



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO (MESTRADO) EM ECOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE - PPGECEB

REBECA RAMOS SOUSA

**SANIDADE EM PISCICULTURAS EM TUTOIA - MARANHÃO: Avaliação da
qualidade da água, alterações branquiais e identificação de espécies fúngicas em
peixes**

**São Luís – MA
2022**

REBECA RAMOS SOUSA

**SANIDADE EM PISCICULTURAS EM TUTÓIA - MARANHÃO: Avaliação da
qualidade da água, alterações branquiais e identificação de espécies fúngicas em
peixes**

Dissertação apresentada em cumprimento
às exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ecologia e Conservação
da Biodiversidade da Universidade
Estadual do Maranhão.

Orientador(a): Prof. Dra. Ilka Márcia
Ribeiro Serra

Co-Orientador(a): Prof. Dra. Nancyleni
Pinto Chaves Bezerra

**São Luís – MA
2022**

Sousa, Rebeca Ramos.

Sanidade em pisciculturas em Tutóia – Maranhão / Rebeca Ramos Sousa. – São Luís, 2022.

100 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Estadual do Maranhão, 2022.

Orientadora: Profa. Dra. Ilka Márcia Ribeiro Serra.

1.Micologia. 2.Biopatologia. 3.Microbiologia. 4.Aquicultura. I.Título.

CDU: 639.3(812.1)

REBECA RAMOS SOUSA

**SANIDADE EM PISCICULTURAS EM TUTÓIA - MARANHÃO: Avaliação da
qualidade da água, alterações branquiais e identificação de espécies fúngicas em
peixes**

Dissertação apresentada em cumprimento
às exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ecologia e Conservação
da Biodiversidade da Universidade
Estadual do Maranhão.

Aprovada em: ____/____/____

Banca examinadora



Profa. Dra. Dr. Ilka Márcia Ribeiro Serra (Orientadora)
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade (UEMA)



Profa. Dra. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade (UEMA)
2º Examinador



Prof. Dra. Izabel Cristina da Silva Almeida Funo
Instituto Federal do Maranhão (IFMA/Campus São Luís - Maracaná)
3º Examinador

“Por maior que sejam seus sonhos, o sonho de Deus é maior. Ele sabe o que você pede, mas o que Ele quer dar é melhor!”

Robson Fonseca

A Deus,
que é meu alicerce.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder a vida, e sempre estar ao meu lado guiando-me e por me proteger.

Aos meus pais, Ronaldo Sousa e Rosário Ramos, por todos os ensinamentos desde criança, pela força dada, companhia, amor incondicional, carinho, esforço e muita felicidade. A meu irmão, Ronaldo Filho, pelos momentos de alegria e amizade.

Ao meu amigo Manoel Cléber, por me apresentar esse mundo do Mestrado e por sempre me auxiliar na vida acadêmica.

À todos os professores que transmitiram conhecimento, em especial a minha orientadora, Prof. Dra. Ilka Serra que com sabedoria, atenção, simpatia e presteza, me ajudou a desenvolver esse trabalho. Além de me apresentar profissionais que fizeram a diferença e me incentivaram a multiplicar meus conhecimentos, como o Prof. Dr. Thiago Anchieta e a Ingrid Nascimento.

Por isso, agradeço ao Laboratório de Microbiologia, Patologia e Biotecnologia (UEMA), por todo apoio e estrutura, onde pude contar com Nathália Guimarães e Raquel Martins. Agradeço ao Laboratório de Fisiologia Animal (UEMA) pelo apoio da Profa. Dra. Débora Santos e da Jovita Pereira.

Agradeço a minha coorientadora, prof. Dra. Nancyleni Bezerra pela competência e todo conhecimento compartilhado, que através do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água, tive ensinamentos importantes junto com a Greicy.

Agradeço ao Prof. Dr. Ícaro e os Prof. Jucivan por fornecer materiais importantes desta pesquisa. A Prof. Dra. Izabel Funo, que tão gentilmente aceitou participar da banca examinadora e colaborar com esta dissertação.

Aos meus colegas da turma, agradeço em especial a Kelly, Marcelo e Denise, pela parceria, revisões, questionamentos e discussões sempre tão produtivas.

Agradeço ao piscicultor, Sr. Jeová, pela receptividade que viabilizou o desenvolvimento de toda pesquisa.

Agradeço ao querido deputado Cleber Verde que através de uma oportunidade profissional, flexível na carga horária, pude realizar de forma mais tranquila minha pesquisa. Conte também com o apoio do Ex-Presidente Junior Verde do Instituto de Colonização e Terras do Maranhão e dos amigos servidores.

A todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram para a realização deste estudo.

RESUMO

Neste estudo objetivou-se avaliar a sanidade em pisciculturas através da qualidade da água, alterações branquiais e identificação de espécies fúngicas em peixes cultivados no Maranhão. Foram coletadas amostras de água, 26 peixes para a caracterização das patologias fúngicas em duas pisciculturas (P1 e P2) e 10 peixes para análise das brânquias em uma piscicultura (P1). Os produtores foram entrevistados a partir de um questionário semiestruturado para investigar sobre o manejo e a sanidade dos peixes. Foram também verificados nas pisciculturas por meio do equipamento multiparâmetro: potencial hidrogeniônico (pH), temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg/l^{-1}) e condutividade (uS/cm). A amônia e o nitrito foram aferidos pelo kit de análise de água (LabconTest). O parâmetro transparência (cm) foi realizado pelo Disco de Secchi. As análises microbiológicas da água para determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli* foram realizadas com a utilização do método Colilert®. As brânquias dos peixes foram retiradas para análise de lesões histológicas e isolamento fúngico. O arco branquial direito de cada peixe foi removido e fixado em formalina a 10% por 24 a 48 horas, descalcificados em ácido nítrico a 10% e submetidos ao processamento histológico de desidratação, diafanização, impregnação e inclusão em parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo ($5\mu\text{m}$) e os cortes corados com hematoxilina e eosina. As lâminas foram analisadas em microscópio de luz Zeiss. O isolamento fúngico das amostras de brânquias e peles dos peixes foi feito em meio de cultivo BDA (batata-dextrose-ágar) acrescido de clorafenicol. As alterações histológicas foram avaliadas por meio do cálculo do Índice de Alteração Histológica (IAH). Quanto aos resultados obtidos verificou-se valores de temperatura e pH considerados dentro dos padrões recomendados. O oxigênio dissolvido verificado pode ser um fator de estresse para o peixe, porque foi abaixo do recomendado. Já a condutividade foi elevada, o que pode sugerir poluição na água. O nitrito ficou acima do recomendado. Foi verificada a presença de coliformes totais, na água. A presença da bactéria *E. coli* foi verificada próximo do valor de referência, indicando possível contaminação fecal da água do viveiro pela criação de animais de pasto próximo do local. Os gêneros fúngicos isolados foram *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp., fungos produtores de micotoxinas, principalmente na pele. Nas análises da histológicas foram verificadas lesões branquiais do estágio I, II e III em ambas as coletas, indicando alterações moderadas do órgão.

Palavras-chave: Micologia. Biopatologia. Microbiologia. Aquicultura.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate health in fish farms through water quality, gill changes and identification of fungal species in fish farmed in Maranhão. Water samples were collected from 26 fish for the characterization of fungal pathologies in two fish farms (P1 and P2) and 10 fish for analysis of the gills in a fish farm (P1). Producers were interviewed using a semi-structured questionnaire to investigate fish management and health. The following were also verified in fish farms using the multiparameter equipment: hydrogenion potential (pH), temperature (°C), dissolved oxygen (mg/l-1) and conductivity (uS/cm). Ammonia and nitrite were measured using the water analysis kit (LabconTest). The transparency parameter (cm) was performed using the Secchi disk. The microbiological analyzes of the water to determine the Most Probable Number (MPN) of total coliforms and *Escherichia coli* were performed using the Colilert® method. The fish gills were removed for analysis of histological lesions and fungal isolation. The right gill arch of each fish was removed and fixed in 10% formalin for 24 to 48 hours, decalcified in 10% nitric acid and subjected to histological processing of dehydration, diaphanization, impregnation and paraffin embedding. The blocks were cut in a microtome (5µm) and the sections stained with hematoxylin and eosin. The slides were analyzed under a Zeiss light microscope. Fungal isolation from fish gills and skin samples was performed in PDA (potato-dextrose-agar) culture medium plus chlorphenicol. Histological changes were evaluated by calculating the Histological Change Index (HAI). As for the results obtained, temperature and pH values considered within the recommended standards were verified. The dissolved oxygen verified can be a stress factor for the fish, because it was below the recommended. The conductivity was high, which may suggest water pollution. The nitrite was above the recommended. The presence of total coliforms in the water was verified. The presence of *E. coli* bacteria was verified close to the reference value, indicating possible fecal contamination of the pond water by grazing animals near the site. The fungal genera isolated were *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp., mycotoxin-producing fungi, mainly on the skin. In the histological analysis, stage I, II and III gill lesions were observed in both collections, indicating moderate changes in the organ.

Keywords: Mycology. Biopathology. Microbiology. Aquaculture.

LISTA DE FIGURAS

(CAPÍTULO I)

Figura 1. Mapa da localização das áreas de estudo nos municípios de Tutóia, MA. 2021.....	18
Figura 2. Pisciculturas onde foram realizadas as coletas, sendo P1 e P2 no município de Tutóia, MA. 2021.....	19
Figura 3. Coleta das amostras de peixes em criatório localizado em Tutóia, MA. 2021.....	20
Figura 4. A: procedimento de remoção de amostra da pele do peixe. B: Retirada da brânquia.....	21
Figura 5. Procedimento de verter meio de cultura BDA.....	23
Figura 6. Conservação em água destilada estéril.....	24
Figura 7. Materiais utilizados para tombamento.....	25

(CAPÍTULO II)

Figura 1. Mapa da região de estudo no município de Tutóia, Maranhão, Brasil..	56
Figura 2. Fotomicrografias de brânquias de <i>Oreochromis</i> sp. capturados na piscicultura de Tutóia, Maranhão, Brasil.....	60

(CAPÍTULO III)

Figura 1. Mapa da localização das áreas de estudo nos municípios de Tutóia, MA. 2021.....	80
--	-----------

Figura 2. Distribuição dos gêneros <i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp. e <i>Rhizopus</i> sp. nas pisciculturas analisadas na primeira coleta	84
Figura 3. Distribuição dos gêneros <i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp. e <i>Rhizopus</i> sp. nas pisciculturas analisadas na segunda coleta	81
Figura 4. Distribuição das espécies fúngicas encontradas nas peles e brânquias dos peixes analisados.....	85

LISTA DE TABELAS

(CAPÍTULO I)

Tabela 1. Relação de agentes etiológicos, hospedeiros e métodos utilizados para identificação de trabalhos desenvolvidos no estado do Maranhão no período de 2010 a 2020.....	33
--	-----------

(CAPÍTULO II)

Tabela 1. Dados dos parâmetros abióticos e microbiológicos da água coletada na piscicultura de Tutóia, Maranhão, Brasil.....	59
Tabela 2. Frequências em porcentagem de alterações histológicas em brânquias de <i>Oreochromis</i> sp. capturados na piscicultura de Tutóia, Maranhão, Brasil.....	62

(CAPÍTULO III)

Tabela 1. Caracterização sanitária dos cultivos de peixes em Tutóia (P1 e P2), Maranhão, Brasil.....	83
---	-----------

LISTA DE SIGLAS

BDA	Batata-dextrose-ágar
BOD	<i>Biological Oxygen Demand</i>
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
FAPEMA	Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão
NMP	Número Mais Provável
OD	Oxigênio Dissolvido
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1	Revisão bibliográfica referente aos patógenos em peixes	17
2.2	Área da coleta	17
2.3	Coleta de peixes em piscicultura	19
2.4	Processamento das amostras	20
2.5	Análise histopatológica das brânquias dos peixes coletados	21
2.6	Análise da água dos cultivos	22
2.7	Isolamento dos fungos	22
2.8	Caracterização morfológica dos isolados	24
2.9	Tombamento das amostras	25
3	RESULTADOS	26
3.1	PATÓGENOS EM PEIXES DE AMBIENTES NATURAIS E DE CULTIVO NO ESTADO DO MARANHÃO: UMA VISÃO GERAL E PERSPECTIVA PARA PESQUISA	27
	Resumo	28
	Introdução	30
	Metodologia	31
	Resultados e Discussão	32
	Considerações finais	41
	Referências	42
3.2	QUALIDADE DA ÁGUA E HISTOPATOLOGIA DE TILÁPIAS (<i>Oreochromis</i> sp.) PROVENIENTES DE CRIATÓRIOS DO MUNICÍPIO DE TUTÓIA, NORDESTE DO BRASIL	52
	Resumo	53
	Introdução	53
	Material e métodos	55
	Área de coleta	55

Coleta e processamento das amostras	56
Análise histopatológica das brânquias dos peixes	57
Análise da água dos criadouros	57
Resultados	58
Discussão	63
Conclusão	69
Conflito de interesses	69
Referências	69
3.3 AVALIAÇÃO DA SANIDADE E IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES FÚNGICAS EM PEIXES DE PISCICULTURAS DE TUTÓIA, MARANHÃO	77
Resumo	78
Introdução	78
Material e métodos	80
Área da coleta	80
Coleta e processamento das amostras	81
Resultados	82
Caracterização sanitária dos cultivos de peixes	82
Identificação das espécies fúngicas	84
Discussão	86
Conclusão	88
Referências	89
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
REFERÊNCIAS	91
APÊNDICES	93
APÊNDICE A	94
APÊNDICE B	96

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura está entre as cadeias de produção de proteína animal que mais se destaca, com crescimento rápido nos últimos anos, contribuindo de forma relevante para a geração de emprego e renda, reduzindo assim, os índices de pobreza e fome no mundo, de acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura - FAO (2020).

Apesar de possuir número rudimentar quando comparado com a China, Vietnã, Índia e Indonésia, que são grandes produtores aquícolas mundiais, o Brasil é considerado um dos países com maior potencial para o desenvolvimento da aquicultura, por possuir clima favorável, disponibilidade hídrica, com , 5,5 milhões de hectares de lâmina d'água em reservatórios públicos, 12% da água doce do planeta, um litoral de 8.500 km, uma Zona Econômica Exclusiva-ZEE de 4,5 milhões de km² e espécies aquáticas de interesse mercadológico (SOUZA et al., 2022).

A Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO) estima que a produção total de peixes deve aumentar para 204 milhões de toneladas em 2030, em relação a 2018 haverá um aumento de 15%. A aquicultura expandiu rapidamente em todo o mundo nos últimos 50 anos, sendo o setor de produção de alimentos com crescimento em média de 5,3% ao ano desde a virada do século (FAO, 2020).

Grande parte da produção aquícola está dirigida a mercados estrangeiros muito competitivos que dependem mais da tecnologia que da mão de obra humana. A aquicultura emprega oficialmente 356 mil pessoas na região, porém mais de dois milhões e 80 mil pessoas se dedicam a pesca (FAO, 2018).

Estima-se ainda que existam mais de 500 mil famílias que dependem da aquicultura de pequena escala para a própria segurança alimentar e nutricional, e renda familiar na região. Sendo fundamental apoiar os pequenos pescadores artesanais da América Latina e Caribe, já que não é apenas a maioria, mas também exerce um papel chave na vulnerabilidade alimentar da região e na sustentabilidade do setor pesqueiro (FAO, 2018).

Infecções bacterianas, viróticas, parasitárias e fúngicas são consideradas fatores naturais de morte de peixes. Os surtos de doenças de causa microbiológica raramente resultam de um único fator, sendo, portanto, necessárias três condições para que as doenças ocorram, sendo elas: o ambiente favorável, um hospedeiro suscetível e

um agente patógeno. Nesse contexto, os fungos são agentes de doenças infecciosas que contribuem para o aumento da mortalidade de peixes na natureza (MEYER; BARCLAY, 2009).

A nutrição inadequada, injúrias físicas, transporte e manejo em condições inadequadas de temperatura podem favorecer as infecções (PERNAMBUCO, 2015). O controle da água e o manejo adequado da piscicultura são práticas indispensáveis para o sucesso da atividade, a fim de evitar que esses animais sejam acometidos por doenças causadas por microorganismos. Somado a isso, o conhecimento acerca dos principais agentes patogênicos é imprescindível para a adoção de técnicas acertadas de controle de doenças (LOPES, 2012). Alguns estados brasileiros apresentam cadeias de produção em estágios mais avançados de estruturação, sendo autossustentáveis no que diz respeito aos insumos básicos e na capacidade de beneficiamento, enquanto outros são menos competitivos e necessitam de maiores investimentos (BRABO et al., 2016).

Em 2021, o Brasil produziu cerca de 841.000 toneladas de peixes de cultivo, como peixes nativos, tilápia e outras espécies. Esse resultado representa crescimento de 4,7% sobre a produção de 2020, que produziu 802.930 toneladas. No Maranhão, a comercialização de peixes de cultivo sofreu os impactos da pandemia, em 2021. A produção também não evoluiu em comparação a 2020, mesmo os produtores mantendo durante o ano todo os viveiros com peixes em ponto de comercialização, eles não conseguiram alavancar suas vendas. Como consequência desse cenário, a produção não aumentou (queda de 2,5%), como vinha ocorrendo nos últimos anos (PEIXEBR, 2022).

A cidade de Tutóia no Maranhão é destaque na produção de alevinos, com 5420 milheiros em quantidade e valor de R\$ 607,04 de produção, sendo o 4º maior município do estado com essa prática em 2020 e possui essa, como culturas de subsistência predominante para sobrevivência das comunidades locais, um dos motivos para importância de intervenções na área (IBGE, 2021).

Assim as hipóteses desse estudo serão: 1) H0 (Hipótese de nulidade) – Sanidade de peixes cultivados possivelmente não é influenciada pelo manejo inadequado, pela qualidade da água dos cultivos e das rações utilizadas; 2) H1 (Hipótese alternativa) – Sanidade de peixes cultivados possivelmente é influenciada pelo manejo inadequado, pela qualidade da água dos cultivos e das rações utilizadas.

A identificação e caracterização morfológica desses gêneros fúngicos é algo incomum na área da piscicultura. A taxonomia de microorganismos e a determinação do tipo específico de um fungo são medidas imprescindíveis para a adoção de técnicas

efetivas de manejo de micoses em viveiros de criação. Assim, identificar e caracterizar espécies microbianas de pisciculturas maranhenses se configura como o ponto de partida para o entendimento da dinâmica desses ecossistemas e serve de base para a elaboração de medidas de manejo eficientes em sistemas aquícolas.

Não existem na literatura, informações suficientes acerca da importância das doenças e perdas causadas por fungos na piscicultura brasileira, tanto em animais de produção como ornamentais. Nesse cenário, o trabalho de Pinheiro *et al.* (2015) que avaliaram a qualidade da água e a incidência de fungos em peixes oriundos de pisciculturas do município de São Luís, Maranhão, foi um dos pioneiros no tema, sendo identificadas oito espécies pertencentes aos gêneros *Acremonium*, *Rizopus*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, e um gênero importante economicamente para a piscicultura, o oomiceto *Saprolegnia*.

O município de Tutóia, bem como todo o estado do Maranhão, abriga algumas pisciculturas administradas por pequenos produtores e, além de haver poucos estudos que avaliaram o controle de qualidade praticado nesses criadouros, também não existe qualquer informação sobre a qualidade sanitária desses locais de criação e muito menos, sobre a sanidade desses animais.

Dessa forma destacamos que o objetivo geral do estudo foi avaliar a sanidade em pisciculturas através da qualidade da água, alterações branquiais e identificação de espécies fúngicas em peixes no Maranhão. Tendo como objetivos específicos: realizar análises físico-químicas e microbiológicas da água de pisciculturas, analisar possíveis alterações histológicas em brânquias de peixes e determinar as espécies fúngicas nos cultivos.

Assim, o trabalho foi distribuído em capítulos para melhor estruturação da temática selecionada. O primeiro capítulo trata da introdução, hipótese e objetivos do trabalho, dando prosseguimento, discorre-se no segundo capítulo sobre o material e métodos utilizados na pesquisa, enfatizando a caracterização do local da pesquisa, instrumentos e coletas de dados, processamento das amostras, isolamento dos fungos, caracterização morfológica dos resultados, análise histopatológica das brânquias dos peixes coletados e análise das águas dos cultivos. O terceiro capítulo é apresentado os resultados através com três artigos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Revisão bibliográfica referente aos patógenos em peixes

A pesquisa bibliográfica envolveu o levantamento de informações referentes aos anos de 2010 a 2020, o que representa informações sobre patógenos em peixes. Foi realizada uma busca nos bancos de dados do *Web of Science*, *Google Acadêmico*, *Pubmed*, *ASFA*, *Scopus e SciELO*, com os descritores diferentes dependendo dos patógenos abordados, da seguinte forma: (i) bacterioses os unitermos “aeromonas”, “flavobacterium”, “flexibacter”, “yersinia”, “edwardsiella”; (ii) monogenóides os termos “monogenea”, “monogenea”; (iii) crustáceos ectoparasitos os unitermos “isópodes”, “ectoparasitas”, “braquiúros”, “argulus”, “dolops”, “Perulernaea”; (iv) para fungos “doenças fúngicas”, “fungo”, “piscicultura”, “saprolegnia”; (v) nematóides “nematoda”; (vi) protozoários “protozoa”; e, (vii) vírus os termos “vírus”, “doenças”. Independentes do patógeno pesquisado foram associadas às palavras + “fish” + “Maranhão” para limitar a área de estudo.

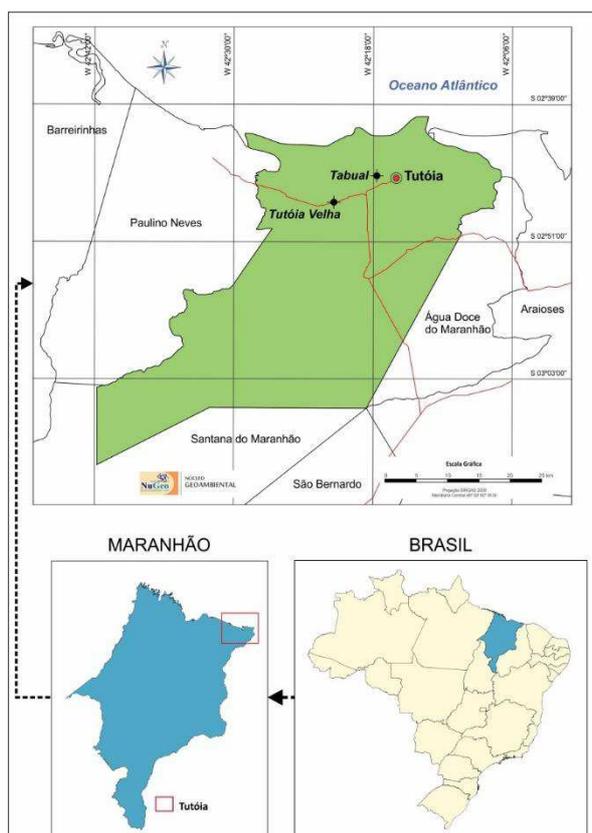
Os critérios utilizados para seleção das pesquisas foram a abordagem do tema pesquisado restrito ao estado do Maranhão, artigo completo, publicados nos idiomas português, inglês ou espanhol, no período de 2010 a 2020.³

Foram obtidos 65 artigos sobre bacterioses, 116 sobre monogenea, 45 sobre fungos, 13 sobre crustáceos ectoparasitas, um sobre protozoários, dois sobre mixosporídeos, 50 sobre os nematóides e cinco sobre vírus, onde por meio dos critérios empregados no levantamento bibliográfico, e após a leitura do título e resumo para enquadramento da área geográfica escolhida, foram selecionados 29 trabalhos (oito de bacterioses, três de monogeneas, dez de fungos, três de nematódeos, um de protozoários, dois de mixosporídeos, nove de ectoparasitas crustáceos e três de vírus); em seguida, este número foi reduzido a 12 (quatro de bacterioses, três de monogeneas, um de fungos, dois de nematódeos, um de protozoários, dois de mixosporídeos), a partir dos critérios de exclusão do trabalho.

2.2 Área de coleta

O estudo foi realizado em Tutóia (Figura 1), município do Maranhão que apresenta uma área territorial de 1.566,080 km² (IBGE, 2020). A cidade possui o cerrado como bioma predominante (IBGE, 2019) e está localizado na Mesorregião Norte Maranhense e na Região de Planejamento dos Lençóis Maranhenses, próximo ao Delta do Rio Parnaíba (SANTOS; FERREIRA, 2016).

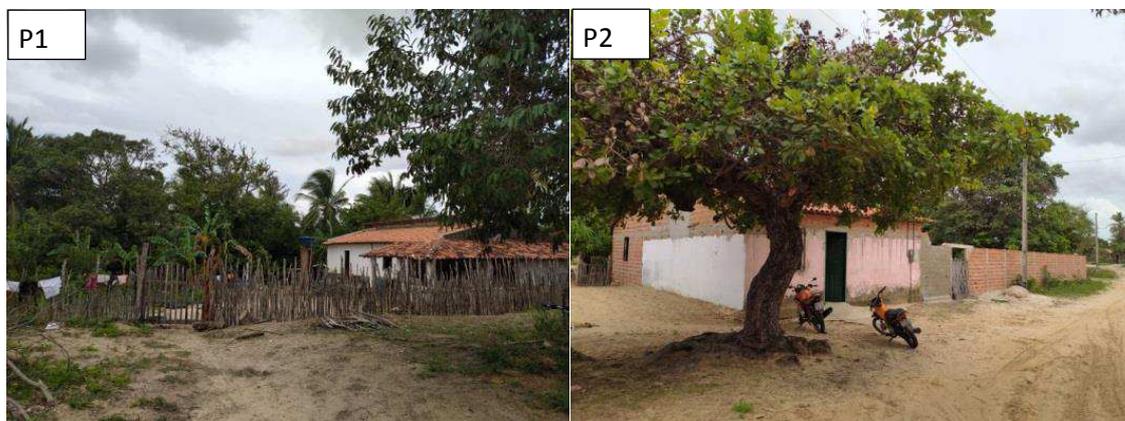
Figura 1. Mapa da localização das áreas de estudo nos municípios de Tutóia, MA. 2021.



Fonte: NUGEO/UEMA, 2021.

As coletas ocorreram em duas pisciculturas localizadas nos pontos de coordenadas 02° 47' 31,17" S 42° 21' 25,46" W e 02° 45' 34,14" S 42° 17' 56,41" W (Figura 2).

Figura 2. Pisciculturas (P1 e P2) localizadas no município de Tutóia – MA, integrantes do estudo para avaliação da sanidade de peixes. 2021.



Fonte: Dados originais da pesquisa.

2.3 Coleta de peixes em pisciculturas

As coletas do material para análise foram feitas em duas pisciculturas localizadas em pontos distintos em Tutóia. Inicialmente os produtores assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A), para serem entrevistados com a utilização de um questionário semi-estruturado (Apêndice B) para verificar espécies de peixes de maior interesse econômico em cada região, época de maior incidência de doenças e doenças que mais tem afetado a produção. Esse estudo foi submetido ao comitê de ética em pesquisas que envolvem seres humanos, bem como ao comitê de ética em pesquisa animal pela Universidade Estadual do Maranhão (Protocolo N° 05/2021) e também ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (Cadastro N° A6F84A1).

Os resultados dos questionários foram categorizados e tabulados utilizando o Microsoft Office 2019. De acordo com os resultados do questionário aplicado, as espécies de peixes de maior interesse foram coletadas com auxílio de tarrafa e puçá, posteriormente foram depositadas em sacos plásticos esterilizados e em caixas térmicas de poliestireno (isopor) contendo gelo.

Para a coleta das amostras de água dos criatórios foram coletadas em frascos estéreis (500 mL) e o procedimento de coleta constituiu na imersão dos frascos a uma profundidade de 80 cm abaixo da superfície, seguido do acondicionadas em gelo.

Figura 3. Coleta das amostras de peixes em criatório localizado em Tutóia, MA. 2021.



Fonte: Dados originais da pesquisa.

O material coletado foi transportado para os laboratórios de Microbiologia pertencente a Universidade Estadual do Maranhão, UEMA, Campus São Luís, para o processamento das amostras.

2.4 Processamento das amostras

No laboratório de Microbiologia do Curso de Ciências Biológicas – UEMA, os peixes tiveram a sua pele e brânquias retiradas com o auxílio de pinças, lâminas e tesouras esterilizadas. Em seguida, uma parte do material foi colocada em sacos plásticos esterilizados e conduzidos para o isolamento e identificação fúngica. A parte restante das brânquias foi encaminhada ao Laboratório de Fisiologia Animal do Curso de Ciências Biológicas, UEMA e submetida à análise histopatológica.

Figura 4. Procedimento de retiradas de amostras biológicas em peixe da espécie *Oreochromis* sp.: A: remoção de fragmento de pele. B: retirada da brânquia.



Fonte: Dados originais da pesquisa

2.5 Análise histopatológica das brânquias dos peixes coletados

Os arcos branquiais direito dos peixes foram encaminhados ao Laboratório de Fisiologia Animal da UEMA, São Luís, Maranhão, em que foram submetidos às etapas de clivagem, com objetivo de diminuir o tamanho das amostras de brânquias e, posteriormente, de descalcificação em ácido nítrico a 10% por seis horas. Em seguida, as amostras foram submetidas ao processamento histológico, sendo desidratadas em soluções de alcoóis crescentes (70%, 80%, 90% e 100%), diafanizadas em xilol, impregnadas e incluídas em parafina histológica. Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo em 5µm e os cortes corados por Hematoxilina e Eosina. As lâminas histológicas foram analisadas em microscópio de luz Zeiss, em que foram identificadas alterações histopatológicas branquiais.

As alterações histológicas foram classificadas em três estágios de severidade de acordo com Poleksic e Mitrovic - Tutundzic (1994), em que alterações de estágio I não comprometem o funcionamento da brânquia; de estágio II são mais severas e prejudicam o funcionamento normal do órgão; e de estágio III consideradas muito severas e irreversíveis.

As alterações histológicas foram avaliadas semiquantitativamente para cada peixe, através do Índice de Alteração Histológica (IAH), de acordo com Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994), usando a fórmula $IAH = 1 \times \Sigma I + 10 \times \Sigma II + 100 \times \Sigma III$, em que I, II e III, correspondem, respectivamente, as alterações de estágio I, II e III. O valor médio do IAH por coleta foi classificado em cinco categorias: 0-10 = indica

funcionamento normal da brânquia; 11-20 = indica alteração leve do órgão; 21-50 = indica alteração moderada do órgão; 51-100 = indica alterações severas no órgão; >100 = indicam alterações irreparáveis no órgão (POLEKSIC; MITROVIC – TUTUNDZIC, 1994).

2.6 Análise da água dos cultivos

As análises físico-químicas da água foram realizadas *in loco* utilizando equipamento multiparâmetros e foram avaliados: temperatura (°C), pH, oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹) e condutividade (uS/cm). Além disso, foi realizada a análise de amônia (mg/L) e nitrito (ppm) que foi feito através de um kit de análise de água (LabconTest).

Para verificar a transparência (cm) da água que permite indicar a concentração da população planctônica (fitoplâncton e zooplâncton), foi utilizado o instrumento denominado Disco de Secchi.

A metodologia para a determinação do número mais provável de coliformes totais e *Escherichia coli*, foi o teste do substrato enzimático cromogênico (ONPG) e fluorogênico (MUG), que quantifica simultaneamente C. totais e *E. coli* (APHA, 2005).

De cada amostra colhida, 90 mL de água foi vertido em frascos esterilizados contendo o meio de cultura à base de sais e fontes de carbono e nitrogênio e dois nutrientes específicos: orto-nitrofenil β-D-galactopiranosídeo (ONPG) para diferenciação dos organismos que apresentam as enzimas de fermentação lactose β-galactosidase, que são os Coliformes totais e o 4-metilumbeliferil-β-D-glicuronidase (MUG), para diferenciação de *E. coli*, que apresenta a enzima β-glicuronidase. Em seguida, o meio foi distribuído em cartelas Quanti-Tray que foram seladas e incubadas em estufa bacteriológica a 35±0,5 °C, por 24 horas. As amostras coliformes positivas foram detectadas visualmente pelo aparecimento de coloração amarela no meio de cultura e após contagem dos cubos amarelos a interpretação do NMP em tabela de conversão própria. A presença de *E. coli* foi observada pela fluorescência quando exposta a luz UV de 6 w, ondas longas de 365nm e o NMP foi interpretado de forma semelhante ao realizado para coliformes.

2.7 Isolamento dos fungos

O isolamento do tecido coletado foi realizado segundo metodologia adaptada de Menezes e Assis (2004), Tartor et al. (2018), Nascimento et al. (2019). Dessa forma, fragmentos da pele e brânquias dos peixes amostrados foram desinfestados por imersão em solução de etanol 70% por 15 s, seguida de uma solução de hipoclorito de sódio na concentração 3:1 (v/v) por 15 s e finalmente, em água destilada e autoclavada, por 30 s. Após o último passo, os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultivo BDA (batata-dextrose-ágar) com cloranfenicol. Estas foram incubadas em câmaras tipo B.O.D. (*Biological Oxygen Demand*), ajustada para gerar uma temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h.

Figura 5. Procedimento de verter meio de cultura BDA.



Fonte: Dados originais da pesquisa

Com o crescimento de estruturas miceliais provenientes do patógeno, as colônias dos fungos foram codificadas e as culturas puras preservadas em tubos de ensaio, contendo meio de cultivo BDA, sendo preservadas em refrigeração de 5 °C. Além da preservação em água destilada, chamada de Método de Castellani (CASTELLANI, 1939 apud FIGUEIREDO, 1967) que consiste em armazenar pequenos discos (aproximadamente 6 mm) do fungo com o meio BDA em tubos de Eppendorf contendo, aproximadamente, 0,8 mL de água destilada esterilizada e autoclavada em câmara de fluxo laminar. Após a transferência da cultura para o tubo, esse é fechado com sua tampa

própria hermética e com papel filme pvc previamente esterilizado, o que também evita a perda de água (NETO et al., 2019). Esse método tem com finalidade tornar as colônias na micoteca da UEMA.

Figura 6. Conservação em água destilada estéril.



Fonte: Dados originais da pesquisa.

2.8 Caracterização morfológica dos isolados

Para os estudos morfológicos, os isolados foram corados com azul de Amann para que as estruturas fossem examinadas microscopicamente em lâminas quanto à

presença de blastosporos, hifas, pseudo-hifas, clamidosporos e artrósporos, adotando a metodologia de Tartor et al. (2018).

2.9 Tombamento das amostras

No Laboratório de Biodiversidade Molecular (LaBiMol) da UEMA foi realizado o processo de tombamento e alguns espécimes de peixes serão depositados como vouchers para estudos morfológicos futuros.

Figura 7. Materiais utilizados para tombamento.



Fonte: Dados originais da pesquisa.

3. RESULTADOS

Os resultados desta dissertação serão apresentados em três artigos. O primeiro artigo refere-se a uma revisão bibliográfica que envolve o levantamento de informações referentes aos patógenos em peixes. No segundo artigo, anseia-se mostrar os resultados das análises físico-química e microbiológica da água coletada nos criatórios juntamente com as alterações branquiais encontradas nos peixes. No terceiro artigo, almeja-se mostrar os resultados referentes aos questionários aplicados nas pisciculturas e os táxons fúngicos identificados a partir de amostras de peles e brânquias dos peixes.

3.1 PATÓGENOS EM PEIXES DE AMBIENTES NATURAIS E DE CULTIVO NO ESTADO DO MARANHÃO: UMA VISÃO GERAL E PERSPECTIVAS PARA PESQUISA

Artigo publicado na Revista Research, Society and Development em 17 de junho de 2021

**Patógenos em peixes de ambientes naturais e de cultivo no estado do Maranhão:
uma visão geral e perspectivas para pesquisa**
**Pathogens in fish from natural and farmed environments in the state of
Maranhão: an overview and perspectives for research**
**Patógenos en peces de ambientes naturales y de cultivo en el estado de Maranhão:
una visión general y perspectivas para la investigación**

RECEBIDO: 19/05/2021 | REVISADO: 26/05/2021 | ACEITO: 03/06/2021 |

PUBLICADO: 17/06/2021

ISA ROSETE MENDES ARAÚJO NASCIMENTO
E-MAIL: ISABIO@IFMA.EDU.BR
 ANTONIO CARLOS FREITAS SOUZA
E-MAIL: JR_BIO2005@YAHOO.COM.BR
 LADILSON RODRIGUES SILVA
E-MAIL: LADILSONRODRIGUES341@GMAIL.COM
 CARINE ALMEIDA MIRANDA BEZERRA
E-MAIL: CARIBIO.UEMA@GMAIL.COM
 REBECA RAMOS SOUSA
E-MAIL: BEKA_RRAMOS@HOTMAIL.COM
 ALDEANE SOARES DE ABREU
E-MAIL: ALDEANESOARES.ABREU@GMAIL.COM
 DENISE DA SILVA SOUSA
E-MAIL: DENISE.SLV@HOTMAIL.COM
 ILKA MÁRCIA RIBEIRO DE SOUZA SERRA
E-MAIL: ILKA.TT@GMAIL.COM
 NANCYLENI PINTO CHAVES BEZERRA
E-MAIL: NANCYLENICHAVES@HOTMAIL.COM
 SELMA PATRÍCIA DINIZ CANTANHEDE
E-MAIL: PATRICIASDC@YAHOO.COM.BR

Resumo

Na busca pelo conhecimento sobre sanidade de peixes a compreensão das interações ecológicas é fundamental, mas por um longo tempo houve negligência nos estudos sobre os parasitas que os afetam. Os trabalhos com patógenos de peixes no estado do maranhão ainda são insuficientes e por essa razão este trabalho vem com o objetivo de realizar um levantamento de pesquisas científicas desenvolvidas no período de 2010 a 2020 sobre os de patógenos em peixes de ambientes naturais e de cultivo deste estado. Utilizou-se como estratégias metodológicas a busca sistemática por artigos científicos nas plataformas *Web of Science*, *Google Acadêmico*, *Pubmed*, *Asfa*, *Scopus* e *Scielo*, no período compreendido entre 2010 a 2020, com o intuito de reunir informações sobre o tópico em estudo. Os resultados foram separados por categoria de agentes etiológicos pela diversidade de classes e técnicas distintas utilizadas nas pesquisas levantadas. Os dados obtidos evidenciam que os peixes podem ser acometidos por crustáceos ectoparasitas,

bacterioses, nemátodas, protozoários, mixosporídeos, fungos, monogenóideas e vírus, porém no Maranhão as pesquisas com esses parasitas de peixes ainda são incipientes, neste sentido destaca-se a necessidade de mais estudos sobre sanidade de peixes nesta região. Além disso, estudos detalhados sobre o ciclo de vida dos parasitas e suas vias de transmissão com finalidade de prevenir as infecções, bem como a construção de um plano de ação com estratégias de tratamento, controle e prevenção dessas patologias serão de grande relevância em estudos futuros e ambientalmente sustentáveis.

Palavras-chave: parasitas; doenças; piscicultura; sanidade.

Abstract

In the search for knowledge about fish health, understanding ecological interactions is essential, but for a long time there was neglect in studies on parasites that affect them. The work with fish pathogens in the State of Maranhão is still insufficient and for this reason this work comes with the objective of conducting a survey of scientific researches developed in the period from 2010 to 2020 on those of pathogens in fish from natural environments and from cultivation of this state. The systematic search for scientific articles on the Web of Science, Google Scholar, Pubmed, ASFA, Scopus and SciELO platforms was used as methodological strategies, in the period from 2010 to 2020, in order to gather information on the topic under study. The results were separated by category of etiological agents due to the diversity of classes and different techniques used in the surveys surveyed. The data obtained show that the fish may be affected by ectoparasitic crustaceans, bacterioses, nematodes, protozoa, myxosporids, fungi, monogenoids and viruses, however in Maranhão the research with these fish parasites is still incipient, in this sense the need for more studies on fish health in this region. In addition, detailed studies on the life cycle of parasites and their transmission routes in order to prevent infections, as well as the construction of an action plan with treatment, control and prevention strategies for these pathologies will be of great relevance in future studies and environmentally sustainable.

Keywords: Parasites; Diseases; Pisciculture; Sanity.

Resumen

En la búsqueda de conocimiento sobre la salud de los peces es fundamental comprender las interacciones ecológicas, pero durante mucho tiempo se descuidó los estudios sobre los parásitos que los afectan. El trabajo con patógenos de peces en el estado

de Maranhão es aún insuficiente y por ello este trabajo nace con el objetivo de realizar un relevamiento de las investigaciones científicas desarrolladas en el período de 2010 a 2020 sobre las de patógenos en peces de ambientes naturales y de cultivo. de este estado. Se utilizó como estrategias metodológicas la búsqueda sistemática de artículos científicos en las plataformas Web of Science, Google Scholar, Pubmed, ASFA, Scopus y SciELO, en el período de 2010 a 2020, con el fin de recabar información sobre el tema en estudio. Los resultados fueron separados por categoría de agentes etiológicos debido a la diversidad de clases y diferentes técnicas utilizadas en las encuestas encuestadas. Los datos obtenidos muestran que los peces pueden estar afectados por crustáceos ectoparásitos, bacteriosis, nematodos, protozoos, mixospóridos, hongos, monogenoides y virus, sin embargo, en Maranhão la investigación con estos parásitos de peces es aún incipiente, en este sentido la necesidad de más estudios sobre salud de los peces en esta región. Además, los estudios detallados sobre el ciclo de vida de los parásitos y sus vías de transmisión con el fin de prevenir infecciones, así como la construcción de un plan de acción con estrategias para el tratamiento, control y prevención de estas patologías serán de gran relevancia en futuros estudios y ambientalmente sustentable.

Palabras clave: Parásitos; Enfermedades; Piscicultura; Cordura.

1. Introdução

De 2011 a 2018 foi constatado um crescimento de 32,85% da aquicultura mundial, partindo de 61,8 milhões de toneladas de organismos aquáticos para alcançar 82,1 milhões de toneladas respectivamente. Deste total, a produção de organismos aquáticos em águas interiores representou 62,48% da cadeia produtiva, e a aquicultura marinha, aproximadamente 37,52%. Em 2018, a produção total de pescado no mundo foi abastecida por 45,99% proveniente da aquicultura, excluindo-se mamíferos aquáticos, crocodilos, jacarés, algas e outras plantas aquáticas (Souza & Viana, 2020).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 2019), o Brasil ocupa a 13ª posição no ranking mundial da aquicultura desde o ano de 2013, sendo considerado o segundo maior produtor aquícola do continente americano, tendo destaque à piscicultura continental, a carcinicultura marinha e a malacocultura como os principais ramos da aquicultura brasileira (IBGE, 2020).

Diante deste cenário no país, o estado do Maranhão merece destaque, pois nos últimos anos, acumulou crescimento de 86,34%, partindo de uma produção de 24.150 toneladas de peixes no ano de 2016 para alcançar as 45.000 toneladas em 2019, ganhando

posição de destaque na cadeia produtiva nacional (Peixe BR, 2020).

Os peixes nativos dominam o mercado maranhense e desde o ano de 2017 representam mais de 85% da produção total do estado. Dentre eles, pode-se destacar a produção de tambaqui, que em 2018 alcançou 10.736 toneladas, superando as 10.501 toneladas do ano anterior, além dos seus híbridos tambacu e tambatinga, que tiveram produção em 2018 de 9.284 toneladas (IBGE, 2020).

Para alcançar tais números, novas técnicas com ciclos de produção cada vez mais reduzidos têm sido desenvolvidas no mundo inteiro, e junto com elas, inúmeros problemas vem aparecendo, principalmente os que dizem respeito a sanidade e bem-estar animal (Brito et al., 2019), devido ao desequilíbrio da tríade patógeno-hospedeiro-ambiente.

A existência de fatores predisponentes (estresse, variação brusca na temperatura da água, excesso de amônia, alta densidade de estocagem, baixa qualidade de água, entre outros) aliado à introdução de patógenos em uma propriedade livre pode ocasionar um impacto devastador na criação, com morbi-mortalidade elevada, podendo dizimar a criação (Leira et al., 2017a).

Diversos são os grupos de agentes etiológicos que apresentam importância na produção e comercialização de peixes e na saúde pública. Entre os principais grupos destacam-se os dinoflagelados, protozoários, mixosporídeos, monogenéticos, nematóides e os crustáceos, além de fungos, bactérias e vírus que, ao encontrarem condições adequadas, proliferam causando as doenças (Tavechio, Guidelli & Portz, 2018).

Os peixes são hospedeiros ideais para uma grande variedade de parasitas, por isso o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas de pesquisa para observação, extração e identificação aliadas ao manuseio prático e a facilidade de acesso a instrumentos de baixo custo contribui para o desenvolvimento da ciência e possibilita descrever melhor o perfil epidemiológico e avaliação do risco de se adquirir zoonoses (Ferraz et al., 2014).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi realizar levantamento de pesquisas científicas realizadas no período de 2010 a 2020 acerca de patógenos em peixes do estado do Maranhão.

2. Metodologia

O presente trabalho é classificado quanto aos fins em pesquisa exploratória por ter sido desenvolvida com o objetivo de proporcionar uma visão geral acerca da temática e maior familiaridade com a mesma. Quanto à natureza do método em pesquisa quali-

quantitativa e do ponto de vista dos procedimentos técnicos adotados, em pesquisa bibliográfica.

A pesquisa bibliográfica envolveu o levantamento de informações referentes aos anos de 2010 a 2020, o que representa informações referentes aos patógenos em peixes. Dessa forma, foi realizada uma busca nos bancos de dados do *Web of Science*, *Google Acadêmico*, *Pubmed*, *ASFA*, *Scopus* e *SciELO*, com os descritores diferentes dependendo dos patógenos abordados, da seguinte forma: (i) bacterioses os unitermos “aeromonas”, “flavobacterium”, “flexibacter”, “yersinia”, “edwardsiella”; (ii) monogenóides os termos “monogenea”, “monogenea”; (iii) crustáceos ectoparasitos os unitermos “isópodes”, “ectoparasitas”, “braquiúros”, “argulus”, “dolops”, “Perulernaea”; (iv) para fungos “doenças fúngicas”, “fungo”, “piscicultura”, “saprolegnia”; (v) nematóides “nematoda”; (vi) protozoários “protozoa”; e, (vii) vírus os termos “vírus”, “doenças”. Independentes do patógeno pesquisado foram associadas às palavras + “fish” + “Maranhão” para limitar a área de estudo.

Os critérios utilizados para seleção das pesquisas foram a abordagem do tema pesquisado restrito ao estado do Maranhão, artigo completo, publicados nos idiomas português, inglês ou espanhol, no período de 2010 a 2020.

Foram obtidos 65 artigos sobre bacterioses, 116 sobre monogenea, 45 sobre fungos, 13 sobre crustáceos ectoparasitas, um sobre protozoários, dois sobre mixosporídeos, 50 sobre os nematóides e cinco sobre vírus, onde por meio dos critérios empregados no levantamento bibliográfico, e após a leitura do título e resumo para enquadramento da área geográfica escolhida, foram selecionados 29 trabalhos (oito de bacterioses, três de monogeneas, dez de fungos, três de nematódeos, um de protozoários, dois de mixosporídeos, nove de ectoparasitas crustáceos e três de vírus); em seguida, este número foi reduzido a 12 (quatro de bacterioses, três de monogeneas, um de fungos, dois de nematódeos, um de protozoários, dois de mixosporídeos), a partir dos critérios de exclusão do trabalho.

3. Resultados e Discussão

Os resultados foram separados por categoria de agentes etiológicos pela diversidade de classes e técnicas distintas utilizadas nas pesquisas levantadas, sendo resumidos na **Tabela 1** abaixo.

Tabela 1. Relação de agentes etiológicos, hospedeiros e métodos utilizados para

identificação de trabalhos desenvolvidos no estado do Maranhão no período de 2010 a 2020.

Agente etiológico	Hospedeiro	Método utilizado	Referência
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Peixe Serra <i>Scomberomerus brasiliensis</i>	Metodologia convencional (cultura + identificação bioquímica)	Ferreira <i>et al.</i> (2014)
<i>Aeromonas caviae</i> ; <i>A. hydrophila</i> e <i>Salmonella</i> spp.	Traíra <i>Hoplias malabaricus</i>	Metodologia convencional (cultura + identificação bioquímica)	Guimarães <i>et al.</i> (2017)
<i>Aeromonas</i> spp.	Tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	Metodologia convencional (cultura + identificação bioquímica)	Santos <i>et al.</i> (2019)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Pescada Amarela <i>Cynoscion acoupa</i>	Metodologia convencional (cultura + identificação bioquímica)	Lopes <i>et al.</i> (2012)
<i>Gyrodactylus</i> spp. <i>Dactylogyrus</i> spp.	Traíra <i>H. malabaricus</i>	Metodologia convencional (identificação morfológica)	Rodrigues <i>et al.</i> (2017)
<i>Urocleidoides bulbophallus</i> n. sp.; <i>Urocleidoides brasiliensis</i> ; <i>U. cuiabai</i> ; <i>U. malabaricus</i> e <i>Constrictoanchoratus</i> n. gen.	Traíra <i>H. malabaricus</i>	Metodologia convencional (identificação morfológica)	Ferreira <i>et al.</i> (2017)
<i>Cosmetocleithrum berecae</i> ; <i>Demidospermus osteomystax</i> e <i>D. tocantinensis</i>	<i>Auchenipterus nuchalis</i>	Metodologia convencional (identificação morfológica)	Cohen <i>et al.</i> (2020)

<i>Acremonium</i> sp., <i>Rizopus</i> sp., <i>Mucor</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp., <i>Saprolegnia</i> sp.	Tilápia <i>Tilápia rendali</i> Tambaqui <i>Colossoma</i> <i>macropomum</i>	Metodologia convencional (cultura + identificação morfológica)	Pinheiro <i>et al.</i> (2015)
<i>Contracaecum</i> spp., <i>Pseudoterranova</i> spp., <i>Eustrongylides</i> spp.	Traíra <i>Hoplías</i> <i>malabaricus</i>	Metodologia convencional (identificação morfológica)	Rodrigues <i>et al.</i> (2017)
<i>Nematoda Rudolphi</i> , <i>Secernentea Linstow</i> , <i>Oxyuroidea Cobbold</i> , <i>Pharyngodonidae</i> <i>Travassos, Ichthyouris</i> <i>Inglis; Ichthyouris</i> <i>nunani n. sp.</i>	Piau-vara <i>Laemolyta</i> <i>taeniata</i> ; Curimatá <i>Curimata</i> <i>acutirostris</i>	Metodologia convencional (identificação morfológica)	Cárdenas <i>et al.</i> (2019)
<i>Calyptospora</i> <i>gonzaguensis n. sp.</i>	Sardinha <i>Triportheus</i> <i>angulatus</i>	Caracterização morfológica e molecular	Silva <i>et al.</i> (2020a)
<i>Myxobolus</i> sp.	Lambari <i>Astyanax</i> aff. <i>Bimaculatus</i>	Caracterização morfológica e molecular	Silva <i>et al.</i> (2019)
<i>Ceratomyxa fonsecai</i> n. sp.	Jatuarana <i>Hemiodus</i> <i>unimaculatus</i>	Caracterização morfológica e molecular	Silva <i>et al.</i> (2020b)

Crustáceos Ectoparasitos

Entre os vários grupos de parasitas de peixes de água doce, os crustáceos podem ser apontados como um dos grupos que causam maior perda econômica às pisciculturas. Para Pavanelli, Takemoto & Eiras (2015), as perdas causadas por parasitas e outros patógenos são de cunho econômico podendo incorrer na falência do empreendimento.

De acordo com Pazdiora et al. (2020) o parasitismo por crustáceos conhecidos popularmente como “vermes-âncora” é um grave problema para peixes dulciaquícolas. Para os mesmos pesquisadores, a espécie *Perulernaea gamitanae* causa considerável dano aos tecidos dos peixes parasitados. Segundo Jerônimo et al. (2012) a *Perulernaea*, se fixa na boca e nas brânquias por meio de ganchos em formato de âncora localizados na cabeça do parasito.

Segundo Pazdiora et al. (2020) os estudos referentes à sanidade na piscicultura são incipientes, principalmente de doenças parasitárias, tanto sobre agentes causais, agentes predisponentes e aspectos patológicos, quanto ao desenvolvimento de protocolos que estabeleçam a infecção experimental dos principais parasitos que acometem as espécies piscícolas. Apesar da sua importância, no estado do Maranhão até o momento não foram publicados trabalhos com ectoparasitos.

Bacterioses

A maior parte das bactérias que possuem importância econômica na piscicultura é considerada como micro-organismo oportunista, que podem ser encontrados na microbiota dos peixes ou estarem presentes na água sem necessariamente desencadear uma enfermidade (Leira et al., 2017b). Em condições adversas, resultado normalmente de manejo inadequado ou qualidade de água insatisfatória, estes microrganismos podem desencadear sérios problemas no sistema produtivo.

Embora existam inúmeras bactérias que infectam peixes, algumas delas merecem destaque pela frequência de ocorrências em diversas regiões do país, destacando-se as *Aeromonas* móveis, *Edwardsiella* spp., *Salmonella* spp., *Flavobacterium columnare* e *Streptococcus agalactiae* (Leira et al., 2016).

Destes microrganismos mencionados, no estado do Maranhão, da Silva Lopes et al. (2012) relataram a presença de *Aeromonas hydrophila* em 45,24% das amostras de pescada amarela, *Cynoscion acoupa* desembarcadas em São Luís. Ferreira et al. (2014) relataram *A. hydrophila* em 15% das amostras de peixe serra, *Scomberomerus*

brasiliensis, desembarcados no município de Raposa. Guimarães et al. (2017) também relataram a ocorrência das espécies *A. caviae* e *A. hydrophila* em 90% dos peixes analisados, além de *Salmonella* spp. em 5% das amostras de traíra, *Hoplias malabaricus*, provenientes de feiras livres do município de São Bento. E mais recentemente, Santos et al. (2019) relataram a presença de *Aeromonas* spp. em 93,3% dos tambaquis, *Colossoma macropomum* provenientes de feiras públicas e supermercados do município de São Luís.

Todos os trabalhos isolando bactérias de peixes provenientes do Maranhão utilizaram apenas metodologias convencionais para isolamento e identificação (série bioquímica), de acordo com as técnicas descritas pela *American Public Health Association* (Apha, 2001), ou utilizando autores como Havelaar & Vonk (1988); Majeed, Egan & Macera (1990).

Estes métodos microbiológicos são amplamente empregados, por outro lado, o tempo de isolamento e a padronização dos resultados bioquímicos podem se tornar entres (Silva et al., 2014). Por estes motivos, o diagnóstico molecular tem ganhado espaço, e dentre as ferramentas utilizadas pode-se destacar a reação em cadeia da polimerase - PCR (Santos et al., 2001) e as técnicas de Polimorfismo de Fragmento de Restrição Lento (RFLP *Restriction Fragment Length Polymorphism*) do 16S rDNA (Borrell et al., 1997).

Já existem protocolos descritos para diagnóstico de micro-organismos utilizando a PCR (Carvalho-Castro et al., 2010, Oliveira, Veneroni-Gouveia & Costa, 2012; Tsai et al., 2012). Onde se pode destacar a metodologia proposta por Ye et al. (2013) que além da amplificação de genes de virulência, ainda consideram o sequenciamento da região 16S rDNA, que pode ser utilizada para a identificação de várias espécies do gênero, além da análise de similaridade entre as linhagens.

Os testes moleculares foram considerados mais específicos do que o método convencional utilizado para identificação de *Aeromonas* spp. como descrito por Beaz-Hidalgo et al. (2010) e Silva et al. (2014), que relataram inconsistências na identificação dessa mesma espécie, quando comparados os métodos convencionais e moleculares.

Nematoda

Os nematoides são parasitos comuns nos peixes de água doce e a maioria das espécies necessita de um hospedeiro intermediário para completar seu desenvolvimento. A maioria dos nematodas registrados em peixes pertence às famílias Pharyngodonidae, Cucullanidae, Camallanidae e Anisakidae (Pavanelli, Takemoto & Eiras, 2015).

Para coleta, fixação das espécies de parasitas utilizam-se normalmente os métodos descritos por Eiras, Takemoto & Pavanelli (2006) e quantificação dos parasitos Tavares-Dias, Martins & Moraes (2001). A identificação se dá por meio de literaturas existentes, como por exemplo, Moravec (2001) e Thatcher (1991; 2006).

Dentre os trabalhos realizados no estado do Maranhão destacam-se o de Rodrigues et al. (2017) e o de Cárdenas et al. (2019). Rodrigues et al. (2017) pesquisaram os aspectos parasitológicos da Traíra, *Hoplias malabaricus* (Bloch 1794) provenientes da Baixada Maranhense. Os nematódeos obtidos nas amostras de *H. malabaricus* foram do gênero *Contracaecum* spp., *Pseudoterranova* spp., *Eustrongylides* spp. As traíras parasitadas apresentaram larvas no mesentério, com exceção de um exemplar que estava inserido na bexiga natatória. Após a identificação, a conservação dos nematóides foi feita em álcool 70° GL com 5-10% de glicerina.

Cárdenas et al. (2019) capturaram os espécimes de *Laemolyta taeniata* (Kner, 1858) (Piau-vara) e de *Curimata acutirostris* Vari e Reis, 1995 (Curimatá) no Rio Tocantins, estado do Maranhão. Os peixes adquiridos foram examinados para parasitas imediatamente após a captura. Nos espécimes analisados foram observadas e identificadas as seguintes espécies de parasitas: *Nematoda Rudolphi*, 1808 *Secernentea Linstow*, 1905 Oxyurida Chabaud, 1974 *Oxyuroidea Cobbold*, 1864 *Pharyngodonidae Travassos*, 1919 *Ichthyouris Inglis*, 1962 *Ichthyouris nunani* n. sp.

As enfermidades de peixes com caráter zoonótico devem ser alvo de preocupação, requerendo um maior controle por parte de serviços de fiscalização diminuindo, assim, as taxas de morbidade e mortalidade nas criações, garantindo a obtenção do pescado de boa qualidade, já que os parasitas podem infectar todas as partes dos peixes. As informações a respeito dos nematóides em peixes ainda são escassas no estado do Maranhão.

Protozoários

O filo Protozoa reúne diversos organismos evolutivamente distintos que podem atuar como ecto ou endoparasitos de peixes em todo o mundo, sendo responsáveis por doenças as quais, por sua vez, podem ocasionar impactos econômico e social nos diferentes países. Apesar dos recentes avanços no campo de diagnóstico de doenças em peixes no Brasil, ainda pouco se conhece sobre a fauna de protozoários parasitos de peixes e suas relações com o ambiente e hospedeiro (Martins et al. 2015).

Os protozoários parasitos de peixes de maior importância zoonótica, pertencem

aos filos Ciliophora (*Tricodina* spp., *Ichthyophthirius multifiliis* e *Epistylis* spp.) e Miozoa (*Piscinoodinium* sp.) (Martins et al., 2001; Pádua et al., 2011; Ishikawa et al., 2016).

Apesar da importância zoonótica dos protozoários para os peixes, estudos sobre o grupo no Maranhão, são escassos. Apenas um trabalho foi publicado recentemente sobre protozoários no estado, onde Silva *et al.* (2020a), estudaram a coccidiose hepática em *Triportheus angulatus* (Spix & Agassiz, 1829) e descreveram uma nova espécie de *Calyptospora* (Apicomplexa: Calyptosporidae) na região de Imperatriz, Maranhão. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Limnologia e Ecologia da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (LEL/UEMASUL).

Para identificação dos parasitas, foram utilizados protocolos de histologia (Casal et al., 2007) e análises moleculares como a PCR (Whipps et al., 2012; Dogga et al., 2015; Matos et al., 2018).

Mixosporídeos

O filo Myxozoa (mixosporídeos) constitui-se em um grupo de parasitas abundante e diverso, comumente encontrado em peixes teleósteos (Acosta et al., 2016). Os principais mixosporídeos causadores de doenças em peixes são os pertencentes aos gêneros *Henneguya* e *Myxobolus* (Eiras, 2004).

No Maranhão, foram realizados dois estudos sobre organismos mixosporídeos. Silva et al., (2019), identificaram o gênero *Myxobolus* em brânquias de *Astyanax* aff. *bimaculatus* na Bacia do Rio Tocantins, provenientes do município de Governador Edson Lobão e o trabalho de Silva et al. (2020b), que descreveram em Estreito e Imperatriz, Maranhão. As amostras de mixozoários de ambos os trabalhos foram coletados e fixados na solução de Davidson para histologia (Videira et al., 2016) e etanol 80% para estudo molecular.

As análises morfométricas, histológicas e moleculares seguiram as metodologias adaptadas por Gunter et al. (2009), Kaur et al. (2016); Whipps et al. (2003); Diamant et al. (2004) e Adriano & Okamura (2017).

Fungos

Os peixes mantidos em elevada densidade de estocagem em pisciculturas, quando em produção intensa, inclina ao estresse e a imunossupressão. Essa condição favorece a ocorrência de infecções, entre elas, a saprolegniose, cujo agente etiológico é o oomiceto aquático *Saprolegnia* sp. Podem ocorrer em ovos, larvas, alevinos além de peixes adultos,

o que leva ao desenvolvimento de micélio branco ou cinza claro na pele seguida da multiplicação e alongação das hifas (filamentos) formando os típicos “tufos de algodão”, podendo ocorrer perda de escamas. Ocorre também nas brânquias, facilmente visíveis a olho nú (Stueland, Hatai & Skaar 2005; Lopes 2012).

Não existem na literatura, informações suficientes acerca da importância das doenças e perdas causadas por fungos na piscicultura brasileira, tanto em animais de produção como ornamentais. Nesse cenário, o trabalho de Pinheiro et al. (2015) que avaliaram a qualidade da água e a incidência de fungos em peixes oriundos de pisciculturas do município de São Luís, Maranhão, foi um dos pioneiros no tema. Os exemplares de peixes coletados tiveram as brânquias e a pele removidas para o isolamento de prováveis lesões, onde foram identificadas oito espécies pertencentes aos gêneros *Acremonium*, *Rizopus*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, e um gênero importante economicamente para a piscicultura, o oomiceto *Saprolegnia*.

A metodologia utilizada para identificação de fungos nos peixes, as brânquias e a pele foram retiradas com o auxílio de tesoura, pinça e lâminas esterilizadas. Em seguida, colocadas em sacos plásticos esterilizados e conduzidas para realizar o isolamento e identificação dos fungos.

A técnica utilizada foi o isolamento em placa contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), conforme metodologia utilizada por Menezes & Assis (2004) e, em seguida, incubados a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, em alternância luminosa (12h de claro/ 12h de escuro).

As colônias dos fungos foram codificadas e as culturas puras preservadas em tubos de ensaio, contendo BDA, em refrigeração à 5°C . Na identificação foram considerados os principais gêneros fúngicos presentes no isolamento e foram utilizadas lâminas e lamínulas na preparação das amostras. A visualização das estruturas fúngicas foi realizada em microscópio óptico de acordo com metodologias propostas por Singh et al., (1991) e Barnett & Hunter (1972).

Monogenoidea

Entre os parasitos que infectam peixes, os Monogenoidea constituem um grupo que desempenha papel importante como patógenos devido ao fato de que afetarem órgãos e tecidos que são vitais ao funcionamento normal: as brânquias e a superfície do corpo. Segundo a World Organisation for Animal Health (www.oie.int), a infecção em peixes causada por *Gyrodactylus salaris*, um ectoparasita vivíparo de água doce da Família Gyrodactylidae e Classe Monogenea, é o único agente patogênico deste grupo com

notificação obrigatória. Esta espécie tem distribuição restrita à Europa sendo observados no salmão do Atlântico ou truta arco-íris selvagens ou de viveiro (Johnsen & Jensen, 1986; Paladini et al., 2009; Rokicka, Lumme & Zietara, 2007; Zietara et al., 2007).

A detecção e identificação de parasitos monogenéticos é um processo que geralmente ocorre em duas etapas. Primeiramente os espécimes são observados por meio de um estereomicroscópio (lupa), posteriormente são identificados individualmente usando outros equipamentos e métodos. Para a identificação molecular da espécie, os pesquisadores em geral utilizam o marcador mitocondrial citocromo oxidase 1 (CO1) (Hansen, Bachmann & Bakke, 2003; Hansen, Bachmann & Bakke, 2007; Meinilä et al., 2004).

No Maranhão, Rodrigues et al. (2017) observaram monogenoideos em *Hoplias malabaricus* (Bloch 1794), comumente conhecido como “traíra”, obtidos de pescadores locais da cidade de São Bento e Ferreira et al. (2017) identificaram espécies monogenoideas também na espécie *Hoplias malabaricus* capturados no Rio Gurupi. Adicionalmente, Cohen et al. (2020) registraram a presença de monogenoideos em peixes da espécie *Auchenipterus nuchalis* (Spix & Agassiz 1829), popularmente conhecidos como “mapará”, capturados no Rio Tocantins. Os três trabalhos citados realizaram a identificação das espécies de parasitos utilizando descrição morfológica com auxílio do microscópio óptico. Cohen et al. (2020) e Ferreira et al. (2017) detalham a identificação taxonômica com o uso do corante Tricromo de Gomori para visualização dos órgãos internos e o meio de Hoyer para estudo das estruturas esclerotizadas.

Vírus

Segundo Essbauer & Ahne (2001) mais de 125 vírus foram identificados em peixes, com identificação por meio de técnicas moleculares. As famílias Alloherpesviridae (DNA), Iridoviridae (DNA), Poxviridae (DNA), Nodaviridae e Rhabdoviridae (RNA) hospedam várias espécies que causam doenças em peixes com altas taxas de morbidade e mortalidade (Gotesman et al., 2013; Whittington, Becker & Dennis, 2010; Yong et al., 2017).

Maganha et al. (2019) realizaram um estudo em São Paulo (Brasil) com 100 espécimes de peixes ornamentais de 24 espécies diferentes e identificaram o *Megalocytivirus* (Maganha et al., 2018). Outro estudo realizado pelos mesmos autores identificou *Lymphocystivirus* a partir de um teste realizado com 25 espécimes de peixes ornamentais brasileiros (Maganha et al., 2019).

Em ambos os estudos o método utilizado em laboratório para diagnosticar as patologias virais foi o molecular. No primeiro trabalho as espécies de peixes foram testadas por PCR para *Megalocytivirus*, com uma taxa de positividade de 47%. A reconstrução filogenética, baseada no gene da proteína do capsídeo principal (MCP), agrupou todas as amostras em um único clado, que mostrou valores de identidade que variam de 99% a 100% quando comparados entre si. Os autores constataram infecção por *Megalocytivirus* em algumas espécies de peixes ornamentais no Brasil (Maganha et al., 2018). No estudo realizado por Maganha et al. (2019) com a utilização de diagnóstico molecular foi detectado apenas uma amostra positiva e seu nucleotídeo viral foi agrupada com sequências do genótipo VII. Este trabalho diferencia-se por ser o primeiro a fazer a caracterização genética de *Lymphocystivirus* no Brasil. No entanto, apesar de sua importância não há relatos de estudos de diagnósticos de doenças virais em peixes no estado do Maranhão.

Das classes de patógenos abordadas, não foram encontrados trabalhos de ectoparasitos e vírus no estado do Maranhão para o período estudado. No entanto, dentre os trabalhos de bactérias, nematóides, fungos, protozoários, myxosporídeos e monogenóides, foi possível perceber que em 76,92% dos trabalhos realizados no estado do Maranhão utilizam apenas técnicas convencionais para identificação dos patógenos, onde os estudos com protozoário e myxosporídeos foram os únicos a associar as técnicas de rotina (identificação morfológica) com achados moleculares.

Estes dados deste trabalho reforçam a necessidade de estudos sobre a biologia, ecologia, patologia e cuidados que se deve ter com agentes patogênicos de peixes em cultivos e em seus ambientes naturais para descobrir até que ponto as condições do meio são propícias para o desenvolvimento desses agentes.

4. Considerações Finais

De acordo com tudo que foi descrito acerca dos patógenos de peixes, concluímos que são inúmeros os agentes causadores de patologias em peixes, dentre eles destaca-se vírus, bactérias, protozoárias, fungos, helmintos, moluscos e crustáceos, todos eles com capacidade de desencadear sérios problemas econômicos aos empreendedores do ramo da piscicultura, contaminações nos ambientes naturais dos peixes e mortalidade das espécies ícticas. Este trabalho de revisão sistemática evidencia que pesquisas realizadas com sanidade de peixes no estado do Maranhão ainda são incipientes, o que gera uma enorme lacuna científica a ser preenchida. Ainda são necessários estudos detalhados do

ciclo dos parasitas, e as suas vias de transmissão, com a construção de um plano de ação direcionado às estratégias para tratamento, controle e prevenção destas patologias em peixes cultivados de água doce, com ações ambientalmente corretas, garantindo a produção e sua sustentabilidade econômica.

Referências

Acosta, A. A., Godoy, A. T., Yamada, F. H., Brandão, H., Paes, J. V. H., Bongiovani, M. F., Müller, M. I., Yamada, P. O. F., Narciso, R. B., & Silva, R. J. (2016). Aspectos parasitológicos dos peixes. In R. J. Silva (Org.), *Integridade ambiental da represa de Jurumirim: ictiofauna e relações ecológicas*. Editora UNESP, pp. 115-192.

Adriano, E. A., & Okamura, B. (2017). Motility, morphology and phylogeny of the plasmodial worm, *Ceratomyxa vermiformis* n. sp. (Cnidaria: Myxozoa: Myxosporea). *Parasitology*, 144(2), 158–168.

American Public Health Association - APHA. (2001). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (4^a ed.). APHA, 676p.

Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess Publishing Company, 241p.

Beaz-Hidalgo, R., Alperi, A., Buján, N., Romalde, J. L., & Figueras, M. J. (2010). Comparison of phenotypical and genetic identification of *Aeromonas* strains isolated from diseased fish. *Systematic and Applied Microbiology*, 33(3), 149-153. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.02.002>.

Borrell, N., Acinas, S. G., Figueras, M. J., & Martínez-Marcia, A. J. (1997). Identification of *Aeromonas* clinical isolates by restriction fragment length polymorphism of PCR amplified 16S rRNA genes. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(7), 1671-1674. <https://doi.org/10.1128/JCM.35.7.1671-1674.1997>.

Brito, J. M., Ferreira, A. H. C., Santana Júnior, H. A., Oliveira, A. P. A., Santos, C. H. L., & Oliveira, L. T. S. (2019). Desempenho zootécnico de juvenis de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com cepas probióticas e submetidos a desafio

sanitário. *Ciência Animal Brasileira*. 20, 1-9. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v20e-37348>.

Cárdenas, M. Q., Fernandes, B. M. M., & Justo, M. C. N. (2019). A New Species of *Ichthyouris inglis*, 1968 (Nematoda: Pharyngodonidae) Parasitizing Two Characiform Fishes from Tocantins River, Maranhão State, Brazil. *Comparative Parasitology*, 86(1), 5-9.

Carvalho-Castro, G. A., Lopes, C. O., Leal, C. A. G., Cardoso, P. G., Leite, R. C., & Figueiredo, H. C. P. (2010). Detection of type III secretion system genes in *Aeromonas hydrophila* and their relationship with virulence in Nile tilapia. *Veterinary microbiology*, 144(3), 371-376. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.01.021>.

Casal, G., Padovan, I., Matos, E., & Padovan, P. (2007). Morphological and ultrastructural redescription of *Calyptospora serrasalmi* Cheung, Nigrelli & Ruggieri, 1986 (Apicomplexa: Calyptosporidae), a parasite found in two new host species of the genus *Serrasalmus*. *Brazilian Journal Morphology Science*, 24, 11–16.

Cohen, S. C., Justo, M. C. N., Gen, D. V. S., & Boeger, W. A. (2020). Dactylogyridae (Monogeneoidea, Polyonchoinea) from the gills of *Auchenipterus nuchalis* (Siluriformes, Auchenipteridae) from the Tocantins River, Brazil. *Parasite*, 27(4), 1-12. <https://doi.org/10.1051/parasite/2020002>.

Diamant, A., Whipps, C. M., & Kent, M. L. (2004). A new species of *Sphaeromyxa* (Myxosporaea: Sphaeromyxina: Sphaeromyxidae) in devil firefish, *Pterois miles* (Scorpaenidae), from the northern Red Sea: morphology, ultrastructure, and phylogeny. *Journal of Parasitology*, 90, 1434–1442.

Dogga S. K., Bartošová-Sojtková, P., Lukeš, J., & Soldati-Favre, D. (2015). Phylogeny, morphology, and metabolic and invasive capabilities of epicellular fish coccidium *Goussia janae*. *Protist*, 166(6), 659–676. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2015.09.003>.

Eiras, J. C. (2004). Aspectos Gerais da Patologia das Parasitoses de Peixes Marinhos. In M. J. T. Ranzani-Paiva, R. M. Takemoto, & M. A. P. Lizama, *Sanidade de Organismos Aquáticos* (1ª ed.). Varela, 143-156p.

Eiras, J. C., Takemoto, R. M., & Pavanelli, G. C. (2006). Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes (2ª ed.). *Eduem*. 199 pp.

Essbauer, S., & Ahne, W. (2001). Viruses of lower vertebrates. *Journal of Veterinary Medicine*, 48(6), 403-75.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2019). Yearbook Fishery and Aquaculture Statistics 2017/FAO annuaire. 108 p. <http://www.fao.org/3/ca5495t/CA5495T.pdf>.

Ferraz, R. R. N., Namba, T. K., Nigro, C. A., Rodrigues, F. S. M., Fornari, J. V., & Barnabé, A. S. (2014). Comparação entre os métodos de extração de metacercárias de *Ascocotyle* sp (Trematoda: Digenea) dos tecidos de *Mugil liza* Valenciennes, 1836 (Teleostei: Mugilidae). *Ciência animal brasileira*, 15(3), 354-361.

Ferreira, E. M., Lopes, I. S., Pereira, D. M., Rodrigues, L. C., & Costa, F. N. (2014). Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação. *Arquivos do Instituto Biológico*, 81(1), 49-54. <http://dx.doi.org/10.1590/S1808-16572014000100009>.

Ferreira, K. D. C., Rodrigues, A. R. O., Cunha, J. M., & Domingues, M. V. (2017). Dactylogyrids (Platyhelminthes, Monogenoidea) from the gills of *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) from coastal rivers of the Oriental Amazon Basin: species of *Urocleidoides* and *Constrictoanchoratus* n. gen. *Journal of Helminthology*, 92(3), 353–368. <https://doi.org/10.1017/S0022149X17000384>.

Gotesman, M., Kattlun, J., Bergmann, S. M., & El-Matbouli, M. (2013). CyHV-3: the third Cyprinid herpesvirus. *Diseases of Aquatic Organisms*, 105(2), 163-74.

Guimarães, L., Santos, A. C., Ferreira, E., Pereira, D., & Costa, F. (2017). Microbiological quality of trahira fish (*Hoplias malabaricus*) from Baixada Maranhense, municipality of São Bento, MA. *Arquivos do Instituto Biológico*, 84, 1-7, eX142015. <https://doi.org/10.1590/1808-165700x142015>.

Gunter, N. L., Whipps, C. M., & Adlard, R. D. (2009). *Ceratomyxa* (Myxozoa: Bivalvulida): robust taxon or genus of convenience? *International Journal for Parasitology*, 39, 1395–1405.

Hansen, H., Bachmann, L., & Bakke, T. A. (2003). Variação do DNA mitocondrial de *Gyrodactylus* spp. (Monogenea, Gyrodactylidae) populações infectando salmão do Atlântico, grayling e truta arco-íris na Noruega e na Suécia. *International Journal for Parasitology*, 33, 1471-1478.

Hansen, H., Bakke, T. A., & Bachmann, L. (2007). Diversidade de haplótipos mitocondriais de *Gyrodactylus thymalli* (Platyhelminthes; Monogenea): a amostragem geográfica estendida no Reino Unido, Polônia e Noruega revela outras linhagens. *Parasitology Research*, 100(6), 1389-1394.

Havelaar, A. H., & Vonk, M. (1988). The preparation of ampicillin dextrin Ágar for the enumeration of *Aeromonas* in water. *Letters in Applied Microbiology*, 7(6), 169-171.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2020). Produção da pecuária municipal (v.45). <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=o-que-e>.

Jerônimo, G. T., Tavares-Dias, M., Martins, M. L., & Ishikawa, M. M. (2012). Manual para coleta de parasitos em peixes de cultivo (E-book). Embrapa, 38p. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/935222/coleta-de-parasitos-em-peixes-de-cultivo>.

Johnsen, B. O., & Jensen, A. J. (1986). Infestations of Atlantic salmon, *Salmo salar*, by *Gyrodactylus salaris* in Norwegian rivers. *Journal of Fish Biology*, 29(2), 233–241.

Kaur, H., Attri, R., & Joshi, J. (2016). Molecular identification of a new myxozoan, *Myxobolus dermiscalis* n. sp. (Myxosporaea) infecting scales of *Labeo rohita* Hamilton in Harike Wetland, Punjab (India). *International Journal for Parasitology Wildl*, 5, 139–144.

Leira, M. H., Lago, A. A., Viana, J. A., Cunha, L. T., Mendonça, F. G., & Freitas, R. T. F. (2017^a). As principais doenças na criação de tilápias no Brasil: revisão de literatura. *Nutritime Revista Eletrônica*, 14(2), 4982-4996.

Leira, M. H., Assis Lago, A., Botelho, H. A., Melo, C. C. V., Mendonça, F. G., Nascimento, A. F., & Freitas, R. T. F. (2016). Principais infecções bacterianas na criação de peixes de água doce do Brasil – Uma Revisão. *Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública*, 3(1), 44-59. <https://doi.org/10.4025/revcivet.v3i1.32436>.

Leira, M. H., Reghim, L. S., Ciacci, L. S., Cunha, L. T., Botelho, H. A., Braz, M. S., Pereira Dias, N., & Melo, C. C. V. (2017b). Problemas sanitários das pisciculturas brasileiras. *PUBVET*, 11(6), 538-544.

Lopes, I. S., Ferreira, E. M., Pereira, D. M., Pereira, L. S., Cunha, M. C. S., & Costa, F. N. (2012). Pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada: características microbiológicas e qualidade do gelo utilizado na sua conservação. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 71(4), 677-684.

Lopes, J. C. (2012). Técnico em agropecuária: piscicultura. *EDUFPI*, 80 p. <http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Piscicultura.pdf>.

Lucca Maganha, S. R. D., Cardoso, P. H. M., De Carvalho Balian, S., Almeida-Queiroz, S. R., Fernandes, A. M., & Sousa, R. L. M. (2019). Detection and molecular characterization of Lymphocystivirus in Brazilian ornamental fish. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(2), 53-535.

Lucca Maganha, S. R. D., Cardoso, P. H. M., De Carvalho Balian, S., Almeida-Queiroz, S. R., Fernandes, A. M., & Sousa, R. L. M. (2018). Molecular detection and phylogenetic

analysis of megalocytivirus in Brazilian ornamental fish. *Archives of virology*, 163(8), 2225-2231.

Maganha, S. R. D.; Cardoso, P. H. M.; Balian, S. D.; De Almeida-queiroz, S. R.; Fernandes, A. M.; De Sousa, R. L. M. (2019). Detection and molecular characterization of Lymphocystivirus in Brazilian ornamental fish. *Brazilian Journal of microbiology*. 51 (2), 53-535.

Maganha, S. R. D.; Cardoso, P. H. M.; Balian, S. D.; De Almeida-queiroz, S. R.; Fernandes, A. M.; De Sousa, R. L. M. (2018). Molecular detection and phylogenetic analysis of megalocytivirus in Brazilian ornamental fish. *Archives of virology*, (163)8, 2225-2231

Majeed, K. N., Egan, A. F., & Macera, I. C. (1990). Production of exotoxins by *Aeromonas* spp. at 5°C. *Journal of Applied Microbiology*, 69, 332-337.

Martins, M. L., Cardoso, L., Marchiori, N., & Pádua, S. B. (2015). Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 24(1), 1-20.

Martins, M. L., Moraes, J. R. E., Andrade, P. M., Schalch, S. H. C., & Moraes, F. R. (2001). *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus 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*, 61(4), 639-644.

Matos, P. S., Silva, D. T., Hamoy, I., & Matos, E. (2018). Morphological features and molecular phylogeny of *Hoferellus azevedoi* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) found in *Chaetobranchius flavescens* Heckel, 1840 (Teleostei: Cichlidae) from Marajo Island, northern Brazil. *Parasitology Research*, 117(4), 1087–1093.

Menezes, M., & Assis, S. M. P. (2004). Guia prático para fungos fitopatogênicos. *Imprensa Universitária*, 183 p.

Meinilä, M., Kuusela, J., Zietara, M. S., & Lummea, J. (2004). Initial steps of speciation by geographic isolation and host switch in salmonid pathogen *Gyrodactylus salaris* (Monogenea: Gyrodactylidae). *International Journal for Parasitology*, 34(4), 515-526.

Oliveira, S. T. L., Veneroni-Gouveia, G., & Costa, M. M. (2012). Molecular characterization of virulence factors in *Aeromonas hydrophila* obtained from fish. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(8), 701-706.

Pádua, S. B., Martins, M. L., Varandas, D. M., Dias Neto, J., Ishikawa, M. M., & Pilarski, F. (2011). Tricodínídeos: quem são e o que podem causar nos peixes. *Panorama da Aquicultura*, 21(127), 22-29.

Paladini, G., Ustinelli, A., Fioravanti, M. L., Hansen, H., & Shinn, A. P. (2009). The first report of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Platyhelminthes, Monogenea) on Italian cultured stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Veterinary Parasitology*, 165(3-4), 290-297.

Pavanelli, G. C., Takemoto, R. M., & Eiras, J. C. (2015). Parasitologia de peixes de água doce do Brasil. *Eduem*, 452p.

Pazdiora, B. R. C. N., Souza, R. H. B., Medeiros, S. P., Oliveira, W. I., Silva, E. E., & Holanda, N. G. M. (2020). Evaluation of the development of the life cycle of the parasite *Perulernaea gamitanae* under in vitro and in vivo culture conditions. *Brazilian Journal of Development*, 6(2), 8907-8921.

PEIXEBR. Associação Brasileira da Piscicultura (2020). Anuário PeixeBR da Piscicultura. Edição Texto Comunicação Corporativa. <https://www.peixebr.com.br/anuario-2020/>.

Pinheiro, C. A. M., Pinheiro, R. S., Santos, W. H. L., Serra, I. M. R. S., & Santos, D. M. S. (2015). Qualidade da água e incidência de fungos em peixes oriundos de pisciculturas do município de São Luís, Maranhão. *Pesquisa em Foco*, 20(1), 53-59.

Rodrigues, L. C., Santos, A. C. G., Ferreira, E. M., Teófilo, T. F., Pereira, D. M., & Costa, F. N. (2017). Aspectos parasitológicos da traíra (*Hoplias malabaricus*) proveniente da cidade de São Bento, MA. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69(1), 264-268.

Rokicka, M., Lumme, J., & Zietara, M. (2007). Identificação de ectoparasitas Gyrodactylus em fazendas de salmonídeos poloneses por PCR-RFLP do segmento ITS nuclear do DNA ribossomal (Monogenea, Gyrodactylidae). *Acta Parasitologica*, 52, 185–195.

Santos, E. J. R., Galeno, L. S., Bastos, L. S., Costa, T. F., Carvalho, I. F., & Costa, F. N. (2019). Qualidade higiênico-sanitária de tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na cidade de São Luís – MA. *Ciência Animal Brasileira*, 20(1-12), e-46537.

Santos, L. R., Nascimento, V. P., Oliveira, S. D., Flores, M. L., Pontes, A. A., Pilotto, F., Neves, N., Salle, C. T. P., & Lopes, R. F. F. (2001). Identificação de Salmonella através da reação em cadeia pela polimerase (PCR). *Arquivos Faculdade de Veterinária UFRGS*, 29(2), 87- 92.

Silva, M. F., Orlanda, J. F. F., Araújo-Costa, M. J., Hamoy, I., & Matos, E. (2020a). Hepatic Coccidiosis in *Triporthesus angulatus* Spix & Agassiz, 1829 (Characiformes: Triporthesidae), a Tropical Fish from the Eastern Brazilian Amazon, with the Description of a New Species of *Calyptospora* (Apicomplexa: Calyptosporidae). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 67(3), 352–358.

Silva, M. F., Sousa-Henrique, D. D., Messias-Luz, N., Borralho, L. S., Oliveira, J. D., Sedeaux-Neto, J. L., & Matos, E. R. (2019). *Myxobolus* sp. (Myxozoa; Myxosporaea) causing asymptomatic parasitic gill disease in *Astyanax* aff. *bimaculatus* (Characiformes; Characidae) in the Tocantins river basin, amazon region, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 28(4), 739-743.

Silva, M. F., Carvalho, A. E. F. B., Hamoy, I., & Matos, E. (2020b). Coelozoic parasite of the family Ceratomyxidae (Myxozoa, Bivalvulida) described from motile vermiform

plasmodia found in *Hemiodus unimaculatus* Bloch, 1794. *Parasitology Research*, 119, 871–878.

Silva, A. C. M. M., Nascimento, D. L., Machado, R. Z., & Costa, F. N. (2014). Caracterização de *Aeromonas* spp isoladas de amostras de ostras e água por métodos microbiológico e molecular. *Ciência Animal Brasileira*, 15(3), 362-368.

Singh, K., Danmarks Tekniske Højskole., & Frøpatologisk Institut for Udviklingslandene. (1991). An illustrated manual on identification of some seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their mycotoxins. *Hellerup: Danish Government Institute of Seed Pathology and Department of Biotechnology*, 133p.

Souza, A. C. F., & Viana, D. C. (2020). Current status of aquaculture in the world: COVID-19 first impacts. *Research, Society and Development*, 9(8), e462985798, doi: 10.33448/rsd-v9i8.5798.

Stueland, S., Hatai, K., & Skaar, I. (2005). Morphological and physiological characteristics of *Saprolegnia* spp. strains pathogenic to Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 28(8), 445-453.

Tavares-Dias, M., Martins, M. L., & Moraes, F. R. (2001). Fauna parasitária de peixes oriundos de pesque-pague do município de Franca, São Paulo, Brasil. I. Protozoários. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18(1), 67-79.

Tavechio, W. L. G., Guidelli, G., & Portz, L. (2018). Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. *Boletim do Instituto de Pesca*, 35(2), 335-341.

Thatcher, V. E. (1991). Amazon Fish Parasites. *Amazoniana*, 11(3), 263-572.

Thatcher, V. E. (2006). Amazon fish parasites. *Aquatic Biodiversity in Latin America* (2^a ed.). *Sofia*, 508p.

Tsai, M. A., Ho, P. Y., Wang, P. C., E, Y. J., Liaw, L. L., & Chen, S. C. (2012). Development of a multiplex polymerase chain reaction to detect five common Gram-

negative bacteria of aquatic animals. *Journal of Fish Diseases*, 35(7), 489-495. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2012.01372.x>.

Videira, M., Velasco, M., Malcher, C. S., Santos, P., Matos, P., & Matos, E. (2016). An outbreak of myxozoan parasites in farmed freshwater fish *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characidae, Serrasalminae) in the Amazon region, Brazil. *Aquaculture Reports*, 3, 31-34. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.11.004>.

Whipps, C. M., Fournie, J. W., Morrison, D. A., Azevedo, C., Matos, E., Thebo, P., & Kent, M. L. (2012). Phylogeny of fish-infecting Calyptospora species (Apicomplexa: Eimeriorina). *Parasitology Research*, 111, 1331–1342. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2969-8>.

Whipps, C. M., Adlard, R. D., Bryant, M. S., Lester, R. J., Findlay, V., & Kent, M. L. (2003). First report of three Kudoa species from eastern Australia: *Kudoa thyrsites* from mahimahi (*Coryphaena hippurus*), *Kudoa amamiensis* and *Kudoa minithyrsites* n. sp. from sweeper (*Pempheris psilychnus*). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 50(3), 215–219. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00120.x>.

Whittington, R. J., Becker, J. A., & Dennis, M. M. (2010). Iridovirus infections in finfish - critical review with emphasis on ranaviruses. *Journal of Fish Diseases*, 33(2), 95-122. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01110.x>.

Ye, Y. W., Fan, T. F., Li, H., Lu, J. F., Jiang, H., Hu, W., & Jiang, Q. H. (2013). Characterization of *Aeromonas hydrophila* from hemorrhagic diseased freshwater fishes in Anhui Province, China. *International Food Research Journal*, 20(3), 1449-1452.

Yong, C. Y., Yeap, S. K., Omar, A. R., & Tan, W. S. (2017). Advances in the study of nodavirus. *PeerJ Computer Science*, 5(5), 1-31.

Zietara, M. S., Rokicka, M., Stojanovski S., Skorkowski E. F., & Lumme J. (2007). Alien mitochondrial DNA in variant clones of *Gyrodactylus salaris* indicates a complex hybrid history in salmonid farms. 7th International Symposium on Fish Parasites. *Parassitologia*, 49, 119.

3.2 QUALIDADE DA ÁGUA E HISTOPATOLOGIA DE TILÁPIAS (*Oreochromis*
sp.) PROVENIENTES DE CRIATÓRIOS DO MUNICÍPIO DE TUTÓIA,
NORDESTE DO BRASIL

Artigo a ser submetido à Revista Aquaculture Research

QUALIDADE DA ÁGUA E HISTOPATOLOGIA DE TILÁPIAS (*Oreochromis* sp.) PROVENIENTES DE CRIATÓRIOS DO MUNICÍPIO DE TUTÓIA, NORDESTE DO BRASIL

Nathália Medeiros Guimarães, Rebeca Ramos Sousa, Ingrid Tayane Vieira da Silva do Nascimento, Ilka Márcia Ribeiro de Souza Serra, Thiago Anchieta de Melo, Natália Jovita Pereira, Débora Martins Silva Santos

RESUMO

Neste estudo objetivou-se realizar análise físico-química, microbiológica da água de cultivo e alterações branquiais encontradas em tilápias *Oreochromis* sp. criadas em piscicultura no município de Tutóia – Maranhão. Foram realizadas coletas de amostras de água e verificados *in situ* o potencial hidrogeniônico, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade, amônia tóxica, nitrito e transparência no criadouro peixes para análise histológica das brânquias. As análises microbiológicas para determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli* foram realizadas através do método Colilert®. O arco branquial direito de cada peixe foi removido e fixado em formalina a 10%, descalcificados em ácido nítrico e submetidos ao processamento histológico de desidratação, diafanização, impregnação e inclusão em parafina. Os dados abióticos e microbiológicos da água da piscicultura indicaram valores de nitrito, O.D., condutividade fora das concentrações recomendadas. Os parâmetros pH, temperatura, amônia, transparência e *Escherichia coli* estavam dentro dos valores recomendados pela legislação vigente e literaturas citadas. Os peixes apresentaram lesões branquiais de levantamento do epitélio respiratório, hiperplasia do epitélio lamelar, fusão incompleta e completa de várias lamelas, congestão vascular, dilatação do seio sanguíneo, parasitos, hiperplasia e hipertrofia das células de muco, fusão completa de todas as lamelas, espessamento do tecido proliferativo e aneurisma lamelar, indicando que eles estão reagindo a estressores dentro da piscicultura.

Palavras-chave: Biopatologia. Microbiologia. Piscicultura. Peixes.

1 INTRODUÇÃO

A produção intensa na piscicultura pode favorecer condições estressantes para os peixes, sobretudo devido a grande quantidade de resíduos metabólicos gerados, excesso de rações e pouca renovação da água. A persistência dessas condições pode comprometer processos fisiológicos importantes e resultar na redução de crescimento, inibição da reprodução, diminuição da resistência a doenças e até levar a morte do organismo (CECCARELLI ET al., 2000; KUBITZA, 2000; BUENO et al., 2015).

Geralmente, as causas de estresses em peixes são inevitáveis de acontecerem, principalmente quando dizem respeito às condições ambientais que estão sendo influenciadas no local. Estes fatores são visualmente perceptíveis quando são refletidos na homeostasia destes animais, o que podem culminar, conseqüentemente, em uma predisposição ao ataque de organismos patogênicos, pois deixam eles muito mais suscetíveis e vulneráveis (DIAS et al., 2008).

A sanidade e bem-estar dos peixes sofre influência de vários fatores que podem afetar diretamente o seu rendimento e, conseqüentemente, a produção destes na piscicultura. Alguns dos principais impactos encontrados nestes locais estão presentes, por exemplo, na forma de fontes de poluição e utilização de produtos químicos. As fontes de poluição são comumente encontradas ao redor dos viveiros e são consideradas extremamente impactantes aos cultivos (ISHIKAWA et al., 2020).

Peixes utilizados como biomarcadores constituem uma importante ferramenta prática que podem ser utilizados nas pisciculturas sem interferir na rotina destes locais. Estes métodos auxiliam, portanto, na obtenção de respostas sobre a saúde destes organismos, assim como no monitoramento da água onde estes animais estão presentes (MADI; UETA, 2009, 2012; ISHIKAWA et al., 2016, ISHIKAWA et al., 2020).

Os biomarcadores histopatológicos, por sua vez, contribuem com informações relevantes sobre o ambiente em que o peixe está inserido, sendo os órgãos mais utilizados nesses estudos as brânquias, fígado e rim, pois são órgãos que estão diretamente relacionados a atividades vitais de respiração e metabolização (VAN DER OOST et al., 2003; MARSHALL ADAMS et al., 1992).

Pelas brânquias serem órgãos sensíveis e eficientes aos contaminantes presentes no ambiente aquático são frequentemente utilizadas em análise histopatológica (PEREIRA et al., 2020). Sendo assim, as alterações histológicas identificadas no epitélio branquial provenientes dos estressores ambientais a que os peixes estão expostos, se constituem como uma das principais respostas biológicas obtidas com a utilização desse órgão (SOARES et al., 2020).

Garantir a qualidade da água é imprescindível nas pisciculturas. Para tanto, o conhecimento dos fatores abióticos relacionados ao estado da água destes locais pode garantir um monitoramento eficaz da produção em cultivo, sendo estes: a temperatura, transparência, oxigênio dissolvido, pH, amônia tóxica e nitrito. Estes fatores podem fornecer respostas do ambiente aquático como uma forma de avaliar como ele está se comportando, causas de mortalidade e dificuldades de crescimento da produção, por

exemplo, que interferem de forma decisiva na produtividade do sistema (LEIRA et al., 2016).

O município de Tutóia, bem como todo o estado do Maranhão, abriga algumas pisciculturas administradas por pequenos produtores e, além de haver poucos estudos que avaliaram o controle de qualidade praticado nesses criadouros, também não existe qualquer informação sobre a qualidade sanitária desses locais de criação.

Diante da importância econômica e social da piscicultura aos pequenos produtores, bem como para região, o objetivo do estudo consistiu em realizar as análises físico-química e microbiológica da água coletada no criadouro juntamente com as alterações branquiais encontrada em uma das principais espécies de peixes criadas em pisciculturas no município de Tutóia – Maranhão.

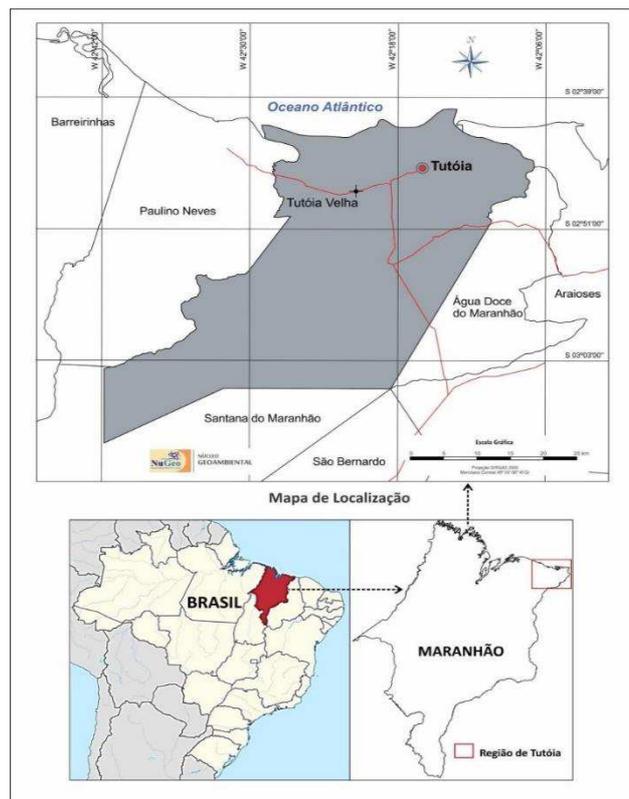
2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de coleta

O estudo foi realizado em uma piscicultura localizada no povoado Tutóia Velha, sob as coordenadas 02° 47' 31,17'' S e 42° 21' 25,46'' W, município de Tutóia, Maranhão, Brasil (Figura 1). A região apresenta uma área territorial de 1.566,080 km², possui o cerrado como bioma predominante (IBGE, 2020) e está localizado na Mesorregião Norte Maranhense e na Região de Planejamento dos Lençóis Maranhenses, próximo ao Delta do Rio Parnaíba (PINTO, 2014).

Na piscicultura estudada, o viveiro apresenta área retangular, regime extensivo e realiza atividades de recria e engorda de peixes, sendo eles pertencentes às espécies *Oreochromis* sp., *Colossoma* sp. e *Megalops* sp., além da criação de espécies domésticas de interesse pecuário como os bovinos, cultivo de mandioca, açaí, manga e a produção de carvão, como as principais atividades desenvolvidas. A propriedade possui três estruturas de criadouros, totalizando 750 peixes nos três viveiros, na qual os produtores estimam, por não terem precisamente o quantitativo, que a densidade de estocagem média de 2 a 4 espécimes por m² e a fonte de abastecimento de água é através de olho d'água.

Figura 1. Localização geográfica do município de Tutóia, Maranhão, Brasil. O ponto preto indica a localização da piscicultura no povoado Tutóia Velha.



Fonte: Núcleo GeoAmbiental (NUGEO/UEMA), 2021.

2.2 Coleta e processamento das amostras

Os procedimentos animais foram aprovados pela Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) (protocolo nº 05/2021). Foram realizadas duas coletas de peixes e duas amostras de água na piscicultura em estudo nos meses de janeiro (coleta 1) e julho de 2021 (coleta 2), sendo capturados 5 peixes da espécie *Oreochromis* sp. em cada uma delas com auxílio da rede de arrasto, totalizando 10 espécimes. Essa espécie foi selecionada pelo maior interesse comercial que possui na região.

Após a captura, os animais foram colocados em sacos plásticos esterilizados e depois em caixas térmicas de poliestireno contendo gelo para anestesia e eutanásia por choque térmico. Posteriormente, foi retirado o arco branquial direito de cada organismo como forma de padronização para análise histológica das brânquias, com o auxílio de bisturis, pinças e tesouras esterilizadas. Os arcos foram colocados em formalina a 10% para fixação do material biológico, com o objetivo de manter a integridade celular das amostras.

As amostras de água do criadouro foram coletadas em garrafas estéreis e

armazenadas em caixas térmicas contendo gelo. Para as análises microbiológicas, amostras de água foram colhidas em frascos esterilizados (500 mL) com profundidade de 80 cm abaixo da superfície, acondicionadas em caixa de material isotérmico contendo cubos de gelo.

2.3 Análise histopatológica das brânquias dos peixes

Os arcos branquiais direitos dos peixes foram encaminhados ao Laboratório de Fisiologia Animal da UEMA, São Luís, Maranhão, na qual foram submetidos às etapas de clivagem, com objetivo de diminuir o tamanho das amostras das brânquias e, posteriormente, descalcificados em ácido nítrico a 10% por seis horas. Em seguida, as amostras seguiram o processamento histológico, sendo desidratadas em soluções de álcoois crescentes (70%, 80%, 90% e 100%), diafanizadas em xilol e impregnadas e incluídas em parafina histológica. Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo em 5µm e os cortes corados por Hematoxilina e Eosina. As lâminas histológicas foram analisadas em microscópio de luz Zeiss com as objetivas de 10x e 40x.

As alterações histológicas foram classificadas em três estágios de severidade de acordo com Poleksic e Mitrovic - Tutundzic (1994), em que as alterações de estágio I, não comprometem o funcionamento da brânquia; estágio II, consideradas mais severas e prejudicam o funcionamento normal do órgão; e estágio III, consideradas muito severas e irreversíveis.

As lesões branquiais foram avaliadas semiquantitativamente para cada peixe, através do Índice de Alteração Histológica (IAH), de acordo com Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994), usando a fórmula $IAH = 1 \times \Sigma I + 10 \times \Sigma II + 100 \times \Sigma III$, em que I, II e III, correspondem, respectivamente, as alterações de estágio I, II e III. O valor médio do IAH por coleta foi classificado em cinco categorias: 0-10 = indica funcionamento normal da brânquia; 11-20 = indica alteração leve do órgão; 21-50 = indica alteração moderada do órgão; 51-100 = indica alterações severas no órgão; >100 = indicam alterações irreparáveis no órgão (POLEKSIC; MITROVIC – TUTUNDZIC, 1994).

2.4 Análise da água dos criadouros

As análises físico-químicas da água foram realizadas *in loco* na piscicultura utilizando equipamento multiparâmetro, onde foram aferidos o pH, temperatura (C°), oxigênio dissolvido (mg/L) e condutividade (µS/cm). Além disso, foi realizada a análise

de amônia tóxica (mg/L) e nitrito (ppm) através do kit colorimétrico Labcon Test de análise de água.

Para verificar a transparência (cm) da água, que permite indicar a concentração da população planctônica (fitoplâncton e zooplâncton), foi utilizado o instrumento Disco de Secchi.

A metodologia para a determinação do número mais provável de coliformes totais e *Escherichia coli* foi feita através do teste do substrato enzimático cromogênico (ONPG) e fluorogênico (MUG), que quantifica simultaneamente coliformes totais e *E. coli* (APHA, 2005). De cada amostra colhida, 90 mL de água foi vertido em frascos esterilizados contendo o meio de cultura à base de sais e fontes de carbono e nitrogênio e dois nutrientes específicos: orto-nitrofenil β-D-galactopiranosídeo (ONPG) para diferenciação dos organismos que apresentam as enzimas de fermentação lactose β-galactosidase, que são os Coliformes totais e o 4-metilumbeliferil-β-D-glicuronidase (MUG), para diferenciação de *E. coli*, que apresenta a enzima β-glicuronidase. Em seguida, o meio foi distribuído em cartelas Quanti-Tray que foram seladas e incubadas em estufa bacteriológica a 35±0,5°C, por 24 horas.

As amostras de coliformes positivas foram detectadas visualmente pelo aparecimento de coloração amarela no meio de cultura e após contagem dos cubos amarelos a interpretação do NMP em tabela de conversão própria. A presença de *E. coli* foi observada pela fluorescência quando exposta a luz UV de 6w, ondas longas de 365nm e o NMP foi interpretado de forma semelhante ao realizado para coliformes.

3 RESULTADOS

Os dados abióticos e microbiológicos da água da piscicultura indicaram valores de nitrito, O.D., condutividade fora de concentrações recomendadas. Os parâmetros pH, temperatura, amônia tóxica, transparência e *E. coli* evidenciaram valores recomendados por legislação brasileira vigente e literaturas citadas (Tabela 1).

Na piscicultura em estudo, foi possível identificar que o local possui pouca renovação da água. Além disso, foi relatado pelo proprietário do criadouro que este procedimento é realizado diariamente pelo olho d'água presente na piscicultura. Enquanto os resíduos e excesso de matéria orgânica são eliminados pelo processo de bombeamento.

Nas análises microbiológicas da água foi observada a presença de coliformes totais e de *E. coli* nas coletas investigadas. No entanto, a piscicultura atendeu aos padrões permitidos pela legislação vigente, sendo considerada satisfatória a qualidade da água no criadouro.

Tabela 1. Dados dos parâmetros abióticos e microbiológicos da água coletada na piscicultura de Tutóia, Maranhão, Brasil.

Parâmetros abióticos e microbiológicos	Piscicultura		Valores recomendados
	Coleta 1	Coleta 2	
pH	7,5	8,0	6,0 – 9 ^a
Temperatura (°C)	27,3	28,7	26 – 30 °C ^b
Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	1,8	2,4	>5,0 mg.L ^{-1 a}
Condutividade (uS/cm)	155,6	528	<100 uS/cm ^c
Amônia tóxica (mg/L)	0	0	<0,05 mg/L ^d
Nitrito (ppm)	0,25	0,25	0 ^d
Transparência (cm)	42	31	30 – 60 ^e
Coliformes totais (NMP*/100 ml)	24.196	24.196	-
<i>Escherichia coli</i> (NMP*/100 ml)	84	862	<1.000 ^f

^a CONAMA n° 357/2005; n°430/2011.

^b LIMA et al. 2013.

^c HURTADO et al, 2018.

^d LABCON TEST.

^e Faria et al. 2013.

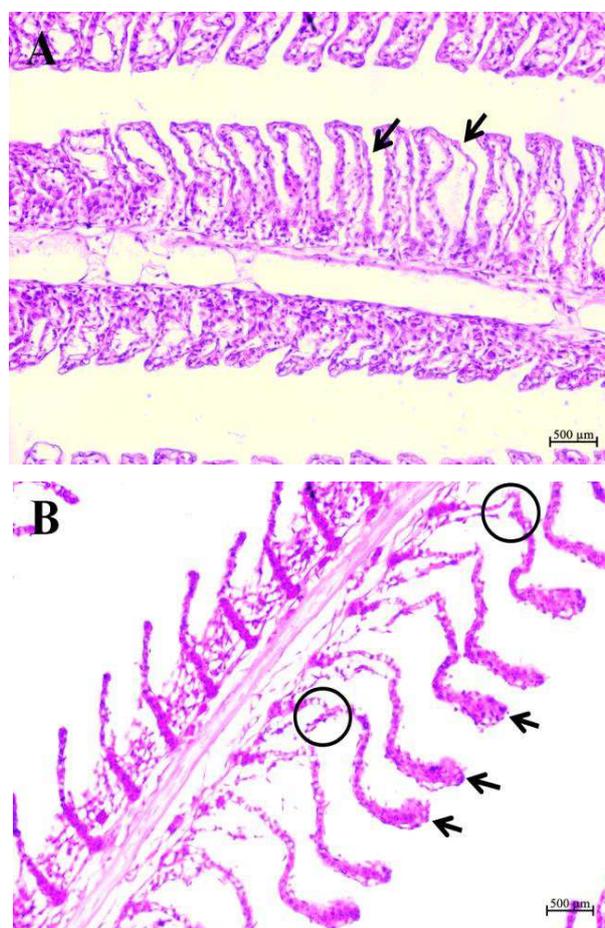
^f CONAMA n° 18/1986; n°357/2005; n°430/2011.

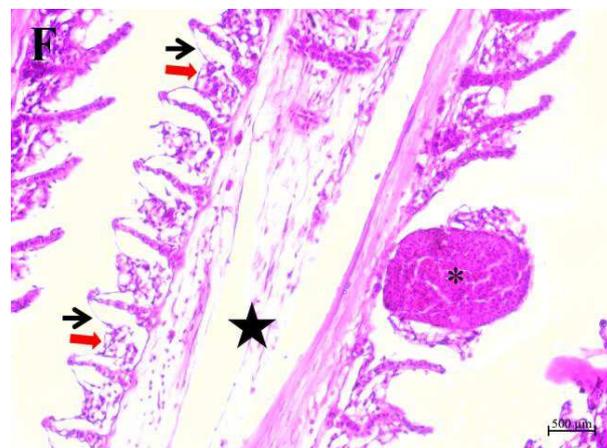
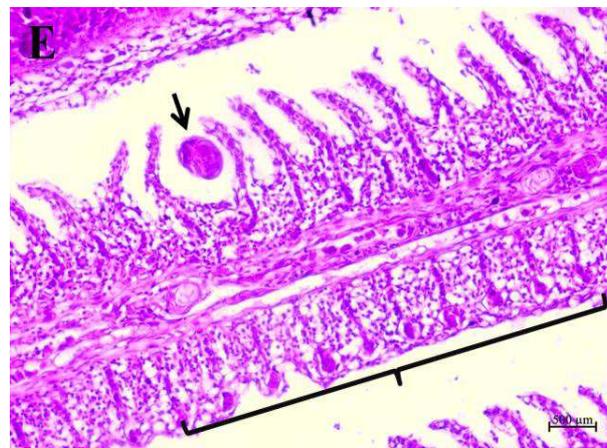
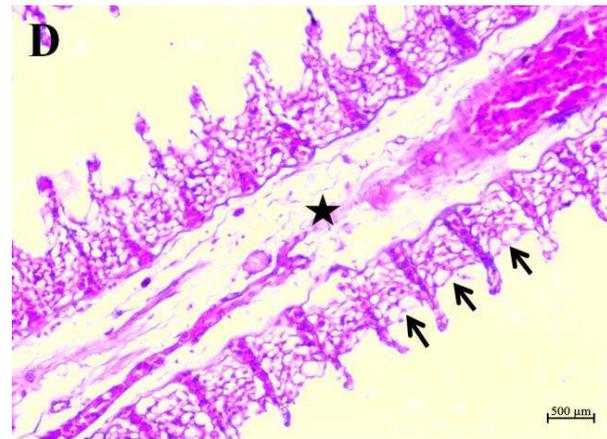
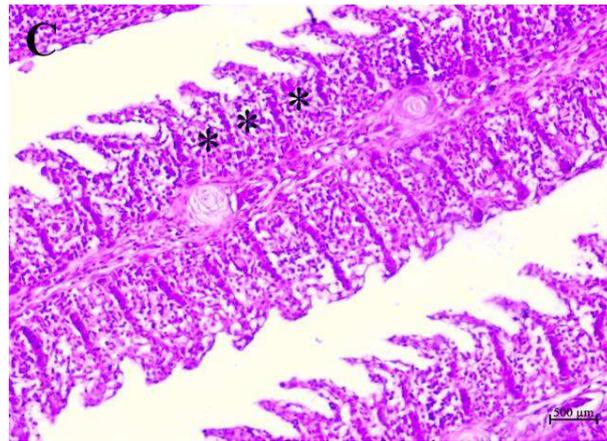
*= Número Mais Provável, Método COLILERT.

Nos espécimes de *Oreochromis sp.* capturados na piscicultura foram observadas alterações histológicas branquiais dos três estágios de severidade, sendo elas: levantamento do epitélio respiratório, hiperplasia do epitélio lamelar, fusão incompleta e completa de várias lamelas, congestão vascular, dilatação do seio sanguíneo, parasitos,

hiperplasia e hipertrofia das células de muco, fusão completa de todas as lamelas, espessamento do tecido proliferativo e aneurisma lamelar (Figura 2).

Figura 2. Fotomicrografias de brânquias de *Oreochromis* sp. capturados na piscicultura de Tutóia, Maranhão, Brasil. **A-** Levantamento do epitélio lamelar (setas); **B-** congestões vasculares (setas) e rompimento do sistema de células pilares (círculos), **C** - hiperplasia do epitélio lamelar (*) causando fusão das lamelas secundárias; **D-** hiperplasia e hipertrofia das células de muco (setas) e dilatação do seio sanguíneo (estrela); **E-** parasito (seta) e fusão completa da lamelas secundárias; **F-** Aneurisma lamelar (*), dilatação do seio sanguíneo (estrela), levantamento do epitélio lamelar (setas pretas) e hiperplasia do epitélio lamelar (setas vermelhas). Coloração HE. Aumento de 400x.





As alterações histológicas de estágio I hiperplasia do epitélio lamelar, fusão incompleta de várias lamelas e congestão vascular foram as mais frequentes (Tabela 2).

Tabela 2. Frequências em porcentagem de alterações histológicas em brânquias de *Oreochromis* sp. capturados na piscicultura de Tutóia, Maranhão, Brasil.

Alterações histológicas em brânquias por estágio de severidade	Frequências (%) das alterações	
	Coleta 1	Coleta 2
Estágio I		
Hiperplasia do epitélio lamelar	100	100
Fusão incompleta de várias lamelas	100	100
Congestão vascular	100	100
Levantamento do epitélio respiratório	80	100
Desorganização das lamelas	80	0
Fusão completa de várias lamelas	80	33
Dilatação do seio sanguíneo	80	33
Hipertrofia do epitélio respiratório	20	0
Parasito	0	50
Estágio II		
Hiperplasia e hipertrofia das células de muco	20	100
Espessamento do tecido proliferativo	20	20
Rompimento do sistema de células pilares	0	20
Estágio III		
Aneurisma lamelar	20	20

As médias dos Índices de Alteração Histológica por coleta foram de 36,4 e 43,2 na coleta 1 e 2, respectivamente, indicando alterações moderadas nas brânquias.

4 DISCUSSÃO

O potencial hidrogeniônico (pH) para viveiros de criação da maioria dos peixes, deve estar entre 6,0 a 9, para que o ambiente seja propício ao desenvolvimento dos animais, principalmente para as pós-larvas e os alevinos (SENAR, 2019). Os valores de pH da piscicultura de Tutóia variaram entre 7,5 e 8,0, sendo considerado neutro com tendência alcalina. Mecanismos de regulação iônica em peixes são ativados por variações no pH da água, visando a homeostase e manutenção da saúde (REBOUÇAS et al., 2016). Perturbações ácido-base no sangue e fluidos corporais podem alterar parâmetros metabólicos importantes em peixes, como as concentrações de glicose, glicogênio e lactato (BOLNER et al., 2014; GARCIA et al., 2014).

A temperatura da água em pisciculturas se iguala à temperatura do ar e, como os peixes são pecilotérmicos, recebem influência de variações durante o dia no seu metabolismo, nas atividades de respiração, digestão, apetite e crescimento, por exemplo (SENAR, 2019). Por isso, quando mantidos em temperaturas abaixo ou acima do recomendado, a sanidade e o desempenho são lesados. Em peixes tropicais, como *Oreochromis* sp. (SCHULTER; FILHO, 2017), para obter bons resultados na produção, a temperatura da água deve estar entre 26 e 30°C (LIMA et al., 2014 e 2017; SENAR, 2019), valores encontrados nas coletas realizadas na piscicultura do presente estudo, corroborando com Da Silva et al. (2020) analisando a água em ambientes de pisciculturas, onde os autores observaram que houve estabilidade térmica no período amostrado, sem mudanças bruscas na temperatura.

A concentração de oxigênio na água depende diretamente da temperatura, na qual quanto mais fria a água, mais oxigênio pode ser dissolvido. O Oxigênio dissolvido (O.D.) influencia na sobrevivência dos peixes, sendo necessário o uso de aeração para manter níveis adequados de oxigênio nas pisciculturas, sobretudo em cultivos intensos. No entanto, existem piscicultores que não realizam o monitoramento desse parâmetro, podendo resultar em perdas acentuadas de desempenho dos animais, aumento dos custos e até mortes dos peixes (LEIRA et al., 2016; KUBITZA, 2017).

Em peixes tropicais, níveis de oxigênio acima de 4,5 mg/L são necessários para o desempenho adequado e sanidade destes animais. As concentrações de O.D. encontradas nas coletas realizadas na piscicultura estavam abaixo do recomendado pelas resoluções do CONAMA n°357/2005 e 430/2011, apresentando os valores de 1,8 a 2,4 mg.L⁻¹, o que pode interferir no desenvolvimento dos espécimes de *Oreochromis* sp. e

contribuir para a formação de alterações histológicas nas brânquias. Além disso, baixas concentrações de O.D. podem ocasionar maior susceptibilidade a doenças e sensibilidade durante o manuseio nos viveiros (KUBITZA, 2017).

Nascimento et al. (2021) observou, assim como no presente estudo, tilápias em uma piscicultura sob baixos níveis de O.D., o que segundo os autores, pode culminar em um estado de estresse se forem submetidos à esta condição. Baixos níveis de O.D dissolvido também foram verificados por Do Amaral et al. (2020), onde os autores evidenciam que essa diminuição pode estar relacionada aos horários de coleta e medição deste parâmetro, assim como as práticas de manejo que podem ter sido aplicadas na piscicultura do seu estudo.

O oxigênio pode ser influenciado também pela fotossíntese e a respiração, pois em águas verdes com fitoplâncton ou microalgas, a concentração de oxigênio na água se eleva ao longo do dia e reduz durante a noite devido à ausência de luz. Outros fatores ambientais, como altitude, luminosidade, ventos, chuvas e produção, como biomassa estocada, taxa de alimentação e sua qualidade, são pontuais na determinação de oxigênio na água, por isso o monitoramento individualizado de cultivos é necessário (KUBITZA, 2017).

Farias et al. (2019) recomenda de 5 a 10% do volume total do viveiro ao dia (24 h) para um sistema de densidade acima de 3 peixes/m² de lâmina d'água. O excesso de matéria orgânica, plâncton, revolvimento do fundo ou matéria em suspensão decorrente de chuvas, evita a penetração da luz, diminuindo a produção de oxigênio realizada pelo fitoplâncton. Nessa situação, os peixes correm o risco de morrerem por falta de oxigênio, principalmente durante a noite (FARIAS; MORAIS, 2018).

A condutividade mede a capacidade da água em conduzir corrente elétrica e está relacionada diretamente com a concentração de íons e a decomposição de matéria orgânica. Por isso, é considerada um parâmetro importante para verificar a quantidade de nutrientes disponíveis ou mesmo indicar poluição na água, possibilitando identificar fontes poluidoras no sistema de criação (JUNIOR et al., 2021). A condutividade vista como ideal varia de acordo com a espécie e o clima, mas em geral para produção de peixes é até 100 uS/cm (HURTADO et al, 2018). Segundo Takino & Cipólli (1988), as tilápias apresentam melhor desempenho em criadouros que possuam condutividade entre 42 e 67 uS/cm, e podem interferir no seu crescimento e desenvolvimento com valores entre 108 e 116 uS/cm. No presente estudo, em ambas as coletas foi verificado condutividade

elevada, o que pode indicar poluição na água e possivelmente se tornar nocivo para as atividades metabólicas das tilápias cultivadas.

Os valores de amônia tóxica encontrados nas coletas estão dentro dos valores permitidos segundo o kit do Labcon Test. No entanto, esse composto excretado pela maioria dos organismos aquáticos pode atingir níveis tóxicos dentro do viveiro, reduzir a produtividade e o crescimento dos peixes de cultivo (FARIAS; MORAIS, 2018). A amônia tóxica interfere na contração muscular e na transmissão de impulsos nervosos, por isso, peixes intoxicados por esse composto nitrogenado apresentam natação descoordenada, espasmos musculares e distúrbios nervosos em geral. Tilápia-do-Nilo juvenis expostos a concentrações de amônia tóxica de 0,1 mg/l apresentaram redução no ganho de peso (28%), embora a tilápia possa tolerar concentrações relativamente elevadas, conforme os dados apresentados no estudo de Kubitzka (2017).

O nitrito é também um composto nitrogenado tóxico e limitante na produção de peixes. Em criatórios de água doce e dependendo da espécie do organismo aquático, níveis de nitrito de 0,7 a 200 mg/L, pode acarretar alta mortalidade destes organismos e a exposição constante a níveis subletais de nitrito (0,3 a 0,5mg/L.) pode ocasionar a diminuição no desenvolvimento e na resistência a doenças. Esse comprometimento imunológico, além de mudanças na histologia de forma degenerativa nas brânquias, cérebro, fígado, rins, baço, afeta os tecidos sanguíneos e tireoidianos (FARIAS; MORAIS, 2018). Em relação ao valor de referência por Farias e Morais (2018), em ambas as coletas ficaram acima do recomendado pelos autores, tornando os animais suscetíveis aos malefícios citados.

A transparência presente na coluna d'água nas pisciculturas é um fator que afeta os peixes, mas não é considerado tóxico para eles. De forma geral, águas muito claras nas pisciculturas costumam indicar que nelas não há produtividade primária suficiente para os peixes se alimentarem, assim como para produzir oxigênio no local onde estão inseridos (DO AMARAL et al, 2020). Conforme metodologia de Faria et al. (2013), o ideal para criação de peixes é que o disco de Secchi possa ser visualizado entre 30 e 60 cm de profundidade, como verificadas as transparências da água do criadouro no presente e estudo, indicando possivelmente uma quantidade adequada de plâncton, com a aparência da água levemente esverdeada.

Segundo Torres et al. (2017), coliformes totais incluem bactérias ambientais e de origem fecal que conseguem sobreviver no meio aquático e são denominados como bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não produtores de esporos.

Por esse motivo, essas bactérias em ambientes aquáticos são utilizadas como indicadoras de qualidade da água (SILVA et al., 2021), sendo utilizadas como um parâmetro para analisar a qualidade da água de cultivo em pisciculturas.

Embora a legislação brasileira da Resolução CONAMA n° 357/2005 (alteração CONAMA n° 430/2011) não possua valores recomendados para coliformes totais, as concentrações encontradas nesta pesquisa são consideradas altas, conforme também foram verificadas por Nascimento et al. (2021) em criadouros contendo *Oreochromis* sp., onde os autores apontam que sua elevação ocorre devido à decomposição da matéria orgânica na piscicultura, assim como pode estar relacionada com o aumento de coliformes encontrados na piscicultura em estudo. Além disso, Araújo et al. (2020) analisando altas concentrações de coliformes totais em criadouros, sugere que esse aumento pode estar relacionado à presença de fossas próximas aos viveiros, bem como a presença de fezes e urina de animais pastando próximas do local de cultivo, o que acontece na piscicultura desse estudo.

A *E. coli* é a principal bactéria do subgrupo dos coliformes termotolerantes e é um indicativo apropriado de contaminação de origem fecal, já que são encontradas em números significativos no trato intestinal de alguns animais, como o ser humano (TORRES et al., 2017). Foram encontrados valores recomendáveis desta bactéria segundo a legislação brasileira (CONAMA 430/2011), que estabelece NMP <1000 / 100m/L, sendo considerada a qualidade da água como satisfatória. Estes microrganismos são indicadores de condições sanitárias inadequadas, e a sua presença em alimentos podem liberar toxinas que são consideradas prejudiciais à saúde humana (SILVA et al., 2021).

As análises histopatológicas observadas nos peixes provenientes da piscicultura indicaram alterações morfológicas nas brânquias em ambas as coletas. Essas alterações podem ser associadas a baixa qualidade da água da piscicultura, ao manejo inadequado, competição por espaço e alimentação, concentração de matéria orgânica, elementos químicos, presença de microrganismos e acúmulo de resíduos metabólicos dos animais (BARBIERI et al., 2014). Peixes em situação de estresse podem responder morfológicamente através de alterações histológicas que, por muitas vezes, podem ser irreversíveis (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994).

Estudos histopatológicos são aplicados no diagnóstico da saúde dos peixes, especialmente para os peixes cultivados (MARTINS et al., 2015), possibilitando a avaliação do efeito de estressores em peixes de piscicultura (NASCIMENTO et al., 2021).

Os espécimes de *Oreochromis* sp. capturados na piscicultura de Tutóia apresentaram alterações histopatológicas relacionadas a distúrbios de osmorregulação e de circulação sanguínea, diminuindo a superfície de contato entre água e sangue dos peixes, como foi observado também por Nascimento et al. (2021) em *Oreochromis* sp. cultivados.

As alterações histológicas de estágio I hiperplasia do epitélio lamelar, fusão incompleta e completa de várias lamelas, congestão vascular, levantamento do epitélio respiratório e dilatação do seio sanguíneo foram as mais frequentes nos espécimes de *Oreochromis* sp., podendo ser reversíveis caso os peixes deixem de ser submetidos a situações de estresse (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994). Elas causam desestruturações nos epitélios respiratórios e lamelares que podem interferir em estruturas do fluxo sanguíneo (CAMARGO; MARTINEZ, 2007) e conseqüentemente aumentam a distância do meio externo do sangue e a difusão de substâncias estressoras (BARNI et al., 2016).

A hiperplasia do epitélio lamelar, fusão incompleta e completa de várias lamelas e levantamento do epitélio respiratório surgem como forma de proteção das brânquias em evitar a interação com estressores do meio aquático, o que pode impedir o processo de obtenção das trocas gasosas realizadas pelos peixes (MELO, 2012; CASTRO et al., 2018). Essas alterações histopatológicas também foram observadas por Ventura et al. (2018) e Viana et al. (2021) em peixes cultivados e, de acordo com Del Rio-Zagarozza et al. (2010), essas alterações podem se agravar devido a uma combinação de fatores que ocorrem dentro de um sistema artificial de cultivo.

A hiperplasia das células do epitélio lamelar pode ser considerada uma resposta à diminuição dos espaços interlamelares, em que o organismo do peixe reage aumentando o número de células epiteliais próximas para melhorar a captação de oxigênio (MOREIRA et al., 2001), podendo ser uma reação às baixas concentrações de O.D. observadas nas duas coletas na piscicultura. Além disso, a hiperplasia das células do epitélio lamelar combinada com a secreção das células de muco resulta na fusão incompleta e completa das lamelas secundárias, causando a impermeabilização do epitélio branquial e distúrbios osmorregulatórios (DICKERSON, 2006; KOCA et al., 2005; VENTURA et al., 2018).

Foram observadas ainda as alterações histológicas de estágio II, hiperplasia e hipertrofia das células de muco, espessamento do tecido proliferativo e rompimento do sistema de células pilares. A produção e o aumento das células de muco atuam no mecanismo de defesa orgânica do animal, devido à suas propriedades antimicrobianas,

pela ação de lisozimas, anticorpos e ácidos graxos (ROBERTS, 2001). Assim, a hiperplasia e hipertrofia das células de muco observadas em maior percentual na coleta 2 pode ser uma reação direta a presença de parasitos nos espécimes de *Oreochromis* sp., que também foram encontrados em maior percentual nesta coleta e a presença de bactérias do grupo coliformes totais, encontradas em altas concentrações na piscicultura em ambas as coletas.

A presença de parasitos nas brânquias de peixes pode ocasionar a diminuição dos espaços interlamelares, limitando a área de superfície disponível para as trocas gasosas (VENTURA et al., 2018). Em resposta a diminuição dos espaços interlamelares, o organismo do peixe reage aumentando o número de células epiteliais e de muco próximas para melhorar a captação de oxigênio, causando assim a hiperplasia das células e rupturas de estruturas branquiais (MOREIRA et al., 2001).

O rompimento do sistema de células pilares aumenta o fluxo sanguíneo que se direciona para o interior das lamelas secundárias podendo causar as congestões dos vasos sanguíneos (PAULINO et al., 2012), que podem progredir para aneurismas lamelares, que foi a alteração histológica mais grave observada nos espécimes de *Oreochromis* sp., sendo considerada uma histopatologia de estágio III, severa e irreversível (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994).

Um aneurisma é caracterizado pelo grande acúmulo de sangue nas lamelas secundárias, formando uma estrutura em formato arredondado contendo eritrócitos decorrentes de hemorragia causada pela ruptura completa das células pilares (MARTINEZ, 2012). Segundo Tancredo et al. (2016), aneurismas lamelares estão presentes em peixes expostos a condições estressantes, em que, quando muitas lamelas apresentam essa alteração, a função respiratória pode diminuir especialmente em temperaturas altas, quando os níveis de oxigênio são baixos, como observados na piscicultura, e a demanda metabólica é alta.

A dilatação do seio sanguíneo também está associada a disfunções de estruturas sanguíneas observadas nos espécimes de *Oreochromis* sp., em que ocorre o aumento da espessura da lamela primária e, conseqüentemente, a desestrutura do vaso sanguíneo central (CAPALDO et al., 2019).

Os Índices de Alteração Histológica, que indicaram alterações moderadas nas brânquias, advertem que os espécimes de *Oreochromis* sp. estão reagindo a estressores na piscicultura, podendo afetar o fluxo de oxigênio, gás carbônico, eletrólitos, água,

amônia e íons hidrogênio entre o sangue dos peixes e o ambiente artificial que vivem (SCHWAIGER et al., 1997).

5 CONCLUSÃO

Os biomarcadores histológicos identificados nas brânquias de *Oreochromis* sp. e as análises da água verificadas na piscicultura em Tutóia (MA), indicam que os peixes estão sendo afetados pela qualidade da água no criadouro, verificando lesões moderadas nas brânquias dos peixes, assim como alguns parâmetros físico-químicos e microbiológicos acima dos valores recomendados pela legislação e literatura. Estudos em pisciculturas avaliando a sanidade dos peixes e a água dos criadouros são fundamentais para avaliar a sanidade, qualidade e comercialização do pescado. Os resultados inéditos da presente pesquisa podem fornecer subsídios para os pequenos produtores melhorarem a qualidade dos peixes de cultivo e conseqüente comercialização local, face a escassez de estudos com biomonitoramento de peixes em pisciculturas no Maranhão.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Estadual do Maranhão, ao Laboratório de Microbiologia e Sanidade de Organismos Aquáticos (MICROBIO) e ao Grupo de Pesquisa em Biologia em Ambiente Aquático (BioAqua) pelo auxílio e suporte dos materiais durante o estudo e à FAPEMA pelo financiamento da pesquisa.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

REFERÊNCIAS

ADAMS, S. Marshall, et al. Responses of fish populations and communities to pulp mill effluents: a holistic assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1992, 24.3: 347-360.

Alves de Oliveira, R. C. 2001. Monitoramento de fatores físico-químicos de represas utilizadas para criação de *Colossoma macropomum* no Município de Carlinda, Mato Grosso. 2001. Ciências Agrárias. Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, Mato Grosso.

- ÀS MICRO, Serviço Brasileiro de Apoio; EMPRESAS–SEBRAE, Pequenas. Aquicultura no Brasil–Série de Estudos Mercadológicos. *Brasília, Distrito Federal*, 2015.
- ASTRO, J. S.; FRANÇA, C. L., FERNANDES, J. F. F., SILVA, J. S., CARVALHONETA, R. N. F.; TEIXEIRA, E. G. Biomarcadores histológicos em brânquias de *Sciades herzbergii* (Siluriformes, Ariidae) capturados no Complexo Estuarino de São Marcos, Maranhão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 2, p. 410-418, 2018.
- BARNI, M. F. S.; ONDARZA, P. M.; GONZALEZ, M.; DA CUÑA, R.; MEIJIDE, F.; GROSMAN, F.; MIGLIORANZA, K. S. Persistent organic pollutants (POPs) in fish with different feeding habits inhabiting a shallow lake ecosystem. **Science of the Total Environment**, v. 550, p. 900-909, 2016.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.176>
- BOJARSKI, B.; KOT, B.; WITESKA, M. Antibacterials in aquatic environment and their toxicity to fish. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 8, article 189, 2020.
- BRASIL, I. B. G. E. Produção da Pecuária Municipal. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística** (IBGE), 2010.
- BUENO, Guilherme W., et al. Implementation of aquaculture parks in Federal Government waters in Brazil. **Reviews in Aquaculture**, 2015, 7.1: 1-12.
- CECCARELLI, Paulo Sergio; SENHORINI, J. A.; VOLPATO, Gilson. Dicas em piscicultura; perguntas e respostas. Santana Gráfica Editora, 2000.
- CORREIA FILHO, Francisco Lages et al. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea: estado do Maranhão: relatório diagnóstico do município de Aldeias Altas. CPRM, 2011.
- DE JESUS, Taíse Bomfim; DE CARVALHO, Carlos Eduardo Veiga. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecologia brasiliensis**, 2008, 12.4: 7.
- Dias, P. G., Furuya, W. M., Pavanelli, G. C., Machado, M. H. & Takemoto, R. M. 2008. Carga parasitária de *Rondonia rondoni*, Travassos, 1920 (Nematoda, Atractidae) e fator de condição do armado, *Pterodoras granulosus*, Valenciennes, 1833 (Pisces, Doradidae). **Acta Scientiarum**. Biological Sciences, 26, 151-156.
- DO AMARAL, Matheus Antonio et al. Qualidade de água como alicerce para a produção sustentável de peixes à pequenos produtores. *Realização*, v. 7, n. 13, p. 131-144, 2020.
- DO AMARAL, Matheus Antonio et al. Qualidade de água como alicerce para a produção sustentável de peixes à pequenos produtores. *Realização*, v. 7, n. 13, p. 131-144, 2020.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2006). Recomendações práticas para melhorar a qualidade da água e dos efluentes dos viveiros de aquicultura. Circular Técnica, p. 14.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2016). Monitoramento de qualidade de água das atividades aquícolas em reservatórios continentais brasileiros. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura. 72 p. familiar. – Cartilha. EMBRAPA, 2013, Divinópolis, TO.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges. Rome, 2014.

Ferreira, R. R., Cavenaghi, A. L., Velini, E. D., Corrêa, M. R., Negrisoni, E., Bravin, L. F. N., Trindade, M. L. B. & Padilha, F. S. 2005. Monitoramento de fitoplâncton e microcistina no Reservatório da UHE Americana. *Planta Daninha*, 23, 203-14.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Food microbiology**. New York: Mc Graw- Hill, 1988

GRANADA, Luana, et al. Is integrated multitrophic aquaculture the solution to the sectors' major challenges?—a review. **Reviews in Aquaculture**, 2016, 8.3: 283-300.

ISHIKAWA, M. M. et al. Uso de biomarcadores em peixe e boas práticas de manejo sanitário para a piscicultura. Embrapa Meio Ambiente-Documentos (INFOTECA-E), 2020.

JOBLING, M. Environmental biology of fishes. London: Chapman & Hall, 1995. p. 455.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L. M. M. Tilápias: qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade—Parte 2. **Revista Panorama da Aquicultura**, 2000, 60.10: 31-53.

L. S.; PEDROZA FILHO, M. X.; MACIEL, P. O. Qualidade da água: piscicultura

LAHSEN, A.; IDDYA, K. The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges. *State World Fish. Aquac*, 2014, 4: 40-41.

LEIRA, Matheus Hernandes et al. Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **PUBVET**, v. 11, n. 1, p. 11-17, 2017.

LEIRA, Matheus Hernandes et al. Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **PUBVET**, v. 11, p. 1-102, 2016.

LIMA, A. F.; SILVA, A. P. da; RODRIGUES, A. P. O.; BERGAMIN, G. T.; TORATI,

LIUSON, E. Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp em tilápias de Anais Eletrônico VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar CESUMAR – Centro Universitário de Maringá Editora CESUMAR Maringá – Paraná – Brasil pesqueiros da região metropolitana de São Paulo. 2003. 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – USP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo-SP, 2003.

- LORENZON, Cintia Sobue. Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do estado de São Paulo. 2009. 52f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, 2009. 46
- LORENZON, Cíntia Sobue. Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do estado de São Paulo. 2009.
- MACEDO, Carla Fernandes; SIPAÚBA-TAVARES, Lúcia Helena. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. **Boletim do Instituto de Pesca**, 2018, 36.2: 149-163.
- MALLASEN, Margarete, et al. Qualidade da água em sistema de piscicultura em tanques-rede no reservatório de Ilha Solteira, SP. **Boletim do instituto de pesca**, 2018, 38.1: 15-30.
- MARTINS, M. L. Manejo sanitário na piscicultura. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. de los A. P. (ed.). Sanidade de organismos aquáticos. São Paulo: Varela, 2004a. p. 323-332.
- MERCANTE, Cacilda Thais Janson et al. Qualidade da água em viveiro de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas, São Paulo, Brasil. *Títulos não-correntes*, v. 21, n. 2, 2012.
- MERCANTE, Cacilda Thais Janson, et al. Qualidade da água em viveiro de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas, São Paulo, Brasil. *Títulos não-correntes*, 2012, 21: 79–88.
- MEYERS, T. R.; HENDRICKS, J.D. Histopathology. IN: RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. (Editores). *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*. Hemisphere Publishing Corporation, Washington: p. 283-331, 1985.
- MUNRO, B. H. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. **Pathology**, 1971, 3.3: 249.
- NUNES, Clarissa de Souza; CINSA, Laetitia Alves. Princípios do processamento histológico de rotina. *Rev. interdisciplin. estud. exp. anim. hum.(impr.)*, p. 31-40, 2016.
- OLIVEIRA, D.B.S.; SIPAÚBA-TAVARES, L.H. & DURIGAN, J.G. (1992). Estudo limnológico em tanques de piscicultura. Parte II: variação semanal de fatores físicos, químicos e biológicos. **Acta Limnologica Brasiliensia**, 4(único): 123-37
- OLIVEIRA, Wellington Romão; DE VASCONCELOS FROTA, Patrícia. Caracterização socioambiental do município de Tutóia–Maranhão. **Revista Geográfica de América Central**, v. 2, n. 47E, 2011.
- PEIXE, B. R. Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR 2018. São Paulo: **Associação Brasileira da Piscicultura**, 2018.
- PEIXE, B. R. Anuário Peixe Br da Piscicultura 2020. São Paulo: **Associação Brasileira de Piscicultura**, 2020.
- PEREIRA, Lilian; MERCANTE, Cacilda. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. *Boletim do Instituto de Pesca*,

- [S.l.], v. 31, n. 1, p. 81-88, jul. 2018. ISSN 1678-2305. Disponível em: <https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/Pereira_31_1>. Acesso em: 16 fev. 2021.
- PEREIRA, Natália Jovita et al. Biomarcadores histológicos em brânquias de peixes na avaliação da contaminação ambiental do rio Mearim, nordeste brasileiro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 68063-68079, 2020.
- POLEKSIĆ, V.; MITROVIĆ-TUTUNDŽIĆ, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. p.339–52, 1994.
- SEBRAE, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. 2015.
- Silva, A. D. R., Santos, R. B., Bruno, A. M. S. S., & Soares, E. C. (2013). Cultivo de tambaqui em canais de abastecimento sob diferentes densidades de peixes. *Acta Amazônia*, 43(4), 517-524.
- SINDAN. Compêndio de Produtos Veterinários, 2020. Disponível em: <https://sistemas.sindan.org.br/cpvs/pesquisar.aspx>
- SIPAÚBA-TAVARES, Lúcia Helena; CELESTE, Cíntia Costa; DE SOUZA BRAGA, Francisco Manoel. Efeito do óxido de cálcio sobre variáveis limnológicas em viveiros de criação de *Piaractus mesopotamicus* (pacu) e *Colossoma macropomum* (tambaqui). *Boletim do Instituto de Pesca*, 2018, 32.2: 191-198.
- TAVARES-DIAS, M.; MONTAGNER, D. Uso e principais aplicações do sal comum na piscicultura de água doce. Macapá: Embrapa Amapá, 2015. 38 p. (Embrapa Amapá. Documentos, 89).
- THOPHON, S.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E. S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; JARITKHUAN, S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. **Environmental Pollution**, v. 121, n. 3, p. 307-320. 2003. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00270-1](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00270-1)
- VAN DER OOST, Ron; BEYER, Jonny; VERMEULEN, Nico PE. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental toxicology and pharmacology**, 2003, 13.2: 57-149.
- VIANA, Thalia Matos Aguiar et al. Biomarcadores histológicos em brânquias e fígados de *Sciades herzbergii* (Bloch, 1794) em uma área portuária e em uma de proteção ambiental–MA, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 41047-41065, 2021.
- VIDAL, M. F. Panorama da piscicultura no Nordeste. Caderno Setorial Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste/BNB, v. 1, n. 3, nov. 2016.
- VIDAL, Maria de Fátima. **Panorama da piscicultura no Nordeste**. 2016.
- KUBITZA, Eng Agr Fernando; KUBITZA, Méd Vet Ludmilla MM. TILÁPIAS. 2000.

- ISHIKAWA, M. M. et al. Uso de biomarcadores em peixe e boas práticas de manejo sanitário para a piscicultura. Embrapa Meio Ambiente-Documentos (INFOTECA-E), 2020.
- DO NASCIMENTO, Ingrid Tayane Vieira da Silva et al. Quality of water from fish farms and histopathological analysis of tilapia (*Oreochromis* sp.) in São José de Ribamar and Paço do Lumiar, state of Maranhão, Brazil. **Aquaculture Research**.
- REBOUÇAS, V. T.; LIMA, F. R. D. S.; CAVALCANTE, D. D. H. Reassessment of the suitable range of water pH for culture of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. in eutrophic water. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, p. 361-368, 2016.
- BOLNER, K. C.; COPATTI, C. E.; ROSSO, F. L.; LORO, V. L.; BALDISSEROTTO, B. Water pH and metabolic parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 56, p. 202-208, 2014.
- GARCIA, L. D. O.; GUTIÉRREZ-ESPINOSA, M.; WÁSQUEZ-TORRES, W.; BALDISSEROTTO, B. Dietary protein levels in *Piaractus brachyomus* submitted to extremely acidic or alkaline pH. **Ciência Rural**, v. 44, p. 301-306, 2014.
- MARTINS, M. L.; CARDOSO, L.; MARCHIORI, N.; BENITES DE PÁDUA, S. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 1-20, 2015.
- DEL RIO-ZARAGOZA, O. B.; FAJER-AVILA, E. J.; ALMAZÁN-RUEDA, P. Haematological and gill responses to an experimental infection of dactylogyrid monogeneans on the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). **Aquaculture research**, v. 41, n. 11, p. 1592-1601, 2010.
- CAMARGO, M. M.; MARTINEZ, C. B. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 3, p. 327-336, 2007.
- VENTURA SOBRINHO, A.; DOS SANTOS, J. S.; VIEIRA, A. N.; ZANELLA, J.; GABRIEL, A. D. A. Effects of parasitism by ichthyophthirius multifiliis on pacu gills (*Piaractus mesopotamicus*)(OSTEICHTHYES: CHARACIDAE). **Medicina Veterinária (Brasil)**, v. 12, n. 4, p. 263-269, 2018.
- MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBERO, R.P.; ZIMMERMANN, S. **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Cidade: ULBRA, 2001. 199 p.
- DICKERSON, H. W., & DAWE, D. L. Ichthyophthirius multifiliis and *Cryptocaryon irritans* (phylum Ciliophora). **Fish diseases and disorders**, v. 1, p. 116-153, 2006.
- KOCA, Y. B.; KOCA, S.; GÜRCÜ, B.; OSANÇ, E.; TUNÇBAS, O.; AKSOY, G. Investigation of histopathological and cytogenetic effects on *Lepomis gibbosus* (Pisces: Perciformes) in the Çine stream (Aydin/Turkey) with determination of water pollution. **Environmental Toxicology**, n.20, p.560-571, 2005.

ROBERTS, R.J. **Fish pathology**. 3th ed. London: W.B. Saunders, 2001. 472p.

PAULINO, M. G.; SOUZA, N. E. S.; FERNANDES, M. N. Subchronic exposure to atrazine induces biochemical and histopathological changes in the gills of a Neotropical freshwater fish, *Prochilodus lineatus*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 80, p. 6-13, 2012.

SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 6, n. 1, p. 75-86, 1997.

LIMA, A. F., DA SILVA, A. P., RODRIGUES, A. P. O., EMBRAPA, P. E. A., BERGAMIN, G. T., TORATI, L. S., FILHO, M. X. P., & MACIEL, P. O. (2014). Qualidade da Água: Piscicultura Familiar. **Journal of Chemical Information and Modeling**. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

LIMA ARAÚJO, Rayza; PANTOJA LIMA, Jackson. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA EM SISTEMAS DE CULTIVO DE TAMBAQUI NA REGIÃO METROPOLITANA DE MANAUS E SUA RELAÇÃO COM AS PRÁTICAS DE MANEJO. REVISTA IGAPÓ-**Revista de Educação Ciência e Tecnologia do IFAM**, v. 14, n. 1, 2020.

SILVA, M. C. S., NASCIMENTO, I. T. V. D. S. D., GOMES, J. B., FARIAS, F. D. A. C., SANTOS, D. M. S., MELO, T. A. D., & SERRA, I. M. R. D. S. (2021). Microbiological analysis of water and fish of fish farms in the protection area of the western lowlands of Maranhão, Brazil. **Aquaculture Research**.

DO NASCIMENTO, I. T. V. D. S., PEREIRA, N. J., MARTINS, R. S., DE MELO, T. A., SANTOS, D. M. S., & SERRA, I. M. R. D. S. Quality of water from fish farms and histopathological analysis of tilapia (*Oreochromis* sp.) in São José de Ribamar and Paço do Lumiar, state of Maranhão, Brazil. **Aquaculture Research**.

JUNIOR, H. L., GONÇALVES, V. G. F., NUNES, V. S., CALDEIRA, T. M., & DA LUZ MACIEL, C. V. (2021). Qualidade da água em produções de pescados da espécie tambaqui na agricultura familiar em Jaru/RO. **South American Sciences** ISSN 2675-7222, 2(1), e21103-e21103.

DA SILVA LADISLAU, D., TAKIYAMA, L. R., DE SOUZA, P. L., RIBEIRO, M. W. S., ARIDE, P. H. R., LAVANDER, H. D., DE OLIVEIRA, A. T. (2020). Avaliação da qualidade da água em pisciculturas de Macapá, Amapá. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, 11(2), 402-417.

TAKINO, M. & CIPÓLLI, M.N. (1988). Caracterização limnológica em tanques de cultivo de tilápia, *Oreochromis niloticus*: Parâmetros físicos, químicos e clorofila a. **Boletim do Instituto de Pesca**, 15(2), 237-245.

FARIAS, W., CRUZ, B., SILVA, J., FERRÃO, T., DA CONCEIÇÃO SANTOS, M., & ALVES, H. R. (2019). TRATAMENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTE DA

PISCICULTURA EM SISTEMA FECHADO. Fórum de Integração Ensino, Pesquisa, Extensão e Inovação Tecnológica do IFRR-e-ISSN 2447-1208, 6(1).

3.3 AVALIAÇÃO DA SANIDADE E IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES FÚNGICAS EM PEIXES DE PISCICULTURAS DE TUTÓIA, MARANHÃO

Artigo a ser submetido à Revista Aquaculture Research

Avaliação da sanidade e identificação de espécies fúngicas em peixes de pisciculturas de Tutóia, Maranhão, Brasil

Rebeca Ramos Sousa¹, Ingrid Tayane Vieira da Silva do Nascimento¹, Nathália

Medeiros Guimarães¹, Thiago Anchieta de Melo¹, Ilka Márcia Ribeiro de Souza Serra¹

¹ Department of Chemistry and Biology and Graduate Program in Aquatic Resources and Fishery, State University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

Resumo

Os problemas principais que limitam a produção e envolve a mortalidade de peixes são: estresse ambiental e infecções, por microorganismos. Assim objetivou-se neste trabalho avaliar a sanidade através identificação de espécies fúngicas em peixes de piscicultura no município de Tutóia – Maranhão. O estudo foi realizado em duas pisciculturas (P1 e P2). Foram realizadas entrevistas com os piscicultores e coletados 26 peixes das espécies *Oreochromis sp.*, *Colossoma sp.* e *Megalops sp.* para o isolamento de fungos eventualmente presentes nas brânquias e peles. A entrevista abordou perguntas que podem influenciar na sanidade dos peixes. O isolamento das amostras de brânquias e pele dos peixes foram realizados de acordo com a metodologia adaptada de Menezes e Assis (2004) e Nascimento et al. (2019). A entrevista revelou que as pisciculturas P1 e P2 apresentam alguns fatores de risco para o surgimento e desenvolvimento de patógenos, influenciando a sanidade desses peixes. Essas propriedades apresentam alguns fatores considerados potencialmente estressantes como a ausência de aerador que influencia diretamente nos níveis de oxigênio dissolvido. A ausência de desinfecção dos equipamentos usados de maneira correta nas pisciculturas também é considerada um fator de risco para o aparecimento de doenças. Os gêneros fúngicos isolados foram *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* e *Rhizopus sp.*, fungos produtores de micotoxinas, principalmente na pele. A ocorrência desses fungos pode ser natural ou pode estar relacionada ao uso de ração contaminada nos criatórios. A presença de micotoxinas em alimentos já foi associada a várias patologias em peixes. Nas pisciculturas foram observadas algumas condições de sanidade e manejo inadequadas que podem influenciar diretamente nas atividades fisiológicas de respiração, alimentação e defesa imunológica dos peixes.

Palavras-chave: Sanidade, Fungos, Microbiologia, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*.

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura é a produção de peixes em ambientes controlados que vem crescendo rapidamente no Brasil. Essa atividade aquícola é desenvolvida em praticamente todas as regiões do país e são diversos sistemas de criação, como açudes, viveiros escavados e tanques-rede (SENAR, 2017).

A piscicultura brasileira com significativos avanços em profissionalização do setor e aumento da produção está diretamente ligado ao consumo do mercado doméstico. Em 2019, a produção de 579 mil toneladas de peixes oriundas da piscicultura brasileira, apenas 1,13%, ou seja, 6.542 toneladas foram para exportação (FILHO, et al., 2020).

No entanto, alguns pontos importantes surgem junto com este sistema de cultivo, como gestão adequada, qualidade da água, biossegurança e controle de doenças. O sistema intensivo freqüentemente leva às condições estressantes, que imunossuprimem os indivíduos. Assim, os peixes tornam-se mais suscetíveis a infecções, devido a um desequilíbrio imunológico que podem causar mortalidade considerável. Doenças em peixes cultivados poderiam ser usados como bioindicadores do estado ambiental e de sanidade no viveiro, com o objetivo de aprimorar e implementar as práticas de gestão (RELVAS et al., 2020).

Os pesquisadores atuais estão preocupados em executar uma análise rígida da segurança dos agentes de controle microbiano, de maneira especial aqueles que, como os fungos possuem grande capacidade de esporulação, disseminação e resistência no ambiente, sendo capazes de infectar outros organismos do agroecossistema (PINHEIRO et al., 2020).

A qualidade das rações utilizadas nas pisciculturas é importante também, considerando que devem garantir as exigências nutricionais e menor incidência de doenças. Sendo indispensável o controle sanitário porque os insumos utilizados na fabricação das rações são susceptíveis à contaminação por fungos que produzem aflatoxinas (BEDOYA-SERNA, 2018).

Um surto de doença em peixes causa enormes prejuízos para a produção, como perdas econômicas e socioeconômicas de muitos países. As infecções fúngicas são associadas a lesões ulcerativas avançadas em peixes, segundo Shriniwa e Sharma (2019). No estudo de Albuquerque (2021) foi encontrado peixes de pisciculturas com doenças causadas por fungos.

As doenças fúngicas nos peixes afetam a saúde humana porque provavelmente são transferidas da cadeia alimentar para os humanos. Assim objetivou-se neste trabalho identificar e caracterizar a morfologia de espécies fúngicas de ocorrência

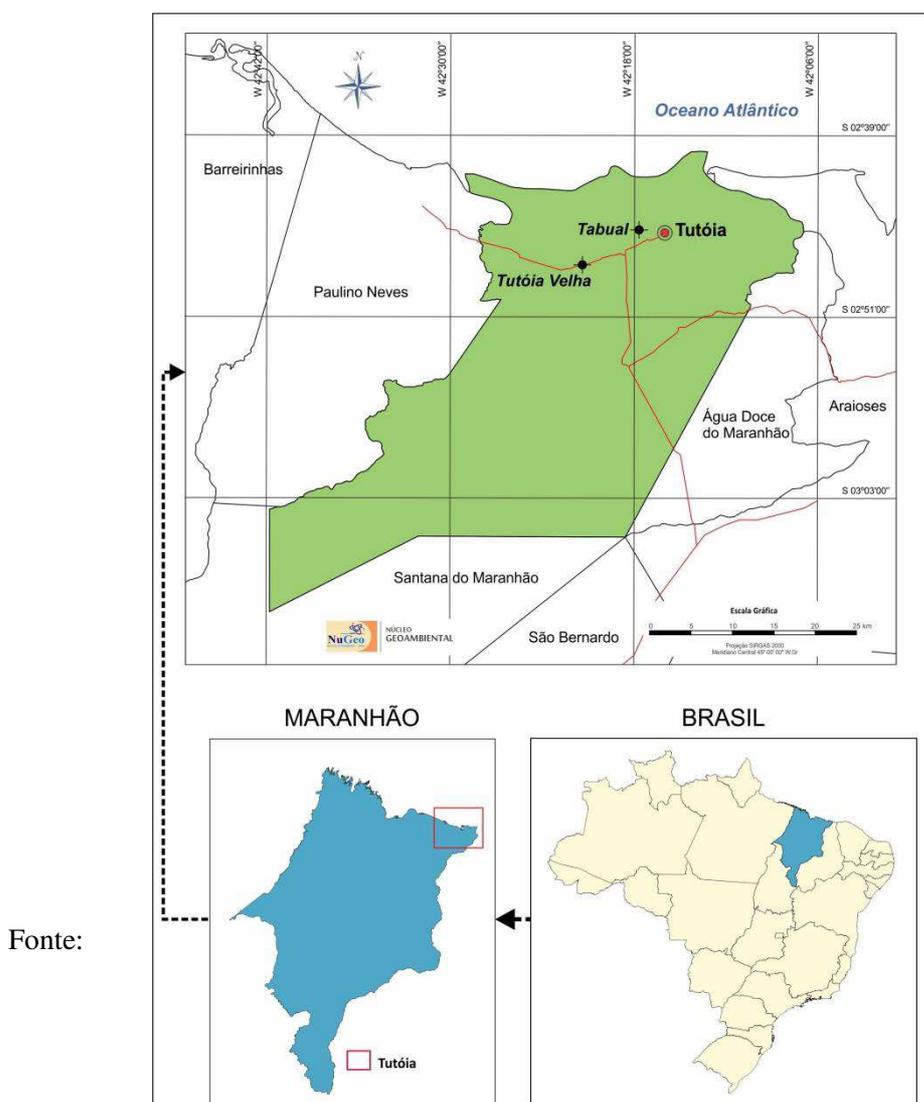
natural nas principais espécies de peixes criadas em pisciculturas no município de Tutóia – Maranhão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de coleta

O estudo foi realizado em Tutóia. (Figura 1), município do Maranhão que apresenta uma área territorial de 1.566,080 km² (IBGE, 2020). A cidade possui o cerrado como bioma predominante (IBGE, 2019) e está localizado na Mesorregião Norte Maranhense e na Região de Planejamento dos Lençóis Maranhenses, próximo ao Delta do Rio Parnaíba (SANTOS; FERREIRA, 2016).

Figura 1. Mapa da localização das áreas de estudo nos municípios de Tutóia, MA. 2021.



NUGEO/UEMA, 2021.

As coletas ocorreram em duas pisciculturas localizadas nos pontos de coordenadas 02° 47' 31,17'' S 42° 21' 25,46'' W e 02° 45' 34,14'' S 42° 17' 56,41'' W.

2.2 Coleta e processamento das amostras

As coletas do material para análise foram feitas em duas pisciculturas localizadas em pontos distintos em Tutóia. Inicialmente os produtores foram entrevistados através de um questionário semi-estruturado, com assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para definição de espécies de peixes de maior interesse econômico em cada região, época de maior incidência de doenças e doenças que mais tem afetado a produção. Esse estudo foi submetido ao comitê de ética em pesquisas que envolvem seres humanos, bem como ao comitê de ética em pesquisa animal pela Universidade Estadual do Maranhão (Protocolo N° 05/2021).

Os questionários aplicados em duas propriedades foram respondidos pelos proprietários das pisciculturas, em novembro de 2020 e janeiro de 2021. As pisciculturas dedicam-se exclusivamente à atividade de recria e engorda. A piscicultura P1 é do tipo de viveiro escavado, apresenta a criação de peixes, de galinha, o cultivo de mandioca, açaí, manga e a produção de carvão como as principais atividades desenvolvidas nas propriedades. Em P2, além da criação de peixes em tanques de alvenaria, tem criação de galinhas como atividades desenvolvidas.

Nos questionários também foram perguntados sobre características como: erosão das bordas, presença/ausência de grama e aerador, qualidade da água, manejo, registro de doenças e alimentação. Os resultados dos questionários foram categorizados e tabulados utilizando o Microsoft Office 2013.

Em janeiro de 2021 foi realizado a primeira coleta de 13 peixes, sendo oito da Piscicultura 1 e cinco da Piscicultura 2, com o auxílio de rede de arrasto, tarrafa ou puçá. Em julho de 2021 foi realizado a segunda coleta de 13 peixes também, sendo oito da da Piscicultura 1 e cinco da Piscicultura 2. Os peixes foram depositados em sacos plásticos esterilizados e depois, em caixas térmicas de poliestireno (isopor) contendo gelo para transporte.

No laboratório de Microbiologia, Patologia e Biotecnologia (MIPABIO), os peixes tiveram a sua pele e brânquias retiradas com o auxílio de pinças, lâminas e tesouras

esterilizadas. Em seguida, uma parte do material foi colocada em sacos plásticos esterilizados e conduzidos para o isolamento e identificação dos fungos.

O isolamento do tecido coletado foi realizado segundo metodologia adaptada de Menezes e Assis (2004) e Nascimento et al. (2019). Dessa forma, fragmentos da pele e brânquias dos peixes amostrados foram desinfestados por imersão em solução de etanol 70% por 15 segundos, seguida de uma solução de hipoclorito de sódio na concentração 3:1 (v/v) por 15 segundos e finalmente, em água destilada e autoclavada, por 30 segundos. Após o último passo, os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultivo BDA (batata-dextrose-ágar) com cloranfenicol. Estas foram incubadas em câmaras tipo B.O.D. (*Biological Oxygen Demand*), ajustada para gerar uma temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h.

Com o crescimento de estruturas miceliais provenientes do patógeno, as colônias dos fungos foram codificadas e as culturas puras preservadas em tubos de ensaio, contendo meio de cultivo BDA, sendo preservadas em refrigeração de 5 °C. Além da preservação em água destilada estéril, chamado de Método de Castellani, preservando em tubos de Eppendorf. Para isso, inicialmente, tubos de Eppendorf foram preenchidos com de água destilada e autoclavada em câmara de fluxo laminar. Posteriormente, foram transferidos discos de micélio de meio BDA provenientes de colônias em crescimento ativo do fungo das placas de Petri e colocados nos tubos de Eppendorf para que sejam tombados depois (NETO et al., 2019).

Para os estudos morfológicos, os isolados foram colocados no meio Azul de Amann para que as estruturas sejam examinadas microscopicamente em lâminas quanto à presença de blastosporos, hifas, pseudo-hifas, clamidosporos e artrósporos, adotando a metodologia de Tartor et al. (2018).

3. RESULTADOS

3.1 Caracterização sanitária das pisciculturas, no cultivo de peixes

A propriedade P1 possuía três estruturas de cultivo extensiva, sendo 750 peixes nos três viveiros de *Oreochromis* sp., *Colossoma* sp. e *Megalops* sp. O cultivo de peixes em P2 é realizado em dois tanques, sendo com aproximadamente 78 peixes no total, com espécies de *Oreochromis* sp. e *Megalops* sp.

Os resultados obtidos a partir dos questionários aplicados nas duas propriedades estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização sanitária dos cultivos de peixes em Tutóia (P1 e P2), Maranhão, Brasil.

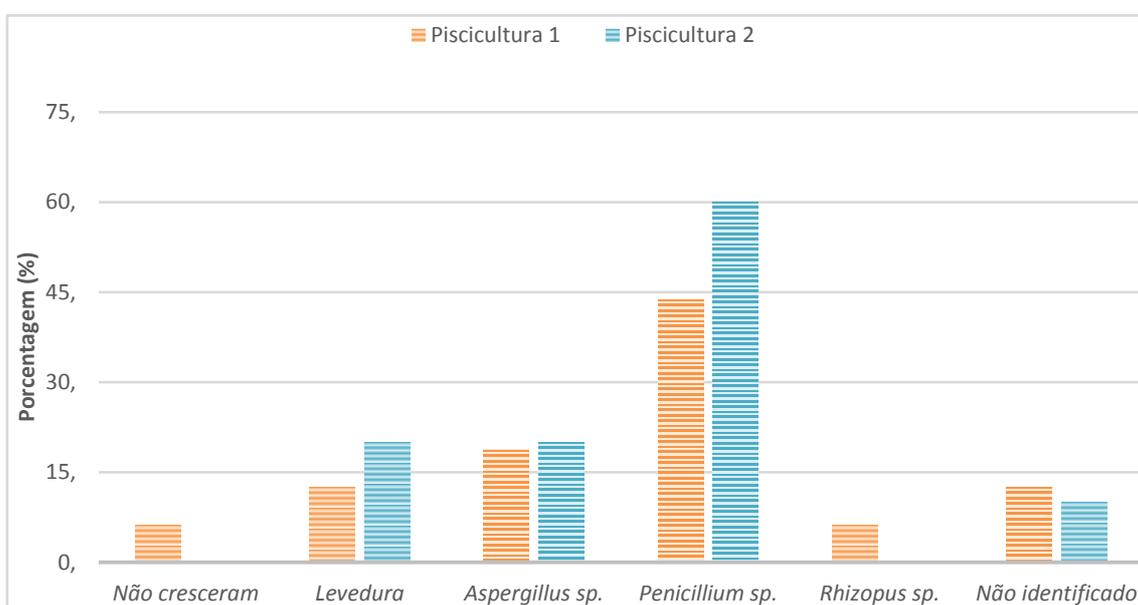
PISCICULTURAS		
	P1	P2
CARACTERÍSTICAS DOS CULTIVOS		
Erosão das bordas	Não	Não
Presença de grama	Sim	Não
Aerador	Não	Não
QUALIDADE DA ÁGUA		
Origem da fonte de água	Olho d'água	Poço
Frequência de análise da água	Não analisa	Não analisa
MANEJO		
Frequência da biometria	Não realiza	Não realiza
Quantidade de peixes	750	78
DOENÇAS		
Perdas econômicas causadas por doenças	Não	Não
Desinfecção de equipamentos	Água corrente	Água corrente
ALIMENTAÇÃO		
Tipo de alimentação	Ração e as vezes milho	Ração e as vezes peixe
Qtde. de ração por viveiro	15 kg/dia	2 kg/dia
Critério usado na escolha da ração	Facilidade de compra	Melhor desempenho dos peixes

Local para armazenar a ração	Não	Não
------------------------------	-----	-----

3.2 Identificação das espécies fúngicas

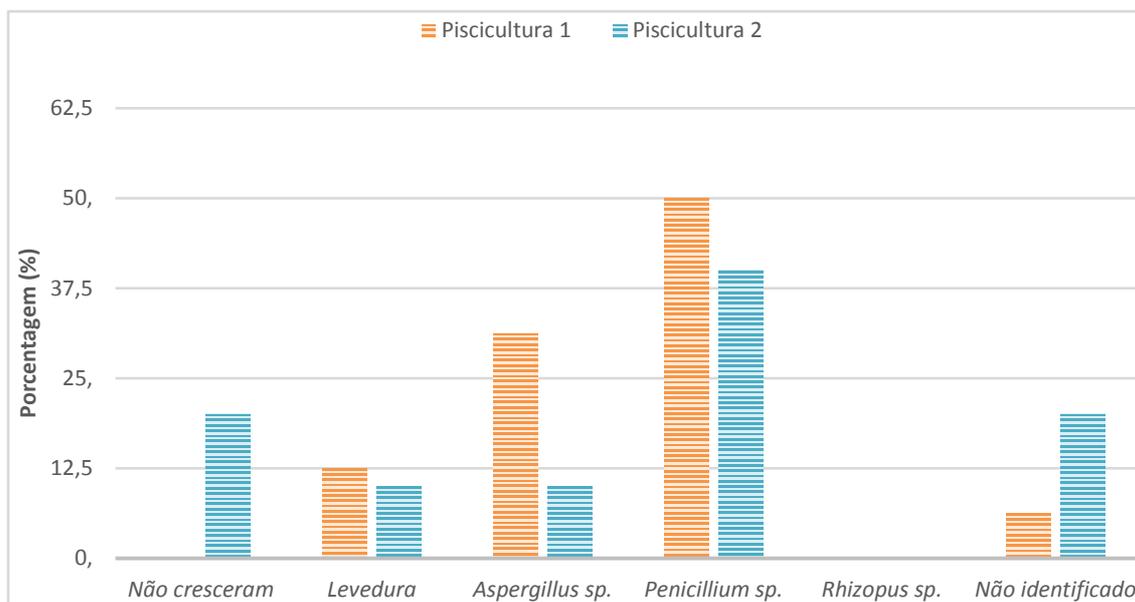
Os resultados obtidos na etapa de identificação mostraram a incidência dos gêneros *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp. e *Penicillium* sp. O percentual de espécies fúngicas que foram isoladas e identificadas está descrito na Figura 1 e 2.

Figura 2. Distribuição dos gêneros *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. nas pisciculturas analisadas na primeira coleta.



Fonte: Dados originais da pesquisa.

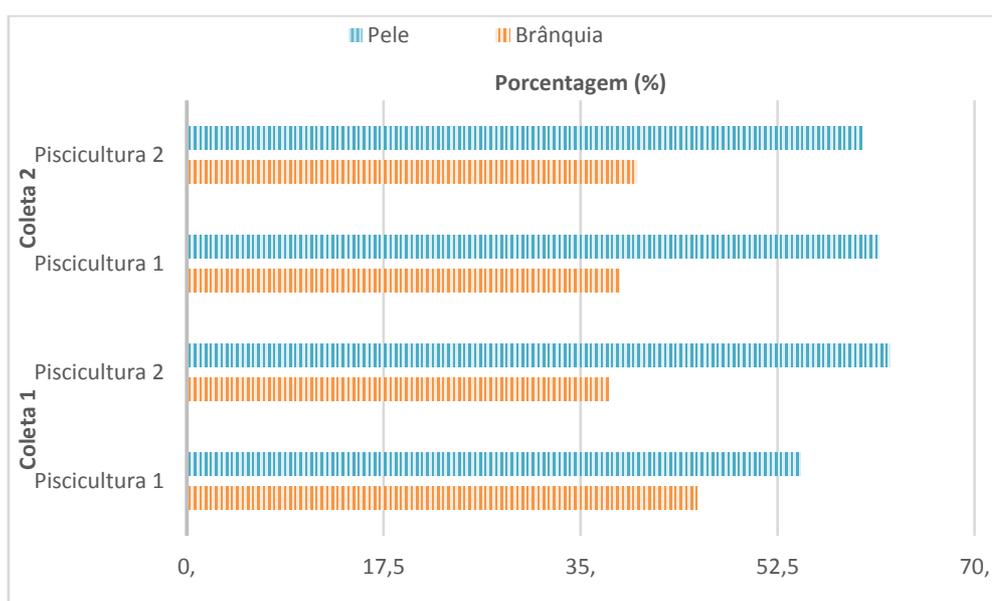
Figura 3. Distribuição dos gêneros *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. nas pisciculturas analisadas na segunda coleta.



Fonte: Dados originais da pesquisa

Em todas as pisciculturas foi possível observar a maior frequência de contaminações fúngicas na pele dos peixes analisados, quando comparado com as brânquias. O percentual de espécies fúngicas encontradas nas amostras de pele e de brânquias dos peixes está descrito na Figura 3.

Figura 4. Distribuição das espécies fúngicas encontradas nas peles e brânquias dos peixes analisados.



Fonte: Dados originais da pesquisa

4. DISCUSSÃO

Para diminuir as carências na falta de O.D., os aeradores são utilizados como ferramentas para transferência de oxigênio (O_2) da atmosfera para água, contribuindo assim com a redução do nitrogênio amoniacal (NH_4^+), que é prejudicial aos peixes e eles são empregados quando ocorre condições extremas nos viveiros, como altas densidades de estocagem, onde os peixes consomem elevados níveis de O.D. (SOUZA; PONTUSCHKA; SOUSA, 2017) e nas pisciculturas P1 e P2 não existem, como revelado pelos entrevistados, o que pode provocar estresse, asfíxia ou até a morte desses animais.

Faria e Morais (2018) refere que os peixes nadando na superfície da água e a concentração deles devido a essas eventuais emergências podem ser resolvidas ou amenizadas com os aeradores. A análise da água e sua qualidade são fatores que determinam o sucesso da piscicultura, sendo essencial investir no correto manejo da água para alcançar os resultados esperados (SENAR, 2019) e nenhuma das pisciculturas visitadas era realizada a análise da água.

Em relação à biometria, a prática é essencial para obtenção periódica de avaliar o desenvolvimento dos peixes em relação ao peso, comprimento e estado de saúde, realizada por quinzenas ou mensalmente sempre nas primeiras horas do dia, manipulando uma amostragem da população dos peixes de 3 a 5% por viveiro, com o peixe em jejum, assim esse processo deve ser delicado e rápido para que o animal não sofra com estresse (MENDES; CARVALHO, 2016). Os piscicultores avaliados nesse estudo parecem não conhecer sobre a importância e necessidade dessas práticas, pois nenhuma das duas pisciculturas realizavam tais práticas.

Nas pisciculturas P1 e P2, a desinfecção é feita somente com a lavagem em água corrente. Portanto, não é feita da forma correta porque existem dois sistemas de desinfecção, o físico e o químico. A desinfecção física é obtida pelo calor (vapor ou ebulição), por lâmpadas ultravioletas (UV) e/ou pela radiação solar. A desinfecção química é feita com o uso de produtos químicos sintéticos, minerais ou naturais, como agentes oxidantes (ozônio, iodo e peróxidos), modificadores de pH (cal e ácidos), formol, clorexidina, amônia (SENAR, 2019).

Ainda sobre esse aspecto importante destacar que desinfecção dos equipamentos utilizados nos criadouros pode ser utilizada durante uma emergência sanitária, como resposta ao aparecimento de uma patologia, como forma de erradicação

ou como parte das boas práticas da propriedade, com o objetivo de impedir o acesso e a disseminação de certos patógenos nas pisciculturas, de forma preventiva, antes da ocorrência de doenças (SENAR, 2019).

A ração deve ser armazenada em locais fechados, arejados, limpos e secos, protegidos do sol e da chuva, porque o excesso de calor e umidade são os fatores que mais prejudicam sua qualidade (CRUZ; RUFINO, 2017). As pisciculturas estudadas não possuem locais próprios para armazenar a ração, o que pode causar a contaminação de fungos e ao entrar em contato com a água e com os peixes, resultou no registro de muitos gêneros contaminantes como *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp., sendo encontrados mais na pele do que nas brânquias, tanto na primeira quanto na segunda coleta. Corroborando com o estudo de Younis et al (2020), onde a pele (55,4%) de *Oreochromis niloticus* e *Clarias gariepinus* foi a área mais afetada seguida de brânquias (18,9%) com isolados fúngicos e foram encontrados gêneros *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.

Segundo Albuquerque et al. (2021), os viveiros escavados, o mesmo utilizado em P1, apresentam maior taxa de sobrevivência nas fases de recria e engorda, menores índices de doenças, disponibilidade de alimento natural, o que auxilia na dieta do peixe e uma conversão alimentar de melhor qualidade. Mas isso não foi possível se diferenciar na ocorrência de fungos em relação a P2, que possui modelo de tanque, ambas pisciculturas tiveram ocorrências de fungos.

Os fungos são decompositores, oferecem uma contribuição importante para a higiene, uma vez que aproveitam parte dos resíduos dos ambientes, inclusive está presente também nas pisciculturas. Os peixes possuem uma membrana mucosa protetora eficaz contra a infiltração dos esporos dos fungos. No entanto, se essa membrana se danificar por lesões ou infestação de parasitas, os fungos podem fixar-se e crescer na pele, nas regiões saudáveis, nos órgãos internos e ainda causar a morte (NASCIMENTO et al., 2021).

Os fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. produzem micotoxinas e normalmente são contaminantes de ração animal (NASCIMENTO et al., 2019). Corroborando com o estudo de Gomes (2019) ao encontrar a mesma micobiota em ração e a ocorrência de resíduos de aflatoxinas em tecidos de peixes redondos advindos de pisciculturas. Essas toxinas podem ser ingeridas pelos animais e serem acumulativas nos tecidos dos peixes, alcançando os consumidores humanos. As espécies do gênero *Aspergillus* são frequentemente reconhecidas por produzir micotoxinas,

deteriorar alimentos (saprófitos) e algumas são descritas como patógenos humanos e animais.

5. CONCLUSÃO

As pisciculturas analisadas são ambientes cultiváveis, porém adverte-se para algumas condições de sanidade e manejo inadequadas, como a ausência do controle dos parâmetros físico-químicos da água, da desinfecção dos equipamentos utilizados nos criatórios, uma vez que esses fatores podem influenciar diretamente nas atividades fisiológicas de respiração, alimentação e defesa imunológica dos peixes.

A presença dos gêneros fúngicos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. nos peixes e na pele principalmente, pode ter sua origem devido à contaminação da água por rações infectadas por essas espécies durante o processamento ou armazenamento inadequado demonstrando um controle sanitário incipientes das propriedades.

Referências

- Albuquerque, J. P., Florindo, B. C., Parente, J. M., Evelylin Y., Jacyntho, L. A., Godoi, D. S. (2021). Case study of fish farming in Tangará Da Serra Mato Grosso. *Brazilian Journal of Development*, 7(2), 20694-20700. doi:10.34117/bjdv7n2-626.
- Bedoya-Serna, C. M., Michelin, E. C., Massocco, M. M., Lucas C. S., Godoy, H. S., Lima C. G. ... Fernandes, A. M. (2018). Effects of dietary aflatoxin B1 on accumulation and performance in matrinxã fish (*Brycon cephalus*). *PLoS ONE*, 13(8), e0201812. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201812>.
- Cruz, F. G. G. & Rufino, J. P. F. (2017). *Formulação e Fabricação de Rações (Aves, Suínos e Peixes)*. Manaus: EDUA.
- Faria, R. H. S. & Moraes, M. (2018). *Manual de criação de peixes em viveiro*. Brasília: Codevasf.
- Filho, M. X. P., Flores, R. M. V., Rocha, H. S. R., Silva, H. J. T., Sonoda, D. Y., Carvalho, V. B. ... Rodrigues, F. L. M. (2020). *O mercado de peixes da piscicultura no Brasil: estudo do segmento de supermercados*. Palmas, TO: Embrapa Pesca e Aquicultura. Acedido em: 21/06/2021. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/215540/1/CNPASA-2020-bpd25.pdf>.
- Gomes, A. L. (2019). *Avaliação da microbiota da ração e da ocorrência de resíduos de aflaxitonas nos tecidos de peixes redondos*. (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga. doi:10.11606/D.74.2019.tde-27112019-165116.

IBGE, C. D. (2019). *Produção da pecuária municipal*. Rio de Janeiro: IBGE. Acedido em: 29/01/2021. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/itapecurumirim/pesquisa/18/16459?tipo=ranking&indicador=16462>.

Mendes, A. I. & Carvalho, M. C. (2016). Caracterização da piscicultura em tanques-rede no município de Rubinéia-SP: Um Estudo de Caso. *Revista do Agronegócio*, 5, 6 – 33.

Menezes, M. & Assis, S. M. P. (2004). *Guia prático para fungos fitopatogênicos*. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 183.

Nascimento, I. R. M. A., Souza, A. C. F., Silva, L. R. S., Bezerra, C. A. M., Sousa, R. R., Abreu, A. S. ... Cantanhede, S. P. D. (2021). Patógenos em peixes de ambientes naturais e de cultivo no Estado do Maranhão: Uma visão geral e perspectivas para pesquisa. *Research, Society and Development*, 10(7). <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16284>.

Nascimento, J. C. S., Soares, V. M., Pereira, L. B. S. B., Filho, L. B., Albuquerque, P. V., Andrade, G. P. ... Porto, T. S. (2019). Produção de fitase por *Aspergillus niger* var. phoenicis URM 4924 utilizando planejamentos fatoriais. *PUBVET*, 13 (3), 1-10. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n3a291.1-10>.

Neto, J. R. C., Mazutti, M. A., Zabotc, G. L., & Tres, M. V. (2019). Avaliação de diferentes métodos de preservação do fungo *Phoma Dimorpha*. *Colloquium Agrariae*, 15(4), 1–10. <https://revistas.unoeste.br/index.php/ca/article/view/>.

Pinheiro, B. P., Polonio, J. C., Orlandelli, R. C., Pamphile, A. J., Golias, H. C. Atividade larvicida de fungos endofíticos: uma revisão (2020). Curitiba: Braz. J. of Develop., 6, (6), 35761-35774. <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/11376/9490>.

Santos, K. F. L. & Ferreira, A. J. A. (2016). A produção e consumo do espaço turístico no município de Tutóia (Maranhão). *Espaço e Cultura*, 40, 113 – 132. <https://doi.org/10.12957/espacoecultura.2016.41902>.

Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. (2017). *Piscicultura: manejo da qualidade da água*. Brasília: Senar.

Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. (2019). *Piscicultura: manejo da qualidade da água*. Brasília: Senar.

Shriniwa, B. D. & Sharma, R. (2019). Environmental Risk, Infections, Fish Protein Biomarkers in Fish Food Safety: A Prospective Study. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 18 (9), 45-62. Acedido em: 21/06/2021. Disponível em: https://www.academia.edu/41541572/Environmental_Risk_Infections_Fish_Protein_Biomarkers_in_Fish_Food_Safety_A_Prospective_Study_Environment_temperature_stress_causes_physiological_stress_and_infections_in_fish_muscle?email_work_card=view-paper.

Souza, E. S.; Pontuschka, R. B. & Sousa, R. G. C. (2017). Viabilidade econômica do uso de aerador para o cultivo semi-intensivo de tambaqui em tanques escavados. *Revista Desafios*, 04.

Tartor, Y., Taha, M., Mahboub, H. & Ghamery, M. E. (2018). Yeast Species Associated with Diseased Fish: Occurrence, Identification, Experimental challenges and Antifungal Susceptibility Testing. *Aquaculture*, 488, 134-144.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A revisão bibliográfica revelou que os peixes podem ser acometidos por crustáceos ectoparasitas, bacterioses, nemátodas, protozoários, mixosporídeos, fungos, monogenóideas e vírus, todos eles com capacidade de desencadear sérios problemas econômicos aos empreendedores do ramo da piscicultura, contaminações nos ambientes naturais dos peixes e mortalidade das espécies ícticas. Porém no Maranhão as pesquisas com esses parasitas de peixes ainda são incipientes, neste sentido destaca-se a necessidade de mais estudos sobre sanidade de peixes nesta região. Além disso, estudos detalhados sobre o ciclo de vida dos parasitas e suas vias de transmissão com finalidade de prevenir as infecções, bem como a construção de um plano de ação com estratégias de tratamento, controle e prevenção dessas patologias serão de grande relevância em estudos futuros e ambientalmente sustentáveis.

- Os dados abióticos e microbiológicos da água da piscicultura indicaram valores de nitrito, O.D. e condutividade fora de concentrações recomendadas. Os parâmetros pH, temperatura, amônia, transparência e *Escherichia coli* estavam dentro dos valores recomendados por legislação vigente e literaturas citadas.

- As análises histopatológicas realizadas nas brânquias apresentaram lesões branquiais do estágio I, II e III em ambas as coletas, indicando alterações moderadas do órgão.

- A entrevista revelou que as pisciculturas analisadas advertem para algumas condições de sanidade e manejo inadequadas, como a ausência de aeradores, do controle dos parâmetros físico-químicos da água, da desinfecção dos equipamentos utilizados nos criatórios, uma vez que esses fatores podem influenciar diretamente nas atividades fisiológicas de respiração, alimentação e defesa imunológica dos peixes.

- Os gêneros fúngicos isolados dos peixes estudados foram *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp., fungos que se caracterizam como produtores de micotoxinas. Esses foram encontrados mais em pele do que nas brânquias. A ocorrência desses fungos pode estar relacionada ao uso de ração contaminada nos criatórios. A presença de micotoxinas em alimentos já foi associada a várias patologias em peixes.

REFERÊNCIAS

BRABO, M.F. et al. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 2, p. 50-58, 2016.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine & Hygiene**, v.24, p.270-276, 1939.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges. Roma: FAO, 2016.

FAO, Food And Agriculture Organization Of The United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome: FAO, 2018. 227 p.

FAO, Food And Agriculture Organization Of The United Nations. The State of Food Security and Nutrition in the World 2020. Transforming food systems for affordable healthy diets. Roma: FAO, 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/3/ca9692en/ca9692en.pdf>. Acesso em: 05 fev. 2022.

FARIA, R. H. S.; MORAIS, M. **Manual de criação de peixes em viveiro**. Brasília: Codevasf, 2019.

FIGUEIREDO, M.B. Estudo sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. **Biológico**, v.33, n.1, p.9-13, 1967.

IBGE, Produção da Pecuária Municipal 2018; Rio de Janeiro: IBGE, 2019. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/itapecuru-mirim/pesquisa/18/16459?tipo=ranking&indicador=16462>. Acesso em: 29 jan. 2021.

IBGE, Produção da Pecuária Municipal 2020; Rio de Janeiro: IBGE, 2021. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/tutoia/pesquisa/18/16459?indicador=16462>. Acesso em: 23 abr. 2022.

LOPES, J. C. **Técnico em agropecuária: piscicultura**. Floriano: EDUFPI, 2012. 80p. Disponível em: <http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Piscicultura.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2021.

MENEZES, M.; ASSIS, S.M.P. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2004. 183 p.

MEYER, F.; BARCLAY, L. **Manual de campo para investigação de morte de peixes**. São Paulo: Editora Sigma, 2009, 130 p.

NASCIMENTO, J. C. S. et al. Produção de fitase por *Aspergillus niger* var. *phoenicis* URM 4924 utilizando planejamentos fatoriais. **PUBVET**, v. 13, n. 3, 1-10. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n3a291.1-10>. Acesso em: 23 ago. 2021.

NETO, J. R. C. Avaliação de diferentes métodos de preservação do fungo *Phoma Dimorpha*. **Colloquium Agrariae**, v. 15, n.4, Jul-Ago, 2019, p. 1-10.

PEIXE BR, Associação Brasileira da Piscicultura. 2020. **Anuário Brasileiro da Piscicultura**. São Paulo: PEIXEBR, 2020.

PEIXE BR, Associação Brasileira da Piscicultura. 2021. **Anuário Brasileiro da Piscicultura**. São Paulo: PEIXEBR, 2021.

PEIXE BR, Associação Brasileira da Piscicultura. 2022. **Anuário Brasileiro da Piscicultura**. São Paulo: PEIXEBR, 2022.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. Programa SANAR. Boletim Epidemiológico – Edição Especial: Doenças Negligenciadas. 2015, 8p. Disponível em: http://portal.saude.pe.gov.br/sites/portal.saude.pe.gov.br/files/plano_sanar_2_edicao_29.08.17.pdf. Acesso em 26 jan. 2021.

PINHEIRO, C. A. M. et al. Qualidade da água e incidência de fungos em peixes oriundos de pisciculturas do município de São Luís, Maranhão. **Pesquisa em Foco**, v. 20, n. 1, p. 53-59, 2015.

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. **Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution**. In MÜLLER, R. and LLOYD, R., Ed. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. Cambridge: Cambridge Univ. Press., 1994, p. 339-352.

SANTOS, K. F. L.; FERREIRA, A. J. A. (2016). A produção e consumo do espaço turístico no município de Tutóia (Maranhão). **Espaço e Cultura**, 2016, v. 40, 113 – 132. Disponível em: <https://doi.org/10.12957/espacoecultura.2016.41902>. Acesso em: 23/08/2021.

SOUZA, A.C.F. et al. Fish farming in the state of Maranhão: perspectives for accelerating the production of native fish. **Scientia Plena**, v. 18, n. 2, 027401, 2022. Disponível em: doi: 10.14808/sci.plena.2022.027401. Acesso em: 19/04/2022.

TARTOR, Y.; TAHA, M., MAHBOUB, H.; GHAMERY, M. E. (2018). Yeast Species Associated with Diseased Fish: Occurrence, Identification, Experimental challenges and Antifungal Susceptibility Testing. **Aquaculture**, 2018, v. 488, 134-144.

APÊNDICES

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO (MESTRADO) EM RECURSOS AQUÁTICOS E
PESCA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário (a), em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre algumas informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e outra é da pesquisadora responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar:

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
Av. Lourenço Vieira da Silva, nº 1000 - Bairro: Jardim São Cristovão CEP 65055-310
– São Luís/MA.
FONE: (98) 2016-8100

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:**Título do Estudo:**

**CARACTERIZAÇÃO DAS PATOLOGIAS FÚNGICAS EM PEIXES CULTIVADOS NO
MUNICÍPIO DE
TUTÓIA – MARANHÃO**

Você está sendo convidado(a) a participar de um estudo de pesquisa que se propõe a identificar e caracterizar espécies de fungos de ocorrência natural nas principais espécies de peixes criadas em pisciculturas no estado do Maranhão, onde as doenças fúngicas causa grandes perdas com sérios prejuízos econômicos aos piscicultores. Este estudo é importante por que vai determinar as espécies de fungos que causam doenças de maior importância para a piscicultura no município de Tutóia – Maranhão, verificar o nível de dano que as micoses identificadas geram aos peixes e a atividade econômica, relacionar a qualidade da água dos cultivos com a ocorrência de doenças fúngica e indicar medidas de manejo que sejam eficientes e ambientalmente seguras para o controle desses micoparasitas e com material educativo para divulgação dos resultados obtidos.

O estudo será feito da seguinte maneira: será aplicado um questionário para definição de duas espécies de peixes de maior interesse econômico em cada região, época de maior incidência de doenças e doenças que mais tem afetado a produção, depois coletados amostras de peixes e da água. Você contará com a assistência da pesquisadora se necessário, em todas as etapas de sua participação no estudo.

Os benefícios que você deverá esperar com a sua participação, mesmo que indiretamente serão: contribuir com entendimento melhor dos viveiros e serve de base para a elaboração de medidas de manejo eficientes nas pisciculturas.

Sempre que você desejar será fornecido esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo. A qualquer momento, você poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, poderá retirar seu consentimento, sem que para isto sofra qualquer penalidade ou prejuízo.

Será garantido o sigilo quanto à sua identificação e das informações obtidas pela sua participação, exceto aos responsáveis pelo estudo, e a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto. Você não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Você será indenizado por qualquer despesa que venha a ter com sua participação nesse estudo e, também, por todos os danos que venha a sofrer pela mesma razão, sendo que, para essas despesas estão garantidos os recursos.

Mestranda
Rebeca Ramos Sousa
beka_rramos@hotmail.com
(98) 98808-4800

São Luís (MA), ____/____/____

Assinatura do sujeito ou responsável

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO

Nome do proprietário da piscicultura ou encarregado direto:

Coordenada geográfica da piscicultura:

A piscicultura é a principal atividade da propriedade? () sim () não

Infraestrutura da propriedade

1) Qual a área total da propriedade? E da área total de lâmina de água destinada a piscicultura?

2) Qual a espécie cultivada?

3) Na propriedade faz reprodução, larvicultura ou processamento dos peixes?

() sim () não

4) Ou é dedicado apenas à recria e engorda?

5) A propriedade realiza consórcio?

() com mamíferos () aves () vegetais* () não realiza

*Se apresentar atividade associada com vegetais ou mesmo próximo aplicar questão 6. Caso negativo, pular para questão 10.

6) Você ou um agricultor próximo utiliza agrotóxico? () não () sim qual? _____

7) Com que frequência faz uso do agrotóxico? Qual a distância entre o criatório e a agropecuária? () menos de um mês () entre 1 e 2 meses () entre 2 e 3 meses () entre 4 e 5 meses () 6 meses ou mais

8) Os cultivos que usam produtos químicos estão próximos à fonte de abastecimento de água da piscicultura? () sim () não

9) Qual a distância? () menos de 50 m () entre 50 e 100 m () entre 100 e 200 m () mais de 200 m

10) Existe algum problema com falta de água? () não () sim

11) Durante quais meses? () jan./fev. () mar./abr. () mai./jun. () jul./ago

() set./out. () nov./dez.

12) Por quanto tempo? () até 10 dias () entre 10 e 20 dias () entre 20 e 30 dias () mais de 30 dias () entre 1 e 2 meses () mais de 2 meses

Estruturas de cultivo

13) Qual a estrutura de cultivo? () barragem () viveiro () tanque-rede

14) Qual a quantidade de estrutura de cultivo? E a amplitude?

- 15) As pisciculturas apresentam estruturas com entrada e saída de água independente? () não () sim
- 16) Qual o método de escoamento adotado? () sifão externo () monge () sifão interno com ou sem cachimbo/charuto () outro
- 17) Há erosão das bordas internas dos taludes dos viveiros? () não () sim
- 18) Há grama nas bordas? () não () sim
- 19) Na propriedade já foi observado a presença de macrófitas nos viveiros? () não () sim
- 20) Na propriedade faz-se uso de aeradores? () não () sim

Qualidade da água e preparação dos viveiros

- 21) É feito o monitoramento da qualidade da água durante o ciclo reprodutivo? () não () sim
- 22) Com que frequência? () todos os dias () 2x na semana () 2-3x na semana () 1x no mês () a cada 2 meses () outro
- 23) Quais parâmetros analisados? () pH () temperatura () salinidade () teor de oxigênio dissolvido () dureza () outro
- 24) Qual a origem da fonte de água para piscicultura? () igarapés próximos à propriedade () poço () barragens dentro da propriedade () outro
- 25) o abastecimento de água é por bombeamento? () não () sim
- 26) Ocorre a renovação de água nos viveiros? () não () sim
- 27) O que motiva a renovação da água? () repor a evaporação () renovação quando há problemas no tanque () outro
- 28) O produtor sabe informar a densidade de peixes utilizada nos viveiros?

Manejo

- 29) O produtor realiza a biometria? () não (pular para questão 34) () sim
- 30) Qual a frequência? () todo mês () a cada 2 meses () entre 2-3 meses () entre 3-6 meses () mais de 6 meses
- 31) O produtor utiliza algum anestésico para realizar a biometria? () não (pular para questão 34) () sim qual? _____
- 32) Utiliza o sal comum para realizar a biometria? () não (pular para questão 34) () sim

33) Qual a concentração nos viveiros? () menos de 12Kg de sal/1000m² () 12Kg de sal/1000m² () mais de 12Kg de sal/1000m²*

*Para viveiros é 12 Kg de sal/1000m² o padrão.

Alimentação

34) Qual o tipo de alimento utilizado? () ração () farelo de soja () farinha de peixe () farelo de amendoim () outro

35) Se for ração qual a marca para recria? E para engorda?

36) Qual o critério utilizado para a escolha da marca da ração? () exigência da espécie de peixe () pela cor ou cheiro () melhor desempenho dos peixes () preço () facilidade de compra () melhor relação custo/benefício

37) O produtor utiliza subprodutos (ex. pão e macaxeira) para complementação da alimentação dos peixes quando a ração termina?

() não () sim qual?

38) Qual a quantidade da ração fornecida?

39) A propriedade possui área para armazenar ração? (salas ou galpões com área arejada e ampla)

40) O produtor já encontrou ração com cheiro ou formando grumos (estragada ou embolorada)?

41) Com que frequência o produtor compra a ração? () toda semana () a cada 15 dias () a cada 1 mês () outro

42) O produtor elimina o excesso de matéria orgânica?

() toda semana () a cada 15 dias () a cada 1 mês () outro

Doenças

43) O produtor já teve perdas econômicas causadas por doenças na piscicultura? () não () sim

44) Quais os sinais clínicos indicativos de alguma doença (ambiental ou infecciosa) mais observados nos peixes: () não se alimentarem

() se rasparem na lateral do viveiro (—flashing!)

() nadarem na superfície da lâmina d'água () comportamento lento e sem reação a captura

() permanecerem próximos à entrada de água

() apresentarem mudança de cor () machucados () pontos vermelhos no corpo () presença de corpos estranhos () peixes isolados do cardume

() peixes com tufo branco no corpo (semelhante a algodão)

45) Estes sinais foram observados em qual parte do corpo do animal?

46) Esses sinais clínicos foram mais frequentes em que período do ano?

47) Qual o período de maior mortalidade dos peixes?

48) Qual o destino de animais mortos? () retiram os peixes do viveiro e enterram () retiram e queimam () descartam os peixes no lixo comum

49) Existe área de quarentena na piscicultura? () não () sim

50) O produtor realiza a desinfecção de utensílios como redes, tarrafas, puçás, baldes e outros?

Comercialização do pescado

51) Para onde são comercializados os peixes cultivados em sua propriedade?
