

Silva, Manoel Cleber Sampaio.

Sanidade de tambatinga (PISCES: CHARACIDAE) em pisciculturas na área de proteção ambiental da baixada ocidental maranhense, Brasil / Manoel Cleber Sampaio Silva. – São Luís, 2021.

76 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, 2021.

Orientador: Profa. Dra. Débora Martins Silva Santos.

1.Qualidade da água. 2.Diversidade fúngica. 3.Pisciculturas. 4.Alteração hepática. I.Título.

CDU: 639.3(812.1)



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

MANOEL CLEBER SAMPAIO SILVA

**SANIDADE DE TAMBATINGA (PISCES: CHARACIDAE) EM PISCICULTURAS
NA ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DA BAIXADA OCIDENTAL
MARANHENSE, BRASIL**

São Luís-MA

2021

MANOEL CLEBER SAMPAIO SILVA

**SANIDADE DE TAMBATINGA (PISCES: CHARACIDAE) EM PISCICULTURAS
NA ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DA BAIXADA OCIDENTAL
MARANHENSE, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade Estadual do Maranhão como requisito para obtenção da titulação de mestre em Recursos Aquáticos e Pesca.

Orientador Prof^a. Dr^a. Débora Martins Silva Santos.

Coorientadora Prof^a. Dr^a. Ilka Márcia R S Serra.

São Luís-MA

2021

MANOEL CLEBER SAMPAIO SILVA

**SANIDADE DE TAMBATINGA (PISCES: CHARACIDAE) EM PISCICULTURAS
NA ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DA BAIXADA OCIDENTAL
MARANHENSE, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Recursos Aquáticos e Pesca da Universidade
Estadual do Maranhão como requisito para obtenção da
titulação de mestre em Recursos Aquáticos e Pesca.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Débora Martins Silva Santos (Orientadora)
Doutora em Medicina Veterinária
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Prof^ª. Dr^ª. Ilka Marcia Ribeiro de Souza Serra (Coorientadora)
Doutora em Fitopatologia
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Prof^ª. Dr^ª. Nancyleni Pinto Chaves (1º Examinador)
Doutora em Biotecnologia
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Prof^º. Dr. Gilmar Silvério da Silva (2º Examinador)
Doutor em Ciências
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA)

Prof^º. Dr. Tiago de Moraes Lenz (3º Examinador)
Doutor em Sistemas Costeiros e Oceânicos
Instituto Federal de Alagoas (IFAL)

Dedico este trabalho ao meu querido pai
Manoel Anjo Martins e ao amigo inesquecível
Antonio Carlos Campos Abreu

(in memoriam)

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades;

À minha mãe pelo amor, incentivo e apoio incondicional;

A minha filha do coração Joyciane Sampaio Martins;

A Natália Cavalcante;

À professora Ilka Serra pelo acolhimento, confiança e orientações. Obrigado, professora!

À professora Débora Santos pelo carinho, ensinamentos e por acreditar nos seus filhos científicos;

Aos meus colegas de turma pelas contribuições, disposição em ajudar e amizade;

À querida amiga Ingrid Tayane pela ajuda, sem você seria impossível. Ah, vou sentir falta de nossas conversas de laboratório.

Ao BioAqua pela parceria, união e vontade em contribuir: Obrigado!!

À secretaria do mestrado, em especial à Hilanna! Você foi maravilhosa ao longo desses dois anos;

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração;

Ao Programa de Pós Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca (PPGRAP), ao seu corpo docente pela oportunidade e ao Professor Drº Tiago Lenz pela ajuda nas coletas e contribuição de pesquisa;

À Professora Naiza Nogueira pela companhia, orientação e dicas no estágio;

À professora Yrla Nivea pela minha preparação e puxões de orelha;

Ao professor Gilmar Silverio por aceitar esse desafio e colocar o Laboratório de Química Ambiental à disposição. OBRIGADO!

Ao Laboratório de Química Ambiental do Instituto Federal do Maranhão pelo acolhimento e pela paciência em ensinar química para um biólogo: Naudirene, Jeiza, Matheus e Paulo Curvelo;

Ao querido José Domingos, que diante de todas as intempéries da natureza esteve conosco firme em nossas coletas;

Ao Programa de Nacional de Cooperação Acadêmica na Amazônia (PROCAD AMAZÔNIA) pelo financiamento da pesquisa.

“Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade. Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível”.

(Charles Chaplin)

RESUMO

Este trabalho tem por objetivo avaliar a sanidade de Tambatinga em pisciculturas na Área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense. Foram analisados os parâmetros físico-químicos da água e feitos testes microbiológicos para identificar o número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes (*E. coli*). Foram coletados 40 espécimes de tambatinga, 20 em cada período, para aferição biométrica. Além disso, houve retirada de fragmentos da pele, brânquias e fígado. Os fragmentos de pele e brânquias foram utilizados para isolamento de fungos em meio de cultura (BDA) e, posteriormente, foram confeccionadas lâminas para identificação de caracteres reprodutivos por microscopia óptica. Os fígados foram inclusos em formalina a 10%, por 24h, posteriormente, mantidas em álcool a 70%. O processamento e análise histológica do fígado seguiu protocolo descrito por Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994), sendo o IAH classificado de acordo com tabela de severidade. Os resultados demonstraram diferenças significativas do comprimento total (CT) e peso (P) para os períodos seco e chuvoso. Os dados microbiológicos demonstraram que a água das quatro pisciculturas analisadas esteve dentro dos limites estabelecidos pelas resoluções CONAMA nº 357/2005 e 430/2011. Em relação aos parâmetros físico-químicos da água apenas a condutividade ($F(1, 14) = 8,611$; $p = 0,011$) e a temperatura tiveram diferenças consideráveis ($F(1, 14) = 11,037$; $p = 0,005$). Houve prevalência de leveduras (33%) e fungos dos gêneros *Fusarium*. (26%), *Penicillium* (21%) e *Aspegillus* (20%). A análise de diversidade fúngica demonstrou associações para sexo, *Aspegillus* sp. ($X^2=19,600$; $GL=1$; $P=0,001$) e entre períodos, *Penicillium* sp. ($X^2=8,120$; $GL=1$; $P=0,004$) e *Fusarium* sp. ($X^2=21,583$; $GL=1$; $P=0,01$). As alterações hepáticas frequentes foram núcleo para periferia (NP), centro de melanomacrófagos (CMM), hiperemia (H), vacuolização (V), hemorragia (He), degeneração gordurosa (Dg) e esteatose. Esses resultados indicam que os peixes apresentaram respostas biológicas a estressores presentes no local e pode ter relação direta com a presença de micotoxinas, manejo inadequado e a presença de contaminantes do meio ambiente.

Palavras-chave: Qualidade da água. Diversidade fúngica. Pisciculturas. Alteração Hepática.

ABSTRACT

This work aims to assess the health of Tambatinga in fish farms in the Environmental Protection Area of Baixada Ocidental Maranhense. The physicochemical parameters of the water were analyzed and microbiological tests were carried out to identify the most probable number (NMP) of total and thermotolerant coliforms (*E. coli*). Forty specimens of tambatinga were collected, 20 in each period, for biometric measurement. In addition, fragments of the skin, gills and liver were removed. The skin and gills fragments were used to isolate fungi in culture medium (BDA) and, later, slides were made to identify reproductive characters by optical microscopy. Histological analysis of the liver followed the protocol described by Poleksic and Mitrovic-Tutundzic (1994), with the AHI being classified according to the severity table. The results showed significant differences in the total length (TC) and weight (P) for the dry and rainy periods. The microbiological data showed that the water of the four fish farms analyzed was within the limits established by CONAMA resolutions n° 357/2005 and 430/2011. Regarding the physical-chemical parameters of water, only conductivity (F (1, 14) = 8.611; p = 0.011) and temperature had considerable differences (F (1, 14) = 11.037; p = 0.005). There was a prevalence of yeasts (33%) and fungi of the *Fusarium* genera. (26%), *Penicillium* (21%) and *Aspegillus* (20%). The analysis of fungal diversity showed associations for sex, *Aspegillus sp.* (X² = 19,600; GL = 1; P = 0,001) and between periods, *Penicillium sp.* (X² = 8,120; GL = 1; P = 0,004) and *Fusarium sp.* (X² = 21.583; GL = 1; P = 0.01). Frequent liver changes were nucleus to the periphery (PN), melanomacrophage center (CN), hyperemia (H), vacuolization (V), hemorrhage (He), fatty degeneration (Dg) and steatosis. These results indicate that fish are showing biological responses to stressors present at the site and may have direct relationship with the presence of mycotoxins, inadequate handling and the presence of environmental contaminants.

Keywords: Water quality. Fungal diversity. Piscicultures. Hepatic changes.

LISTA DE FIGURAS

TEXTO INTEGRADOR

Figura 1	Localização das cidades de Matinha e Viana, destacando o povoado Itans e o povoado Cacoal, na Baixada Ocidental Maranhense	23
Figura 2	Pisciculturas (A e B) em Viana no povoado Cacoal e (B e C) em Matinha, povoado Itans, Baixada Ocidental Maranhense	24
Figura 3	Tambatinga (<i>Colossoma macropomum</i>) (fêmea) mais <i>Piaractus brachypomus</i> (macho).....	26
Figura 4	Câmara de fluxo utilizada para isolamento dos fungos.....	27

ARTIGO I: Qualidade da Água e Ocorrência de fungos em Isolados de Tambatinga (PISCES, CHACARACIDAE) em Pisciculturas da área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense, Brasil.

Figura 1	Localização das Cidades de Matinha e Viana, MA destacando o povoado Itans e povoado Cacoal.	34
Figura 2	Comparação entre as médias de temperatura (°C) em pisciculturas de peixes tambatinga nos municípios de Matinha e Viana, ambos no estado do Maranhão.....	41
Figura 3	Comparação entre as médias de condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) em pisciculturas de peixes tambatinga nos municípios de Matinha e Viana, ambos no estado do Maranhão.....	41
Figura 4	Tipos de fungos encontrados em peixes tambatinga coletados de pisciculturas nos municípios de Matinha e Viana, Maranhão.....	42

ARTIGO II: Alterações hepáticas como indicador de contaminação ambiental em cultivos do híbrido tambatinga na Area de Proteção Ambiental da Baixada Marenhense, Brasil.

Figura 1	Localização das Cidades de Matinha e Viana, estado do Maranhão, com destaque para os povoados de Itans e Cacoal.....	53
Figura 2	Morfologia do tecido hepático de tambatinga. A-Tecido Normal (CV) para Veia Central; B-Núcleo na periferia (círculo), Vacuolização (seta), Hiperemia (h); C-Degeneração gordurosa (dg), Esteatose (seta); C – Hemorragia (He). Aumento 400x.....	55
Figura 3	Frequência de lesões encontradas em fígado de tambatinga categorizados por municípios (Matinha e Viana) e por período sazonal (estiagem e chuvoso)	56

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I: Qualidade da Água e Ocorrência de fungos em Isolados de Tambatinga (PISCES, CHACARACIDAE) em Pisciculturas da área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense, Brasil.

Tabela 1	Biometria de peixes tambatinga coletados em pisciculturas nos municípios de Matinha e Viana, Maranhão.	35
Tabela 2	Dados microbiológicos analisados em pisciculturas no cultivo de tambatinga nos municípios de Matinha e Viana, Maranhão.	37
Tabela 3	Parâmetros físico-químicos em quatro pisciculturas de peixes tambatinga coletados nos municípios de Matinha e Viana, ambos no estado do Maranhão.	39
Tabela 4	Comparação entre médias dos parâmetros físico-químicos em pisciculturas de peixes tambatinga coletados nos municípios de Matinha e Viana, ambos no estado do Maranhão.	40
Tabela 5	Análise da diversidade fúngica por sexo, período e local em peixes tambatinga coletados de pisciculturas nos municípios de Matinha e Viana, ambos no estado do Maranhão.	43

ARTIGO II: Alterações hepáticas como indicador de contaminação ambiental em cultivos do híbrido tambatinga na Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense, Brasil.

Tabela 1	Dados abióticos e microbiológicos da água das pisciculturas por época sazonal nos municípios de Matinha e Viana, Maranhão, Brasil.	54
----------	---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo Geral	14
2.2	Objetivos Específicos	14
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
3.1	Área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense	15
3.2	Sistemas de cultivo de peixes na Baixada Ocidental Maranhense	16
3.3	Sanidade de peixes e a qualidade da água	16
3.3.1	Análise físico-química da água	16
3.3.2	Análise microbiológica da água	17
3.4	Presença de fungos em sistemas de cultivo	18
3.5	Biomonitoramento de ambientes aquáticos	19
3.5.1	Peixes como espécies biomonitoras	20
3.5.2	Biomarcador histológico	21
3.5.3	Espécie híbrida Tambatinga	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	Caracterização da área de estudo	23
4.2	Análises físico-química e microbiológica da água dos cultivos	25
4.3	Coleta das amostras biológicas	25
4.4	Processamento e análise das amostras biológicas	26
4.5	Análise estatística	27
5	RESULTADOS	29
5.1	Qualidade da água e Ocorrência de fungos em isolados de Tambatinga (Pisces, Characidae) em pisciculturas da área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense, Brasil	30
5.2	Alterações hepáticas como indicador de contaminação ambiental em cultivos do híbrido tambatinga na Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense, Brasil	50
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
	REFERÊNCIAS	67
	ANEXOS	75

1 INTRODUÇÃO

A pesca é uma das atividades mais antiga da humanidade. Possui grande relevância econômica por representar uma importante fonte de alimento e renda para a população mundial. Contudo, com o passar dos anos, a degradação dos estoques pesqueiros naturais foi crescente, necessitando de uma alternativa viável para a produção de peixes e, a partir de 1990, com o declínio dos estoques pesqueiros, a aquicultura se destacou em relação à pesca, tornando-se mais representativa em produção (FAO, 2014).

A aquicultura está em expansão por ser uma alternativa viável para ofertar peixes de qualidade para a população. Esse aumento produtivo está relacionado ao crescimento populacional e a busca dos consumidores por produtos mais saudáveis, sendo o peixe, a espécie aquática, que oferece maior quantidade de proteínas, vitaminas e sais minerais aos consumidores (REIS, 2013; FAO, 2014; LEONEL, 2016).

Dentre os países com grande potencial para a aquicultura, o Brasil tem papel de destaque, por possuir uma vasta extensão territorial, clima favorável, espécies aquáticas de interesse zootécnico, mercadológico (BRASIL, 2013) e possuir uma grande disponibilidade hídrica no seu território, favorecendo o desenvolvimento, em especial, da piscicultura (SCHULTER; VIEIRA FILHO, 2017).

O Maranhão é o segundo estado do Nordeste que mais cresce na produção de peixes de cultivo, tendo destaque a Baixada Ocidental Maranhense que só em 2018, produziu 60.000 toneladas de peixes por mês, gerando uma receita líquida de 4,44 milhões com a piscicultura (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA, 2018).

A piscicultura é uma alternativa para geração de renda local e fomento para a economia do estado do Maranhão. No entanto, o potencial para a criação de peixes em cultivo está relacionado ao fato de esses municípios serem circundados por grandes lagos que, no período chuvoso devido à cheia de grandes rios, estocam a água em áreas rebaixadas, constituindo-se em um verdadeiro pantanal maranhense (VIEGAS; SILVA; CORDEIRO, 2011). Essa riqueza hídrica favorece a instalação do sistema semi-intensivo de cultivo.

A piscicultura semi-intensiva tem como foco produzir em larga escala. Essa produção pode ser vendida aos comércios locais e regionais. Nesse contexto, as cidades de Matinha e Viana são grandes produtoras de peixes de cultivo e têm contribuído com o pescado para grandes redes de supermercados do Maranhão e Pará. No entanto, por se tratar de alimentos para consumo humano, deve-se ter atenção especial à contaminação dos criatórios e dos peixes.

A contaminação dos peixes pode acarretar danos severos à saúde pública (MURATORI, 1999; SIPAÚBA TAVARES; MAGALHÃES SANTEIRO, 2013) e causar desequilíbrio ao meio ambiente, por isso, a atenção com a sanidade dos peixes deve ser uma grande preocupação do empreendimento (SILVA *et al.*, 2020).

Essa contaminação pode estar relacionada ao contato dos peixes com água contaminada por efluentes domésticos ou industriais, contaminação do solo, despejo de produtos químicos, presença de microrganismos patogênicos oriundos de rações e à criação de animais domésticos em consórcio ou nas proximidades dos criatórios (SOUZA *et al.*, 2011).

A qualidade da água é fator de vital importância para maximizar a produção, reduzir os custos e evitar perdas indesejáveis de peixes. Por isso, um ambiente aquático de qualidade pode ser caracterizado a partir de estudos físico-químico e microbiológico da água, estudos do solo, principalmente, devido aos seus constituintes metálicos; e, nos organismos que estão inseridos nessas pisciculturas pelo seu íntimo contato com a água, substratos e vegetação.

Os peixes podem albergar vermes, vírus, bactérias e fungos em brânquias, pele, cavidade intestinal. Além disso, podem apresentar contaminantes de origem química em órgãos, musculatura e tecido ósseo. Esses subprodutos tóxicos contribuem com o surgimento de lesões e/ou alterações na morfologia, fisiologia e histologia desses animais (GUZMAN *et al.*, 2004).

Estudos sobre o monitoramento da água em pisciculturas são crescentes em determinadas regiões do Brasil, principalmente em relação à sanidade de organismos que serão utilizados para consumo (MULLER; GRANADA; SPEROTTO, 2016). Por isso, a análise microbiológica da água deve ser rotineira nas pisciculturas, pois, através dela, é possível observar a sanidade das espécies cultivadas e verificar os agentes patogênicos que podem causar danos à sanidade dos organismos (HASEGAWA; PAULA; ALVIM, 2008; SIPAÚBA TAVARES; MAGALHÃES SANTEIRO, 2013).

Diversas espécies têm sido utilizadas para estudos em ambientes de cultivo controlado. A espécie Tambatinga (*Colossoma macropomum* (fêmea) mais *Piaractus brachypomus* (macho) tem superioridade em relação às suas espécies parentais quanto à produtividade e rapidez de crescimento (HASHIMOTO *et al.*, 2012). Esse metabolismo acelerado e o hábito alimentar onívoro podem contribuir para a contaminação dessa espécie quando cultivada em ambientes com elevados gradientes de contaminantes e o torna uma excelente espécie biomonitora. Por isso, se em contato direto com contaminantes ou parasitos

pode resultar em intoxicação, alterações macroscópica, fisiológica e histológica (SILVA; CEREJEIRA, 2012; QIAN *et al.*, 2015).

Essa espécie apresenta um potencial econômico, zootécnico e produtivo enorme nas cidades de Matinha e Viana. Por isso, é fundamental avaliar a sanidade da espécie tambatinga em tanques de cultivo, analisando a qualidade da água das pisciculturas, a presença de parasitos, presença de contaminantes químicos e as alterações causadas na morfologia, fisiologia e histologia da espécie estudada (VIEGAS; SILVA; CORDEIRO, 2011; VIEGAS, 2012; VIEGAS, 2015).

Para melhor compreensão deste trabalho, optou-se em dividi-lo. Este introdutório apresenta a contextualização, o problema e justificativa da pesquisa; os objetivos geral e específico que é o que se pretende alcançar ao longo do desenvolvimento da pesquisa; o percurso metodológico que norteou os procedimentos para se alcançar os resultados.

Os resultados serão subdivididos em dois capítulos: cada capítulo é apresentado um artigo científico como resposta do problema de pesquisa e os objetivos específicos da investigação. E, por fim, as considerações finais e as referências que subsidiaram a pesquisa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a sanidade de Tambatinga em pisciculturas na Área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Analisar a qualidade da água nos criatórios de Tambatinga utilizando os parâmetros físico-químicos e microbiológicos;
- b) Identificar a diversidade fúngica presente em pele e brânquias de Tambatinga;
- c) Detectar as alterações histológicas presentes em fígados de Tambatinga.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense

A Área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense se caracteriza por possuir diversas feições fisiográficas. Está localizada no extremo Norte do Maranhão, abrangendo 21 municípios e 1,8 milhões de hectares aproximadamente (IBGE, 2004; IBGE, 2014). Essa área alagável é formada por planícies de rochas sedimentares que, devido à erosão e alta pluviosidade no período de cheia, transforma-se num verdadeiro mosaico de biodiversidade (PINHEIRO; MACHADO, 2016).

Essa enorme biodiversidade está relacionada com as condições ambientais presentes na região, sendo favorecida, principalmente, pelas bacias hidrográficas dos rios Mearim, Pindaré, Pericumã, Grajaú e outros rios menores que, na época de chuva, transbordam e preenchem os espaços das áreas rebaixadas, formando grandes lagos de água doce (SANTOS, 2004; MALTCHIK; MEDEIROS, 2006; ALMEIDA-FUNO; PINHEIRO; MONTELES, 2010).

A Baixada Ocidental Maranhense é conhecida por possuir uma grande riqueza biológica, consequência da alta produtividade primária, associada a diversas cadeias tróficas. Por isso, é um ambiente de transição entre biocenoses terrestres e de água doce (SILVA; MOURA, 2014). Essas áreas úmidas são essenciais para a dinâmica do ecossistema e para o modo de vida da população local.

A falta de conservação dessas áreas úmidas pode trazer prejuízos ao meio ambiente e para empreendimentos econômicos (BRASIL, 2015), por isso, com a intenção de preservar os recursos naturais, o Ministério do Meio Ambiente (MMA) classificou a Baixada Ocidental Maranhense como Área de Proteção Ambiental (APA).

No Brasil, a Convenção de Ramsar (Convenção Internacional sobre Zonas Úmidas) foi assinada em 1971, aprovada pelo Decreto Lei nº 33 de 16 de junho de 1992, ratificada em 24 de maio 1993 e promulgada pelo decreto nº 1.905 de 16 de junho de 1996 (BRASIL, 2015), com isso, a APA da Baixada Ocidental Maranhense foi considerada Zona de Importância Internacional (GRAZIERA; ADAME; GALLO, 2007), esse reconhecimento contribui para a sua proteção e preservação (FREITAS; RIVAS, 2006).

3.2 Sistemas de cultivo de peixes na Baixada Ocidental Maranhense

Na APA da Baixada Ocidental Maranhense coexistem diversos sistemas de cultivo de peixes, tendo, desde o sistema extensivo que se caracteriza pelo uso do ambiente natural para produção e o não uso de ração para a alimentação das espécies cultivadas (SPONCHIADO; SCHWARZBOLD, 2008), até o semi-intensivo e intensivo que apresentam um controle mais eficiente em relação à qualidade da água, manejo dos peixes e a utilização de ração.

A criação de peixes em sistema semi-intensivo e intensivo tem se destacado nas últimas décadas (SIDONIO *et al.*, 2012), principalmente, como uma forma alternativa de produção de trabalho e renda à população. No Maranhão, as cidades da Baixada Ocidental Maranhense possuem baixo índice de desenvolvimento humano (IDH), por isso, insistir no empreendimento piscicultura tem por objetivo desenvolver a região e melhorar a economia local (SILVA, 2010). Além Disso, outro fator que deve ser considerado, é demanda da população por produtos mais nutritivos e naturais (FAO, 2014), preços acessíveis, facilidade de manejo da produção e a preocupação em fornecer produtos de qualidade para o mercado consumidor.

A classificação em semi-intensivo e intensivo ainda gera certa dificuldade, uma vez que a maioria dos empreendimentos não atende todos os requisitos. Por isso, a análise em relação à infraestrutura da criação, análise constante da qualidade da água, assessoramento técnico, presença de equipamentos aeradores nos tanques de cultivo podem ser indicativos do sistema de criação utilizado pelos piscicultores (OLIVEIRA, 2019).

De forma geral, o cultivo de peixes, nos povoados Itans e Cacoal, foi classificado em semi-intensivo de acordo com as características propostas por (SCORVO FILHO *et al.*, 2004; KUBTIZA, 2009; EGGERS *et al.*, 2016), por apresentar baixo custo ao produtor, controle básico da qualidade de água e a alimentação dos peixes à base de ração e de organismos presentes nos tanques.

3.3 Sanidade de peixes e a qualidade da água

3.3.1 Análise físico-química da água

A criação de peixes pode, em determinados casos, tornar-se um fator de contaminação ambiental (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008). Essa contaminação é

resultante de subprodutos do metabolismo dos organismos, despejo da água contaminada dos cultivos ou produtos utilizados no próprio cultivo.

A qualidade da água é fator primordial para a sanidade dos organismos aquáticos, e, é de vital importância que todos os parâmetros abióticos estejam dentro do recomendado pela legislação e estudos correlatos (CONAMA, 2005; LIMA *et al.*, 2008). Devem ser aferidos rotineiramente, pois, conhecer as características físicas e químicas da água é essencial para o cultivo de peixes, uma vez que a qualidade da água interfere diretamente nas funções biológicas dos organismos como, por exemplo, respirar, alimentar-se, reproduzir-se e excretar (ROSS *et al.*, 2011; MALLASEN *et al.*, 2018).

A aferição dos parâmetros abióticos continuamente demonstra o nível de preocupação do piscicultor com a qualidade da água e com um ambiente saudável para a produção (MALLASEN; BARROS; YAMASHITA, 2008), dependendo da leitura desses parâmetros, é possível a tomada de decisão para que não haja perda ou morte de organismos.

A temperatura, por exemplo, não se remete diretamente com a qualidade da água, mas se relaciona com o bem estar fisiológico e imunológico das espécies. No entanto, em ambientes aquáticos, ela age como um catalizador, acelerando ou reduzindo o metabolismo dos peixes e influencia diretamente outros parâmetros, como a concentração de oxigênio e amônia (JIAN *et al.*, 2019).

Parâmetros abióticos como o pH, alcalinidade, dureza e transparência são indicadores de qualidade de água, afetam os peixes, mas não são tóxicos (ROSS *et al.*, 2011). No entanto, podem interagir com outros parâmetros, causando um efeito complexo; o que pode ser tóxico e causar morte de peixes a depender da situação.

O nitrogênio amoniacal (amônia) é resultado da decomposição da matéria orgânica, ração e excrementos. É extremamente tóxico e deve ser medido com frequências nos cultivos. Sua toxicidade está relacionada com a diminuição do oxigênio dissolvido e a alta concentração de dióxido de carbono (LEIRA *et al.*, 2016). Em cultivos é extremamente importante a aferição rotineira de todos os parâmetros para garantir uma boa qualidade de água.

3.3.2 Análise microbiológica da água

A água, quando captada de ambiente natural, como rios, lagos, represas e aquíferos com a intenção de utilização como um bem econômico é denominada de recurso hídrico (REBOUÇAS; BRAGA; TUNDISI, 2002), sendo assegurado seu uso. Contudo, o

aumento de matéria orgânica na água proveniente de fezes, resíduos de ração e excretas dos peixes pode comprometer o equilíbrio químico e biológico deste meio. Este acúmulo de resíduos contribui para a eutrofização do viveiro e cria um ambiente favorável ao desenvolvimento de organismos indesejáveis com potencial patogênico (SIPAÚBA-TAVARES; PEREIRA, 2008; BICUDO; SADO; CYRINO, 2012).

Os peixes possuem relação vital com água. Todas as perturbações que alteram a qualidade da água, também, afetam a qualidade do peixe. Quando essas alterações ocorrem em nível microbiológico, interferem diretamente na qualidade do cultivo, tornando-o um meio impróprio para a criação de organismos para alimentação humana (PAL; DASGUPTA, 1992).

Em trabalhos anteriores (GERMANO; OLIVEIRA; GERMANO, 1993; AL-HARBI, 2003; GUZMÁN *et al.*, 2004) foi evidenciado que a qualidade dos peixes está relacionada com a água dos cultivos, e, que, a presença de coliformes totais e termotolerantes indicam a condição do viveiro.

O grupo de coliforme totais inclui bactérias gram-negativas em forma de bastonetes que fermentam a lactose, com produção de gás, de 24 - 48h a 35 ° C. São comuns no ambiente natural e possuem grande capacidade sapróbia, geralmente, estão associados a ambientes com grande carga de nutrientes. Esta definição se assemelha ao grupo de coliformes fecais, porém, restringindo àqueles que são capazes de fermentar a lactose em 24h a uma temperatura de 44,5 a 45,5° C (SILVA; JUNQUEIRA, 1995; HITCHINS *et al.*, 1996; SILVA *et al.*, 1997; CARDOSO *et al.*, 2001). Enquanto os coliformes totais indicam as condições higiênicas do local, a presença de coliformes fecais são indicadores de contaminação por fezes e avalia as condições higiênico-sanitárias do cultivo, relacionando-se diretamente com alto índice de *E. coli* (SIQUEIRA, 1995).

Quando o ambiente não é cuidado corretamente e não há um manejo eficiente, esses organismos patogênicos podem causar danos à saúde humana. Esses danos podem ser intensificados pelo consumo constante de peixes contaminados que podem causar desde infecções simples ou, dependendo das condições do indivíduo, levar à morte, evidenciando assim, um problema de saúde pública (SIMÕES *et al.*, 2007; MARENGONI *et al.*, 2009).

3.4 Presença de fungos em sistemas de cultivo

Os fungos presentes nos ambientes aquáticos têm grande relevância ambiental, participam da decomposição do material vegetal submerso que servem de alimento para vertebrados, invertebrados e outros microrganismos (SRI-INDRASUTDHI *et al.*, 2010;

KRAUSS *et al.*, 2011). Apesar de sua importância para os ambientes aquáticos ser enorme, sua diversidade não está bem definida, podendo ser constituídos por diferentes grupos taxonômicos conidiais, geralmente precedentes de ambientes externos à água, isto é, solo, ar e substratos orgânicos carregados para o ambiente aquático (GOH; HYDE, 1996; PANG, 2012).

São microrganismos com maior atividade sapróbia em ambientes terrestres e aquáticos. São fundamentais na ciclagem de elementos essenciais, mineralização, acumulação de materiais tóxicos e desintoxicação de ambientes (BARLOCHER; KENDRICK, 1974; BLACKBURN; CHRISTENSEN, 1989) e alguns têm capacidade de remover ou degradar poluentes orgânicos e inorgânicos agindo como depuradores da água (SCHOENLEIN-CRUSIUS; PIRESZOTARELLI; MILANEZ, 2004).

Esses microrganismos decompositores são encontrados em quase todos os ambientes e dependem de condições físico-química e biológica especiais para sobreviver. Dependendo dessas condições, podem ser grandes causadores de doenças em peixes, contaminando a produção inteira e causando grandes prejuízos aos piscicultores (CARDOSO FILHO *et al.*, 2013). Essa contaminação é intensificada pela disponibilidade de nutrientes, principalmente fósforo, nitrogênio e pela má qualidade da água. Além disso, um ambiente contaminado por fungos prejudica o crescimento, a reprodução, a saúde, a sobrevivência e até mesmo a qualidade dos peixes cultivados (KUBITZA, 2000).

Estando presentes nos ambientes aquáticos ou em produtos que serão utilizados nos tanques de cultivos, esses microrganismos são produtores de micotoxinas (ACCENSI; ABARCA; CABAÑES, 2004; PIETSCH *et al.*, 2013; CARDOSO FILHO *et al.*, 2013). Essas toxinas podem causar danos aos processos biológicos dos organismos e, em humanos, a contaminação pode ocasionar gastroenterites. Os principais gêneros toxigênicos são *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* que, frequentemente, são encontrados em insumos e ração contaminados (PIETSCH *et al.*, 2013).

3.5 Biomonitoramento de ambientes aquáticos

A poluição de ambientes aquáticos naturais tem crescido nas últimas décadas e essa intensificação se relaciona, principalmente, a atividades antrópicas (BUSS *et al.*, 2016). A retinilização de cursos de água, despejo de rejeitos da indústria, utilização de agrotóxicos em lavouras, mineração, construção de barragens, derrubada de matas ciliares e uso inadequado do solo (NIMET *et al.*, 2016) contribuem com a poluição de ambientes lênticos e lóticos.

Essas atividades antrópicas têm gerado consequências gravíssimas para a biota aquática, afetando, principalmente, a qualidade da água, saúde dos animais e perda da biodiversidade (BRITO, DA LUZ, 2015). Embora haja uma tendência natural do meio ambiente para se ajustar às alterações antrópicas, quando há um descarregamento massivo de contaminantes nos cursos d'água, tornam-se necessários monitoramento constante e a identificação das fontes primárias de contaminação para avaliação da qualidade do ambiente (ARIAS *et al.*, 2007; SANTANA *et al.*, 2015; RODRIGUES *et al.*, 2016) e adoção de medidas para conservação dos recursos hídricos e da biota pré-existente.

Grande parte dos empreendimentos no Brasil, relacionados à criação de peixes utilizam ambientes naturais como fornecedores de água para os cultivos (MATHEUS *et al.*, 1998; KUBITZA, 1998; BORGHETTI; OSTRENSKY, 1999; ROUBACH *et al.*, 2003), por isso, se o ambiente natural estiver contaminado é provável que ocorra a contaminação em cadeia, podendo contaminar consumidores finais de peixes.

A contaminação dos peixes por xenobióticos está relacionada à bioacumulação e biomagnificação (JAVED; USMANI, 2019), eles estão no topo da cadeia trófica e se alimentam de espécies de níveis tróficos inferiores e possuem a capacidade de absorver contaminantes do meio (OLIVEIRA *et al.*, 2008; FERREIRA *et al.*, 2010), tendo, por isso, potencial para ser usados como espécies biomonitoras.

3.5.1 Peixes como espécies biomonitoras

A biota aquática vem sendo utilizada faz algum tempo em pesquisas de monitoramento ambiental, principalmente, por fornecer respostas biológicas (BUSS *et al.*, 2016) possíveis de análise e avaliação da contaminação desses ambientes em nível qualitativo e quantitativo.

Os peixes, comumente, são escolhidos por possuírem características especiais para o biomonitoramento (YILMAZ *et al.*, 2010). Estão no topo da cadeia trófica, possuem relação intrínseca com os níveis tróficos inferiores, indicam respostas de efeitos crônicos, ampla dispersão, vida longa e útil, abundância, capacidade de absorver substâncias contaminantes presentes na água e no substrato (DURAL; GÖKSU; ÖZAK, 2007; GERHARDT, 2009; CHIBA; PASSERINI; TUNDISI, 2011) e oferecem respostas ou alterações histológicas, bioquímicas e morfológicas causadas pelos contaminantes.

3.5.2 Biomarcador histológico

Os biomarcadores são alterações em nível bioquímico, fisiológico e morfológicos que, normalmente, indicam a exposição do organismo-teste à determinada concentração de poluentes presentes no meio (LEUNG; KNOPPER; MINEAU, 2013; AKAISHI *et al.*, 2004). Várias metodologias estão sendo empregadas para avaliar a contaminação e as respostas provenientes desses ambientes contaminados: genotóxico (ARSLAN; PARLAK, 2017), bioquímico (JESUS *et al.*, 2020) e histológicos (ADAMS, 2002; HINTON *et al.*, 2018; PEREIRA, 2019).

Os biomarcadores histológicos proporcionam a detecção rápida de alterações causadas por contaminantes em tecidos. São constantemente utilizados como ferramenta de avaliação da qualidade da água e para o biomonitoramento de ambientes lacustres pela utilização de espécies biomonitoras (CARDOSO *et al.*, 2018; CASTRO *et al.*, 2019; SOUSA *et al.*, 2020).

É comum o uso da histologia como ferramenta para diagnosticar efeitos tóxicos, direto e indireto, que afetam os tecidos dos organismos presentes em um ambiente aquático contaminado. É considerado um excelente método de análise de avaliação de impacto ambiental (ALEXANDER, 1999; MARTINEZ; CÓLUS, 2002; ALBINATI *et al.*, 2009) causados por contaminantes.

Os xenobióticos afetam de forma direta alguns órgãos dos peixes, sendo os mais suscetíveis às brânquias, rim e fígado. Em geral, o fígado por está relacionado com o metabolismo, biotransformação e excreção de substâncias tóxicas tem maior suscetibilidade a alterações. Além disso, relaciona-se com outras funções biológicas e quando comprometido seu funcionamento, suas células podem sofrer necrose aguda e desenvolver edemas generalizados, comprometendo sua função (HIBIYA, 1982; ABDALLAH; LEITE; AZEVEDO, 2019). Diversos trabalhos têm utilizado as alterações histológicas em fígado de peixes como ferramenta para o monitoramento de ambientes contaminados (OLIVEIRA *et al.*, 2016; SARDINHA, 2017; BOSCO-SANTOS; LUIZ-SILVA; DANTAS, 2018).

3.5.3 Espécie híbrida Tambatinga

A espécie Tambatinga é um híbrido de interesse comercial na área estudada. É produzido a partir do cruzamento do *Colossoma macropomum* (fêmea) com *Piaractus brachypomus* (macho). Tem seu primeiro registro de uso em aquicultura por Darmont e

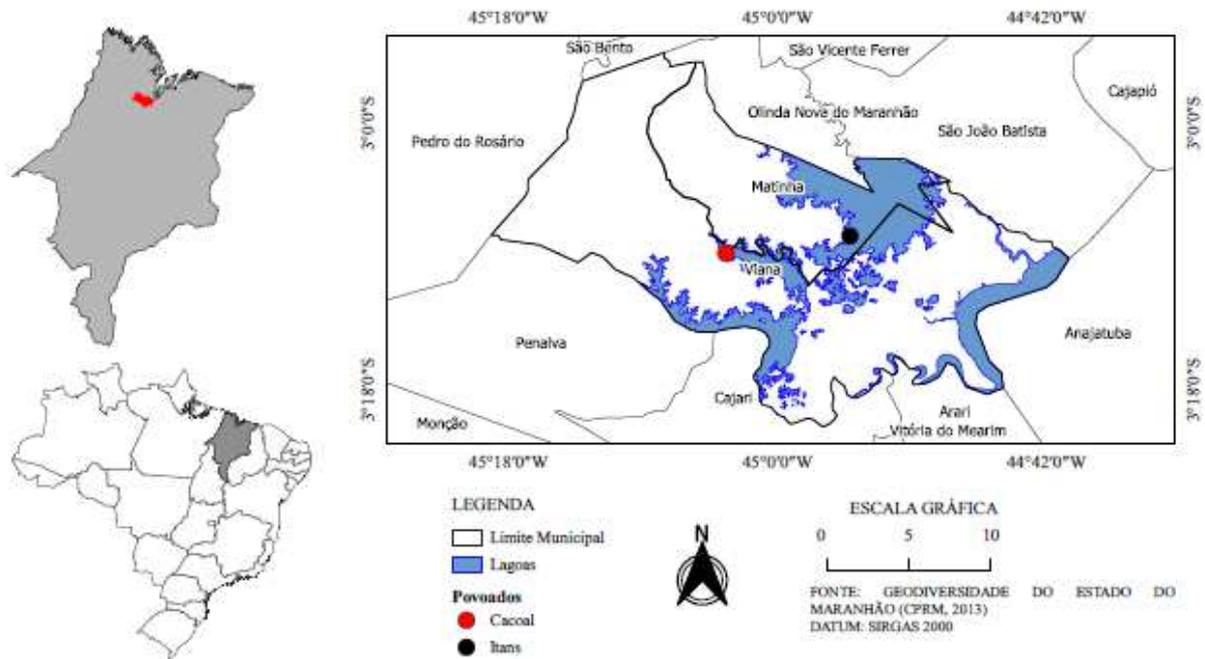
Salaya, em 1984, na Venezuela (KUBITZA, 2000). Possui rapidez de crescimento, tem corpo redondo e comprimido, possui escama de coloração clara, sendo as pontas das nadadeiras anal e caudal avermelhadas e o ventre amarelado. Essa espécie está bem adaptada ao clima quente, sua criação pode ser implementada em consórcio com outras espécies. É onívoro e sua reprodução acontece por indução hormonal (SOUSA *et al.*, 2020).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

O estudo foi realizado nas cidades de Matinha e Viana (Figura 1).

Figura 1 - Localização das cidades de Matinha e Viana, destacando o povoado Itans e Povoado Cacoal, na Baixada Ocidental Maranhense, Brasil.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O município de Matinha encontra-se na Microrregião da Baixada Ocidental Maranhense com localização definida pelas coordenadas geográficas ($3^{\circ} 55' 55''$) Latitude Sul (S) e ($45^{\circ} 2' 56''$) Longitude Oeste (W), abrangendo uma área de $408,727 \text{ km}^2$ de extensão territorial e com uma população de 22.828 habitantes. Sua altitude é de 5m em relação ao nível do mar (IBGE, 2014; SILVA, 2016).

Apresenta clima quente e úmido, com duas estações bem definidas: a estação de estiagem entre os meses de agosto a dezembro e a estação chuvosa entre os meses de janeiro a julho com índices pluviométricos em torno de 2000 a 2400 mm por ano e com temperatura anual entre 26 a 32°C e umidade relativa do ar entre 79 e 82% (SILVA, 2016).

O município de Viana encontra-se na mesorregião Norte Maranhense e na Microrregião da Baixada Ocidental Maranhense entre as coordenadas geográficas (2° 56'57" e 3°21'02") de latitude sul e (44°46'06" e 45°26'51") de longitude Oeste. Possui uma área de 1.162,49 Km²; limita-se ao norte pelo lago Aquiri, ao sul pelo lago de Viana, a leste pelo lago de Itans e a oeste com o município Pedro de Rosário (IBGE, 2004).

As principais atividades econômicas desses municípios é a agricultura de subsistência, a pecuária extensiva de bubalinos e a pesca artesanal (COSTA, 2006; SILVA, 2016). Esses municípios iniciaram a criação de peixes em cativeiro em 2019, produzindo, inicialmente, 9 mil toneladas. No início de 2019, a produção chegou a 60.000 toneladas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PEIXES, 2019).

As coletas foram realizadas nos meses de outubro de 2019 e fevereiro de 2020, no período seco e chuvoso, respectivamente. Foram analisadas 04 pisciculturas, sendo duas no povoado Itans (P1 e P2) e duas no povoado Cacoal (P3 e P4), localizados em Matinha e Viana, respectivamente (Figura 2).

Figura 2 - Pisciculturas (P1 e P2) em Matinha no povoado Cacoal e (P3 e P4) em Viana, povoado Itans, Baixada Ocidental Maranhense.



Fonte: Silva (2019).

Os tanques de cultivo possuem dimensão padrão de (60x30; 20x40, 30x40). São escavados com pouca declividade e são alimentados com água da chuva e dos lagos de água

doce que circundam as cidades. A piscicultura (P1) está mais próxima do lago Aquiri, sendo abastecida somente com água desse ambiente natural (Figura 2).

As pisciculturas cultivam o híbrido Tambatinga com a intenção comercial. E, em média, os peixes chegam de 800g a 1500g em 4 a 5 meses. A densidade dos peixes por tanque é um peixe por metro quadrado (1 peixe/m²) e a quantidade e a frequência de ração depende do período do ano.

As pisciculturas encontram-se dentro de uma Área de Proteção Ambiental. Por isso, foi necessária a autorização dos órgãos ambientais responsáveis, conforme protocolos SEMA 46/2019 e ICMBIO 69518-1.

4.2 Análises físico-química e microbiológica da água dos cultivos

A análise físico-química da água foi realizada com auxílio de equipamento multiparâmetro Hydrolab (Ott) para obtenção dos valores de potencial hidrogeniônico (pH), temperatura (°C), Oxigênio Dissolvido (OD), salinidade, condutividade. As medidas de amônia e nitrito foram realizadas com os kits colorimétricos do Labcon Test *in situ*.

Foram coletadas amostras de água (1000 mL) dos criatórios, em garrafas estéreis, autoclavadas, conforme NBR 9898 (ABNT, 1987), acondicionados em gelo para determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli* através do método do teste do substrato enzimático cromogênico (ONPG) e fluorogênico (MUG), comumente conhecido como método Colilert®.

No laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão, as amostras de água foram colocadas em frascos de vidro onde foi adicionado o reagente Colilert. A solução diluída foi distribuída uniformemente em cúpulas e incubadas a 35° C na estufa durante 24 horas. A leitura foi feita com auxílio de uma lâmpada ultravioleta (115 volts, 6hz, 20 AMPS). O teste foi positivo para coliformes totais se a cúpula mantiver a coloração amarela e para *E. coli* se apresentar coloração azul. Os testes são considerados negativos com ausência de coloração.

4.3 Coleta das amostras biológicas

Foram coletados 40 espécimes de tambatinga (Figura 3) com auxílio de tarrafa e malhadeira, sendo 05 unidades em cada fazenda de cultivo nas duas coletas. Foram acondicionados em isopor e eutanasiados por choque térmico, conforme declaração nº

41/2019 do Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual do Maranhão e Tombamento de coleção nº CMICma 01-25 (ANEXOS A e C).

Figura 3 - Tambatinga (*Colossoma macropomum*) (fêmea) mais *Piaractus braquypomus* (macho)



Fonte: Silva (2019).

Foi realizada a biometria (comprimentos padrão, furcal e total) e peso (g) de cada exemplar. Foram retiradas amostras de pele e brânquias dos espécimes *in situ* com o auxílio de pinças, lâminas e tesouras esterilizadas. Em seguida, os fígados foram retirados por incisão abdominal e acondicionados em recipientes contendo formalina a 10% por 24 a 48 horas.

As amostras de pele e brânquias foram acondicionadas em recipiente estéril, mergulhados em gelo, para processamento no Laboratório de Microbiologia, Bioquímica e Imunologia da Universidade Estadual do Maranhão.

4.4 Processamento e análise das amostras biológicas

No laboratório de Morfofisiologia Animal da Universidade Estadual do Maranhão, os fígados dos espécimes foram clivados, desidratados em concentrações crescentes de álcoois (70 %, 80%, 90% e 95%) por 1h, diafanizado em xilol I e II por 30 minutos em cada etapa, impregnados e inclusos em parafina.

Os blocos foram cortados em micrótomo com 5µm de espessura e corados com hematoxilina e eosina (LUNA, 1968). As lâminas foram lidas no fotomicroscópio Carl Zeiss e a análise das alterações histológicas seguiu o protocolo para cálculo do Índice de Alteração Histológica (IAH) (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994).

O isolamento de fungos das amostras de pele e brânquias seguiu o protocolo descrito por Meneses e Silva-Hanlin (1997) com adaptações. Os fragmentos foram

descongelados, retirado o excedente da musculatura e, na câmara de fluxo laminar (Figura 4), passou pela tríplice lavagem em imersão de solução de álcool a 70%, hipoclorito de sódio na proporção de 2:1 e água destilada e esterilizada, todas as etapas com tempo de 1 minuto, respectivamente.

Figura 4 - Câmara de fluxo laminar utilizada para isolamento dos fungos.



Fonte: Silva (2020).

Os fragmentos de pele e brânquias foram transferidos para placas de petri contendo meio de cultivo ágar sabouraud dextrose (BDA), acrescido de clorafenicol e incubadas em B.D.O (Biological Oxygen Demand) ajustada para uma temperatura de $25 \pm 2^\circ$ C e fotoperíodo de 12h. Após o crescimento micelial, foram montadas lâminas semipermanentes coradas com azul de Amann para facilitar identificação morfológica no microscópio óptico.

4.5 Análise estatística

Todos os dados desta pesquisa foram distribuídos em tabelas e gráficos descritivos para uma melhor visualização. A análise estatística foi realizada através do software SPSS v. 19, considerando um nível de significância de 5%.

Comparações entre as médias da variável biométrica do peso dos indivíduos por sexo, período (seco e chuvoso) e local foram realizadas através do teste de ANOVA *main effects*, respeitando-se os pressupostos de normalidade dos dados (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste de Levene). As demais variáveis que não atenderam a

estes pressupostos (CT, CP e CF) tiveram suas medianas analisadas entre os mesmos fatores (sexo, período e local) segundo o teste de Mann-Whitney.

O atendimento da análise microbiológica para coliformes totais e *Escherichia coli* foi testado através do teste t-student para uma amostra simples e comparada ao padrão estabelecido pela legislação (CONAMA 430/2011 e CONAMA 357/2005).

A ANOVA *one-way* foi aplicada para se testar relações entre as médias dos parâmetros físico-químicos amostrados por local. Previamente foram investigados os mesmos pressupostos da ANOVA *main effects*. Na análise por período, não houve o atendimento aos pressupostos e, desta maneira, foi aplicado o teste Mann-Whitney.

Possíveis associações entre a diversidade fúngica dos peixes e as variáveis de sexo, período e local foram verificadas via testes do Qui-quadrado e Qui-quadrado com correção de Yates.

Todos os resultados foram apresentados em gráficos e tabelas para melhor visualização.

5 RESULTADOS

O Programa de Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca admite a apresentação e normalização da dissertação de mestrado na forma de artigos científicos, segundo o regimento do Programa (Capítulo XII, Seção I Art. 56º). Portanto, os resultados desse documento de dissertação estão apresentados em dois capítulos, onde cada um corresponde a um artigo que foi ou será submetido a um periódico da área de Zootecnia/Recursos Pesqueiros/Biodiversidade (2018-2021). Os artigos estão formatados segundo as normas de submissão de cada periódico escolhido.

O artigo intitulado: **Qualidade da água e Ocorrência de fungos em isolados de Tambatinga (PISCES: CHARACIDAE) em pisciculturas da Área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense, Brasil** foi submetido à Research, Society and Development (Novo Qualis Capes A3)¹, segundo as normas de submissão descritas em <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/information/authors>.

O segundo artigo intitulado: **Alterações hepáticas como indicador de contaminação ambiental em cultivos do híbrido tambatinga na Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense, Brasil** será submetido à revista Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Qualis A3) segundo as normas de submissão descritas em <https://www.scielo.br/revistas/abmvz/pinstruc.htm#010>

¹ Research, Society and Development (Novo Qualis Capes A3)

5.1 Qualidade da água e ocorrência de fungos em isolados de Tambatinga (Pisces, Characidae) em pisciculturas da área de Proteção Ambiental da Baixada Ocidental Maranhense, Brasil

Water quality and occurrences of fungi in isolates of Tambatinga (Pisces, Characidae) in piscicultures of the Protection Area of the Baixada Ocidental Maranhense, Brazil

Calidad del agua y ocurrencia de hongos en aislamientos de Tambatinga (Pisces, Characidae) en piscifactorías en el área de Protección Ambiental de la Baixada Ocidental Maranhense, Brasil

Resumo

Este trabalho tem por objetivo analisar a qualidade da água e identificar a diversidade fúngica presente em pele e brânquias de tambatinga. Foram analisados os parâmetros físico-químicos da água e feitos testes microbiológicos para identificar o número mais provável de coliformes totais e *E.coli*. Foram coletados 40 espécimes de tambatinga, 20 em cada período (seco e chuvoso), para aferição biométrica. Além disso, houve retirada de fragmentos da pele e brânquias para isolamento de fungos em meio de cultura (BDA) e, posteriormente, foram confeccionadas lâminas para identificação de caracteres reprodutivos por microscopia óptica. Os resultados demonstraram diferenças significativas do comprimento total (CT) e peso (P) para os períodos seco e chuvoso. Os dados microbiológicos demonstraram que a água das quatro pisciculturas analisadas está dentro dos limites estabelecidos pelas resoluções CONAMA nº 357/2005 e 430/2011. Em relação aos parâmetros físico-químicos da água apenas a condutividade ($F_{(1, 14)} = 8,611$; $p = 0,011$) e a temperatura tiveram diferenças consideráveis ($F_{(1, 14)} = 11,037$; $p = 0,005$). Houve prevalência de leveduras (33%) e fungos dos gêneros *Fusarium* sp. (26%), *Penicillium* sp. (21%) e *Aspegillus* sp. (20%). A análise de diversidade fúngica demonstrou associações para sexo, *Aspegillus* sp. ($X^2=19,600$; $GL=1$; $P=0,001$) e entre períodos, *Penicillium* sp. ($X^2=8,120$; $GL=1$; $P=0,004$) e *Fusarium* sp. ($X^2=21,583$; $GL=1$; $P=0,001$). Conclui-se, portanto, que os cultivos estão dentro do estabelecido pela legislação. No entanto, é preciso avaliar a presença de possíveis micotoxinas nos peixes cultivados, uma vez que as espécies fúngicas com maior prevalência são fungos considerados bolores toxigênicos e são bastante disseminados pelo ambiente.

Palavras-chave: Diversidade fúngica. Pisciculturas. Qualidade da água.

Abstract

This work aims to analyze water quality and identify the fungal diversity present in tambatinga skin and gills. The physicochemical parameters of the water were analyzed and microbiological tests were carried out to identify the most likely number of total and thermotolerant coliforms. Forty specimens of tambatinga were collected, 20 in each period, for biometric measurement. In addition, skin fragments and gills were removed for isolation of fungi in culture medium (BDA) and, later, slides were made to identify reproductive characters by optical microscopy. The results showed significant differences in the total length (TC) and weight (P) for the dry and rainy periods. The microbiological data showed that the water of the four fish farms analyzed is within the limits established by CONAMA resolutions 357/2005 and 430/2011. Regarding the physical-chemical parameters of water, only conductivity ($F(1, 14) = 8.611$; $p = 0.011$) and temperature had considerable differences ($F(1, 14) = 11.037$; $p = 0.005$). There was a prevalence of yeasts (33%) and fungi of the genus *Fusarium* sp. (26%), *Penicillium* sp. (21%) and *Aspegillus* sp. (20%). The analysis of fungal diversity showed associations for sex, *Aspegillus* sp. ($X^2 = 19,600$; $GL = 1$; $P = 0,001$) and between periods, *Penicillium* sp. ($X^2 = 8,120$; $GL = 1$; $P = 0,004$) and *Fusarium* sp. ($X^2 = 21.583$; $GL = 1$; $P = 0.001$). It is concluded, therefore, that the crops are within the established by the legislation. However, it is necessary to evaluate the presence of possible mycotoxins in cultivated fish, since the most prevalent fungal species are fungi considered to be toxigenic molds and are widely disseminated in the environment

Keywords: Fungal diversity. Piscicultures. Water quality.

Resumen

Este trabajo tiene como objetivo analizar la calidad del agua e identificar la diversidad fúngica presente en la piel y branquias de la tambatinga. Se analizaron los parámetros fisicoquímicos del agua y se realizaron pruebas microbiológicas para identificar el número más probable de coliformes totales y termotolerantes. Se recolectaron cuarenta ejemplares de tambatinga, 20 en cada período, para medición biométrica. Además, se retiraron fragmentos de piel y branquias para aislamiento de hongos en medio de cultivo (BDA) y, posteriormente, se realizaron portaobjetos para identificar caracteres reproductivos por microscopía óptica. Los resultados mostraron diferencias significativas en la longitud total (CT) y el peso (P) para los

períodos secos y lluviosos. Los datos microbiológicos mostraron que el agua de las cuatro piscifactorías analizadas se encuentra dentro de los límites establecidos por las resoluciones CONAMA 357/2005 y 430/2011. En cuanto a los parámetros físico-químicos del agua, solo la conductividad ($F(1, 14) = 8.611$; $p = 0.011$) y la temperatura tuvieron diferencias considerables ($F(1, 14) = 11.037$; $p = 0.005$). Hubo una prevalencia de levaduras (33%) y hongos del género *Fusarium* sp. (26%), *Penicillium* sp. (21%) y *Aspegillus* sp. (20%). El análisis de diversidad fúngica mostró asociaciones por sexo, *Aspegillus* sp. ($X^2 = 19,600$; $GL = 1$; $P = 0,001$) y entre períodos, *Penicillium* sp. ($X^2 = 8.120$; $GL = 1$; $P = 0,004$) y *Fusarium* sp. ($X^2 = 21,583$; $GL = 1$; $P = 0,001$). Se concluye, por tanto, que los cultivos se encuentran dentro de lo establecido por la legislación. Sin embargo, es necesario evaluar la presencia de posibles micotoxinas en peces cultivados, ya que las especies fúngicas más prevalentes son los hongos considerados mohos toxigénicos y de amplia diseminación en el medio ambiente.

Palabras clave: Diversidad fúngica. Granjas de peces. Calidad del agua.

1 Introdução

A aquicultura é o setor produtivo que mais cresce no Brasil, principalmente, devido à disponibilidade hídrica, clima favorável e presença de espécies de interesse mercadológico (FAO, 2019), devido a essas particularidades, a piscicultura é um excelente nicho de negócio. Apesar da vasta diversidade de peixes nativos no Brasil, existe uma tendência para a criação de espécies híbridas, principalmente, a tambatinga que tem grande importância comercial em várias regiões do Brasil. Esse híbrido tem ótimas características zootécnicas e plasticidade para suportar diversas variações climáticas. É resultado do cruzamento de *Colossoma macropomum* (tambaqui) e *Piaractus braquyponus* (pirapitinga) (Hashimoto *et al.*, 2012).

O Maranhão é o estado do Nordeste que mais cresce na produção de peixes de cultivo (Gomes *et al.*, 2020). Nesse viés, destaca-se a Baixada Ocidental Maranhense que reúne condições biológicas e hidrológicas viáveis para incrementar o cultivo de peixes em larga escala. Contudo, as condições ambientais dos trópicos podem contribuir para morte de peixes nos cultivos, quando comparados com os empreendimentos do mesmo seguimento em países de clima temperado, principalmente, pela variação constante de temperatura, exigindo dos espécimes maior adaptação (Leung; Beates, 2013). Além disso, outros fatores, também, afetam diretamente o cultivo das espécies, dentre eles, manejo ineficiente, precarização das

condições sanitárias, contaminação por efluentes naturais, ração contaminada e criação de animais domésticos e de interesse pecuário próximo aos criatórios (Tavares-Dias, 2017; Lima *et al.*, 2013).

A água é requisito fundamental para a instalação de pisciculturas. Mas, quando a qualidade desta não está satisfatória, o ambiente se torna impróprio para o cultivo e contribui para a contaminação das espécies. A partir disso, é comum a presença de bactérias, leveduras e fungos filamentosos nos cultivos em grau acentuado. E, dependendo de condições favoráveis, são causadores de doenças em peixes, contaminando desde um indivíduo ou uma população inteira, dependendo da quantidade e diversidade dos microrganismos presentes no ambiente e das condições imunológicas do indivíduo (Hurmann, 2016).

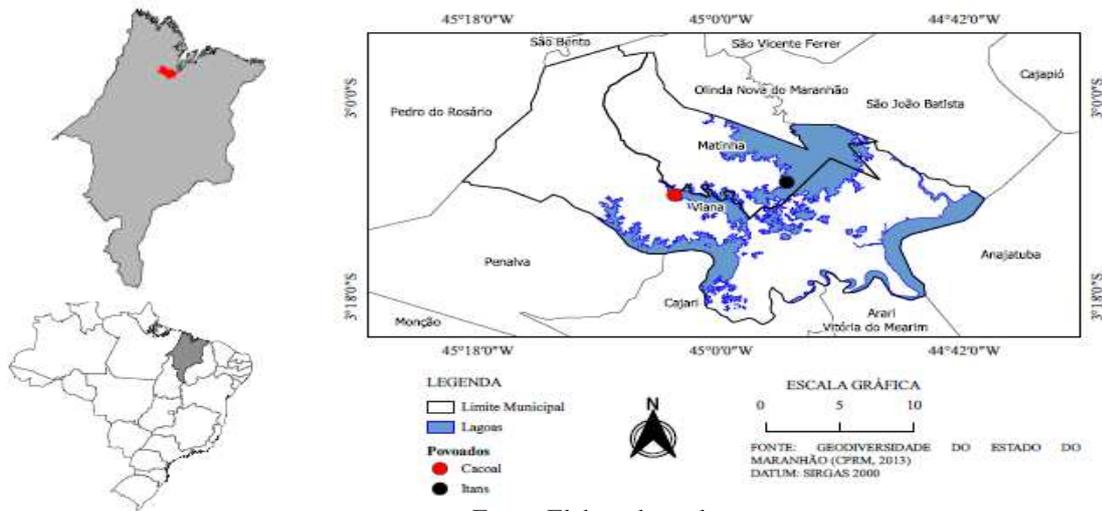
Devido à importância comercial da tambatinga na Baixada Ocidental Maranhense, são necessários estudos sobre a sanidade dessa espécie nos ambientes de cultivo. Por isso, objetivou-se com este estudo avaliar a qualidade da água das pisciculturas e identificar a ocorrência de fungos patogênicos em pele e brânquias do híbrido tambatinga nas pisciculturas dos municípios de Viana e Matinha, Área de Proteção Ambiental (APA) da Baixada Ocidental Maranhense.

2 Materiais e Métodos

2.1 Área de coleta

A pesquisa foi realizada nos povoados Itans (município de Matinha) e Cacoal (município de Viana) (Figura 1). Estão localizados na Microrregião da Baixada Ocidental Maranhense e Mesorregião Norte do Maranhão e apresentam clima quente e úmido com duas estações bem definidas: a estação de estiagem entre os meses de agosto a dezembro e a estação chuvosa entre os meses de janeiro a julho com índices pluviométricos em torno de 2000 a 2400 mm por ano e com temperatura anual entre 26 a 32° C e umidade relativa do ar entre 79 e 82% (IBGE, 2014; Silva, 2016).

Figura 1 - Localização dos municípios de Matinha e Viana, estado do Maranhão, com destaque para os povoados de Itans e Cacoal.



Fonte: Elaborador pelo autor

As coletas foram realizadas nos meses de outubro de 2019 (período de estiagem) e fevereiro de 2020 (período chuvoso). Foram analisadas quatro pisciculturas, sendo duas no povoado Itans, Matinha (P1 e P2) e duas no povoado Cacoal, Viana (P3 e P4). Por se tratar de APA, foi necessária autorização dos órgãos ambientais responsáveis, segundo os protocolos SEMA 46/2019 e ICMBIO 69518-1.

2.2 Coleta e processamento das amostras

A análise físico-química da água foi realizada como auxílio de equipamento multiparâmetro Hydrolab (Ott) e as medidas de amônia e nitrito foram realizadas *in situ* com os kits colorimétricos do Labcon Test.

Foi utilizado para a quantificação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli* o sistema cromogênico (MUG) e fluorogênico enzimático (Colilert, Idexx, USA), por meio da utilização de substratos definidos (AOAC, 2003).

Nos dois períodos foram coletados 40 espécimes de Tambatinga, 20 em cada período, com o auxílio de rede de nylon. Foi realizada a biometria (comprimento padrão, total e furcal) e aferido o peso em balança digital com precisão de 0,001g, após, os espécimes foram eutanasiados *in situ*, por choque térmico, para retirada de fragmento de pele do dorso médio e brânquias, seguindo protocolo nº 41/2019 do Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual do Maranhão.

O isolamento de fungos das amostras de pele e brânquias seguiu o protocolo descrito por Meneses e Silva-Hanlin (1997) com adaptação para alimentos. Os fragmentos de pele e brânquias foram descongelados, retirado o excedente de musculatura. Na câmara de fluxo laminar, passou pela tríplice lavagem com imersão em solução de álcool a 70%, hipoclorito de sódio na proporção de 2:1 e água destilada e esterilizada, todos com tempo de 1 minuto.

Os fragmentos foram transferidos para placas de petri contendo meio de cultivo ágar Sabouraud dextrose (BDA) acrescido de clorafenicol e incubadas em B.D. O (Biological Oxygen Demand) ajustada para uma temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$ e fotoperíodo de 12h. Após o crescimento micelial, foram montadas lâminas semipermanentes coradas com azul de Amann para facilitar identificação morfológica microscópio óptico.

Todos os dados desta pesquisa foram distribuídos em tabelas e gráficos descritivos para uma melhor visualização. A análise estatística foi realizada por meio do *software* SPSS v. 19, considerando um nível de significância de 5%.

3 Resultados e Discussão

A média de peso dos indivíduos foi de $898,75 \pm 430,72 \text{ g}$ (200g – 1600g), o comprimento total (CT) foi de $33,68 \pm 5,18 \text{ cm}$ (25 cm – 43 cm), comprimento padrão (CP) de $28,38 \pm 5,42 \text{ cm}$ (20 cm – 39 cm) e comprimento furcal (CF) de $31,13 \pm 5,17 \text{ cm}$ (23 – 41 cm). Os dados descritivos de média, desvio-padrão, mínimo e máximo de cada variável biométrica de acordo com o sexo, período e local de coleta estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 - Biometria de Tambatinga coletados em pisciculturas nos municípios de Matinha e Viana, Maranhão.

Variável	N	Peso (g)		CT (cm)		
		Mín. - Máx.	Média \pm DP	Mín.-Máx.	Média \pm DP	
Sexo	<i>Fêmea</i>	20	400 – 1.600	$992,50 \pm 425,28$	25,00 - 43,00	$34,00 \pm 5,18$
	<i>Macho</i>	20	200 – 1.500	$805,00 \pm 425,95$	26,00 - 43,00	$33,35 \pm 5,29$
Período	<i>Seco</i>	20	200 – 1.600	$1.135,00 \pm 455,41$	25,00 - 43,00	$33,10 \pm 6,42$
	<i>Chuvoso</i>	20	400 – 1.100	$662,50 \pm 236,44$	29,00 - 40,00	$34,25 \pm 3,64$
Locais	<i>Matinha</i>	20	200 – 1.600	$865,00 \pm 422,74$	26,00 - 43,00	$35,75 \pm 5,56$
	<i>Viana</i>	20	400 – 1.600	$932,50 \pm 446,87$	25,00 - 39,00	$31,60 \pm 3,89$
Total	40	200 – 1.600	$898,75 \pm 430,72$	25,00 - 43,00	$33,68 \pm 5,18$	

Variável	N	CP (cm)		CF (cm)		
		Mín. – Máx.	Média ± DP	Mín.–Máx.	Média ± DP	
Sexo	<i>Fêmea</i>	20	20,00 - 38,00	29,00 ± 5,34	23,30 - 41,00	32,06 ± 5,24
	<i>Macho</i>	20	20,00 - 39,00	27,75 ± 5,56	23,00 - 42,00	31,18 ± 5,61
Período	<i>Seco</i>	20	20,00 - 37,00	27,50 ± 5,83	23,00 - 42,00	31,05 ± 6,53
	<i>Chuvoso</i>	20	22,00 - 39,00	29,25 ± 4,97	26,00 - 39,00	32,15 ± 4,01
Locais	<i>Matinha</i>	20	20,00 - 39,00	30,05 ± 5,93	23,00 - 42,00	33,38 ± 6,07
	<i>Viana</i>	20	20,00 - 35,00	26,70 ± 4,38	23,30 - 36,00	29,82 ± 3,98
Total	40	20 - 39,00	28,38 ± 5,42	23,00 - 42,00	31,60 ± 5,37	

Legenda: CT = Comprimento total; CP = Comprimento padrão; CF = Comprimento furcal.

O estudo biométrico de peixes é a maneira mais fácil e rápida de descrever o crescimento e o ganho de massa corporal de teleósteos, sem levar em consideração a idade do peixe (Braga, 1986; Gomieiro & Braga, 2008). Essa técnica tem sido utilizada para avaliar grau de hígidez de indivíduos (Vazzoler, 1996; Araujo *et al.*, 2005) e seu valor está relacionado às condições nutricionais recentes ou gastos de energia em atividades metabólicas, quase sempre, indicando diferenças nas condições ambientais, período reprodutivo e alterações alimentares (Gomiero & Braga, 2008).

Lemos *et al.* (2006) e Camara, Caramaschi & Petry (2011) apoiados em Vazzoler (1996), citam que a maioria dos peixes teleósteos possui tendência de crescimento de forma linear e somática. No entanto, ao atingir a idade adulta, ocorre o oposto; grande parcela de nutrientes advindos da alimentação é armazenada em forma de gordura para ser utilizada em outros processos biológicos, existindo uma tendência natural de maior acúmulo de substâncias de reservas em fêmeas em relação aos machos. Desta forma, como discriminado na Tabela 1 e fundamento nos estudos de Gurgel, Almeida & Barbieri (1994) e Rego (2008), os valores de peso superior para as fêmeas podem estar relacionados à alocação de energia para o desenvolvimento de estruturas reprodutivas.

O crescimento de peixes de cultivo tem relação direta com fornecimento de ração, pois o alimento natural é limitado. A frequência e a quantidade de alimentação influenciam o crescimento e ganho de massa corporal dos peixes. No período chuvoso, por exemplo, pelo grande aporte de nutrientes advindos dos lagos naturais, os piscicultores reduzem a alimentação, ofertando uma dieta menor em relação ao período seco. Em estudos sobre dietas de peixes, Hayashi *et al.* (2004) citaram que vários fatores contribuem com o ganho ou perda de massa corporal em sistema fechado de criação, merecendo destacar a quantidade e frequência de ração disponível, a qualidade da água e a temperatura (Deng *et al.*, 2010;

Kubitza, 2010; Pinheiro, 2018). Nesse estudo houve redução significativa do peso dos exemplares de tambatinga no período chuvoso que podem ser compreendidos pela redução da frequência alimentar dos peixes e decréscimo da temperatura do ambiente, fator que interfere diretamente na fisiologia dos organismos com redução do metabolismo e consumo alimentar, situações mencionadas por Hayashi *et al.* (2004) e Oliveira *et al.* (2013) ao analisar a fisiologia de tilápia em cultivo.

Referente aos resultados microbiológicos das amostras de água, a quantificação de coliformes totais entre os municípios e Matinha e Viana, o teste estatístico demonstrou diferenças para o município de Viana ($p = 0,006$) (Tabela 2). Para o município de Matinha, constatou-se grande variação entre as pisciculturas analisadas, o que afetou o resultado do teste e não foram encontradas diferenças significativas ($p = 0,195$).

Em relação á quantificação de *E. coli*, as amostras tanto das pisciculturas de Matinha quanto de Viana apresentaram valores abaixo do estabelecido na legislação (CONAMA 430/2011) que estabelece NMP <1000/100m/L (Tabela 2), demonstrando que a água está satisfatória para o cultivo de peixes.

Tabela 2 - Resultados microbiológicos analisados em pisciculturas no cultivo de tambatinga nos municípios de Matinha (P1 e P2) Povoado Itans e Viana (P3 e P4) Povoado Cacoal, Maranhão.

Pisciculturas	Coliformes Totais (NMP/100mL)		<i>Escherichia coli</i> (NMP*/100mL)	
	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
P1	24.196	12.500	10,0	43,0
P2	3.255	3.580	31,0	10,0
P3	1.860	1.350	41,0	10,0
P4	3.255	3.580	20,0	10,0
<i>p-valor</i>	0,195	0,06	-	-
CONAMA nº 430/2011	<1.000			

NMP= Número Mais Provável; Test t *Student*; $p < 0,05$.

Os coliformes totais e termotolerantes são bactérias presentes no ambiente. E, no meio aquático, são utilizadas como indicadoras da qualidade de água. No Brasil, o artigo 15 da Resolução CONAMA nº 357/2005 (alteração CONAMA nº 430/2011) estabelece, determina e monitora a presença de microrganismos que podem causar intoxicações e doenças que acometem seres humanos e organismos aquáticos (CONAMA, 2005, 2011). Além disso, estabelece limite de tolerância para *E. coli*, classificando a água em satisfatória e insatisfatória de acordo com o NMP presente no material analisado (NMP <1000/100 mL).

Os viveiros são ambientes ricos em matéria orgânica e as bactérias, pela sua capacidade sapróbia, tem tendência natural para crescer, desenvolver e multiplicar-se em

condições aeróbicas e anaeróbicas. De acordo com Lorenzon (2009) a presença de coliformes totais em águas de pisciculturas não está diretamente relacionada a doenças, pois, não são indicativas de contaminação fecal. Contudo, altos níveis pode determinar a má qualidade higiênica da água, entrada de efluentes contaminados por esgotos domésticos e industriais (Macedo & Sipaubá-Tavares, 2018; Nars *et al.*, 2019). As bactérias termotolerantes, a exemplo, da *E. coli*, quando disponível em alimentos ou no meio aquático sugere a contaminação de origem fecal (Andrade & Barros, 2019), pois são comuns à microbiota intestinal de animais homeotérmicos.

A presença de *E. coli* pode comprometer a sanidade dos peixes, gerando estresse e patologias que podem ser veiculadas aos seres humanos pelo consumo de alimentos contaminados, causando doenças e, dentre as mais frequentes, as toxi-infecções alimentares (Pimentel & Paneta, 2003). São microrganismos deteriorantes e indicadores de condições higiênico-sanitárias deficientes e, quando presentes em alimentos, liberam toxinas que afetam a saúde dos seres humanos.

Segundo Pinheiro e Pinheiro *et al.* (2015), as bactérias são as grandes responsáveis pela deterioração do pescado, essa contaminação pode acontecer ao longo de toda a cadeia produtiva, no entanto, Germano e Germano (2015) relatam que a contaminação do peixe por bactérias mesófilas ocorre em sua grande maioria nos ambientes naturais, principalmente, pela contaminação da água de cultivo. Nesse estudo, todas as pisciculturas apresentaram valores dentro do previsto pela Resolução CONAMA nº 430/2011, confirmando que as medidas sanitárias são eficientes.

Para a análise físico-química, foram contemplados os dados gerais, por período (seco e chuvoso), por local (Matinha e Viana) e entre pisciculturas (P1, P2, P3 e P4). Os valores médios dos parâmetros físico-químicos por pisciculturas em relação à legislação ambiental brasileira são sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros físico-químicos em quatro pisciculturas de peixes tambatinga coletados nos municípios de Matinha e Viana, ambos no estado do Maranhão.

Variável	Município Matinha				Município Viana				Valores Referência
	Período seco		Período Chuvoso		Período seco		Período Chuvoso		
	P1	P2	P1	P2	P3	P4	P3	P4	
pH	6,20	8,70	5,60	8,00	7,50	7,80	6,80	4,80	6 a 9 ^a
Temperatura(°C)	30,10	32,60	29,30	30,50	36,30	36,30	29,90	34,50	26°C – 32°C ^b
Salinidade (UPS)	0,10	0,10	0,13	0,02	0,008	0,09	0,05	0,09	0,05-1,0 UPS ^c
O. D (mg/L)	3,90	11,10	7,20	13,50	7,00	9,60	13,20	6,80	> 5 mg/L O ₂ ^a
Cond. (µS/cm)	336,70	140,00	403,30	214,30	161,10	171,20	0,09	193,30	120 a 500 ^c

Amônia (mg/L)	0	0	0,0065	0	0,005	0,025	0	0,025	< 0,05mg/L ^d
Nitrito (ppm)	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0 ppm ^d

^a CONAMA N° 357/2005, CONAMA 430/2011; ^b Lima *et al.* (2013); ^c Minello *et al.* (2010); ^d Labcontest.

A qualidade da água é essencial para a sanidade dos peixes, por isso, os parâmetros abióticos devem ser analisados rotineiramente. O potencial hidrogeniônico (pH) deve estar na faixa adequada (entre 6 a 9) para manter o ambiente propício para o bem estar das espécies. Nesse trabalho, as pisciculturas P1, em Matinha, e P4 em Viana no período chuvoso registraram valores abaixo do estabelecido pela legislação CONAMA n° 357/2005. De acordo com Kubitzka (2003), o aporte de nutrientes advindos de ambientes externos à piscicultura, a sedimentação de produtos da alimentação e produção de excretas resultantes do metabolismo dos peixes pode contribuir com a redução do potencial hidrogeniônico em tanques de cultivo.

Analisando criação de peixes de cultivo, Rojas e Sanches (2006) corrobora que quando a água dos viveiros está em faixa ótima de pH, os peixes apresentam melhor estado de saúde e o viveiro está em condições ideais de criação.

Em relação ao Oxigênio Dissolvido (O.D) somente a piscicultura P1 em Matinha apresentou valor abaixo do previsto (3,90 mg/L). Para Sipaubá-Tavares (2010)

fatores como respiração, alta densidade de estocagem, baixa fotossíntese e poluição da água podem contribuir com a diminuição do O.D disponível no sistema cultivo. Merece destaque que a piscicultura P1 que recebe aporte de água diretamente do lago Aquiri, com enorme absorção de matéria orgânica advindas de resíduos de macrófitas aquáticas mortas. Tucker, Hargreaves & Boyd (2008) relataram baixas concentrações de oxigênio dissolvido em tanques de cultivo e foi observado que os fatores que contribuíam significativamente eram baixos níveis de pH, altas temperaturas, alta densidade de peixes e elevada carga de matéria orgânica em decomposição.

Os valores mínimo, máximo, média e desvio-padrão dos parâmetros físico-químicos são descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Comparação entre médias (seco e chuvoso) dos parâmetros físico-químicos em pisciculturas com produção de peixes tambatinga coletados nos municípios de Matinha e Viana, estado do Maranhão.

Variável	Local	
	Matinha	Viana
pH		
Mín. – Máx.	5,60 – 8,70	4,80 – 7,80
Média ± DP	7,13 ± 1,36	6,73 ± 1,25
<i>p-valor</i>		0,549
Temperatura (°C)		

Mín. – Máx.	29,30 – 32,60	29,90 – 36,30
Média ± DP	30,63 ± 1,30	34,25 ± 2,80
<i>p</i> -valor		0,005*
Salinidade (UPS)		
Mín. – Máx.	0,02 – 0,13	0,008 – 0,09
Média ± DP	0,09 ± 0,04	0,06 ± 0,04
<i>p</i> -valor		0,185
Oxigênio dissolvido (mg/L)		
Mín. – Máx.	3,90 – 13,50	6,80 – 13,20
Média ± DP	8,93 ± 3,92	9,15 ± 2,77
<i>p</i> -valor		0,896
Condutividade (µS/cm)		
Mín. – Máx.	140,00 – 403,30	0,09 – 193,30
Média ± DP	273,58 ± 109,77	131,42 ± 82,01
<i>p</i> -valor		0,011*
Amônia (ppm)		
Mín. – Máx.	0 – 0,0065	0 – 0,05
Média ± DP	0,02 ± 0,03	0,03 ± 0,02
<i>p</i> -valor		0,498

Teste: ANOVA *one-way* *Diferença significativa, $p < 0,05$.

As pisciculturas analisadas apresentaram diferença estatística significativa ($t < 0,05$) apenas para temperatura ($F(1, 14) = 11,037$; $p = 0,005$) e condutividade ($F(1, 14) = 8,611$; $p = 0,011$) (Tabela 4). Encontrou-se maior média de temperatura em Viana, com diferença de $3,63 \pm 1,09$ °C e maior média de condutividade em Matinha, com diferença de $142,15 \pm 48,44$ (µS/cm) (Figura 2 e 3).

O aumento da temperatura na região estudada está relacionado com o ambiente de transição entre diversos biomas. Além disso, as mudanças de temperatura podem estar associadas a mudanças climáticas e a alterações no ciclo de precipitação da APA da Baixada Maranhense. Em relação à sua influência nos cultivos, a temperatura não se relaciona diretamente com a qualidade da água. Mas funciona como um catalizador físico nas reações dos ecossistemas lacustres. É um parâmetro que deve ser monitorado constantemente para garantir a sanidade dos organismos aquáticos. Assim, as pisciculturas estudadas se mantiveram dentro dos limites estabelecidos para criação de tambatinga (26 a 32°C), segundo Lima (2013). No entanto, Kubitzka (2010) relatou que pela plasticidade dessa espécie híbrida em relação aos parentais, é possível que o mesmo suporte temperaturas bem maiores. Mas, Leira *et al.* (2016) inferem que não existe na literatura, consenso sobre qual temperatura seria ideal para o cultivo de tambatinga.

A condutividade elétrica é um indicador da capacidade de a água conduzir eletricidade, altas taxas de condutividade sugere disponibilidade de concentração iônica de metais nos corpos d'água. Para Silva *et al.* (2010), em águas puras, a resistência será maior e a

condutividade menor, por isso, altos gradientes de condutividade além de fornecerem importantes informações sobre o metabolismo do tanque, ajuda a identificar fontes poluidoras. Todas as pisciculturas analisadas neste trabalho possuem o valor de condutividade variando entre 160 a 403,30 ($\mu\text{S}/\text{cm}$). A média de condutividade elétrica encontrada está na faixa ótima para criação de peixes de cultivo (120 a 5000 $\mu\text{S}/\text{cm}$) de acordo com Sousa *et al.* (2000).

Figura 2 - Comparação entre as médias de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) em pisciculturas de peixes tambatinga nos municípios de Matinha e Viana, ambos no estado do Maranhão.

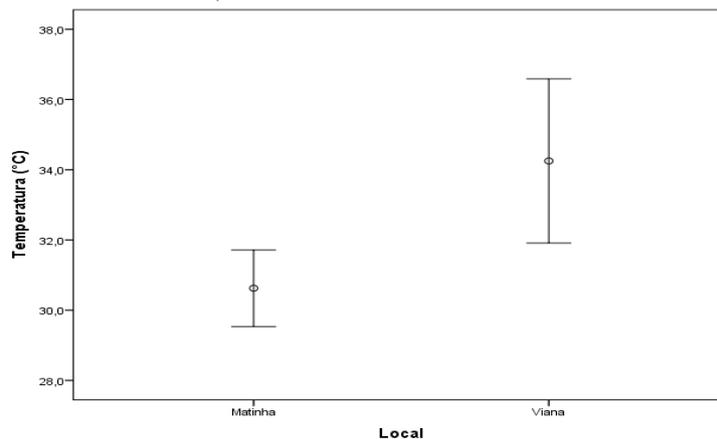
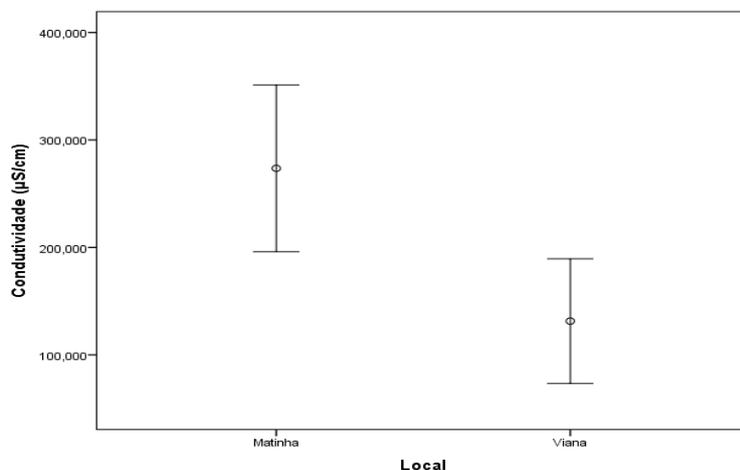


Figura 3 - Comparação entre as médias de condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) em pisciculturas de peixes tambatinga nos municípios de Matinha e Viana, ambos no estado do Maranhão.

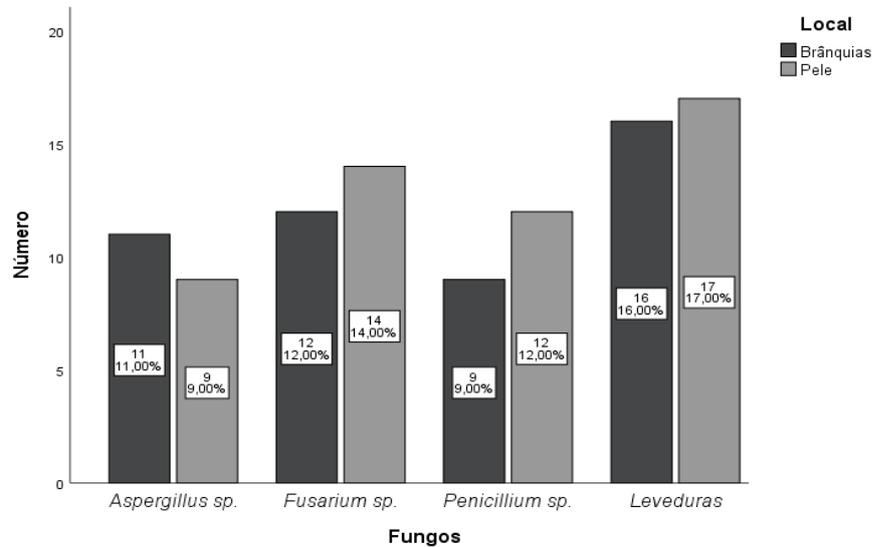


A

identificação dos fungos se deu em nível de gênero. Foram detectados em isolados de pele e brânquias de tambatinga *Aspegillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.*, e leveduras.

Fusarium sp., *Penicillium sp.* os tipos leveduriformes foram encontrados em maior frequência na pele (80%), enquanto o gênero *Aspegillus sp.* teve presença acentuada nas brânquias (20%) (Figura 4).

Figura 4 - Tipos de fungos encontrados em peixes tambatinga coletados de pisciculturas nos municípios de Matinha e Viana, Maranhão.



Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são indicativos de produção de metabólitos secundários tóxicos capazes de gerar efeitos deletérios em homens e animais (Pitt & Hocking, 2009), sua presença em ambientes aquáticos pode estar relacionada à capacidade de colonizar diversos ambientes (Reddy, Reddy & Muralidharan, 2009) e, ainda, relacionados à secagem e armazenagem de produtos, dentre eles ração para peixes (Oga, Camargo & Batistuzzo, 2008).

O gênero *Fusarium* é conhecido por ocupar ambientes terrestres, por exemplo, o solo. São fitopatógenos e estão relacionados à podridão de frutas e vegetais armazenados na pós-colheita. Além disso, são oportunistas e causam infecções superficiais em organismos imunodeprimidos (Marques, Gusmão & Maia, 2008), por isso, condições de estresse causado por alimentação deficiente, alteração de fatores físico-químicos, alta pluviosidade e condições de estresse dos peixes, contribui para a contaminação por espécies desse gênero.

Os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* têm grande relevância ambiental (Sri-indrasutdhi *et al.*, 2010; Jones & Pang, 2012; Kraus *et al.*, 2013). No entanto, dependendo das condições do ambiente e da sanidade dos organismos, podem ser grandes causadores de doenças em peixes.

A contaminação fúngica é intensificada pela disponibilidade de nutrientes, como fósforo, nitrogênio e má qualidade da água (Siqueira *et al.*, 2010). Contudo, Nunes (2015) relataram que a ocorrência desses grupos de microrganismos em ambientes aquáticos pode ser de origem ambiental ou pode estar associado a utilização de ração contaminada devido seu incorreto armazenamento.

Em estudos similares, Cardoso Filho *et al.* (2013) relataram a presença de fungos micotoxigênicos em ração e foi observada a presença de micotoxinas, como, as fumotoxinas produzidas pelo gênero *Fusarium* e Ocracinas produzidas pelos gêneros *Aspergillus* e

Penicillium. Em estudos similares (Accensi, Abarca & Cabanes, 2004); Pietsch *et al.* (2013) identificaram os gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* em cultivos de tilápias.

A análise da diversidade fúngica demonstrou associações entre o sexo, para *Aspergillus* sp. ($X^2 = 19,600$; G. L. = 1; $p = 0,001$) e entre o período, para *Penicillium* sp. ($X^2 = 8,120$; G. L. = 1; $p = 0,004$) e *Fusarium* sp. ($X^2 = 21,538$; G. L. = 1; $p = 0,001$). Há uma maior frequência de fungos do gênero *Aspergillus* sp. em fêmeas ($n = 17$; 85%), assim como maior ocorrência de *Penicillium* sp. ($n = 15$; 71,4%) e *Fusarium* sp. ($n = 14$; 100%) durante o período seco (Tabela 5). Não foi observada estatisticamente nenhuma associação das espécies fúngicas e leveduras com o local de coleta ($p > 0,05$).

Tabela 5 - Análise de diversidade fúngica por sexo, período e local em peixes tambatinga coletados de pisciculturas nos municípios de Matinha e Viana, no estado do Maranhão.

Gênero fungo	Sexo n (%)		Período n (%)		Local n (%)	
	Fêmea	Macho	Seco	Chuvoso	Matinha	Viana
<i>Aspergillus</i> sp.						
Presente	17 (85,00)	3 (15,00)	12 (60,00)	8 (40,00)	11 (55,00)	9 (45,00)
Ausente	3 (15,00)	17 (85,00)	8 (40,00)	12 (60,00)	9 (45,00)	11 (55,00)
p-valor	0,001* ^(a)		0,206 ^(a)		0,257 ^(a)	
<i>Penicillium</i> sp.						
Presente	12 (57,10)	9 (42,90)	15 (71,40)	6 (28,60)	12 (57,10)	9 (42,90)
Ausente	8 (42,10)	11 (57,90)	5 (26,30)	14 (73,70)	8 (42,10)	11 (57,90)
p-valor	0,342 ^(a)		0,004* ^(a)		0,342 ^(a)	
<i>Fusarium</i> sp.						
Presente	13 (50,00)	13 (50,00)	6 (23,10)	20 (76,90)	13 (50,00)	13 (50,00)
Ausente	7 (50,00)	7 (50,00)	14 (100,00)	0 (0,00)	7 (50,00)	7 (50,00)
p-valor	1,000 ^(a)		0,001* ^(a)		1,000 ^(a)	
Leveduras						
Presente	18 (54,50)	15 (45,50)	18 (54,50)	15 (45,50)	14 (42,40)	19 (57,60)
Ausente	2 (28,60)	5 (71,40)	2 (28,60)	5 (71,40)	6 (85,70)	1 (14,30)
p-valor	0,405 ^(b)		0,405 ^(b)		0,096 ^(b)	

^aTeste de Qui-quadrado; ^bTeste de Qui-quadrado com correção de Yates; *Diferença significativa, $p < 0,05$.

A presença do gênero *Aspergillus* em fêmeas de Tambatinga pode estar relacionada à preparação fisiológica para a reprodução, heterogeneidade dos peixes à suscetibilidade aos parasitos e às condições imunológicas do hospedeiro (Moller, 2006). É importante destacar que o manejo ineficiente dos tanques de cultivo e as condições ambientais contribuem significativamente para a ocorrência de fungos em espécies imunodeprimidas, existindo relato na literatura sobre o tema, por exemplo, registro em cultivos de tambatinga no Amapá, estabelecendo relação entre o sexo dos espécimes e a incidência de parasitas (Banu & Khan, 2004; Santos *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2013).

Os pesquisadores Iqbal e Saleemi (2013), analisando a presença de fungos patogênicos em peixes ornamentais, identificaram o gênero *Aspergillus* como o maior responsável por infecções em fêmeas, esse resultado corrobora com os trabalhos de Refai *et al.* (2008) que obteve resultado similar ao analisar lesões branquiais.

Os gêneros *Penicillium* e *Fusarium* tiveram maior expressividade para o período seco, essa informação corrobora com os trabalhos de Nascimento (2019) e Pinheiro (2018), analisando cultivos de tilápia (*Similar spp.*) em Paço do Lumiar e São Luís. No entanto, a ocorrência expressiva do gênero *Penicillium* pode estar relacionada à sua capacidade de colonizar diversos ambientes, incluindo o ambiente aquático e por atuar diretamente na ciclagem de matéria orgânica, que no período seco, torna-se mais abundante devido à morte de organismos invertebrados, vertebrados e macrófitas aquáticas nos lagos que abastecem as pisciculturas avaliadas. Em estudos de peixes de água doce no Egito, Refai *et al.* (2008), identificaram a presença de *Penicilium sp.* em pele, brânquias e olhos de tilápia. Eles atribuíram a presença desse gênero a fatores ambientais e a utilização de ração contaminada para alimentação dos peixes.

4 Considerações Finais

Os resultados dessa pesquisa demonstram que as pisciculturas analisadas apresentam condições satisfatórias para criação de peixes. Contudo, a pouca variação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água das pisciculturas estudadas não podem ser considerada fatores higiênico-sanitários absolutos, pois outras variáveis podem interferir na qualidade do cultivo e na sanidade dos peixes.

Nesse trabalho, os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* foram identificados nas pisciculturas de Matinha e Viana. Salienta-se que, embora macroscopicamente, não tenha sido possível identificar lesões e/ou infecções nos espécimes analisados, não se pode afirmar que não haja contaminação dos peixes por micotoxinas, carecendo de futuros trabalhos que avaliem os processos de contaminação dos peixes por metabólitos secundários.

Agradecimentos

Agradeço a Universidade Estadual do Maranhão, ao Laboratório de Microbiologia, Bioquímica e Parasitologia pela estrutura física e material; ao Programa

Nacional de Cooperação Acadêmica da Amazônia – PROCAD AMAZÔNIA (proc. 8888.20070/2018-00) pelo financiamento.

Referências

- Accensi, F., Abarca, M. L. & Cabanes, F. J. (2004). Occurrence of *Aspergillus* species in mixed feeds and component raw materials and their ability to produce ochratoxin A. *Food Microbiology*, 21(5), 623-627.
- Andrade, G. F. & Barros, D. B. (2019). Bioindicadores Microbiológicos para Indicação de poluição Fecal. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, (34), e1099-e1099.
- AOAC (2003). Official methods of analysis of the association of official's analytical chemists, 17th ed. Association of official analytical chemists, Arlington, Virginia.
- Araújo, F. G., Andrade, C. C., Santos, R. N., Santos, A. F. G. & Santos, L. N. (2005). Spatial and seasonal changes in the diet of *Oligosarcus hepsetus* (Characiformes, Characidae) in a Brazilian reservoir. *Brazilian Journal of Biology*, 65(1), 1-8.
- Banu, A. N. H. & Khan, M. H. (2004). Water quality, stocking density and parasites of freshwater fish in four selected areas of Bangladesh.
- Braga, F. D. S. (1986). Estudo entre fator de condição e relação peso/comprimento para alguns peixes marinhos. *Revista Brasileira de Biologia*, 46(2), 339-346.
- Camara, E. M., Caramaschi, E. P. & Petry, A. C. (2011). Fator de condição: bases conceituais, aplicações e perspectivas de uso em pesquisas ecológicas com peixes. *Oecologia Australis*, 15(2), 249-274.
- Cardoso Filho, F. D. C., Calvet, R. M., Rosa, C. A. D. R., Pereira, M. M. G., Costa, A. P. R. & Muratori, M. C. S. (2013). Monitoramento de fungos toxigênicos e aflatoxinas em rações utilizadas em piscicultura. *Ciência Animal Brasileira*, 14(3), 305-311.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente. (2005). *Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005*. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. Publicado no D.O. U.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente. (2011). *Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011*. Dispõe sobre as condições e padrão de lançamento de efluentes complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) Official Methods of Analysis. (2003).
- Deng, S. X., Tian, L. X., Liu, F. J., Jin, S. J., Liang, G. Y., Yang, H. J., ... & Liu, Y. J. (2010). Toxic effects and residue of aflatoxin B1 in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) during long-term dietary exposure. *Aquaculture*, 307(3-4), 233-240.
- Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura - FAO. *Faostat. Dados*. Recuperado em 24 de julho de 2019 de <http://www.fao.org/faostat/>.

- Germano, P. M. L. & Germano, M. I. S. (2015). *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*.
- Gomes, I. D. O. G., Silva, Á. P. C., Gomes, J. B., Silva, M. C. S. & Souza Serra, I. M. R. (2020). Percepção da sanidade em pisciculturas da baixada Ocidental Maranhense, Brasil/Perception of sanity in piscicultures in baixada Ocidental Maranhense, Brazil. *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 23029-23043.
- Gomiero, L. M. & Braga, F. M. S. (2005). Uso do grau de preferência alimentar para a caracterização da alimentação de peixes na APA de São Pedro e Analândia. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 27(3), 265-270.
- Gurgel, H. D. C. B., Almeida, R. G. D. & Barbieri, G. (1994). Análise qualitativa da alimentação e o coeficiente intestinal de *Metynnis cf. roosevelti* Eigenmann (Characidae, Myleinae), da Lagoa Redonda, Nízia Floresta, Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 11(2), 331-339.
- Hashimoto, D. T., Senhorini, J. A., Foresti, F. & Porto- Foresti, F. (2012). Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. *Reviews in Aquaculture*, 4(2), 108-118.
- Hayashi, C., Meurer, F., Boscolo, W. R., Lacerda, C. H. F. & Kavata, L. C. B. (2004). Freqüência de arraçamento para alevinos de lambari do rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, 33(1), 21-26.
- Hurmann, E. M. D. S. (2016). *Atividade antimicrobiana de Trichoderma viride e Trichoderma stromaticum*.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2014). Diretoria de Pesquisas. Coordenação de trabalho e rendimento. *Sistema integrado de pesquisas domiciliares - Sipi* [internet]. Rio de janeiro: IBGE.
- Iqbal, Z. & Saleemi, S. (2013). Isolation of pathogenic fungi from a freshwater commercial fish, *Catla catla* (Hamilton). *Sci Int (Lahore)*, 25(4), 851-855.
- Jones, E. G. & Pang, K. L. (2012). Tropical aquatic fungi. *Biodiversity and conservation*, 21(9), 2403-2423.
- Krauss, U., Ten Hoopen, M., Rees, R., Stirrup, T., Argyle, T., George, A. & Casanoves, F. (2013). Mycoparasitism by *Clonostachys byssicola* and *Clonostachys rosea* on *Trichoderma spp.* from cocoa (*Theobroma cacao*) and implication for the design of mixed biocontrol agents. *Biological Control*, 67(3), 317-327.
- Kubitza, F. (2003). *Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões*.
- Kubitza, F. (2010). Os caminhos para uma piscicultura sustentável. *Panorama da Aquicultura*, 20(119), 16-23.
- Leira, M. H., da Cunha, L. T., Braz, M. S., Melo, C. C. V., Botelho, H. A. & Reghim, L. S. (2016). Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. *Pubvet*, 11, 1-102.

- Lemos J.R.G.; Tavares-Dias, M; Marcon, j.l.; Lemos P.E.M.; Affonso, E.G. & Zaiden, S.F. 2006. **Relação peso-comprimento e fator de condição em espécies de peixes ornamentais do rio negro, estado do Amazonas, Brasil.**
- Leung, T. L. & Bates, A. E. (2013). More rapid and severe disease outbreaks for aquaculture at the tropics: implications for food security. *Journal of applied ecology*, 215-222.
- Lima, A. F., Moro, G. V., Kirschnik, L. N. G. & Barroso, R. M. (2013). *Reprodução, larvicultura e alevinagem de peixes*. In A. P. O. Rodrigues *et al.* Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos (pp. 301-322). Brasília: EMBRAPA.
- Lima, L. K. F. (2013). *Reaproveitamento de resíduos sólidos na cadeia agroindustrial do pescado*. Embrapa Pesca e Aquicultura-Documents (INFOTECA-E).
- Lorenzon, C. S. (2009). *Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pague situados na região nordeste do Estado de São Paulo*.
- Macedo, C. F. & Sipaúba-Tavares, L. H. (2018). Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. *Boletim do Instituto de Pesca*, 36(2), 149-163.
- Marques, M. F. O., Gusmão, L. F. P. & Maia, L. C. (2008). Riqueza de espécies de fungos conidiais em duas áreas de Mata Atlântica no Morro da Pioneira, Serra da Jibóia, BA, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 22(4), 954-961.
- Menezes, M. & Silva-Hanlin, D. M. W. (1997). *Guia prático para fungos fitopatogênicos*. Recife: UFRPE.
- Minello, M. C. S.; Paço, A. L.; Caetano, L.; Castro, R. S. D.; Ferreira, G.; Pereira, A. S.; Padilha, P. M. & Castro, G. R. (2010). Avaliação sazonal de alguns parâmetros indicadores da qualidade de água no reservatório da usina hidrelétrica de Ilha Solteira-SP, Brasil. *Global Science Technology*, 3(3), 98-104.
- Møller, A. P. (2006). Parasitism and the regulation of host populations. *Parasitism and ecosystems*, 75, 43-43.
- Nascimento, I. V. S. (2019). *Avaliação da sanidade em cultivos de tilápia (Oreochromis sp): qualidade da água, alterações branquiais e identificação de espécies fúngica*. Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís.
- Nasr, F. A., El-Shafai, S. A., Abdelfadil, A. S., Ibrahim, H. S. & Hemdan, B. A. (2019). Potential use of treated domestic sewage for cultivation of biofuel crops in Egypt. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(11), 7433-7442.
- Nunes, G. C. (2015). *Elementos traço e parasitismo em tilápia do Nilo cultivada na região sul de Santa Catarina, estudo de caso*.
- Oga, S., Camargo, M. M. D. A. & Batistuzzo, J. A. D. O. (2008). *Fundamentos de toxicologia*.

- Oliveira, L. A. A. G., Almeida, A. M., Pandolfo, P. S. V., Souza, R. M. D., Fernandes, L. F. L. & Gomes, L. C. (2013). Crescimento e produtividade de juvenis de robalo-peva a diferentes temperaturas e taxas de alimentação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8), 857-862.
- Pietsch, C., Kersten, S., Burkhardt-Holm, P., Valenta, H. & Dänicke, S. (2013). Occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in commercial fish feed: An initial study. *Toxins*, 5(1), 184-192.
- Pimentel, L. P. S. & Panetta, J. C. (2003). Condições higiênicas do gelo utilizado na conservação de pescado comercializado em supermercados da Grande São Paulo: parte 1, resultados microbiológicos. *Hig. aliment*, 56-63.
- Pinheiro, C. A. M., Pinheiro, R. S., Santos, W. H. L., Souza Serra, I. M. R. & 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).
- Pinheiro, L. B. (2018). *Piscicultura de tilápia: efeitos da contaminação por Escherichia coli e Salmonella enteritidis* (Monografia).
- Pitt, J. I. & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and food spoilage* (Vol. 519). New York: Springer.
- Reddy, K. R. N., Reddy, C. S., & Muralidharan, K. (2009). Detection of *Aspergillus* spp. and aflatoxin B1 in rice in India. *Food Microbiology*, 26(1), 27-31.
- Refai, M. K., Laila, A. M., Kenawy Amany, M. & Shimaa, E. S. (2008). *The assessment of mycotic settlement of freshwater fishes in Egypt*.
- Rêgo, A. C. L. (2008). *Composição, abundância e dinâmica reprodutiva e alimentar de populações de peixes de um reservatório recém-formado (UHE-Capim Branco I/MG)*.
- Rojas, N. & Sanches, E. (2006). Considerações sobre a implantação e o manejo de sistemas aquaculturais esportivos. In: Esteves, K. E. & Sant'Anna, C. L. *Pesqueiros sob uma visão integrada de meio ambiente, saúde pública e manejo. Um estudo na região metropolitana de São Paulo*. (pp.177-200). São Carlos: Ed. RiMa,
- Sri-Indrasutdhi, V., B, N., S, S., Chuaseeharonnachai, C., Sivichai, S., & Jones, E. G. (2010). Wood-inhabiting freshwater fungi from Thailand: *Ascothailandia grenadoidia* gen. et sp. nov., *Canalisporium grenadoidia* sp. nov. with a key to *Canalisporium* species (Sordariomycetes, Ascomycota). *Mycoscience*, 51(6), 411-420.
- Santos, M. Q. D. C., Lemos J. R. G. D., Sales, R. S. D. A., Oliveira, A. T. D., Pereira, C. N., Tavares-Dias, M. & Marcon, J. L. (2011). Relação peso-comprimento e fator de condição de três espécies de peixes ornamentais do médio Rio Negro, Amazonas, Brasil. *Anais do XIX Encontro Brasileira de Ictiologia*.
- Silva, M. M. P., Sousa, J. T., Ceballos, B. S. O., da Silva Feitosa, W. B. & Leite, V. D. (2010). Avaliação sanitária de resíduos sólidos orgânicos domiciliares em municípios do semiárido paraibano. *Revista Caatinga*, 23(2), 87-92.

Silva, R. E. (2016). *Perfil da piscicultura dos médios e grandes produtores do município de Matinha–Maranhão*. Monografia (Engenharia de Pesca), Universidade Federal do Maranhão, São Luís.

Silva, R. M., Tavares-Dias, M., Dias, M. W. R., Dias, M. K. R. & Marinho, R. D. G. B. (2013). Parasitic fauna in hybrid tambacu from fish farms. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8), 1049-1057.

MACEDO

Sipaúba-Tavares, L. H., Lourenço, E. M., & de Souza Braga, F. M. (2010). Water quality in six sequentially disposed fishponds with continuous water flow. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, 9-15.

Siqueira, L. P. D., Shinohara, N. K. S., Lima, R. M. T. D., Paiva, J. D. E. D., Lima Filho, J. L. D. & Carvalho, I. T. D. (2010). Avaliação microbiológica da água de consumo empregada em unidades de alimentação. *Ciência & Saúde Coletiva*, 15(1), 63-66.

Sousa, V. F., Coêlho De, E. F., de Andrade Junior, A. S., Folegatti, M. V. & Frizzone, J. A. (2000). Eficiência do uso da água pelo meloeiro sob diferentes frequências de irrigação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 4(2), 183-188.

Tavares-Dias, M. (2017). Community of protozoans and metazoans parasitizing *Auchenipterus nuchalis* (Auchenipteridae), a catfish from the Brazilian Amazon. *Embrapa Amapá-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.

Tucker, C. S., Hargreaves, J. A. & Boyd, C. E. (2008). Aquaculture and the Environment in the United States. *Environmental best management practices for aquaculture*, 3-54.

Vazzoler, A. E. A. M. (1996). *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: Eduem.

5.2 Alterações hepáticas como indicador de sanidade do híbrido tambatinga em cultivos na Area de Proteção Ambiental da Baixada Marenhense, Brasil²

Liver changes as an indicator of health of the tambatinga hybrid in crops in the Environmental Protection Area of Baixada Marenhense, Brazil

M.C.S. Silva¹, J. B. Gomes¹, N. J. Pereira¹, I.C.M. Lima², I. M. R. S. Serra³, D. M. S. Santos³.

¹ Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca/UEMA.

² Curso de Ciências Biológicas/UEMA.

³ Departamento de Biologia/UEMA

RESUMO

A Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense tem potencial para criação de peixes pela riqueza hídrica e características climáticas favoráveis. Os lagos que abastecem os cultivos têm indícios de contaminação ambiental de diversas fontes. Esse trabalho tem por objetivo avaliar a sanidade de tambatinga pelas alterações presente no tecido hepático. Para análise da qualidade água, utilizou-se sonda multiparamétrica *in situ* e extratos fluorogênico e cromogênico. Os fígados foram coletados *in situ*, inclusos em formalina a 10%, por 24h, posteriormente, mantidos em alccol a 70%. O processamento e análise histológica do fígado seguiu protocolo descrito por Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994), sendo o IAH classificado de acordo com tabela de severidade. A qualidade da água se mostrou favorável ao cultivo. As alterações hepáticas frequentes foram núcleo para periferia (NP), centro de melanomacrófagos (CN), hiperemia (H), vacuolização (V), hemorragia (He), degeneração gordurosa (Dg) e esteatose. De acordo com o IAH, as alterações foram classificadas em leves a moderadas. Esses resultados indicam que os peixes estão apresentando respostas biológicas a estressores presentes no local.

Palavras-chave: Histology, Baixada Maranhense, Monitoramento, Pisciculturas.

² Revista Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Qualis A3).

ABSTRACT

The Baixada Maranhense Environmental Protection Area has enormous potential for breeding farmed fish, mainly due to its water richness and favorable climatic characteristics. The lakes that supply the crops are continually suffering from environmental contamination from several sources. Based on this, this work aims to assess the health of tambatinga by the changes present in the liver tissue. To analyze the physical-chemical quality of the water, a multiparametric probe was used in situ and the microbiological quality of the water was evaluated by the fluorogenic and chromogenic extracts. Histological analysis of the liver followed the protocol described by Poleksic and Mitrovic-Tutundzic (1994), with the AHI being classified according to the severity table. The water quality was favorable to cultivation. Frequent liver changes were core to periphery (PN), melanomacrophage center (CN), hyperemia (H), vacuolization (V), hemorrhage (He), fatty degeneration (Dg) and steatosis being classified, by the IAH, in level to moderate. These results indicate that fish are showing biological responses to stressors present at the site.

Keywords: Hepatic changes, Baixada Maranhense, Monitoring, Piscicultures

INTRODUÇÃO

A espécie híbrida tambatinga é resultado do cruzamento dos parentais tambaqui (*Colossoma macropomum*) e piraptinga (*Piaractus braquypomus*). É uma das principais espécies cultivadas em pisciculturas localizadas nos municípios de Viana e Matinha, situados na Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense (Gomes *et al.*, 2020). Esse híbrido desperta interesse, principalmente, pela plasticidade de suportar alterações do meio ambiente, interesse zootécnico e mercadológico (Hashimoto *et al.*, 2012; Dias *et al.*, 2015).

Os municípios de Matinha e Viana estão localizados na mesorregião Norte do estado do Maranhão e Microrregião da Baixada Maranhense. Elas apresentam clima quente e úmido com duas estações definidas: período estiagem (agosto-dezembro) e chuvoso (janeiro-julho), alta pluviosidade, com temperatura anual variando entre 26 a 32° C (Silva *et al.*, 2016).

Além das características climáticas favoráveis para a implantação de pisciculturas, a APA da Baixada Ocidental Maranhense possui relevo plano e suavemente ondulado contendo extensas áreas rebaixadas. No período chuvoso, essas áreas são alagadas dando

origem a um sistema de lagos interligados entre si e aos cursos dos rios Mearim, Grajaú, Pindaré e Pericumã (Feitosa, 2006).

As áreas inundáveis são a principal fonte de água para abastecimento das pisciculturas. São ambientes complexos e sujeitos a diversos contaminantes oriundos de práticas agrícolas degradadoras, lançamento de efluentes domésticos e industriais, carreamento de particulados aos cursos d'água e rejeitos de diversas atividades (Braga *et al.*, 2006). Todos esses estressores são levados aos ambientes de cultivo pela água, afetando diretamente os peixes cultivados (Silva *et al.*, 2013).

Os peixes são considerados sensíveis a estresses no meio aquático. São considerados bons biomonitores por estarem no topo da cadeia trófica e acumularem substâncias tóxicas em determinados órgãos (Fuzinato, 2013; Loureiro, 2017), sendo ótimos biomonitores para estudos que analisam alterações morfológicas, bioquímicas e histológicas como resposta para a presença de contaminantes.

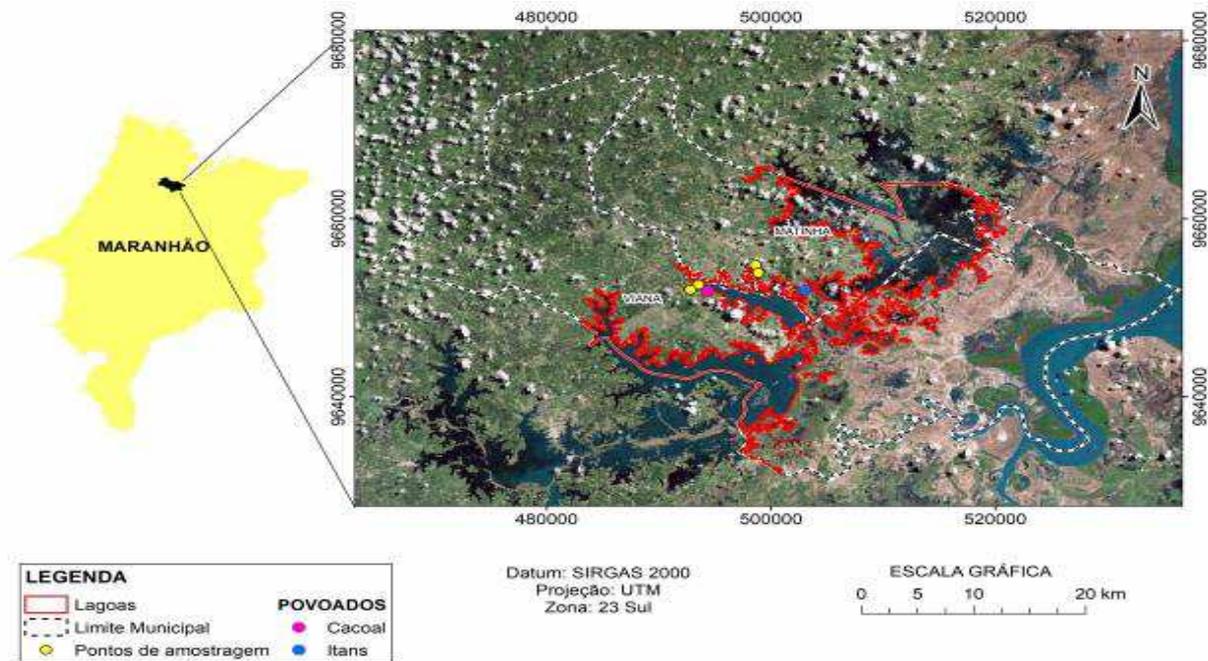
O fígado é um órgão de biotransformação e, em geral, sofre alterações na sua histologia, devido ao alto período de exposição a poluentes bem como elevados gradientes de concentração. Por se tratar de um órgão com função metabólica fundamental, atuando na quebra de compostos diversos, ele está sujeito às alterações fisiológicas, morfológicas e histológicas (Abdalla, 2015).

As alterações hepáticas são excelentes indicadores de contaminação ambiental. Revelam a qualidade higiênico-sanitária dos cultivos que os peixes estão submetidos, com isso, é possível avaliar a sanidade desses organismos. Por isso, esse trabalho analisou a qualidade da água e as alterações hepáticas com a intenção de avaliar a sanidade de tambatinga em pisciculturas da APA da Baixada Maranhense.

MATERIAIS E MÉTODO

Foram capturados 40 espécimes de tambatinga em quatro pisciculturas, sendo duas (P1 e P2) no povoado Itans (Matinha) e duas (P3 e P4) no povoado Cacoal (Viana) localizadas na APA da Baixada Maranhense (Fig. 1).

Figura 1. Localização das Cidades de Matinha e Viana, estado do Maranhão, com destaque para os povoados de Itans e Cacoal



Para eliminar possíveis erros na análise dos dados devido à diluição de contaminantes no período de alta precipitação, foi adotado o critério de coleta nos períodos de estiagem (outubro) de 2019 e chuvoso (fevereiro) de 2020.

As variáveis abióticas foram medidas in situ por sonda multiparamétrica Hidrolab (OTT). Coletou-se 500 mL de água de cada piscicultura para análise microbiológica. Foi utilizado para quantificação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli* o sistema cromogênico (MUG) e fluorogênico enzimático (Colilert, Idexx, USA), por meio da utilização de substratos definidos (AOAC, 2003).

Os espécimes de tambatinga foram eutanasiados por hipotermia, de acordo com as normas do Comitê de Ética e Experimentação Animal (41/2019) e, em seguida, retirou-se o fígado de cada exemplar que foi acondicionado em frasco plástico com formalina a 10%. No laboratório de Morfofisiologia Animal da Universidade Estadual do Maranhão, as amostras de fígado foram desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizado em xilol, empregados e incluídos em parafina. Foram feitos cortes histológicos com 5 µm de espessura que foram corados com hematoxilina e Eosina (HE).

As lâminas foram lidas em microscópio óptico, utilizando-se o aumento de 10x e 40x. As alterações encontradas foram fotomicrografadas em microscópio com câmera acoplada AXIOSKOP – ZEIS e analisadas semiquantitativamente por meio do Índice de

Alteração Histológica (IAH) de acordo com o grau de severidade descrito por Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994).

Os dados foram submetidos aos Testes de Normalidade Shapiro-Wilk e Homogeneidade Levene ($p \geq 0,05$). Para os dados que não apresentaram distribuição normal foi aplicado Kruskal-Wallis ANOVA ($p \leq 0,05$) e para os dados que apresentaram distribuição normal foi aplicado análise de variância One-Way (ANOVA One-Way) e teste Tukey ($p \leq 0,05$). Todas as análises estatísticas mencionadas foram realizadas no Statistica 7.1.30.3.

RESULTADOS

Os parâmetros físico-químicos e microbiológicos das áreas amostradas são apresentados na Tab.1. O parâmetro pH apresentou diferença estatística ($p=0,03$) entre os períodos sazonais da cidade de Viana enquanto a condutividade apresentou significância estatística ($p=0,04$) entre períodos sazonais em Matinha. Os Coliformes Totais apresentaram diferença estatística ($p=0,01$) entre o período chuvoso em Matinha e estiagem em Viana. Não houve significância estatística relevante quanto à análise de *E. coli.*, tendo o número mais provável (NMP) dentro do limite estabelecido pela Resolução nº 350/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Os demais parâmetros se mantiveram nos valores recomendados.

Tabela 1. Dados abióticos e microbiológicos da água das pisciculturas por época sazonal nos municípios de Matinha e Viana, Maranhão, Brasil

Parâmetros bióticos e abióticos da água	Matinha		Viana		Valores recomendados
	Estiagem	Chuvoso	Estiagem	Chuvoso	
pH	7,41±1,60 ^{ab}	7,07±1,34 ^{ab}	8,02±0,74 ^a	5,79±1,12 ^b	6-9 ^c
Temperatura (°C)	31,33±2,13 ^{ab}	29,36±0,94 ^a	33,3±3,39 ^a	32,18±2,56 ^{ab}	26-32 °C ^d
Oxigênio dissolvido (mg/L)	6,94±4,59 ^a	10,13±3,34 ^a	8,41±1,02 ^a	10±3,59 ^a	>5mg/L ^c
Salinidade (UPs)	0,1±0,0 ^a	0,06±0,05 ^a	0,04±1,02 ^a	0,06±3,59 ^a	0,05-1,0 ^e
Condutividade (µS/cm)	238,33±109,62 ^a	0,91±0,79 ^b	163,43 ^{ab}	96,71 ^{ab}	120 a 500 ^f
NMP de coliformes totais/100 ml de água	13725±11469 ^{ab}	8040±4885 ^b	2217±1136 ^a	2465±1221 ^{ab}	-
NMP de <i>Escherichia coli</i> /100 ml de água	20,5±11,50 ^a	26,5±18,07 ^a	30,5±11,50 ^a	10±0,0 ^a	>1000 ^g

^{ab} Letras diferentes indicam diferença estatística entre os períodos sazonais e letras iguais indicam a ausência de diferença significativa ($p \leq 0,05$); NMP: Número mais provável.

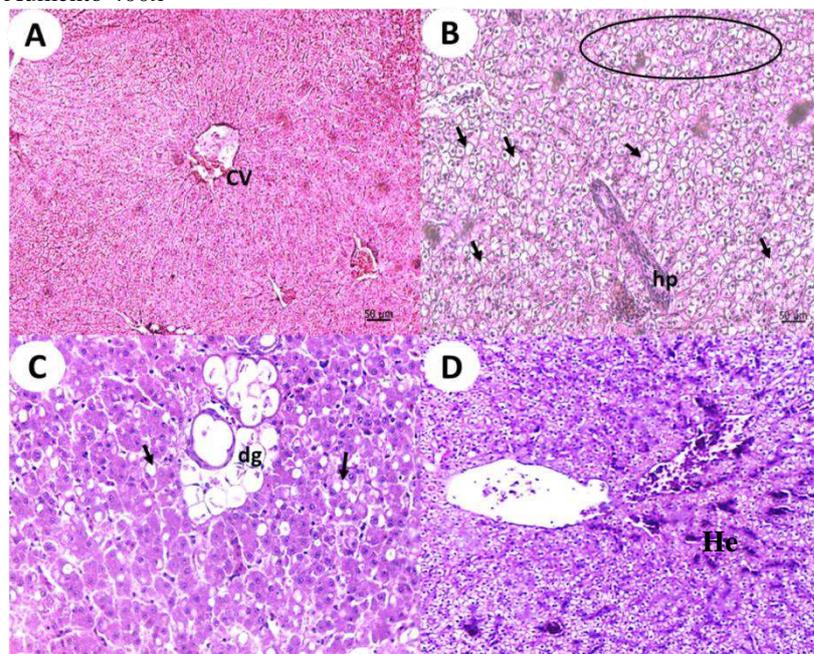
^c Resolução 357/2005 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA);

^{de} Minello *et al.* (2010); ^f Lima *et al.* (2011); ^g Resolução 430/2011 (CONAMA, 2011).

O fígado de Tambatinga é organizado em dois lóbulos, possuindo coloração avermelhada. O Parênquima hepático é organizado em torno de veias centrais que são circundadas por cordões de hepatócitos e capilares sinusóides. Os hepatócitos apresentaram formato poligonal e possuem o núcleo centralizado, são convencionalmente uninucleados, no entanto, foram observadas células binucleadas. Próximo às veias e artérias hepáticas existe tecido pancreático exócrino, com numerosos ácinos serosos, cuja função é a síntese de enzimas digestivas e absorção de alimentos digeridos. Nos fígados foram observadas somente alterações em estágios I e II de severidade (Fig. 2) em que as mais observadas foram, vacuolização (2B), hiperemia (Fig. 2B), em ocorrências severas, esteatose e degeneração gordurosa (Fig. 2C), hemorragia (Fig. 2D).

A análise microscópica mostrou que 70% dos exemplares de Tambatinga apresentaram alguma das alterações hepáticas seguintes: presença acentuada de hepatopâncreas em desarranjo, degeneração gordura, esteatose, vacuolização e hemorragia (Fig. 2).

Figura 2. Morfologia do tecido hepático de tambatinga. A-Tecido Normal (CV) para Veia Central; B Vacuolização (setas), Hiperemia (h); C- Degeneração gordurosa (dg), Esteatose (seta); C – Hemorragia (He). Aumento 400x

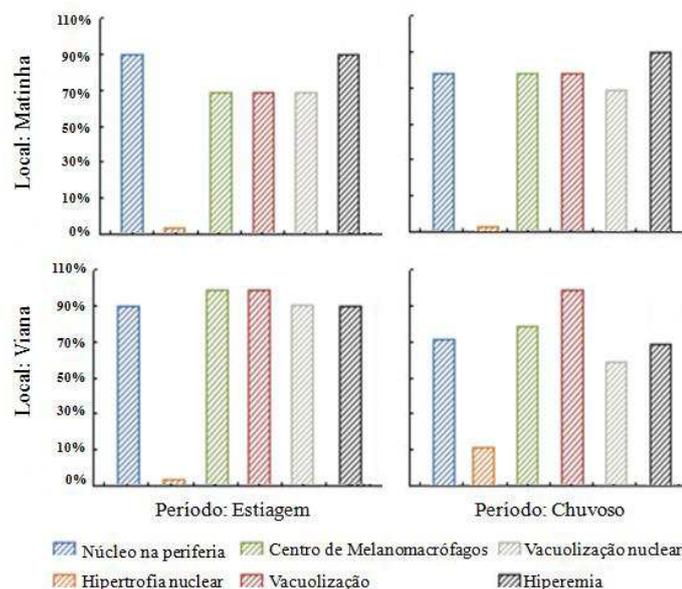


A análise histológica demonstrou frequência de lesões nos fígados dos peixes por cidade e período sazonal (Fig. 3). As médias de IAH não apresentaram diferença estatística significativa entre os locais de coleta e períodos sazonais ($p \geq 0,05$). Os IAH médios dos peixes

coletados nas pisciculturas de Matinha foram de 19,40 no período de estiagem e 17,40 no período chuvoso. Os IAH médios dos peixes coletados nas pisciculturas de Viana foram de 20,10 no período de estiagem e 14,60 no período chuvoso. De acordo, com os resultados dos IAH, as lesões encontradas foram classificadas como leves para moderadas segundo Poleksic e Mitrovic- Tutundžic (1994). Todos os exemplares analisados apresentaram uma das lesões no tecido hepático: núcleo na periferia da célula, centro de melanomacrófagos, vacuolização nuclear, hipertrofia celular, vacuolização e hiperemia.

As alterações hepáticas encontradas em maior frequência nos peixes coletados no município de Matinha no período de estiagem foram núcleo na periferia da célula e hiperemia. No período chuvoso houve um aumento das alterações do tipo vacuolização e centro de melanomacrófagos. Os peixes coletados nas pisciculturas de Viana, no período de estiagem, tiveram, tanto no período de estiagem quanto no período chuvoso, as lesões vacuolização e centro de melanomacrófago (Fig. 3).

Figura 3. Frequência de lesões encontradas em fígado de tambatinga categorizados por municípios (Matinha e Viana) e por período sazonal (estiagem e chuvoso).



DISCUSSÃO

A qualidade da água é essencial para a sanidade de peixes em sistema de cultivo. O valor do pH deve estar em uma faixa ótima de 6 a 9 (Resolução nº 375/2005) (CONAMA, 2005). Nesse estudo, foi observada diferença do potencial hidrogeniônico entre os períodos

sazonais na cidade de Viana ($8,02\pm 5,79$). Essa variação está relacionada com a decantação de ração, carreamento de matéria orgânica, principalmente, macrófitas aquáticas em decomposição, oriundas do lago Aquiri. Estudos de Rosso e Mercadante (2007) e Kubitza (2011) corroboram que a presença de matéria orgânica em grande quantidade contribui com a acidez em ambientes de cultivo. Além disso, El Sherif *et al.* (2009) relataram que a variação brusca na faixa ótima de pH pode afetar diretamente o metabolismo e alterar fisiologia de peixes.

De acordo com estudos de Rosso e Mercadante (2007) condições de estresse impostas aos peixes pela mudança dos parâmetros físico-químicos da água podem propiciar o desenvolvimento de doenças infecciosas e alteração comportamental. Kubitza (2011) analisando cultivo de tilápia relatou sinais da presença de muco em excesso, inflamação nas brânquias e necrose em peixes submetidos a ambientes com baixo pH.

Os valores de condutividade para os municípios de Matinha e Viana tanto no período estiagem quanto no período chuvoso estiveram dentro do recomendado (100 a $500\mu\text{S}/\text{cm}$) (Minello *et al.*, 2010; Lima, 2011). Contudo, existiu uma variação desse parâmetro entre os cultivos dos municípios amostrados no período de estiagem, com destaque para Matinha ($238,33\pm 109,62$). Esse resultado reflete maior quantidade de matéria orgânica nos tanques, refletindo maior frequência de ração em relação às pisciculturas de Viana. Paulino *et al.* (2006) analisando água de cultivos obtiveram variação em períodos sazonais. Para Macedo e Sipaúba-Tavares (2018) os valores altos de condutividade em tanques de cultivos indicam grau de decomposição elevada, de forma semelhante, associam à dinâmica ambiente, que estão sujeitos a grande quantidade de matéria orgânica, principalmente da alimentação (ração).

A presença de Coliformes Totais (CT) nas pisciculturas dos municípios amostrados não demonstra má qualidade do cultivo, pois esses microrganismos são naturais do meio ambiente, portanto, não indicando, necessariamente, problemas à saúde humana e/ou contaminação dos organismos cultivados. Liuson (2003) relatou que a presença de Coliformes Totais aumentados determina a qualidade higiênica do local, da mesma forma, reflete a poluição microbiana e a deficiência de manejo, que os peixes estão submetidos ao longo da cadeia de produção.

Anatomicamente, o fígado analisado apresentou características semelhantes à de outros teleósteos em condições normais (Bruslé; Anadon, 1996; Vicentini *et al.*, 2005) sendo a maior glândula observada dentro da cavidade celomática com as divisões de em dois lobos hepáticos (Costa *et al.*, 2012). É um órgão central, com diversas funções metabólicas dos

vertebrados (Arias *et al.*, 1998; Gingerich; Dalich, 1982), dentre as quais se inclui a capacidade de acumulação, biotransformação e excreção de compostos. Os hepatócitos podem ser considerados o primeiro alvo da toxicidade de uma substância, o que caracteriza as alterações no fígado como excelentes indicadores de poluição e/ou contaminação ambiental (Zelikoff, 1998).

As lesões hepáticas mais frequentes e fortemente agrupadas foram: núcleo na periferia da célula, centro de melanomacrófagos, degeneração gordurosa, esteatose, vacuolização citoplasmática, e hemorragia principalmente nos espécimes de *tambatinga* coletados na estação chuvosa em Matinha e Viana.

O aumento da vacuolização nos hepatócitos é descrito por Pacheco e Santos (2002), como um sinal de processo degenerativo relacionado à danos metabólicos, provavelmente relacionado com a exposição à água contaminada. A alta incidência de centros de melanomacrófagos no fígado é resultado da ação fagocítica como resposta imune, na eliminação, desintoxicação ou reciclagem de contaminantes (Pacheco; Santos, 2002; Oliveira Ribeiro *et al.*, 2005). As alterações dos hepatócitos encontradas são semelhantes às observadas por Santos *et al.* (2004) e foram todas acentuadas nas espécies analisadas indicando que esses organismos estão sofrendo por agentes estressores presentes na água.

Os centros de melanomacrófagos (CMM) foram bem evidenciados em ambas as estações. Geralmente apresentam coloração entre o amarelo e o castanho-escuro, podendo até ser pretos conforme a quantidade de hemossiderina, lipofuscina ou melanina (Boorman *et al.*, 1997). A alta incidência de centro melanomacrófagos no fígado está relacionada ao aumento de fagocitose como resposta imune a degradação metabólica de contaminantes (Rabitto *et al.*, 2005).

A esteatose observada pode ser consequência de distúrbios metabólicos decorrentes da ação de produtos tóxicos e/ou à alimentação e, em vários processos, antecede a necrose (Robbins; Cotran, 2005). A ocorrência de esteatose também foi observada por Francisco (2006) e Campos *et al.* (2006) em peixes mantidos em locais contaminados por pesticidas agrícolas, mas diferem dos achados de Thomas (1990), Santos *et al.* (2004) e Camargo e Martinez (2007), que mesmo em ambientes poluídos os peixes não desenvolveram esse tipo de lesão.

Segundo Coelho (2002) essas alterações ocorrem quando a gordura transportada para o fígado não é oxidada e fica retida, podendo ocorrer devido intoxicação por arsênio, clorofórmio, tetracloreto de carbono e micotoxinas e também por insuficiência de fatores lipotróficos como colina e metionina. Outra lesão bem destacada foi a hiperemia que pode

indicar segundo Anderson e Zeeman (1995) um processo de adaptação que leva ao aumento do fluxo sanguíneo no tecido hepático, facilitando o transporte de macrófagos para as regiões danificadas do tecido e também melhoramento da oxigenação destas áreas ou ainda, pode indicar um mecanismo de desintoxicação.

As análises histológicas nos fígados indicam a ocorrência de lesões que podem prejudicar o funcionamento do órgão e assim interferir diretamente em processos de manutenção da homeostase dos peixes.

Para uma interpretação correta dos resultados em avaliações histopatológicas é importante perceber que uma condição de controle saudável não se caracteriza pela completa ausência de alterações, de maneira que os indivíduos podem apresentar algumas alterações moderadas, como pequenas modificações estruturais ou leves reações inflamatórias (Bernet *et al.*, 2004; Zimmerli, 2007).

O índice de Alteração Hepática (IAH) classifica as lesões de acordo com o nível severidade. Nesse estudo, o IAH encontrado foi classificado na categoria 4 (10-20), sendo considerada as alterações leves a moderadas (Poleksic; Mitrovic-Tutundzic, 1994). Nesse caso, é possível a regeneração do tecido hepático e recuperação de suas funções biológicas, porém essas alterações podem progredir para outras mais graves mediante a contínua exposição e permanência de contaminantes nos tanques de cultivo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados permitem concluir que a qualidade da água foi satisfatória. Os padrões microbiológicos demonstraram presença alta de coliformes totais evidenciando alterações na dinâmica das pisciculturas e o número mais provável (NMP) para *E. coli* esteve dentro do previsto pela legislação do Conselho Nacional do Meio Ambiente.

Embora tenha havido variação mínima dos parâmetros físico-químicos, isso não comprometeu a qualidade da água dos cultivos. Contudo, merece destaque que apenas a análise físico-química e microbiológica da água não deve ser usada como únicos indicadores de bem-estar de peixes em pisciculturas, carecendo de análise de metabólitos secundários, micotoxinas e análise de metais traços.

O índice de Alteração Histológica (IAH) permitiu classificar as lesões de leves a moderadas. Com isso, é possível afirmar que os peixes estão submetidos a estressores oriundos de contaminação, que podem ser resultantes de um manejo alimentar inadequado, fatores higiênico-sanitários deficientes e/ou presença de toxinas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Estadual do Maranhão, ao Laboratório de Morfofisiologia Animal pela estrutura física e material; ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica da Amazônia – PROCAD AMAZÔNIA pelo financiamento de pesquisa.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, R. P. **Efeito do alumínio e manganês, em pH ácido, nos parâmetros de estresse oxidativo em machos de *Astyanax altiparanae* (Characiformes: Characidae).** 2015. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

ANDERSON, D. P.; ZEEMAN, M. G. Immunotoxicology in Fish. *In*: RAND, G. M. (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment.** Washington: Taylor & Francis, 1995. p. 371-404.

ARIAS, I.M.; JAKOBY, W.B.; POPPER, H.; SCHACHTER, D.; SCHAFRITZ, D.A. **The liver: biology and pathobiology.** New York: Raven Press, 1988.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the association of official's analytical chemists.** 17th ed. Arlington, Virginia. 2003.

BERNET, D. *et al.* Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **J. Fish. Dis.**, v. 22, p. 25-34, 1999.

BOORMAN, G.A.; BOTTS, S.; BUNTON, T. E.; FOURNIE, J. W.; HARSHBARGER, J. C.; HAWKINS, W. E.; HINTON, D. E.; JOKINEN, M. P.; OKIHIRO, M. S.; WOLFE, M. J. Diagnostic criteria for degenerative, inflammatory, proliferative nonneoplastic and neoplastic liver lesions in medaka (*Oryzias latipes*): consensus of a National Toxicology Program Pathology Working Group. **Toxicologic Pathology**, v. 25, n. 2, p. 202-210, 1997.

BRAGA, K. R. R. *et al.* **Avaliação da sustentabilidade das formas de uso e manejo de matas ciliares do alto curso do rio Pericumã, Baixada Maranhense.** 2006. Dissertação

(Mestrado em Sustentabilidade de Ecossistemas) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2006.

BRUSLÈ, J.; ANADON, G.G. The Structure and function of fishliver. *In*: MUNSHI, J. S. D.; DUTTA, H. M. (Ed.). **Fish morphology horizon of new research**. Lebanon: Science Publishers Inc., 1996. p. 77-93.

CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. 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.

CAMPOS, C. M.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F.R. Histopatologia de fígado, rim e baço de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum* parasitados por myxosporídios, capturados no Rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 4, p. 2006.

COELHO, H.E. **Patologia veterinária**. São Paulo: Manole, 2002.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). **Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005**. Brasília: CONAMA, 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/index.cfm>. Acesso: 6 abr. 2020.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Brasília: CONAMA, 2011. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 6 abr. 2021.

COSTA, G. M.; ORTIS, R. C.; LIMA, M. G.; CASALS J. B.; LIMA, A. R.; KFOURY, J.R. Estrutura morfológica do fígado de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 947-950, 2012.

DIAS, M. K. R. *et al.* Parasitism in tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*, Characidae) farmed in the Amazon, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 2, p. 231-238, 2015.

EL-SHERIF, M. S. *et al.* Performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. I. Effect of pH. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 11, n. 3, p. 297-300, 2009.

FEITOSA, A. C. Relevô do estado do Maranhão: uma nova proposta de classificação topomorfológica. *In*: SIMPÓSIO NACIONAL DE GEOMORFOLOGIA, 4., 2006. Goiânia. **Anais [...]**. Goiânia, 2006. p.1-6.

FRANCISCO CJ. 2006. **Fauna parasitária e alterações teciduais em peixes oriundos de pisciculturas com mono ou policultivo do médio vale do Itajaí**, SC. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 49 p. (Unpublished).

FUZINATTO, C. F. **Avaliação toxicológica em peixes da espécie *Oreochromis niloticus* expostos às águas do Rio Cubatão do Sul/SC**: estudo genotóxico, epigenético e de estresse oxidativo. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

GINGERICH, W.H.; DALICH, G.M. An evaluation of liver toxicity in rainbow trout following treatment with monochlorobenzene. **Proc. West Pharmacol. Soc.**, v. 21, p. 475-480, 1982.

GOMES, I. O. *et al.* Percepção da sanidade em pisciculturas da baixada Ocidental Maranhense, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 23029-23043, 2020.

HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI F.; PORTO-FORESTI, F. Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. **Reviews in Aquaculture**, v. 4, p. 108-118, 2012.

KUBITZA, F. Aquicultura de tilápia no mundo e no Brasil. *In*: KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. 2. ed. Jundiaí: F. Kubitza, 2011. p.1-11.

LIMA, V. T. A *et al.* Análise da condutividade elétrica e do pH em água salobra no cultivo de tilápias. *In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO*, 6., 2011, Petrolina. **Anais [...]**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011.

LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella spp* em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. 2003. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

LOUREIRO, S. N. **Efeitos da poluição aquática e do ectoparasitismo sobre distintos órgãos de peixes de água doce: uma abordagem em baixo nível de organização biológica**. 2017. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2017.

MACEDO, C. F.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, n. 2, p. 149-163, 2018.

MINELLO, M. C. S.; PAÇO, A. L.; CAETANO, L.; CASTRO, R. S. D.; FERREIRA, G.; PEREIRA, A. S.; PADILHA, P. M.; CASTRO, G. R. Avaliação sazonal de alguns parâmetros indicadores da qualidade de água no reservatório da usina hidrelétrica de Ilha Solteira-SP, Brasil. **Global Science Technology**, v. 3, n. 3, p. 98-104, 2010

OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.; VOLLAIRE, Y.; SANCHEZ-CHARDI, A.; ROCHE, H. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. **Aquatic Toxicology**, v. 74, n. 1, p. 53-69, 2005.

PACHECO, M. M. A. SANTOS. Biotransformation, genotoxic and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 53, p. 331-347, 2002.

PAULINO, R. V.; MATOS, A. N. B.; PORTO, E. R.; SANTOS JÚNIOR, D. D. dos; MAGALHÃES, R. A.; CARVALHO, A. R. M.; AMORIM, M. C. C.; MENEZES, D. R. Caracterização limnológica de viveiro de criação tilápia abastecido com água de rejeito da dessalinização. *In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL*, 6.; *SIMPÓSIO NORDESTINO SE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES*, 10.; *SIMPÓSIO DE*

PRODUÇÃO ANIMAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 1., 2006, Petrolina. **Anais [...]**. Petrolina: SNPA; Embrapa Semiárido, 2006. 1 CD-ROM.

POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. *In*: MULLER, R.; LLOYD, R. **Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish**. Cambodge: Blacwell Sci., 1994.

RABITTO, I.S.; ALVES COSTA, J.R.M.; SILVA DE ASSIS, H.C. *et al.* Effects of dietary Pb (II) and tributyltin on neotropical fish *Hoplias malabaricus*: histopathological and biochemical findings. **Ecotox. Environ. Safe**, v.60, p.147-156, 2005.

ROBBINS, S.; COTRAN, R.S. Patologia - bases patológicas das doenças. *In*: KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. (eds.). **Patologia - bases patológicas das doenças**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **J. Agric. Food Chem.**, v.55, p.5062-5072, 2007.

SANTOS, A.A. *et al.* Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 2, p. 141-145, 2004.

SILVA, R. E. **Perfil da piscicultura dos médios e grandes produtores do município de Matinha – Maranhão**. 2016. Monografia (Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016.

THOMAS, P. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. **American Fisheries Society Symposium**, v. 8, p. 9-28, 1990.

VICENTINI, C. A. *et al.* Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. **International Journal of Morphology**, v. 23, n. 3, p. 211-216, 2005.

ZELIKOFF, J.T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals. **Toxicology**, v. 129, n. 1, p. 63-71, 1998.

ZIMMERLI, S. *et al.* Assessment of fish health status in four Swiss rivers showing a decline of brown trout catches. **Aquatic Sciences**, v. 69, p. 11-25, 2007.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a elaboração desse trabalho, concluiu-se que:

- As variáveis abióticas analisadas na água cultivos estiveram dentro do estabelecido pela legislação (CONAMA n° 357/2005). Existindo variação da condutividade e temperatura por período sazonal e local.
- Os resultados da análise microbiológica demonstraram alta quantidade de coliformes totais nas pisciculturas. Contudo, não se pode afirmar que esse resultado compromete a qualidade da água ou a sanidade dos organismos.
- Todas as análises demonstraram que houve baixo quantitativo de *E. coli* em todas as pisciculturas analisadas (>1000/100mL CONAMA n° 430/2011). Logo, podemos afirmar que a água está em condições boas para cultivo.
- A análise de diversidade fúngica demonstrou a presença dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e tipos leveduriformes associados aos períodos sazonais e com maior frequência em fêmeas. Embora esses tipos fúngicos sejam residentes do meio natural, são considerados micotóxicos com capacidade alta de patogenicidade.
- Os fígados analisados apresentaram alterações que foram classificadas de leves a moderada (IAH). Essas lesões comprometem minimamente o funcionamento do fígado. E podem estar relacionadas ao manejo alimentar, presença de contaminantes ambientais ou por toxinas presentes no meio oriundas de fungos e bactérias.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, V. D.; LEITE, L. A. R.; AZEVEDO, R. K. *Neoechinorhynchus curemai* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) como indicador de impactos ambientais no rio do Peixe, estado de São Paulo, Brasil. **Diversitas Journal**, v. 4, n. 3, p. 764-773, 2019.
- ACCENSI, F.; ABARCA M. L.; CABAÑES, F.J. Occurrence of *Aspergillus* species in mixed feeds and component raw materials and their ability to produce ochratoxin A. **Food Microbiol.**, v. 21, p. 623-627, 2004.
- AKAISHI, F. M. *et al.* Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax sp.*) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 46, n. 2, p. 244-253, 2004.
- ALBINATI, A. C. L. *et al.* Biomarcadores histológicos: toxicidade crônica pelo Roundup em piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 621-627, 2009.
- ALEXANDER, M. Biodegradation and bioremediation. 2nd ed. San Diego, California: Academic Press, 1999.
- AL- HARBI, A. H. Faecal coliforms in pond water, sediments and hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus* in Saudi Arabia. **Aquaculture Research**, v. 34, n. 7, p. 517-524, 2003.
- ALMEIDA-FUNO, I. C. S.; PINHEIRO, C. U. B.; MONTELES, J. S. Identificação de tensores ambientais nos ecossistemas aquáticos da área de proteção ambiental (APA) da Baixada Maranhense. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, n. 1, p. 74-85, 2010.
- ARSLAN, O. Ç.; PARLAK, H. Micronucleus test good biomarker for determination of genetic changes in aquatic organism. **Journal of Aquatic Pollution and Toxicology**, v. 1, n. 3, p. 18-23, 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9898**: Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. Rio de Janeiro, 1987.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA. **Anuário Peixe BR**. 2018. Disponível em: <http://cerradoeditora.com.br/cerrado/wp-content/uploads/2020/02/AnuarioPeixeBR2020.pdf/>. Acesso em: 8 ago. 2020.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA. **Anuário Peixe BR**. 2019. Disponível em: <http://cerradoeditora.com.br/cerrado/wp-content/uploads/2020/02/AnuarioPeixeBR2020.pdf/>. Acesso em: 8 ago. 2020.
- BARLOCHER, F.; KENDRICK, B. Dynamics of the fungal population on leaves in a stream. **The Journal of Ecology**, p. 761-791, 1974.

- BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y; CYRINO, J. E. P. Growth, body composition and hematology of juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fed increasing levels of ractopamine. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 5, p. 1335-1342, 2012.
- BLACKBURN, K.; CHRISTENSEN, M. Monetary policy and policy credibility: theories and evidence. **Journal of Economic literature**, v. 27, n. 1, p. 1-45, 1989.
- BOSCO-SANTOS, A.; LUIZ-SILVA, W.; DANTAS, E. L. Tracing Rare Earth Element Sources in *Ucides cordatus* Crabs by Means of $^{147}\text{Sm}/^{144}\text{Nd}$ and $^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$ Isotopic Systematics. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 229, n. 11, p. 365, 2018.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Sítios Ramsar Brasileiros**. Brasília: MMA, 2010.
- BRETAS, E. Avaliação toxicológica da água produzida de uma plataforma offshore de gás natural. **Revista Ceciliana**, v. 3, n. 1, p. 50-53, 2011.
- BURGER, J.; GOCHFELD, M. Metal levels in eggs of common terns (*Sterna hirundo*) in New Jersey: temporal trends from 1971 to 2002. **Environmental Research**, v. 94, n. 3, p. 336-343, 2004.
- BUSS, D. F. *et al.* Macroinvertebrados aquáticos como bioindicadores no processo de licenciamento ambiental no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2016.
- CARDOSO FILHO, F. C. *et al.* Monitoramento de fungos toxigênicos e aflatoxinas em rações utilizadas em piscicultura. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 3, p. 305-311, 2013.
- CHIBA, W. A. C.; PASSERINI, M. D.; TUNDISI, J. G. Metal contamination in benthic macroinvertebrates in a sub-basin in the southeast of Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 2, p. 391-399, 2011.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. **Resolução CONAMA n.357, de 17 de março de 2005**. Brasília: CONAMA, 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/index.cfm>. Acesso: 6 abr. 2020.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Brasília: CONAMA, 2011. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 6 abr. 2021.
- COTTA, J. A. O.; REZENDE, M. O. O.; PIOVANI, M. R. Avaliação do teor de metais em sedimento do rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira: PETAR, São Paulo, Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 40-45, 2006.
- DURAL, M.; GÖKSU, M. Z. L.; ÖZAK, A. A. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. **Food chemistry**, v. 102, n. 1, p. 415-421, 2007.
- EGGERS, K. F. *et al.* Empresa rural de piscicultura: criação de tilápias. **CEP**, v. 95, p. 560, 2016.

FERREIRA, A. P.; HORTA, M. A. P.; CUNHA, C. L. N. Avaliação das concentrações de metais pesados no sedimento, na água e nos órgãos de *Nycticorax* (Garça da-noite) na Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada - Journal of Integrated Coastal Zone Management**, v. 10, n. 2, p. 229-241, 2010.

FERREIRA, L.F.; AGUIAR, M.; POMPEU, G.; MESSIAS, T.G.; MONTEIRO, R.M. Selection of vinasse degrading microorganisms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 9, p. 1613-1621, 2010.

FREITAS, C. E. C.; RIVAS, A. A. F. A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia Ocidental. **Ciência e Cultura**, v. 58, n.3, p. 30-32. 2006.

GERHARDT, A. Bioindicator species and their use in biomonitoring, *In*: INYANG, H. I.; DANIELS, J. L. (Eds). **Environmental Monitoring**. Oxford: EOLSS /UNESCO, 2009. v. 1, p. 77- 123.

GERMANO, P.M.L.; OLIVEIRA, J.C.F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. **Higiene Alimentar**, v.7, n.28, p.40-45, 1993.

GRANZIERA, M. L. M.; ADAME, A.; GALLO, G. N. Direito ambiental internacional. Conservação dos espaços e da biodiversidade. Convenção RAMSAR. *In*: CONGRESSO NACIONAL DO CONPEDI., 15, 2007. **Anais [...]**, [S.l.]: CONPEDI, 2007.

GUZMÁN, M.C.; BISTONI, M.A.; TAMAGNINI, L.M.; GONZÁLEZ, R.D. Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. **Water Research**, v.38, p.2368-2374, 2004.

HASEGAWA A.; PAULA, A.; ALVIM, D. S. **Química das águas/ Indicadores de poluição** [Internet].2008. Disponível em: <http://goo.gl/DpyZLp>. Acesso em: 10 set. 2020.

HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. **Review in Aquaculture**, v. 4, p. 108-118, 2012.

HIBIYA, T. **An atlas of fish histology**: normal and pathological features. Tokio: Kodansha, 1982

HINTON, D.E; BAUMANN, P. C.; GARDNER, G. R; HAWKINS, W. E.; HENDRICKS, J. D.; MURCHELANO, R. A.; OKIHIRO, M. S. **Histopathologic biomarkers**. [S.l.]: CRC Press, 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Mapa de Biomas do Brasil**: primeira aproximação. Escala 1:5.000.000. [S.l.]: MMA; IBGE, 2004.

JESUS, W. B. *et al.* Biomarcadores enzimáticos e histológicos em brânquias de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763)(Crustacea, Brachyura, Ucididae) indicativos de impactos ambientais em uma região portuária do nordeste do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 4, p. 1413-1423, 2020.

JIANG, H. *et al.* Growth and photosynthesis by *Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariales, Rhodophyta) in response to different stocking densities along Nan'ao Island coastal waters. **Aquaculture**, 2019.

KOMÁREK, M.; CHRASTNÝ, V.; ŠTÍCHOVÁ, J. Metal/metalloid contamination and isotopic composition of lead in edible mushrooms and forest soils originating from a smelting area. **Environment international**, v. 33, n. 5, p. 677-684, 2007.

KRAUSS, G.-J. *et al.* Fungi in freshwaters: ecology, physiology and biochemical potential. **FEMS microbiology reviews**, v. 35, n. 4, p. 620-651, 2011.

KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes. **Panorama da aquicultura**, v. 19, n. 111, p. 14-27, 2009.

KUBITZA, F. Qualidade de água na produção de tilápias. *In*: KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: Degaspari, 2000.

LEIRA, M. H. *et al.* Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **Pubvet**, v. 11, p. 1-102, 2016.

LEONEL, A.P.S. **Viabilidade econômica de produtos à base de tilápia para alimentação escolar nos municípios de Toledo-PR e Marechal Cândido Rondon-PR**. 2016. Tese (Programa de Pós-graduação em Aquicultura) - Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNES, 2016.

LEUNG, B.; KNOPPER, L.; MINEAU, P. **A critical assessment of the utility of fluctuating asymmetry as a biomarker of anthropogenic stress. Developmental instability: causes and consequences**. New York: Oxford University Press, 2003. p. 415-426.

LIMA, C. B. *et al.* Qualidade da água em canais de irrigação com cultivo intensivo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 4, p. 531-539, 2008.

LIMA, D. P. *et al.* Contaminação por metais pesados em peixes e água da bacia do rio Cassiporé, Estado do Amapá, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 4, p. 405-414, 2015.

LOUREIRO, D. *et al.* Distribuição dos metais pesados em sedimentos da Lagoa Rodrigo de Freitas. **Oecologia Australis**, v. 16, n. 3, p. 353-364, 2012

Luna L.G (1968) Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd Ed. McGraw-Hill, New York.

MALLASEN, M. *et al.* Qualidade da água em sistema de piscicultura em tanques-rede no reservatório de Ilha Solteira, SP. **Boletim do instituto de pesca**, v. 38, n. 1, p. 15-30, 2018.

MALLASEN, M.; BARROS, H. P.; YAMASHITA, E. Y. Produção de peixes em tanquesrede e a qualidade da água. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, v. 1, p. 47-51, 2008.

MALTCHIK, L.; MEDEIROS, E. S. F. Diversidade, estabilidade e atividade reprodutiva de peixes em uma poça fluvial permanente no leito de um riacho efêmero, riacho Avelós,

Paraíba, Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra. Suplemento Especial**, v. 1, p. 20-28, 2006.

MARENGONI, N. G. *et al.* Monogenoidea (Dactylogyridae) em tilápias-do-nilo cultivadas sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 2, p. 393-400, 2009.

MARTINEZ, C.B.R.; CÓLUS, I.M.S. Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. *In*: MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, A.O.; PIMENTA, J.A. (eds.). **A bacia do rio Tibagi**. Londrina, Universidade Estadual de Londrina, 2002. Cap. 29. p. 551-557.

MENEZES, M.; SILVA-HANLIN, D. M. W. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, 1997.

MERT, R.; ALAS, A.; BULUT, S.; ÖZCAN, M.M. Determination of heavy metal contents in some freshwater Fishes. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, p. 8017-8022, 2014.

MOURA, E. G. Agroambientes de transição avaliados numa perspectiva da agricultura familiar. *In*: MOURA, E. G. (org.). **Agroambientes de transição entre o trópico úmido e o semiárido do Brasil**. São Luís: UEMA, 2004.

MULLER, T.; GRANADA, C. E.; SPEROTTO, R. A. Qualidade da água de três locais com potenciais fontes de contaminação no Rio Taquari, RS. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, n. 1, p. 75-84, 2016.

MURATORI, M.C.S. **Consórcio suíno peixe: riscos ambiental e sanitário. Proposta alternativa para descontaminação**. 1999. 71p. Tese (Doutorado em Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

NASCIMENTO, C. W. A.; XING, B. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia agricola**, v. 63, n. 3, p. 299-311, 2006.

NIMET, J. *et al.* **Histopatologia em *Astyanax bifasciatus* (Garavello, 2010) como biomarcador para biomonitoramento de riachos com diferentes usos e ocupação do solo**. [S.l.:s.n], 2016.

OLIVEIRA, L. F. C. *et al.* Isotermas de sorção de metais pesados em solos do cerrado de Goiás. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 7, p. 776-782, 2010.

OLIVEIRA, R. B. S. *et al.* **Desenvolvimento de índices multimétricos para utilização em programas de monitoramento biológico da integridade de ecossistemas aquáticos**. [S.l.:s.n], 2008.

OLIVEIRA, S. R. S.; PINHEIRO-SOUSA, D. B.; ALMEIDA, Z. D. S.; SILVA CASTRO, J.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Lesões histopatológicas como biomarcadores de contaminação

aquática em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes, Cichlidae) de uma Área Protegida no Maranhão. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 9, n. 1, p. 12-26, 2016.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA - FAO. **FAOSTAT. Dados**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/>. Acesso em: 24 jul. 2018.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA - FAO. **FAOSTAT. Dados**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/>. Acesso em: 25 jul. 2019.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA - FAO **The State of Food Insecurity in the World 2012: Economic growth is necessary but not sufficient to accelerate reduction of hunger and malnutrition**. Rome: FAO ; WFP; IFAD., 2014.

PAL, D.; DASGUPTA, C. Microbial pollution in water and its effect on fish. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.4, p.32-39, 1992.

PEREIRA, N. J. S. **Biomarcadores e sanidade de *hoplias malabaricus* (characiformes: erythrinidae) na avaliação de impactos ambientais de lago do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses**. 2019. 122 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luis, 2019.

PIETSCH, C.; KERSTEN, S.; BURKHARDT-HOLM, P.; VALENTA, H.; DANICKE, S. Occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in commercial fish feed: an initial study. **Toxins**, v.5, p.184-192, 2013.

PINHEIRO, C.U.B.; MACHADO, M.A. Da água doce à água salgada: mudanças na vegetação de igapó em margens de lagos, rios e canais no baixo curso do rio Pindaré, Baixada Maranhense (From fresh to salt water: changes in Igapo vegetation on margins of lakes, rivers and and channels in...). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 9, n. 5, p. 1410-1427, 2016.

POLEKSIC, V., MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. *In*: MULLER, R.; LLOYD, R. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. Cambodge: Blacwell Sci., 1994.

QIAN, L. *et al.* Embryotoxicity and genotoxicity evaluation of sediments from Yangtze River estuary using zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, n.5, p. 4908-4918, 2015.

REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. Capital ecológico, uso e conservação. *In*: REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. (orgs.). **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. São Paulo: Ed. Escrituras, 2002.

REIS, T. A. **Caracterização de macarrão massa seca enriquecido com farinha de polpa do pescado**. 2013. Dissertação. (Mestrado em ciência dos alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

ROSS, L. G. *et al.* Spatial modelling for freshwater cage location in the Presa Adolfo Mateos Lopez (El Infiernillo), Michoacán, México. **Aquaculture Research**, v. 42, p. 797-807, 2011.

SANTOS, O. M. **Avaliação dos usos e ocupação das terras da bacia hidrográfica do Rio Pericumã-MA para uma Área de Proteção Ambiental**. São Luís, 2004. Dissertação (Mestrado em Sustentabilidade de Ecossistemas) - Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2004.

SARDINHA, L. F. **Avaliação da toxicidade da vinhaça tratada utilizando fígado de peixes *Oreochromis niloticus* como modelo**. 2017. 46 f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado e licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências (Campus de Rio Claro), 2017. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/156462>. Acesso em: 24 jul. 2021.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; PIRESZOTARELLI, CLA; MILANEZ, A. I. Amostragem em limnologia: os fungos aquáticos. *In*: BICUDO, C.E. M.; BICUDO, D.C. **Amostragem em Limnologia**. São Carlos: Ed. Rima, 2004. v. 2, p. 179-191.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R. **Evolução da piscicultura no Brasil: Diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**: texto para discussão. Brasília/Rio de Janeiro: Ipea, 2017.

SCORVO FILHO, J. D. *et al.* Desempenho do Pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix e Agassiz, 1829) criado nos sistemas intensivo e semi-intensivo. *In*: CONGRESSO DA AQUABIO AQUIMERCO. **Aqua Ciência**, Vitória, 2004. p. 145.

SIDONIO, L.; CAVALCANTI, I.; CAPANEMA, L.; MORCH, R.; MAGALHÃES, G.; LIMA, J.; BURNS, V.; ALVES JÚNIOR, A.J.; MUNGIOLI, R. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. **BNDES Setorial**, v.35, p.421-463, 2012.

SILVA, A. P. C. *et al.* Percepção da sanidade em pisciculturas da Baixada Ocidental Maranhense. **Braz. J. Of Develop**, Curitiba, v. 6, n.5, p.23029-23043, maio 2020.

SILVA, E.; CEREJEIRA, M. J. Avaliação do risco de pesticidas individuais e suas misturas em águas de superfície. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p.32-42, 2012.

SILVA, R. E. **Perfil das pisciculturas dos médios e grandes produtores do município de Matinha**. 2016. 51p. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, Maranhão, 2016.

SIMOES, F. S.; YABE, M J. S.; MOREIRA, A. B.; BISINOTI, M.C. Avaliação do efeito da piscicultura em sistemas aquáticos em Assis e Cândido Mota, São Paulo, por indicador de qualidade da água e análise estatística multivariada. **Quím. Nova** [online], v. 30, n. 8, p. 1835-1841, 2007.

SIPAÚBA TAVARES, L. H.; MAGALHÃES SANTEIRO, R. Fish farm and water quality management. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 35, n. 1, p. 21-27, 2013.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; PEREIRA, A. M. L. Cultivo em large escala de *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chlorophyta) and *Diaphanosoma biergei*

Korinek, 1981 (Cladocera) em laboratório. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, p. 875-883, 2008.

SOUSA, R. M. *et al.* Tambatinga juvenile's performance in a recirculation aquaculture system with different stocking densities. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, p. e178953317-e178953317, 2020.

SOUZA, G. M. D.; RICIETO, A. P. S.; VILAS-BÔAS, G. T.; GIORDANO, L. G. P.; VILAS-BÔAS, L. A. Análise da qualidade microbiológica da água, ao longo da cadeia produtiva de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*), na região norte do estado do Paraná. *In*: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA DA CESUMAR., 7, Paraná. 2011. **Anais eletrônico [...]**. Paraná: CESUMAR, 2011.

SPONCHIADO, M.; SCHWARZBOLD, A. Influência da macrófita aquática *Luziola peruviana* na dinâmica de um ecossistema de açude raso. *In*: SEMINÁRIO DE ESTUDOS LIMNOLÓGICOS EM CLIMA SUBTROPICAL. 2008, Rio Grande. **Anais [...]**. Rio Grande: Sociedade Brasileira de Limnologia, 2008. p. 27-29.

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T.; ABE, D. S. The ecological dynamics of Barra Bonita (Tietê River, SP, Brazil) reservoir: implications for its biodiversity. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, p. 1079-1098, 2008.

VIEGAS, J. C. **Diagnóstico dos agentes e processos atuantes na fragmentação da paisagem na Bacia Hidrográfica do Rio Pericumã, ambiente de Amazônia maranhense.** Dissertação (Mestrado em Geografia) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Presidente Prudente, 2015.

VIEGAS, J. C. **Dinâmica da Paisagem do médio curso do Rio Pericumã, área de influência da Cidade de Pinheiro - Maranhão.** Monografia (Graduação em Geografia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2012.

VIEGAS, J. C.; SILVA, T.R.C.; CORDEIRO, A. F. Modificações socioambientais decorrentes da construção da Barragem do Rio Pericumã, na área de influência da cidade de Pinheiro - Estado do Maranhão-Brasil. **Revista Geográfica de América Central**, v. 2, jul./dez. 2011.

YI, Y.; ZANG, S. Heavy metal (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) concentrations in seven fish species in relation to fish size and location along the Yangtze river. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, p. 3989-3996, 2012.

YILMAZ, M.; GUL, A.; ERBASLI, K. Acute toxicity of alpha-cypermethrin to guppy (*Poecilia reticulata*, Pallas, 1859). **Chemosphere**, v. 56, p. 381-385, 2004.

ANEXOS

**ANEXO A - Declaração do Comitê de Ética da Universidade Estadual do Maranhão
(CEEUA)**



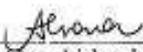
**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

Centro de Ciências Agrárias
Curso de Medicina Veterinária
Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEUA)
Credenciamento Provisório - CONCEA/MCT
Processo 01200.002200/2015-06 (449) - Emissão 19/06/2015

DECLARAÇÃO

Declaramos para devidos fins que o projeto intitulado **"Identificação de espécies fúngicas e biomarcadores histológicos em peixes de piscicultura de municípios da Baixada Maranhense"** foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal - CEEUA do Curso de Medicina Veterinária da UEMA, conforme protocolo nº 041/2019 aprovado em 07/11/2019, para o período de execução da pesquisa entre os meses de junho/2019 a dezembro/2020 equipe coordenada pela Profa. Debora Martins Silva Santos, e o membro executor Manoel Cleber Sampaio Silva e os colaboradores Ingrid Tayane Vieira da Silva do Nascimento, Thiago Anchieta de Melo e Ilka Ribeiro de Souza Serra por atender as normas de Bem-Estar Animal da Resolução do CFMV nº 1000/2012 e a Lei 11.794/2008.

São Luís, 11 de novembro de 2019



Prof. Dra. Alana Lislea de Sousa
Presidente do CEEUA/CMV/UEMA

ANEXO B - Autorização para atividades com finalidade científica (ICMBIO)



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 69519-1	Data da Emissão: 13/06/2019 10:57:15	Data da Revalidação*: 13/06/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Débora Martins Silva Santos	CPF: 407.533.103-25
Título do Projeto: Abordagem integrada de diferentes metodologias para avaliação da sanidade de peixes em ecossistemas aquáticos	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO	CNPJ: 06.352.421/0001-68

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de material biológico	11/2020	11/2020
2	Coleta de material biológico	05/2020	05/2020
3	Coleta de material biológico	01/2020	02/2020
4	Coleta de material biológico	08/2020	08/2020
5	Coleta de material biológico	05/2019	05/2019
6	Coleta de material biológico	01/2021	01/2021
7	Coleta de material biológico	11/2019	11/2019
8	Coleta de material biológico	08/2019	08/2019

Equipe

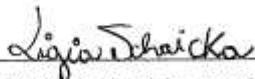
#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Margarothi Marques dos Santos	Análise parasitária e biomarcadores	050.683.683-50	Brasileira
2	Selma Patricia Diniz Cantanhêlo	Identificação Molecular de parasitos	007.401.583-41	Brasileira
3	MANOEL CLEBER SAMPALCO SILVA	Análise de biomarcadores histológicos	018.155.143-88	Brasileira
4	Ruan Luis Farias Do Vale	Análise hematólogica e parasitária	063.788.133-88	Brasileira
5	Italo Cristian Da Silva De Oliveira	Análise hematólogica e parasitária	047.108.263-58	Brasileira
6	Tiago de Moraes Lenz	Análise de biomarcadores	033.240.129-38	Brasileira
7	JOSIELMA DOS SANTOS SILVA	Análise de biomarcadores	042.688.913-40	Brasileira
8	Janderson Reuzaca Gomes	Análise de biomarcadores e parasitária	045.176.403-02	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio no Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0695180120190613

Página 1/5

ANEXO C - Coleção de tecidos e DNA da fauna maranhense (coFauMA)

COLEÇÃO DE TECIDOS E DNA DA FAUNA MARANHENSE CoFauMA e espécimes associados			
 UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO		Centro de Ciências Exatas e Naturais Departamento de Química e Biologia Grupo de Genética e conservação GGC	
GUIA DE RECEBIMENTO DE MATERIAL			
Curador (a): Dra. Lígia Tchaicka. Universidade Estadual do Maranhão Cidade Universitária Paulo VI. s/n. Tirirical . CEP : 65021-210 São Luis – MA			
<p>Declaro para os devidos fins, que recebi, como Instituição Fiel Depositária, espécimes oriundos de atividades relacionadas ao projeto de dissertação intitulado Identificação de espécies fúngicas e biomarcadores histológicos em peixes de piscicultura de municípios da Baixada Maranhense, sob responsabilidade de Manoel Cleber Sampaio Silva.</p> <p>Assumimos compromisso de alocação adequada de material em freezeres, posterior preparação e disponibilização para estudos de diversas naturezas, incluindo acesso por parte dos coletores e pesquisadores interessados. Este material será de grande relevância ainda para realização de monografias, dissertações e teses, além de poder subsidiar outros trabalhos técnico-científicos.</p> <p>Abaixo são listados os materiais recebidos:</p>			
ICTIOFAUNA			
Código	Espécie	Número de espécimes	Tipo de material
CMICma 01-25	<i>Colossoma macropomum</i>	25	Inteiro
	x <i>Piaractus brachypomus</i>		
 Dra Lígia Tchaicka- curadora			
Data: <u>16/03/20</u>			