.
- AMIN, O.M.; HECKMANN, R.A. Description and pathology of *Neoechinorhynchus idahoensis* n. sp. (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) in *Catostomus coumbianus* from Idaho. *Journal of Parasitology*, 78: 34-39, 1992.
- BARTLEY, D.M.; RANA, K.; IMMINK, A.J. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10:325-337, 2001.
- BOEGER, W.A.; HUSACK, W.S.; MARTINS, M.L. Neotropical monogenoidea. 25. *Anacanthorus penilabiatus* (Dactylogyridea: Anacanthirinae) from *Piaractus mesopotamicus*, cultivated in the State of São Paulo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90:699-701, 1995.
- BORGHETTI, J.R.; SILVA, U.A. T. Principais sistemas produtivos empregados comercialmente. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. (org). *Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer*. Brasília, p. 73-94, 2008.
- BOSCARDIN, N.R. Produção Aquícola. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. (org). *Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer*. Brasília, p.27-72, 2008.
- CHOUDHURY, A.; COLE, R.A. Phylum Nematoda. In: EIRAS, J.C.; SEGNER, H. WAHLI, T.; KAPOOR, B.G. (eds.) *Fish diseases*. Science Publishers: Jersey, p.1063-1113, 2008.
- DEL POZO, C.L.A.F. Levantamento ectoparasitológico em brânquias de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Osteichthyes, Characidae) em pesque-pagues no município de Campo Grande-MS. 2000. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2000.

DIAS, M.K.R.; TAVARES-DIAS, M.; MARCHIORI, N. First report of *Linguadactyloides brinkmanni* (Monogeneoidea: Linguadactyloidea) on hybrids of *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus* (Characidae) from South America. Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology, 16:61-64, 2013.

DIAS, M. K. R.; NEVES, L.R.; MARINHO, R.G.B; PINHEIRO, D.A.; TAVARES-DIAS, M. Parasitismo em tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*, Characidae) cultivados na Amazônia, Brasil. Acta Amazonica, 45 (2):23-238, 2015.

EIRAS, J.C.; RANZANI-PAIVA, M.J. T.; ISHIKAWA, C.M.; ALEXANDRINO, A.C.; EIRAS, A.C. Ectoparasites of semi-intensively farmed tropical freshwater fish *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* and *Colossoma macropomum* in Brasil. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 15:148-151, 1995.

EIRAS, J.C.; ADRIANO, E.A. Myxozoa. In: PAVANELLI, G.C.; TAKEMOTO, R.M.; EIRAS, J.C. (org.) Parasitologia de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Eduem, p. 249-272, 2013.

EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C. Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Clichetec, 2010.

FERRAZ DE LIMA, C.L.B.; FERRAZ DE LIMA, J.A.; CECCARELLI, P. S. Ocorrência de acantocéfalos parasitando o pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Pisces, Serrasalimidae) em piscicultura. Boletim Técnico CEPTA, 2:43-51,1990.

FRANCESCHINI, L.; ZAGO, A.C.; SCHALCH, S.H. C.; GARCIA, F.; ROMERA, D. M.; SILVA, R.J. Parasitic infections of *Piaractus mesopotamicus* and hybrid (*P. mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*) cultured in Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 22:407-414, 2013.

JERÔNIMO, G.T.; MARCHIORI, N. C.; PÁDUA, S.B.; DIAS NETO, J.; PILARSKI, F.; ISHIKAWA, M.M.; MARTINS, M.L. *Trichodina colisae* (Ciliophora: Trichodinidae): new parasite records for two freshwater fish species farmed in Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 21:335-350, 2012.

JERÔNIMO, G.T. Sanidade de peixes criados no Brasil Central: Doenças parasitárias e suas interações com o ambiente e hospedeiros. 2013. 151f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

JERÔNIMO, G.T.; PÁDUA, S.B.; BAMPI, D.; GONÇALVES, E.L.T.; GARCIA, P.; ISHIKAWA, M.M.; MARTINS, M.L. Haematological and histological analysis in South American fish *Piaractus mesopotamicus* parasitized by monogenean (Dactylogyridae). Brazilian Journal of Biology, 74: 1000-1006, 2014.

KOHN, A.; COHEN, S.C.; JUSTO, M.C.N.; FERNANDES, B.M.M. Digenea. In: PAVANELLI, G.C.; TAKEMOTO, R.M.; EIRAS, J.C. (org.) Parasitologia de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Eduem, p. 301-316, 2013.

LIMA, F.S.; CASALI, G.P.; TAKEMOTO, R.M. Crustacea. In: PAVANELLI, G.C.; TAKEMOTO, R.M.; EIRAS, J.C. (org.) Parasitologia de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Eduem, p. 371-397, 2013.



LIZAMA, M. L.A.P.; TAKEMOTO, R.M; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; AYROZA, L. M. S.; PAVANELLI, G. C. Relação parasito-hospedeiro em peixes de pisciculturas da região de Assis, Estado de São Paulo, Brasil. 2. *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Acta Scientiarum Biological Science, 29:37-445, 2007.

LIZAMA, M.L.A. P.; MONKOLSKI, J.G.; CARNIEL, M.K.; COSTA, A.P.L. Mollusca, Hirudinea, Pentastomida e Acari parasitos de peixes. In: PAVANELLI, G.C.; TAKEMOTO, R.M.; EIRAS, J.C. (Org.) Parasitologia de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Eduem, p. 399-434, 2013.

MACIEL, P. O.; AFFONSO, E. G.; BOIJINK, C.L.; TAVARES-DIAS, M.; INOUE, L. A.K.A. *Myxobolus* sp. (Myxozoa) in the circulating blood of *Colossoma macropomum* (Osteichthyes, Characidae). Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 20:82-84, 2011.

MALTA, J.C.O.; GOMES, A.L.S.; ANDRADE, A.M.S.; VARELLA, A.M.B. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechinorhynchus buttnerae* Golvan, 1956, (Eoacanthocephala: Neoechinorhynchidae) em tambaquis jovens, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), cultivados na Amazônia Central. Acta Amazônica, 31: 133-143, 2001.

MARTINS, M.L.; URBINATI, E.C. *Rondoni rondoni* Travassos, 1919 (Nematoda: Atractidae) parasite of *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae), in Brazil. Ars Veterinaria, 9:75-81, 1993.

MARTINS, M.L.; ROMERO, N.G. Efectos del parasitismo sobre el tejido branquial em peces cultivados: Estudio parasitologico e histopatologico. Revista Brasileira de Zoologia, 13:489-500,1996.

MARTINS, M.L.; SOUZA, V.N.; MORAES, F.R.; MORAES, J.R.E.; COSTA, A.J.; Rocha, U.F. Pathology and behavioral effects associated with *Henneguya* sp. (Myxozoa: Myxobolidae) infections of captive pacu *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. Journal of the World Aquaculture Society, 28:297-300, 1997.

MARTINS, M.L.; SOUZA, V.N. *Henneguya piaractus* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae), a gill parasite of *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae), in Brazil. Revista Brasileira de Biologia, 57:239-245, 1997.

MARTINS, M.L.; SOUZA, V.N.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R.; COSTA, A.J. Comparative evaluation of the susceptibility of cultivated fishes to the natural infection with mixosporean parasites and tissue changes in the host. Revista Brasileira de Biologia, 59:263-269, 1999.

MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.Y.; ONAKA, E.M.; NOMURA, D. T.; SILVA, C.A.H.; SCHALCH, S.H. C. Parasitic infections in cultivated freshwater fishes a survey of diagnosticated cases from 1993 to 1998. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 9:23-28, 2000.

MARTINS, M.L.; MORAES, J.R.E.; ANDRADE, P.; SCHALCH, S.H.C.; MORAES, F. R. *Piscinoodinium pillulare* (Schärperclaus, 1954) Lom, 1981 (Dinoflagellida) infection in cultivated freshwater fish from Northeast region of São Paulo State, Brazil. Parasitological and pathological aspects. Brazilian Journal of Biology, 9. 2001.

MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R.; BOZZO, F.R.; PAIVA, A.M.F.C.; Gonçalves, A. Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the state of São Paulo, Brazil. *Acta Scientiarum*, 24:981-985, 2002.

MARTINS, M. L.; ONAKA, E. M. Larvae of *Porrocaecum* sp. (Nematoda: Ascarididae) in the swim bladder of cultured *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 30:57-61, 2004.

MARTINS, M. L.; TAVARES-DIAS, M.; FUJIMOTO, R.Y.; ONAKA, E.M.; NOMURA, D. T. Haematological alterations of *Leporinus macrocephalus* (Osteichthyes: Anostomidae) naturally infected by *Goezia leporini* (Nematoda: Anisakidae) in fish pond. *Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science*, 56: 640-646, 2004.

MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura, 2012. *Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura*, Brasil, 2010.

MÜLLER, M. I.; ADRIANO, E. A., CECCARELLI, P. S.; SILVA, M. R. M.; MAIA, A. A. M.; UETA, M. T. Prevalence, intensity, and phylogenetic analysis of *Henneguya piaractus* and *Myxobolus* cf. *colossomatis* from farmed *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. *Diseases of Aquatic Organisms*, 107:129-139, 2013.

MORAIS, A.M.; VARELLA, A.M.B.; VILLACORTA-CORREA, M.A.; MALTA, J. C. A fauna de parasitos em juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characidae: Serrasalminae) criados em tanques-rede em Lago de Várzea da Amazônia Central. *Biologia Geral e Experimental*, 9:14-23, 2009.

MORAVEC, F. Nematodes of freshwater fishes of the Neotropical region. *Vydala Academia: Praha*, 1998.

NOGA, E.J. Fish disease: diagnosis and treatment. 2ª ed. Wiley- Blackwell, USA. 2010.

PÁDUA, S.B.; MARTINS, M.L.; CARRASHI, S.P.; CRUZ, C.; ISHIKAWA, M.M. *Piaractus mesopotamicus* (Pisces: Characidae) as a new host for *Trichodina heterodontata* (Ciliophora: Trichodinidae). *Zootaxa*, 42:293-298, 2012a.

PÁDUA, S.B.; MENEZES-FILHO, R.N.; DIAS-NETO, J.; JERÔNIMO, G.T.; ISHIKAWA, M.M.; MARTINS, M.L. Ictiofitiríase: conhecendo a doença para elaborar estratégias de controle. *Panorama da Aquicultura*, 22-31, 2012b.

PÁDUA, S.B.; MARTINS, M.L.; CARRIJO-MAUAD, J.R.; JERÔNIMO, G.T.; DIAS-NETO, J.; PILARSKI, F. First record of *Chilodonella hexasticha* (Ciliophora: Chilodonellidae) in Brazilian cultured fish: a morphological and pathological assessment. *Veterinary Parasitology*, 191: 154-160, 2013.

PARRA, J.E.G.; BRANDÃO, D.A.; CECCARELLI, P.S. Identificação e prevalência de nematódeos do pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), da estação de piscicultura do CEPTA, Pirassununga, SP, Brasil. *Ciência Rural*, 27:291-295, 1997.

PAVANELLI, G.C.; PIZANI, A.P.C.; MENDES, P.B. Cestoda. In: PAVANELLI, G.C.; TAKEMOTO, R.M.; EIRAS, J.C. (org.) *Parasitologia de peixes de água doce do Brasil*. Maringá: Eduem, p. 317-332, 2013.

PIAZZA, R.S.; MARTINS, M. L.; GUIRALDELLI, L.; YAMASHITA, M. M. Doenças parasitárias de peixes ornamentais de água doce comercializados em Florianópolis, SC, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*. 32:51-57,2006.

PORTO, J.I.R.; FELDBERG, E.; NAKAYAMA, C.M.; FALCÃO, J. A checklist of chromosome numbers and karyotypes of Amazonian freshwater fishes. *Revista Hydrobiologia Tropical*, 25: 287-299, 1992.

PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D.T.; PRADO, F.D.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F.A Hibridação interespecífica em peixes. *Panorama da Aquicultura*, 126: 28-33, 2011.

SAKSVIK, M.; NILSEN, S.; NYLUND, A.; BERLAND, B. Effect of marine *Eubothrium* sp. (Cestoda: Pseudophyllidea) on the growth of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 24: 111-119, 2001.

SANT'ANNA, F. J. F.; OLIVEIRA, S.L.; RABELO, R. E.; VULCANI, V.A.S.; SILVA, S.M.G; FERREIRA JÚNIOR, J. A. Surtos de infecção por *Piscinoodinium pillulare* e *Henneguya* spp. em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) criados intensivamente no Sudoeste de Goiás. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32:121-125, 2012.

SANTOS, E.F.; TAVARES-DIAS, M.; PINHEIRO, D.A.; NEVES, L.R.; MARINHO, R. G.B.; DIAS, M.K.R. Fauna parasitária de tambaqui *Colossoma macropomum* (Characidae) cultivado em tanque-rede no estado do Amapá, Amazônia Oriental. *Acta Amazonica*, 43: 107-114, 2013.

SANTOS, C. P.; MACHADO, P. M.; SANTOS, E. G. N. Acanthocephala. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (org.) *Parasitologia de peixes de água doce do Brasil*. Maringá: Eduem, p. 353-370, 2013.

SCHALCH, S.H.C & MORAES, F.R. Distribuição sazonal de parasitos branquiais em diferentes espécies de peixes em pesque-pague do município de Guariba-SP, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 14:141-146, 2005.

SCHALCH, S.H. C; MORAES, F.R.; MORAES, J.R. E. Efeitos do parasitismo sobre a estrutura branquial de *Leporinus macrocephalus* Garavello e Britsk, 1988 (Anastomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 15:110-115, 2006a.

SCHALCH, S. H. C; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R. Fauna parasitária de peixes oriundos de "pesque-pague" do município de Guariba, São Paulo, Brasil. *Acta Scientiarum - Biological Science*, 28:291-297, 2006b.

SILVA, P.C.; PÁDUA, D.M.C.; FRANÇA, A.F.S.; PÁDUA, J.T.; SOUZA, V.L. Milheto (*Pennisetum americanum*) como substituto do milho (*Zea mays*) em rações para alevinos de tambacu (híbrido *Colossoma macropomum* fêmea x *Piaractus mesopotamicus* macho). *Ars Veterinária*, 16:146-153, 2000.

SILVA, R.M.; TAVARES-DIAS, M.; DIAS, M.W.R.; DIAS, M.K.R.; MARINHO, R.G. B. Parasitic fauna in hybrid tambacu from fish farms. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48: 1049-1057, 2013.

SOUZA, M.L.R.; MARTINS, M.L.; SANTOS, J. M. Microscopia eletrônica de varredura de parasitos branquiais de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 cultivados no Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Scientiarum Biological Science*, 22: 527-531, 2000.

TAKEMOTO, R.M.; LUQUE, J.L.; BELLAY, S.; LONGHINI, C.E.; GRAÇA, R.J. Monogenea. In: PAVANELLI, G.C.; TAKEMOTO, R.M.; EIRAS, J.C. (Org.) Parasitologia de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Eduem, p. 273-299, 2013.

THATCHER, V.E. Amazon fish parasites. Pensoft, Sofia, 2006.

TAVARES, L.E.R.; ALEJOS, J.L.F.L. Sistemática, biologia e importância em saúde coletiva das larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas de peixes ósseos marinhos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. In: SILVA-SOUZA, A. (Org.) Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil. Maringá: Eduem, p. 297-330, 2006.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L; MORAES, F.R.; KRONKA, S.N. Fator de condição e relação esplenossomática em teleósteos de água doce naturalmente parasitados. Acta Scientiarum, 22:533-537, 2000.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L.; MORAES, F.R. Fauna parasitária de peixes oriundos de "pesque-pague" do município de Franca, São Paulo, Brasil. I. Protozoários. Revista Brasileira de Zoologia, 18:67-79, 2001a.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R.; MARTINS, M. L. Fauna parasitária de peixes oriundos de "pesque-pague" do município de Franca, São Paulo, Brasil. II. Metazoários. Revista Brasileira de Zoologia, 18:81-95, 2001b.

TAVARES-DIAS, M.; LEMOS, J.R.G.; ANDRADE, S.M.S.; PEREIRA, S.L.A. Ocorrência de ectoparasitos em *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (Characidae) cultivados em estação de piscicultura na Amazônia Central. CIVA, p.726-731. 2006. Disponível em:<<http://www.revistaaquatic.com/civa2006/coms/completo.asp?cod=150>>.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R.; ONAKA, E.M.; REZENDE, P.C.B. Changes in blood parameters of hybrid tambacu fish parasitized by *Dolops carvalhoi* (Crustacea, Branchiura), a fish louse. Veterinarski Arhiv, 77: 355-363, 2007.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Hematological assessment in four Brazilian teleost fish with parasitic infections collected in feefishing from Franca, São Paulo, Brazil. Boletim do Instituto de Pesca, 34:189-196, 2008.

TAVARES-DIAS, M.; NEVES, L.R.; SANTOS, E.F.; DIAS, M.K. R.; MARINHO, R.G. B.; ONO, E.A. *Perulernaea gamitanae* (Copepoda: Lernaeidae) parasitizing tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Characidae) and the hybrids tambacu e tambatinga, cultured in northern Brazil. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 63: 988-995, 2011.

TAVARES-DIAS, M.; ARAÚJO, C.S.O.; BARROS, M.S.; VIANA, G.M. New hosts and distribution records of *Braga patagonica*, a parasite cymothoidae of fishes from the Amazon. Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology, 18:91-97, 2014.

VARANDAS, D.N.; MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; RAMOS, F.M.; SANTOS, R.F. B.; FUJIMOTO, R.Y. Pesque-solte: pesca repetitiva, variáveis hematológicas e parasitismo no peixe híbrido tambacu. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48: 1058-1063, 2013.

## CAPÍTULO 16

# INFECÇÕES POR ACANTOCÉFALOS: UM PROBLEMA PARA A PRODUÇÃO DE PEIXES

Edsandra Campos Chagas<sup>1</sup>  
Patrícia Oliveira Maciel  
Sandro Loris Aquino-Pereira

### INTRODUÇÃO

O aumento na produção e comercialização de organismos aquáticos no Brasil é uma realidade, entretanto, o destaque deve ser dado ao crescimento na criação de espécies nativas como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*), pirapitinga (*Piaractus brachypomus*), tambacu (fêmea *C. macropomum* e macho *P. mesopotamicus*), tambatinga (fêmea *C. macropomum* e macho *P. brachypomus*), que juntas apresentaram, uma produção de 206.776,5 toneladas em 2011 (MPA, 2013). Destaca-se, ainda, que com a intensificação dos sistemas de produção adotados no Brasil, os fatores como altas densidades de estocagem, manipulação dos peixes, alterações na qualidade da água e o estado nutricional podem contribuir para um quadro de estresse crônico nos peixes, com consequências ao seu sistema imunológico, o que pode favorecer a disseminação de patógenos e culminar na perda parcial ou total da produção (Woo, 2006; Xu et al., 2012).

Os peixes podem apresentar enfermidades de diversas origens em sistemas de criação intensiva, com destaque para as doenças parasitárias (Martins et al., 2010; Pádua et al., 2013; Moreira et al., 2013; Valladão et al., 2014). Entre os principais grupos de parasitos que causam doenças em pisciculturas brasileiras estão os protozoários, mixosporídeos, crustáceos e helmintos, que ao encontrarem condições favoráveis, proliferam-se causando doenças

---

Chagas et al. Infecções por acantocéfalos: um problema para a produção de peixes. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

(Martins et al., 2001; Tavares-Dias et al., 2001; 2009; Portz et al., 2013). Dentre os helmintos, os acantocéfalos vêm chamando a atenção dos piscicultores em razão das altas infestações registradas na região Norte do Brasil.

Os acantocéfalos que parasitam os peixes pertencem às classes Palaeacanthocephala, Eoacanthocephala e Polyacanthocephala (Amin, 1985; 1987). Destaca-se que nos peixes cultivados no Brasil os principais gêneros encontrados são: *Echinorhynchus*, *Neoechinorhynchus* e *Polyacanthorhynchus* (Eiras et al., 2010). *Echinorhynchus briconi* é um acantocéfalo encontrado em matrinxãs (*Brycon amazonicus*) criados em sistema de cultivo intensivo em canal de igarapé e em tanques-rede (Andrade, 2000; Malta et al., 2009), *Neoechinorhynchus buttnerae* no cultivo de tambaquis e seus híbridos (Malta et al., 2001; Silva et al., 2013) e *Polyacanthorhynchus macrorhynchus* em criações intensivas de pirarucu (*Arapaima gigas*) (Marinho et al., 2013). Entretanto, com potencial de infecção ainda existe o registro na natureza de *Polyacanthorhynchus rhopalorhynchus* para pirarucu e *Echinorhynchus jucundum* para pirapitinga (Eiras et al., 2010).

Acantocéfalos são o menor grupo de parasitos conhecido, com aproximadamente 1.100 espécies (Bush et al., 2001), sendo que mais da metade das espécies são endoparasitos de peixes que ocorrem em animais da natureza e cultivo (Nickol, 2006). São raros os relatos de parasitoses por acantocéfalos em peixes de cultivo (Noga, 2010) e os poucos relatos da literatura registram a ausência de danos aos hospedeiros parasitados (Malta et al., 2001; Nickol, 2006; Pavanelli et al., 2008), principalmente quando em baixas infestações (Tonguthai, 1997). Contudo, achados recentes têm demonstrado que existem reações severas por parte do hospedeiro às agressões provocadas pelos parasitos no lúmem intestinal que lesam a mucosa ou penetram na parede intestinal (Dezfuli et al., 2008a; Sanil et al., 2011). Da mesma forma, sugeriu-se que os peixes têm o crescimento comprometido pela parasitose (Taraschewski et al., 1990), ou mesmo tornam-se mais susceptíveis aos manejos comuns de uma produção aquícola (Maciel et al., 2008). Este

capítulo tem objetivo de sinalizar aos pesquisadores, técnicos do setor aquícola e produtores quanto à importância sanitária de infecções por acantocéfalos em cultivos de peixes no Brasil, partindo-se principalmente dos achados em pirarucus, matrinxãs, tambaquis e seus híbridos sob criação intensiva e de outras espécies em ambiente natural.

## BIOLOGIA E CICLO DE VIDA DO PARASITO

Acantocéfalos adultos têm geralmente coloração branca, creme (Bush et al., 2001) ou amarela-alaranjada (Sanil et al., 2011), contudo dependendo do conteúdo intestinal dos hospedeiros podem mudar um pouco sua coloração (Bush et al., 2001) (Figura 1). O tamanho varia de menos de 1,0 mm a 60,0 cm, de acordo com a espécie (Bush et al., 2001).



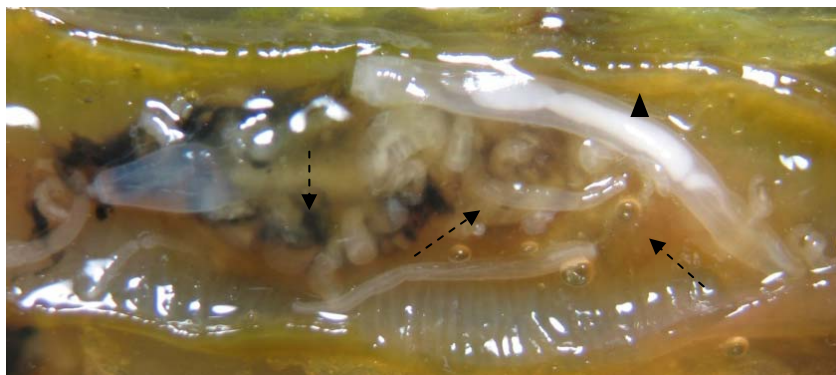
**Figura 1.** Acantocéfalos de coloração esbranquiçada como *Neoechinorhynchus buttnerae* parasito de *Colossoma macropomum* (A) ou amarelada como *Tenuiproboscis* sp. parasito de *Lutjanus argentimaculatus* (B) (Fonte: A. Maciel, P.; Sanil, B. et al., 2011).

Os acantocéfalos apresentam adaptação a uma diversidade de classes de vertebrados, tanto terrestres quanto aquáticos (Kennedy, 2006). O ciclo de vida deste grupo é indireto e está baseado na cadeia trófica sendo necessário um artrópode como hospedeiro intermediário, e um vertebrado como hospedeiro definitivo, contudo, hospedeiros paratênicos podem estar presentes (Santos et al., 2013). A variedade de hospedeiros contribui para a maior dispersão destes parasitos nos ecossistemas aquáticos (Santos

et al., 2013). Confirmando tal fato, Lacerda et al. (2009) descreveram a ocorrência *Neoechinorhynchus* (*Neoechinorhynchus*) *paraguayensis* no estômago e intestino posterior de larvas de peixes corvinas (*Pachyurus bonariensis* e *Plagioscion ternetzi*), sendo este o primeiro registro de infecção em larvas de peixes por esses endoparasitos.

Os parasitos adultos localizam-se no intestino delgado de seus peixes hospedeiros, onde se reproduzem e vivem em média um ano (Santos et al., 2013). Algumas espécies escolhem porções específicas do intestino, como *Echinorhynchus* sp. na porção anterior (Malta et al., 2009) e *Dentitruncus truttae* que habitam as porções anterior e média (Dezfuli et al., 2008a), enquanto a região posterior do intestino é alvo de *Tenuiproboscis* sp. (Sanil et al., 2011). Juvenis e adultos de *Neoechinorhynchus buttnerae* (Figura 2) foram encontrados tanto no intestino anterior, quanto no médio e posterior em alta infecção (Maciel et al., 2008).

A ausência de tubo digestório é uma adaptação dos parasitos adultos (Santos et al., 2013) que apresentam poros e canais na camada de cutícula do corpo que indicam que os nutrientes são absorvidos por meio dessas aberturas ao invés da superfície corporal, por meio do contato direto do parasito com a mucosa intestinal do hospedeiro (Cleave, 1952). Este fato contribui para que muitas espécies realizem migrações pelo intestino em resposta à disponibilidade de alimento (Bush et al., 2001).



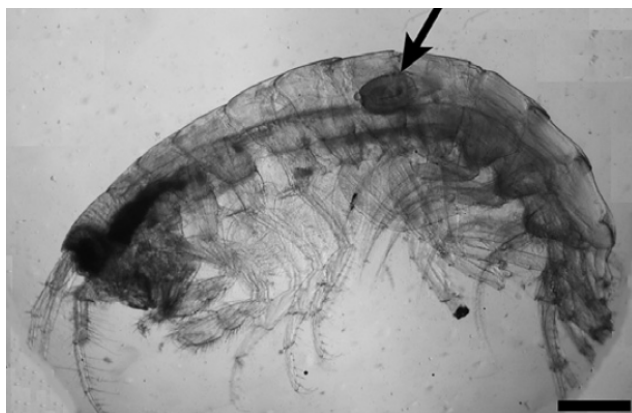
**Figura 2.** Juvenis (seta pontilhada) e adultos (cabeça da seta) de *Neoechinorhynchus buttnerae* do intestino de *Colossoma macropomum* (Fonte: Maciel, P.).



Os parasitos adultos parecem regular sua própria densidade populacional através de competição intraespecífica por espaço no hospedeiro vertebrado (Brasil-Sato & Pavanelli, 1999; Santos et al., 2013). A disposição de *N. buttnerae* adultos em grupos de 11 a 19 indivíduos na seção circular do intestino foi considerada uma estratégia para sobreviver às altas infestações (Malta et al., 2001). A cópula ocorre 24 horas após a infecção (Muzzall & Rabalais, 1975) e para a maioria das espécies de acantocéfalos a produção de ovos se inicia de 4 a 8 semanas após a infecção e continua pelos 2 meses seguintes (Nickol, 2006).

Ovos fertilizados são liberados nas fezes e permanecem no ambiente até serem ingeridos por um artrópode, geralmente crustáceos (anfípodos, copépodes, isópodes ou ostracoides) no ambiente aquático (Nickol, 2006; Santos et al., 2013). Fora esse breve momento, não existem estágios livres do parasito no meio ambiente (Thatcher, 2006). Segundo esses últimos autores, os ovos maduros apresentam quatro camadas de membranas protetoras, e em algumas espécies prolongamentos que têm a função de fixação aos substratos do ambiente tornando-os mais disponíveis para os hospedeiros intermediários. Ainda, internamente, o ovo abriga a larva acantor que é a fase infectante para o hospedeiro intermediário. A larva não se desenvolve no interior do ovo até que este seja predado (Thatcher, 2006). Depois de eclodida a larva penetra na parede intestinal do artrópode e se aloja na hemocele onde se desenvolve até cistacanto (Nickol, 2006; Santos et al., 2013) (Figura 3). Comprometimento reprodutivo e depressão do sistema imune são observados em hospedeiros intermediários anfípodes infectados (Dezfuli et al., 2008b; Cornet et al., 2009), e mudanças de cor ou comportamento de hospedeiros intermediários são responsáveis por aumentar a taxa de transmissão do parasito por torná-lo mais susceptível à predação (Nickol, 2006; Kaldonski et al., 2007; Santos et al., 2013). No ambiente natural, a transmissão está mais relacionada com a disponibilidade de hospedeiros intermediários viáveis para predação, e com a diversidade de hábito

alimentar dos hospedeiros definitivos do que com a densidade de peixes no ecossistema (Brasil-Sato & Pavanelli, 1999).



**Figura 3.** Fêmea de anfípode *Echinogammarus tibaldii* com um cistacanto (seta) de *Polymorphus minutus* na hemocele. Barra: 1,0mm (Fonte: Dezfuli et al., 2008b).

O cistacanto é a forma infectante para o hospedeiro definitivo. Contudo, quando o ovo é ingerido por um vertebrado hospedeiro paratênico, a larva cistacanto habita regiões extra-intestinais, pois atravessa a parede intestinal e se encista na cavidade do corpo, porém, não sofre nenhum desenvolvimento até alcançarem o hospedeiro definitivo (Nickol, 2006; Santos et al., 2013). Os peixes funcionam como hospedeiros definitivos ou paratênicos, e no segundo caso, por isso podem ser encontradas larvas de acantocéfalos encistados no mesentério (Thatcher, 2006). A transmissão pós-cíclica, ou seja, quando parasitos adultos são transmitidos de um hospedeiro definitivo para outro definitivo é relatada para poucas espécies de acantocéfalos de peixes (Nickol, 2006). Informações sobre hospedeiros intermediários de acantocéfalos de peixes foram disponibilizadas por Schmidt (1985) e na Tabela 1. Detalhes do desenvolvimento e da morfologia das fases de algumas espécies de acantocéfalos durante o ciclo de vida são descritos por Santos et al. (2013).

**Tabela 1.** Hospedeiros intermediários de acantocéfalos de peixes.

| Espécies de parasitos  | Hospedeiros intermediários     |          | Referências              |
|--|--------------------------------|----------|--------------------------|
|  | Espécie                        | Grupo    |                          |
| <i>Pomphorhynchus laevis</i><br>e <i>Polymorphus minutus</i>   | <i>Gammarus pulex</i>          | anfípode | Kaldonski et al. (2007)  |
| <i>Dentitruncus truttae</i><br>e <i>Echinorhynchus truttae</i> | <i>Echinogammarus tibaldii</i> | anfípode | Dezfuli et al. (2008b)   |
| <i>Polymorphus minutus</i><br>e <i>Echinorhynchus truttae</i>  | <i>Gammarus pulex</i>          | anfípode | Fielding et al. (2003)   |
| <i>Acanthocephalus lucii</i>                                   | <i>Asellus aquaticus</i>       | isópode  | Benesh & Valtonen (2007) |
| <i>Paratenuisentis ambiguus</i>                                | <i>Gammarus tigrinus</i>       | anfípode | Morozinska-Gogol (2008)  |
| <i>Acanthocephalus rhinensis</i>                               | <i>Echinogammarus tibaldii</i> | anfípode | Dezfuli et al. (2012)    |

## PATOLOGIA, HISTOPATOLOGIA E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS

Os efeitos patogênicos de acantocéfalos adultos decorrem da ação mecânica do parasito ao fixar sua probóscide na parede intestinal, e tais efeitos podem ser amplificados devido ao deslocamento dos parasitos nos locais de infecção (Santos et al., 2013). Embora alguns autores indiquem pouca resposta inflamatória por parte dos tecidos do hospedeiro, outros relatam forte reação com comprometimento de todo o canal alimentar. Esta aparente contradição tem correlação com a profundidade de penetração da probóscide, segundo Kabata (1985) e Dezfuli et al. (2002), que desencadeia quatro graus de severidade da parasitose:

1. A probóscide penetra apenas no epitélio intestinal. A reação do hospedeiro é insignificante ou inexistente;
2. A penetração atinge as camadas de tecido conjuntivo subepitelial, mas não consegue alcançar o músculo subjacente. A resposta é largamente confinada a infiltração de células granulares;

3. A probóscide chega à camada muscular do intestino. A reação envolve a infiltração de fibroblastos e a formação de nódulos fibrosos na parede intestinal;
4. A probóscide perfura a parede do intestino e muitas vezes torna-se rodeada por uma cápsula de multi-camadas (fibroblástica e colagenosa). Nesses casos Thatcher (2006) menciona a ocorrência de peritonite em consequência da perfuração intestinal.

Estudos têm sugerido que alguns acantocéfalos produzem toxinas, liberadas para os tecidos do hospedeiro através de poros presentes nos ganchos da probóscide (Kabata, 1985). O fato das espécies que apresentam poros nos ganchos provocarem uma resposta inflamatória mais vigorosa do que aqueles que não possuem parece corroborar esta hipótese (Kabata, 1985).

Além da penetração da probóscide, a oclusão do lúmen do intestino pode ocorrer, especialmente quando o peixe é pequeno e a intensidade de infecção alta (Sanil et al., 2011). A perda de peso, o retardo do crescimento e até mesmo a mortalidade dos hospedeiros também foram registradas (Kabata, 1985; Tonguthai, 1997; Amim et al., 2013).

Os estudos histopatológicos da infecção por acantocéfalos em peixes demonstram desenvolvimento de inflamação local e generalizada do trato digestivo. Essa parasitose pode induzir a migração de várias células inflamatórias para o local da infecção, e um dos tipos mais comuns de células associadas a infecções parasitárias entéricas em peixes são os mastócitos, conhecidos também como células granulares eosinofílicas (Sfacteria et al., 2015). Em peixes *Barbus barbuis* e *Silurus glanis* naturalmente infectados com o acantocéfalo *Pomphorhynchus laevis* as células imunes predominantes no local da inflamação em ambos os hospedeiros foram os mastócitos, associados a fibroblastos, encontrados próximos aos capilares do intestino, sugerindo a migração de mastócitos através da corrente sanguínea (Dezfuli et al., 2011).

A presença do acantocéfalo *Dentitruncus truttae* no trato digestório de *Coregonus lavaretus* induziu hiperplasia e hipertrofia

das células mucosas intestinais. Neste estudo, nos peixes infectados, os mastócitos foram mais abundantes do que em peixes não infectados, sugerindo a migração dessas células e sua intensa degranulação no local da infecção (Dezfuli et al., 2009).

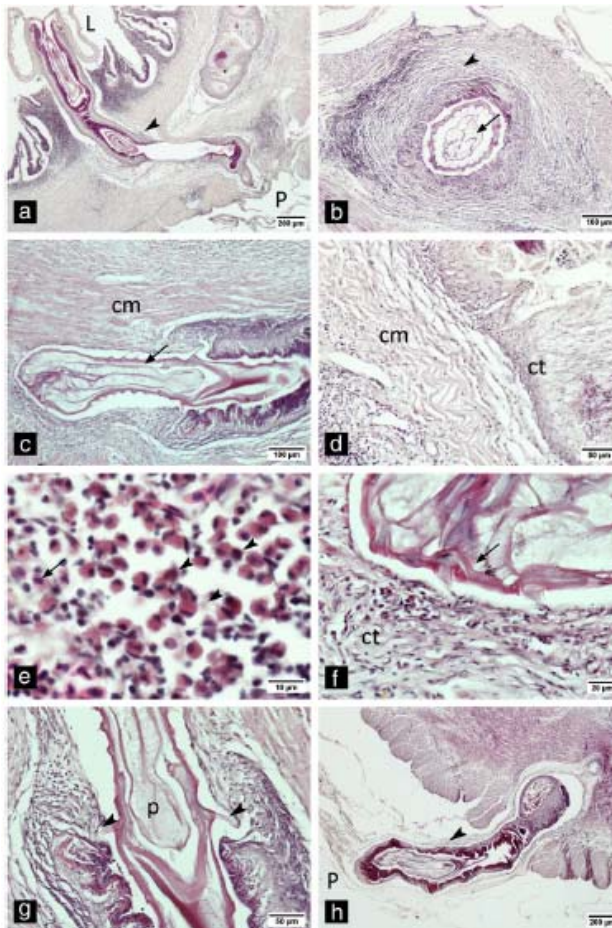
Alterações causadas por acantocéfalos *Longicollum pagrosomi* em *Pagrus major* (Kim et al., 2011) e por *Pomporhynchus kashmiriensis* em *Schizothorax esocinus* (Irshadullah & Mustafa, 2012), são necrose parcial do tecido conjuntivo, fibras musculares e colágeno do intestino; tendo sido observado ao redor do parasito a destruição das vilosidades e revestimentos epiteliais.

Sanil et al. (2011) descreveram manifestações patológicas do acantocéfalo *Tenuiproboscis* sp. no pargo do mangue (*Lutjanus argentimaculatus*), um peixe altamente valorizado ao longo da costa sudoeste da Índia, onde foram observadas grandes infecções com parasitos na região posterior do intestino, quase bloqueando o lúmen (Figura 4). Os acantocéfalos não produziram quaisquer efeitos nocivos visíveis na saúde geral dos animais. No entanto, estudos histopatológicos revelaram alterações patológicas graves e os danos mecânicos causados pelos acantocéfalos destruíram totalmente a arquitetura dos tecidos intestinais (Figura 5). As mesmas manifestações podem ocorrer com outras espécies de acantocéfalos e de hospedeiros.

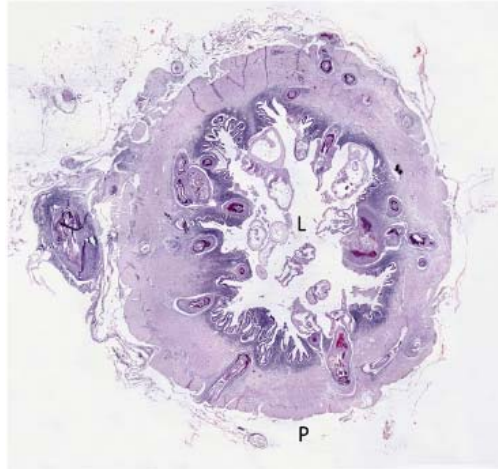
No Brasil, Martins et al. (2001) relataram prevalência de 83,3% de *Neoechinorhynchus curemai* parasitando curimatá (*Prochilodus lineatus*) do reservatório de Volta Grande (MG). A análise histopatológica revelou completa descamação do epitélio intestinal com severa hiperplasia e hipertrofia das células caliciformes, forte reação inflamatória na submucosa, deslocamento de feixes, associado a edemas, bem como infiltração mononuclear e eosinofílica.

Rodrigues et al. (2012) demonstraram que acantocéfalos do gênero *Neoechinorhynchus* encontrados no intestino de *Plagioscion squamosissimus* provocaram alterações significativas no epitélio intestinal, nas camadas mucosa, submucosa e muscular, além de

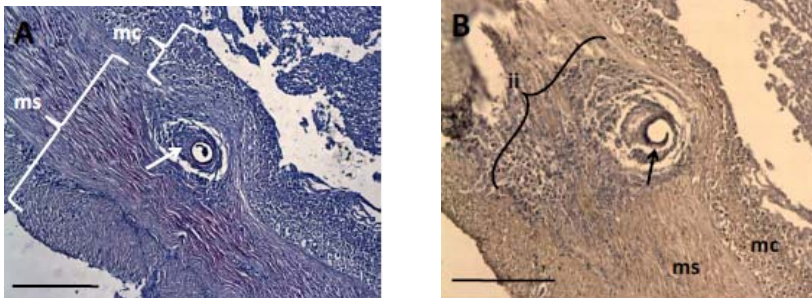
induzir a formação de infiltrado leucocitário ao redor do ponto da ancoragem da probóscide (Figura 6).



**Figura 4.** (a) Parasito penetra a parede do intestino (L - Lúmen, P - cavidade peritoneal); (b) probóscide do parasito (seta) cercado por uma cápsula de tecido conjuntivo (cabeça de seta); (c) visão ampliada da probóscide que mostra a formação de tecido conjuntivo (cm - músculos circulares); (d) secção de cápsula de tecido conjuntivo (cm - músculos circulares, ct - cápsula do tecido conjuntivo); (e) linfócitos, granulócitos e fibroblastos no local da inflamação; (f) tegumento intacto da região anterior da probóscide (seta) colocado entre a cápsula de tecido conjuntivo; (g) espinhos nas probóscide ancoradas fortemente em torno do tecido conjuntivo e (h) probóscide fechada no revestimento de tecido conjuntivo projetada-se na cavidade peritoneal (Fonte: Sanil et al., 2011).



**Figura 5.** Imagem reconstruída da secção transversal da intestino que mostra a extensão de danos nos tecidos para as dobras intestinais e as camadas musculares, notar que apenas uma pequena porção de vilosidades permanece intacta. L - Lumen, P - peritônio. (Fonte: Sanil et al., 2011).



**Figura 6.** Corte histológico da parede intestinal de *Plagioscion squamosissimus*, evidenciando o ponto de ancoragem do acantocéfalo *Neoechinorhynchus* sp. na parede do intestino. (A) Região do colo do parasito (seta branca) inserido na camada muscular (ms) do intestino, provocando deslocamento da camada mucosa (mc). (B) Os ganchos cefálicos (seta preta) perfuram a mucosa (mc) e estendem-se até a camada muscular (ms) do intestino. Presença de grande infiltrado inflamatório (ii) na camada muscular, circundando o helminto. Escala: 200µm; Hematoxilina e Eosina (Fonte: Rodrigues et. al., 2012).

Em *P. mesopotamicus* foram relatadas alterações histopatológicas intestinais devido ao parasitismo por *Echinorhynchus jucundus* (Ferraz de Lima et al., 1989; Faria et al., 2014). Ferraz de Lima et al. (1989), observaram reação inflamatória

com células mononucleares e hemorragias no epitélio intestinal. Faria et al. (2014) relataram alterações patológicas na mucosa intestinal tais como perda do tecido epitelial de revestimento dos vilos, próximos aos parasitos, além de infiltrações de células mononucleares e células granulocíticas eosinofílicas na lâmina própria intestinal. De forma semelhante em tambaquis (*Colossoma macropomum*) parasitados por *Neoechinorhynchus* sp., foi observada descamação, compressão e desaparecimento das vilosidades na mucosa, infiltração celular leucocitária na submucosa e espessamento da camada muscular (Matos et al., 2014).

Infecções parasitárias também podem causar alterações hematológicas e metabólicas que comprometem a saúde dos animais cultivados. Belo et al. (2013) observaram menor número de trombócitos em curimatás (*Prochilodus lineatus*) infectados com *N. curemai*, o que pode ser explicado pelo recrutamento dessas células para as lesões hemorrágicas causadas pelo parasito na parede intestinal, sendo observado também maiores contagens absolutas e relativas de monócitos quando comparado aos peixes não infectados. Ocorrência de monocitose em curimatás parasitados por *N. curemai* também foi relatada por Ranzani-Paiva et al. (2000). Infecção por *Echinorhynchus jucundus* causaram hipoproteinemia e hipoalbuminemia, além da diminuição nos valores séricos de colesterol e glicose de *P. mesopotamicus* (Faria et al., 2014).

## **LEVANTAMENTO DE OCORRÊNCIAS EM PISCICULTURAS COMERCIAIS DAS REGIÃO NORTE E NORDESTE DO BRASIL**

Em cultivo de tambaqui (n=72; 299,59 g e 20,27 cm), o primeiro relato de acantocefalose foi feito em 2001, quando peixes de barragens no município de Itacoatiara, estado do Amazonas, foram diagnosticado na fase de recria, pois haviam parados de se alimentar e começaram a morrer. Pois a alta infestação de *Neoechinorhynchus buttnerae* foi responsável pela oclusão parcial e total do trato intestinal, prejudicando a capacidade de absorção e competindo diretamente com o alimento ingerido (Malta et al.,



2001). Em 2008, novos casos foram registrados também em alevinos de tambaqui ( $n=800$ ;  $19,7\pm 5,4$  g;  $8,1\pm 1,0$  cm) oriundos do mesmo município, os quais morreram após manejo de transporte (Maciel et al., 2008).

Nova ocorrência de acantocéfalos no cultivo de tambaquis foi observada na fase de engorda, em 2014, em pisciculturas localizadas nos municípios de Rio Preto da Eva e Manacapuru, Estado do Amazonas, quando os peixes apresentaram oclusão e perfuração do trato intestinal. Até o momento somente se tem conhecimento da ocorrência de *N. buttnerae* parasitando tambaquis, a mesma espécie que acomete os seus híbridos (Tabela 2).

No estado de Rondônia, acantocéfalos também foram encontrados em tambaquis provenientes de pisciculturas da região do Vale do Jamari, que compreende nove municípios e representa o principal polo produtivo do estado. Foi observado que mais de 7% dos peixes encontravam-se parasitados por *Neoechinorhynchus* sp., e esses peixes eram oriundos de pisciculturas dos municípios de Alto Paraíso, Rio Crespo, Cacaulândia, Machadinho, Cajubim e Ariquemes (Oliveira, 2014). Há também registro de ocorrência de acantocéfalos em tambaquis criados no estado do Maranhão (Tabela 2).

Em tambacus (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*) cultivados no estado do Amapá foi feito o primeiro relato da infestação por *N. buttnerae*, quando foram coletados 77 espécimes do parasito, com uma prevalência de 12,5% e intensidade média de 18,5 parasitos/hospedeiro (Silva et al., 2013). Também há ocorrência de acantocéfalos em outros híbridos como a tambatinga (Tabela 2).

Em criações de pirarucu (*Arapaima gigas*), na fase de engorda, foi feito o primeiro registro de alta infestação de acantocéfalos *Polyacanthorhynchus macrorhynchus* no estado do Amapá (Marinho et al., 2013).

O aumento de casos de acantocéfalose em peixes cultivados na região Norte do Brasil é preocupante e, possivelmente, pode ser decorrente da intensificação dos sistemas produtivos sem o emprego de boas práticas de manejo sanitário. Em razão da baixa ocorrência

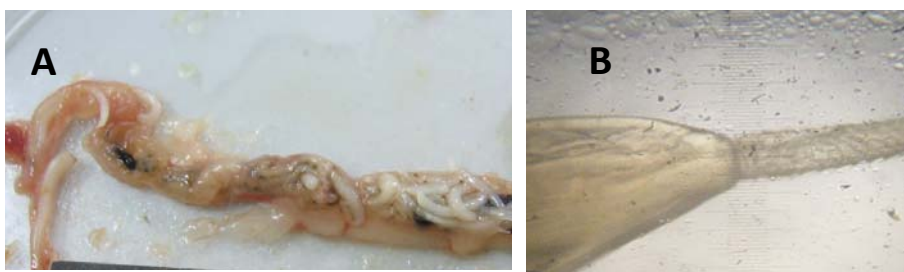
dessa parasitose, na maioria dos casos, em peixes cultivados no Brasil, são escassos os estudos sobre medidas de controle eficazes.

**Tabela 2.** Principais relatos da ocorrência de acantocéfalos em peixes de cultivo nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. P= Prevalência, IM: Intensidade média

| Localidades           | Hospedeiros                 | Espécie de parasito                      | P (%) | IM    | Referências                  |
|-----------------------|-----------------------------|--|-------|-------|------------------------------|
| Itacoatiara (AM)      | <i>Colossoma macropomum</i> | <i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>       | 100   | 125,3 | Malta et al. (2001)          |
| Itacoatiara (AM)      | <i>Colossoma macropomum</i> | <i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>       | 100   | 69,2  | Maciel et al. (2008)         |
| Rio Preto da Eva (AM) | <i>Colossoma macropomum</i> | <i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>       | 26,7  | 173,7 | Aquino-Pereira et al. (2014) |
| Manacapuru (AM)       | <i>Colossoma macropomum</i> | <i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>       | 100   | -     | Comunicação pessoal          |
| Vale do Jamari (RO)   | <i>Colossoma macropomum</i> | <i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>       | 7,3   | -     | Oliveira (2014)              |
| Estado do aranhão     | <i>Colossoma macropomum</i> | <i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>       | -     | -     | Comunicação pessoal          |
| Macapá (AP)           | Tambatinga                  | <i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>       | 2,8   | 1,2   | Dias et al. (2015)           |
| Macapá (AP)           | Tambacu                     | <i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>       | 4,4   | 15,4  | Silva et al. (2013)          |
| Macapá (AP)           | <i>Arapaima gigas</i>       | <i>Polyacanthorhynchus macrorhynchus</i> | 95,0  | 28,2  | Marinho et al. (2013)        |

## DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E PREVENÇÃO

O sucesso no controle das enfermidades depende da sua identificação por métodos rápidos e eficientes de diagnósticos. O método de diagnóstico mais utilizado é realizado por meio da avaliação post-mortem dos peixes, quando os parasitos adultos são encontrados no trato intestinal (Eiras et al., 2006; Noga, 2010). Em observações a fresco em microscópio ou estereomicroscópio (lupa) é possível identificar a principal característica do parasito que é a probóscide com espinhos (Figura 7). A espécie do parasito deve ser identificada para correlação com a patogenicidade do agente. Exame coproparasitológico também é um meio para detecção dos ovos nas fezes (Nickol, 2006), contudo, na maioria dos casos não é viável para pisciculturas. O diagnóstico imunológico ainda não está disponível para esta parasitose (Nickol, 2006).



**Figura 7.** Acanthocéfalos adultos no intestino de *Colossoma macropomum* (A) e probóscide com espinhos de *Echinorhynchus briconi* parasito de *Brycon amazonicus* (B) (Fonte: A. Patrícia Maciel; B. Aquino-Pereira, S.).

Para o controle de uma enfermidade deve-se atuar em duas frentes, uma delas, o tratamento propriamente dito da doença e outra na prevenção, tanto evitando a entrada quanto reduzindo ou eliminando as chances de reinfecção. A literatura referente ao tratamento de acanthocéfalos de peixes é escassa e quando existente é divergente. Por isso relatamos os levantamentos realizados, indicando pontos positivos e negativos e possibilidades para as espécies nativas.

Em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), Nakajima et al. (1975) testaram o uso de bithionol, pamoato de piruvina e iodato de diametazina em banhos de 24 horas na concentração de 10 mg/L no controle de *Acanthocephalus opsariichthydis*. Porém, como os resultados não foram satisfatórios. Portanto, isso reforça que o melhor controle está na eliminação dos hospedeiros intermediários. Kabata (1985) registra o tratamento do bacalhau (*Gadus morhua*) com o bithionol, como aditivo alimentar, a 20.000 mg/L, em uma única aplicação eliminando 84,0% de uma população de *Echinorhynchus* sp. Kabata (1985), Thatcher (2006) e Eiras et al. (2008) indicam o óxido de Di-N-Butil Estanho. O primeiro autor registrou que o produto foi utilizado para combater infecções por *Pomporhynchus* sp. misturando-se à ração de 3 a 5 mg/kg de peixe, com três aplicações, em dias consecutivos com sucesso. Já o segundo autor registrou que o produto deve ser misturado à ração a 0,3% do peso vivo por um a cinco dias. E o terceiro autor indicou a mistura do produto à ração

na dose de 25g/100 kg de peixe por 3 dias. Contudo, Taraschewski et al. (1990) testaram esse produto *in vitro* contra os acantocéfalos *Neoechinorhynchus rutili* e *Echinorhynchus truttae* e não encontraram resultados satisfatórios.

No controle de acantocéfalos *Pallisentis nagpurensis*, o uso de tolzan (oxiclozanida) na concentração de 0,04 mM apresentou eficácia satisfatória. Este produto inibe a absorção de glicose, a geração anaeróbica de ATP pelo parasito, assim como interfere no metabolismo das proteínas, resultando na imobilização e morte do acantocéfalo (Kumari, 2006). Para truta arco-íris, os químicos loperamida e niclosamida foram avaliados *in vivo* na dose de 50 mg/kg durante três dias consecutivos, por via oral de forma forçada usando um meio de um pélete de ração. Observou-se que uso de loperamida apresentou 100% de eficácia no controle dos acantocéfalos *N. rutili* e *E. truttae*, enquanto a niclosamida não apresentou a mesma eficácia e foi considerada altamente tóxica para os peixes (Taraschewski et al., 1990).

A loperamida é um analgésico narcótico e seu mecanismo de ação é estimular a contração do músculo intestinal (Booth & Donald, 1992). A ação da loperamida causou prejuízos letais aos parasitos, como severo inchaço e encolhimento da extremidade posterior do tronco, bem como danos às mitocôndrias dos parasitos (Taraschewski et al., 1990). Uma desvantagem do método de tratamento utilizado é a aplicação em larga escala. Como o teste foi experimental a dose exata do medicamento foi administrada para cada animal pela via oral forçada. Seria necessário realizar outros estudos para avaliar a aplicação da dose indicada fazendo a incorporação do medicamento à ração e administrando para um lote maior de animais, de forma a validar o uso do tratamento em escala de produção.

A loperamida parece não causar maiores danos ao hospedeiro e a invertebrados aquáticos (Taraschewski et al., 1990). De acordo com os autores o medicamento não causou danos fisiológicos em *Oncorhynchus mykiss* quando expostos ao medicamento em banho de imersão na dose eficaz, e da mesma

forma não provocaram a morte de caramujos *Lymnae astagnalis* e *Anisus vortex*, isópodes *Asellus aquatius* e larvas de libélula (Anisoptera).

Em peixes ornamentais tropicais, recomenda-se o uso quimioterápicos indicados para nematoides para eliminar acantocéfalos. As formas de tratamento são: niclosamida em banho longo de 200 a 300 mg/100 L por 24 a 36 horas e em banho curto de 3 a 5g/L por 3 a 6 horas, e em ambas dosagens, repetir o tratamento após 2 a 3 semanas. Na ração indica-se adicionar 50 mg de niclosamida/100g de dieta de 5 a 7 dias. Já o mebendazol foi indicado para ser incorporado na ração, 100 a 200 mg/100 g de dieta por cinco a sete dias (Bassleer, 2011).

Apesar de todos esses quimioterápicos serem utilizados no tratamento de acantocéfalos em outros países, no Brasil não há nenhum parasiticida recomendado para esta finalidade, visto que o primeiro e único produto registrado no Brasil, a base de triclorfon, teve o registro suspenso. Entretanto, é sabido que o uso de quimioterápicos e antibióticos na aquicultura brasileira é uma prática comum, e, portanto, pode-se considerar que grande parte dos empreendimentos aquícolas vem atuando de forma irregular, colocando em risco a cadeia produtiva devido a riscos ambientais e de saúde pública. De acordo com a maioria dos autores a prevenção à exposição ao parasito é o melhor método de limitar as infecções por acantocéfalos. Este método corresponde a controlar os potenciais hospedeiros intermediários na água (Nickol, 2006), com uso de organofosforados, tendo o conhecimento que o uso destes produtos pode causar problemas ambientais (Tonguthai, 1997). Malta et al. (2001) indicaram o sacrifício e incineração dos lotes contaminados. Por isso, a entrada de acantocéfalos em propriedades piscícolas pode sair muito caro para o produtor, uma vez que o tratamento medicamentoso em larga escala ainda não é uma realidade.

A ocorrência de acantocéfalos no cultivo de tambaqui e seus híbridos é uma realidade em pisciculturas do Estado do Amazonas desde 2001 e em decorrência de altas infestações uma medida que

vem sendo adotada mais recentemente em algumas pisciculturas da região consiste no rodízio de espécies, alternando ciclos de produção entre tambaqui e matrinxã, ou outra espécie, visando com isso quebrar o ciclo de vida do parasito, uma vez que estes são espécie-específicos. O tratamento e a prevenção só são possíveis com a realização do diagnóstico correto e precoce da doença. Como as transferências de peixes entre pisciculturas é a forma mais factível de transmissão, principalmente por meio de alevinos e peixes jovens, é essencial a realização do diagnóstico das formas jovens. Como a maioria das infecções é assintomática, ou seja, as alterações clínicas nos peixes não são perceptíveis, é necessária a avaliação de amostragem dos lotes nas pisciculturas. As mortalidades após algum manejo devem ser investigadas, pois a imunossupressão ocorre principalmente nas altas infecções (Maciel et al., 2008). Assim, medidas preventivas devem ser adotadas mesmo quando a infestação ainda for baixa.

De forma geral, algumas medidas conhecidas como boas práticas de manejo são recomendadas para minimizar a ocorrência de doenças na criação, tais como: conhecer a procedência dos alevinos e realizar quarentena a cada lote adquirido, proceder a desinfecção dos equipamentos utilizados nos viveiros, monitorar os parâmetros de qualidade da água durante o cultivo, fornecer alimentação de qualidade e adequada para cada fase de vida dos peixes, acompanhar o desempenho dos peixes e as alterações comportamentais e evidências físicas de enfermidades, e na ocorrência de mortalidade nos tanques de criação deve-se retirar rapidamente os peixes mortos, pulverizá-los com cal virgem e enterrá-los (Izel et al., 2014).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Como a disponibilidade de hospedeiros intermediários infectados, o fechamento do ciclo de vida dos acantocéfalos é facilitado (Brasil-Sato & Pavanelli, 1999), e o estresse causado nos animais diminui sua resistência à ocorrência de outras doenças. A patogenicidade dos parasitos, em geral, é dependente de dois

fatores, a carga parasitária e a capacidade de penetração do parasito nos tecidos do hospedeiro. As alterações histopatológicas e fisiológicas causadas por algumas espécies de acantocéfalos indicam que danos são provocados aos peixes, ainda que sinais clínicos externos não sejam facilmente percebidos

Na aquicultura, a patogenicidade dos acantocéfalos tem sido subestimada, conseqüentemente não tem motivado o desenvolvimento de medidas de controle específicas. Isso, ocorre possivelmente em função dos registros marcando a não preocupação com esse grupo de parasitos, assim a ocorrência de acantocéfalos em cultivos de pirarucus, tambaquis e seus híbridos vem sendo negligenciada. Este cenário contribuiu para que a parasitose tenha aumentado sua área de ocorrência nos últimos anos, como na região Norte, possivelmente por meio do transporte de alevinos de pisciculturas que fazem reprodução, alevinagem e/ou recria. Essa parasitose é hoje responsável por um fator silencioso da redução de produtividade e mortalidade de peixes nas criações. Portanto, é importante destacar que a implementação de medidas preventivas que minimizem a reprodução desses parasitos e/ou sua disseminação na propriedade ou entre pisciculturas, é o ponto mais importante a ser considerado antes, durante e após o ciclo de cultivo.

## REFERÊNCIAS

- AMIN, O.M. Classification. In: CROMPTON, D.W.T.; NICKOL, B.B. (Ed.). Biology of the Acanthocephala. Cambridge: Cambridge University Press, p. 27-72, 1985.
- AMIN, O.M. Key to the families and subfamilies of Acanthocephala, with the erection of a new class (Polyacanthocephala) and a new order (Polyacanthorhynchida). Journal of Parasitology, 73:1216-1219, 1987.
- AMIN, O.M.; HECKMANN, R.A.; HALAJIAN, A.; EL-NAGGAR, A.M.; TAVAKOL, M. The description and histopathology of *Leptorhynchoides polycristatus* n. sp. (Acanthocephala: Rhadinorhynchidae) from sturgeons, *Acipenser* spp. (Actinopterygii: Acipenseridae) in the Caspian Sea, Iran, with emendation of the generic diagnosis. Parasitology Research, 112: 3873–3882, 2013.
- ANDRADE, S.M.S. Monitoramento da auna parasitológica e das condições de manejo do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em sistema de cultivo intensivo em canal de igarapé no estado do Amazonas. 100f. Dissertação (Mestrado em

Biologia de Água Doce e Pesca Interior). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus/AM, 2000.

AQUINO-PEREIRA, S.L.; CHAGAS, E.C.; BOIJINK, C.; MAJOLO, C.; BRANDÃO, F.R.; FUJIMOTO, R.Y. Levantamento parasitário de tambaqui (*Colossoma macropomum*) criado em pisciculturas do município de Rio Preto da Eva (AM) no período das chuvas. In: XIII ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS Aracaju. p. 244, 2014.

BASSLEER, G. Guia Prático de Doenças de Peixes Ornamentais Tropicais e de Lagos (e de camarões ornamentais). 1ª. ed. Westmeerbeek, Belgium: Bassleer Biofish, 2011.

BELO, M.A.A.; SOUZA, D.G.G.; FARIA, V.P.; PRADO, E.J.R.; MORAES, F.R.; ONAKA, E.M. Haematological response of curimbas *Prochilodus lineatus*, naturally infected with *Neoechinorhynchus curemai*. Journal of Fish Biology, 82:1403-1410, 2013.

BENESH, D.P.; VALTONEN, T. Effects of *Acanthocephalus lucii* (Acanthocephala) on intermediate host survival and growth: implications for exploitation strategies. Journal of Parasitology, 93:735-741, 2007.

BOOTH, H.; DONALD, L. E. Farmacologia e Terapêutica em Veterinária. 6ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.

BRASIL-SATO, M. C.; PAVANELLI, G. C. Ecological and reproductive aspects of *Neoechinorhynchus pimelodi* Brasil-Sato & Pavanelli (Eoacanthocephala, Neoechinorhynchidae) of *Pimelodus maculatus* Lacepede (Siluroidei, Pimelodidae) of the Sao Francisco River, Brazil. Revista Brasileira de Zoologia, 16: 73-82, 1999.

BUSH, A.O.; FERNÁNDEZ, J.C.; ESCH, G.W.; SEED, R. Acanthocephala: the thorny-headed worms. In: BUSH, A.O.; FERNÁNDEZ, J. C.; ESCH, G. W.; SEED, R. (Ed.). Parasitism. The diversity and ecology of animal parasites. Cambridge: Cambridge University Press, p.197-214, 2001.

CLEAVE, H.J.V. Some host-parasite relationships of the Acanthocephala, with special reference to the organs of attachment. Experimental Parasitology, 1:305-30, 1952.

CORNET, S.; FRANCESCHI, N.; BAUER, A.; RIGAUD, T.; MORET, Y. Immune depression induced by acanthocephalan parasites in their intermediate crustacean host: Consequences for the risk of super-infection and links with host behavioral manipulation. International Journal for Parasitology, 39:221-229, 2009.

DEZFULI, B. S.; CASTALDELLI, G.; BO, T.; LORENZONI, M.; GIARI, L. Intestinal immune response of *Silurus glanis* and *Barbus barbus* naturally infected with *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). Parasite immunology, 33:116-123. 2011.

DEZFULI, B.S.; GIARI, L.; SIMONI, E.; BOSI, G., MANERA, M. Histopathology, immunohistochemistry and ultrastructure of the intestine of *Leuciscus cephalus* (L.) naturally infected with *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). Journal of Fish Diseases, 25:7-14, 2002.

DEZFULI, B.S.; GIOVINAZZO, G.; LUI, A.; GIARI, L. Inflammatory response to *Dentitruncus truttae* (Acanthocephala) in the intestine of brown trout. Fish & Shellfish Immunology, 24:726-733, 2008a.



DEZFULI, B.S.; LUI, A.; GIOVINAZZO, G.; GIARI, L.B.S. Effect of Acanthocephala infection on the reproductive potential of crustacean intermediate hosts. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98:116–119, 2008b.

DEZFULI, B.S.; LUI, A.; SQUERZANTI, S.; LORENZONI, M. Confirmation of the hosts involved in the life cycle of an acanthocephalan parasite of *Anguilla anguilla* (L.) from Lake Piediluco and its effect on the reproductive potential of its amphipod intermediate host. *Parasitology Research*, 110:2137-2143, 2012.

DEZFULI, B.S.; SZEKELY, C.; GIOVINAZZO, G.; HILLS, K.; GIARI, L. Inflammatory response to parasitic helminthes in the digestive tract of *Anguilla anguilla* (L.). *Aquaculture*, 296:1-6, 2009.

DIAS, M.K.R.; NEVES, L.R.; MARINHO, R.G.B.; PINHEIRO, D.A.; TAVARES-DIAS, M. Parasitism in tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*, Characidae) farmed in the Amazon, Brazil. *Acta Amazonica* 45 (2): 231-238, 2015.

EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C. Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes. 2ª. ed. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2006.

EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C. Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Clichetec, 2010.

FARIA, V.P.; BELO, M.A.A.; MORAES, A. C.; PRADO, J. R.; FOZ, E. P. Alterações sérico enzimáticas em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) naturalmente parasitados pelo acantocéfalo *Echinorhynchus jucundum*. In: XIII ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS. Aracaju. p. 238, 2014.

FERRAZ DE LIMA, C.L. B.; FERRAZ DE LIMA, J.A.; CECCARELLI, P.S. Ocorrência de acantocéfalos parasitando pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Pisces: Serrasalmidae) em piscicultura. *Boletim Técnico do CEPTA*, 2:43-51, 1989.

FIELDING, N.; MACNEIL, C.; DICK, J.T.A.; ELWOOD, R.W.; RIDDELL, G.E.; DUNN, A. M. Effects of the acanthocephalan parasite *Echinorhynchus truttae* on the feeding ecology of *Gammarus pulex* (Crustace: Amphipoda). *Journal of Zoology*, 261: 321-325, 2003.

IRSHADULLAH, M.; MUSTAFA, Y. Pathology induced by *Pomporhynchus kashmiriensis* (Acanthocephala) in the alimentary canal of naturally infected Chirruh snow trout, *Schizothorax esocinus* (Heckel). *Helminthologia*, 49:11-15, 2012.

IZEL, A. C. U.; CRESCÊNCIO, R.; O’SULLIVAN, F. L.; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C. L. Cultivo de tabaqui no Amazonas. 1ª ed. Brasília: Embrapa, 2014.

KABATA, Z. Diseases caused by worms—II—Nematoda and Acanthocephala. In: KABATA, Z. (Ed.). *Parasites and diseases of fish cultured in the tropics*. London & Philadelphia: International Development Research Council, p. 201-226, 1985.

KALDONSKI, N.; PERROT-MINNOT, M.-J.; CÉZILLY, F. Differential influence of two acanthocephalan parasites on the antipredator behaviour of their common intermediate host. *Animal Behaviour*, 74:1311-1317, 2007.

KENNEDY, C. *Ecology of the acanthocephalan*. Cambridge; New York: Cambridge University Press, 2006.

KIM, S.; LEE, J. S.; KIM, J.; OH, M.; KIM, C.; PARK, M. A.; PARK, J. J. Fine structure of *Longicollum pagrosomi* (Acanthocephala: Pomphorhynchidae) and intestinal histopathology of the red sea bream, *Pagrus major*, infected with acanthocephalans. *Parasitology Research*, 109:175-184, 2011.

KUMARI, Y.S. Effect of tolzan on carbohydrate metabolism and protein metabolism of an acanthocephalan parasite *Pallisentis nagpurensis* parasitising the fresh water fish *Channa striatus*. *Bulletin of Pure & Applied Sciences-Zoology*, 25:13-18, 2006.

LACERDA, A.C.F.; SANTIN, M.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C.; BIALETZKI, A.; TAVERNARI, F.C. Helminths parasitizing larval fish from Pantanal, Brazil. *Journal of Helminthology*, 83:51-55, 2009.

MACIEL, P.O.; AFFONSO, E.G.; ONAKA, E.M. Infestação massiva por *Neoechinorhynchus* sp. (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) em tambaquis, *Colossoma macropomum*, jovens de piscicultura de Itacoatiara-AM, Brasil. In: X ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, Búzios, Rio de Janeiro, 2008.

MALTA, J.C.O.; ANDRADE, S.M.S.; AQUINO-PEREIRA, S.L.; TAVARES-DIAS, M.; VARELLA, A. M. Parasitos do matrinxã *Brycon amazonicus* Spix & Agassiz, 1829 (Characidae: Bryconinae) na Amazônia central. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). Manejo e Sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá, p.425-437, 2009.

MALTA, J.C.O.; GOMES, A.L.; ANDRADE, S.M.S.; VARELLA, A.M.B. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechinorhynchus buttnerae* Golvan, 1956, (Eoacanthocephala: Neoechinorhynchidae) em tambaquis jovens, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) cultivados na Amazônia Central. *Acta Amazonica*, 31: 133-143, 2001.

MARINHO, R. G. B.; TAVARES-DIAS, M.; DIAS-GRIGÓRIO, M. K. R.; NEVES, L. R.; YOSHIOKA, E. T. O.; BOIJINK, C. L.; TAKEMOTO, R. M. Helminthes and protozoan of farmed pirarucu (*Arapaima gigas*) in eastern Amazon and host-parasite relationship. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65:1192-1202, 2013.

MARTINS, M.L.; MARCHIORI, N.; NUNES, G.; RODRIGUES, M.P. First record of *Trichodina heterodentata* (Ciliophora: Trichodinidae) from channel catfish, *Ictalurus punctatus* cultivated in Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 70:637-44, 2010.

MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.Y. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatu*s (Monogenea, Dactylogyridae) gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes, Characidae) in Brazil. Efficacy and hematology. *Acta Parasitologica*, 46:332-336, 2001.

MATOS, L.V.; OLIVEIRA, M.I B.; GOMES, A.L.S.; SILVA, G.S.S. Alterações morfológicas em juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) associadas à infecção maciça pelo acantocéfalo intestinal *Neoechinorhynchus* sp. In: XIII ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, Aracaju. p. 279, 2014.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA- MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011. Brasília, DF, 2013.

- MOREIRA, C. B.; HASHIMOTO, G.S.O.; ROMBENSO, A.N.; CANDIOTTO, F.B.; MARTINS, M.L.; TSUZUKI, M.Y. Outbreak of mortality among cage-reared cobia (*Rachycentron canadum*) associated with parasitism. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22: 588-591, 2013.
- MOROZINSKA-GOGOL, J. The first record of *Paratenuisentis ambiguous* (Acanthocephala, Tenuisentidae) in Poland. *Oceanologia*, 50:275-279, 2008.
- MUZZALL, P. M.; RABALAIS, F. C. Studies on *Acanthocephalus jacksoni* Bullock, 1962 (Acanthocephala: Echinorhynchidae). I. Seasonal periodicity and new host records. *Proceedings of the Helminthological Society*, 42:31-34. 1975.
- NAKAJIMA, K.; OTA, T.; EGUSA, S. Some aspects of the parasitism and the susceptibility of some chemicals of the adult of the spiny-headed worms found in two year old rainbow trout kept at Somegai trout experimental station. *Fish Pathology*, 10:48-52, 1975.
- NICKOL, B.B. Phylum Acanthocephala. In: WOO, P.T.K. (Ed.). *Fish Diseases and Disorders, Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections*. Canadá: University of Guelph, p. 444-465, 2006.
- NOGA, E. J. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*. 2ª. ed. Iowa Staty University: Library of Congress Catalogin. 2010.
- OLIVEIRA, S.R.K.S. Estudo da endofauna parasitária do tambaqui, *Colossoma macropomum*, em pisciculturas do Vale do Jamari – RO. 46f. Dissertação (Mestrado Profissional em Produção Animal). Universidade Camilo Castelo Branco, Descalvado, SP, 2014.
- PÁDUA, S.B.; ISHIKAWA, M.M.; VENTURA, A.S.; JERONIMO, G.T.; MARTINS, M.L.; TAVARES, L.E. Brazilian catfish parasitized by *Epistylis* sp. (Ciliophora, Epistylididae), with description of parasite intensity score. *Parasitology Research*, 112: 443-446, 2013.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. Doenças de peixes. Profilaxia, diagnóstico e tratamento. 3ª ed. Maringá: Eduem, 2008.
- PORTZ, L.; ANTONUCCI, A.M.; UEDA, B.H.; DOTTA, G.; GUIDELLI, G.; ROUMBEDAKIS, K.; MARTINS, M.L.; CARNIEL, M.K.; TAVECHIO, W.L.G. Parasitos de peixes de cultivo e ornamentais. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (Ed.). *Parasitologia de peixes de água doce do Brasil*. Maringá: Eduem, p. 85-114, 2013.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SILVA-SOUZA, A.T.; PAVANELLI, G.C.; TAKEMOTO, R.M. Hematological characteristics and relative condition factor (Kn) associated with parasitismo in *Schizodon borelli* (Osteichthyes: Anostomidae) and *Prochilodus lineatus* (Osteichthyes: Prochilodontidae) from Paraná River, Porto Rico region, Paraná, Brazil. *Acta Scientiarum*, 22: 515-521, 2000.
- RODRIGUES, R.A.R.; MELO, F.T.V.; SANTOS, J.N.; GIESE, E.G. Estudo histopatológico do intestino de *Plagioscion squamosissimus* parasitado por Acanthocephala, no baixo rio Guamá, Belém-PA. In: *Anais do 10º Seminário Anual de Iniciação Científica da UFRA*, p. 1-4., 2012.

- SANIL, N.K.; ASOKAN, P.K.; JOHN, L.; VIJAYAN, K.K. Pathological manifestations of the acanthocephalan parasite, *Tenuiprobooscis* sp. in the mangrove red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) (Forsskål, 1775), a candidate species for aquaculture from Southern India. *Aquaculture*, 310:259-266, 2011.
- SANTOS, C.P.; MACHADO, P.M.; SANTOS, E.G.N. Acanthocephala. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R.M.; EIRAS, J.C. *Parasitologia. Peixes de Água Doce*. Maringá, Eduem, p.353-370, 2013.
- SCHMIDT, G.D. Development and life cycles. In: CROMPTON, D.W. T.; NICKOL, B.B. (Ed.). *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 273–305, 1985.
- SFACTERIA, A.; BRINESB, M.; BLANKC, U. The mast cell plays a central role in the immune system of teleost fish. *Molecular Immunology*, 63:3-8, 2015.
- SILVA, R.M.; TAVARES-DIAS, M.; DIAS, M.W.R.; DIAS, M.K.R.; MARINHO, R.G. B. Parasitic fauna in hybrid tambacu from fish farms. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48:1049-1057, 2013.
- TARASCHEWSKI, H.; MEHLHORN, H.; RAETHER, W. Loperamid, an efficacious drug against fish-pathogenic acanthocephalans. *Parasitology Research*, 76:619-623, 1990.
- TAVARES-DIAS, M.; LEMOS, J.R.G.; MARTINS, M.L.; JERÔNIMO, G.T. Metazoan and protozoan parasites of freshwater fish from Brazil. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá, AP, p. 469-494, 2009.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R.; MARTINS, M.L.; KRONKA, S.N. Fauna parasitária de peixes oriundos de pesque-pagues do município de Franca, São Paulo, Brasil. II. Metazoários. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18:81-95, 2001.
- THATCHER, V.E. 2006. *Amazon Fish Parasites*. 2ª. ed. Sofia: Pensoft Publishers.
- TONGUTHAI, K. Control of freshwater fish parasites: a Southeast Asian Perspective. *International Journal for Parasitology*, 21:1185-1191, 1997.
- VALLADÃO, G.M.R.; GALLANI, S.U.; PÁDUA, S.B.; MARTINS, M.L.; PILARSKI, F. *Trichodina heterodentata* (Ciliophora) infestation on *Prochilodus lineatus* larvae: a host-parasite relationship study. *Parasitology*, 141:662-669, 2014.
- WOO, P.T.K. *Fish Diseases and Disorders*. Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections. 2ª. ed. Canadá: University of Guelph, 2006.
- XU, D.; SHOEMAKER, C.A.; MARTINS, M.L.; PRIDGEON, J.W.; KLESZIUS, P.H. Enhanced susceptibility of channel catfish to the bacterium *Edwardsiella ictaluri* after parasitism by *Ichthyophthirius multifiliis*. *Veterinary Microbiology*, 158:216-219, 2012.

# CAPÍTULO 17

## SANIDADE DE POLVOS: ESTADO ATUAL E PERSPECTIVAS

Katina Roumbedakis<sup>1</sup>  
Maurício Laterça Martins

### INTRODUÇÃO

#### *Aspectos gerais*

A classe Cephalopoda é dividida em duas subclasses: Nautiloidea, que possui apenas dois gêneros, *Nautilus* e *Allonautilus*, os únicos representantes vivos com concha externa; e Coleoidea, que compreende as lulas, sépias, polvos e “vampiros” (Jereb & Roper, 2010). Os cefalópodes compreendem aproximadamente 1.000 espécies vivas atualmente descritas, entretanto, estima-se que existam pelo menos outras 100 espécies não descritas. Dentre a ordem Octopoda, à qual pertencem os polvos, destaca-se o gênero *Octopus* que compreende mais de 200 espécies (Jereb & Roper, 2010), distribuídas principalmente em águas rasas tropicais. Os polvos desempenham papel fundamental nas relações tróficas dos ecossistemas marinhos, tanto como predadores de uma diversa fauna bentônica, como presas importantes de diversas espécies que estão no topo da cadeia alimentar (Guerra, 1992).

Em cefalópodes coleoides, o ciclo de vida é, em geral, curto podendo variar de 6 a 36 meses (Mangold, 1983). Estes animais são semélparos, ou seja, apresentam apenas um evento reprodutivo durante a vida (Mangold, 1983; Boyle & Rodhouse, 2005). Os polvos da família Octopodidae são dioicos e apresentam dimorfismo sexual: quando sexualmente maduros, os machos apresentam um braço diferenciado, o hectocótilo, através do qual transferem os

---

Roumbedakis & Martins. Sanidade de polvos: estado atual e perspectivas. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

espermatóforos para o oviduto da fêmea durante a cópula (Boyle & Rodhouse, 2005). Após a transferência, os espermatóforos se rompem e liberam o esperma, que é armazenado na espermateca da glândula ovidutal onde ocorre a fecundação (Froesch & Marthy, 1975).

O desenvolvimento embrionário é direto e, em espécies de águas rasas, dura geralmente entre um e dois meses dependendo da temperatura da água (Forsythe & Hanlon, 1988). Após a postura, a fêmea dedica-se exclusivamente à sua manutenção (Figuras 1 A-B). O cuidado parental inclui a proteção da massa de ovos de possíveis predadores, aeração e limpeza dos ovos e eliminação de embriões mortos (Vidal et al., 2014). Durante este período a fêmea não se alimenta, necessitando de reservas endógenas (Guerra, 1992; Rocha, 2003), o que acarreta mudanças fisiológicas e sua condição se deteriora drasticamente podendo ser observada a diminuição corporal, culminando com sua morte após a eclosão dos ovos (Guerra, 1992).

Após a eclosão, as paralarvas, geralmente permanecem no plâncton onde se alimentam até se estabelecerem no substrato e iniciarem a fase bentônica (Boyle & Rodhouse, 2005). Este período é relativamente curto devido à alta taxa de crescimento destes animais (Rocha, 2003). Em algumas espécies com ovos de maior tamanho (Figura 1 B), a paralarva se integra imediatamente ao habitat do adulto, sem passar pela fase planctônica (Sweeney et al., 1992).

Após a reprodução, os polvos passam por uma etapa conhecida como senescência caracterizada como um estágio normal do ciclo de vida e geralmente ocorre antes da morte: em machos ocorre após a cópula e nas fêmeas durante a incubação dos ovos ou logo após sua eclosão (Anderson et al., 2002). A senescência não é uma doença ou resultado de uma doença, embora doenças também possam ocorrer durante esse estágio (Pascual et al., 2010). Quatro condições ou atividades são indicadoras deste estágio: perda de apetite ou ausência de alimentação levando à perda de peso, retração da pele ao redor dos olhos, atividade indireta ou não coordenada e ocorrência de lesões na pele (Anderson et al., 2002).



**Figura 1.** Fêmeas com suas massas de ovos durante o cuidado parental. **A.** *Octopus insularis*; **B.** *Octopus maya*. Figura 1 A gentilmente cedida por Tatiana Leite.



**Figura 1.** Fêmeas com suas massas de ovos durante o cuidado parental. **B.** *Octopus maya*. Figura 1 A gentilmente cedida por Tatiana Leite.

### CAPTURA DE POLVOS

Os cefalópodes apresentam grande valor como fonte de proteína para o consumo humano. O abastecimento do mercado mundial está baseado quase que exclusivamente na captura de

espécimes do ambiente, dependendo da disponibilidade de animais e da frequência da pesca. A captura de cefalópodes tem aumentado significativamente nas últimas décadas, devido ao declínio de estoques de peixes, superando 4 milhões de toneladas e representando 3% do comércio mundial de pescados em 2012 (FAO, 2014). Conseqüentemente, a importância da captura de polvos também tem aumentado, principalmente na Europa, onde são consumidos em larga escala e possuem alto valor comercial.

Seguindo a tendência mundial, os polvos tornaram-se excelentes potenciais pesqueiros no Brasil devido à redução da captura de pescados tradicionais aliada à expansão pesqueira sobre os cefalópodes. Até o início dos anos 2000, os polvos eram capturados principalmente como fauna acompanhante durante a pesca de arrasto-de-fundo de camarões (Gasalla et al., 2005), sendo, em 2003, implementada a pesca de polvo com espinhéis de pote pela frota comercial paulista (Ávila-da-Silva et al., 2006). Esse método se assemelha a tradicional pesca de espinhel para peixes e é composta por uma linha principal, na qual se prendem, em intervalos regulares, linhas secundárias as quais possuem em suas extremidades potes ao invés de anzóis. Dentro de cada pote é colocado cimento para que sirva de lastro quando submerso. O número de potes e o tempo de permanência na água são variáveis. Esta arte de pesca utiliza a estratégia do animal em procurar refúgio no pote para se proteger, sendo considerada de baixo impacto sobre o fundo oceânico (Ávila-da-Silva et al., 2014).

Após a implementação da técnica de pesca de espinhel com potes, de alta produtividade e voltada em grande parte para exportação, observou-se um aumento da captura do polvo sem precedentes (Ávila-da-Silva et al., 2006). Em Santa Catarina, as primeiras viagens de embarcações com espinhéis de potes para polvos foram registradas em 2005 (Ávila-da-Silva et al., 2014). As capturas do polvo *Octopus vulgaris* compõem quase a totalidade da produção da frota comercial no Sudeste-Sul brasileiro, entretanto, outras espécies da família Octopodidae também são capturadas (Ávila-da-Silva et al., 2014). A captura de polvos na região Sudeste-



Sul é maior quando comparada ao Nordeste, porém, proveem quase que exclusivamente da pesca industrial (Ávila-da-Silva et al., 2014).

Segundo Haimovici et al. (2014), no Nordeste, a pesca de polvo ocorre principalmente nos estados da Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte e é mais diversificada, envolvendo mais modalidades de pesca e um número maior de pescadores, sendo *Octopus insularis* a espécie que corresponde à maior parte das capturas. Estes autores descrevem, além da pesca de espinhel de potes, outras duas modalidades de pesca praticadas na região: coleta dos polvos sobre recifes rasos e mergulho próximo a estes, sem o uso de embarcações, para consumo próprio e complementação de renda, e pesca de mergulho de pequena escala, realizada com pequenas embarcações a vela ou motorizadas, frequentemente para complementar a pesca da lagosta.

## ESPÉCIES COM POTENCIAL DE CULTIVO

*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 (Figura 2 A) é uma das espécies mais importantes no que diz respeito à captura e valor comercial (Vaz-Pires et al., 2004). Ocorre em águas tropicais, subtropicais e temperadas do Oceano Atlântico ao Mar Mediterrâneo (Mangold, 1997). No Brasil, ocorre ao longo de toda a costa e é a espécie de polvo mais explorada nas regiões Sudeste e Sul (Ávila-da-Silva et al., 2014), sendo raramente pescada em ambientes rasos do Nordeste (Haimovici et al., 2014). Habita desde a costa até a plataforma continental, alcançando 200 m de profundidade (Rodriguez et al., 2006), em temperaturas que variam de 7 a 32°C e salinidade entre 32 e 40‰ (Guerra, 1992). É comum em águas rasas, recifes de coral ou rochas, onde sua predominância depende da abundância de alimentos e abrigos (Mangold, 1983).

*Octopus vulgaris* tem sido alvo de diversos estudos relacionados aos aspectos biológicos e de cultivo, em razão do elevado valor de mercado e do grande potencial que representa como espécie alternativa para a aquicultura (Mazón et al., 2007). É uma das espécies promissoras para o cultivo por uma série de fatores como alta taxa de conversão alimentar, com capacidade de

incorporar de 40 a 60% do alimento ingerido (Wells, 1978; Mangold, 1983); rápido crescimento, atingindo taxas de crescimento diário entre 3 a 10% (Lee et al., 1998; Dominguez et al., 2002), com ganhos de 0,5 a 1,0 kg/mês (García-García & Aguado Giménez, 2002); alto conteúdo proteico, aproximadamente 70 a 90% do peso seco da composição corporal (O'dor & Wells, 1987; Lee, 1994); alta fecundidade, podendo produzir de 100 a 500 mil ovos por fêmea (Wells, 1978; Mangold, 1983; Iglesias et al., 2000) e fácil adaptação e manutenção em cativeiro (Vaz-Pires et al., 2004; Rodriguez et al., 2006). Além destas características, apresenta ciclo de vida curto, em torno de 12 a 18 meses e aceita alimentos de baixo valor comercial (Iglesias et al., 2000).

*Octopus insularis* Leite & Haimovici, 2008 (Figura 2 B), havia sido anteriormente identificada como *O. vulgaris*; entretanto, verificou-se a presença de diferenças morfológicas e genéticas de espécimes coletados no Nordeste do Brasil em relação a *O. vulgaris* provenientes do Mediterrâneo e do Sul do Brasil, confirmando a presença desta nova espécie (Leite et al., 2008). Devido à sua proximidade com *O. vulgaris*, esta espécie possivelmente também possui potencial para o cultivo.

É uma espécie bentônica costeira de águas rasas cuja distribuição conhecida até a presente data abrange o Nordeste e Norte do Brasil, incluindo todas as ilhas oceânicas brasileiras (Leite et al., 2008), sendo considerada a principal espécie alvo da pesca nestas regiões (Haimovici et al., 2014). Ocupa fundos duros como recifes, rochas, cascalho e platô biogênico composto por cascalho, areia, esponjas e algas (Haimovici et al., 2014). Possui tamanho médio a grande, com manto e cabeça largos e braços relativamente pequenos e grossos, com tamanho de 3 a 5 vezes o comprimento do manto e é mais robusta quando comparada com *O. vulgaris* (Leite et al., 2008).



**Figura 2. A.** *Octopus vulgaris*. Figuras gentilmente cedida por Tatiana Leite.



**Figura 2. B.** *Octopus insularis*. Figuras gentilmente cedida por Tatiana Leite.

## CULTIVO DE POLVOS

Os cefalópodes vêm sendo utilizados como organismos modelo para pesquisas nas áreas de neurociência, fisiologia e etologia, por isso são frequentemente mantidos sob condições de

laboratório ou aquários (Boletzky & Hanlon, 1983). O cultivo de cefalópodes também tem sido realizado com fins ornamentais, principalmente polvos e sépias, devido ao rápido crescimento global desta indústria (Vidal et al., 2014) e por estarem entre os animais mais carismáticos em aquários (Villanueva et al., 2014). Além disso, os polvos são considerados um dos grupos de invertebrados marinhos mais atrativos para a aquicultura (Vidal et al., 2014) por apresentarem rápido crescimento combinado às altas taxas de conversão alimentar e por possuírem altas fontes proteicas e grande aproveitamento, sendo 80 à 85% do peso corporal total aproveitável para consumo humano (Lee, 1994).

O cultivo de cefalópodes em pequena escala é atualmente possível para algumas espécies tais como *Sepioteuthis lessoniana*, *Sepia officinalis*, *O. maya* e *O. vulgaris* (somente crescimento de subadultos em gaiolas), sendo essas espécies consideradas como modelos de cultivo ao redor do mundo e candidatas preferenciais para a aquicultura (Vidal et al., 2014). Segundo Villanueva et al. (2014), estas espécies foram as mais amplamente estudadas nas últimas décadas e, conseqüentemente, as que acumularam maior literatura científica. Estes autores destacam que os maiores desafios enfrentados atualmente para o desenvolvimento dos cultivos são o controle da reprodução e o desenvolvimento de uma dieta artificial sustentável.

O cultivo de polvos encontra-se em fase de desenvolvimento e, nas últimas décadas, diversas tentativas foram realizadas visando conhecer as técnicas para a produção em larga escala, entretanto, o cultivo desde a fase de ovo até subadulto tem sido realizado com sucesso somente em escala experimental (Iglesias et al., 2000). Com exceção de *O. maya* que tem sido cultivado em laboratório, inclusive por várias gerações consecutivas (Hanlon & Forsythe, 1985), o cultivo de polvos é restrito à engorda de subadultos capturados na pesca (Mazón et al., 2007). Na Espanha, o cultivo de *O. vulgaris* é baseado na engorda de subadultos capturados no ambiente, mantidos em tanques ou em gaiolas flutuantes e alimentados com peixes, crustáceos e moluscos, provenientes da fauna acompanhante

da pesca, até atingirem o peso comercial (García-García & Valverde, 2006). No Brasil, um estudo foi conduzido com a engorda de polvos subadultos em gaiolas flutuantes leves, econômicas e de fácil manejo, demonstrando o potencial desta atividade para a diversificação da malacocultura (Teixeira et al., 2014).

## ALGUNS ASPECTOS ÉTICOS NA MANIPULAÇÃO DE CEFALÓPODES

A ética e o bem estar na manipulação de cefalópodes é um tema que tem recebido considerável atenção nos últimos anos, sendo esta classe de animais recentemente incluída na legislação de bem estar na União Europeia juntamente com os vertebrados ("Directive 2010/63/EU" (EU, 2010)). Procedimentos éticos que levem em consideração a possibilidade destes animais em presenciarem situações de dor e sofrimento devem ser implementados. Desta maneira, em situações de manutenção de cefalópodes para pesquisa ou em locais públicos, é necessário promover boas práticas de bem estar animal. Assim, sugere-se a utilização da política dos 3 R's: "*reduction*" (redução do número de animais em experimentos, por exemplo), "*refinement*" (ou seja, utilizando espécies para as quais os detalhes de manejo e alimentação são bem conhecidas e controláveis, reduzindo as chances de sofrimento e morte dos animais) e "*replacement*" (pela substituição de cultivo de células apropriadas ou modelos de computador, sempre que possível) (*vide* revisões Moltschaniwskyj et al., 2007; Vidal et al., 2014).

No cultivo em laboratório, o manejo dos animais é utilizado com frequência em procedimentos como transporte, medição e/ou pesagem, classificação e marcação, extração de hemolinfa, entre outros. Nestes procedimentos, os anestésicos são geralmente utilizados a fim de facilitar o manejo, prevenir lesões, reduzir o estresse e promover o bem-estar dos animais. Os anestésicos mais comumente utilizados em cefalópodes são uretano, etanol, cloreto de magnésio e água fria (*vide* revisão de Gleadall, 2013a). A utilização do uretano (Messenger, 1968; Andrews & Tansey, 1981) reduziu desde que foi considerado cancerígeno.

O etanol tem sido utilizado em concentrações de 1,5 a 3% diluído em água do mar com sucesso na anestesia de diversos cefalópodes (*vide* revisão de Gleadall, 2013a). Entretanto, alguns autores relataram reações adversas após a imersão inicial, como, por exemplo, tentativas de sair do tanque e liberação de tinta (Froesch & Marthy 1975; Andrews & Tansey, 1981). Além disso, indução inadequada (incompleta) pode ocorrer em temperaturas baixas (Gleadall, 2013a), devido à redução do efeito narcotizante do etanol (Moore et al., 1964). O cloreto de magnésio, assim como o etanol, é um anestésico de baixo custo e de fácil acesso e manipulação. Em cefalópodes, foi utilizado com sucesso em diversas espécies de diferentes sexos, idades e tamanhos (Messenger et al., 1985; Gore et al., 2005; Scimeca, 2011) inclusive em anestesia de longa duração (Mooney et al., 2010). A hipotermia, por sua vez, possui a vantagem de evitar o uso de drogas químicas e seus potenciais efeitos (Gleadall, 2013 b), em contrapartida, pode ser difícil a manutenção da água na temperatura desejada, além dos animais apresentarem condição mais rígida do corpo dificultando operações cirúrgicas (Andrews & Tansey, 1981). Alguns autores relataram que a água fria não produz anestesia adequada (Gleadall, 2013a) e questionaram sua utilização em procedimentos potencialmente dolorosos (West et al., 2007).

## AGENTES PATOGÊNICOS

Estudos sobre parasitologia de cefalópodes são escassos. Revisões sobre os principais agentes patogênicos em cefalópodes foram publicadas na década de 90 (Hanlon & Forsythe, 1990a,b; Hochberg, 1990); entretanto, poucos dados foram publicados nas últimas duas décadas (Castellanos-Martínez & Gestal, 2013). Os principais agentes patogênicos descritos na literatura são vírus, bactérias gram-negativas do gênero *Vibrio*, fungos e parasitos.

### *Vírus*

Estudos recentes foram conduzidos por Rodríguez-Canul et al. (2012) em *O. maya* para determinar a presença do vírus da

mancha branca (WSSV), já que esses animais alimentam-se de crustáceos, podendo portanto agir como vetores do vírus. Embora *O. maya* selvagens não apresentaram nenhum sinal de infecção, os autores infectaram experimentalmente 10 polvos via oral com camarões *Litopenaeus vannamei* positivos para o vírus e observaram que sete polvos contraíram o vírus quatro semanas após a infecção, demonstrando a possibilidade de *O. maya* servir como hospedeiro paratênico para o vírus.

### **Bactérias**

Infecções causadas por *Vibrio* spp. têm sido descritas em várias espécies de cefalópodes (Ford et al., 1986; Reimschuessel et al., 1990; Farto et al., 2003; Sangster & Smolowitz, 2003; Harms et al., 2006; Scimeca, 2011). São detectadas principalmente na epiderme e/ou manto causando ulcerações e, em casos mais severos, os sistemas circulatório e reprodutivo podem ser afetados levando à morte em poucos dias (Sangster & Smolowitz, 2003).

Essas bactérias são comuns em águas costeiras e têm sido detectadas em níveis mais elevados na parede dos tanques dos cultivos (Elston & Lockwood, 1983; Sangster & Smolowitz, 2003) quando comparado a condições naturais (Ford et al., 1986). Este fato reforça a possibilidade de ocorrência de infecções secundárias a ulcerações, especialmente se a injúria for causada por colisões no ambiente de cultivo (Sangster & Smolowitz, 2003; Harms et al., 2006). A utilização de boas práticas de manejo pode reduzir o estresse e evitar o aparecimento de injúrias, reduzindo possíveis infecções bacterianas.

### **Fungos**

Registros de infecções causadas por fungos são raros em cefalópodes. *Cladosporium* sp. foi observado em uma espécie não identificada de polvo (Scimeca, 2011) e em uma fêmea de *S. officinalis*, com infecção bacteriana local ocasionando ulceração (Harmset al., 2006). Similarmente às infecções bacterianas, as infecções fúngicas em cefalópodes são infecções secundárias que

ocorrem como resultado de um trauma ou pelo comprometimento do sistema imune (Harms et al., 2006).

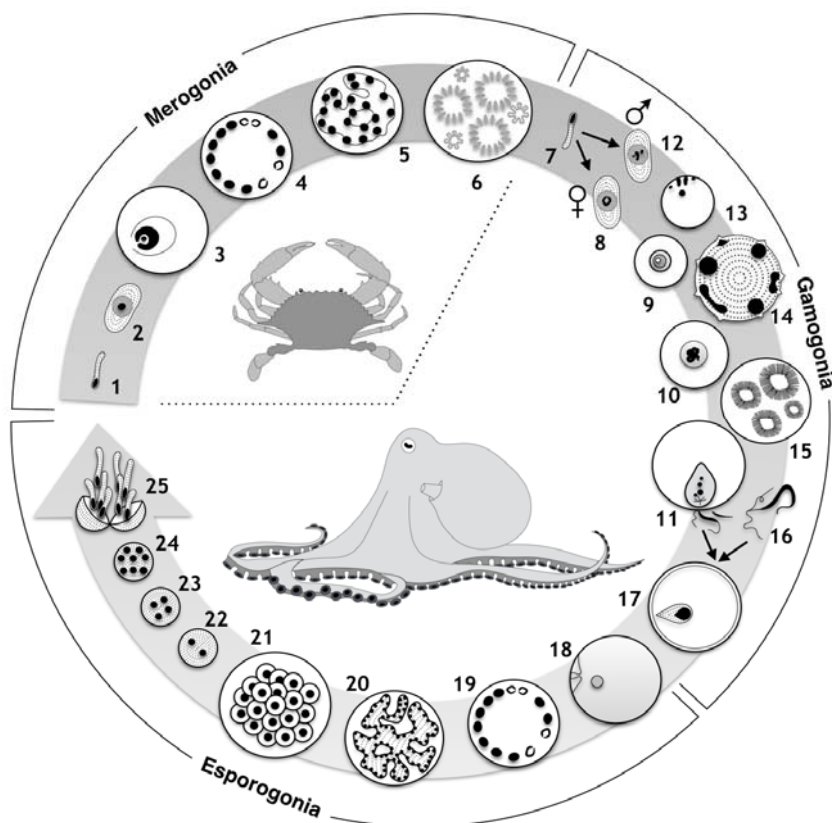
### *Parasitos*

Os cefalópodes têm papel importante na transmissão de parasitos, uma vez que podem ser hospedeiros primários para protozoários, Dicyemida e crustáceos, bem como segundo ou terceiro hospedeiro intermediário para digenéticos, cestoides, acantocéfalos e nematoides (Hochberg, 1990). Algo em torno de 150 espécies de parasitos protozoários e metazoários estão relacionadas a um total de 650 espécies de cefalópodes (Hochberg, 1990), entretanto, esse número pode ser bem maior.

Os parasitos mais frequentemente em cefalópodes são os coccídeos do gênero *Aggregata* (Protozoa: Apicomplexa), parasitos intracelulares transmitidos por meio da cadeia alimentar, comumente relatados em várias espécies cefalópodes mundialmente distribuídas (Hochberg, 1990). Atualmente, 10 espécies de *Aggregata* foram descritas infectando lulas, sépias e polvos, sendo relatado inclusive em uma espécie de polvo de águas profundas (Castellanos-Martínez & Gestal, 2013).

*Aggregata* spp. têm ciclo de vida heteroxeno, com um crustáceo como hospedeiro intermediário para o desenvolvimento do estágio assexual do parasito (merogonia), enquanto os cefalópodes são os hospedeiros definitivos, nos quais ocorrem os estágios sexuais do parasito (gamogonia e esporogonia) (Hochberg, 1990) (Figura 3). Os estágios assexuais infectam o trato digestório de crustáceos (Hochberg, 1990) e os estágios sexuais são encontrados no trato digestório de cefalópodes, principalmente o ceco, sendo que, em infecções mais severas, podem infectar brânquias e musculatura do manto (Pascual et al., 1996; Mladineo & Bocina, 2007).





**Figura 3.** Ciclo de vida de *Aggregata* sp. A etapa de merogonia ocorre em um crustáceo decápode (hospedeiro intermediário) e as etapas de gamogonia e esporogonia ocorrem no polvo (hospedeiro definitivo). 1. Esporozoítio; 2-6. Desenvolvimento do merozoítio; 7. Merozoítio; 8-10. Desenvolvimento do macrogameta; 11. Macrogameta no momento da fertilização; 12-15. Desenvolvimento do microgameta 16. Microgameta; 17. Zigoto; 18-20. Desenvolvimento do oocisto; 21. Oocisto contendo os esporocistos em desenvolvimento; 22-24. Desenvolvimento dos esporocistos; 25. Esporocistos contendo os esporozoítios (Adaptado de Hochberg,1990).

Infecções severas por *Aggregata octopiana* *Aggregata eberthi* tem sido observados nos tratos digestórios de *O. vulgaris* e *S. officinalis*, respectivamente, selvagens e cultivados em águas europeias (Pascual et al., 1996; Gestal, 2002 a,b). Gestal et al. (2002 a) observaram diversos efeitos histopatológicos decorrentes da infecção por *A. octopiana* no trato digestório de *O. vulgaris*, como hipertrofia celular com deslocamento nuclear, inflamação,

fagocitose, ulceração e destruição parcial dos órgãos. Em polvos senescentes, Pascual et al. (2010) observaram predominância do parasito em estágio de esporogonia infectando amplamente os tecidos, fato que pode estar relacionado com a liberação de formas infectantes maduras para garantir a conclusão do ciclo de vida do parasito. Além disso, os autores observaram pouca infiltração de hemócitos ou reações fibróticas nos locais de infecção, demonstrando que o sistema imunológico nesta etapa da vida pode estar comprometido.

A coccidiose, doença causada por *Aggregata* spp., pode afetar negativamente as funções gastrointestinais causando diminuição ou mau funcionamento das enzimas de absorção, fenômeno conhecido como síndrome da má absorção (Gestal et al., 2002 b). Apesar da coccidiose não ser a principal causa de morte, é provável que a síndrome da má absorção prejudique o desenvolvimento e crescimento dos animais (Gestal et al., 2002 b).

Além de *Aggregata*, outros parasitos têm sido relatados em cefalópodes: outros protozoários e metazoários como Dicyemida, Monogenea, metacercárias e digenéticos adultos, cestoides, acantocéfalos, nematoides e crustáceos (Overstreet & Hochberg, 1975; Hanlon & Forsythe, 1990 a,b; Pascual et al., 1996; González et al., 2003). Até a presente data, estes parasitos não parecem causar maiores problemas aos cefalópodes, entretanto, em condições de cultivo, pode ocorrer a sua proliferação, levando a infecções severas e prejuízos econômicos.

## **SISTEMA IMUNE DE CEFALÓPODES**

Os cefalópodes constituem um grupo avançado de moluscos com sistema circulatório “fechado” bem desenvolvido, constituído por um coração sistêmico e dois corações acessórios (corações branquiais) que distribuem a hemolinfa por meio de artérias e capilares para todo o corpo, além da presença de um órgão hematopoiético, o corpo branco (Ford, 1992). A hemolinfa de cefalópodes é composta por uma fração líquida, constituída pelo plasma, rico em hemocianina e que contém diferentes fatores humorais, e por uma fração celular, constituída pelas

células circulantes ou hemócitos. O pigmento respiratório hemocianina é a proteína mais abundante na hemolinfa, podendo representar até 98% do total de proteínas hemolinfáticas (Malham et al., 1998 a). Os hemócitos, por sua vez, estão envolvidos em várias funções como reparação de tecidos, digestão de nutrientes, transporte e excreção (Ford, 1992).

Como em outros invertebrados, o sistema imune de cefalópodes conta com fatores celulares e humorais, que agem juntos na eliminação de microorganismos invasores. Os fatores celulares são realizados pelos hemócitos que respondem pela fagocitose, formação de cápsulas e nódulos, infiltração ou atividades citotóxicas, isolamento e destruição de patógenos, enquanto as moléculas dissolvidas no plasma (lectinas, aglutininas e lisozimas) são importantes componentes da resposta humoral (Ford, 1992).

Em moluscos bivalves podem-se diferenciar dois tipos de hemócitos: os granulares ou granulócitos, que se caracterizam pela presença de abundantes grânulos citoplasmáticos e parecem ser as células imunologicamente mais reativas e os hemócitos hialinos ou hialinócitos, desprovidos ou com número muito reduzido de grânulos (Vargas-Albores & Barracco, 2001). Até recentemente, apenas um tipo de hemócito havia sido identificado em cefalópodes (Malham et al., 1998a; Rodríguez-Domínguez et al., 2006). Entretanto, Castellanos-Martínez et al. (2014) revelaram a existência de duas populações de hemócitos em *O. vulgaris*. Esses autores identificaram uma população predominante, os granulócitos grandes, com núcleo excêntrico em forma de U e citoplasma abundante com grânulos basofílicos e um segundo tipo de hemócitos, os granulócitos pequenos, redondos ou ovais, com núcleo acompanhando o formato da célula, ocupando quase sua totalidade, e citoplasma escasso contendo grânulos em pequeno número ou totalmente ausentes.

Em moluscos, os hemócitos tem papel importante na defesa interna pelo reconhecimento e eliminação de material não-próprio, bem como reparo da concha e de ferimentos (Cheng, 1975). O reparo de ferimentos envolve migração e agregação de hemócitos no local

da injúria para prevenir o extravasamento de hemolinfa, até que as células epiteliais cresçam sobre o ferimento para completar a cicatrização (Chu, 2000). Em cefalópodes, os hemócitos são capazes de formar um agregado que é acompanhado por vasoconstrição e síntese de colágeno para ajudar a reparar a lesão (Ferál, 1988).

A fagocitose de agentes microbianos e material não-próprio é um importante mecanismo e constitui a primeira linha de defesa de invertebrados (Barracco et al., 2008). Em cefalópodes, a atividade fagocítica foi verificada em hemócitos de *Eledone cirrhosa* imunoestimulados com *Vibrio anguillarum* (Malham et al., 1997) e em hemócitos de *O. vulgaris* imunoestimulados com zymosan (Novoa et al., 2002; Rodríguez-Domínguez et al., 2006; Castellanos-Martínez et al., 2014). Castellanos-Martínez et al. (2014) observaram diferença na habilidade de fagocitose pelos dois tipos de hemócitos identificados em *O. vulgaris*, sendo que os granulócitos grandes apresentaram maior atividade fagocítica.

Quando a quantidade de micro-organismos invasores é maciça ou quando as partículas ou patógenos são de grande tamanho e a fagocitose não é possível, ocorre a formação de nódulos e cápsulas, respectivamente (Barracco et al., 2008). Em cefalópodes a formação de cápsulas foi observada em infecções causadas por helmintos e nematoides devido ao seu grande tamanho mesmo em formas larvais (Sardella et al., 2000) e em polvos infectados por *Aggregata* spp. (Gestalet et al., 2002a).

Alterações no número, morfologia ou viabilidade dos hemócitos podem ser usados como indicadores da saúde (Ellis et al., 2011), visto que variações podem ocorrer em animais parasitados ou expostos a algum tipo de estresse. Malham et al. (1998a) realizaram sucessivas coletas de hemolinfa de *E. cirrhosa* (0, 2 e 4 horas) e observaram aumento significativo no número de hemócitos 2 horas após a primeira coleta, decaindo após 4 horas. Variações no número de hemócitos foram observadas em *E. cirrhosa* expostos ao ar por 5 minutos (Malham et al., 2002). Em *O. vulgaris*, aumento significativo na quantidade de hemócitos circulantes foi observado 4 horas após a infecção com lipopolissacarídeos de *Escherichia coli* quando

comparados aos animais injetados com solução salina tamponada com fosfato (PBS) (Locatello et al., 2013).

Durante as reações imune-celulares ocorre a produção e liberação de moléculas altamente tóxicas que auxiliam na morte e degradação do agente invasor, ocasionando aumento do consumo intracelular de oxigênio, chamado de *burst* respiratório, que resulta na produção de uma variedade de espécies intermediárias altamente reativas de oxigênio (ROIs) e de nitrogênio (RNIs) (Barracco et al., 2008). A produção de ROIs *in vitro* já foi relatada em hemócitos de *E. cirrhosa* imunoestimulados com *V. anguillarum* (Malham et al., 2002). Novoet al., (2002) observaram produção de ROIs e RNIs em hemócitos circulantes e células do corpo branco de *O. vulgaris* imunoestimulados com zymosan, demonstrando a capacidade de ambas as células em reagir contra o agente estranho, como também observado em hemócitos de *O. vulgaris* imunoestimulados com zymosan (Castellanos-Martínez et al., 2014).

Os fatores humorais complementam a atividade celular. Dentre esses fatores destacam-se as lectinas, proteínas sem atividade catalítica, com capacidade de se ligar especificamente a carboidratos da superfície de diferentes células, incluindo micro-organismos, causando sua aglutinação (Barracco et al., 2008). A presença de uma lectina com especificidade à lactose foi descrita em *O. vulgaris* (Rögener et al., 1985). Em *O. maya*, Alpuche et al. (2010) descreveram uma lectina (OmA) homóloga à hemocianina do tipo A de *Octopus dofleini*, com especificidade à galactosamina, manose e fucose. Estes autores relataram elevada atividade hemaglutinante desta lectina na presença de eritrócitos e sugeriram ter um papel na resposta imune pelo reconhecimento e aglutinação de oligossacarídeos.

A lisozima é uma enzima liberada durante o processo de fagocitose capaz de romper polissacarídeos complexos ou peptidoglicanas das paredes bacterianas (Barracco et al., 2008). Maior atividade de lisozima foi observada nos hemócitos, na hemolinfa e em vários tecidos de polvos *E. cirrhosa* infectados com *V. anguillarum* quando comparado a animais não infectados (Malham et al., 1998b). Similarmente, Locatello et al. (2013) observaram maior

atividade desta enzima no plasma de *O. vulgaris* após injeção de lipopolissacarídeos de *E. coli* em relação a animais injetados com PBS. A atividade de lisozima também foi detectada no tegumento e em órgãos do sistema circulatório de *S. officinalis* (Le Pabicet al., 2014).

Dentre as respostas humorais, um dos mais efetivos mecanismos imunes de invertebrados contra agentes estranhos é a ativação do sistema pró-fenoloxidase. A ativação da forma inativa (proPO) para a enzima ativa (PO) ocorre pela ação de serino-proteases, iniciando uma cascata proteolítica cujo produto final é a melanina (Barracco et al., 2008). Em cefalópodes, a PO foi caracterizada no saco de tinta de *Illex argentinus* (Naraoka et al., 2003) e *Octopus ocellatus* (Fan et al., 2009). Em embriões de *S. officinalis* no final da organogênese foi detectada a atividade de PO, sugerindo seu papel no sistema imune destes animais (Lacou-Labarthe et al., 2009). Corroborando estes resultados, Le Pabic et al. (2014) observaram altas atividades de PO no tegumento, bem como nos órgãos dos sistemas respiratório e circulatório de *S. officinalis* nas formas zimogênica e ativa. Estes autores também relataram altas atividades de PO na glândula digestiva e seus apêndices e sugeriram que este órgão pode servir como reservatório de proPO, entretanto, sugerem futuras investigações para definir o real papel da PO neste órgão, levando em consideração a detoxificação e metabolismo de hemocianina.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos hemato-imunológicos e parasitológicos em cefalópodes com potencial para cultivo, tanto com fins ornamentais ou aquicultura, são de fundamental importância devido ao crescente interesse por estes animais. Com o aumento dos cultivos, ocorre consequentemente um incremento na ocorrência de patologias causadas por bactérias e/ou parasitos, o que pode tornar-se um fator limitante e ameaçar a sustentabilidade dos cultivos. O conhecimento das doenças e agentes patogênicos e dos mecanismos de defesa em cefalópodes e o entendimento destas relações é vital para a

manutenção e sucesso dos cultivos e para o diagnóstico e desenvolvimento de tratamentos específicos.

Vários aspectos do sistema imune deste grupo complexo de animais precisam ser investigados, como, por exemplo, a identificação de proteínas de reconhecimento padrão e peptídeos antimicrobianos, bem como as reações imune-celulares, os mecanismos líticos e degradativos e o sistema proPO. Estudos futuros relativos à infecção experimental com patógenos e resposta inflamatória frente a diferentes flogógenos normalmente utilizados em vertebrados merecem ser realizados para compreensão da cinética da resposta inflamatória dos hemócitos. Outra linha de pesquisa promissora é o estudo de substâncias imunestimulantes em espécies consideradas prioritárias para a aquicultura, a fim de conferir uma maior imunocompetência em cefalópodes de interesse econômico.

## REFERÊNCIAS

- ALPUCHE, J.; PEREYRA, A.; MENDOZA-HÉRNANDEZ, G.; AGUNDIS, C.; ROSAS, C.; ZENTENO, E. Purification and partial characterization of an agglutinin from *Octopus maya* serum. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 156:1-5, 2010.
- ANDERSON, R.C.; WOOD, J.B.; BYRNE, R.A. *Octopus* senescence: the beginning of the end. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 5(4):275-283, 2002.
- ANDREWS, P.L.R.; TANSEY, E.M. The effects of some anesthetic agents in *Octopus vulgaris*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 70:241-247, 1981.
- ÁVILA-DA-SILVA, A.O.; ASSUNÇÃO, R.; TOMÁS, A.R.G. Surgimento e evolução da pesca do polvo-comum, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, com potes no estado de São Paulo, Brasil. In: HAIMOVICI, M.; FILHO, J. M. A; SUNYE, P. S. (Ed.). A pesca marinha e estuarina no Brasil: estudos de caso multidisciplinares. Rio Grande: Editora da FURG, p.147-160, 2014.
- ÁVILA-DA-SILVA, A.O.; CARNEIRO, M.H.; BASTOS, G.C.C.; MENDONÇA, J.T.; SERVO, G. J.; BATISTA, P.A. Produção pesqueira marinha do Estado de São Paulo no ano 2005. *Série de Relatórios Técnicos*, 20:259-266, 2006.
- BARRACCO, M.A.; SILVA, P.M. Hemolinfa e Sistema Imune. In: RESGALLA, C.J.; CONCEIÇÃO, M. B.; WEBER, L. I. (Ed.). *O Mexilhão Perna perna* (L.): Biologia, Ecologia e Aplicações. Rio de Janeiro: Interciência, p. 85-103, 2008.
- BOLETZKY, S.; HANLON, R. T. Review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod molluscs. *Memoirs of National Museum of Victoria*, 44:147-187, 1983.

- BOYLE, P.; RODHOUSE, P. Cephalopods: Ecology and Fisheries. Blackwell Science, UK, 2005.
- CASTELLANOS-MARTÍNEZ, S.; GESTAL, C. Pathogens and immune response of cephalopods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 447:14–22, 2013.
- CASTELLANOS-MARTÍNEZ, S.; PRADO-ALVAREZ, M.; LOBO-DA-CUNHA, A.; AZEVEDO, C.; GESTAL, C. Morphologic, cytometric and functional characterization of the common octopus (*Octopus vulgaris*) hemocytes. *Developmental and Comparative Immunology*, 44:50–58, 2014.
- CHENG, T.C. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 266: 343–379, 1975.
- CHU, F.L. Defense mechanisms of marine bivalves. In: FINGERMAN, M., NAGABHUSHANAM, R. (Ed.). Recent advances in marine biotechnology. *Immunology and Pathology*, 5. Science Publishers Inc., Enfield, UK, p. 1–42, 2000.
- DOMINGUES, P.M.T.; SYKES, A.; ANDRADE, J.P. The effects of temperature in the life cycle of two consecutive generations of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), cultured in the Algarve (South Portugal). *Aquaculture International*, 10:207–220, 2002.
- ELLIS, R.P.; PARRY, H.; SPICER, J.I.; HUTCHINSON, T.H.; PIPE, R.K.; WIDDICOMBE, S. Immunological function in marine invertebrates: responses to environmental perturbation. *Fish & Shellfish Immunology*, 30:1209–1222, 2011.
- ELSTON, R.; LOCKWOOD, G.S. Pathogenesis of vibriosis in cultured juvenile red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson. *Journal of Fish Diseases*, 6:111–128, 1983.
- EU. European Union. Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of European Union*, p 33–79, 2010.
- FAN, T.; LI, M.; WANG, J.; YANG, L.; CONG, R. Purification and characterization of phenoloxidase from *Octopus ocellatus*. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 41(10): 885–872, 2009.
- FAO. Food and Agricultural Organization. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. Roma: FAO, p. 223, 2014.
- FARTO, R.; ARMADA, S.P.; MONTES, M.; GUISANDE, J.A.; PEREZ, M.J.; NIETO, T.P. *Vibrio lentus* associated with diseased wild octopus (*Octopus vulgaris*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 83:149–156, 2003.
- FÉRAL, J. P. Wound healing after arm amputation in *Sepia officinalis* (Cephalopoda: Sepioidea). *Journal of Invertebrate Pathology*, 52:380–388, 1988.
- FORD, L.A. Host defense mechanisms of cephalopods. *Annual Review of Fish Diseases*, 2: 25–41, 1992.
- FORD, L.A.; ALEXANDER, S.K.; COOPER, K.M.; HANLON, R.T. Bacterial populations of normal and ulcerated mantle tissue of the squid, *Lolliguncula brevis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 48:13–26, 1986.
- FORSYTHE, J.W.; HANLON, R.T. Effect of temperature on laboratory growth, reproduction and life span of *Octopus bimaculatus*. *Marine Biology*, 98:369–379, 1988.



- FROESCH, D.; MARTHY, H. J. The structure and function of the oviducal gland in octopods (Cephalopoda). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 188: 95-101, 1975.
- GARCÍA-GARCÍA, B.; AGUADO GIMÉNEZ, F. Influence of diet on ongrowing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture*, 211:171-182, 2002.
- GARCÍA-GARCÍA, B.; VALVERDE, J.C. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common *Octopus* (*Octopus vulgaris*) ongrowing. *Aquaculture*, 253:502-511, 2006.
- GASALLA, M.A.; PÓSTUMA, F. A.; TOMÁS, A.R.G. Captura de lulas (Mollusca: Cephalopoda) pela pesca industrial desembarcada em Santos: Comparação após 4 décadas. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 9(2):5-8, 2005.
- GESTAL, C.; ABOLLO, E.; PASCUAL, S. Observations on associated histopathology with *Aggregata octopiana* infection (Protista: Apicomplexa) in *Octopus vulgaris*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 50:45-49, 2002a.
- GESTAL, C.; PÁEZ DE LA CADENA, M; PASCUAL, S. Malabsorption syndrome observed in the common octopus *Octopus vulgaris* infected with *Aggregata octopiana* (Protista: Apicomplexa). *Diseases of Aquatic Organisms*, 51:61-65, 2002b.
- GLEADALL, I. G. The effects of prospective anaesthetic substances on cephalopods: Summary of original data and a brief review of studies over the last two decades. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 447:23-30, 2013a.
- GLEADALL, I.G. Low dosage of magnesium sulphate as a long-term sedative during transport of firefly squid, *Watasenia scintillans*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 447:138-139, 2013b.
- GONZÁLEZ, A.F.; PASCUAL, S.; GESTAL, C.; ABOLLO, E.; GUERRA, A. What makes a cephalopod a suitable host for parasite? The case of Galician waters. *Fisheries Research*, 60:177-183, 2003.
- GORE, S.R.; HARMS, C.A.; KUKANICH, B.; FORSYTHE, J.; LEWBART, G.A.; PAPICH, M.G. Enrofloxacin pharmacokinetics in the European cuttlefish, *Sepia officinalis*, after a single injection and bath administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 28:433-439, 2005.
- GUERRA, A. Mollusca, Cephalopoda. In: RAMOS, M. A.; ALBA, J.; BELLÉS, X.; GONSÁLBEZ, J.; GUERRA, A.; MACPHERSON, E; MARTÍN, F.; SERRANO, J.; TEMPLADO, J.(Ed.). *Fauna Ibérica*, vol. 1. Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid. p. 327, 1992.
- HAIMOVICI, M.; LEITE, T. S.; MARINHO, R. A.; BATISTA, B.; MADRID, R. M.; OLIVEIRA, J.E.L; DE LIMA, F.D.; CANDICE, L.L. As pescarias de polvos do nordeste do Brasil. In: HAIMOVICI, M.; FILHO, J.M.A; SUNYE, P.S. (Ed.). *A pesca marinha e estuarina no Brasil: estudos de caso multidisciplinares*. Rio Grande: Editora da Furg, p. 147-160, 2014.
- HANLON, R.T.; FORSYTHE, J.W. Advances in the laboratory culture of Octopuses for biomedical research. *Laboratory Animal Science*, 35(1):33-40, 1985.

- HANLON, R.T.; FORSYTHE, J.W. Diseases of Mollusca: Cephalopoda. Diseases caused by microorganisms. In: KINNE, O. (Ed.). Diseases of marine animals. Introduction, Cephalopoda, Annelida, Crustacea, Chaetognatha, Echinodermata, Urochordata, III. Hamburg: Biologische Anstalt, Helgoland, p. 23-46, 1990a.
- HANLON, R.T.; FORSYTHE, J.W. Diseases of Mollusca: Cephalopoda. Structural abnormalities and neoplasia. In: KINNE, O. (Ed.). Diseases of marine animals. Introduction, Cephalopoda, Annelida, Crustacea, Chaetognatha, Echinodermata, Urochordata, III. Hamburg: Biologische Anstalt, Helgoland, p. 203-228, 1990b
- HARMS, C.A.; LEWBART, G.A.; MCALARNEY, R.; CHRISTIAN, L.S.; GEISSLER, K.; LEMOS, C. Surgical excision of mycotic (*Cladosporium* sp.) granulomas from the mantle of a cuttlefish (*Sepia officinalis*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 37:524-530, 2006.
- HOCHBERG, F. G. Diseases of Mollusca: Cephalopoda. In: KINNE, O. Diseases of Marine Animals, Vol. III. Cephalopoda to Urochordata. Hamburg: Biologisches Anstalt Helgoland, p. 47-227, 1990.
- IGLESIAS, J.; SÁNCHEZ, F.J.; OTERO, J.J.; MOXICA, C. Culture of octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier): present knowledge, problems and perspectives. Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish species diversification. Caution Options Mediterranean, 47:313-322, 2000.
- JEREB, P.; ROPER, C.F.E.; NORMAN, M.D.; FINN J.K (Ed.) Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. Volume 3. Octopods and Vampire Squids. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes. No. 4, Vol. 3. Rome: FAO, 2010.
- LACOU-LABARTHE, T.; BUSTAMANTE, P.; HÖRLIN, E.; LUNA-ACOSTA, A.; BADO-NILLES, A.; THOMAS-GUYON, H. Phenoloxidase activation in the embryo of the common cuttlefish *Sepia officinalis* and responses to the Ag and Cu exposure. Fish & Shellfish Immunology, 27:516-521, 2009.
- LE PABIC, C.; SAFI, G.; SERPENTINE, A.; LEBEL, J.; ROBIN, J.; KOUETA, N. Prophenoloxidase system, lysozyme and protease inhibitor distribution in the common cuttlefish *Sepia officinalis*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, 172(17):96-104, 2014.
- LEE, P.G. Nutrition of cephalopods: fuelling the system. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 25(1/3):35-51, 1994.
- LEE, P.G.; TURK, P. E.; FORSYTHE, J. W.; DIMARCO, F. P. Cephalopod Culture: Physiological, Behavioral and Environmental requirements. Suisan Zoshoku, 46(3):417-422, 1998.
- LEITE, T.S.; HAIMOVICI, M.; MOLINA, W.; WARNKE, K. Morphological and genetic description of *Octopus insularis*, a new cryptic species in the *Octopus vulgaris* Complex (Cephalopoda: Octopodidae) from the tropical Southwestern Atlantic. Journal of Molluscan Studies, 74:63-74, 2008.
- LOCATELLO, L.; FIORITO, G.; FINOS, L.; RASOTTO, M.B. Behavioural and immunological responses to an immune challenge in *Octopus vulgaris*. Physiology & Behavior, 122:93-99, 2013.

- MALHAM, S.K.; LACOSTE, A.; GÉLÉBART, F.; CUEFF, A.; POULET, S. A first insight into stress-induced neuroendocrine and immune changes in the octopus *Eledone cirrhosa*. *Aquatic Living Resources*, 15:187-192, 2002.
- MALHAM, S.K.; RUNHAM, N.W.; SECOMBES, C.J. Phagocytosis by haemocytes from the lesser octopus *Eledone cirrhosa*. *Iberus*, 15:1-11, 1997.
- MALHAM, S.K.; COULSON, C. L.; RUNHAM, N.W. Effects of repeated sampling on the haemocytes and haemolymph of *Eledone cirrhosa* (Lam.). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 121:431-440, 1998a.
- MALHAM, S.K.; RUNHAM, N.W.; SECOMBES, C.J. Lysozyme and antiprotease activity in the lesser octopus, *Eledone cirrhosa* (Lam.) (Cephalopoda). *Developmental & Comparative Immunology*, 22:27-37, 1998 b.
- MANGOLD, K. M. *Octopus vulgaris*. In: BOYLE, P. R. *Cephalopod Life Cycle*, vol. 1. London: Academic Press, p. 335-364, 1983.
- MANGOLD, K. *Octopus vulgaris*: review of the biology. In: LANG M. A.; HOCHBERG, F. G. (ed.). *The fishery and market potential of Octopus in California*. Smithsonian Institution. Washington, D.C, 1997.
- MAZÓN, M. J.; PIEDECAUSA, M.A.; HERNANDEZ, M.D.; GARCIA-GARCIA, B. Evaluation of environmental nitrogen and phosphorus contributions as a result of intensive ongrowing of common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture*, 266(1/4): 226-235, 2007.
- MESSENGER, J.B. The visual attack of the cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Animal Behaviour*, 16:342-357, 1968.
- MESSENGER, J.B.; NIXON, M.; RYAN, K.P. Magnesium chloride as an anesthetic for cephalopods. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Comparative Pharmacology*, 82:203-205, 1985.
- MLADINEO, I.; BOČINA, I. Extraintestinal gamogony of *Aggregata octopiana* in the reared common octopus (*Octopus vulgaris*) (Cephalopoda: Octopodidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 96:261-264, 2007.
- MOLTSCHANIWSKYJ, N.A.; HALL, K.; LIPINSKI, M.R.; MARIAN, J.E.A.R.; NISHIGUCHI, M.; SAKAI, M.; SHULMAN, D.J.; SINCLAIR, B.; SINN, D.L.; STAUDINGER, M.; VAN GELDEREN, R.; VILLANUEVA, R.; WARNKE, K. Ethical and welfare considerations when using cephalopods as experimental animals. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 17:455–476, 2007.
- MOONEY, T.A.; LEE, W.J.; HANLON, R.T. Long-duration anesthetization of squid (*Doryteuthis pealeii*). *Marine Freshwater Behaviors Physiology*, 43:297-303, 2010.
- MOORE, J.W.; ULBRICHT, W.; TAKATA, M. Effect of ethanol on the sodium and potassium conductances of the squid axon membrane. *The Journal of General Physiology*, 48:279-295, 1964.
- NARAOKA, T.; UCHISAWA, H.; MORI, H.; MATSUE, H.; CHIBA, S.; KIMURA, A. Purification, characterization and molecular cloning of tyrosinase from the cephalopod mollusk, *Illex argentinus*. *European Journal of Biochemistry*, 270:4026-4038, 2003.

- NOVOA, B.; TAFALLA, C.; GUERRA, A.; FIGUERAS, A. Cellular immunological parameters of the octopus, *Octopus vulgaris*. Journal of Shellfish Research, 21:243-248, 2002.
- O'DOR, R.K.; WELLS, M.J. Energy and nutrient flow. In: BOYLE, P.R. (Ed.). Cephalopod life cycles. London: Academic Press, v. 2, p. 109-133, 1987.
- OVERSTREET, R.M.; HOCHBERG, F.G. Digenetic trematodes in cephalopods. Journal of Marine Biology Association, 55:893-910, 1975.
- PASCUAL, S.; GESTAL, C.; ESTÈVEZ, J.M.; RODRÍGUEZ, H.; SOTO, M.; ABOLLO, E.; ARIAS, C. Parasites in commercially-exploited cephalopods (Mollusca: Cephalopoda) in Spain: an updated perspective. Aquaculture, 142:1-10, 1996.
- PASCUAL, S.; GONZÁLEZ, A. GUERRA, A. Coccidiosis during octopus senescence: Preparing for parasite outbreak. Fisheries Research, 106:160-162, 2010.
- REIMSCHUESSEL, R.; STOSKOPF, M.K.; BENNETT, R.O. Myocarditis in the common cuttlefish (*Sepia officinalis*). Journal of Comparative Pathology, 102: 291-297, 1990.
- ROCHA, F. Biología, ecología, cultivo y pesquerías de cefalópodos. Vigo, España: Instituto de Investigaciones Marinas (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), 2003.
- RODRÍGUEZ, C.; CARRASCO, J.F.; ARRONTE, J. C.; RODRÍGUEZ, M. Common octopus (*Octopus vulgaris*Cuvier, 1797) juvenile ongrowing in floating cages. Aquaculture, 154(1-4): 293-300, 2006.
- RODRÍGUEZ-CANUL, R.; PÉREZ-CAMPOS, R.A.; PÉREZ-VEGA, J.A.; PASCUAL, C.; GUILLEN HERNÁNDEZ, S.; ARJONA-BURGOS, I. J. The red octopus, *Octopus maya*, as putative paratenic host for WSSV: evaluation in experimental and natural conditions. Cephalopod International Advisory Council Symposium. Santa Catarina, Brazil, 2012.
- RODRÍGUEZ-DOMÍNGUEZ, H.; SOTO-BÚA, M.; IGLESIAS-BLANCO, R.; CRESPO-GONZÁLEZ, C.; ARIAS-FERNÁNDEZ, C.; GARCÍA-ESTÉVEZ, J. Preliminary study on the phagocytic ability of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 (Mollusca: Cephalopoda) haemocytes in vitro. Aquaculture, 254:563-570, 2006.
- RÖGENER, W.; RENWRANTZ, L.; UNLENBRUCK, G. Isolation and characterization of a lectin from the hemolymph of the cephalopod *Octopus vulagris* (Lam.) inhibited by a-d-lactose and N-acetyl-lactosamine. Developmental and Comparative Immunology, 9:605-616, 1985.
- SANGSTER, C.R.; SMOLOWITZ, R.M. Description of *Vibrio alginolyticus* infection in cultured *Sepia officinalis*, *Sepia apama*, and *Sepia pharaonis*. Biological Bulletin, 205(2): 233-234, 2003.
- SARDELLA, N. H.; RE, M.E.; TIMI, J.T. Two new *Aggregata* species (Apicomplexa: Aggregatidae) infecting *Octopus tehuelchus* and *Enteroctopus megalocyathus* (Mollusca: Octopodidae) in Patagonia, Argentina. Journal of Parasitology, 86:1107-1113, 2000.
- SCIMECA, J.M. Cephalopods. In: Lewbart. G.A. (Ed.). Invertebrate Medicine, Second Edition, Oxford, UK: Wiley-Blackwell, p. 113–125, 2011.

SWEENEY, M.J.; ROPER, C.F.E.; MANGOLD, K.M.; CLARKE, M.R.; BOLETZKY, S. V. "Larval" and juvenile cephalopods: a manual for their identification. Washington, D.C: Smithsonian Institution Press, p. 282, 1992.

TEIXEIRA, P.B.; BRANDÃO, A.G.; FERREIRA, J.F.; MELO, C.M.R. Engorda do polvo *Octopus vulgaris* em gaiolas flutuantes de pequeno porte. Revista Agropecuária Catarinense, 27(1):51-53, 2014.

VARGAS-ALBORES, F.; BARRACCO, M. Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica. Ciencia y Acuicultura, p. 147-146, 2001.

VAZ-PIRES, P.; SEIXAS, P.; BARBOSA, A. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. Aquaculture, 238: 221-238, 2004.

VIDAL, E.A.G.; VILLANUEVA, R.; ANDRADE, J.P.; GLEADALL, I.G.; IGLESIAS, J.; KOUETA, N.; ROSAS, C.; SEGAWA, S.; GRASSE, B.; FRANCO-SANTOS, R. M.; ALBERTIN, C.B.; CAAMAL-MONSREAL, C.; CHIMAL, M.E.; EDSINGER-GONZALES, E.; GALLARDO, P.; LE PABIC, C.; PASCUAL, C.; ROUMBEDAKIS, K.; WOOD, J. Cephalopod culture: current status of main biological models and research priorities. In: VIDAL, E. A. G. (Ed). Advances in Marine Biology. Advances in Cephalopod Science: Biology, Ecology, Cultivation and Fisheries. Amsterdam: Elsevier, v. 67, p. 1-98, 2014.

VILLANUEVA, R.; SYKES, A V.; VIDAL, E.A.G.; ROSAS, C.; NABHITABHATA, J.; FUENTES, L.; IGLESIAS, J. Current Status and Future Challenges in Cephalopod Culture. In: IGLESIAS, J.; FUENTES, L.; VILLANUEVA, R. (Ed.) Cephalopod Culture. Springer, p. 479-490, 2014.

WELLS, M. J. Octopus: physiology and behaviour of an advanced invertebrate. London: Chapman and Hall, 1978.

WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. Zoo Animal & Wildlife: Immobilization and Anesthesia. p. 718, 2007.



# CAPÍTULO 18

## SANIDADE DE MOLUSCOS BIVALVES EM RELAÇÃO AS BIOTOXINAS MARINHAS

Edison Barbieri<sup>1</sup>

### INTRODUÇÃO

As biotoxinas marinhas são causadoras de intoxicação associada ao consumo de frutos do mar, principalmente moluscos e crustáceos. Em 1927, na Califórnia, foram registradas pela primeira vez algumas intoxicações no homem provocadas pelo consumo de mexilhões. Nessa época, Sommer et al. relacionaram a intoxicação e morte de consumidores de mexilhão na Califórnia (EUA), com a presença na água do mar, de uma microalga chamada *Alexandrium catenella* (Schantz, 1984). Posteriormente, observou-se que quando apareciam afloramentos de dinoflagelados ao redor dos mexilhões, também ocorriam sintomas de enjojo e inclusive mortes de pessoas que os haviam ingerido. Na época houve a suspeita e logo a comprovação, de que os dinoflagelados, alimento dos mexilhões, eram os responsáveis pelas intoxicações.

A partir de 1976 ocorrem os primeiros casos comprovados (N = 63) de intoxicações no homem relacionadas com o consumo de “mexilhões tóxicos” procedentes da Galícia, cujas toxinas eram do grupo PSP. Entre 1978 e 1982, na Europa, houve vários registros de intoxicação relacionados com o consumo de moluscos bivalves. O fato mais importante ocorreu em 1981, afetando quase 5.000 pessoas. Entretanto, nesses registros não foi possível identificar, uma toxina do grupo DSP nos mexilhões consumidos, pois não foram feitas análises com cromatografia líquida; porém, descartaram-se causas de origem bacteriana.

---

Barbieri. Sanidade de moluscos bivalves em relação as biotoxinas marinhas. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

Desde essa data não há registro de nenhum outro caso até 1986, quando foram diagnosticados sintomas em 17 pessoas que haviam consumido mexilhões cozidos na rocha. Posteriormente, ocorreram sucessivos novos episódios mais ou menos graves quase todos os anos. Em 1993 e 1994, ocorreram nove casos, atingindo um total de 27 pessoas, e provocando a morte de uma delas. Já 1995, outros três casos afetaram 61 pessoas. Os moluscos bivalves responsáveis foram, outra vez, mexilhões cozidos na rocha. Em todos esses casos, à exceção do ocorrido em 1976, a toxina causadora da intoxicação era do grupo DSP.

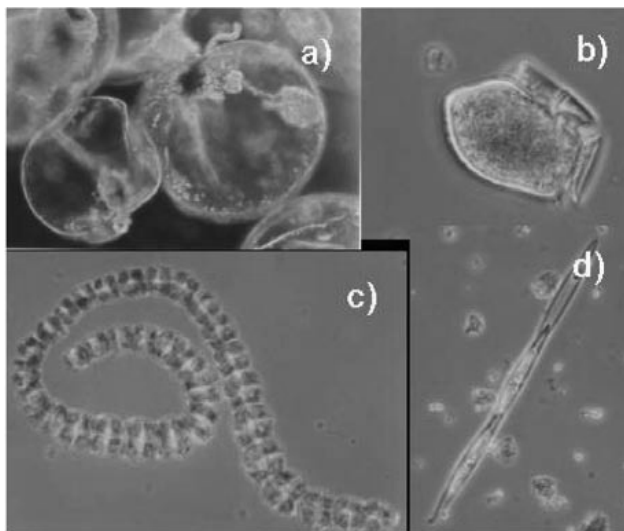
No Brasil, não há dados disponíveis sobre a ocorrência e gravidade dessas intoxicações, o que dificulta a identificação dessas enfermidades e sua associação com a ingestão de frutos do mar. Nos Estados Unidos, são registrados cerca de 30 casos por ano de intoxicação por toxinas marinhas, sendo mais comuns nos meses de verão, quando o crescimento de dinoflagelados é maior. Dentre todas as toxinas, as do grupo PSP são as mais perigosas, pois podem levar o paciente a óbito. Estima-se, a partir dos dados disponíveis, um óbito a cada quatro anos dentre todos os casos.

## **BIOINTOXICAÇÃO**

A proliferação de certas algas microscópicas (microalgas), marinhas ou de água doce, pode causar diversos problemas para o homem e para o ecossistema como um todo. Quando a proliferação dessas algas é grande, o fenômeno é designado por “Harmful Algal Blooms”, ou HABs (‘proliferações de algas nocivas’).

A proliferação massiva de microalgas pode ter aparentemente poucos efeitos no ecossistema ou afetar fortemente diversos organismos aquáticos por mecanismos diversos como: anóxia, produção de toxinas (ictiotoxinas), efeito mecânico da estrutura anatômica da sua parede celular nos tecidos delicados das brânquias (Vale, 2004). As HABs (Figura 1) têm um forte impacto negativo na pesca, especialmente quando causam grande mortalidade de espécies cultivadas em gaiolas, como o salmão, que não podem escapar do local onde ocorre o fenômeno (Landsberg, 2002).





**Figura 1.** Microalgas causadoras de HABs: a) *Noctiluca scintillans*, causadora de maré vermelha; b) *Dinophysis acuta*, produtora de DTXs e PTXs; c) *Gymnodinium catenatum*, produtora de PSP; d) *Pseudonitzschia* spp., produtora de ASP. As fotos não estão todas na mesma escala, mas as dimensões de cada célula estão entre 0,005-0,100 mm (fotos: M.A. Sampayo). Fonte: Vale, 2004.

A contaminação esporádica de animais filtradores, como os moluscos bivalves por biotoxinas pode causar intoxicações agudas nos seres humanos, embora não afetando, aparentemente, o animal contaminado. Neste caso particular, a proliferações das algas pode ser tão pequena que não chegam a alterar a cor da água. O fenômeno da floração é devido essencialmente a microalgas do grupo dos dinoflagelados (Vale, 2004), que em sua maioria, são planctônicas (livre-nadadoras na água) e cujas toxinas atingem os homens diretamente através de moluscos bivalves.

Chamamos de biointoxicação por moluscos bivalves (MB) aos processos patológicos produzidos pela ingestão desses animais contendo em seus tecidos toxinas, sintetizadas por microalgas planctônicas. Estes processos são diferentes das intoxicações provocadas pelo consumo de MB contaminados com bactérias ou parasitos, por radiatividade ou compostos químicos, ou ainda pela hipersensibilidade do consumidor.

As toxinas encontradas até o momento na região costeira do Brasil incluem microcistinas, ácido ocadáico, palitoxina, saxitoxinas e congêneres (NeoSTX, GTX1-4, C1, C2) e ácido domoico, provenientes de várias microalgas, como *Microcystis aeruginosa*, *Dynophysis acuminata*, *Ostreopsis ovata*, *Alexandrium tamarense*, *Gymnodinium catenatum* e *Pseudonitzschia* spp. (Proença & Mafra, 2005).

As biotoxinas causadoras das intoxicações são substâncias sintetizadas pelo fitoplâncton, pelo fitobentos ou em macroalgas. Uma vez sintetizadas, são ingeridas pelos consumidores de do plâncton ou bentos, entre eles os MB. Estes, no seu processo de filtração-alimentação, absorvem as biotoxinas suspensas junto a outras partículas orgânicas e inorgânicas no meio marinho, as quais são acumuladas nos tecidos, na glândula digestiva ou no hepatopâncreas. Essa capacidade de acumular as biotoxinas é o que dá aos moluscos bivalves relevância especial como causa de intoxicação dos seres humanos que os consomem.

Segundo Anderson (1998), vêm-se observando aumentos constantes: do número de espécies fitoplanctônicas produtoras de toxinas, do número de toxinas produzidas por algumas destas espécies, da ocorrência mundial de florações de algas tóxicas e dos impactos desses aumentos nos ecossistemas e na pesca, justamente quando a dependência do homem sobre os sistemas costeiros; para alimentação; recreação e comércio, encontra-se em expansão.

A quantidade de biotoxinas no plâncton varia com o período do ano e alcança nível de toxicidade só nos períodos de proliferação intensa e rápida das microalgas que as sintetizam. Esta proliferação ocorre quando as condições ambientais da água do mar são propícias, neste caso a concentração de dinoflagelados pode ser vista a olho nu. Quando isso acontece, o fenômeno é chamado “maré vermelha”.

Portanto, a ocorrência de marés vermelhas afeta diretamente os bancos naturais de moluscos e também as criações artificiais, principalmente porque se alimentam principalmente das partículas que se encontram em seu entorno, em maior concentração no caso,

às oriundas de espécies de dinoflagelados, algumas delas, tóxicas (Alonso, 1989). Por esse motivo, pode-se considerar os MB como bioacumuladores de biotoxinas e, portanto, bioindicadores da presença dessas. Ainda não se sabe o porquê dessa seletiva acumulação. Entretanto, nem todos os dinoflagelados produtores de maré vermelha são tóxicos para o homem: só o são aqueles que sintetizam toxinas e são acumulados pelos MB e consumidos.

Assim, os MB contaminam-se com as biotoxinas marinhas por via digestiva, e o grau de contaminação depende de sua capacidade filtradora, e esta, por sua vez, do estado fisiológico em que se encontra; por esse motivo, os mexilhões e ostras são sempre os animais mais afetados, por terem maior capacidade filtradora que outros moluscos.

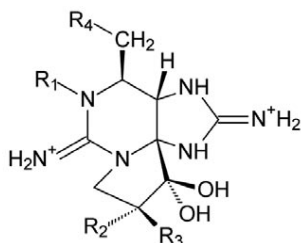
A acumulação de altas quantidades de biotoxinas nos MB não afeta seu estado fisiológico. Tampouco conhece se a toxina originada no dinoflagelado sofre alguma transformação no interior dos MB ou se algo semelhante ocorre ao ser ingerida pelo homem. Ocorram ou não estas transformações, desde que se origina no dinoflagelado até que se manifeste sua presença no ser humano intoxicado, ocasionam graves patologias. Essas intoxicações alimentares são importantes por duas razões: do ponto de vista sanitário, porque podem levar a morte; do ponto de vista social, pela quantidade de prejuízos econômicos que provocam nas empresas do setor e, por conseguinte, para as populações que vivem desse recurso.

Atualmente, pode-se distinguir cinco tipos de biointoxinas encontradas em MB, que estão relacionadas com outros tantos grupos de toxinas. Quatro deles, as biointoxinas PSP (paralisante), NSP (neurotóxica), DSP (diarreizante) e VSP (venerupino), são sintetizadas por dinoflagelados pertencentes aos gêneros *Gonyaulax*, *Gimnodinium* e *Pyrodinium*. Exceção é a biointoxina ASP (amnésica), que são produzidas por diatomácea.

## BIOINTOXICAÇÃO POR TOXINA PARALÍSANTE DE FRUTOS DO MAR (PSP - PARALYTIC SHELLFISH POISONING) OU PSP-SAXITOXINA

Do grupo das biotoxinas IPIA (toxinas responsáveis por paralisia) a PSP (do inglês, *paralytic shellfish poison*, veneno paralisante de moluscos) é chamada de “paralisante” pelos efeitos que produz. Também, é chamada de neurotoxina, mitilotoxina ou saxitoxina. A saxitoxina foi a primeira biotoxina descoberta e estudada, por isso, a melhor conhecida e tipificada deste grupo. Na atualidade, se conhecem cerca de 20 variedades de biotoxinas paralisantes, e todas elas têm propriedades químicas semelhantes às da saxitoxina (STX).

O princípio ativo que foi estudado e tipificado até o momento é saxitoxina (STX) (Figura 2), mas já foram descobertas outras desse grupo, como a neosaxitoxina (neo-STX) e as gonyautoxinas (GTX). Parece que ambas transformam em saxitoxina no interior do MB graças à ação de bactérias e vibrios, sendo maior a velocidade de conversão em condições aeróbias. Todas as biotoxinas desse grupo são paralisantes. Em geral são hidrossolúveis, termoestáveis no meio ácido, porém extremamente instáveis e facilmente oxidadas em meio alcalino ou em meio ácido fraco (a partir de pH 4,5).



**Figura 2.** Estrutura química das toxinas PSP. R<sub>1</sub> = H ou OH; R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> = H ou OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>; R<sub>4</sub> = NH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub> - nas toxinas carbamato, SO<sub>3</sub>NHCO<sub>2</sub> nas toxinas N sulfocarbamoyl, OH- nas toxinas decarbamoyl, H- nas toxinas deoxydecarbamoyl. Há pelo menos 21 toxinas caracterizadas estruturalmente.

### ***Organismos Produtores***

As saxitoxinas PSP são produzidas por certos gêneros de dinoflagelados, tais como *Gonyaulax*, *Gimnodinium* e *Pyrodinium poliedra*. Algumas espécies de *Gonyaulax* são: *G. tamarensis* e *G. catenella*. Em águas brasileiras, as espécies que produzem a PSP são *Alexandrium catenella* e *Gonyaulax catenatum*. Desde 1992, todos os anos são observadas florações de *A. catenella* e detectada toxicidade em mariscos (FAO, 2005). Em 1998, foi constatada a presença de *Gonyaulax catenatum* na costa do estado de Santa Catarina (Ferrari, 2001).

Os vetores mais importantes são os MB: mitílideos (mexilhões) e ostreídeos (ostras). Em determinadas condições, os mexilhões e as ostras podem causar intoxicações graves. Qualquer umas das 28 variedades que se empregam na alimentação pode ocasionar intoxicação, mesmo que até o momento os mexilhões procedentes do Mar Vermelho e do Mediterrâneo não tenham produzido intoxicação conhecida. Os mexilhões e as ostras filtram diariamente de 19-40 L de água/dia e os microrganismos são acumulados em suas glândulas digestivas. Mesmo que a concentração destes microrganismos na água não seja muito elevada, o risco de toxicidade existe pela capacidade de acumulação pelo molusco. A liberação da toxina acumulada se produz de forma mais ou menos lenta dependendo da espécie. A temperatura (ótima entre 5 e 10 °C), o grau de salinidade, a intensidade de luz e o teor de nutrientes são fatores que influem na presença de micro-organismos na água.

### ***Mecanismo de ação tóxica***

Quase a totalidade dos efeitos da STX provocam no homem deve-se à inibição difusa do impulso nos nervos periféricos e no músculo esquelético. Essa inibição se produz por bloqueio seletivo do influxo de sódio pela membrana celular, impedindo a propagação do impulso nervoso (Baden et al., 1995a). A paralisia da musculatura torácica é a causa direta de morte por asfixia. São

necessários teores de 1 a 4 mg de PSP para causar morte (Schantz, 1984).

### *Clínica*

A severidade da intoxicação por PSP é muito variável, dependendo do grau de intoxicação, sendo determinada pelo tipo de toxina, pela quantidade ingerida e pela taxa com que o intoxicado é capaz de eliminá-la. Os primeiros sintomas podem aparecer ao redor de 30 minutos após o consumo dos MB, porém podem surgir horas depois. Origina um quadro fundamentalmente nervoso, neurotóxico, mais ou menos grave nos níveis central e periférico.

Dependendo do quadro, a sintomatologia pode ser:

- **Benigna:** O mais frequente é que os primeiros sintomas sejam formigamento/dormência (inchaço, coceiras ou ardor) na boca, lábios e ao redor da língua e rosto. Estes sintomas estão presentes na totalidade dos casos; parestesias nos extremos dos dedos e orelhas, cefaléia e tonturas, náuseas e vômitos também podem ocorrer (Mons et al., 1998). Sintomas gastrointestinais são raros.
- **Moderada:** Ao aumentar a intoxicação, o formigamento/dormência progride nos braços e pernas, e o paciente apresenta debilidade muscular, com rigidez na musculatura e certa incoerência na fala. São comuns as manifestações do cerebelo, do tipo ataxia, falta de coordenação motora e/ou demitria e hipertensão (Gessner et al., 1997).
- **Severa:** Nas formas mais severas de intoxicação ocorrem paralisias musculares intensas e difusas, com dificuldade respiratória importante, sensação de falta de ar e risco de morte iminente, acompanhadas desde o começo de acidez láctica (Aune, 2001). São raras as vezes em que a consciência é comprometida. Quando ocorre, a morte é causada por insuficiência respiratória. Nesses casos, a evolução é muito rápida, ocorrendo morte entre 2 e 24 horas (em média 8 horas) após a ingestão (Mons et al., 1998). O prognóstico é

favorável quando o paciente sobrevive às primeiras 24 horas (Aune, 2001).

### ***Tratamento***

De acordo com AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA, 1985), atualmente não existe tratamento específico nem antídoto eficaz para os casos de intoxicação por biotoxinas. Por isso, o tratamento, que inclui lavagem gástrica para eliminar os restos de MB, é sintomático e sempre de acordo com a fase e gravidade do caso. Assim, o tratamento de suporte é fundamental ao paciente para manter suas funções vitais e para controle das complicações do quadro.

Quanto mais cedo tratar é melhor, pois iniciando-se o tratamento nas primeiras horas da ingestão a toxina não será totalmente absorvida pela mucosa gástrica, provocando-se o vômito ou realizando lavagem estomacal. Pode-se administrar diuréticos e bebidas alcalinas ricas em íons de sódio e potássio, uma vez que a principal via de eliminação é a renal. No caso de deficiência respiratória, deve-se recorrer à respiração assistida e, nos casos extremos, à traqueostomia (CDC, 2003). Uma nova terapia em nível hospitalar é a hemoperfusão por carvão, que consiste em passar o sangue do paciente através de um filtro que retém a toxina (APHA, 1995).

Os diagnósticos diferenciais, que há anos quase não era necessário considerar, hoje são muito importantes, em razão da intoxicação por anticolinesterásicos e pelo consumo de diversas espécies de peixe-lua que contêm também a tetradotoxina. A distinção entre a intoxicação por anticolinesterásicos e tetradotoxina pode ser difícil, exceto nos casos em que são evidentes os efeitos da estimulação colinérgica, como o aumento da quantidade de saliva, lágrimas e secreção bronquial, ou a miosis. Nenhum desses sinais é apresentado na intoxicação por PSP.

Na intoxicação devida á ingestão de diversas espécies de peixe-lua, baiacu, que contêm tetradotoxina, o começo é agudo, a evolução e a preponderância das manifestações neurológicas são

quase idênticas à da intoxicação por PSP. A diferença se estabelecerá pelos antecedentes de consumo de pescado ou pela presença da hipotensão arterial moderada ou severa, ausente na intoxicação por PSP (FDA/CFSAN, 2003).

### *Dose tóxica*

Não existe dado concreto sobre a dose tóxica. Não obstante, estima-se como dose mortal para um ser humano a compreendida entre 1.000 e 12.400 µg (a partir de 5.000 µg segundo outros autores), ou ainda entre 40.000 e 60.000 unidades-rato. Atualmente, admite-se como limite máximo permitido 80 µg/100 g de produto (carne de molusco).

A unidade-rato (UR) é a dose mínima que se necessita para matar um rato num período de tempo estabelecido. Calcula-se injetando 1 ml de extrato tóxico por via intraperitoneal. A toxicidade de uma amostra se expressa em unidades rato/g de hepatopâncreas.

Os efeitos negativos que estas biotoxinas ocasionam são sanitários, econômicos e sociais (como os causados pelas toxinas do grupo DSP), com a diferença de que os efeitos sanitários vão ser mais importantes pela gravidade do quadro clínico apresentado pelos pacientes. Entretanto, os efeitos econômicos e sociais vão ser menores já que, ao menos até a presente data, o número e duração destes são muito menores e reduzidos também nas zonas afetadas.

## **BIOINTOXICAÇÃO POR DSP - TOXINA DIARREICA DE FRUTOS DO MAR (DSP - DIARRHEIC SHELLFISH POISONING)**

Certas espécies de dinoflagelados, principalmente os do gênero *Dinophysis*, produzem uma série de biotoxinas conhecidas como IDIA (toxinas responsáveis por intoxicação causadora de diarreia) o DSP (*diarrheic shellfish poison*, veneno diarréico de moluscos), ou simplesmente toxinas diarréicas ou enterotoxinas, pelos efeitos no homem. Essas toxinas causam problemas gastrointestinais ao serem ingeridas com os MB que as acumulam.

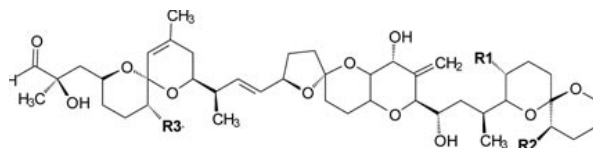


Na Europa, já na década de 1960 se suspeitava de intoxicações provocadas por mexilhões, que não eram atribuídas a contaminação por bactérias (Kat, 1979). Só após um surto de intoxicações no Japão em 1976, foi definitivamente afastada a hipótese bacteriana, chegando-se à conclusão de que se tratava de um composto químico termorresistente de origem marinha. A contaminação foi atribuída à alga *Dinophysis fortii* (Yasumoto et al., 1980), a produtora do poliéter dinofisistoxina-1 ou DTX1 (Murata et al., 1982).

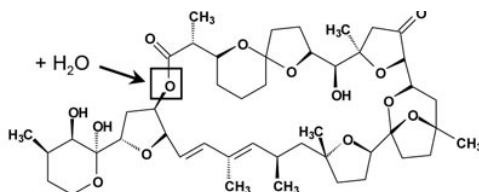
Foram identificados três subgrupos de toxinas:

- **Toxinas diarreicas (dinofisistoxinas).** Seu componente ativo é o ácido okadaíco ou ocadaíco (AO) e seus derivados (Figura 3).
- **Pectenotoxinas (PTX).** Seu componente ativo é um grupo de poliésteres lactônicos. São toxinas principalmente hepatotóxicas (Figura 4).
- **Lesotoxinas (ITX).** São toxinas com grupos sulfato. São quase insolúveis em meio aquoso, porém são muito solúveis em meio orgânico, sobretudo em acetona, solvente usado para sua extração nos MB. Seus efeitos são cardiotoxicos em modelos animais, e sua ação por administração oral é muito fraca (Tubaro et al., 2003).

Sabe-se ainda que nos bivalves qualquer destas toxinas pode existir conjugada com ácidos graxos, formando os ésteres acilo ou DTX3 (Marr et al., 1992). Esses ésteres não existem nas microalgas, mas são metabólitos dos bivalves (Suzuki et al., 1999).



**Figura 3.** Estrutura química do ácido ocadaíco. R1 = CH<sub>3</sub>, R2 = H; DTX1: R1 = R2 = CH<sub>3</sub>; DTX2: R1 = H, R2 = CH<sub>3</sub>; 'DTX3': R3 = acilo. Nas restantes R3 = OH.



**Figura 4.** Estrutura química da Pectenotoxina.

### ***Organismos produtores***

As enterotoxinas são produzidas principalmente por dinoflagelados dos gêneros *Dinophysis* e *Prorocentrum*.

### ***Vetores***

Os vetores mais importantes são os mitilídeos (mexilhões) e pectinídeos (vieira).

### ***Mecanismo de ação tóxica***

As toxinas do subgrupo das dinofisistoxinas atuam no homem estimulando a fosforização das proteínas que controlam a secreção de sódio pelas células intestinais. Experimentalmente foi demonstrado que as toxinas não diarréicas do complexo DSP podem ter efeito tóxico no fígado (PTX) e no coração (YTX). O AO é um inibidor potente de uma classe de enzimas – as fosfatases proteicas do tipo PP2A e PP1 (Bialojan e Takai, 1988) – e leva à acumulação de proteínas hiperfosforiladas na célula, alterando numerosos processos metabólicos. A acumulação, por exemplo, de actina hiperfosforilada leva à desorganização da estrutura celular, causando a perda da forma das células animais em cultura, o que é também uma maneira de diagnosticar a presença desta toxina (Amzil et al., 1992).

A periculosidade das variedades geográficas de *Dinophysis* e *Prorocentrum* é diferente quando se leva em conta a quantidade de toxina produzida e seu poder tóxico. Estas variações correspondem ao estado fisiológico dos dinoflagelados, relacionando sem dúvidas, às condições do ambiente marinho, cujos parâmetros ativos

continuam ainda sem serem determinados. Os MB que mais facilmente se contaminam são os mexilhões.

### *Clínica*

Após 30 minutos e até 12 horas (normalmente 4 horas) da ingestão de MB tóxicos começa um quadro clínico caracterizado por dores gastrintestinais abdominais (53%), destacando-se: diarréias (92%), náuseas (80%) e vômitos (79%) (Vale, 2004). São raros a febre e os calafrios. Os sintomas podem durar até três dias, sendo rara a necessidade de hospitalização do paciente. Os afetados se recuperam em 2-3 dias (Yasumoto et al., 1978).

### *Tratamento*

O tratamento é sintomático: os pacientes devem ser hidratados até desaparecer os sintomas. Algumas toxinas deste grupo apresentam quadros assintomáticos, assim sendo carecem de interesse sanitário.

A toxina pode ser veiculada pelo leite materno, podendo ocasionar desidratação do lactente, por causa das diarréias. Neste caso, deve-se realizar também um diagnóstico diferencial com outros quadros gastroenteríticos febris.

### *Dose tóxica*

Ainda não foi estabelecida a dose mínima efetiva, ou intoxicante. Segundo dados epidemiológicos obtidos com mexilhões contaminados, ao nível de 12 UR (unidades rato) são suficientes para provocar uma forma débil de intoxicação no ser humano. Toxinas desse tipo dão origem a quadros patológicos menos graves, porém são as que provocam os maiores efeitos negativos do tipo comercial.

Esses efeitos vão ser sentidos no âmbito sanitário, por sua freqüência, extensão e permanência nas águas, e, por conseguinte, nos moluscos. No âmbito social, repercutirá numa redução do consumo de moluscos, não só durante o tempo que dura o episódio, mas, durante muito tempo depois de seu desaparecimento. Por

último, a proibição da extração de moluscos de amplas zonas marisqueiras durante longos períodos de tempo, que em muitas ocasiões coincidem precisamente com as épocas de maior consumo, causará prejuízos econômicos muito elevados a produtores, depuradores e indústrias transformadoras.

## BIOINTOXICAÇÃO POR AZP, OU AZASPIRÁCIDO (AZASPIRACID POISONING)

A toxina AZP (Figura 5), “azaspiracid poisoning”, foi registrada pela primeira vez em 1995, na Holanda, devido ao consumo de mexilhões contaminados provenientes da Irlanda (McMahon & Silke, 1996). Na própria Irlanda também já se registraram intoxicações devidas à AZP (McMahon & Silke, 1998). A toxina é um poliéter ácido contendo um anel azaspiro pouco comum, donde deriva o seu nome: azaspirácido-1 ou AZA1 (Satake et al., 1998).

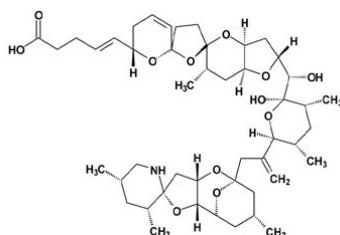


Figura 5. Estrutura química do AZP.

### *Organismos produtores*

A espécie produtora parece ser *Protoperidinium crassipes*, um gênero que até agora nunca tinha sido relacionado à produção de biotoxinas.

### *Mecanismo de ação tóxica*

Não altera o potencial de membrana celular, por isso não é neurotóxico; altera a concentração de F-actina, tendo; portanto, o citoesqueleto como um dos alvos; aumenta o nível de íons de cálcio no citoplasma celular (Román et al., 2002).

### **Clínica**

É uma síndrome exclusivamente gastrointestinal idêntica à DSP: náuseas, vômitos, diarreia abundante e dores abdominais (Vale, 2004).

### **Vetor**

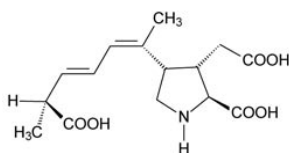
Os principais vetores são os mitilídeos (mexilhões).

### **BIOINTOXICAÇÃO POR ASP - TOXINA AMNÉSICA DE FRUTOS DO MAR (ASP - AMNESIC SHELLFISH POISONING).**

Esta toxina foi detectada pela primeira vez no Canadá, em 1987, quando o consumo de mexilhão contaminado provocou a intoxicação de 153 pessoas, das quais 103 foram hospitalizadas. O fato se repetiu novamente no Canadá em 1988 e na costa oeste dos Estados Unidos em 1992.

### **Toxina**

A principal substância responsável pela intoxicação por ASP (*amnesic shellfish poisoning*, síndrome aminésico por marisco) é o ácido domóico (Figura 6), sintetizado por certas espécies de diatomáceas.



**Figura 6.** Estrutura química da toxina ASP: ácido domóico.

### **Organismo produtor**

O produtor do composto é uma diatomácea marinha: *Pseudo-nitzschia pungens* (Bates et al., 1989).

A toxina está presente em algumas variedades da *Diatomea nitzschia*. Em 1995, na costa espanhola, foram detectadas

diatomáceas produtoras do ácido domóico, mais precisamente a espécie *Nitzschia* spp. (*Nitzschia pungens*, que se acumula em vieiras e mexilhão no Canadá Atlântico durante sua multiplicação).

### ***Vetores***

Os vetores mais importantes são os mexilhões e vieiras.

### ***Mecanismo de ação tóxica***

O ácido domóico atua como antagonista do glutamato, neurotransmissor do sistema nervoso central. O ácido domóico é um aminoácido neuroexcitatório, que potencializa a ação de aminoácidos excitatórios naturais, como o glutamato. Atua nos receptores do glutamato no nível do sistema nervoso central, induzindo despolarização da membrana pós-sináptica (Todd, 1993).

### ***Clínica***

A intoxicação por ASP se manifesta nas primeiras 24 horas que se seguem ao consumo de MB contaminados, geralmente com um quadro gastroenterítico caracterizado por náuseas, vômitos e diarreia. Porém nas primeiras 48 horas podem-se observar sintomas neurológicos, que vão desde cefaléia, confusão e até (nas pessoas mais velhas), perda da memória, particularmente severa em alguns casos. Em pacientes idosos surgiram ainda lesões cerebrais, coma e morte (Vieira, 2004). Observou-se uma associação entre perda de memória e idade: os pacientes com menos de 40 anos tiveram predominantemente diarreia e os doentes acima de 50 anos, perda de memória (Todd, 1993).

### ***Dose tóxica***

As autoridades canadenses analisam o ácido domóico em mexilhões e amêijoas, provenientes de cultivos, constatando em seus tecidos níveis superiores a 20 µg/g.

### ***Tratamento***

Não se conhece ainda nenhum tipo de tratamento.

## BIOINTOXICAÇÃO POR NSP, OU TOXINA NEUROTÓXICA DE FRUTOS DO MAR (NSP - NEUROTOXIC SHELLFISH POISONING)

A NSP, embora conhecida há bastante tempo, parece restringir-se à região do Golfo do México, Caribe e Florida, embora esporadicamente já tenha causado intoxicações na Nova Zelândia (Vale, 2004). A contaminação dos MB é causada pelo dinoflagelado *Ptychodiscus brevis*, produtor de toxinas hemolíticas e neurotóxicas.

São conhecidas conjuntamente como brevetoxinas (Figura 7). As brevetoxinas dividem-se em dois grupos de poliéteres: os análogos da brevetoxina PbTx-1 contêm um esqueleto de 10 anéis fundidos, os análogos da brevetoxina PbTx-2, 11 anéis fundidos (Baden et al., 1995b).

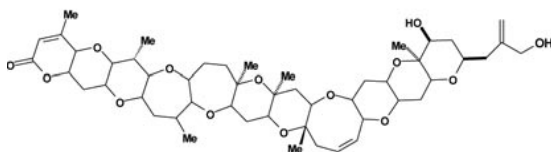


Figura 7. Estrutura química da brevetoxina.

### *Organismos produtores*

São sintetizadas pelo dinoflagelado *Ptychodiscus brevis*.

### *Mecanismo de ação tóxica*

As brevetoxinas atuam por ativação persistente do canal de sódio, originando descargas elétricas contínuas (Baden et al., 1995a).

Quando ocorrem marés vermelhas de *Ptychodiscus brevis*, verificam-se grandes mortalidade de peixes e complicações respiratórias, nas populações humanas costeiras, através da inalação do aerossol marinho, com efeitos irritantes sobre a mucosa.

### *Clínica*

Três horas após o consumo de MB que contenha NSP produz-se um quadro neurológico leve, caracterizado por

parestesias na boca e dedos, ataxia, bradicardia, sensação de calor e frio, midriasis (dilatação das pupilas), e diarreia leve (Pumarola & Piedrola, 1983). Estes sintomas constituem a chamada síndrome de NSP. A recuperação é rápida e, dependendo da dose ingerida, é alcançada em dois dias. Não ocorre paralisia muscular, e não se conhecem casos fatais (Baden et al., 1995a). Poderia ser necessário fazer o diagnóstico diferencial com a intoxicação por ciguatera, devido o consumo do peixe baiacu contaminado por substâncias do grupo da ciguatoxina, sintetizada também por dinoflagelados. O peixe baiacu tem seu hábitat nos mares das regiões tropicais e subtropicais. Até o momento não foi registrado no Brasil, a ocorrência desse dinoflagelado e nem de intoxicação por NSP.

### **BIOINTOXICAÇÃO POR VENERUPINO, OU VSP (VENERUPINE SHELLFISH POISON)**

Constitui um sério problema de saúde pública em certas regiões do Japão.

#### ***Estrutura química do VSP***

A natureza química não é totalmente conhecida.

#### ***Organismos produtores.***

Variedades do dinoflagelado *Prorocentrum minimum*.

#### ***Mecanismo de ação tóxica***

Ocasionam no homem um quadro hemorrágico e hepatotóxico.

#### ***Clínica***

A manifestação da intoxicação se dá após um período de 24-48 horas, com anorexia, halitose, náuseas, vômitos, dores gástricas, constipação e cefaléia. O quadro clínico pode complicar-se, pois o paciente fica inquieto e aumenta a hematemese e o sangramento das mucosas oral e nasal. Nos casos graves podem ocorrer icterícia,



petéquias e enquimoses nos letais, lesão hepática aguda, excitação extrema, delírio e coma (APHA, 1995).

## MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DAS BIOTOXINAS

Os métodos analíticos que se realizam nos MB para detectar e quantificar as toxinas são químicos e biológicos.

### *Métodos químicos*

Só podem ser realizados em centros especializados e em função da biotoxina analisada:

Para toxinas DSP, são os seguintes:

- *Cromatografia líquida de alta resolução*. Baseia-se na reação das toxinas diarréicas com 9-antracildiazometano ou com 1-antracilnitrilo, para obter um derivado fluorescente que se injeta e se separa no cromatógrafo o qual será detectado fluorimetricamente. O maior inconveniente deste método é o de ser dificilmente reproduzível.
- *Cromatografia gasosa*. Baseia-se na formação de derivados sililados, os quais são injetados no cromatógrafo a 315 °C e fluxo de nitrogênio de 30 mL/min. Não pode ser utilizado como método de controle rotineiro, pelo elevado peso molecular das toxinas e a possibilidade de que se formem múltiplos derivados.

Há também um teste de imunoensaio disponível comercialmente para a DSP (limite de detecção para o ácido ocadáico = 1fg/100 g de alimento; 0,01 ppm) (Hallegraef et al., 1995). Os testes de radioimunoensaio (RIA) para o ácido ocadáico foi desenvolvido por Levine et al. (1988)

Para toxinas PSP:

- *Colorimétricos*. Baseados em reações de alfadacetonas com guanidinas e outros compostos com grupos guanidínio, ou

também em reações com compostos nitroaromáticos para formar compostos coloridos.

- *Fluorimétricos*. Baseados no fato de que as toxinas dão substâncias fluorescentes em condições de oxidação.
- *Cromatografia líquida de alta resolução*. Permite separar diferentes toxinas.

Para a toxina ASP:

Os métodos empregados no Canadá baseiam-se em HPLC, metodologia que foi validada por um estudo intercolaborativo (Lawrence *et al.*, 1991) e adotada como método oficial pela AOAC (1995b). Além de metodologias baseadas em HPLC, estão sendo também desenvolvidos e comercializados imunoensaios para esta toxina (Garthwaite, 1998).

### ***Métodos biológicos***

São os mais usados e oficialmente reconhecidos em nível nacional e internacional. Quase a totalidade dos países membros da UE recorrem a este tipo de bioensaio como referência em suas legislações.

Este método se baseia na patologia que a toxina pode causar em um rato com um peso determinado que (pode chegar até provocar-lhe a morte) quando se lhe injeta intraperitonealmente 1 mL do extrato tóxico e no tempo que transcorre desde a injeção até o aparecimento dos sintomas ou o instante em que se produz a morte.

No caso de discrepância de resultados entre ambos os métodos, químico e biológico o de referência deve ser o método biológico.

## **PREVENÇÃO E CONTROLE**

O controle da toxicidade dos MB é feito diretamente na carne do organismo, já que os níveis determinados na água marina não correspondem aos encontrados nos tecidos dos MB. O controle efetivo é realizado, antes que os MB sejam encaminhados para o mercado.

Juntamente com o controle dos MB deve ser realizado o diagnóstico precoce no ser humano e notificado com urgência às autoridades sanitárias. Estas intoxicações são alimentares, por isso, estão sujeitas a notificação obrigatória e urgente. A finalidade deste procedimento é evitar a intoxicação de mais pessoas, retirando do mercado os produtos contaminados pelas biotoxinas.

Entretanto, como medida preventiva é necessário colocar em prática a intensificação do sistema de vigilância que, em princípio de forma rotineira, realize análises das águas marinhas coletadas em pontos pré-determinados e com frequência pré estabelecida para determinar espécies e concentrações celulares potencialmente tóxicas.

Quando os resultados das análises indicam índices perigosos e/ou que as circunstâncias ecológicas sejam favoráveis para a multiplicação de dinoflagelados tóxicos, deve-se entrar em fase de alerta, multiplicando os pontos de amostragem e a frequência das coletas, para evidenciar o possível aumento da intensidade de dinoflagelados por unidade de volume. Este procedimento deve ser completado com o recolhimento de amostras de MB, que serão objeto de exame do conteúdo estomacal, teste de bioensaio, outros. A rapidez na execução deste plano e a agilidade na comunicação dos resultados obtidos garantem a defesa adequada de saúde pública, até que sejam adotadas medidas de controle mais eficazes.

Os MB, por serem produzidos em meio de difícil manejo, como é o mar, estão sujeitos a todos os fatores negativos que podem ocorrer na água em que vivem, sendo suscetíveis de estarem contaminados, por isso, antes de serem consumidos devem ser submetidos a um processo de saneamento ou higienização (depuração) que garanta sua salubridade. A depuração de moluscos tem a vantagem de que, ao não utilizar agentes físicos, químicos nem outro tipo diretamente sobre o produto, não irá alterar suas características organolépticas (sabor, cor, outros) nem suas estruturas químicas, conservando todas as suas propriedades nutritivas. Todas as biotoxinas se acumulam nos tecidos dos animais marinhos por assimilação dos agentes toxicogênicos ingeridos, e são

eliminados lentamente quando seu meio ambiente está livre deles durante um tempo geralmente longo.

Pode-se concluir que o bivalve mantém valores de toxicidade durante meses e, inclusive, não chegam a desaparecer por completo antes de ocorrer o novo episódio tóxico, geralmente no verão e outono (na Europa). Com freqüência, na Europa, tal manifestação tóxica tem lugar durante o outono e podem chegar até inverno sem que a toxina tenha desaparecido totalmente do bivalve.

Este fenômeno de persistência pode ser comprovado em mexilhões escandinavos que adquiriram elevado nível de toxinas DSP durante o outono e que não foram capazes de eliminar estas substâncias antes das gélidas temperaturas das águas nórdicas durante o inverno e primavera seguintes. Outro exemplo dessa persistência é a intoxicação de mexilhões por DSP ocorrida na Noruega em outubro de 1984, quando os bivalves conservaram as biotoxinas até o mês de abril de 1985.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo a Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar, do Centro de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo as medidas de controle podem ser acessadas no site: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Frutos\\_mar.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Frutos_mar.htm). Um resumo delas encontra-se adiante:

- 1) **notificação de surtos** - a ocorrência de surtos (2 ou mais casos) requer a notificação imediata às autoridades de vigilância epidemiológica municipal, regional ou central, para que se desencadeie a investigação das fontes comuns e o controle da transmissão através de medidas preventivas. Um caso, por sua gravidade e associação a alimentos de risco, deve ser notificado e investigado. Orientações poderão ser obtidas junto à Central de Vigilância Epidemiológica - Disque CVE, no telefone é 0800-55-5466.
- 2) **medidas preventivas** - evitar o consumo de frutos do mar de locais onde há concentração ou crescimento excessivo de algas ou da chamada "maré vermelha"; não comer barbatanas ou frutos do mar utilizados como iscas; pessoas imunodeprimidas, em geral, devem

evitar o consumo de frutos do mar; lembrar que as toxinas marinhas não são destruídas pelo calor; as autoridades locais devem monitorar o crescimento de dinoflagelados e evitar ou proibir a pesca nos períodos de risco; a vigilância sanitária deve monitorar as áreas de risco e a vigilância epidemiológica fornece suporte para a investigação de casos e identificação das causas.

3) **medidas em epidemias** – investigação e identificação dos produtos, alertas à população, controle/proibição da coleta e comercialização de bivalves em áreas de risco.

## REFERÊNCIAS

- ANDERSON, D.M. Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions. In Anderson, D.M.; Cembella, A.D.; Hallegraeff, G. M. (eds.). *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*, Springer-Verlag, Berlin, p. 29-48, 1998.
- ALONSO, J.F. Mareas rojas y biotoxinas: química y epidemiología. Santiago: Conselleria de Sanidad de la Xunta de Galicia, 1989.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Control of Communicable Diseases Manual*. Abram S. Benenson, Ed., 16 th Edition, p. 193-194. 1995.
- AMZIL, Z.; POUCHUS, Y.F.; LE BOTERFF, J.; ROUSSAKIS, C.; VERBIST, J.F.; MARCAILLOU-LE BAUT, C.; MASSELIN, P. Short-time cytotoxicity of mussel extracts: a new bioassay for okadaic acid detection. *Toxicon*, 30 (11): 1419-1425, 1992.
- AUNE, T. Risk assessment of toxins associated with DSP, PSP and ASP in seafood. In De Koe, W.J.; Samson, R.A.; Van Egmond, H.P.; Gilbert, J.; M. Sabino (eds). *Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Millennium. Proceedings of the X International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins* (May 2000, Guarujá, Brazil). Wageningen, the Netherlands, Ponsen & Looyen, p. 515-526, 2001.
- BADEN, D.G.; FLEMING, L.E.; BEAN, J. A. Marine toxins. In: *Handbook of clinical neurology*, Vol. 21 – Intoxications of the nervous system, Part III. Editor: F.A. Wolf. Elsevier Science (B.V.), p. 141-174, 1995.
- BADEN, D.G.; MELINEK, R.; SECHET, V.; TRAINER, V.L.; SHULTZ, D.R.; REIN, K.S.; TOMAS, C. R., DELGADO, J.; HALE, L. Modified immunoassays for polyether toxins: implications of biological matrixes, metabolic states, and epitope recognition. *J. AOAC Internat*, 78 (2): 499-508, 1995.
- BATES, S.S.; BIRD, C. J.; DE FREITAS, A.S. W.; FOXALL, R.; GILGAN, M.; HANIC, L.A.; JOHNSON, G.R.; MCCULLOCH, A.W.; ODENSE, P.; POCKLINGTON, R.; QUILLIAM, M.A.; SIM, P.G.; SMITH, J.C.; SUBBA RAO, D.V.; TODD, E.C.D.; WALTER, J. A.; WRIGHT, J.L. C. Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46: 1203-1215, 1989.

BIALOJAN, C.; TAKAI, A. Inhibitory effect of a marine-sponge, okadaic acid, on protein phosphatases. *Biochemical Journal*, 256:283-290, 1988.

Biointoxicación por consumo de moluscos bivalvos: clínica y control. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 1997-1999.

CDC. Epidemiologic Notes and Reports Paralytic Shellfish Poisoning -- Massachusetts and Alaska, 1990. *MMWR* 40 (10):157-161, March 15, 1991 and *MMWR* 40(14):242, April 12, 1991 (Errata Notice). URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/.htm> CDC (2003). Marine Toxins. Division of Bacterial and Mycotic Diseases. URL: [http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/marinetoxins\\_g.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/marinetoxins_g.htm)

FAO. Biotoxinas marinhas, 2005.

FERRARI, G. HABs in the Southwestern Atlantic Ocean. *In* Zhu, M.; Zou, Y.; Cheong L.; S. Hall (eds). *Proceedings of the Second International Conference on Harmful Algae Management and Mitigation* (November 2001, Qingdao, China), IOC UNESCO, Paris, p. 34-35, 2001.

FDA/CFSAN Bad Bug Book. Various Shellfish-Associated Toxins. URL: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap37.html> (2003).

GARCÍA, R.M.; SÁNCHEZ, P.J. Riesgos sanitarios del pescado y marisco. *Alimentaria*, 198: 107, 1998.

GARTHWAITE, I.; ROSS, K.M.; MILES, C.O.; HANSEN, R.P.; FOSTER, D.; WILKINS, A.L.; TOWERS, N.R. Polyclonal antibodies to domoic acid, and their use in immunoassays for domoic acid in seawater and shellfish. *Natural Toxins*, 6: 93-104, 1998.

GESSNER, B.D.; BELL, P.; DOUCETTE G.J.; MOCZYDLOWSKI, E.; POLI, M.A.; VAN DOLAH, F.; HALL, S. Hypertension and identification of toxin in human urine and serum following a cluster of mussel-associated paralytic shellfish poisoning outbreaks. *Toxicon* 35(5): 711-722, 1997.

HALLEGRAEFF, G.M. Harmful algal blooms: a global overview. *In* Hallegraeff, G.M. et al. (eds). *Manual on Harmful Marine Microalgae IOC Manuals and Guides No. 33*. UNESCO, p. 1-22, 1995.

KAT, M. The occurrence of *Prorocentrum* species and coincidental gastrointestinal illness of mussel consumers. *In*: *Toxic Dinoflagellate Blooms*. Editores: D. Taylor e H. Seliger. Elsevier, New York, p. 215-220, 1979.

LANDSBERG, J.H. Effects of algal blooms on aquatic organisms. *Reviews in Fisheries Science*, 10 (2): 113-390, 2002.

LEVINE, L.; FUJIKI, H.; YAMADA, K.; OJIKI, M.; GJIKA, H.B.; VAN VUNAKIS, H. Production of antibodies and development of a radioimmunoassay for okadaic acid. *Toxicon*, 26: 1123, 1988.

MARR, J.C.; HU, T.; PLEASANCE, S.; QUILLIAM, M.A.; WRIGHT, J.L.C. Detection of new 7-O-acyl derivatives of diarrhetic shellfish poisoning toxins by liquid chromatography-mass spectrometry. *Toxicon*, 30 (12): 1621-1630, 1992.

MCMAHON, T.; SILKE, J. Winter toxicity of unknown aetiology in mussels. *Harmful Algae News*, 14: 2, 1996.

MCCMAHON, T.; SILKE, J. Re-occurrence of winter toxicity. *Harmful Algae News*, 17: 12, 1998.

MONS, M.N.; VAN EGMOND, H.P.; SPEIJERS, G.J.A. Paralytic shellfish poisoning: A review. RIVM Report 388802 005. June, 1998.

MOYA, A.; LÓPEZ, L.; PSP Y DSP. Identificación de toxinas de bivalvos. II Jornadas de Control de Calidad de Productos de la Pesca. Madrid, 1989.

MURATA, M.; SHIMATANI, M.; SUGITANI, H.; OSHIMA, Y.; YASUMOTO, T. Isolation and structural elucidation of the causative toxin of the diarrhetic shellfish poisoning. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48(4): 549-552, 1982.

PASCUAL, M.P. *Microbiología Alimentaria*. Madrid: Díaz de Santos, p.183-187, 1992.

PROENÇA, L.A.O.; MAFRA, L.L. Ocorrência de ficotoxinas na costa brasileira. In: SBFIC. (Org.). *Formação de Ficólogos: um compromisso com a sustentabilidade dos recursos aquáticos*. Rio de Janeiro, p. 57-77, 2005.

PUMAROLA, A.; PIEDROLA, A. *Medicina preventiva y social. Higiene y sanidad ambiental*. 7.<sup>a</sup> ed. Madrid: Amaro, 1983.

ROMÁN, Y.; ALFONSO, A.; LOUZAO, M.C.; DE LA ROSA, L.; LEIRA, F.; VIEITES, J. M.; VIEYTES, M. R.; OFUJI, K.; SATAKE, M.; YASUMOTO, T.; BOTANA, L.M. Azaspiracid-1, a potent, nonapoptotic new phycotoxin with several cell targets. *Cell Signalling*, 14: 703-716, 2002.

SATAKE, M.; OFUJI, K.; NAOKI, I.; JAMES, K.J.; FUREY, A.; MCCMAHON, T.; SILKE, J.; YASUMOTO, T. Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels, *Mytilus edulis*. *Journal of the American Chemical Society*, 120: 9967-9968, 1998.

SCHANTZ, E.J. Historical perspective on paralytic shellfish poison. In: *Seafood Toxins American Chemical Society*, Washington, DC, p. 99-111, 1984.

SUZUKI, T.; OTA, H.; YAMASAKI, M. Direct evidence of transformation of dinophysistoxin-1 to 7-O-acyl-dinophysistoxin-1 (dinophysistoxin-3) in the scallop *Patinopecten yessoensis*. *Toxicon*, 37 (1): 187-198. 1999.

TODD, E.C.D. Domoic acid and amnesic shellfish poisoning - a review. *The Journal of Food Protection*, 56 (1): 69-83, 1993.

TUBARO, A.; SOSA, S.; CARBONATTO, M.; ALTINIER, G.; VITA, F.; MELATO, M.; SATAKE M.; YASUMOTO T. Oral and intraperitoneal acute toxicity studies of yessotoxin and homoyessotoxins in mice. *Toxicon*, 41 (7): 783-792, 2003.

VALE, P. Biotoxinas marinhas. *Revista Portuguesa de Veterinária*, 99: 3-18, 2004.

YASUMOTO, T.; OSHIMA, Y.; SUGAWARA, W.; FUKUYO, Y.; OGURI, H.; IGARASHI, T.; FUJITA, N. Identification of *Dinophysis fortii* as the causative organism of diarrhetic shellfish poisoning. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 46 (11): 1405-1411, 1980.

YASUMOTO, T.; OSHIMA, Y.; YAMAGUCHI, M. Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku district. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44 (11): 1249-1255, 1978.





## CAPÍTULO 19

# AVANÇOS DA FISIOLÓGIA DO ESTRESSE E SUAS IMPLICAÇÕES EM ESPÉCIES NATIVAS

Elisabeth Criscuolo Urbinati<sup>1</sup>

Fábio Sabbadin Zanuzzo

Mônica Serra

Carla Patrícia Bejo Wolkers

Rafael Estevan Sabioni

### O ESTRESSE NA PRODUÇÃO DE PEIXES

#### Importância da pesquisa em fisiologia

A sobrevivência é o objetivo principal de todos os organismos e a percepção do perigo, tanto físico quanto social, é crítico para essa finalidade. As adaptações a estas circunstâncias podem ser agrupadas grosseiramente como respostas de luta e fuga, que caracterizam as respostas de estresse. Esta reação foi descrita pela primeira vez na década de 1920, pelo fisiologista Walter Cannon, que descreveu que uma cadeia de reações que ocorre rapidamente no interior do corpo mobiliza os recursos do organismo para lidar com as circunstâncias ameaçadoras. Desde então, a fisiologia do estresse vem sendo intensamente estudada e o conhecimento disponível evidencia quão complexa é a manifestação de um organismo animal frente a condições desafiadoras. A regulação central da cascata do estresse integra, direta ou indiretamente, múltiplos sistemas fisiológicos. Áreas como a neuroendocrinologia são reconhecidas, atualmente, como de importância crítica na homeostasia biológica, somática e central.

Este capítulo enfoca os avanços obtidos nesta grande área do conhecimento, com foco em estudos com espécies nativas de peixes

---

Urbinati et al. Avanços da fisiologia do estresse e suas implicações em espécies nativas. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. São Carlos, Editora Pedro & João, 2015.

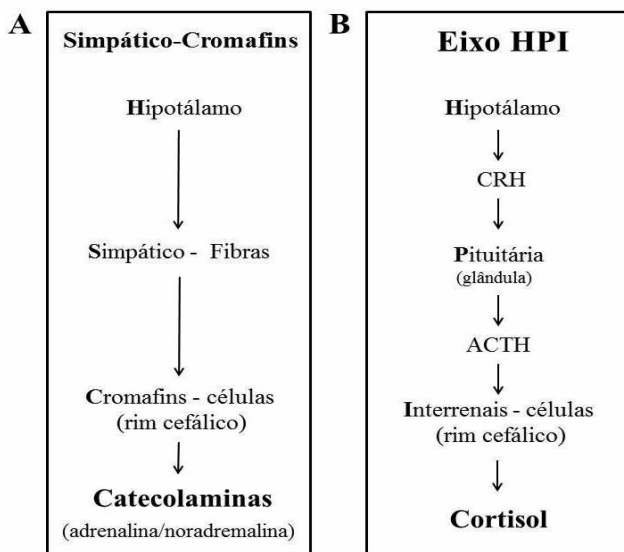
de produção, dando ênfase aos avanços obtidos em aspectos imunológicos e de comportamento do estresse.

O estresse é uma condição de quebra do equilíbrio fisiológico por ação de um estímulo (intrínseco ou extrínseco) definido como estressor (Wendelaar Bonga, 1997), quando ocorrem mudanças fisiológicas e comportamentais típicas, que variam de acordo com o grau e a extensão da exposição do peixe ao agente estressor. É um fenômeno comum no ambiente de criação. O sucesso da piscicultura, como todas as atividades que envolvem criação animal, depende da manutenção de condições adequadas de saúde e bem-estar dos indivíduos. Estas condições, por outro lado, só são possíveis quando a homeostase biológica é preservada. Assim, o conhecimento dos mecanismos que influenciam essa condição deve auxiliar o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas que reduzem as perdas e aumentam a produtividade.

Ao longo da cadeia produtiva, a exposição dos peixes a fatores estressores ocorre de forma rotineira e inevitável, com reflexos a curto, médio e longo prazos, e pode levar, ao final, à redução do desempenho biológico, aumento da susceptibilidade às doenças e morte dos peixes, dependendo da intensidade e duração da exposição (Urbinati et al., 2014b). Os estressores, geradores destas condições, podem ser físicos, químicos e/ou biológicos/sociais (Barton, 2002). Entre os físicos, destacam-se os procedimentos comuns de manejo, entre os químicos as mudanças de composição do meio aquático resultantes da própria criação ou por ação do homem, e entre os biológicos/sociais a densidade de estocagem, presença de predadores, o estabelecimento de hierarquia social e a interação com macro ou micro-organismos.

O conjunto de respostas desencadeadas por um estressor é controlado por um complexo sistema neuro-endócrino, com dois componentes principais: o sistema simpático-cromafim e o eixo hipotálamo-pituitária-interrenal (Figura 1 A-B), embora o sistema esteja sob influência de inúmeros outros hormônios (Urbinati et al., 2014b). No primeiro componente, o sistema nervoso simpático, ativado pela percepção da presença do estressor, atua sobre as

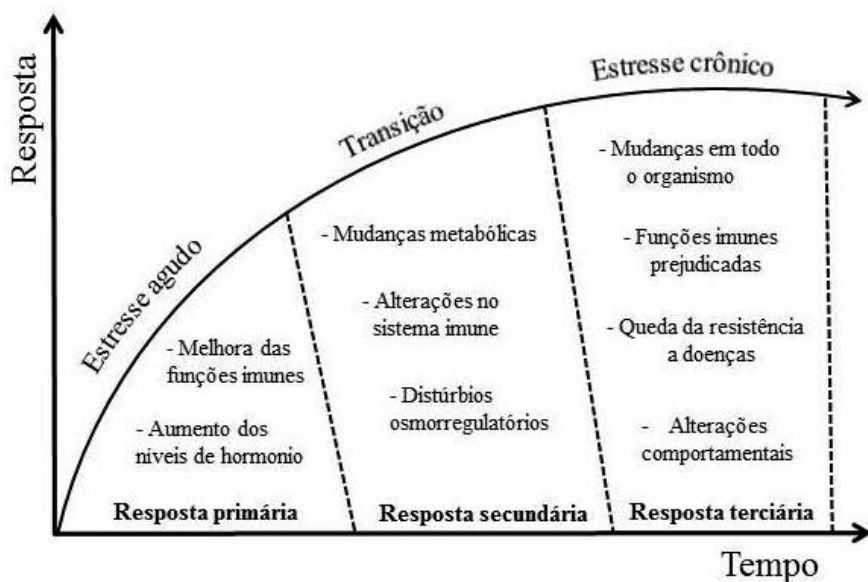
células cromafins do rim cefálico que secretam as catecolaminas, adrenalina e noradrenalina (sistema simpático-cromafim), e, no segundo, os sinais do estressor ativam núcleos do hipotálamo, modulador central do estresse, que secretam o hormônio liberador de corticotrofina, CRH, que induz a glândula pituitária a produzir o hormônio corticotropina, ACTH, o qual, por fim, estimula o tecido interrenal, também no rim cefálico, a produzir o cortisol (eixo hipotálamo-pituitária-interrenal - HPI), responsável pela ação nas células-alvo. O eixo HPI se desenvolve cedo em peixes. Por exemplo, as células que compoem este tecido foram identificadas em matrinxã *Brycon amazonicus*, 36 horas após a eclosão, sugerindo que esta espécie já está apta a produzir o cortisol nesta fase da vida (Ganeco, 2007).



**Figura 1.** Esquema representativo do sistema simpático-células cromafins (A) e do eixo hipotálamo-pituitária-tecido interrenal (B) em peixes.

Diferentes componentes da resposta de estresse ocorrem se o processo se prolonga no tempo (Figura 2). Os eixos e vias ativados, de forma aguda, a partir das alterações hormonais (resposta primária) promovem alterações em funções metabólicas e celulares,

alterações osmorregulatórias e na função imunológica (resposta secundária), que caracterizam a capacidade adaptativa do animal para enfrentar os estressores. Entretanto, à medida que a estimulação permanece sobre o animal, a resposta crônica se instala (resposta terciária). A manutenção da secreção aumentada do hormônio do estresse, o cortisol, promove uma redistribuição de energia para funções "prioritárias" de sobrevivência, o que afeta o animal como um todo, prejudicando seu desempenho biológico, seu padrão comportamental, e as funções normais do sistema imunológico que facilitam a infestação dos peixes por patógenos.



**Figura 2.** Percepção dos agentes estressores pelo sistema nervoso central e seus efeitos fisiológicos, primários, secundários e terciários. Adaptado de Nardocci et al. (2014).

Os mecanismos e respostas que envolvem o quadro de estresse, dos invertebrados até o homem, possuem relações complexas e bem preservadas evolutivamente, que abrangem desde uma variedade de estímulos e diferentes reações, variáveis entre espécies e indivíduos, até a ligação destas respostas com o

desenvolvimento de enfermidades. Existem evidências de que esta interação entre os sistemas imunológico e endócrino deve-se a uma origem evolutiva comum, e está atualmente bem estabelecida devido a pesquisas envolvendo respostas imunológicas em diferentes situações estressantes, assim como a presença de hormônios relacionados à resposta de estresse em células do sistema imunológico (Ottaviani & Franchesi, 1996; Tort, 2011).

Os peixes, um dos grupos de vertebrados mais antigos do planeta, apesar de não possuírem neocórtex, apresentam uma grande capacidade de compreender, responder e se adaptar ao seu ambiente, características que se devem à plasticidade cerebral, conquistada ao longo do processo evolutivo, e que garantem às inúmeras espécies a manutenção da homeostase e o bem estar (Papoutsoglou, 2012). Sabe-se, ainda, que os peixes possuem um sistema sensorial extremamente sensível e são capazes não apenas de identificar o nível de qualidade do ambiente, mas de comunicar-se entre si (Harrison et al., 2011). São dotados também de percepção de dor, sentimento de medo, aprendizagem e memória (Brown & Laland, 2008). O importante papel do cérebro e de seus reflexos no comportamento e fisiologia ainda é pouco considerado no processo produtivo na piscicultura, principalmente em sistemas intensivos e, com o aumento de demanda, é grande o desafio para conciliar a necessidade de lucro com as necessidades de bem estar de cada espécie, sobretudo nas nativas, ainda pouco domesticadas.

## **AGENTES ESTRESSORES**

Os agentes estressores na piscicultura podem ser desde procedimentos rotineiros de manejo, como alimentação e nutrição, qualidade do meio aquático e condições sutis de barulho, iluminação e vibração (Urbinati et al., 2012b). Exemplos dos fatores estressores na piscicultura e os efeitos nos peixes estão representados na Figura 3.

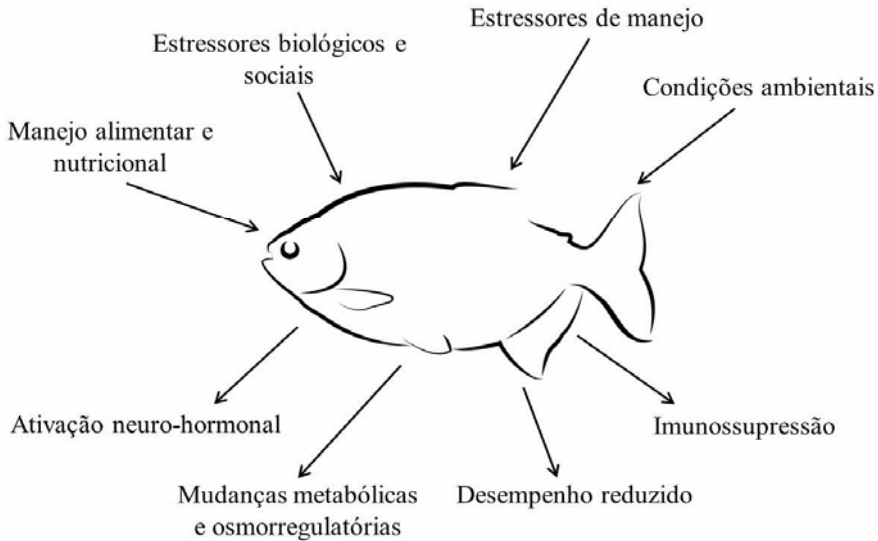
Os estressores de manejo são as principais fontes de estresse na piscicultura e são provenientes de captura, biometria, transporte, vacinação, reprodução artificial, entre outros. Diferentes estudos com

espécies nativas já caracterizaram as respostas de estresse de transporte (Carneiro & Urbinati, 2001; Urbinati et al., 2004; Takahashi et al., 2006; Fagundes & Urbinati, 2008; Bendhack & Urbinati, 2009; Gonçalves et al., 2010; Serra et al., 2011; Zanuzzo et al., 2012; Abreu et al., 2014), de densidade de estocagem (Carneiro & Urbinati, 2002a; Gomes et al., 2003a, b; Rocha et al., 2004; Montedor et al., submetido), de exposição aérea (Biller et al., 2008), de captura (Barcellos et al., 2001; Abreu et al., 2009; Hoshiba et al., 2009), de interação social (Ferraz & Gomes, 2009; Wolkers et al., 2012; Wolkers et al., 2014; Barreto et al., 2014; Serra et al., 2015) e da reprodução induzida (Zanuzzo et al., 2015; Zanuzzo et al., submetido).

Por outro lado, alguns métodos já foram testados como redutores do estresse como o uso de sal (Carneiro & Urbinati, 2001; Garcia et al., 2007), sulfato de cálcio (Bendhack & Urbinati, 2009), anestésico (Carneiro & Urbinati, 2002b; Façanha & Gomes, 2005; Gomes et al., 2011), L-triptofano, precursor de serotonina (Hoshiba, 2011; Wolkers et al., 2012; Montedor et al., submetido) e de imunoestimulantes como o 1,3- $\beta$  glucano (Biller-Takahashi et al., 2014; Sabioni, 2014) e *Aloe vera* (Zanuzzo et al., 2012; Zanuzzo, 2014; Zanuzzo et al., 2015).

Dentre os estressores, também destacamos o manejo alimentar e nutricional, de natureza qualitativa e quantitativa. Dietas desbalanceadas podem acarretar deformidades morfológicas e anatômicas, redução do crescimento, estresse e redução da resistência a doenças (Roberts, 2003). A fonte de proteínas, composição de aminoácidos, quantidade de lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais, além da espécie cultivada, temperatura de cultivo, granulometria e processamento da ração, devem ser considerados para a escolha da dieta que promova a saúde dos peixes.

# Estresse



**Figura 3.** Fonte de estressores e efeitos do estresse crônico em peixes.

A definição da estratégia apropriada (quantidade e frequência do arraçoamento) contribue para evitar problemas com a qualidade da água e conseqüente estresse dos peixes, e evitar subnutrição que gera estresse oxidativo e imunossupressão (Li et al., 2014). Estratégias de restrição alimentar vêm sendo usadas com sucesso para diminuir o custo de produção e melhorar a qualidade da água na criação de espécies nativas (Takahashi et al., 2011; Takahashi et al., 2014; Urbinati et al., 2014a; Favero et al., submetido). Estudo com o pacu *Piaractus mesopotamicus* (Gimbo et al., 2015) mostrou, após 30 dias de restrição, aumento do cortisol, embora os peixes não tenham perdido a capacidade de responder a desafio com a bactéria *Aeromonas hydrophila*. Contudo, estudos adicionais são necessários para melhor compreensão das repostas

fisiológicas de estresse e imunológicas em peixes submetidos à restrição alimentar.

As condições do ambiente como temperatura, luz, som, vibração e qualidade de água são fundamentais para a saúde e bem estar do plantel. A qualidade de água se caracteriza como a principal delas e envolve concentração de oxigênio, principal causa de mortalidade (Boyd & Tucker, 1998), gás carbônico, resíduos nitrogenados e metabólicos (amônia, fosforo e materia orgânica), pH, salinidade, dureza e poluentes. Esses estressores ativam a cascata do estresse e podem inviabilizar a produção. Mesmo com a aplicação de algumas estratégias para mitigar os efeitos deletérios do estresse, a prevenção com boas práticas de manejo ainda é considerado ideal e fundamental para a redução da quantidade de estressores, e também do tempo de exposição dos animais.

## **RESPOSTA IMUNOLÓGICA AO ESTRESSE**

Uma das condições mais graves da cronicidade do estresse é a redução da resistência dos peixes à infestação por patógenos do meio. A perda da capacidade adaptativa na manutenção da homeostase biológica desvia o uso da energia para ações prioritárias de sobrevivência e o sistema imunológico passa a ser deficitário.

O sistema imunológico se divide em dois componentes, o inato (não específico) e o adaptativo (específico ou de memória). O inato é representado pelo conjunto de respostas que compõe a primeira barreira do organismo contra infecções, sem depender de exposição prévia a agentes etiológicos (Magnadottir, 2006; Rauta et al., 2012; Secombes & Wang, 2012). Este sistema, por sua vez, é representado por células e fatores humorais. As principais células do sistema inato de peixes são células capazes de fagocitar e destruir agentes infecciosos, como os neutrófilos, monócitos e macrófagos. Contudo, o papel dessas células vai além da fagocitose e morte dos patógenos. Elas são células essenciais para a imunidade, necessárias para construir e modular as respostas inata e adaptativa (Kantari et al., 2008). Os neutrófilos e macrófagos têm grande importância na defesa do organismo, pois fagocitam e destroem os patógenos



invasores, principalmente por ação das espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas durante a atividade respiratória das células, estimulada pela presença de microrganismos (Secombes et al., 1996). Durante a fagocitose, ocorre aumento do consumo do oxigênio molecular, resultante da redução do oxigênio em ânion superóxido, o qual, pela ação da enzima superóxido dismutase (SOD), forma peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, por ação da enzima mieloperoxidase (MPO) liberada pelos leucócitos granulares, se transforma em hipoclorito com consequente produção de cloramina. Os radicais reativos produzidos são agentes oxidantes que atuam nas membranas de microrganismos e contribuem para sua destruição (Verlhac & Gabaudan, 1997; Verlhac et al., 1998).

Além de células, várias moléculas estão envolvidas nos mecanismos de defesa inata, conhecidas como mediadores químicos solúveis, estando presentes no soro, na forma inativa ou de precursores, e suas concentrações elevam-se rapidamente durante a infecção (Verlhac et al., 1996). Dentre esses mediadores, o sistema complemento representa o principal efetor da resposta imune inata, formado por um conjunto de proteínas envolvidas em uma cascata de reações que, quando ativadas, participam de respostas inespecíficas (via alternativa) e/ou adquiridas (via clássica). O sistema complemento destrói os patógenos pela formação de poros na superfície da membrana celular do patógeno e desempenha um importante papel nas reações inflamatórias, atraindo células fagocíticas para o local da lesão. As proteínas de complemento podem estimular a fagocitose, um processo que é mediado por receptores do complemento na superfície de células fagocíticas (Nikoskelainen et al., 2002; Boshra et al., 2006; Nakao et al., 2011). Em peixes, a atividade da via alternativa é mais rápida e comum do que em mamíferos, indicando a importância da resposta inata nestes animais (Yano, 1996).

A lisozima é outro importante componente do sistema imunológico não específico, encontrado em várias espécies de peixes (Grinde et al., 1988). Esta enzima apresenta atividade lítica contra bactérias gram-positiva e gram-negativa, e está presente no muco

(Fast et al., 2002; Palaksha et al., 2008), tecidos linfoides, plasma e outros fluidos corporais de peixes. A atividade da lisozima varia de acordo com a idade, sexo, estação do ano, temperatura e pH da água, infecção, grau de estresse, agentes químicos e imunostimulantes (Saurabh & Sahoo, 2008).

Apesar da resposta de estresse ser geralmente associada à diminuição da função do sistema imunológico e da capacidade dos peixes de se defenderem de patógenos, sabe-se que, dependendo da intensidade e duração do evento, ocorre tanto ativação como inibição das funções imunológicas. Inicialmente ocorre ativação, principalmente provocada por catecolaminas e pelo CRH e, posteriormente, inibição provocada pela liberação do cortisol (Tort, 2011). Em caso de estresse agudo, observa-se aumento no número de receptores de glicocorticoides nos leucócitos do rim cefálico (Maule & Schreck, 1991; Verburg-Van Kemenade et al., 2009), assim como aumento da resposta infamatória, infiltração de leucócitos e expressão gênica de citocinas, moléculas que são as principais reguladoras das respostas imunológicas (Dhabhar, 2002).

Alguns estudos abordaram a influência dos hormônios do estresse na distribuição de células brancas entre os compartimentos corporais de peixes, indicando alterações em número e padrão de distribuição de leucócitos em estresse agudo (Dhabhar, 2002), provavelmente pela necessidade de mobilização de células para locais afetados, para maior eficiência da resposta. Com a cronicidade do estresse e permanência da ativação do eixo HPI, ocorre diminuição geral do número de células brancas circulantes, reflexo da ação direta do cortisol e da possível migração e permanência das mesmas nos órgãos de maior demanda (Tort, 2011). Uma característica da dinâmica das células de defesa durante o estresse, já bem estabelecida, é o quadro de linfopenia e neutrofilia. Vários estudos associam situações de estresse agudo com o aumento do número de neutrófilos e diminuição do número de linfócitos (Plytycz et al., 1989; Martins et al., 2004; Sabioni, 2014), o que torna a análise da quantidade e distribuição destas células um dado

complementar no estudo do estresse e suas implicações na fisiologia de peixes.

Da mesma forma que os componentes celulares da imunidade inata são influenciados pelo estresse agudo e crônico, os componentes humorais também podem sofrer alterações, dependentes da origem e duração dos estressores. Por se originar de macrófagos e granulócitos, a lisozima pode ter sua concentração elevada em estresse agudo e reduzida em estresse crônico (Demers & Bayne, 1997; Ruane et al., 2000, Eslamloo et al., 2014). Igualmente, as proteínas do sistema complemento apresentam maior atividade em estresse agudo e redução em estresse crônico (Ruane et al., 2000; Mauri et al., 2011; Eslamloo et al., 2014) ou severo, como hipóxia ou choque térmico (Welker et al., 2007; Ndong et al., 2007).

Em espécies nativas, os estudos relacionando condição de estresse, imunidade e uso de substâncias com ação imunoestimulantes vem se avolumando. Estes estudos tem testado o uso das vitaminas C e E (Belo et al., 2005; Menezes et al., 2006; Abreu & Urbinati, 2006; Garcia et al., 2009; Belo et al., 2012), probióticos e prebióticos (Dias et al., 2012; Gomes et al., 2009; Mouriño et al., 2012) e imunoestimulantes como o 1,3  $\beta$ -glucano (Abreu, 2007; Biller-Takahashi et al., 2014; Sabioni, 2014; Chagas et al., 2012, 2013; Abreu et al., 2014), levamisol (Sado et al., 2010; Biller-Takahashi, 2013; Pahor Filho, 2015), saponina de quilaia (Fernandes, 2014), alho *Allium sativum* (Martins et al., 2002), carboquelato de cromo (Castro et al., 2014) e a planta babosa *Aloe vera* (Zanuzzo et al., 2012; Zanuzzo et al., 2015).

## **INTERAÇÕES ENTRE ESTRESSE E COMPORTAMENTO DE PEIXES**

A interação entre comportamento e estresse é uma via de mão dupla. Interações agressivas podem desencadear resposta de estresse no peixe. Em contrapartida, os hormônios liberados pelo estresse, principalmente o cortisol, e seus efeitos fisiológicos podem modular alterações comportamentais (Serra et al., 2015). O conhecimento dessas interações pode fornecer ferramentas úteis

tanto para a detecção do estresse pela observação do comportamento, quanto na diminuição do estresse na piscicultura ao se reduzir interações estressantes.

Interações agressivas, como brigas para disputa de recursos (alimento, território, parceiros reprodutivos) ou a formação de hierarquias de dominância (com alguma posição na escala que promove estresse) podem ser estressores que desencadeiam o estresse. Em situação aguda, como uma briga entre dois peixes, ocorre liberação de catecolaminas e cortisol em todos os animais que estão interagindo, e o incremento metabólico necessário para a disputa (Øverli et al., 1999). Esse tipo de estresse agudo não é tão deletério para o animal, a não ser que ocorra com uma frequência muito grande. Algumas espécies nativas são bastante agressivas e territoriais, e as condições de cativeiro agravam esse comportamento. Em cativeiro, os animais não podem escolher os companheiros de grupo, e não há a possibilidade de migrar ou formar territórios como fariam em vida livre. Esse aumento de contato em espécies que não viveriam em grupo naturalmente, e muitas delas sendo carnívoras, pode resultar em alta frequência de brigas. *Brycon amazonicus* é um peixe com esse comportamento agressivo. Desde a fase larval (Hoshiba, 2007; Hoshiba, 2011), se estendendo pelo menos até a fase juvenil (Wolkers et al., 2012; Wolkers et al., 2014; Serra et al., 2015), a espécie apresenta comportamento agressivo intenso. Nesta espécie, essas interações são ainda mais preocupantes, pois, embora onívora, ela possui várias fileiras de dentes (Howes, 1982; Santos et al., 2006) e as brigas resultam não apenas em estresse como também em injúrias que podem levar os peixes à morte.

Outras espécies de interesse para a piscicultura, como o dourado *Salminus brasiliensis* e a traíra *Hoplias malabaricus*, são carnívoros e vivem de forma solitária (não formam cardumes); durante a fase larval e juvenil, há grande perda de animais por canibalismo (Vieira & Lopes, 2005; Weingartner & Zaniboni Filho, 2005). A despeito da agressividade, o comportamento dessas espécies não tem sido estudado; a pesquisa de técnicas que

minimizem a agressividade pode resultar em maior produtividade, principalmente na larvicultura. Parra (2003) observou que dosagens mais altas de triiodotironina adicionada à água de imersão dos ovos de dourado aumentaram o crescimento, entretanto a taxa de sobrevivência foi menor, provavelmente por aumento de canibalismo; em dosagens mais baixas (0,05 e 0,1 ppm) do hormônio houve redução do canibalismo e aumento da sobrevivência das larvas.

Outros grupos de interesse para a aquicultura, como bagres, vêm sendo estudados quanto ao comportamento agressivo tendo como modelo espécies do hemisfério norte (bagre do canal, *Ictalurus punctatus*; Lochmann et al., 1998; bagre europeu *Silurus glanis*, Slavík et al., 2012) e da África (bagre Africano, *Clarias gariepinus*, Almazán-Rueda et al., 2004; Martins et al., 2008). Entretanto, embora diversas espécies nativas de bagres (e.g., pintado *Pseudoplatystoma coruscans*, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum*, entre outros) sejam produzidas pela piscicultura, o comportamento agressivo de juvenis e adultos não vem sendo estudado, e o conhecimento sobre brigas e canibalismo nessas fases é apenas anedótico. Por se tratarem de espécies carnívoras e que, em vida livre, não vivem o ano todo em cardumes, o adensamento na criação pode deflagrar brigas e canibalismo. O comportamento agressivo dessas espécies é, portanto, um campo a ser explorado, principalmente técnicas que reduzam a agressividade, o estresse e as perdas decorrentes dessas interações.

Por outro lado, muitas espécies que vivem em grupos formam hierarquias de dominância, onde o status dos membros do grupo fica estabelecido e as brigas, se não cessam, reduzem muito (Huntingford & Chellappa, 2006). O indivíduo dominante é o detentor prioritário dos recursos, e sua posição é reconhecida pelos outros membros do grupo (subordinados). Em algumas espécies, a distinção entre dominantes e subordinados é visualmente clara para o produtor ou pesquisador, como no ciclídeo pérola *Geophagus brasiliensis*, em que o subordinado apresenta coloração mais escura que o dominante (Miyai et al., 2011). Entretanto, em determinadas

estruturas hierárquicas alguma posição pode ser cronicamente estressada. Dominantes (se sua posição é constantemente desafiada) ou subordinados (se o acesso a recursos é muito limitado ou se o dominante reafirma sua posição com ataques frequentes) podem apresentar elevação crônica de cortisol (Sapolsky, 2005), que é mais deletéria. Assim, embora a formação de hierarquias dentro do grupo possa reduzir o número de ataques, também pode resultar em estresse crônico para alguns indivíduos.

As alterações comportamentais estão na linha de frente das respostas dos peixes para lidarem com o estresse (Beitinger, 1990). Por ocorrerem mais inicialmente durante a resposta e serem fáceis de acessar e não-invasivas (por observação), são uma boa ferramenta para detecção do estado dos peixes (Huntingford et al., 2006). Alterações no padrão de movimentação, coloração e tomada de comida podem ser indicativos de estresse em peixes. Além disso, situações estressantes podem reduzir ou inibir completamente comportamentos reprodutivos, enquanto o estresse materno e em fases iniciais do desenvolvimento podem afetar o comportamento exploratório dos peixes na fase adulta.

O estresse reduz o apetite (Wendelaar Bonga, 1997); portanto, a redução do comportamento alimentar (movimentação dos animais durante a alimentação, ou a ocorrência de sobras de comida no tanque) pode ser um indicativo de que os animais estão estressados. Tanto a retomada da alimentação quanto a velocidade de aproximação do alimento após um evento estressor são utilizadas como indicativos de recuperação em peixes (Øverli et al., 2006). Entretanto, alguns fatores devem ser levados em consideração. Diferentes espécies possuem diferentes hábitos alimentares, e primeiramente deve-se observar se esses hábitos são levados em consideração. Por exemplo, espécies bentônicas preferem alimento que afunda (Kristiansen & Fernö, 2007), e caso sejam alimentadas com ração extrusada pode haver sobras de alimento não porque os animais estão estressados, e sim porque a forma de alimentação não é adequada.

Diversos estressores como alterações na qualidade da água, presença de patógenos e poluentes, densidade e manejos podem alterar o padrão de movimentação dos peixes (ver Martins et al., 2012). Embora ainda no início, a detecção de mudanças no padrão de movimentação, principalmente por telemetria acústica, parece ser promissora nesse sentido. Em trutas arco íris, a alteração na natação dos animais devido às diferenças na condição de estocagem foi detectada por esse método (Anras & Lagardère, 2004). Outras técnicas, como o uso de câmeras e análise das imagens por softwares específicos, são mais problemáticas devido a dificuldades como luminosidade e turbidez da água (Zion, 2012). Mesmo sem o uso desse tipo de tecnologia, o produtor pode observar alterações no padrão de movimento normalmente demonstrado pelos peixes e ficar atento a algum estressor que possa ser a causa dessa mudança.

O comportamento dos peixes também pode ser alterado devido ao estresse materno pré-desova. O estresse da fêmea pode resultar em alterações no padrão de locomoção, exploração e proximidade de outros indivíduos do grupo da prole (Epsmark et al., 2008; Giesing et al., 2010). Essas alterações comportamentais, que podem se prolongar em estágios posteriores da vida do animal, podem resultar em lotes de peixes mais hesitantes na exploração do ambiente e captura do alimento. A reprodução em cativeiro é especialmente mais estressante para espécies que demandam indução hormonal, uma vez que as fêmeas passam por captura, exposição aérea para injeção e também extrusão dos ovos (Zanuzzo et al., 2015). Portanto, o cuidado no manejo durante a reprodução é importante não apenas pelo cuidado com o bem estar dos reprodutores, como também para evitar alterações comportamentais na prole.

## **BEM-ESTAR X DOR EM PEIXES**

O aumento no uso de peixes na aquicultura e na pesquisa científica traz a tona uma importante questão em relação ao bem estar e às questões éticas envolvidas no uso destes animais. Recentemente, a discussão acerca da capacidade dos peixes em sentir dor tem atraído considerável atenção no meio científico. De

um lado, alguns pesquisadores sugerem que a ausência de estruturas encefálicas, como o neocórtex, impediria os peixes de sentir dor (Rose, 2002; Rose, 2007; Arlinghaus et al., 2007; Rose et al., 2012), enquanto, por outro lado, uma série de estudos vem aumentando as evidências de percepção da dor nestes animais.

A presença de nociceptores é a primeira característica essencial para a detecção de um estímulo potencialmente doloroso. Em peixes, a presença de terminações nervosas livres na pele, semelhantes aos nociceptores, foi descrita pela primeira vez na década de 1970 (Whitaker, 1971), mas apenas recentemente foram demonstradas evidências funcionais da ativação destes nociceptores. Em truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* foram encontradas fibras do tipo A $\beta$ , A $\delta$  e C, que também presentes nos mamíferos (Sneddon, 2002; Sneddon, 2003b; Sneddon, 2003c), que respondem como nociceptores aos estímulos nocivos, sendo ativadas pela aplicação de estímulos nocivos como pressão, calor e químicos irritantes (ácido acético) (Sneddon, 2002; Sneddon, 2003 a, b, Sneddon, 2004).

Outra característica essencial para a percepção de dor é o processamento dos sinais nociceptivos na medula espinal e no encéfalo. Os peixes apresentam uma organização das vias espinhais semelhante à dos mamíferos, incluindo os tratos espinotalâmicos, espinomesencefálicos, espinoreticulares e espinolímbicos (Chandross et al., 2004a) e o trato trigeminal. Embora não haja dados experimentais demonstrando que as informações nociceptivas trafegam por estes tratos, dados eletrofisiológicos demonstrando a presença de atividade, medida por meio dos potenciais evocados, no telecéfalo (Dunlop & Laming, 2005; Nordgreen, 2007), medula espinal, cerebelo e teto óptico (Dunlop & Laming, 2005) de peixes após estimulação nociva cutânea, sugerem que os sinais nociceptivos periféricos atingem o encéfalo para serem processados. O encéfalo dos peixes, assim como de todos os vertebrados, obedece a uma estrutura básica, com a presença de telencéfalo, mesencéfalo, diencéfalo e tronco cerebral (Striedter, 2005), incluindo a maior parte das regiões envolvidas no processamento da dor. Embora não possuam neocórtex, o telencéfalo dos teleósteos se desenvolveu em



uma estrutura altamente diferenciada com uma capacidade altamente desenvolvida de processamento de informações sensoriais, sendo intensamente interconectado com outras regiões encefálicas como o mesencéfalo e o diencefalo (Rink & Wullimann, 2004), apresentando atividade após a estimulação nociva (Dunlop & Laming, 2005), e contendo estruturas que guardam homologia com a amígdala (telencéfalo dorsomedial) e o hipocampo (telencéfalo dorsolateral) de mamíferos (Portavella et al., 2002; Portavella et al., 2004). Os peixes possuem, ainda, um hipotálamo que está envolvido em funções sexuais e no comportamento social e integra sinais de origem telencefálica relacionadas a respostas de medo (Chandross et al., 2004). Há, também, evidências da participação da região dorsomedial do telencéfalo na modulação da analgesia induzida pelo estresse no peixe nativo piaçu *Leporinus macrocephalus* (Wolkers et al., 2015b), sugerindo que essa região pode desempenhar um papel semelhante à amígdala dos mamíferos na modulação da nocicepção.

Quando submetidos a estímulos nocivos, os peixes demonstram uma ampla variedade de respostas fisiológicas e comportamentais espécie-específicas (Sneddon et al., 2003a; Newby & Stevens, 2008; Reilly et al., 2008; Roques et al., 2010; Alves et al., 2013). Dentre estas respostas comportamentais, destacam-se comportamentos atípicos (arrastar as partes do corpo afetadas nas paredes ou substrato) (Sneddon, 2003a), aumento das taxas ventilatórias (Sneddon, 2003a; Newby & Stevens, 2008; Alves et al., 2012), perda do equilíbrio (Newby & Stevens, 2008) e aumento da atividade natatória (Roques et al., 2010, Alves et al., 2012; Wolkers et al., 2013), além da liberação de muco pelas células das brânquias e alterações nos transportadores de íons da membrana (Roques et al., 2010). Os peixes também são capazes de aprender a evitar os estímulos nocivos, associando-os a uma área particular do aquário e evitando retornar a esta área após o estímulo (Dunlop et al., 2006; Millisopp & Laming, 2007). Além disso, esta aprendizagem de esquiva é flexível. A colocação de um coespecífico ao lado da área de choque (Dunlop et al., 2006) e jejum (Millisopp & Laming, 2007)

aumentam a probabilidade do peixe se manter na área para se aproximar do coespecífico ou receber alimento, a despeito da presença do estímulo nocivo.

Os peixes possuem, ainda, um sistema opioide funcional semelhante ao de outros vertebrados, com todos os principais tipos de receptores opioides (delta, kappa e mu), com estrutura proteica semelhante aos dos receptores de mamíferos (Buatti & Pasternak, 1981; Vellasco et al., 2009; Dreborg, 2011) e amplamente distribuídos nas regiões relacionadas ao processamento de informações sensoriais (Gonzalez-Nunez & Rodriguez, 2009). Substâncias semelhantes à encefalina também foram encontradas em várias regiões do encéfalo de várias espécies de peixes (Finger, 1981; Schulman et al., 1981; Reiner & Northcutt, 1987; Vecino et al., 1992), com padrão de distribuição semelhante ao observado em mamíferos (Vecino et al., 1992), além da presença de neurônios e fibras contendo  $\beta$ -endorfina (Vallarino, 1985). A despeito da existência de um sistema opioide funcional, pouco é conhecido a respeito da analgesia em peixes. A aplicação de substâncias analgésicas opioides como a morfina (Sneddon et al., 2003a; Newby et al., 2007) e o tramadol (Chervova & Lapshin, 2000) reduz as respostas comportamentais e fisiológicas desencadeadas pelo estímulo nocivo. Além disso, situações estressantes são capazes de ativar um sistema analgésico endógeno em peixes, de maneira similar ao observado em mamíferos. Um longo período de subordinação social (Ashley et al., 2009), a presença de substância de alarme de coespecífico (Alves et al., 2013) e a restrição de espaço reduzem as respostas ao estímulo nocivo, sendo este efeito bloqueado pelo pré-tratamento com naloxona (antagonista não seletivo de receptores opioides) em alguns casos, sugerindo analgesia endógena de origem opioide induzida pelo estresse (substância de alarme, Alves et al., 2012 e 5 min de restrição, Wolkers et al., 2013). Além disso, evidências indicam que a analgesia induzida pelo estresse de restrição também pode ter o envolvimento de substâncias canabinóides já que o uso do bloqueador do receptor CB1 (AM251) também inibe esta analgesia (Wolkers et al., 2015a).

Embora ainda não seja possível afirmar definitivamente que os peixes são sensíveis à dor, a possibilidade de dor e sofrimento deve ser levada em consideração quando as práticas de manejo são definidas, tanto na aquicultura e pesca quanto na pesquisa científica, principalmente se os procedimentos utilizados podem resultar em lesão tecidual potencialmente dolorosa, visando sempre o bem estar dos animais.

## **MÉTODOS UTILIZADOS COMO INDICADORES DE ESTRESSE**

Como mostra a Figura 2, a resposta de estresse é subdividida em resposta primária (liberação de catecolaminas e cortisol), resposta secundária (aumento da glicemia, aumento da frequência respiratória, alteração do balanço hidromineral, redução da imunidade, entre outros) e resposta terciária (diminuição no crescimento, falha reprodutiva, falha imunológica, perda de apetite) (Wendelaar Bonga, 1997). Qualquer uma destas alterações pode, em tese, ser um indicativo de estresse em peixes; entretanto, alguns parâmetros são mais confiáveis que outros, uma vez que algumas dessas alterações fisiológicas podem ocorrer em situações que não a resposta de estresse.

A elevação de catecolaminas e cortisol é um indicador confiável de estresse. Entretanto, a concentração de catecolaminas raramente é analisada, pois o aumento durante o estresse é muito rápido e sua meia vida é muito curta; assim, se a coleta não for muito rápida, o aumento de catecolaminas circulantes não é detectado. As catecolaminas são armazenadas em grânulos nas células cromafins, e prontamente liberadas em qualquer situação de alerta (Wendelaar Bonga, 1997). Assim, se o peixe não estiver previamente canulado, a manipulação para coleta de sangue promoverá nova liberação de catecolaminas, dificultando a distinção entre a resposta ao estressor e a resposta à manipulação da coleta. O aumento do cortisol é, de longe, o indicador de estresse mais utilizado. Sua liberação depende de síntese, uma vez que é um esteroide, que atravessa membranas livremente, não sendo,

portanto, estocado nas células que os sintetizam. Assim, o pico de liberação do cortisol pode levar de minutos a até uma hora para ser atingido (Mommsen et al., 1999). O efeito da manipulação para coleta de sangue dos peixes dificilmente será notado nesse parâmetro se a coleta for feita dentro de poucos minutos. O cortisol circulante pode ser medido a partir do sangue (plasma ou soro), após extração de tecidos (em animais muito pequenos ou em pool de larvas e ovos), ou mesmo por métodos não invasivos, como na água ou nas fezes (Pottinger, 2008). O uso do cortisol como parâmetro de estresse deve, no entanto, observar alguns fatores importantes. A secreção do cortisol segue um ritmo circadiano, com aumentos naturais regulares ao longo do dia, que não têm relação com o estresse, como ocorre no matrinxã *B. amazonicus* (Serra et al., 2015) que apresenta dois picos de secreção ao longo do dia. Além disso, ocorrem variações sazonais e de espécie para espécie (Mommsen et al., 1999). Ainda, diferentes espécies apresentam diferentes níveis basais e pós-estresse de cortisol. Por exemplo, os níveis basais de cortisol em pintado *P. corruscans* são em torno de 10 ng/mL (Fagundes & Urbinati, 2008); do matrinxã em torno de 20 ng/mL (Bendhack & Urbinati, 2009), assim como o do pacu *P. mesopotamicus* (Biller et al., 2008); enquanto no piau *L. friderici* o nível basal observado foi em torno de 100 ng/mL (Serra et al., 2011).

Os parâmetros que avaliam a resposta secundária também são utilizados na análise do estresse, embora usualmente sejam dados que complementam os dados do cortisol. A resposta secundária de estresse inclui o aumento da glicemia, principalmente devido à glicogenólise promovida pelas catecolaminas, e em parte por gliconeogênese a partir de outros substratos, como aminoácidos, por ação do cortisol (Wendelaar Bonga, 1997). Vale ressaltar, no entanto, que, assim como o cortisol, a glicemia pode ser afetada por fatores outros que não o estresse, como refeição ou jejum. Outra resposta secundária, o aumento da frequência ventilatória (número de batimentos operculares do peixe), pode ser um indicativo inicial de resposta de estresse. Entretanto, esse aumento ocorre em resposta às catecolaminas (Wendelaar Bonga, 1997), por isso esse parâmetro

pode apresentar redução mesmo que os níveis de cortisol ainda estejam aumentando (Barreto & Volpato, 2004). Portanto, a frequência ventilatória deve ser utilizada como um indicador da resposta inicial, e como dado complementar, e não como único indicativo de estresse, uma vez que nem sempre pode ser correlacionada ao cortisol. Outro parâmetro que vem sendo estudado como indicador de estresse é o aumento da síntese de proteínas de choque térmico (HSPs), embora de forma limitada, em função do alto custo da análise. A indução da síntese das HSPs, em diferentes tecidos, já foi correlacionada com o estresse em peixes (Iwama et al., 1998). Em pacu, a elevação do cortisol circulante após um implante intraperitoneal de hidrocortisona resultou em aumento da expressão da HSP70, o que sugere que o aumento da expressão dessa proteína possa ser utilizado como indicador de estresse na espécie (Benavidez, 2013). Embora ainda pouco utilizado, esse parâmetro pode ser uma alternativa futura em espécies nativas.

Embora o estresse auxilie o animal a lidar com uma situação desfavorável, se essa resposta se sustentar por um período prolongado efeitos deletérios começam a surgir (resposta terciária). O estresse crônico pode resultar em falha na reprodução, menor crescimento (Schreck, 2000), redução do apetite (Beitinger, 1990) e aparecimento de doenças (Davis et al., 2003). O aparecimento desses sintomas indica que a resposta de estresse se instalou há algum tempo e a saúde e o bem estar dos peixes estão em risco. Por esse motivo, as respostas terciárias geralmente não são bons indicativos de estresse, exceto em casos em que o estresse crônico é o foco do estudo. Se essas respostas forem observadas, medidas imediatas para identificar e reduzir o estressor devem ser tomadas, ou o estresse crônico pode resultar na morte dos peixes.

## **IMPORTÂNCIA DAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS ESPECÍFICAS NA RESPOSTA DE ESTRESSE**

A grande variedade de espécies nativas com potencial para piscicultura resulta em uma vasta oferta de peixes para criação, mas também traz consigo a necessidade de geração de tecnologia para a

sua produção. Infelizmente, a padronização de técnicas aplicada às diferentes espécies, embora barateie a produção (mesmo tipo de tanque, equipamentos e alimento sendo utilizados em diferentes criações) nem sempre irá corresponder às necessidades biológicas específicas a serem atendidas. Por exemplo, as respostas encontradas em peixes submetidos a adensamento variam muito de um estudo para outro, por causa da variabilidade entre espécies, com algumas sendo mais tolerantes do que outras à redução de espaço (Huntington et al., 2006). Outros fatores como a nutrição requerida, comportamento, ciclo reprodutivo, qualidade da água e fatores ambientais potencialmente estressantes podem variar entre diferentes espécies.

Espécies bem estabelecidas na produção já foram estudadas quanto à nutrição, mas espécies de peixes com potencial para aquicultura, cuja tecnologia ainda está sendo estabelecida, podem acabar recebendo dietas com falta de micronutrientes essenciais, por exemplo (Huntingford et al., 2006). O regime de luz requerido também é diferente entre espécies. Não apenas há diferenças entre animais de latitudes distintas (onde a duração do período de luz é diferente), como também o hábito dos peixes e sua distribuição na coluna d'água podem resultar em respostas diferentes à luminosidade. Enquanto larvas de bacalhau do Atlântico *Gadus morhua*, espécie que vive em zonas polares a temperadas, cresceram mais quando mantidos em regime de luz constante e com iluminação de alta intensidade (Puvanendran & Brown, 2002), juvenis de pintado tenderam a ter níveis mais altos de cortisol e hematócrito e número de células vermelhas do sangue significativamente maiores após 24 h em luz contínua, o que sugere um estresse prolongado nessa condição (Fagundes & Urbinati, 2008).

Em relação aos parâmetros de qualidade de água, há uma grande variação nos níveis de tolerância para oxigênio dissolvido, temperatura, pH, níveis de compostos nitrogenados (amônia, nitrito e nitrato) entre diferentes espécies nativas. Esses requerimentos devem ser observados uma vez que as características do solo de viveiros escavados, da fonte de água e da forma de aeração e

renovação da água dos tanques pode tornar mais propícia à criação de uma espécie em detrimento de outra.

Alguns parâmetros são mais semelhantes entre espécies com parentesco mais próximo, como por exemplo, o comportamento. Ciclídeos, tanto africanos quanto os nativos de nosso país, por exemplo, tendem a ser territoriais e viver em pequenos grupos com hierarquia, mesmo vivendo em ambientes tão diferentes e distantes. O apaiari (*Astronotus ocellatus*), nativo da bacia Amazônica (Silva, 2005), apresenta comportamento territorial e forma grupos com hierarquias (Beeching, 1997). Da mesma forma, o acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), outro ciclídeo proveniente da bacia Amazônica, também defende agressivamente territórios (Chellappa et al., 1999). Esse comportamento é muito semelhante ao comportamento territorial dos ciclídeos africanos, como por exemplo, a tilápia mossambica (*Oreochromis mossambicus*) (Turner, 1986).

A resposta de estresse de diferentes espécies também pode ser distinta, mesmo em manejos semelhantes. Juvenis de piau *L. frederici* recuperaram os níveis basais de cortisol 2 h após um transporte de 4 h (Serra et al., 2011). Em outras espécies como o matrinxã (Carneiro et al., 2002), o tambaqui (Gomes et al., 2003) e o pacu (Takahashi et al., 2006) os níveis basais de cortisol foram normalizados 24 h após o transporte. Já em bagres, enquanto pintados retornaram aos níveis basais de cortisol 1 h após o estressor de captura e exposição aérea (Fagundes & Urbinati, 2008), jundiás *Rhamdia quelem* não tiveram essa recuperação 24 h após captura e transferência de tanques (Barcellos et al., 2001). A diferença na amplitude de resposta de estresse e tempo de recuperação faz de algumas espécies boas candidatas ao cultivo por sua resistência, enquanto outras inspiram maiores cuidados no manejo.

Não apenas as diferenças entre espécies pode modular a resposta a estressores, como a magnitude da resposta de estresse depende da percepção daquela situação pelo indivíduo (Galhardo et al., 2011). A percepção de um estressor depende das experiências prévias do animal e de como ele avalia a nova situação considerando a memória de eventos passados e as possíveis

estratégias disponíveis para lidar com esse distúrbio (Ursin & Eriksen, 2004). Portanto, o que é estressante para um indivíduo pode se mostrar um estímulo inócuo para outro, dependendo das experiências passadas; além disso, um mesmo animal pode responder diferentemente a um mesmo estressor em estágios e contextos distintos ao longo da vida (Galhardo & Oliveira, 2009).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora não seja viável a reestruturação da produção para cada espécie, a adequação relativa à necessidade, pelo menos de grupos de espécies com características biológicas semelhantes, pode auxiliar na redução do estresse para os peixes. Entretanto, essas adaptações terão melhores resultados uma vez que estudos mais aprofundados estabeleçam pacotes tecnológicos para as espécies nativas de interesse para aquicultura.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, J.S. Suplementação alimentar de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) com  $\beta$  glucano: atividade respiratória de leucócitos, lisozima e estresse por captura. Tese de doutorado. Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, SP, Brasil, 2007.
- ABREU, J.S.; URBINATI, E.C. Physiological responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*) fed different levels of vitamin C and submitted to air exposure. *Acta Amazonica*, 36: 519-524, 2006.
- ABREU, J.S.; TAKAHASHI, L.S.; HOSHIBA, M.A.; URBINATI, E.C. Biological indicators of stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after capture. *Brazilian Journal of Biology*, 69:415-421, 2009.
- ABREU, J.S.; BRINN, R.P.; GOMES, L.C.; MCCOMB, D.M.; BALDISSEROTTO, B.; ZAIDEN, S.F.; URBINATI, E.C.; MARCON, J.L. Effect of beta 1,3 glucan in stress responses of the pencilfish (*Nannostomus trifasciatus*) during transport within the Rio Negro basin. *Neotropical Ichthyology*, 12:623-628, 2014.
- ALI, M.; NICIEZA, A.; WOOTTON, R.J. Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and Fisheries*, 4:147-190, 2003.
- ALMAZÁN-RUEDA, P.; SCHRAMA, J.W.; VERRETH, J.A.J. Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture*, 231:347-359, 2004.
- ALVES, F.L. Mecanismos opioidérgicos envolvidos na antinocicepção induzida comportamentalmente e por estimulação mesencefálica no teleósteo *Leporinus macrocephalus*. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Fisiologia.



Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

ALVES, F.L.; BARBOSA JUNIOR, A.; HOFFMANN, A. Antinociception in piauçu fish induced by exposure to the conspecific alarm substance. *Physiology and Behavior*, 110-111:58-62, 2013.

ANRAS, M.L.B.; LAGARDÈRE, J.P. Measuring cultured fish swimming behaviour: first results on rainbow trout using acoustic telemetry in tanks. *Aquaculture*, 240:175-186, 2004.

ARLINGHAUS, R.; COOKE, S.J.; SCHWAB, A.; COWX, I.G. Fish welfare: a challenge to the feelings-based approach, with implications to recreational fisheries. *Fish Fisheries*, 8:57-71, 2007.

ASHLEY, P.J.; RINGROSE, S.; EDWARDS, K.L.; WALLINGTON, E.; McCROHAN, C.R.; SNEDDON, L.U. Effect of noxious stimulation upon antipredator responses and dominance status in rainbow trout. *Animal Behavior*, 77:403-410, 2009.

BARCELLOS, L.J.G.; WOEHL, V.M.; WASSERMANN, G.F.; QUEVEDO, R.M.; ITTZÉS, I.; KRIEGER, M.H. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. *Aquaculture Research*, 32:121-123, 2001.

BARRETO, R.E.; VOLPATO, G.L. Caution for using ventilatory frequency as an indicator of stress in fish. *Behavioural Processes*, 66:43-51, 2004.

BARRETO, R.E.; BARBOSA JR, A.; URBINATI, E.C.; HOFFMANN, A. Cortisol influences the antipredator behavior induced by chemical alarm cues in the Frillfin goby. *Hormones and Behaviour*, 65:394-400, 2014.

BEECHING, S.C. Functional groups in the social behavior of a cichlid fish, the oscar, *Astronotus ocellatus*. *Behavioural Processes*, 39:85-93, 1997.

BEITINGER, T.L. Behavioral reactions for the assessment of stress in fishes. *Journal of Great Lakes Research*, 16:495-528, 1990.

BELO, M.A.A.; SCHALCH, S.H.C.; MORAES, F.R.; SOARES, V.E.; OTOBONI, A.M.M.B.; MORAES, J.E.R. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish, *Piaractus mesopotamicus*. *Journal of Comparative Pathology*, 133:146-154, 2005.

BELO, M.A.A.; MORAES, J.R.E.; SOARES, V.E.; MARTINS, M.L.; BRUM, C.D.; MORAES, F.R. Vitamin C and endogenous cortisol in foreign-body inflammatory response in pacu. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 47:1015-1021, 2012.

BENAVIDES, L.E.E. Indicadores fisiológicos de estresse e expressão do gene hsp70 em juvenis do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após implante de cortisol. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Aquicultura. Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

BENDHACK, F.; URBINATI, E.C. Mitigating stress effects during transportation of matrinxã (*Brycon amazonicus* Günther, 1869; Characidae) through the application of calcium sulfate. *Journal of Applied Ichthyology*, 25:201-205, 2009.

BILLER, J.D.; BENDHACK, F.; TAKAHASHI, L.S.; URBINATI, E.C. Stress responses in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to repeated air exposure. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 30:89-93, 2008.

BILLER-TAKAHASHI, J.D.; TAKAHASHI, L.S.; URBINATI, E.C. Hemagglutination antibody titers in pacu, *Piaractus mesopotamicus*, as an indicator of acquired immunity. *Ars Veterinaria* 29: 126-131, 2013.

BILLER-TAKAHASHI, J.D.; TAKAHASHI, L.S.; MARZOCCHI-MACHADO, C.M.; ZANUZZO, F.S.; URBINATI, E.C. Disease resistance of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) fed with beta-glucan. *Brazilian Journal of Biology*, 74:698-703, 2014.

BOSHRA, H.; LI, J.; SUNYER, J.O. Recent advances on the complement system of teleost fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 20:239-262, 2006.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. Pond aquaculture water quality management. New York: Springer, 1998.

BUATTI, M.C.; PASTERNAK, G.W. Multiple opiate receptors: phylogenetic differences. *Brain Research*, 218:400-405, 1981.

CANNON, W.B. The wisdom of the body. *Physiological Reviews*, 9: 399-431, 1929.

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther), during transport. *Aquaculture Research*, 32:297-304, 2001.

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Ionic imbalance in matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae), submitted to different hauling densities. *Aquaculture International*, 10:221-229, 2002a.

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Transport with different benzocaine concentrations and consequences on hematological parameters and gill parasite population of matrinxã *Brycon cephalus*. *Acta Scientiarum*, 24:555-560, 2002b.

CASTRO, M.P.; CLAUDIANO, G.S.; BORTOLUZZI, N.L.; GARRIDO, E.; FUJIMOTO, R.Y.; BELO, M.A.A.; SHIMADA, M.T.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Chromium carbochelate dietary supplementation favored the glucocorticoid response during acute inflammation of *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture*, 432:114-118, 2014.

CHAGAS, E.C.; PILARSKI, F.; SAKABE, R.; MORAES, E.F.R. Desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com  $\beta$ -glucano. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48: 899-905, 2013.

CHAGAS, E.C.; ARAUJO, L.D.; BOIJINK, C.L.; INOUE, L.A.K.A.; GOMES, L.C.; MORAES, F.R. Respostas de tambaquis ao estresse por transporte após alimentação com dietas suplementadas com  $\beta$ -glucano. *Revista Biotemas*, 25: 221-227, 2012.

CHANDROO, K.P.; DUNCAN, I.J.H.; MOCCIA, R.D. Can fish suffer? Perspectives on sentience, pain, fear and stress. *Applied Animal Behavior Science*, 86:225-250, 2004.

CHELLAPPA, S.; YAMAMOTO, M.E.; CACHO, M.S.R.F.; HUNTINGFORD, F.A. Prior residence, body size and the dynamics of territorial disputes between male freshwater angelfish. *Journal of Fish Biology*, 55:1163-1170, 1999.

CHERCHOVA, L.S.; LAPSHIN, D.N. Opioid modulation of pain threshold in fish. *Doklady Biological Sciences*, 375:590-591, 2000.

DEMERS, N.E.; BAYNE, J. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Developmental and Comparative Immunology* 21:363-373, 1997.

DHABHAR, F.S. Stress-induced augmentation of immune function - The role of stress hormones, leukocyte trafficking, and cytokines. *Brain, Behavior and Immunity* 16:785-798, 2002.

DAVIS, K.B.; GRIFFIN, B.R.; GRAY, W.L. Effect of dietary cortisol on resistance of channel catfish to infection by *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus disease. *Aquaculture*, 218:121-130, 2003.

DIAS, D.C.; LEONARDO, A.F.G.; TACHIBANA, L.; CORREA, C.F.; BORDON, I.C.A.C.; ROMAGOSA, E.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. Effect of incorporating probiotics into the diet of matrinxã (*Brycon amazonicus*) breeders. *Journal of Applied Ichthyology* 28: 40-45, 2012.

DREBROG, S.; REL SUNDSTROM, G.; LARSSON, T.A. Evolution of vertebrate opioid receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 105:15487-15492, 2008.

DUNLOP, R.; LAMING, P. Mechanoreceptive and nociceptive responses in the central nervous system of goldfish (*Carassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Pain*, 6:561-568, 2005.

DUNLOP, R.; MILLSOPP, S.; LAMING, P. Avoidance learning in goldfish (*Carassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) and implications for pain perception. *Applied Animal Behaviour Science*, 97:255-271, 2006.

EPSMARK, A.M.; ERIKSEN, M.S.; SALTE, R.; BRAASTAD, B.O.; BAKKEN, M. A note on pre-spawning maternal cortisol exposure in farmed Atlantic salmon and its impact on the behaviour of offspring in response to a novel environment. *Applied Animal Behaviour Science*, 110:404-409, 2008.

ESLAMLOO, K.; AKHAVAN, S.R.; FALLAH, F.J.; HENRY, M.A. Variations of physiological and innate immunological responses in goldfish (*Carassius auratus*) subjected to recurrent acute stress. *Fish & Shellfish Immunology*, 37:147-153, 2014.

FAÇANHA, M.F.; GOMES, L.C.A. Eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta Amazonica*, 35:71-75, 2005.

FAGUNDES, M.; URBINATI, E.C. Stress in pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) during farming procedures. *Aquaculture*, 276:112-119, 2008.

FAST, M.D.; SIMS, D.E.; BURKA, J.F.; MUSTAFA, A.; ROSS, N.W. Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular and Integrative Physiology*, 132:645-657, 2002.

FAVERO, G.C.; GIMBO, R.Y.; MONTOYA, L.N.F.; ZANUZZO, F.S.; URBINATI, E.C. Fasting and refeeding lead to more efficient growth in lean pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture*, submetido (maio 2015).

FERNANDES, R.N. Uso de saponina de quilaia (*Quillaja saponaria* Molina) em juvenis de pacu. Tese de doutorado. Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, SP, Brasil, 2014.

FERRAZ, F.B.; GOMES, L.C. Social relationship as inducer of immunological and stress responses in matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 153:293-296, 2009.

FINGER, T.E. Enkephalin-like immunoreactivity in the gustatory lobes and visceral nuclei in the brains of goldfish. *Neuroscience*, 6:2747-2758, 1981.

GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R.F. Psychological stress and welfare in fish. *Annual Review of Biomedical Sciences*, 11:1-20, 2009.

GALHARDO, L.; VITAL, J.; OLIVEIRA, R.F. The role of predictability in the stress response of a cichlid fish. *Physiology & Behavior*, 102:367-372, 2011.

GANECO, L.N. Ontogenia da resposta endócrina em larvas de matrinxã *Brycon amazonicus*. Ênfase nos eixos hipófise-tireóide e hipófise-tecido interrenal. Tese de doutorado. Programa de Pós Graduação em Aquicultura. Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

GARCIA, L.D.O.; BECKER, A.G.; COPATTI, C.E.; BALDISSEROTTO, B.; RADUNZ, J. Salt in the food and water as a supportive therapy for *Ichthyophthirius multifiliis* infestation on silver catfish, *Rhamdia quelen*, fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38:1-11, 2007.

GARCIA, F.; MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Challenge of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fed diets supplemented with vitamins C and E by *Aeromonas hydrophila* under different temperature. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 61:378-385, 2009.

GIESING, E.R.; SUSKI, C.D.; WARNER, R.E.; BELL, A.M. Female sticklebacks transfer information via eggs: effects of maternal experience with predators on offspring. *Proceedings of The Royal Society B*, 278:1753-1759, 2011.

GIMBO, R.Y.; FÁVERO, G.C.; MONTOYA, L.N.F.; URBINATI, E.C. Energy deficit does not affect immune responses of experimentally infected pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 43:295-300, 2015.

GOMES, L.C.; ROUBACH, R.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; CHIPPARI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; URBINATI, E.C. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34:76-84, 2003a.

GOMES, L.C.; ROUBACH, R.; CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; URBINATI E.C. Transport of pirarucu *Arapaima gigas* in a closed system. *Acta Amazonica*, 33:637-642, 2003b.

GOMES, L.C.; BRINN, R.P.; MARCON, J.L.; DANTAS, L.A.; BRANDAO, F.R.; ABREU, J.S.; LEMOS, P.E.M.; MCCOMB, D.M.; BALDISSEROTTO, B. Benefits of using the probiotic Efinol during transportation of cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi* (Schultz), in the Amazon. *Aquaculture Research* 40:157-165, 2009.

GOMES, D.P.; CHAVES, B.W.; BECKER, A.G.; BALDISSEROTTO, B. Water parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture Research*, 42:737-897, 2011.

GONÇALVES, A.F.N.; TAKAHASHI, L.S.; URBINATI, E.C.; BILLER, J.D.; FERNANDES, J.B.K. Transporte de juvenis de curimatã *Prochilodus lineatus* em diferentes densidades. *Acta Scientiarum*, 32:205-211, 2010.

GONZALEZ-NUNES, V.; RODRIGUEZ, R. The zebrafish: a model to study the endogenous mechanisms of pain. *ILAR Journal*, 50:373-385, 2009.

GRINDE, B.; LIE, O.; POPPE, T.; SALTE, R. Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture. *Aquaculture*, 68:299-304, 1988.

HOSHIBA, M.A. Enriquecimento da alimentação das larvas de matrinxã (*Brycon amazonicus*) com aminoácidos. Influência no crescimento inicial e sobrevivência das larvas. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Aquicultura. Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

HOSHIBA, M.A.; GONÇALVES, F.D.; URBINATI, E.C. Respostas fisiológicas de estresse do matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exercício físico intenso, durante a captura. *Acta Amazonica*, 39:445-452, 2009.

HOSHIBA, M.A. Influência do triptofano, da fluoxetina e da paraclorofenilalanina no desenvolvimento inicial e na sobrevivência de larvas de matrinxã. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Aquicultura. Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

HOWES, G. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Bulletin of the British Museum of Natural History and Zoology*, 43:1-47, 1982.

HUNTINGFORD, F.A.; CHELLAPPA, S. Agressão. In: Yamamoto, M.E.; Volpato, G.L. (Ed.). *Comportamento Animal*. Natal: Editora da UFRN, p.157-173, 2006.

HUNTINGFORD, F.A.; ADAMS, C.; BRAITHWAITE, V.A.; KADRI, S.; POTTINGER, T.G.; SANDØE, P.; TURNBULL, J.F. Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology*, 68:332-372, 2006.

IWAMA, G.K. Stress in Fish. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 851:304-310, 1998.

JOBLING, M.; KOSKELA, J. Interindividual variations in feeding and growth in rainbow trout during restricted feeding and in a subsequent period of compensatory growth. *Journal of Fish Biology*, 49:658-667, 1996.

KANTARI, C.; PEDERZOLI-RIBEIL, M.; WITKO-SARSAT, V. The role of neutrophils and monocytes in innate immunity. *Contributions to Microbiology*, 15:118-146, 2008.

KRISTIANSEN, T.S.; FERNÖ, A. Individual behaviour and growth of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) fed sinking and floating feed: evidence of different coping styles. *Applied Animal Behaviour Science*, 104:236-250, 2007.

LEPAGE, O.; LARSON, E.T.; MAYER, I.; WINBERG, S. Serotonin, but not melatonin, plays a role in shaping dominant-subordinate relationships and aggression in rainbow trout. *Hormones and Behavior*, 48:233-242, 2005.

LI, X.F.; TIAN, H.Y.; ZHANG, D.D.; JIANG, G.Z.; LIU, W.B. Feeding frequency affects stress, innate immunity and disease resistance of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*. *Fish & Shellfish Immunology*, 38:80-87, 2014.

LOCHMANN, S.E.; PERSCHBACHER, P.W.; MERRY, G.E.; FIJAN, N. Aggressive biting among channel catfish in pool studies. *The Progressive Fish-Culturist*, 60:119-126, 1998.

MAGNADOTTIR, B. Innate immunity of fish (overview). *Fish & Shellfish Immunology*, 20:137-151, 2006.

MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; MIYAZAKI, D.M.; BRUM, C.D.; ONAKA, E.M.; FENERICK, J.; BOZZO, F.R. Alternative treatment for *Anacanthorus penilabialis* (Monogenea: Dactylogyridae) infection in cultivated pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil and its haematological effects. *Parasite*, 9:175-180, 2002.

MARTINS, C.I.M.; HILLEN, B.; SCHRAMA, J.W.; VERRETH, J.A.J. A brief note on the relationship between residual feed intake and aggression behaviour in juveniles of African catfish *Clarias gariepinus*. *Applied Animal Behaviour Science*, 111:408-413, 2008.

MARTINS, C.I.M.; GALHARDO, L.; NOBLE, C.; DAMSGÅRD, B.; SPEDICATO, M.T.; ZUPA, W.; BEAUCHAUD, M.; KULCZYKOWSKA, E.; MASSABUAU, J.C.; CARTER, T.; PLANELLAS, S.R.; KRISTIANSEN, T. Behavioural indicators of welfare in farmed fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38:17-41, 2012.

MAULE, A.G.; SCHRECK, C.B. Stress and cortisol treatment changed affinity and number of glucocorticoid receptors in leukocytes and gill of coho salmon. *General and Comparative Endocrinology*, 84:83-93, 1991.

MAURI, I.; ROMERO, A.; ACERETE, L.; MACKENZIE, S.; ROHER, N.; CALLOL, A.; CANO, I.; ALVAREZ, M.C.; TORT, L.. Changes in complement responses in Gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) under crowding stress, plus viral and bacterial challenges. *Fish & Shellfish Immunology*, 30:182-188, 2011.

MENEZES, G.C.; TAVARES-DIAS, M.; ONO, E.A.; ANDRADE, J.I.; BRASIL, E.M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C.; MARCON, J.L.; AFFONSO, E.G. The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu, *Arapaima gigas*, in net culture. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 145:274-279, 2006.

MIYAI, C.A.; SANCHES, F.H.C.; COSTA, T.M.; COLPO, K.D.; VOLPATO, G.L.; BARRETO, R.E. The correlation between subordinate fish eye colour and received attacks: a negative social feedback mechanism for the reduction of aggression during the formation of dominance hierarchies. *Zoology*, 114:335-339, 2011.

MILLSOPP, S.; LAMING, P. Trade-offs between feeding and shock avoidance in goldfish (*Carassius auratus*). *Applied Animal Behaviour Science*, 113:247-254, 2007.

MOMMSEN, T.P.; VIJAYAN, M.M.; MOON, T.W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9:211-268, 1999.

MONTEDOR, A.P.; GIMBO, R.Y.; WOLKERS, C.P.B.; URBINATI, E.C. Dietary tryptophan mitigates the cortisol elevation during crowding stress in juvenile matrinxã (*Brycon amazonicus*). Neotropical Ichthyology, submetido (maio 2015).

MOURIÑO, J.L.P.; VIEIRA, F.N.; JATOBÁ, A.; SILVA, B.C.; JESUS, G.F.A.; SEIFFERT, W.Q.; MARTINS, M.L. Effect of dietary supplementation of inulin and W. cibaria on haemato-immunological parameters of hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp). Aquaculture Nutrition 18: 73-80, 2012.

NAKAO, M.; TSUJIKURA, M.; ICHIKI, S.; V.O, T.K.; SOMAMOTO, T., The complement system in teleost fish: progress of post-homolog-hunting researches. Developmental and Comparative Immunology, 35:1296-1308, 2011.

NARDOCCI, G.; NAVARRO, C.; CORTES, P.P.; IMARAI, M.; MONTOYA, M.; VALENZUELA, B.; JARA, P.; ACUNA-CASTILLO, C.; FERNANDEZ, R. Neuroendocrine mechanisms for immune system regulation during stress in fish. Fish and Shellfish Immunology, 40:531-538, 2014.

NEWBY, N.C.; STEVENS, E.D. The effects of the acetic acid “pain” test on feeding, swimming, and respiratory responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Applied Animal Behaviour Science, 114:260-269, 2008.

NDONG, D.; CHEN, Y.Y.; LIN, Y.H.; VASEEHARAN, B.; CHEN, J.C. The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures. Fish & Shellfish Immunology, 22:686-694, 2007.

NIKOSKELAINEN, S.; LEHTINEN, J.; LILIUS, E.M. Bacteriolytic activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) complement. Developmental and Comparative Immunology, 26:797-804, 2002.

NORDGREEN, J.; GARNER, J.P.; JANCZAK, A.M.; RANHEIM, B.; MUIR, W.M.; HORSBERG, T.E. Thermonociception in fish: effects of two different doses of morphine on the thermal threshold and post-test behavior in goldfish (*Carassius auratus*). Applied Animal Behavior Science, 119:101-107, 2009.

OTTAVIANI, E.; FRANCHESHI, C. The neuroimmunology of stress from invertebrates to man. Progress in Neurobiology, 48:421-440, 1996. (errata publicada em Progress Neurobiology, 49:285, 1996)

ØVERLI, Ø.; HARRIS, C.A.; WINBERG, S. Short-term effects of fights for social dominance and the establishment of dominant-subordinate relationships on brain monoamines and cortisol in rainbow trout. Brain Behavior and Evolution, 54:263-275, 1999.

ØVERLI, Ø.; SØRENSEN, C.; NILSSON, G.E. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? Physiology & Behavior, 87:506-512, 2006.

PAHOR FILHO, E. Eficácia do levamisol como imunoestimulante, redutor de estresse e antiparasitário no pacu. Tese de doutorado. Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, SP, Brasil, 2015.

- PALAKSHA, K.J.; SHIN, G.W.; KIM, Y.R.; JUNG, T.S. Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 24:479-488, 2008.
- PARRA, M.A.L. Efeito da triiodotironina (T3) no desenvolvimento embrionário e no desempenho das larvas de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) e dourado (*Salminus maxillosus*). Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Aquicultura. Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- PLYTYCZ, B.; FLORY, C. M.; GALVAN, I.; BAYNE, C. J. Leukocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pronephros cell-types producing superoxide anion. *Developmental and Comparative Immunology*, 13:217-224, 1989.
- PORTAVELLA, M.; VARGAS, J.P.; TORRES, B.; SALAS, C. The effects of telencephalic pallial lesions on spatial, temporal, and emotional learning in goldfish. *Brain Research Bulletin*, 57:397-399, 2002.
- PORTAVELLA, M.; TORRES, B.; SALAS, C. Avoidance response in goldfish: emotional and temporal involvement of medial and lateral telencephalic pallium. *Journal of Neuroscience*, 24:2335-2342, 2004.
- POTTINGER, T.G. The Stress response in fish – Mechanisms, effects and measurement. In: Branson, E.J. (Ed.). *Fish Welfare*. Oxford: Blackwell Publishing, p.32-48, 2008.
- PUVANENDRAN, V.; BROWN, J.A. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different light intensities and photoperiods. *Aquaculture*, 214:131-151, 2002.
- RAUTA, P.R.; NAYAK, B.; DAS, S. Immune system and immune responses in fish and their role in comparative immunity study: A model for higher organisms. *Immunology Letters*, 148:23-33, 2012.
- REINER, A.; NORTH CUTT, R.G. An immunohistochemical study of the telencephalon of the African lungfish, *Protopterus annectens*. *Journal of comparative Neurology*, 256:463-481, 1987.
- ROBERTS, R.J. Nutritional Pathology. In: HARDY, J.E.H.W. (Ed.). *Fish Nutrition*. San Diego: Academic Press, p.453-504, 2003.
- ROCHA, R.M.; CARVALHO, E.G.; URBINATI, E.C. Physiological responses associated with capture and crowding stress in matrinxã, *Brycon cephalus*, (Gunther, 1869), Teleostei: Characidae. *Aquaculture Research*, 35:245-249, 2004.
- ROSE, D.J. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. Review in *Fisheries Science*, 10:1-38, 2002.
- ROSE, J.D. Anthropomorphism and mental welfare of fishes. *Diseases of Aquatic Organisms*, 75:139-154, 2007.
- ROSE, J.D.; AELINGHAUS, R.; COOKE, S.J.; DIGGLES, B.K.; SAWYNOK, W.; STEVENS, E.D.; WYNNE, C.D.L. Can fish really feel pain? *Fish and Fisheries*, 15:97-133, 2012.
- RUANE, N.M., NOLAN, D.T.; ROTLLANT, J.; COSTELLO, J.; WENDELAAR BONGA S.E. Experimental exposure of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to the



infective stages of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* influences the physiological response to an acute stressor. *Fish & Shellfish Immunology* 10:451-463, 2000.

SABIONI, R.E. Estresse e imuno-modulação por  $\beta$ -glucano em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) Tese de doutorado. Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, Brasil, 2014.

SADO, R.Y.; BICUDO, A.J.A.; CYRINO, J.E.P. Dietary levamisole influenced hematological parameters of juvenile pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887). *Journal of World Aquaculture Society* 41:66-75, 2010.

SANTOS, G.M.; FERREIRA, E.J.G.; ZUANON, J.A.S. Peixes comerciais de Manaus. 1ª ed. Manaus: ProVárzea, 2006.

SAPOLSKY, R.M. The influence of social hierarchy on primate health. *Science*, 308:648-652, 2005.

SAURABH, S.; SAHOO, P.K. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 39:223-239, 2008.

SCHRECK, C.B. Accumulation and long-term effects of stress in fish. In: MOBERG, G.P.; MENCH, J.A. (Ed.). *The biology of animal stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. Nova Iorque: CABI Publications, p.147-158, 2000.

SCHULMAN, J.A.; FINGER, T.E.; BRECHA, N.C.; KARTEN, H.J. Enkephalin immunoreactivity in Golgi cells and mossy fibers of mammalian, avian, amphibian and teleost cerebellum. *Neuroscience*, 6:2407-2416, 1981.

SECOMBES, C.J.; HARDIE, L.J.; DANIELS, G. Cytokines in fish: An update. *Fish & Shellfish Immunology*, 6:291-304, 1996.

SECOMBES, C.J.; WANG, T. The innate and adaptive immune system of fish. In: AUSTIN, B. (Ed.). *Infectious Disease in Aquaculture: Prevention and Control*. Sawston: Woodhead Publishing Limited, p.3-68, 2012.

SERRA, M.; WOLKERS, C.P.B.; URBINATI, E.C. Novelty of the arena impairs the cortisol-related increase in the aggression of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Physiology & Behavior*, 141:51-57, 2015.

SERRA, M.; WOLKERS, C.P.B.; HOSHIBA, M.A.; URBINATI, E.C. Physiological responses of piau (*Leporinus friderici*, Bloch 1794) to transportation. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40:2641-2645, 2011.

SILVA, J.W.B. Biologia e cultivo do apaiari, *Astronotus ocellatus* (Cuvier, 1829) Swainson, 1839. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.) *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: Editora UFSM, p.363-392, 2006.

SLAVÍK, O.; MACIAK, M.; HORKY, P. Shelter use of familiar and unfamiliar groups of juvenile European catfish *Silurus glanis*. *Applied Animal Behaviour Science*, 142:116-123, 2012.

SNEDDON, L.U. Anatomical and electrophysiological analysis of the trigeminal nerve in a teleost fish, *Oncorhynchus mykiss*. *Neuroscience Letters*, 319:167-171, 2002.

SNEDDON, L.U. The evidence for pain perception in fish: the use of morphine as an analgesic. *Applied Animal Behaviour Science*, 83:153-162, 2003a.

SNEDDON, L.U. Trigeminal somatosensory innervation of the head of the rainbow trout with particular reference to nociception. *Brain Research*, 972:44-52, 2003b.

SNEDDON, L.U.; BRAITHWAITE, V.A.; GENTLE, J.M. Do fish have nociceptors: evidence for the evolution of a vertebrate sensory system. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 270:115-1122, 2003c.

STRIEDTER, G.F. *Principles of Brain Evolution*. 1ª ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc, 2005.

TAKAHASHI, L.S.; BILLER, J.D.; CRISCUOLO-URBINATI, E.; URBINATI, E.C. Feeding strategy with alternate fasting and refeeding: Effects on farmed pacu production. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95:259-266, 2011.

TAKAHASHI, L.S.; ABREU, J.S.; BILLER, J.D.; URBINATI, E.C. Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 28:469-475, 2006.

TAKAHASHI, L.S.; BILLER-TAKAHASHI, J.D.; URBINATI, E.C. Physiological response to *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) infection by pacu, *Piaractus mesopotamicus*, subjected to short cycles of food restriction and refeeding. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45:567-576, 2014.

TORT, L. Stress and immune modulation in fish. *Developmental and Comparative Immunology* 35:1366-1375, 2011.

TURNER, G.F. Territory dynamics and cost of reproduction in a captive population of the colonial nesting mouthbrooder *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Journal of Fish Biology*, 29:573-587, 1986.

URBINATI, E.C.; ABREU, J.S.; CAMARGO, A.C.S.; LANDINES, M.A. Loading and transport stress in juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*) at various densities. *Aquaculture*, 229:389-400, 2004.

URBINATI, E.C.; SARMIENTO, S.J.; TAKAHASHI, L.S. Short-term cycles of feed deprivation and refeeding promote full compensatory growth in the Amazon fish matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Aquaculture*, 433:430-433, 2014a.

URBINATI, E.C.; ZANUZZO, F.S.; CRISCUOLO-URBINATI, E. Estratégias para redução do estresse e enfermidades na piscicultura. In: MADI, R.R.; DE CAMPOS, C.M.; LIZAMA, M.A.P.; TAKEMOTO, R.M. (Ed.). *Patologia e Sanidade em Ambientes Aquáticos*. Maringá: Massoni/ABRAPOA, 2014b.

VALLARINO, M. Occurrence of  $\beta$ -endorphin-like immunoreactivity in the brain of the teleost, *Boops boops*. *General and Comparative Endocrinology*, 60:63-69, 1985.

VECINO, E.; PINUELA, C.; AVARELO, R.; LARA, J.; ALONSO, J.R. Distribution of enkephalin-like immunoreactivity in the central nervous system of rainbow trout: an immunocytochemical study. *Journal of Anatomy*, 180:435-453, 1992.

VELASCO, E.M.F.; LAW, P.Y.; RODRIGUEZ, R.E. Mu opioid receptor from the zebrafish exhibits functional characteristics as those of mammalian Mu opioid receptor. *Zebrafish*, 6:259-268, 2009.

VERBURG-VAN KEMENADE, B.M.L., STOLTE, E.H., METZ, J.R., CHADZINSKA, M. Neuroendocrine-immune interactions in teleost fish. *Fish Physiology*, 28:313-364, 2009.

VERLHAC, V.; GABAUDAN, J.; OBACH, A.; SCHUEP, W.; HOLE, R. Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 143:123-133, 1996.

VERLHAC, V.; GABAUDAN, J. 1997. The effect of vitamin C on fish health. In: Roche Technical Bulletin. Basel: Hoffmann-La Roche Ltd.

VERLHAC, V.; OBACH, J.; GABAUDAN, J.; SCHUEP, W.; HOLE, R. Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 8:409-424, 1998.

VIEIRA, V.L.; LOPES, P.R.S. Aspectos da biologia, reprodução e manejo da traíra (*Hoplias malabaricus*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.) Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Editora UFSM, p.287-302, 2006.

YANO, T. The nonspecific immune system: humoral defence. In: Iwama, G.; Nakanishi, T. (eds). *The fish immune system: organism, pathogen and environment*. San Diego: Academic Press, p.105-157, 1996.

WEINGARTNER, M.; ZANIBONI FILHO, E. Dourado. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.) Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Editora UFSM, p.257-286, 2013.

WELKER, T.L.; MCNULTY, S.T.; KLESIOUS, P.H. Effect of sublethal hypoxia on the immune response and susceptibility of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to enteric septicemia. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38:12-23, 2007.

WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77:591-625, 1997.

WHITEAR, M. The free nerve endings in fish epidermis. *Journal of Zoology*, 163:231-236, 1971.

WOLKERS, C.P.B.; SERRA, M.; HOSHIBA, M.A.; URBINATI, E.C. Dietary L-tryptophan alters aggression in juvenile matrinxã *Brycon amazonicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38:819-827, 2012.

WOLKERS, C.P.B.; SERRA, M.; SZAWKA, R.E.; URBINATI, E.C. The time course of aggressive behaviour in juvenile matrinxã *Brycon amazonicus* fed with dietary L-tryptophan supplementation. *Journal of Fish Biology*, 84:45-57, 2014.

WOLKERS, C.P.B.; BARBOSA-JUNIOR, A.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L.; HOFFMANN, A. Stress-induced antinociception in fish reversed by naloxone. *PLoS ONE* 8:171-175, 2014.

WOLKERS, C.P.B.; BARBOSA-JUNIOR, A.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L.; HOFFMANN, A. Acute administration of a cannabinoid CB1 receptor antagonist impairs stress-induced antinociception in fish. *Physiology and Behavior*, 141:37-41, 2015a.

WOLKERS, C.P.B.; BARBOSA-JUNIOR, A.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L.; HOFFMANN, A. GABAA-benzodiazepine receptors in the dorsomedial (Dm) telencephalon modulate restraint-induced antinociception in the fish *Leporinus macrocephalus*. *Physiology and Behavior*, 147:175-182, 2015b.

ZANUZZO, F.S.; BILLER-TAKAHASHI, J.D.; URBINATI, E.C. *Aloe vera* improves the respiratory activity of leukocytes of matrinxã (*Brycon amazonicus*) during the transport stress. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41: 2299-2302, 2012.

ZANUZZO, F.S. Ação moduladora do cortisol e da aloe vera no sistema imune inato de peixes. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Aquicultura. Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.

ZANUZZO, F.; ZAIDEN, S.F.; SENHORINI, J.A.; MARZOCCHI- MACHADO, C.M.; URBINATI, E.C. *Aloe vera* bath improved physical and humoral protection in breeding stock of matrinxã (*Brycon amazonicus*) after induced spawning. *Fish and Shellfish Immunology*, 45:132-140, 2015.

ZANUZZO, F.S.; ODA G.M.; SENHORINI, J.A.; HOSHIBA, M.A.; ZAIDEN, S.F.; URBINATI, E.C. Hepatic and blood changes in matrinxã (*Brycon amazonicus*) breeders during induced spawning. *Theriogenology* (submetido em abril).

ZION, B. The use of computer vision technologies in aquaculture – A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 88:125-132, 2012.

## AUTORES

**Adriana KazueTakako**

Universidade Federal de Tocantins (UFT), Colegiado de Biologia,  
Araguaína - TO - Brasil.

Email: adrianaktakako@gmail.com

**Adriano Teixeira de Oliveira**

Instituto Federal do Amazonas (IFAM), Presidente Figueiredo – AM -  
Brasil.

Email: adriano.oliveira@ifam.edu.br

**Alan Cristian Dozo Martins**

Universidade do Estado do Amapá (UEAP), Macapá - AP - Brasil.

Email: cristian.ap@outlook.com

**Alexandre Aires de Freitas**

Embrapa Aquicultura e Pesca, Palmas – TO – Brasil

Email: alexandre.freitas@embrapa.br

**Alexandre Nizio Maria**

Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju - SE - Brasil.

Email: alexandre.maria@embrapa.br

**Alexandre Renato Pinto Brasiliense**

Universidade do Estado do Amapá (UEAP), Macapá - AP - Brasil.

Email: arbrasiliense@hotmail.com

**Alexssandro Geferson Becker**

Pós-doutorando do Centro de Ciências do Mar, CCMAR/

Universidade do Algarve/ Faro- Portugal/

Email: alexssandrobecker@gmail.com

**Alfeu Ferraz Filho**

Instituto Federal do Amazonas (IFAM), Manaus - AM - Brasil.

Email: alfeu.filho@hotmail.com

**Aline Cristina Zago**

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biotecnologia,  
Departamento de Parasitologia. Campus de Botucatu. Botucatu - SP -  
Brasil.

Email: alinecristhina@yahoo.com.br

**Alitieni Moura Lemos Pereira**

Embrapa Tabuleiros Costeiros, Parnaíba - PI - Brasil.

Email: alitieni.pereira@embrapa.br

**Ana Lúcia Gomes**

Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Departamento de  
Biologia, Manaus -AM - Brasil.  
Email: anapaima@gmail.com

**Ana Lúcia Salaro**

Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Animal,  
Viçosa - MG - Brasil.  
Email: salaro@ufv.br

**Anderson Domingues Gomes**

Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR - Brasil  
email: andersondgo@hotmail.com

**Antonielson Silva Castelo**

Universidade do Estado do Amapá (UEAP), Macapá - AP - Brasil.  
Email: antonielsonsc@hotmail.com

**Araceli Hackbarth**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de  
Genética e Evolução (DGE), São Carlos - SP - Brasil.  
Email: arinhahack@yahoo.com.br

**Arlene Sobrinho Ventura**

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Dourados –  
MS- Brasil.  
Email: arlenesventura@gmail.com

**Beatriz Cardoso Roriz**

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados - MS  
Brasil.  
Email:beatrizroriz@hotmail.com

**Bernardo Baldisserotto**

Departamento de Fisiologia e Farmacologia/ Universidade Federal de  
Santa Maria/Santa Maria-RS, Brasil  
Email: bbaldisserotto@hotmail.com

**Berta Maria Heinzmann**

Departamento de Farmácia Industrial/ Universidade Federal de Santa  
Maria/Santa Maria-RS, Brasil  
Email: berta.heinzmann@gmail.com

**Brenna Cetina Ferreira de Carvalho**

mestranda em Recursos Naturais da Amazônia/ Universidade Federal  
do Oeste do Pará/Santarém-Brasil  
Email: brenna\_ferreira@hotmail.com

**Bruna Marjara Picanço da Silva**

Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), Macapá - AP- Brasil.

Email: brunismarjara@hotmail.com

**Bruno Correa da Silva**

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, Centro de Desenvolvimento em Aquicultura e Pesca (CEDAP), Florianópolis – SC – Brasil.

Email: brunosilva@epagri.sc.gov.br

**Camila Aparecida Pigão Soares**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Genética e Evolução, São Carlos - SP - Brasil.

Email: capigao@gmail.com

**Carla Patrícia Bejo Wolkers**

Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, UFU - Universidade Federal de Uberlândia. Av. João Naves de Ávila, 2121, Campus Santa Mônica, CX 593, 38408-100, Uberlândia, MG, Brasil.

Email: carlawolkers@yahoo.com.br

**Claudinei da Cruz**

Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB), Barretos - SP - Brasil.

Email: claudineicruz@gmail.com

**Daniel Abreu Vasconcelos Campelo**

Universidade Estadual de Maringá, Maringá – PR – Brasil.

E-mail: danielcampelo.agro@gmail.com

**Daniella Aparecida de Jesus Paula**

Universidade Federal de Lavras, Departamento de Medicina Veterinária, Lavras - MG – Brasil.

Email: daniufla2002@yahoo.com.br

**Danielly Veloso Blanck**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Genética e Evolução (DGE), São Carlos - SP - Brasil.

Email: dany.peixegen@gmail.com

**Edison Barbieri**

Instituto de Pesca (APTA- SAASP), Governo do Estado de São Paulo, Cananeia – SP – Brasil.

E-mail: edisonbarbieri@yahoo.com.br

**Edsandra Campos Chagas**

Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus – AM - Brasil.

Email: edsandra.chagas@embrapa.br

**Elen Monique de Oliveira Sousa**

Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas (ICTA), Santarém - PA - Brasil.  
Email: monique.olis@hotmail.com

**Eliane Tie Oba Yoshioka**

Embrapa Amapá, Macapá - AM - Brasil.  
Email: eliane.yoshioka@embrapa.br

**Elisabeth Criscuolo Urbinati**

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP - Univ Estadual Paulista - UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, 14.884-900, Jaboticabal, São Paulo.  
Email: bethurb@fcav.unesp.br

**Emilly Kataline Rodrigues Pessoa**

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Centro de Biociências, Laboratório de Ictiologia, Natal – RN - Brasil.  
E-mail: emillykataline.ufrn@hotmail.com

**Erika da Silva Maciel**

Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA), Palmas – TO - Brasil  
Email:erikasmaciel@ceulp.edu.br

**Estefânia de Souza Andrade**

Universidade Federal de Lavras. Departamento de Medicina Veterinária, Campus Universitário. Lavras - MG – Brasil.  
Email: esandrade@bol.com.br

**Fabio de Jesus Castro**

Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Universitário de Araguaína, Araguaína – TO - Brasil.  
E-mail: fabiojcastro@uft.edu.br

**Fábio Mendonça Diniz**

Embrapa Meio-Norte, Teresina - PI - Brasil.  
Email: fabio.diniz@embrapa.br

**Fábio Sabbadin Zanuzzo**

Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), UNESP - Univ Estadual Paulista - UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, 14.884-900, Jaboticabal, São Paulo.  
Email: fabioszanuzzo@gmail.com

**Fabiola Helena dos Santos Fogaça**

Embrapa Meio-Norte, Parnaíba - PI - Brasil.  
Email: fabiola.fogaca@embrapa.br



**Felipe do Nascimento Vieira**

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de Camarões marinhos, Barra da Lagoa – SC – Brasil.

Email: felipe.vieria@ufsc.br

**Fernanda Dias de Moraes**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Genética e Evolução (DGE), São Carlos - SP - Brasil.

Email:fer.diasmoraes@gmail.com

**Fernanda Menezes França**

Polo Regional do Vale do Paraíba/Apta, Pindamonhangaba – SP – Brasil.

Email: fernandaranicultura@hotmail.com

**Fernando Fabrizzi**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Genética e Evolução (DGE), São Carlos - SP - Brasil.

Email: ferfabrizzi@hotmail.com

**Flavia Sant'anna Rios**

Universidade Federal do Paraná (UFP), Departamento de Biologia Celular. Curitiba - PR - Brasil.

Email: flaviasrios@ufpr.br

**Flávio Ruas de Moraes**

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Departamento de Patologia Veterinária, Jaboticabal – SP – Brasil.

Email:fruas Moraes@gmail.com

**Francine Perri Venturini**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Genética e Evolução (DGE), São Carlos - SP - Brasil.

Email: francineventurini@gmail.com

**Gabriela Tomas Jerônimo**

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, Laguna - SC - Brasil.

Email:gabrielatj@gmail.com

**Gabryella Gomes Rodrigues**

Universidade Federal do Tocantins (UFT). Campus Universitário de Araguaína. Araguaína – TO - Brasil.

E-mail: gaby.g2@hotmail.com

**Galileu Crovatto Veras**

Universidade Federal do Pará (UFPA), Instituto de Estudos Costeiros, Bragança - PA - Brasil.

Email:galileu@ufpa.br

**Geraldo Bernardino**

Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Departamento de Biologia, Manaus -AM - Brasil.

Email: gbsecpesca@ig.com.br

**Gilberto Moraes**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Genética e Evolução (DGE), São Carlos - SP - Brasil.

Email:gibaufscar@gmail.com

**Gustavo A. Rojas**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Genética e Evolução (DGE), São Carlos – SP – Brasil.

Email:matamba2@yahoo.com.br

**Hellen Christina de Almeida Kato Garcia**

Embrapa Aquicultura e Pesca, Palmas – TO – Brasil

Email: hellen.almeida@embrapa.br

**Hugo Napoleão Pereira da Silva**

mestrando em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos/  
Universidade Federal do Oeste do Pará/Santarém-PA, Brasil/

Email: hugonapoleao@ymail.com

**Ive Marchioni Avilez**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Genética e Evolução (DGE), São Carlos – SP - Brasil.

Email:iveavilez@yahoo.com

**Jackson Pantoja Lima**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Presidente Figueiredo - AM - Brasil.

Email:jackson.lima@ifam.edu.br

**Jaydione Luiz Marcon**

Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Instituto de Biologia, Laboratório de Fisiologia, Manaus – AM - Brasil.

Email: jlmarcon@ufam.edu.br

**Jane Lopes Mello**

Universidade Federal do Maranhão, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (UFMA), Chapadinha – MA – Brasil.

Email: janemello@hotmai.com

**Janna Laely dos Santos Maia**

mestranda em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos/  
Universidade Federal do Oeste do Pará/Santarém-PA,Brasil/

Email: janna\_maia@hotmail.com

**Jener Alexandre Sampaio Zuanon**

Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG – Brasil.

E-mail: jenerzuanon@gmail.com

**João Avelar Magalhães**

Embrapa Meio-Norte, Parnaíba - PI – Brasil.

Email: joao.magalhaes@embrapa.br

**Joaquim Alberto Leite dos Santos Junior**

Instituto Federal do Amazonas (IFAM), Presidente Figueiredo – AM – Brasil.

Email: alsjr@hotmail.com

**José Cláudio Epaminondas dos Santos**

Centro Integrado de Recursos Pesqueiros e Aquicultura de Três Marias, Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (Codevasp), Três Marias – MG – Brasil.

E-mail: jose.claudio@codevasf.gov.br

**José Luiz Pedreira Mourinho**

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS), Florianópolis – SC – Brasil.

Email: mourino@lcm.ufsc.br

**Julieta Rodini Engrácia de Moraes**

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias e Centro de Aquicultura (Caunesp), Jaboticabal – SP – Brasil.

Email: juliet engracia@gmail.com

**Katina Roumbedakis**

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS), Florianópolis – SC – Brasil.

Email: katina.roumbedakis@gmail.com

**Kleber Campos Miranda Filho**

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Departamento de Zootecnia, Laboratório de Aquicultura (LAQUA), Belo Horizonte – MG – Brasil

Email: kleber08@gmail.com

**Leandro Fernandes Damasceno**

Embrapa Amapá, Macapá – AP – Brasil.

Email:leandro.damasceno@embrapa.br

**Lenise Vargas Flores da Silva**

Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas/ Universidade Federal do Oeste do Pará/Santarém-PA, Brasil

Email: lenise.silva@ufopa.edu.br

**Lidiane Franceschini**

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências,  
Departamento de Parasitologia, Botucatu – SP – Brasil.

Email: lidiane franceschini@yahoo.com.br

**Luciana Araújo Montenegro**

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Centro de  
Biociências, Laboratório de Ictiologia - RN – Brasil.

Email: luciannamontenegro@yahoo.com.br

**Luciana C. Almeida**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de  
Genética e Evolução (DGE), São Carlos – SP – Brasil.

Email: recadolucianaalmeida@gmail.com

**Luis David Solis Murgas**

Universidade Federal de Lavras, Departamento de Medicina  
Veterinária, Lavras – MG - Brasil.

Email: lsmurgas@dmv.ufla.br

**Luiza Dy Fonseca Costa**

Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Laboratório de  
Hidroquímica, Campus Carreiros - Rio Grande - Brasil-

Email: luiza\_dy@hotmail.com

**Marcela Alves Santuci**

Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus de Araguaína,  
Araguaína – TO – Brasil.

Email: ma.santuci@bol.com.br

**Marcelo Duarte Pontes**

Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro, Rio de  
Janeiro – RJ – Brasil.

E-mail: marcelodpontes@gmail.com

**Márcia Mayumi Ishikawa**

Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna – SP – Brasil.

Email: marcia.ishikawa@embrapa.br

**Márcio Luís Pontes Bernardo da Silva**

Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão, São Luís –  
MA – Brasil.

Email: marcioufrpe@hotmail.com

**Marcos Ferreira Brabo**

Universidade Federal do Pará (UFPA), Instituto de Estudos Costeiros,  
Bragança – PA - Brasil.

Email: mbrabo@ufpa.br

**Marcos Tavares-Dias**

Embrapa Amapá, Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos,  
Macapá – AP – Brasil.  
Email:marcos.tavares@embrapa.br

**Maria Urbana Correa Nunes**

Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju – SE – Brasil.  
Email: maria-urbana.nunes@embrapa.br

**Mariana Forgati**

Universidade Federal do Paraná (UFP), Programa de Pós-Graduação  
em Biologia Celular e Molecular, Curitiba – PR - Brasil.  
Email:mforgati@gmail.com

**Marisa Narciso Fernandes**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos – SP – Brasil.  
Email:dmnf@ufscar.br

**Maurício Laterça Martins**

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de  
Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS), Florianópolis – SC –  
Brasil.  
Email: mauricio.martins@ufsc.br

**Mauro Alves da Cunha**

Departamento de Fisiologia e Farmacologia/Universidade Federal de  
Santa Maria/Santa Maria-RS, Brasil  
Email: mauroalves\_@hotmail.com

**Mônica Rodrigues Ferreira Machado**

Universidade Federal de Goiás (UFG), Campus Jatáí, Jatáí - GO –  
Brasil.  
Email: monicavet2@hotmail.com

**Mônica Serra**

Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), UNESP - Univ  
Estadual Paulista - UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo Donato  
Castelane, 14.884-900, Jaboticabal, São Paulo.  
Email: monicaserra.bio04@gmail.com

**Natália da Costa Marchiori**

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural (EPAGRI),  
Camboriú – SC - Brasil.  
Email: namarchiori@gmail.com

**Natália Sayuri Shiogiri**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos – SP –  
Brasil.  
Email:shiogiri@gmail.com

**Naisandra Bezerra da Silva**

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Centro de  
Biotecnologias, Laboratório de Ictiologia - RN – Brasil.

Email: naisandra@ufrnet.br

**Nirley Hirachy Costa Barros**

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Centro de  
Biotecnologias, Laboratório de Ictiologia - RN – Brasil.

Email: nirleyhirachy@hotmail.com

**Norha Bolivar**

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de  
Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS), Florianópolis – SC –  
Brasil.

Email: norhabolivar@yahoo.com

**Paulo César Falanghe Carneiro**

Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju – SE – Brasil.

Email: paulo.carneiro@embrapa.br

**Paulo Henrique Rocha Aride**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas  
(IFAM), Presidente Figueiredo – AM - Brasil.

Email: aride@ifam.edu.br

**Patrícia Oliveira Maciel**

Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas – TO – Brasil.

Email: patricia.maciel@embrapa.br

**Priscila Adriana Rossi**

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de  
Genética e Evolução (DGE), São Carlos – SP - Brasil.

Email: prirossi.bio05@gmail.com

**Radson Rogerton dos Santos Alves**

Secretaria Executiva de Pesca e Aquicultura do Estado do Amazonas/  
SEPA/SEPROR. Manaus – AM – Brasil.

Email: gbsecpesca@ig.com.br

**Rafael Estevan Sabioni**

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ,  
Universidade de São Paulo – USP. Av. Pádua Dias, Vila  
Independência, 13418-260, Piracicaba, SP, Brasil.

Email: rsabioni@gmail.com

**Rafaella de Aguiar Costa**

Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), Programa de Pós-  
Graduação em Biodiversidade Tropical, Macapá, AP – Brasil.

E-mail: rafa.aguiar@gmail.com

**Rayza Lima Araújo**

Instituto Federal do Amazonas (IFAM). Campus Presidente Figueiredo. Presidente Figueiredo – AM – Brasil.  
Email: rayza.araujo@ifam.edu.br

**Reinaldo José da Silva**

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Departamento de Parasitologia, Botucatu – SP – Brasil.  
E-mail: reinaldo@ibb.unesp.br

**Ricardo Bezerra de Oliveira**

Instituto de Ciências da Educação/ Universidade Federal do Oeste do Pará/Santarém-PA, Brasil  
Email: rbo@ufpa.br

**Rodrigo Garófallo Garcia**

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados – MS – Brasil.  
E-mail: rodrigogarcia@ufgd.edu.br

**Rodrigo Maciel Calvet**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhã (IFMA), Caxias – MA – Brasil.  
Email:rodrigocalvet@hotmail.com

**Rodrigo Numeriano de Sousa**

mestre em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos/  
Universidade Federal do Oeste do Pará/Santarém-PA,Brasil/  
Email: rodrigonumeriano@uol.com.br

**Rodrigo Yudi Fujimoto**

Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju – SE – Brasil.  
Email: rodrigo.fujimoto@embrapa.br

**Rodrigo Takata**

Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro, Laboratório de Reprodução e Larvicultura de Peixes, Cordeiro – RJ – Brasil.  
E-mail: takatarodrigo@gmail.com

**Ronald Kennedy Luz**

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Laboratório de Aquicultura, Belo Horizonte – MG – Brasil.  
E-mail: luzrk@yahoo.com

**Rosa Helena Veras Mourão**

Instituto de Saúde Coletiva/ Universidade Federal do Oeste do Pará/Santarém-PA, Brasil  
Email: mouraorhv@yahoo.com.br

**Sandra Maria Pereira da Silva**

Polo Regional do Vale do Paraíba/Apta, Pindamonhangaba – SP – Brasil.

Email: sandrasilva@apta.sp.gov.br

**Sandro Estevan Moron**

Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Universitário de Araguaína. Araguaína – TO – Brasil.

E-mail:sandromoron@uft.edu.br

**Sandro Loris Aquino-Pereira**

Embrapa Roraima, Boa Vista – RR – Brasil.

E-mail: sandro.loris@embrapa.br

**Santiago Benites de Pádua**

Aquivet - Saúde Aquática, São José do Rio Preto – SP - Brasil.

E-mail: santiagopadua@quivet.com.br

**Scheila Annelise Pereira**

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS), Florianópolis – SC - Brasil.

Email: chepereira@gmail.com

**Sergio Henrique Canelo Schalch**

Polo Regional do Vale do Paraíba/Apta, Pindamonhangaba – SP – Brasil.

Email: sschalch@hotmail.com

**Sathyabama Chellappa**

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Centro de Biociências, Laboratório de Ictiologia - RN – Brasil.

Email: chellappa.sathyabama63@gmail.com

**Suelen Miranda dos Santos**

Instituto Federal do Amazonas (IFAM), Presidente Figueiredo – AM – Brasil.

Email: suelen.santos@ifam.edu.br

**Thaís Danyelle Santos Araújo**

Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus Ministro Reis Velloso, Parnaíba – PI – Brasil.

Email: thaisdanyl@hotmail.com

**Valéria Gelli**

Instituto de Pesca – APTA, Governo do Estado de São Paulo, Núcleo de Pesquisa do Litoral Norte Sul. SP – Brasil.

E-mail: valeriangelli@pesca.gov.br



**Valéria Rossetto Barriviera Furuya**

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR – Brasil.

E-mail: vrbfuruya@uepg.br

**Viviane de Oliveira Felizardo**

Universidade Federal de Lavras, Departamento de Medicina Veterinária, Lavras - MG – Brasil.

E-mail: viviofbio@yahoo.com.br

**Wagner dos Santos Mariano**

Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Universitário de Araguaína. Araguaína – TO – Brasil.

Doutorando da REDE BIONORTE/UNIFAP, Macapá – AP – Brasil.

E-mail: wagnermariano@uft.edu.br

**Waldinete Lobato**

mestranda em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos/  
Universidade Federal do Oeste do Pará/Santarém-PA, Brasil

Email: waldi\_stm@hotmail.com

**Walter Quadros Seiffert**

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis – SC – Brasil.

Email: walter.seiffert@ufsc.br

**Wilson Massamitu Furuya**

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR – Brasil.

E-mail: wmfuruya@uepg.br